

# 反吹气相色谱法测定药物辅料 PEG 中的杂质

张杨刚 车金水 王申

赛默飞世尔科技（中国）有限公司色谱质谱部

## 关键词

Keywords: Trace1310, Backflush, Pharmaceutical impurities, PEG

## 目标

建立高灵敏度、高稳定性的 GC 方法检测 PEG 中的乙二醇、二甘醇、三甘醇等杂质。采用进样口反吹技术消除 PEG 基质对分析的干扰。

## 引言

聚乙二醇 (PEG) 是一种常用药用辅料，是用环氧乙烷与乙二醇类原料或水加成聚合得到的聚合物。室温下，聚乙二醇 200~600 者是液体；聚乙二醇 1000 及以上者是固体。目前列于中国药典 2015 版的有聚乙二醇 300（注射级），聚乙二醇 400，600，1000 和 4000 这几类<sup>[1]</sup>。

聚乙二醇是在催化剂作用下在二元醇体系中发生的典型的环氧乙烷开环聚合反应而合成的。该反应会生成不同分子量聚乙二醇的多分散混合物，这些不同分子量聚乙二醇聚合物按泊松分布分布在目标分子量周围。因此乙二醇、二甘醇、三甘醇作为工艺过程中产生的低聚物不可避免地残留于聚乙二醇产品中，且在不同分子量的聚

乙二醇产品中浓度也不相同<sup>[2]</sup>。乙二醇、二甘醇、三甘醇的毒性较低，2015 版中国药典对其的限值规定为 0.1%，检测方法为气相色谱柱法。目前主要的问题有：

1. 为了将高沸点的 PEG 基质从色谱柱中洗脱，需要延长程序升温高温保持时间，导致总分析时间达到 122 min。
2. 高沸点的 PEG 杂质有部分仍然会残留在色谱柱中，导致色谱柱柱效降低。为了解决高沸点基质的干扰问题，我们在赛默飞（ThermoScientific）的 Trace 1300 气相色谱平台上，使用带反吹功能的分流 / 不分流进样口对高沸点组分进行反吹去除，从而对 PEG 中的乙二醇、二甘醇等进行快速、准确的分析。值得一提的是，Thermo Scientific 推出的这款带反吹功能的分流 / 不分流进样口是模块化设计的。所谓模块化设计是指其结构紧凑，模块中配备了自身所需的所有硬件电子载体控制，用户可自行拆卸、安装。因此，与传统的六通阀进样反吹配置相比，这种模块化配置更简单，更易于操作和后期维护。

## 方法原理概述

如图 1 所示，将进样口的反吹管路、预柱和分析柱分别连接于一个三通的三个口。当“反吹”关闭时，如图 1A 所示，载气通过进样口将衬管中的样品依次带入预柱、分析柱，最后进入检测器；当目标物进入分析柱而重组

杂质仍然保留在预柱上时，开启“反吹”功能，如图 1B 所示，载气通过反吹管路后到达三通接头的中心位置，预柱中的重组分被反吹放空，同时分析柱中的载气仍然保持原来的流向，对分析柱中的目标组分进行洗脱分离。

