顶空气相色谱法测定辛基酚聚氧乙烯醚 40 中的 4 种挥发性杂质

吕　波[1,2]，姜真真[3]，杜坤宇[1,2]，任会旭[1,2]，何　飞[4*]，刘益庆[1*]

（1. 连云港市食品药品检验检测中心，江苏连云港 222000；2. 江苏省食品药品监督检验研究院，国家药监局化学药品杂质谱研究重点实验室，江苏南京 210019；3. 中国药科大学药学院，江苏南京 211198；4. 江苏保易制药有限公司，江苏连云港 222200）

摘要：建立了顶空气相色谱（HS-GC）法测定辛基酚聚氧乙烯醚 40（OP-40）中乙醛、甲醛、环氧乙烷和二氧六环 4 种杂质的含量。采用标准加入法进行定量。样品以水溶解，在顶空室中需 70 ℃平衡 30 min。该法采用氢火焰离子化检测器和毛细管柱（60 m×0.25 mm×1.4 μm），在程序升温模式下进行测定。结果显示，在拟定的色谱条件下，4 种杂质分离良好，在 0.05 ～ 21.56 μg/g 内线性关系良好，检测限在 0.02 ～ 0.32 μg/g。乙醛、甲醛、环氧乙烷及二氧六环的平均回收率（n=9）分别为 103.3%、99.8%、99.1%、100.1%。建立的方法适用于 OP-40 中 4 种杂质的日常检测，为完善其质量标准提供了参考。

关键词：辛基酚聚氧乙烯醚 40；残留溶剂；顶空气相色谱法；标准加入法

中图分类号：R917　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)04-0541-06

引用：吕　波，姜真真，杜坤宇，等．顶空气相色谱法测定辛基酚聚氧乙烯醚 40 中的 4 种挥发性杂质［J］．中国医药工业杂志，2025, 56(4): 541-546．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.04.016

Determination of Four Volatile Impurities in Octoxynol 40 by Head-space Gas Chromatography

LYU Bo[1,2], JIANG Zhenzhen[3], DU Kunyu[1,2], REN Huixu[1,2], HE Fei[4*], LIU Yiqing[1*]

(*1. Lianyungang Food and Drug Inspection and Testing Center, Lianyungang 222000; 2. NMPA Key Lab. of Chemical Impurity Spectrum Research, Jiangsu Institute for Food and Drug Control, Nanjing 210019; 3. School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198; 4. Jiangsu Poly Pharmaceutical Company Limited, Lianyungang 222200*)

ABSTRACT: A headspace gas chromatography (HS-GC) method was established to determine the contents of four impurities, namely acetaldehyde, formaldehyde, ethylene oxide, and dioxane, in octylphenol polyoxyethylene ether 40 (OP-40). The standard addition method was employed for the analysis. The sample was dispersed with water as the solvent, and equilibrate at 70 ℃ for 30 min in the headspace chamber. A hydrogen flame ionization detector (FID) was used, and a capillary column (60 m×0.25 mm×1.4 μm) was employed for measurement at programmed temperature. The results showed that under the proposed chromatographic conditions, the 4 compounds were well separated, and it was linear for the four impurities in the range of 0.05 − 21.56 μg/g. The detection limits were 0.02 − 0.32 μg/g. The average recovery rates (n=9) of acetaldehyde, formaldehyde, ethylene oxide, and dioxane were 103.3 %, 99.8 %, 99.1 % and 100.1 %, respectively. The established method is applicable for the daily detection of four impurities in OP-40, which provides a reference for improving its quality specification

Key Words: octylphenol polyoxyethylene ether 40; residual solvent; headspace gas chromatography; standard addition method

药用辅料是药品的重要组成部分，直接影响药物制剂的质量与疗效。我国药用辅料行业的发展起步较晚，高端药用辅料的国产替代研究近年来日益受到重视，其中药用辅料的杂质控制尤为关键[1—2]。烷基酚聚氧乙烯醚（alkylphenol ethoxylates，APEO）类药用辅料，主要包括壬基酚聚氧乙烯醚（nonylphenol polyoxyethylene ether，NP，占80%以上）和辛基酚聚氧乙烯醚（octylphenol polyoxyethylene ether，OP，占15%以上）[3—4]，是一种烷基芳基聚醚醇型非离子型表面活性剂，常用作增溶剂、乳化剂，在凝胶剂、冲洗剂、海绵剂中发挥乳化、分散、抗静电等作用，还具有一定的抑菌性能，无毒，对人体无害，因此在眼用制剂以及注射剂中也常用作防腐剂。不同聚合度的APEO化学性质不同，其中以NP-9、OP-9、OP-10、OP-40较常用。

