

文章编号 1006-8147(2019)04-0320-04

论 著

气相色谱法测定药物中间体 2-甲基咪唑中乙醛的残留量

翁秀芳¹,董卫莉¹,张慕军²

(1. 天津医科大学药学院药物化学教研室,天津市临床药物关键技术重点实验室,天津 300070; 2. 天津药物研究院原料药研究中心,天津 300193)

摘要 目的:建立药物中间体 2-甲基咪唑中乙醛残留量的测定方法。方法:采用气相色谱法,液体进样,以 Agilent DB-624 (75 m × 530 μm × 3 μm) 为分析柱, FID 检测器;恒温:50 ℃,保持 5.5 min; N₂ 流量为 6 mL·min⁻¹;后运行:温度为 240 ℃,保持 10.5 min,流量为 8 mL·min⁻¹。采用外标法。结果:液体进样可以避免高温条件下的基质效应对乙醛测定的影响,乙醛在 1.36~188.96 μm·mL⁻¹ 内线性关系良好, R²=0.999 9, 方法的回收率在 99.74%~102.87%且 RSD (n=9)=1.19%, 最低检出限为 0.55 μm·mL⁻¹。结论:气相液体进样法操作简单、专属性强、重现性强、灵敏度高,可以用于乙醛残留量的检测。

关键词 气相色谱法;液体进样;2-甲基咪唑;乙醛;残留量测定

中图分类号 R961

文献标志码 A

Determination of acetaldehyde in drug intermediates 2-methylimidazole by GC direct injection

WENG Xiu-fang¹, DONG Wei-li¹, ZHANG Mu-jun²

(1. Department of Medical Chemistry, School of Pharmacy, Tianjin Medical University, Tianjin Key Laboratory on Technologies Enabling Development of Clinical Therapeutics and Diagnostics (Theranostics), Tianjin 300070, China; 2 Active Pharmaceutical Ingredient Research Center, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

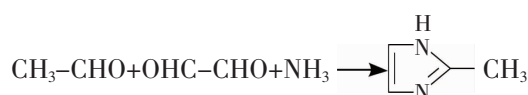
Abstract Objective: To establish a GC method for determination of acetaldehyde in drug intermediates 2-methylimidazole. **Methods:** GC direct injection was performed on Agilent DB-624 (75 m × 530 μm × 3 μm) with FID detector. The column temperature was controlled at 50 ℃, maintained for 5.5 min at the flow rate of N₂ of 6 mL·min⁻¹. The post-run temperature was controlled at 240 ℃, maintained for 10.5 min at the flow rate of N₂ of 8 mL·min⁻¹. External reference method was applied to analyze data. **Results:** Under the chromatographic condition mentioned above, the influence of matrix effect was ignored. The calibrated linear curve of acetaldehyde was in between the range of 1.36~188.96 μm·mL⁻¹ with R² = 0.999 9. The average recovery of acetaldehyde was between 99.74% and 102.87% with RSD(n=9)=1.19%, 0.55 μm·mL⁻¹ was lower limit of detection for this method. **Conclusion:** The determination of acetaldehyde may be solved by GC indirect injection, indicating the good specificity, high reproducibility and high sensitivity.

Key words GC (Gas chromatography); direct injection; 2-methylimidazole; acetaldehyde; residue

甲硝唑是硝基咪唑类抗生素,具有抗感染的作用,是抗厌氧菌的首选药物^[1],临床上多用于抗阿米巴原虫、抗滴虫,艰难梭菌感染的腹泻的治疗^[2]。二甲硝咪唑对黑头组织滴虫、鞭毛虫等原虫,及坏死厌氧丝杆菌、肠弧菌等细菌,具有显著抑制作用。2-甲基咪唑是用于生产甲硝唑和二甲硝咪唑等药物的中间体^[3-4],可用作环氧树脂等固化剂,纤维制品染料的辅助剂,制备泡沫塑料时的添加剂。

以乙醛、乙二醛、氨为原料经 Redziszewsk 反应,可一步生成 2-甲基咪唑,该法反应后,于减压下浓缩,冷却至室温,析出结晶即为产品,经分离后,母液经进一步分离处理也可得到含量约 90%的产