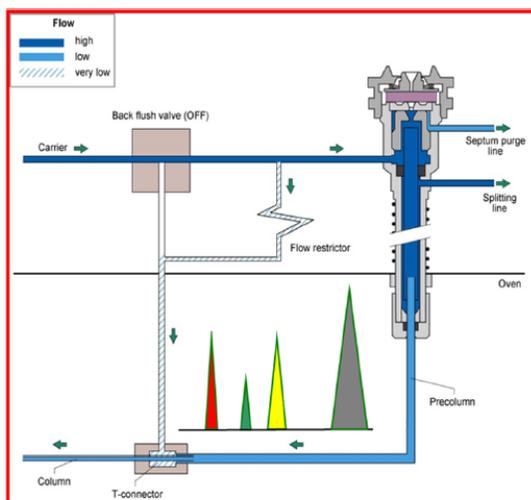


图 1A. “反吹”关闭时载气流向示意图

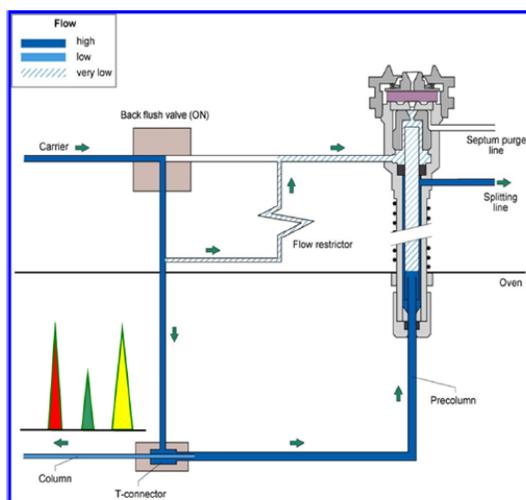


图 1B. “反吹”开启时载气流向示意图

## 仪器

TRACE 1310 气相色谱：带反吹功能的分流 / 不分流进样口、氢火焰离子化检测器（FID）。

AS1310 自动进样器

Thermo Scientific 变色龙数据处理系统

## 试剂及耗材

除非另有规定，本方法所用试剂为色谱纯。

载气：氮气，纯度不小于 99.999%

TG-17 SiIMS, 30 m, 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$  (PN: 26072-1420)

GuardGOLD 5m,0.53 mm (PN: 26050-0553)

## 标准溶液的制备

标准样品为乙二醇、二甘醇、三甘醇，内标为 1,3- 丁二醇。称取适量后，使用甲醇（色谱纯）稀释到相应浓度。对照品和内标的浓度为 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。标准曲线的浓度分别为：20、40、100、200、400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。供试品溶液浓度为 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，加入内标至浓度为 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

## 实验条件

仪器参数设置见表 1。

表 1. 气相色谱参数设置

进样方式及进样体积	液体直接进样，1 $\mu\text{L}$ ；进样模式：分流进样，分流比：10，开启反吹时间：10 min 进样口温度：340 $^{\circ}\text{C}$
载气类型及流速	高纯氮气，恒流模式，流速：1.5 mL/min
程序升温条件	35 $^{\circ}\text{C}$ 保持 4 min，10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 120 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min；30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 340 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5min。
检测器类型、工作参数	FID 检测器，320 $^{\circ}\text{C}$ 氢气：35 mL/min 空气：350 mL/min 氮气：40 mL/min

色谱柱系统的连接如图 1 所示。预柱入口与分流 / 不分流进样口相连，出口连接于三通处，分析柱出口与检测器相连接，进口连接于三通处。通过设置“反吹起始时间”和“反吹持续时间”定义反吹行为。通常反吹持续时间设置为总默认值，以确保在后续运行过程中一直保持反吹状态。