APEO主要由壬基酚或辛基酚与环氧乙烷经催化反应，再经过中和、提纯等步骤获得[5—7]。在聚合过程中，环氧乙烷作为起始物料会残留在终产品中，还可能会产生副产物二氧六环。APEO的制备过程中还会产生醛类物质，如甲醛与乙醛。环氧乙烷常用作灭菌剂，但其本身有一定毒性，2004年被美国政府工业卫生学家会议（American Conference of Governmental Industrial Hygienists，ACGIH）列为2A类致癌物，后在各类相关产品中均被限制使用。二氧六环属微毒类，对皮肤、眼部和呼吸系统有刺激性，还会对肝、肾和神经系统造成损害，急性中毒时可能导致死亡[8]。甲醛、乙醛是公认的有毒物质。2017年10月，WHO国际癌症研究机构公布的致癌物清单中，甲醛、乙醛分别被列为1类与2类致癌物[9]。此外，试验中还观察到APEO会在高温或光照强破坏条件下产生甲酸甲酯，而甲酸甲酯本身属3类低毒性溶剂，还会进一步降解产生甲醛；并且其与环氧乙烷在气相色谱方法中保留行为相近，存在干扰环氧乙烷测定的可能。

国内外药典对于APEO类药用辅料，均采用2种独立的方法分别对环氧乙烷与二氧六环进行测定，因采用外标法，配制对照品溶液时需预先将供试品在150～160 ℃下挥发3～5 h来作为稀释剂，以除去供试品中原有的杂质，操作烦琐。从药用辅料的国产替代角度出发，仅控制这2种杂质是不够的。甲醛和乙醛常采用衍生化等方法进行测定，操作也较为烦琐[9—10]。气相色谱法直接测定甲醛的难点在于其响应低，精密度往往难以达到要求。标准加入法可有效避免样品基质效应带来的干扰，且对于痕量检测结果来说准确度更高，方法也无须高温加热挥发，操作简便。

本研究以OP-40作为研究对象，采用顶空气相色谱法和标准加入法建立了同时测定4种杂质的分析方法，为完善其质量标准提供依据，为实现高端药用辅料的国产替代化提供了方法。

1　仪器与试药

GC2030型气相色谱仪（日本岛津公司）；XSR205DU型十万分之一电子分析天平（美国Mettler Toledo公司）。

OP-40（江苏保易制药有限公司，批号230303、240301；上海麦克林生化科技股份有限公司，批号C14369491；上海玻尔化学试剂有限公司，批号134D7B43493）；40%乙醛溶液（山东西亚化学有限公司，批号B6521）；环氧乙烷对照品（中国食品药品检定研究院，含量10 mg/mL，批号350007-202204）；甲醛（含量37%～40%），甲酸甲酯（含量≥99.5%），二氧六环（含量≥99.5%），水为超纯水。

2　方法与结果

2.1　色谱条件

色谱柱6%氰丙基苯基-94%二甲基聚硅氧烷（DB-624）为固定液的毛细管柱（60 m×0.25 mm×1.4 μm）；柱温　起始温度为35 ℃，维持5 min，以30 ℃/min的速率升温至200 ℃，维持8 min；流量3 mL/min；氢火焰离子化检测器温度220 ℃；进样口温度200 ℃；载气　高纯氮气；分流比5∶1；氢气流量30 mL/min；空气流量200 mL/min。

收稿日期：2024-07-25
基金项目：江苏省市场监督管理局科技计划项目（KJ2023064）
作者简介：吕　波（1988—），男，工程师，从事药物分析、药品检验检测工作。
通信作者：何　飞（1969—），男，助理研究员，从事药物新制剂与新剂型研发工作。
E-mail：bridgehf@163.com
刘益庆（1985—），男，副主任药师，从事药物分析、药品检验检测工作。
E-mail：33359083@qq.com

顶空进样参数：平衡温度 70 ℃；平衡时间 30 min；进样持续时间 1 min；顶空循环时间 35 min；进样环温度 105 ℃；传输线温度 200 ℃；顶空瓶规格 10 mL。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品母液与系统适用性母液