品。此法反应条件比较温和,原料易得,工艺简单,操作方便,设备要求不高,反应收率为 80%以上,成本较低,这是目前国内大多数厂家采用的方法。其反应方程式如下^[5]:



乙醛是一种无色、有强烈的刺激性气味易流动液体,易溶于水、醇类等。乙醛是酒精中酵母发酵的中间代谢物,是一种致癌物质^[6-7]。研究表明,乙醛的毒性大约是酒精毒性的 5.3 倍^[8],其能与机体内的各种蛋白质或膜物质结合,形成乙醛-蛋白质加合物而干扰多种酶的催化性质,影响细胞内多种代谢途径和生物膜的完整性。乙醛与微管的结构蛋白(微管蛋白)的高反应性赖氨酸残基结合,结果损害了微管

作者简介 翁秀芳(1993-),女,硕士在读,研究方向:药学;通信作者:董卫莉, E-mail: dongweili@tmu.edu.cn, 张慕军, E-mail: 20072328@qq.com。

的聚合和结构,并抑制了蛋白质、脂蛋白和糖蛋白的分泌^[9]。世界卫生组织已经将乙醛列为2类致癌物质清单中。因此,需要对乙醛的残留量加以控制。由于乙醛为小分子化合物,易挥发,并且在紫外区的吸收较低,无法进行高效液相色谱法检测。文献报道乙醛的测定方法主要有衍生化法(液相色谱^[10-13]或紫外分光光度计测定^[14])、气相色谱法(顶空进样^[15-16])等。衍生化法操作复杂,实验步骤繁多,且衍生化试剂具有较大毒性,未采用该方法。采用顶空进样法测定乙醛时,笔者在实验中发现利用该方法测定乙醛,加样回收率只有20%~27%。因为乙醛沸点较低,仅20.8℃,化学性质活泼,在持续高温条件下,2-甲基咪唑会提供碱性环境,碱与乙醛中的 α -氢结合,形成一个碳负离子,作为亲核试剂,立即进攻另一个乙醛分子中的羰基碳原子,发生加成反应,生成烷氧负离子,再结合一个质子,形成 β -羟基醛, β -羟基醛受热易脱水生成 α,β -不饱和醛。故不能采用该方法测定乙醛残留量。

本研究的目的是建立一种采用气相色谱检测2-甲基咪唑中乙醛残留量的方法。该操作简单,分析速度快、毒性较小,可以消除样品对乙醛测定的干扰。该方法根据ICH指导原则进行方法学验证^[17],具有一定的准确度、精密度和耐用性,从而测定乙醛的残留量^[18]。

1 材料与方法

1.1 仪器 Agilent 7890B 气相色谱仪(安捷伦,美国)和 G4513A 自动进样器(安捷伦,美国),火焰离子检测器(安捷伦,美国),Mettler XS205DV 电子天平(梅特勒-托利多,瑞士)。

1.2 试剂 乙腈(色谱纯,德国默克),乙醛(无水级,Aladdin,批号 J1709020),2-甲基咪唑(平湖艾泊有限公司,20180120;嘉兴艾森有限公司,20171011,20171220,20171220;湖北兴银河化工公司,M-2017101501)。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件 采用 Agilent DB-624 色谱柱(75 m \times 530 μ m \times 3 μ m),液体进样,进样量为2 μ L;进样口温度为250℃;检测器温度为280℃;分流比为5:1;载气为N₂;恒流,流速6 mL \cdot min⁻¹;恒温:起始温度50℃,保持5.5 min;后运行:温度为240℃,保持10.5 min,流量为8 mL \cdot min⁻¹。

1.3.2 乙醛残留量的计算

$$\text{乙醛残留量}(\%) = \frac{C_R A_S}{C_S A_R} \times 100\%$$

A_S:供试品溶液中乙醛的峰面积;C_S:供试品溶

液的浓度(mg \cdot mL⁻¹)

