

# 气相色谱法测定三氯蔗糖中的甲醇残留量

吴静芳\*(广州市药品检验所,广州 510160)

中图分类号 R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)21-3005-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.21.46

**摘要** 目的:建立测定三氯蔗糖中甲醇残留量的方法。方法:采用顶空毛细管气相色谱法。色谱柱为DB-624毛细管色谱柱,柱温采用程序升温(初始温度35℃,保持5 min,以50℃/min升温至200℃,保持5 min),检测器为氢火焰离子化检测器。进样口温度为220℃,检测器温度为250℃,载气为氮气,流速为2.0 ml/min,分流比为10:1,顶空温度为80℃,平衡时间为30 min,进样量为1 ml。结果:甲醇质量浓度在98.99~296.96 μg/ml范围内与峰面积比值呈良好的线性关系( $r=0.999\ 9$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD均 $\leq 2.16\%$ ;平均加样回收率为100.20%,RSD为0.48%( $n=9$ )。三氯蔗糖最低检测限为1.39 μg/ml。3个厂家样品中有1个厂家的甲醇残留量为3.12 μg/ml,另2个厂家的甲醇残留量低于最低检测限。结论:该方法简便、快捷,适用于三氯蔗糖中甲醇的残留量测定。

**关键词** 气相色谱法;三氯蔗糖;甲醇;残留量

## Determination of Residual Methanol in Sucralose by Gas Chromatography

WU Jing-fang(Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of residual methanol in sucralose. METHODS: Headspace capillary GC method was adopted. The determination was performed on DB-624 capillary column by temperature programming (initial temperature of 35 °C, maintaining for 5 min, then raising to 200 °C at a rate of 50 °C/min, maintaining for 5 min), the detector was FID. The temperature of the injector was maintaining at 220 °C and that of detector at 250 °C, carrier gas was nitrogen gas at the flow rate of 2.0 ml/min, the split ratio was 10:1, headspace temperature was 80 °C and equilibrium time was 30 min, and the volume was 1 ml. RESULTS: The linear range of methanol was 98.99-296.96 μg/ml( $r=0.999\ 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all no more than 2.16%; the average recoveries were 100.20%(RSD=0.48%,  $n=9$ ). The limit of detection (LOD) of sucralose was 1.39 μg/ml. In samples from 3 manufacturers, the contents of residual methanol in one manufacturer were 3.12 μg/ml, and the other two were lower than LOD. CONCLUSIONS: This method is simple and fast, and suitable for the determination of residual methanol in sucralose.

**KEYWORDS** Gas chromatography; Sucralose; Methanol; Residual

保、操作方便。笔者分别尝试使用热水和乙醇为提取溶剂,结果发现供试品色谱图中杂质峰非常多,阿魏酸峰无法和杂质峰分离,无法进行定量分析。采用乙酸乙酯作提取溶剂时,避免了大量强极性物质被提取出来,杂质峰较少,主峰与杂质峰的分度度好,有利于阿魏酸的定量分析。

### 3.3 对照品溶液溶剂的选择

阿魏酸有顺式和反式两种异构体,反式阿魏酸为阿魏酸成分的主要存在形式<sup>[9]</sup>,其顺反异构体之间可以相互转换。在溶剂中加入少量的冰醋酸,可以有效抑制反式阿魏酸向顺式阿魏酸转换。为了使阿魏酸溶液更加稳定,本文选择1%冰醋酸甲醇溶液作为溶剂。

综上所述,本方法简单、精确、可靠,可作为天王补心丸中阿魏酸的质量控制方法。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:515.
- [2] 何新荣,刘萍,孙艳.HPLC-ELSD测定天王补心丸中酸枣仁皂苷A的含量[J].中国医院用药评价与分析,2011,11

(10):910.

- [3] 孙裕,王莲萍,杨玉华.HPLC法测定天王补心丸(浓缩丸)中丹酚酸B的含量[J].卫生职业教育,2010,28(22):91.
- [4] 孙雪.HPLC法测定天王补心丸丹参中丹参素钠的含量[J].中国药物经济学,2014(2):35.
- [5] 薛改进,赵云丽,郝杰,等.HPLC法同时测定抗敏颗粒中芍药苷、毛蕊异黄酮苷和阿魏酸的含量[J].中国药房,2010,21(23):2168.
- [6] 李成义,王延惠,魏学明,等.HPLC测定不同产地当归中阿魏酸的含量[J].西部中医药,2012,25(1):34.
- [7] 贺云彪,刘军,伍良知.高效液相色谱法测定当归养血丸中阿魏酸含量[J].中国现代药物应用,2010,4(16):21.
- [8] 李琰,徐丽珍,林佳,等.不同产地当归中阿魏酸的含量比较[J].中国药学杂志,2003,38(11):22.
- [9] 丁明玉,马帅武,刘德麟.阿魏酸的稳定性及其在川芎和当归药材中的存在形式[J].中草药,2004,35(1):32.

(收稿日期:2015-01-14 修回日期:2015-02-03)

(编辑:余庆华)

\* 主管药师,硕士。研究方向:化学药品检验。电话:020-26282199。E-mail: wujingfang325@126.com

三氯蔗糖是一种非营养型强力甜味剂,是目前最理想的功能性甜味剂之一<sup>[1]</sup>。三氯蔗糖的质量标准在《美国药典》<sup>[2]</sup>和《英国药典》<sup>[3]</sup>中均有收载,我国食品安全国家标准<sup>[4]</sup>亦将三氯蔗糖作为食品添加剂收载,但2010年版《中国药典》中未有收载。随着三氯蔗糖在医药领域的应用不断扩大,现已被列入2015年版《中国药典》拟增订药用辅料品种目录中。单酯法以其工艺流程短、收率高、成本低、“三废”少及适合工业化生产的特点,成为了三氯蔗糖合成中使用最广的工艺<sup>[5]</sup>。单酯法是用原乙酸三甲酯作单酯保护、Vilsimiere试剂氯化,得到三氯蔗糖-6-乙酸酯并进一步乙酰化后分离结晶,最后经甲醇-甲醇钠脱乙酰基后得到产物三氯蔗糖<sup>[6]</sup>。因此,最后一步中使用到的甲醇可能残留在最终产品中。《美国药典》和我国食品安全国家标准均收载了甲醇残留量检查项的检测方法,笔者在此基础上拟定了较为简单合理的三氯蔗糖中甲醇残留量的新测定方法,并进行了方法学验证,现报道如下。

## 1 材料

### 1.1 仪器

7890A气相色谱仪,包括氢火焰离子化检测器、色谱工作站(美国Agilent公司);XS-204电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

### 1.2 药品与试剂

甲醇对照品(天津化学试剂厂,批号:121029,分析纯,纯度>99.5%);异丙醇对照品(广州化学试剂厂,批号:20111203-2,分析纯,纯度>99.5%);正丙醇对照品(广州化学试剂厂,批号:20120124-1,分析纯,纯度>99.5%);三氯蔗糖(A厂,批号:S111111,纯度:100.7%;B厂,批号:XMPM03360,纯度:100.5%;C厂,批号:12030702,纯度:100.1%);水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:DB-624(30 m×0.32 mm,1.8 μm);程序升温:初始温度35℃,保持5 min,以50℃/min升温至200℃,保持5 min;氢火焰离子化检测器;进样口温度:220℃;检测器温度:250℃;载气:氮气;柱流速:2.0 ml/min;分流比:10:1;氢气/空气:40:400 ml/min;进样方式:顶空进样;平衡温度:80℃;平衡时间:30 min;进样针温度:90℃;输送管温度:100℃;进样体积:1 ml。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 内标溶液 精密称取异丙醇对照品1 g,置于100 ml量瓶中,加水溶解并稀释至刻度;精密量取1 ml,置于100 ml量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得。

2.2.2 对照品溶液 精密称取甲醇对照品2 g,置于100 ml量瓶中,加水溶解并稀释至刻度;精密量取1 ml,置于100 ml量瓶中,加水至刻度,摇匀,作为对照品溶液。精密量取对照品溶液2 ml,置顶空瓶中,精密加入内标溶液2 ml,立即密封,振摇混匀,即得。

2.2.3 供试品溶液 精密称取样品0.4 g,置于顶空瓶中,精密加水2 ml及内标溶液2 ml,立即密封,振摇混匀,即得。

2.2.4 空白溶液 精密量取内标溶液2 ml及水2 ml,置于顶空瓶中,密封,混匀,即得。

### 2.3 系统适用性和专属性试验

分别取“2.2”项下对照品溶液、供试品溶液和空白溶液,按

“2.1”项下色谱条件进行顶空进样,记录色谱图,详见图1。在该色谱条件下,甲醇与内标异丙醇的分离度为21.4,甲醇的理论板数为20 760,空白溶液色谱在与对照品色谱相应的保留时间处无色谱峰出现,对检测无干扰,表明专属性符合要求。

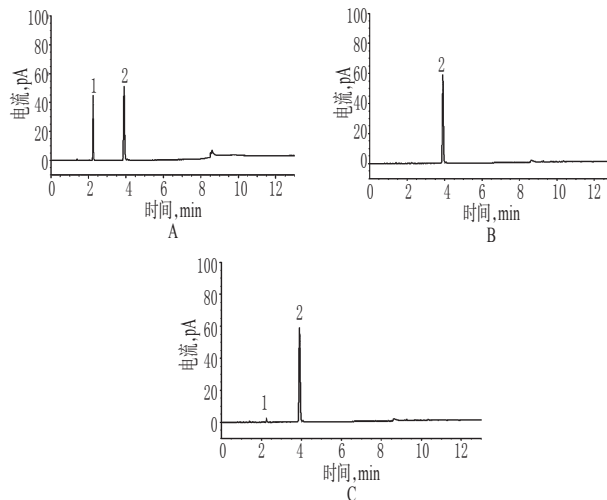


图1 气相色谱图

A.对照品;B.空白;C.供试品(批号:S111111);1.甲醇;2.异丙醇

Fig 1 GC chromatograms

A.reference; B.blank sample; C.test sample (batch number: S111111); 1.methanol; 2. isopropanol

### 2.4 线性关系考察

精密称取甲醇对照品1.979 7 g,置于100 ml量瓶中,加水溶解并稀释至刻度;精密量取5 ml,置于100 ml量瓶中,加水至刻度,作为对照品贮备液。精密量取贮备液5、3、10、5、3 ml,分别置于50、20、50、20、10 ml量瓶中,加水稀释制成系列溶液。分别精密量取2 ml,置于顶空瓶中,各精密加入内标溶液2 ml,立即密封,振摇混匀,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱。以检测质量浓度( $x$ , μg/ml)为横坐标、甲醇与异丙醇的峰面积比值( $y$ )为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=3.022x-0.023 9$ ( $r=0.999 9$ )。结果,甲醇的质量浓度在98.99~296.96 μg/ml范围内与峰面积呈良好的线性关系。

### 2.5 检测限和定量限

取“2.4”项下对照品贮备液逐级稀释,按“2.1”项下色谱条件进样测定,分别在信噪比约为10:1和3:1时确定定量限和检测限。结果,甲醇的定量限为5.26 μg/ml,检测限为1.39 μg/ml。

### 2.6 精密度试验

精密量取“2.2.2”项下对照品溶液2 ml,置于顶空瓶中,再精密加入内标溶液2 ml,按“2.1”项下色谱条件连续进样6次,测定甲醇与异丙醇的峰面积比值。结果,甲醇与异丙醇的峰面积比值的RSD为0.61%,表明仪器精密度良好。

### 2.7 稳定性试验

取“2.2.2”项下对照品溶液2 ml,分别于放置0、1、2、4、6、8 h时,按“2.1”项下色谱条件顶空进样。结果,甲醇与异丙醇的峰面积比值的RSD为2.16%,表明待测成分在8 h内稳定性良好。

### 2.8 重复性试验

精密称取三氯蔗糖样品(批号:S111111)0.4 g,置于顶空瓶中,共6份,按“2.2.3”项下方法制备供试品溶液,按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算甲醇含量。结果,甲醇的平均含量为0.001 5%,RSD为1.63%( $n=6$ ),表明本法重复性良好。

## 2.9 加样回收率试验

分别精密量取“2.4”项下对照品贮备液 2.0、2.5、3.0 ml, 各 3 份, 分别置于 250 ml 量瓶中, 加水稀释至刻度, 摇匀, 作为 80%、100%、120% 的对照品溶液。分别精密称取样品(批号: S111111) 0.4 g, 置于顶空瓶中, 共 9 份, 精密加入上述 80%、100%、120% 的对照品溶液 2 ml 及内标溶液 2 ml, 立即密封, 振荡均匀, 按“2.1”项下色谱条件进样测定并计算残留溶剂的加样回收率, 结果详见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery tests ( $n=9$ )

残留溶剂	所含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
甲醇	0.006 291 7	0.316 75	0.321 14	99.40	100.20	0.48
	0.006 293 2	0.316 75	0.322 92	99.96		
	0.006 296 3	0.316 75	0.321 47	99.50		
	0.006 326 0	0.395 94	0.403 55	100.32		
	0.006 313 5	0.395 94	0.404 39	100.54		
	0.006 341 5	0.395 94	0.405 58	100.83		
	0.006 354 0	0.475 12	0.483 35	100.39		
	0.006 319 7	0.475 12	0.484 09	100.56		
	0.006 361 8	0.475 12	0.482 69	100.25		

## 2.10 样品中甲醇残留量测定

取 3 批样品各 0.4 g, 分别按“2.2”项下方法制备对照品溶液和供试品溶液, 并按“2.1”项下色谱条件进样测定, 记录色谱, 按内标法计算甲醇的含量, 其中 XM9M03360 和 12030702 批样品中甲醇均低于最低检测限, S111111 批甲醇含量为 3.12  $\mu\text{g/ml}$  (0.001 5%)。按《美国药典》收载标准中的供试品溶液配制方法和色谱条件对 3 批样品进行测定, 结果 3 批样品中的甲醇残留量均低于其最低检测限, 均未检出。

## 3 讨论

### 3.1 溶剂的选择

《美国药典》和食品安全国家标准中均收载了三氯蔗糖有机溶剂残留量检查的方法, 方法中均采用吡啶作为溶剂。吡啶对呼吸道有强烈的刺激作用且对中枢神经系统有麻痹作用, 遇明火、高热时易燃烧甚至发生爆炸。笔者按《美国药典》方法配制供试品溶液(0.2 g/ml)时发现, 由于浓度太高, 样品在吡啶中较难溶解, 且溶解后的样品黏度很大, 采用直接进样方式时易造成进样针堵塞损坏。因此, 更环保、更高效的溶剂才能更好地满足日常检验的要求。三氯蔗糖在水中易溶, 笔者采用水作为溶剂配制内标溶液、对照品溶液及供试品溶液进行测定, 得到了满意的结果, 因此本法选择水作为溶剂。

### 3.2 内标物的选择

目前已有文献<sup>[7-9]</sup>报道了三氯蔗糖中有机溶剂残留的气相色谱分析方法, 但均采用外标法进行定量。《美国药典》和食品安全国家标准均采用正丙醇为内标物对甲醇进行定量。内标法在气相色谱定量分析中是一种重要的技术, 因为内标物的加入可以校准和消除操作条件的波动对分析结果产生的影响, 从而提高分析结果的准确度<sup>[9]</sup>。笔者以水为溶剂, 取甲醇、异丙醇和正丙醇对照品适量, 按“2.2.1”项下方法配制成相同质量浓度(0.1 mg/ml)的混合溶液, 按“2.1”项下色谱条件进样

测定, 记录色谱图。结果表明, 异丙醇的色谱行为和响应特征与甲醇更接近, 因此本法选择异丙醇作为内标物。

### 3.3 色谱条件的选择

《美国药典》和食品安全国家标准均采用聚苯乙烯型固定相填充的玻璃色谱柱, 进样方式均为直接进样法。玻璃填充柱现已较少使用, 而毛细管色谱柱以其高柱效、高选择性等特点已成为日常实验室的首选。原标准采用吡啶作溶剂溶解样品后直接进样, 由于供试品溶液浓度高且黏度大, 使得进样针损耗极大且分析速度慢。与直接进样相比, 顶空进样可以免除冗长烦琐的样品前处理过程, 避免有机溶剂带入的杂质对分析造成干扰, 减少对色谱柱及进样口的污染, 是一种很好的测定残留溶剂的方法。本法采用 Agilent DB-624 毛细管色谱柱, 程序升温, 顶空进样, 结果显示甲醇与内标物分离效果好、无干扰、保留时间短、灵敏度高且峰形对称。

### 3.4 3 批样品的测定结果

按《美国药典》收载方法对 3 批样品进行测定, 甲醇含量均低于最低检测限。按本法进行测定, 批号为 XM9M03360、12030702 的样品中甲醇含量低于最低检测限, 而 S111111 批的甲醇含量为 0.001 5%。各标准均规定甲醇含量不得过 0.1%, 故两种方法测得的结果基本一致, 但本法的最低检测限为 0.000 7%, 灵敏度高于《美国药典》收载方法, 结果更准确。

综上所述, 本方法简便、快捷, 适用于三氯蔗糖中甲醇的残留量测定。

## 参考文献

- [1] 林洪, 李华, 李韶雄, 等. 三氯蔗糖[J]. 精细与专用化学品, 2002(18):26.
- [2] The United States Pharmacopeial Convention. USP 35[S]. Washington D.C: The United States Pharmacopeial Convention, 2012:1 993.
- [3] British Pharmacopoeia Commission. British pharmacopoeia[S]. 2010 ed. London: The Stationery Office, 2012:2 057.
- [4] 卫生部. 食品添加剂: 三氯蔗糖(GB 25531-2010)[S]. 2010-12-21.
- [5] 阚国柱, 姚建敏, 康文通, 等. 单酯法合成三氯蔗糖[J]. 河北化工, 2007, 30(7):18.
- [6] 吴海深, 石淑先. 新甜味剂三氯蔗糖的合成工艺进展[J]. 精细与专用化学品, 2010, 18(5):51.
- [7] 胡慧廉, 丁乃立, 吴莲珍. 顶空气相色谱法测定三氯蔗糖中有机溶剂残留量[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(11):127.
- [8] 刘敬兰, 何书美, 解洪伟. 顶空气相色谱法测定三氯蔗糖中的有机溶剂残留[J]. 分析实验室, 2010, 29(10):64.
- [9] 孙红亚, 朱琦峰, 傅应华. 顶空毛细管气相色谱法测定长春西汀原料药中乙酸乙酯残留量[J]. 中国药房, 2011, 22(45):4 278.

(收稿日期:2014-07-18 修回日期:2014-08-01)

(编辑:余庆华)