乙醛浓溶液（5 000 μg/mL）：取 40％乙醛溶液约 625 mg，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

甲醛浓溶液（5 000 μg/mL）：取甲醛溶液约 625 mg，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

环氧乙烷浓溶液（500 μg/mL）：精密量取环氧乙烷对照品 0.5 mL，置 10 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

甲酸甲酯浓溶液（5 000 μg/mL）：取甲酸甲酯约 250 mg，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

二氧六环浓溶液（5 000 μg/mL）：取二氧六环约 250 mg，精密称定，置 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

对照品母液：分别精密量取上述乙醛、甲醛、环氧乙烷与二氧六环浓溶液 1 mL，置同一 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

系统适用性母液：分别精密量取上述乙醛、甲醛、环氧乙烷、甲酸甲酯与二氧六环浓溶液 1 mL，置同一 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

2.2.2 对照品溶液

对照品贮备液：精密量取对照品母液 5 mL，置 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

对照品溶液：取 OP-40 约 1.00 g，精密称定，置顶空瓶中，精密加入上述对照品贮备液 1 mL，密封，摇匀，即得。

2.2.3 供试品溶液

取 OP-40 约 1.00 g，精密称定，置顶空瓶中，精密加入水 1 mL，密封，摇匀，即得。

2.2.4 系统适用性试验溶液

系统适用性贮备液：精密量取“**2.2.1**”项下系统适用性母液 5 mL，置 50 mL 量瓶中，加水定容，摇匀，即得。

系统适用性试验溶液：精密量取上述系统适用性贮备液 1 mL，置顶空瓶中，密封，摇匀，即得。

2.2.5 空白溶剂

精密量取水 1 mL，置顶空瓶中，密封，即得。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性试验

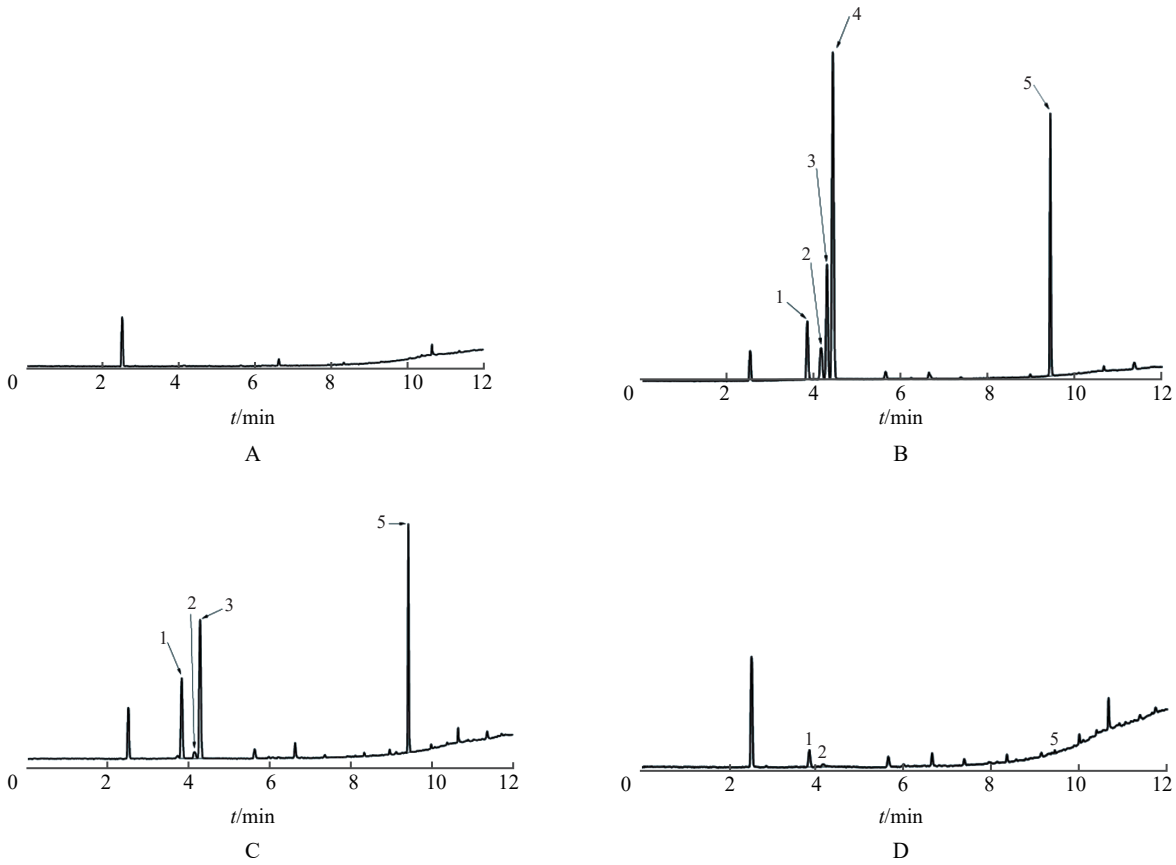
取“**2.2**”项下空白溶剂、系统适用性试验溶液、对照品溶液和供试品溶液（批号 240301），分别按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，结果如图 1 所示。在系统适用性试验溶液色谱图中，乙醛、甲醛、环氧乙烷、甲酸甲酯与二氧六环依次出峰，各组分相互间均能基线分离，理论塔板数均大于 28 000；并且空白溶剂对样品测定无干扰。

