

一种新型填料在 97% 盐酸小檗碱原药测试中的应用

岳瑞丰¹ 邱利平² 荆伟科¹

(1.河南应用技术职业学院化学工程学院, 郑州 450042; 2.延长石油产品经销公司, 西安 710054)

摘 要 诱导聚合胶体团聚法(PICA)以其简单快捷、成本低的优点被广泛应用于 SiO₂ 核壳微球的制备,但制备过程中易出现团聚和二次成核现象,所制备的核-壳微球单分散性差,粒径不均一,必须进行分级筛分才能够投入使用。通过改进实验方法,优化实验条件,成功解决了上述问题,制备出单分散的核壳 SiO₂ 微球。将制备的核壳微球经十八烷基三氯硅烷(C18)改性后装填色谱柱,并将其应用于 97% 盐酸小檗碱原药测试中,取得了较好的测试效果。

关键词 新型填料, 盐酸小檗碱, 高效液相色谱, 核壳微球

Application of a novel filler in the test of 97% berberine hydrochloride

Yue Ruifeng¹ Qiu Liping² Jing Weike¹

(1.College of Chemical Engineering, Henan Vocational College of Applied Technology, Zhengzhou 450042; 2.Yanchang Petroleum Products Marketing Company, Xi'an 710054)

Abstract Polymerization-induced colloid aggregation(PICA) method is widely used in the preparation of silica core-shell microspheres because of its simplicity, rapidity and low cost. However, agglomeration and secondary nucleation are easy to occur in the preparation process. Hierarchical sieving is necessary because of its poor monodispersity and uneven particle size. Monodisperse core-shell silica microspheres were prepared by improving the experimental methods and optimizing the experimental conditions. The prepared core-shell microspheres were modified by octadecyl trichlorosilane(C18) and packed into chromatographic column. The microspheres were applied to the determination of 97% berberine hydrochloride and good results were obtained.

Key words novel filler, berberine hydrochloride, HPLC, core-shell microsphere

高效液相色谱(HPLC)具备高效、高速和高分辨率等优势,已广泛应用在农药残留检测、食品安全、生产过程监控、代谢组学和蛋白质组学等领域^[1-5]。色谱技术发展历史表明:随着色谱填料颗粒度的减小,色谱柱背压显著上升,尤其是在填料粒径小于 3 μ m 后,色谱柱背压随粒径的减小呈指数关系上升,高背压会造成峰展宽,影响柱效提高。因此,如何既能保持现有小粒径填料高效快速分离的优势,又能降低背压是分离科学家面临的新挑战^[6-7]。

核壳填料因其特殊的无孔核和介孔壳结构,既有较高的机械强度,又能显著缩短分离过程所需的时间^[8-9]。通常用来制备核-壳微粒的方法有层层自组装法^[10-11]、多层自组装法^[12]和模板法^[13],但这些方法大多存在耗时费力、极易出现团聚现象等缺陷。Kirkland 等^[14]首次将诱导聚合胶体团聚法(PICA)应用扩展到核壳微球的制备上来。Chen 等^[15]又对

该制备工艺做了进一步改进。利用 PICA 法可实现核壳微粒的壳层厚度及孔径大小可控,且工艺步骤简单、反应迅速、有利于规模生产,但制备过程也存在团聚及二次成核的问题。

针对 PICA 法存在的问题,本研究改进了无孔硅核的表面修饰方法,有效地提高了材料的单分散性,制备的核壳微球经十八烷基三氯硅烷(C18)改性后装填色谱柱,应用于高效液相色谱检测 97% 盐酸小檗碱原药中,线性关系良好,操作简便,精密度与准确度完全满足分析检验要求,适用于质检机构与生产企业对小檗碱产品的质量监督与控制。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

正硅酸乙酯(TEOS)、尿素、甲醛、无水乙醇和盐酸,均为分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(17B410001);河南省高等教育教学改革研究与实践项目(2017SJGLX658);河南省科技发展计划项目(172102310754)