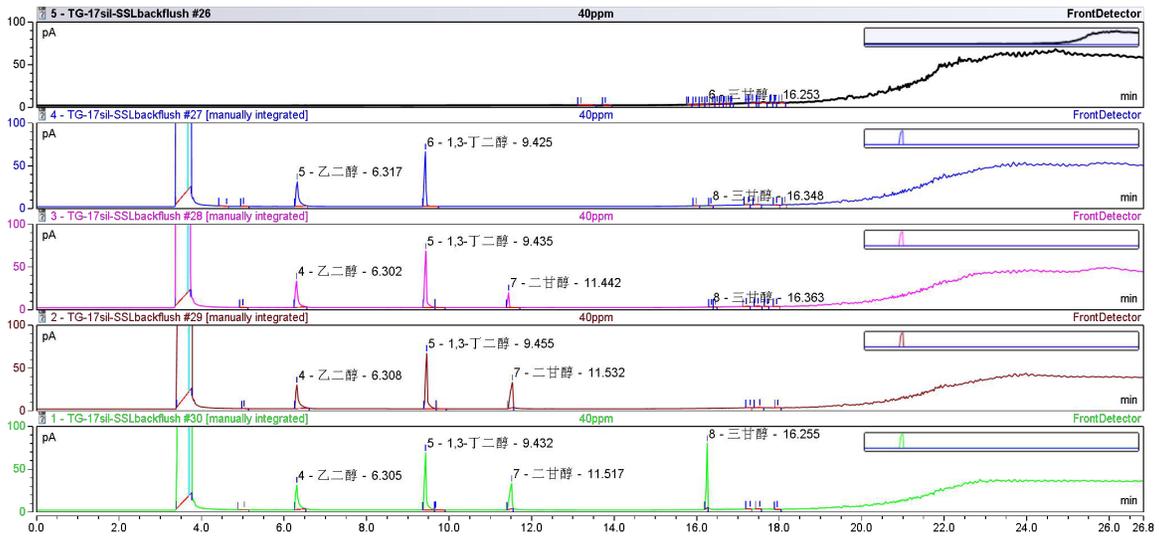


图 2. 400  $\mu\text{g/mL}$  标准样品不同反吹开始时间的色谱图 (从上到下反吹开始时间依次为: 1,3,5,7,10 min)

反吹起始时间是反吹法的一个重要影响因素, 该时间设置的太早会导致目标样品刚进入预柱就会被反吹处分流口, 从而目标组分不出峰; 设置的太晚会导致重组分的杂质也会进入到分析柱中, 从而杂质干扰未得到排除。