2.3.2 定量限（LOQ）与检测限（LOD）

取“**2.2**”项下对照品贮备液，用水逐步稀释制成一定浓度的溶液。再取 OP-40（批号 230303）约 1.00 g，精密称定，置顶空瓶中，分别精密加入上述溶液各 1 mL，密封，摇匀，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，以信噪比不低于 10 与信噪比约为 3 分别计算 LOQ 与 LOD。结果显示，乙醛 LOQ 为 0.30 μg/g，LOD 为 0.10 μg/g；甲醛 LOQ 为 1.08 μg/g，LOD 为 0.32 μg/g；环氧乙烷 LOQ 为 0.05 μg/g，LOD 为 0.02 μg/g；二氧六环 LOQ 为 0.51 μg/g，LOD 为 0.15 μg/g。

2.3.3 线性试验

分别精密量取“**2.2.1**”项下对照品母液 1、1、1、1、2、3、4 mL，分别置 200、100、50、20、20、20、20 mL 量瓶中，用水稀释制成系列不同质量分数的混合线性母液。取 OP-40（批号 230303）约 1.00 g，精密称定，置顶空瓶中，分别精密加入上述各浓度点混合线性母液 1 mL，密封，摇匀，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。以各组分峰面积（y）为纵坐标，乙醛、甲醛、环氧乙烷或二氧六环质量分数［c/(μg·g^{-1})］为横坐标，进行线性拟合。结果如表 1 所示，说明在考察范围内，各成分线性关系良好。



A—空白溶液；B—系统适用性试验溶液；C—对照品溶液；D—供试品溶液。
1—乙醛；2—甲醛；3—环氧乙烷；4—甲酸甲脂；5—二氧六环。

图 1　典型色谱图

Fig.1　Typical Chromatograms

表 1　线性试验结果

Tab.1　Results of Linearity Test

成分	浓度范围 /(μg·g^{-1})	线性方程	相关系数 r
乙醛	1.36 ～ 21.49	y=673.653 3c+214.378 4	0.999 7
甲醛	1.08 ～ 21.56	y=45.685 1c+23.105 8	0.999 5
环氧乙烷	0.05 ～ 2.00	y=13 868.383 2c+60.069 1	0.999 8
二氧六环	0.51 ～ 20.56	y=1 262.155 4c－111.479 1	0.999 9

注：溶液配制所用 OP-40，预先经 70 ℃减压干燥 48 h，以除尽本底中原有乙醛量。

2.3.4　精密度试验

系统精密度：平行配制 6 份对照品溶液，依次连续进样。乙醛、甲醛、环氧乙烷和二氧六环的进样精密度 RSD(n=6) 结果分别为 1.4%、2.8%、0.7%、1.3%，说明进样精密度结果良好。

方法精密度：因样品中杂质检出量过低，采用加入杂质至限度浓度的方式考察方法精密度。取同一批 OP-40 样品（批号 230303）约 1.00 g，精密称定，置顶空瓶中，分别精密加入“**2.2.2**”项下对照品贮备液 1 mL，密封，摇匀，平行配制 6 份。结果表明，乙醛、甲醛、环氧乙烷和的二氧六环平均含量分别为 0.001 2 %、0.001 1 %、0.000 099 %、0.001 0 %，RSD 分别为 1.4%、2.9%、0.8%、1.3%。

2.3.5　准确度试验

取 OP-40（批号 230303）9 份，各 1.00 g，精密称定，按限度浓度 10 %、100 %、150 % 3 个浓度点，分别加入一定量的杂质溶液，每个浓度点 3 份。分别进样测定，计算回收率以评价方法准确度。结果显示，乙醛、甲醛、环氧乙烷、二氧六环的平均回收率（n=9）分别为 103.3 %、99.8 %、99.1 %、

100.1%，RSD 分别为 8.0%、5.1%、1.5%、1.1%。

2.4 样品测定

对 4 批 OP-40 样品进行检测，按“**2.2**”项下方法配制系统适用性试验溶液、对照品溶液与供试品溶液，采用标准加入法定量。结果如表 2 所示。

表 2 样品测定结果 /%

Tab.2 Test Results of Samples/%

来源	批号	乙醛	甲醛	环氧乙烷	二氧六环
保易	230303	0.000 14	未检出	未检出	未检出
保易	240301	0.000 12	0.000 23	未检出	<LOQ
麦克林	C14369491	0.003 7	未检出	未检出	未检出
玻尔	134D7B43493	0.024	0.001 6	0.000 75	0.000 068

3 讨论

3.1 方法的确定

OP-40 在室温条件下为固体，不能立即溶解于水中；在顶空瓶中，于 50 ℃加热 10 min，样品可完全溶解。此外。顶空进样有减少污染、避免干扰的作用，因此选择顶空进样较为合适[11]。若采用对照品外标法测定，易受基质效应的影响，导致方法回收率偏低，因此本研究采用标准加入法进行测定。4 种杂质中，甲醛的响应最低，故在优化色谱条件时，应重点提高甲醛的灵敏度。尝试将分流比设为 5 ∶ 1 与 10 ∶ 1，采用规格 10 和 20 mL 的顶空瓶，将对照品溶液中供试品的称样量增至 3.0 g 同时将加入的混合对照品母液增至 3 mL，结果显示上述方法对增加甲醛响应的作用不明显。又考察了改变顶空瓶平衡温度［50、70、90 与 105 ℃（105 ℃条件下，溶剂变为饱和氯化钠溶液）］的影响，结果显示随着温度提升，甲醛的响应明显增加，但其进样精密度也明显变差。最终选用分流比为 5 ∶ 1，顶空瓶规格采用 10 mL，供试品称样量约为 1.00 g，顶空瓶平衡温度为 70 ℃条件。对优化后拟定的方法进行方法学验证，结果满足分析要求。

3.2 计算方式

标准加入法与外标法都是基于物质量与其响应值呈正比关系的原理来进行计算的，区别在于对照品溶液配制时是否需要加入一定量的供试品作为本底。标准加入法可有效避免样品基质效应带来的干扰，且痕量检测时的结果准确度更高，方法中也无高温加热的步骤，操作简便。标准加入法通用的计算公式为：$m_{供}=m_{对}/(A_{对}/A_{供}-1)$，其中 $m_{供}$ 与 $m_{对}$ 分别为供试品与对照品中杂质的绝对量，$A_{对}$ 与 $A_{供}$ 分别为对照品溶液与供试品溶液中杂质的峰面积。实际测定中，对照品溶液与供试品溶液需要分别配制，因 2 种溶液中供试品的称样量并非恰好等于 1 g，因此需进行校正，推导出校正后的公式为：含量 = $m_{对}/(A_{对}/A_{供}\times M_{供}-M_{对})\times 100\%$，其中 $M_{供}$ 与 $M_{对}$ 分别为配制供试品溶液与对照品溶液时供试品的称样量。如果供试品称样量规定约为 1.0 g（即 0.95 ～ 1.04 g），假定某批 OP-40 中的乙醛检出量真值为 0.001%，在测定过程中配制对照品溶液与供试品溶液的供试品称样量分别为 1.04 和 0.95 g，如果未加校正，理论测定结果为 0.000 87%，比真值偏小 12.8%，为高风险。同理，规定称样量约为 1.00 g（即 0.995 ～ 1.004 g）时，也可计算出未加校正时理论测定结果为 0.000 99%，比真值偏小 1.4%，风险可接受。同等条件下，标准加入法的检出量越高，误差越大。综上所述，本方法规定供试品称样量约为 1.00 g，无须再校正称样量误差。