A_R:对照品溶液中乙醛的峰面积;C_R:对照品溶液的浓度(mg \cdot mL⁻¹)。

1.3.3 溶液的制备 (1)供试品溶液的制备:取2-甲基咪唑适量,精密称定,用乙腈溶解并定量稀释成每1 mL含有2-甲基咪唑20 mg,作为供试品溶液。

(2)对照品溶液的制备:取无水级乙醛适量,精密称定,用乙腈溶解并稀释成每1 mL含有乙醛400 μ g,作为乙醛对照品储备液。精密吸取0.75 mL乙醛对照品储备液置于100 mL容量瓶中,加入乙腈稀释并制成每1 mL含有乙醛3 μ g,作为对照品溶液。

1.3.4 系统适应性试验 精密吸取乙醛对照品储备液2.5 mL,置于10 mL容量瓶中加入乙腈稀释并定容至刻度;作为系统适应性溶液,按色谱条件连续进样分析6次,并记录色谱图。

1.3.5 专属性试验 制备适量浓度的乙二醛溶液、供试品溶液、乙醛对照溶液及纯乙腈,分别进样各分析1次,记录谱图。

1.3.6 灵敏度试验

1.3.6.1 检出限和定量限:将乙醛对照品储备溶液逐级稀释,要求检出限(LOD, limit of detection)信噪比不小于3,定量限(LOQ, limit of quantity)的信噪比不小于10。

1.3.6.2 检出限和定量限的重复性:制备乙醛的LOD溶液,按色谱条件进样分析3次,计算相对标准偏差。

1.3.6.3 定量限的准确度:将6份加入定量限浓度乙醛的供试品溶液,按色谱条件依次进样分析1次,计算相对标准偏差。

1.3.7 线性关系考察 在定量限至一定的浓度范围内(包括限度浓度)制备6份浓度不同的乙醛溶液,依次进样分析3次,以峰面积为纵坐标,乙醛溶液浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程及相关系数。

1.3.8 精密度试验 精密度实验需要进行重复性实验和中间精密度实验。

(1)重复性:将6份加入限度浓度乙醛的供试品溶液,按色谱条件依次进样分析1次,计算回收率。

(2)中间精密度:由不同的实验人员在不同的时间、不同的仪器,使用不同的试剂,以6份加入限度浓度乙醛的供试品溶液,按色谱条件依次进样分析1次,分别计算12个供试品溶液回收率。

1.3.9 准确度 将加入80%的限度浓度乙醛、100%限度浓度乙醛、120%限度浓度乙醛的供试品溶液各3份,按色谱条件依次进样分析1次,计算回收率。

1.3.10 耐用性 将加入限度浓度乙醛的供试品溶

液分别以柱流量为 $5.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 和 $6.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 替代 $6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 其他条件保持不变。以柱温 48°C 和 52°C 替代 50°C , 其他条件不变以及正常色谱条件下, 依次进样分析两次, 分别计算不同变化条件下的回收率。

1.3.11 稳定性 将对照品溶液、供试品溶液、加入限度溶液的供试品溶液, 在 25 h 内取 $n(n \geq 10)$ 个时间点, 各溶液分别进行分析 1 次。分别计算 n 个对照品溶液中乙醛峰面积和 RSD, n 个供试品溶液中乙醛峰面积和 RSD。

1.3.12 样品检测 将限度浓度的乙醛溶液加入 5 批不同批号的 2-甲基咪唑供试品溶液中, 每个供试品溶液按色谱条件依次进样分析 1 次, 计算乙醛残留量。

2 结果

2.1 系统适应性结果 当采用气相色谱方法进行检测或者方法学前, 通常是需要确认色谱系统能够满足当前的分析要求。这种测试的实质是电路、仪器、样品和分析操作构成整个系统, 需要做一个整体评价。制备新的系统适应性溶液进行测试, 结果见表 1。

表 1 系统适应性试验结果

Tab 1 Results for System Suitability

编号	理论塔板数	分离度	拖尾因子	保留时间/min	峰面积
1	56 579	23.85	0.74	4.543	203.30
2	55 912	23.49	0.73	4.543	207.02
3	57 301	23.90	0.74	4.543	203.71
4	56 889	23.84	0.75	4.543	204.92
5	57 301	23.90	0.74	4.543	205.34
6	56 887	23.84	0.75	4.543	206.23
平均数	56 812	23.80	0.74	4.543	205.09
RSD/%	0.92	0.66	1.01	4.543	0.70

由表 1 可知, 乙醛峰面积的 $\text{RSD}(n=6)$ 为 0.70% $< 2.0\%$, 保留时间 $\text{RSD}(n=6)$ 为 0 $< 1.0\%$, 拖尾因子 < 2.0 , 理论塔板数 $> 50\,000$, 符合系统适应性要求。

2.2 专属性结果 样品中可能存在其他成分的情况下, 所用分析方法能够准确地、选择性地检测被测组分的能力, 又称为选择性或专一性。主要是考察杂质及其他成分对待检成分测定结果的影响, 通过空白试验来考察。结果见图 1~3。结果表明空白乙腈对检测乙醛无干扰, 乙二醛、2-甲基咪唑中及其杂质在 5.5 min 内均无检出, 该方法专属性良好。

2.3 灵敏度结果 实验得乙醛的检出限为 $0.55 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 定量限为 $1.3 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, LOD 三针的保留时间 $\text{RSD}(n=3)=0.022\% < 1.0\%$; LOQ 六针的保留时间的 $\text{RSD}(n=6)=0.01\% < 1.0\%$, 六针峰面积的 $\text{RSD}(n=6)$

$=1.22\% < 6\%$, 均符合要求, 证明该方法具有较好的灵敏度。LOQ 的 6 个加样回收率在 100.26~103.14 均在药典规定的回收率限度 85%~110% 的范围内, 且 $\text{RSD}(n=6)=1.31\%$ 小于药典规定的 RSD 可接受范围 4%。该方法具有一定的灵敏度。

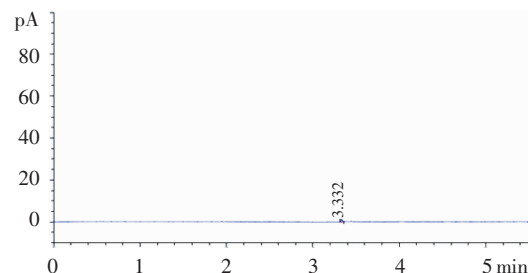


图 1 空白乙腈 GC 色谱图

Fig 1 Chromatogram of acetonitrile

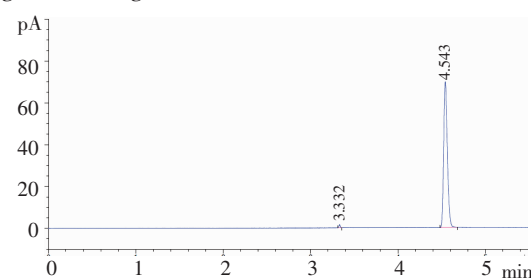


图 2 乙醛 GC 色谱图

Fig 2 Chromatogram of acetaldehyde

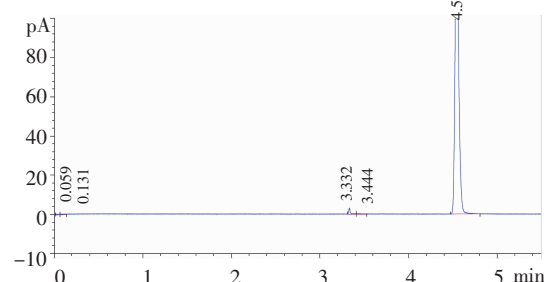


图 3 混合溶液 GC 色谱图

Fig 3 Chromatogram of mixed solution

2.4 线性关系考察结果 由下图可知, 乙醛在 $1.36 \sim 188.96 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好, 线性方程为 $Y=1.9168X-0.413$, 截距的绝对值 0.413 小于 100% 响应值的 25%, 线性方程的相关系数 > 0.998 , 且 6 个响应因子 $\text{RSD}(n=6) < 10.0\%$ 。表明其浓度与峰面积有良好的线性关系。

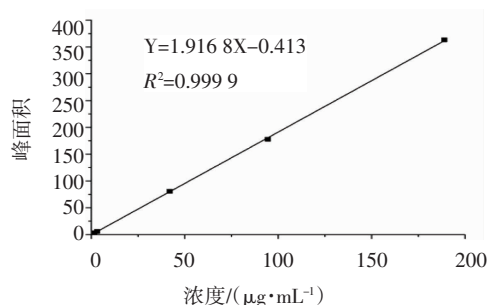


图 4 线性范围考察结果图

Fig 4 Results for Linearity

2.5 精密度结果 重复性试验的6个加样回收率在97.63%~100.08%均在85.0%~110.0%的范围内,且 $RSD(n=6)=0.91\%$ 小于4.0%。均符合药典要求。表明该方法重复性良好。12份供试液回收率的 $RSD(n=12)=1.26\% < 4.0\%$,表明该实验方法的中间精密度良好。

2.6 准确度结果 由表2可知,3个浓度的9个加样回收率在99.74%~102.87%均在85.0%~110.0%的范围内,且9个加样回收率的 $RSD(n=9)=1.19\%$ 小于4.0%,均符合药典要求。表明该方法准确度良好。

表2 准确度试验结果

Tab 2 Results for accuracy

加样比例	加入量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	测定值/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	回收率/%	RSD/%
80%	2.422	2.436	100.58	1.19
	2.422	2.419	99.88	
	2.422	2.426	100.17	
100%	3.028	3.048	100.67	99.74
	3.028	3.020	99.74	
	3.028	3.089	102.01	
120%	3.633	3.721	102.41	102.22
	3.633	3.737	102.87	
	3.633	3.714	102.22	

2.7 耐用性结果 实验结果表明,当流速在 $(6\pm 0.5)\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 变化,6个回收率均在85.0%~110.0%的范围内,且6个回收率的 $RSD(n=6)=0.89\%$ 小于2.0%;起始柱温在 $(50\pm 2)^\circ\text{C}$ 变化,6个回收率均在85.0%~110.0%的范围内,且 $RSD(n=6)=1.97\%$ 小于2.0%,证明该方法的耐用性较好。

2.8 稳定性结果 实验结果表明,样品供试液在25 h内无乙醛产生;乙醛对照品溶液在25 h内峰面积 $RSD(n=13)=1.06\% < 4.0\%$;26个加样的乙醛回收率在85.0%~110.0%范围内,峰面积 $RSD(n=26)=0.81\% < 4.0\%$,表明样品溶液、乙醛对照品溶液、加样溶液在25 h内是稳定的。

2.9 测样结果 结果表明,5批样品中乙醛的含量均低于最低检出限,未能检出,故5批样品均合格。

3 讨论

3.1 色谱柱的筛选 先后采用极性不同的色谱柱 Agilent DB-1 (30 m \times 0.53 mm \times 3 μm), Agilent DB-624 (30 m \times 0.53 mm \times 3 μm), Agilent DB-WAX (30 m \times 0.53 mm \times 1 μm), Agilent-FFAP (60 m \times 530 μm \times 3 μm), 根据目标峰的保留时间、拖尾因子和理论塔板数及分离度,选择 Agilent DB-624 毛细管柱,由于乙醛沸点很低,故采用 Agilent DB-624 (75 m \times 530 μm \times 3 μm)毛细管柱增加乙醛的保留。

3.2 柱温和柱流量的筛选 根据乙醛性质活泼,出峰时间较早,样品2-甲基咪唑对其测定无干扰,故采用柱温恒温,后运行高纯氮尾吹的方法,目的是将2-甲基咪唑和高沸点杂质吹出色谱柱。根据目标峰的保留时间、拖尾因子和理论塔板数及分离度,确定柱温、柱流量。恒温:起始温度 50°C ,保持5.5 min;后运行:温度为 240°C ,保持10.5 min,流量为 $8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。

本文的目的是开发出一种快速、简易、环保的采用液体直接进样方式检测乙醛残留量的气相色谱方法。从最经济最耐用的非极性毛细管柱到极性毛细管柱进行筛选,从不同的起始柱温、升温速率及柱流量进行了色谱条件的优化来确定最佳检测参数。乙醛溶剂残留在药典及ICH中没有明确的限量要求,通过查阅以往药品注册数据、乙醛相关毒理学数据及美国政府工业卫生学家会议推荐接触限值,确定乙醛的限度为150 ppm。本方法根据ICH分析方法验证指导原则从系统适应性、专属性、灵敏度、线性、精密度、准确度、耐用性、溶液稳定性等方面对药物中间体2-甲基咪唑中乙醛的残留量进行方法学研究,结果表明该方法专属性强,灵敏度高,结果准确可靠,具有良好的耐用性和稳定性。

参考文献:

- [1] Lyvers E I, Elliott D P. Topical Metronidazole for Odor Control in Pressure Ulcers [J]. Consult Pharm, 2015, 30(9): 523
- [2] Cherian P T, Wu X, Yang L, et al. Gastrointestinal localization of metronidazole by a lactobacilli -inspired tetramic acid motif improves treatment outcomes in the hamster model of clostridium difficile infection[J]. J Antimicrob Chemother, 2015, 70(11): 3061
- [3] Zhang L I, Chang J J, Zhang S L, et al. Synthesis and bioactive evaluation of novel hybrids of metronidazole and berberine as new type of antimicrobial agents and their transportation behavior by human serum albumin [J]. Bioorg Med Chem, 2013, 21(14): 4158
- [4] Kim H, Lee Y, Yoo H, et al. Synthesis and evaluation of sulfate conjugated metronidazole as a colon-specific prodrug of metronidazole[J]. Drug Target, 2012, 20(3):255
- [5] Perry, James W. Surface active agents and detergents[M]. Interscience, 1958:69-78
- [6] Paiano V, Bianchi G, Davoli E, et al. Risk assessment for the Italian population of acetaldehyde in alcoholic and non-alcoholic beverages[J]. Food Chem, 2014, 154:26
- [7] Lachenmeier D W, Kanteres F, Rehm J. Carcinogenicity of acetaldehyde in alcoholic beverages: risk assessment outside ethanol metabolism[J]. Addiction, 2009, 4(4): 533
- [8] Brecher A S, Hellman K, Basista M H, et al. A perspective on acetaldehyde concentrations and toxicity in man and animals [J]. Alcohol, 1997, 14(5):493

(下转第328页)