从上图可以看到, 随着反吹开始时间的增加, 目标组分进入分析柱的含量随之提高。在 10 min 时, 最后一个组分三甘醇才能完全进入分析柱。

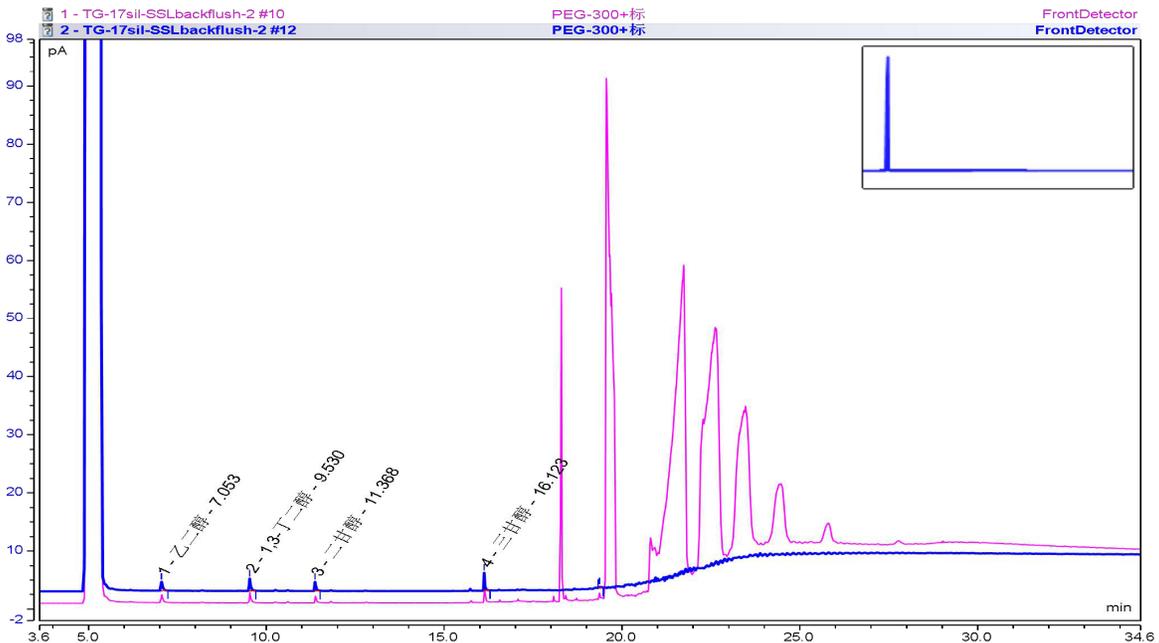


图 3. PEG-300 加标样 (40  $\mu\text{g/mL}$ ) 反吹和常规模式对比

如上图 3 所示, 和常规分流进样相比, 使用上述的反吹方法能显著降低实际样品中的重组分杂质的干扰, 并且目标组分的回收率在 94%-102%。

## 结果与讨论

按照上述优化后的实验条件，测定了对照品混合标准溶液谱图，见图3。其中7.05 min为乙二醇，9.53 min为内标1,3-丁二醇，11.4 min为二甘醇，18.1 min为三甘醇。采用内标法定量，方法检出限分别为：2.3, 1.6, 2.9  $\mu\text{g/mL}$ ，对应PEG中的浓度分别为0.06, 0.04, 0.07 mg/g，远小于药典限值0.1% (1mg/g)。5次对照品重复进样的RSD为1.93%，2.61%，1.59%。分析上述标准工作溶液，采用内标法得到线性曲线如下图4所示，在20  $\mu\text{g/mL}$ -400  $\mu\text{g/mL}$ 的线性范围内，线性系数分别99.6%、99.7%、99.7%。

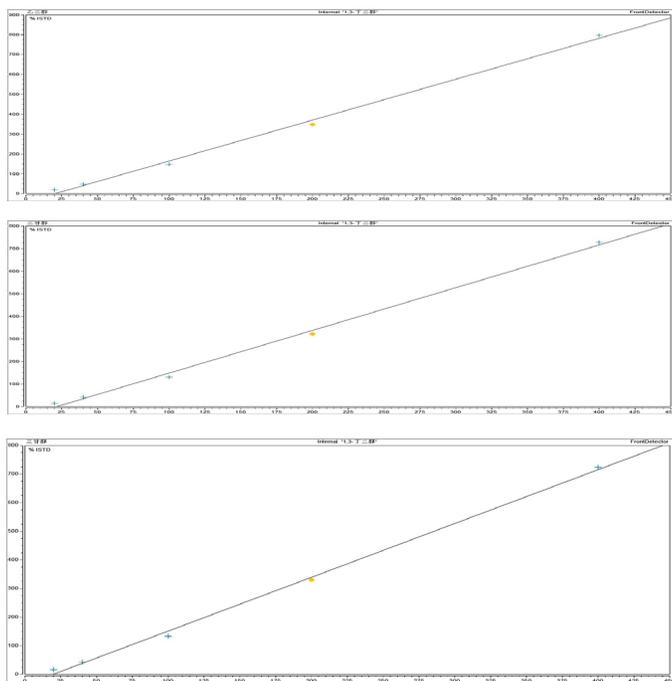


图4. 线性曲线

回收率及精密度实验：用标准添加法，在PEG300，PEG600及PEG4000样品中，添加乙二醇、二甘醇、三甘醇及内标1,3-丁二醇混合标准溶液，做加标回收实验，按上述方法进行测定，样品添加浓度为1 mg/g，加标回收率见表2。可以看到，加标回收率在82.1-102.2%之间，满足分析要求。

表2. 实际样品加标回收率 (加标样40  $\mu\text{g/mL}$ )

加标回收率	乙二醇	二甘醇	三甘醇
PEG-300	82.4%	90.5%	90.5%
PEG-600	99.4%	102.2%	96.0%
PEG-4000	82.1%	93.6%	93.6%

## 结论

PEG中的残留杂质的测定一直是一个难点问题，由于高分子基质的干扰，方法的分析效果及色谱柱使用寿命均受到不利影响。本方法采用赛默飞世尔带反吹模块的气相色谱仪，对高分子杂质进行反吹去除，对目标物进行内标法定量分析。结果表明，三种目标物的回收率为82.1-102.2%之间，5次平行测定的RSD值 $\leq$ 2.61%，方法检出限乙二醇为0.06，二甘醇0.04，三甘醇0.07 mg/g。该方法操作简单，重复性好，准确性高，能够满足一大类高分子辅料样品中低分子杂质的测定要求。

## 参考文献

- [1] 2015版中国药典第四部
- [2] 张园园, 李银峰, 王杰晶乖. 药物中痕量磺酸酯类物质的检测技术研究进展 药物评价研究, 2012,35 (4): 304-208.



赛默飞  
官方微信



赛默飞色谱  
和质谱中国

热线 800 810 5118  
电话 400 650 5118  
[www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC