

气相色谱法测定甘油中杂质乙二醇与二甘醇的含量

赵鑫¹, 肖玉平¹, 黄荣林¹, 黄碧云^{2*}

(1. 广东轻工职业技术学院食品与生物工程系, 广州 510300; 2. 广州医科大学药学院, 广州 510182)

[摘要] 目的: 采用气相色谱(GC)法测定甘油样品中乙二醇与二甘醇的含量。方法: 色谱柱为键合 6% 氰丙基-96% 二甲基聚硅氧烷的毛细管柱(DB-624), 采用程序升温方式, 内标法进行定量。结果: 乙二醇、二甘醇检测质量浓度在 20.00 ~ 160.00 mg·L⁻¹ 样品峰面积与内标峰面积比值与浓度线性关系良好, 乙二醇线性回归方程为 $Y_{EG} = 0.004X - 0.025$ ($r = 0.9998$), 平均回收率 101.80%, RSD 1.6%; 二甘醇线性回归方程为 $Y_{DEC} = 0.0042X - 0.0457$ ($r = 0.9998$), 平均回收率 98.95%, RSD 1.9%。结论: 方法简单、出峰时间短, 可以更好地用于甘油的质量控制。

[关键词] 气相色谱; 甘油; 乙二醇; 二甘醇

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0171-04

[doi] 10.11653/syfy2013160171

Determination the Content of Ethylene Glycol and Diethylene Glycol in Glycerol Samples Using Gas Chromatography

ZHAO Xin¹, XIAO Yu-ping¹, HUANG Rong-lin¹, HUANG Bi-yun^{2*}

(1. Department of Food and Bioengineering, Guangdong Industry Technical College, Guangzhou 510300, China;
2. School of Pharmaceutical Sciences, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, China)

[Abstract] **Objective:** A gas chromatographic (GC) method for ethylene glycol and diethylene glycol determination in glycerol samples was established. **Method:** 6% cyanopropyl-phenyl and 94% dimethyl polysiloxane capillary column (DB-624) was used. The internal standard method with temperature-programmed mode was used for quantitative analysis. **Result:** The sample peak area and the internal standard peak area ratio to the concentration of samples for both the ethylene glycol and the diethylene glycol had a good linear relation in the range of 20.00-160.00 mg·L⁻¹. The linear equation of ethylene glycol was $Y_{EG} = 0.004X - 0.025$ ($r = 0.9998$). The average recovery was 101.80% and RSD was 1.6% ($n = 9$). The linear equation of diethylene glycol was $Y_{DEC} = 0.0042X - 0.0457$ ($r = 0.9998$). The average recovery was 98.95% and RSD was 1.9% ($n = 9$).

Conclusion: The method has a short peak retention time, which can be used for quality control of the glycerol.

[Key words] gas chromatography; glycerol; glycol; diethylene glycol

甘油是常见的日用化妆品辅料,也是药物制剂中常用辅料之一,可用于口服液体,外用液体剂甚至注射剂中。该辅料被收录到《中国药典》、

《欧洲药典》、《英国药典》、《美国药典》等多部药典。甘油中存在的降解产物乙二醇和二甘醇等杂质,能引起中枢神经的抑制和肝肾的损害^[1-2],很多国家都明令禁止或限制二甘醇的使用。《中国药典》^[3]、《美国药典》^[4]及《欧洲药典》^[5]中均对甘油中乙二醇和二甘醇的限量进行了控制。

毛细管气相色谱法是分析挥发性成分的常用方法^[6-8],本研究采用毛细管柱气相色谱法对甘油进行分析,建立了能准确测定甘油中的二甘醇、乙二醇等杂质含量的方法。已有文献报道乙二醇和二甘醇

[收稿日期] 20121008(003)

[第一作者] 赵鑫,博士,讲师,从事计算机辅助药物分子设计研究, Tel: 13450297078, E-mail: zhaoxingy@gmail.com

[通讯作者] * 黄碧云,硕士,实验师,从事仪器分析研究, Tel: 020-81340243, E-mail: guangyihby@126.com

的含量测定^[9-12],本研究建立的方法对于保证食品、制药等多行业甘油的安全使用提供一定参考依据。

1 材料

7890A 型气相色谱仪,配备 FID 检测器及 G4513A 自动进样器,Agilent Rev. B.04.02 GC 工作站(美国安捷伦公司),AB135-S 型电子分析天平(德国,METTLER TOLEDO)。

乙二醇对照品(批号 WTN20100316)、二甘醇对照品(批号 WTN20100412)、正己醇对照品(批号 WTN20080613)均为 GCS ≥ 99.5%,由国药集团化学试剂有限公司提供;甲醇(Merck, HPLC 级),甘油(由厦门鱼肝油厂提供,批号 GY001S, GY002S, GY003S)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 键合 6% 氰丙基-96% 二甲基聚硅氧烷的毛细管柱(DB-624, 1.8 μm × 0.32 mm × 30 m, 安捷伦),程序升温,初始温度 100 °C,保持 4 min,以 50 °C · min⁻¹ 的速率升温至 220 °C,保持 6 min,进样口温度 200 °C,检测器温度 250 °C,载气为高纯氮气,流速 4.5 mL · min⁻¹,氢气流量 40 mL · min⁻¹,空气流量 350 mL · min⁻¹,尾吹流量 15 mL · min⁻¹,分流进样,分流比 1:10,进样量 1 μL,内标法定量。

2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液的制备 取正己醇对照品适量,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 含 5 mg 的正己醇对照品储备溶液;精密移取 5.0 mL 该储备溶液于 50 mL 量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,制成每 1 mL 含 0.5 mg 的正己醇内标溶液。

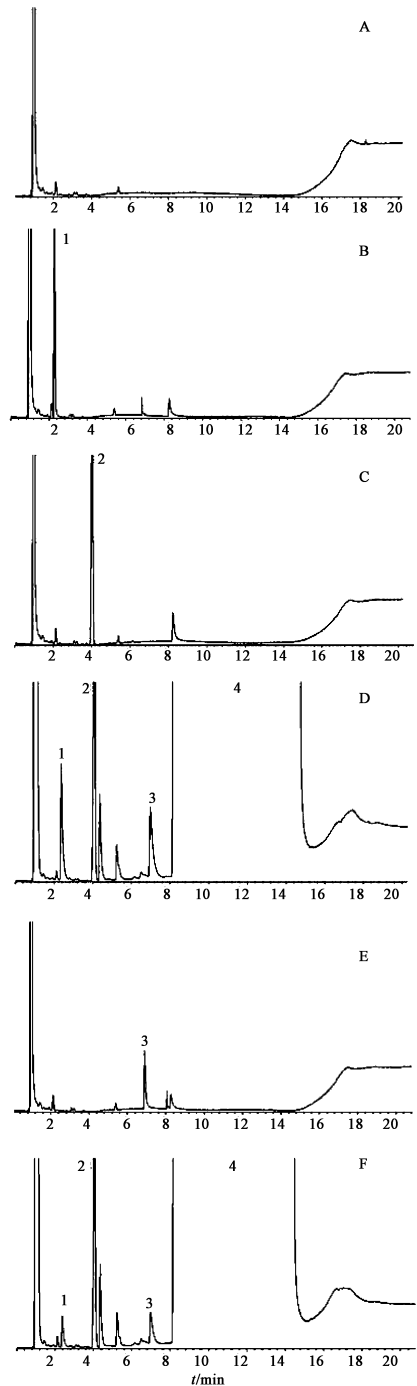
2.2.2 对照品溶液的制备 称取乙二醇对照品和二甘醇对照品适量,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成每 1 mL 含 5 mg 乙二醇和 5 mg 二甘醇的对照品混合储备液。

精密移取上述对照品混合储备溶液 5.0 mL 于 50 mL 量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,配制成每 1 mL 含 0.5 mg 的乙二醇和 0.5 mg 二甘醇的对照品混合溶液;精密量取 5.0 mL 上述对照品混合溶液,置于 25 mL 量瓶中,精密加入正己醇内标溶液 5.0 mL,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备 取甘油约 10 g,精密称定,置于 25 mL 量瓶中,精密加入正己醇内标溶液 5.0 mL,加入甲醇稀释至刻度,作为供试品溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 分别取二甘醇、乙二醇、正己醇对照品适量,精密称定,用甲醇配制成 1 mg · L⁻¹ 左右,分别进样 1 μL,记录色谱图。结果,乙二醇的保留时间为 2.3 min,正己醇的保留时间为 4.0 min,二甘醇的保留时间为 6.9 min,取甲醇空白进样,结果甲醇空白在样品出峰时间处均无干扰(图 1)。



A. 空白溶剂(甲醇);B. 乙二醇对照品;C. 正己醇对照品;
D. 二甘醇对照品;E. 系统适用性;F. 供试品;
1. 乙二醇;2. 正己醇;3. 二甘醇;4. 甘油

图 1 甘油气相色谱

2.3.2 系统适用性试验 另取二甘醇、乙二醇、正己醇和甘油适量,精密称定,加甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 含有甘油 400 mg,二甘醇、乙二醇、正己醇各 0.1 mg 的溶液,作为系统适用性试验溶液。精密吸取上述已配制的系统适用性试验溶液 1 μ L 注入气相色谱仪,记录色谱图。结果如图 1 所示,二甘醇、乙二醇、正己醇和甘油各峰均能达到完全分离。理论板数按二甘醇峰计算不低于 20 000,二甘醇、乙二醇、正己醇与甘油峰之间的相互分离度 ≥ 1.5 。

2.3.3 线性关系考察 精密量取对照品混合储备液 1.0,2.0,3.0,4.0,5.0,6.0,7.0,8.0 mL 分别置 25 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 5 mL,甲醇稀释到刻度,摇匀,吸取 1 μ L 注入气相色谱,分别以乙二醇、二甘醇对照品质量浓度(X , $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标,乙二醇、二甘醇样品峰面积与内标峰面积比值(Y)为纵坐标,进行线性回归,得线性方程, $Y_{\text{EG}} = 0.004 X - 0.025$ ($r = 0.999 3$),线性范围分别为 20.00 ~ 160.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,二甘醇 $Y_{\text{DEG}} = 0.004 2X - 0.045 7$ ($r = 0.999 3$),线性范围 20.00 ~ 160.00 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3.4 精密度试验 取对照品溶液,重复进样 6

针,乙二醇、二甘醇样品峰面积与内标峰面积比值的 RSD 分别为 0.7%,1.0%,结果表明,本方法的精密度可靠。

2.3.5 重复性试验 取同一批甘油样品 6 份,按 2.2.3 项下方法制备供试品溶液,并按 2.1 项下色谱条件测定,计算乙二醇的平均含量为 0.007%,RSD 1.4%,二甘醇的平均含量为 0.010%,RSD 1.6%,结果表明本方法的重复性良好。

2.3.6 稳定性试验 称取甘油样品约 10 g,精密称定,置 25 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 5 mL,用甲醇稀释到刻度,摇匀,分别在 0,3,6,9,12 h 吸取 1 μ L 注入气相色谱仪,乙二醇、二甘醇样品峰面积与内标峰面积比值的 RSD 分别为 1.9%,1.7%,结果表明,该供试品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.3.7 回收率试验 精密量取混合对照品溶液 1.6,2,2.4 mL 各 3 份,置于 25 mL 量瓶中,分别加入已知含量并精密称定的甘油样品 10 g,内标溶液 5 mL,用甲醇稀释到刻度,摇匀,吸取 1 μ L 注入气相色谱,代入线性方程并计算回收率,回收率结果见表 1。

表 1 乙二醇和二甘醇的加样回收率试验

成分	甘油样品 称样量/g	样品中含量 /mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
乙二醇	10.030 4	0.671 2	0.798 4	1.466 7	99.64	101.80	1.6
	10.039 1	0.661 6	0.798 4	1.487 1	103.39		
	10.035 8	0.664 0	0.798 4	1.494 4	104.00		
	10.032 4	0.671 2	0.998 0	1.687 3	101.81		
	10.037 1	0.661 6	0.998 0	1.694 3	103.48		
	10.034 3	0.664 0	0.998 0	1.689 0	102.71		
	10.051 6	0.671 2	1.197 6	1.866 8	99.83		
	10.072 5	0.661 6	1.197 6	1.869 7	100.88		
	10.094 3	0.664 0	1.197 6	1.866 8	100.43		
	二甘醇	10.030 4	1.020 4	0.800 0	1.800 8		
10.039 1		1.004 9	0.800 0	1.791 0	98.26		
10.035 8		1.015 5	0.800 0	1.792 2	97.09		
10.032 4		1.020 4	1.000 0	1.939 6	96.00		
10.037 1		1.004 9	1.000 0	2.024 5	101.96		
10.034 3		1.015 5	1.000 0	2.014 7	99.92		
10.051 6		1.020 4	1.200 0	2.233 3	101.08		
10.072 5		1.004 9	1.200 0	2.207 2	100.19		
10.094 3		1.015 5	1.200 0	2.197 6	98.51		

2.4 甘油样品测定 取 3 批次供试品溶液(批号 GY001S,GY002S,GY003S)各 1 μ L,注入气相色谱仪,记录色谱图,计算,即得。结果见表 2。

表 2 3 批注射用甘油样品中乙二醇和二甘醇的含量测定($n=3$)

产品名称	批号	乙二醇	二甘醇
注射用甘油	GY001S	0.007 1	0.011 2
注射用甘油	GY002S	0.006 6	0.011 2
注射用甘油	GY003S	0.007 2	0.010 6

根据以上实验结果,3 批样品杂质检测中乙二醇含量的平均值为 0.007%,二甘醇含量的平均值为 0.011%,均不超过 0.025%。

3 讨论

采用 HP-5, PEG-20M 柱和 DB-624 毛细管柱,以分离度和拖尾因子考察优化分离条件,最终发现,以 DB-624 毛细管柱可以获得最佳分离结果。与 Holloway G 等^[4]文献报道相比,本方法缩短了分离时间,提高了柱效。

按照药典的要求,乙二醇与二甘醇的总含量不超过 0.25%,从结果来看,本论文使用的注射级甘油样品的乙二醇与二甘醇的总含量远远低于 0.25%。

还对甘油样品进行了影响因素的考察。甘油样品经高温、高湿(RH 95%),光照(4500 lx),乙二醇与二甘醇的含量未见有显著性变化,但能检测出其他物质。影响因素实验说明甘油在贮存过程中能够产生其他降解产物,但其他降解产物限量符合《中国药典》规定,经扣除内标峰按面积归一化法计算,单个未知杂质均未超过 0.1%,杂质总量未超过 1.0%。

甘油样品经 6 个月的加速稳定试验和 24 个月的长期稳定性试验考察,乙二醇与二甘醇的含量未见有显著性变化,说明贮存不会导致乙二醇和二甘醇的含量增多。

[参考文献]

- [1] Winek C L, Shingleton D P, Shanor S P. Ethylene and Diethylene Glycol Toxicity [J]. *Clinical Toxicology*, 1978, 13(2):97.
- [2] Alfred S, Coleman P, Harris D, et al. Delayed neurologic sequelae resulting from epidemic diethylene glycol poisoning[J]. *Clinical Toxicology*, 2005,43(3):155.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:1189.
- [4] USP32-NF27 [S]. The United States Pharmacopeial Convention 2009:1245.
- [5] 01/2008:0496. European Pharmacopeia [S]. 7.0. 2008:2108.
- [6] 刘丽娜,樊燕,郑林,等. 气相色谱法同时测定莲菊感冒胶囊中 16 种有机残留溶剂[J]. *中国实验方剂学杂志*,2012,18(20):125.
- [7] 林霄,刘元,柴玲,等. 毛细管气相色谱法测定八角茴香油中草蒿脑的含量[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012,18(19):89.
- [8] 李庆斌,黄英栋,唐丽丽,等. 气相色谱法测定冠心病合剂中土木香内酯和异土木香内酯的含量[J]. *中国实验方剂学杂志*,2011,17(15):101.
- [9] Holloway G, Maheswaran R, Leeks A, et al. Screening method for ethylene glycol and diethylene glycol in glycerin-containing products [J]. *J Pharma Biomed Ana*, 2010, 51(3):507.
- [10] Williams R H, Shah S M, Maggiore J A, et al. Simultaneous detection and quantitation of diethylene glycol, ethylene glycol, and the toxic alcohols in serum using capillary column gas chromatography[J]. *J Anal Toxicol*, 2000,24(10):621.
- [11] 何建平,叶兴法. 气相色谱法测定药物中二甘醇的含量[J]. *中国现代应用药学杂志*,2007,24(3):232.
- [12] 俞如英,朱伟华. 毛细管气相色谱法测定药用甘油中乙二醇和二甘醇[J]. *药物分析杂志*,1998,18(增):200.

[责任编辑 顾雪竹]