3.3 限度制定

OP-40 在国内外药典中均未收录，但 APEO 类原料药或药用辅料在药典中收录较多，其环氧乙烷和二氧六环的限度如表 3 所示。ChP 2020 年版收载了若干品种中甲醛与乙醛的限度，如表 4 所示。综

表 3 国内外药典 APEO 类原料药或药用辅料环氧乙烷和二氧六环限度总结

Tab.3 Summary of Limits of Ethylene Oxide and Dioxane for APEO-type Raw Materials or Pharmaceutical Excipients in ChP 2020 and Foreign Pharmacopoeia

化合物名称	杂质名称	ChP 2020 年版	USP 43	英国药典 2023 年版和 EP 11.0
NP-9	环氧乙烷	不超过 0.000 1%	不超过 0.000 1%	不超过 0.000 1%
	二氧六环	不超过 0.000 5%	不超过 0.001%	不超过 0.001%
OP-9	环氧乙烷	/	不超过 0.000 5%	/
	二氧六环	/	不超过 0.001%	/
OP-10	环氧乙烷	/	/	不超过 0.000 1%
	二氧六环	/	/	不超过 0.001%

注：“/”表示未包括（not included）。

表 4　ChP 2020 年版收录品种中的甲醛与乙醛限度

Tab.4　Limits of Formaldehyde and Acetaldehyde in Varieties Included in ChP 2020 Edition

化合物名称	甲醛	乙醛	备注
磷酸咯萘啶	不超过 0.02%	/	二部
可吸收明胶海绵	不超过 0.6%	/	二部
聚乙二醇 300/400（注射用）	不超过 0.001%	/	四部
聚乙二醇 400/600/1000/1500/4000/6000	不超过 0.003%	/	四部
冰乙酸	/	不超过 0.01%	二部 / 四部
乙醇	/	不超过 0.001%	二部 / 四部
乙基纤维素	/	不超过 0.01%	四部

注：“/”表示未包括（not included）。

合上述样品的实际检出结果，OP-40 如果用于注射剂、眼用制剂等产品，乙醛、甲醛与二氧六环的限度建议定为均应不得过 0.001%，环氧乙烷应不得过 0.000 1%。

参考文献：

[1] 王　贺，钱利武，阚红卫．药用辅料监管法规、质量标准现状分析及应对措施 [J]．中南药学，2022, **20**(8)：1937-1941．

[2] 冯巧巧，谢纪珍，孙利民，等．药用辅料行业发展现状分析与思考 [J]．中国药事，2018, **32**(1)：54-58．

[3] 徐东峰，刘伯韬．烷基酚聚氧乙烯醚检测方法的研究 [J]．中国纤检，2015,（14）：82-85．

[4] 樊　微，肖　乐，周　佳．高效液相色谱测定纺织品中烷基酚聚氧乙烯醚的方法探讨 [J]．中国纤检，2015,（**24**）：62-65．

[5] 何　飞．一种新的辛基酚聚氧乙烯醚制备工艺，中国：114213646A [P]．2022-03-22．

[6] 吉　云．壬基酚聚氧乙烯醚高聚物的合成及性能研究 [D]．南京：东南大学硕士学位论文，2015．

[7] 吉许婧．烷基醇 / 酚类聚氧乙烯醚中环氧乙烷加合数分布的分析研究 [D]．太原：中国日用化学工业研究院硕士学位论文，2017．

[8] 王会娟，王　珏，王晓锋，等．GC 法测定聚山梨酯 65/85 中乙二醇、二甘醇、三甘醇及环氧乙烷和二氧六环杂质的含量 [J]．药物分析杂志，2022, **42**(9)：1634-1642．

[9] 王丹丹，程　磊，俞　辉．药用聚酯瓶中乙醛测定方法分析与优化 [J]．药物分析杂志，2021, **41**(5)：893-898．

[10] 刘晓庚，鲍雯钰，吴俞蓉，等．甲醛测定方法的研究进展 [J]．理化检验（化学分册），2019, **55**(5)：577-583．

[11] 夏红英，钟振华，余师师，等．顶空气相色谱法测定盐酸司他斯汀中 6 种残留溶剂 [J]．分析试验室，2021, **40**(1)：70-74．