作者简介:岳瑞丰(1982-),男,硕士,讲师,主要研究方向为化学化工合成与分析测试。

司;氨水(25%,分析纯),成都市科龙化工试剂厂;氯化钾(分析纯),天津博迪化工股份有限公司; γ -脲丙基三甲氧基硅烷(分析纯),南京能德新材料科技有限公司;硅溶胶(分析纯),山东百特新材料有限公司。

高效液相色谱仪(LC-20A 型),日本岛津公司;色谱装柱机(GY-50B 型),北京福思源机械加工部;扫描电镜(SEM,EVO18 型),德国 ZEISS 公司;透射电镜(TEM,JEM-2000EX 型),日本 LEOL 公司;比表面及孔径分析仪(Tri Star-3020 型),美国 Micromeritics 公司。

1.2 实验过程

1.2.1 无孔硅胶微球的制备

用洗净干燥好的量筒分别量取氯化钾溶液 18mL、氨水 38mL、无水乙醇 536mL 放入 2000mL 三口烧瓶中,在 30℃ 水浴下搅拌加热 0.5h。然后将含有一定量 TEOS 的乙醇溶液加入到上述溶液中,并在 30℃ 水浴加热搅拌的条件下反应 3h,反应完成后,在离心机中以 2000r/min 的速度离心 5min,取下层沉淀物用蒸馏水清洗到中性,最后用无水乙醇再洗一遍(便于烘干),把洗净的产物放到真空干燥箱中在 60℃ 水浴下干燥 12h。

1.2.2 无孔 SiO₂ 微球的改性

将干燥后的 SiO₂ 放入 500mL 三颈烧瓶中,加入 200mL 乙醇和 5mL γ -脲丙基三甲氧基硅烷,在 40℃ 水浴下搅拌反应 48h。反应完成后,离心取下层沉淀用无水乙醇反复清洗,然后放入真空干燥箱中在 60℃ 下干燥 12h。

1.2.3 SiO₂ 核-壳微球的制备

取 2.0g γ -脲丙基三甲氧基硅烷改性过的无孔 SiO₂ 微球和 2.0g 尿素,溶解分散在装有 300mL 去离子水的三口烧瓶中,加入 1.6g 硅溶胶,超声搅拌 5min 后用 HCl 溶液调 pH=1.5,室温条件下搅拌加入甲醛溶液,反应一段时间后停止搅拌,待溶液明显变色后,加入大量去离子水,老化一段时间后离心洗涤,60℃ 下干燥过夜,然后 600℃ 煅烧 12h 除去有机模板,即得到分散性良好的 SiO₂ 核-壳型微球。

1.3 表征

SiO₂ 核壳微球的形貌通过 SEM 进行测定,由于微球的导电性能较差,测试前喷金 120s,其核壳结构通过 TEM 进行测定。测试前将一定量的微球分散到乙醇中,分散均匀后将其滴加到碳支持膜上,待溶剂完全挥发后上样观察。SEM 和 TEM 图片通过软件 Corel-DRAW 10 组合。

SiO₂ 核壳微球的孔径分布和比表面积通过物理吸附实验得到,其中孔径尺寸和比表面积大小分别根据 BJH 法和 BET 法进行计算。

1.4 色谱柱的装填及色谱条件

将制备的核壳微球经 C18 衍生化后装填到色谱柱(250mm×4.6mm),流动相为磷酸二氢铵溶液(0.01mol/L,磷酸调 pH=2.8)和乙腈,体积比为 75:25,过滤脱气;流动相流速 1.0mL/min;柱温为室温;检测波长 345nm;进样量 10 μ L。

称取盐酸小檗碱标样 0.02g(精确至 0.0002g),置于 50mL 容量瓶中,加入 20mL 流动相溶液,超声 3min 使之溶解,冷却至室温,用流动相溶液定容,摇匀备用。称取约含盐酸小檗碱 0.02g(精确至 0.0002g)的试样,置于 50mL 容量瓶中,加入 20mL 流动相溶液,超声 3min 使之溶解,冷却至室温,用流动相溶液定容,摇匀、过滤备用。

2 结果与讨论

2.1 结构与形貌分析

单分散无孔 SiO₂ 的质量在一定程度上决定了制备的核壳 SiO₂ 微球的粒径和单分散性。因此,制备具有良好单分散性的无孔 SiO₂ 微球是成功制备核-壳微球的关键。无孔 SiO₂ 微球通常用 Stöber 方法制备,但很难制备得到微米级颗粒。基于这种方法开发的种子生长方法可以生产出粒径更大的 SiO₂ 微球,但此方法的缺点在于会出现二次成核现象且重复性较差。本实验通过加入电解质来降低 SiO₂ 表面电势促进粒径生长的方式来改进实验。无孔 SiO₂ 微球的 SEM 和 TEM 结果见图 1。由图可知,制备的无孔 SiO₂ 微球的粒度分布均匀,粒径大小相差不多,其平均粒径约为 4 μ m。

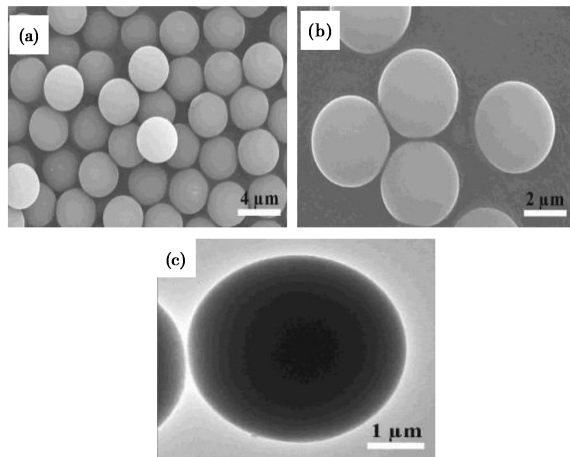


图 1 无孔 SiO₂ 微球的 SEM 图(a—b,不同分辨率)和 TEM 图(c)

传统的 PICA 法在制备 SiO_2 核壳微粒时,极易出现团聚、二次成核和多孔壳层厚度分布不均的问题。本研究以自制的微米级单分散无孔 SiO_2 微球为内核,以 γ -脲丙基三甲氧基硅烷作为改性剂来增强无孔硅球表面与脲醛树脂间的亲和度,然后将改性后的硅胶核分散到一定浓度的尿素甲醛溶液中,用 HCL 调节反应溶液的 pH 以控制脲醛树脂的形成速度来实现对无孔核的均匀包覆,最后对所制备的杂合微球进行煅烧处理,得到核壳微球,结果见图 2。由图可知,制备出的核壳微球粒径均匀,单分散性良好,微球表面纳米粒子清晰可见,堆积形成的孔径结构也较为明显。另外,由 SiO_2 纳米粒子堆积形成的介孔 SiO_2 壳层均匀地包覆于硅核周围,厚度约为 500nm。

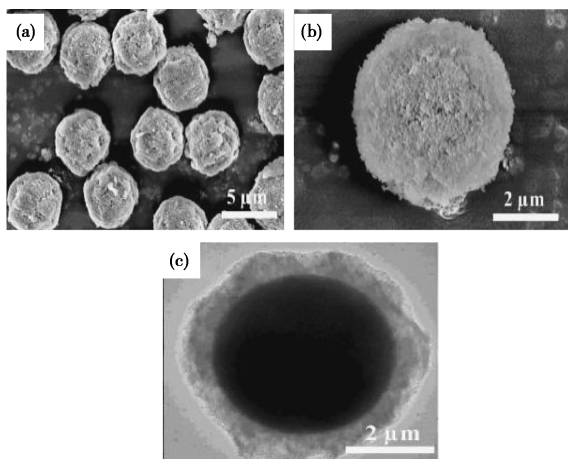


图 2 SiO_2 核壳微球的 SEM 图(a—b,不同分辨率)和 TEM 图(c)

然后对所制备材料的孔径结构进一步表征,结果见图 3。由图可知,根据 BJH 法测试出其平均孔径约为 12.3nm,该孔径尺寸适合于小分子的分离

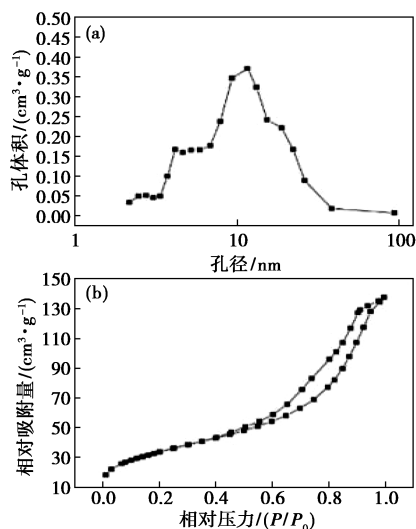


图 3 SiO_2 核壳微球的孔径分布图(a)和 BET 吸附曲线图(b)

分析,且该材料测试结果的回滞环为 H2 型,说明孔径结构是由均匀粒子堆积孔组成的,其比表面积为 $121.3\text{m}^2/\text{g}$ 。

2.2 SiO_2 核壳微球在 97% 盐酸小檗碱原药测试中的应用

将制备的填料经过 C18 衍生化后装填到液相色谱柱中,应用于 97% 盐酸小檗碱原药的检测,首先测定了已知浓度的盐酸小檗碱标样,色谱分析结果见图 4(a)。由图可知,保留时间为 18.98min,色谱峰形较好。图 4(b)为试样中盐酸小檗碱的液相色谱图。由图可知,其保留时间为 18.95min,峰形较好。在相同的色谱操作条件下,比较试样溶液的色谱峰保留时间与标样溶液中盐酸小檗碱色谱峰的保留时间,其相对差值小于 1.5%,故鉴别实验可用于盐酸小檗碱质量分数的测定。

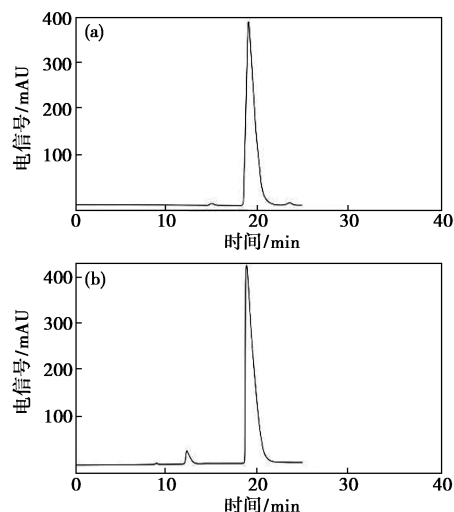


图 4 盐酸小檗碱在标样中(a)和试样中(b)的液相色谱图

实验接下来测试了该分析方法的线性相关性,在确定的色谱分离条件下,配制一系列不同质量浓度的标准溶液进行测定,每个浓度平行测试 5 次,取中间 3 次并计算峰面积的平均值。以盐酸小檗碱的质量浓度为横坐标,以其峰面积值为纵坐标作图,得线性回归方程和相关系数见表 1。由表 1 可知,盐酸小檗碱在 $87.4 \sim 847\mu\text{g}/\text{mL}$ 质量浓度范围内线性关系良好,具有较好的定量线性关系。

表 1 线性相关性测定数据

序号	浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	峰面积/mV	线性方程
1	87.4	2998.5	$y = 34.96x - 55.17$ $R^2 = 0.9992$
2	338.8	11415.6	
3	423.5	14856.2	
4	635.2	22499.1	
5	847.0	29378.8	

对一已知质量浓度的盐酸小檗碱试样进行加标回收率实验,结果见表 2。由表 2 可知,盐酸小檗碱的平均回收率为 98.82%,可见本方法测定盐酸小檗碱的质量分数准确度较高。

表 2 盐酸小檗碱回收率

编号	本底量/ mg	加入量/ mg	理论量/ mg	测定值/ mg	回收率/ %	平均回收率/ %
1	12.3	10.2	22.5	22.31	99.16	
2	11.5	10.2	21.7	21.43	98.76	
3	10.8	10.2	21.0	20.69	98.52	98.82
4	13.6	10.2	23.8	23.57	99.03	
5	10.2	10.2	20.4	20.12	98.63	

最后对该方法的精密度进行分析,具体方法是对同一样品中的盐酸小檗碱的质量分数进行 5 次平行测定,并进行标准偏差及变异系数的统计运算,结果见表 3。由表 3 可见,本方法对盐酸小檗碱分析的变异系数为 0.87%。因此,本方法分析盐酸小檗碱的精密度较好,能对有效成分进行精确分析。

表 3 盐酸小檗碱精密度测定

试样	1	2	3	4	5	平均 值/%	标准偏 差/%	RSD/ %
测定值/%	97.32	97.15	97.25	97.36	97.19	97.25	0.087	0.090

3 结语

综上所述,本实验首先通过添加电解质的方法成功制备出平均粒径为 $4\mu\text{m}$ 的单分散无孔 SiO_2 微球,以制备的无孔硅球为核,通过脲醛缩合反应将硅胶纳米粒子包覆到其表面,通过煅烧除去脲醛树脂得到表面多孔的材料,改进实验方法成功解决了传统制备方法中易出现团聚和粒径分布不均等问题。将制备的核壳微球经 C18 改性后装填色谱柱,并将其应用于 97% 盐酸小檗碱原药测试中,取得了较好的测试效果,说明本实验制备的新型填料适用于高效液相色谱对小分子物质的分离分析。

参考文献

- [1] Kirkland J J, Schuster S A, Johnson W L, et al. Fused-core particle technology in high-performance liquid chromatography: an overview[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2013, 3(5): 303-312.
- [2] Schuster S A, Boyes B E, Wagner B M, et al. Fast high performance liquid chromatography separations for proteomic

applications using Fused-Core® silica particles[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1228: 232-241.

- [3] Fekete S, Berky R, Fekete J, et al. Evaluation of recent very efficient wide-pore stationary phases for the reversed-phase separation of proteins[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1252(16): 90-103.
- [4] Fekete S, Berky R, Fekete J, et al. Evaluation of a new wide pore core-shell material (Aeris™ WIDEPOR) and comparison with other existing stationary phases for the analysis of intact proteins[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1236(2): 177-188.
- [5] González-Ruiz V, Olives A I, Martín M A. Core-shell particles lead the way to renewing high-performance liquid chromatography[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2015, 64: 17-28.
- [6] Guiochon G. Monolithic columns in high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2007, 1168: 101-168.
- [7] Hayes R, Ahmed A, Edge T, Zhang H F. Core-shell particles: preparation, fundamentals and applications in high performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2014, 1357: 36-52.
- [8] Ali I, Gaitonde V D, Grahn A. Halo columns: new generation technology for high speed liquid chromatography[J]. Journal of Chromatographic Science, 2010, 48(5): 386-394.
- [9] Gritti F, Guiochon G. The current revolution in column technology: how it began, where is it going? [J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1228(5): 2-19.
- [10] Wu X B, You L J, Di B, et al. Novel chiral core-shell silica microspheres with trans-(1R, 2R)-diaminocyclohexane bridged in the mesoporous shell: synthesis, characterization and application in high performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1299(13): 78-84.
- [11] Wagner B M, Schuster S A, Boyes B E, et al. Superficially porous particles with 1000 Å pores for large biomolecule high performance liquid chromatography and polymer size exclusion chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1489: 75-85.
- [12] Dong H, Brennan J D. Rapid fabrication of core-shell silica particles using a multilayer-by-multilayer approach[J]. Chemical Communications, 2011, 47(4): 1207-1209.
- [13] Yoon S B, Kim J Y, Kim J H, et al. Synthesis of monodisperse spherical silica particles with solid core and mesoporous shell: mesopore channels perpendicular to the surface[J]. Journal of Materials Chemistry, 2007, 17(18): 1758-1761.
- [14] Kirkland J J, Truszkowski F A, Dilks Jr C H, et al. Superficially porous silica microspheres for fast high-performance liquid chromatography of macromolecules [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 890(1): 3-13.
- [15] Chen W, Wei T C. Superficially porous particles and methods of making and using same: US, 7846337 B2[P]. 2010-12-07.

收稿日期: 2018-11-15