- borne illness: malaria, dengue, and west nile virus[J]. *Emerg Med Pract*, 2014,16(5):1
- [2] Karnad D R, Nor M B M, Richards G A, et al. Intensive care in severe malaria: Report from the task force on tropical diseases by the world federation of societies of intensive and critical care medicine[J]. *J Crit Care*, 2018,43:356
- [3] Huang F, Tang L, Yang H, et al. Molecular epidemiology of drug resistance markers of *Plasmodium falciparum* in Yunnan Province, China[J]. *Malar J*, 2012,11:243
- [4] Baruch D I, Pasloske B L, Singh H B, et al. Cloning the *P. falciparum* gene encoding PfEMP1, a malarial variant antigen and adherence receptor on the surface of parasitized human erythrocytes[J]. *Cell*, 1995,82(1):77
- [5] Ingmundson A, Alano P, Matuschewski K, et al. Feeling at home from arrival to departure: protein export and host cell remodelling during *Plasmodium* liver stage and gametocyte maturation[J]. *Cell Microbiol*, 2014,16(3):324
- [6] Rijpma S R, van der Velden M, Gonzalez-Pons M, et al. Multidrug ATP-binding cassette transporters are essential for hepatic development of *Plasmodium* sporozoites[J]. *Cellular microbiology*, 2016, 18(3):369
- [7] Storm J, Craig A G. Pathogenesis of cerebral malaria-inflammation and cytoadherence[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2014,4:100
- [8] Baumann O, Walz B. Endoplasmic reticulum of animal cells and its organization into structural and functional domains[J]. *Int Rev Cytol*, 2001,205:149
- [9] Anwar K, Klemm R W, Condon A, et al. The dynamin-like GTPase Sey1p mediates homotypic ER fusion in *S. cerevisiae*[J]. *J Cell Biol*, 2012,197(2):209
- [10] Hu J, Shibata Y, Zhu P P, et al. A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network[J]. *Cell*, 2009,138(3):549
- [11] Shibata Y, Hu J, Kozlov M M, et al. Mechanisms shaping the membranes of cellular organelles[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2009,25:329
- [12] van Dooren G G, Marti M, Tonkin C J, et al. Development of the endoplasmic reticulum, mitochondrion and apicoplast during the asexual life cycle of *Plasmodium falciparum*[J]. *Mol Microbiol*, 2005, 57(2):405
- [13] Salinas S, Proukakis C, Crosby A, et al. Hereditary spastic paraplegia: clinical features and pathogenetic mechanisms[J]. *Lancet Neurol*, 2008,7(12):1127
- [14] Stefano G, Renna L, Lai Y, et al. ER network homeostasis is critical for plant endosome streaming and endocytosis[J]. *Cell Discov*, 2015, 1:15033
- [15] Yan L, Sun S, Wang W, et al. Structures of the yeast dynamin-like GTPase Sey1p provide insight into homotypic ER fusion[J]. *J Cell Biol*, 2015,210(6):961
- [16] Yamada -Okabe T, Yamada -Okabe H. Characterization of the CaNAG3, CaNAG4, and CaNAG6 genes of the pathogenic fungus *Candida albicans*: possible involvement of these genes in the susceptibilities of cytotoxic agents[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2002, 212(1):15
- [17] Braks J A, Franke -Fayard B, Kroeze H, et al. Development and application of a positive-negative selectable marker system for use in reverse genetics in *Plasmodium*[J]. *Nucleic Acids Res*, 2006,34(5):e39

(2018-10-25 收稿)

(上接第 323 页)

- [9] Tuma D J, Casey C A, Sorrell M F. Effects of ethanol on hepatic protein trafficking: impairment of receptor-mediated endocytosis[J]. *Alcohol Alcoholism*, 1990, 25(2/3):117
- [10] Lin Y L, Wang P Y, Hsieh L L, et al. Determination of linear aliphatic aldehydes in heavy metal containing waters by high-performance liquid chromatography using 2, 4-dinitrophenylhydrazine derivatization[J]. *J Chromatography A*, 2009, 1216(36): 6377
- [11] Barman B N. Accurate determination of aldehydes in amine catalysts or amines by 2, 4-dinitrophenylhydrazine derivatization[J]. *J Chromatography A*, 2014, 1327: 19
- [12] Uchiyama S, Inaba Y, Kunugita N. Derivatization of carbonyl compounds with 2,4-dinitrophenylhydrazine and their subsequent determination by high-performance liquid chromatography[J]. *J Chromatography B*, 2011, 879(17/18): 1282
- [13] Guan X, Rubin E, Anni H. An optimized method for the measurement of acetaldehyde by high-performance liquid chromatography[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2012, 36(3): 398
- [14] de Lima L F, Brandão P F, Donegatti T A, et al. 4-Hydrazinobenzoic acid as a derivatizing agent for aldehyde analysis by HPLC-UV and CE-DAD[J]. *Talanta*, 2018, 187:113
- [15] Heit C, Eriksson P, Thompson D C, et al. Quantification of neural ethanol and acetaldehyde using headspace GC-MS[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2016, 40(9): 1825
- [16] Uebelacker M, Lachenmeier D W. Quantitative determination of acetaldehyde in foods using automated digestion with simulated gastric fluid followed by headspace gas chromatography[J]. *J Autom Methods Manag Chem*, 2011, 2011:907317
- [17] Abualhasan M N, Zaid A N, Jaradat N, et al. GC method validation for the analysis of menthol in suppository pharmaceutical dosage form[J]. *Int J Anal Chem*, 2017, 2017: 1728414
- [18] Edwardson P A, Bhaskar G, Fairbrother J E. Method validation in pharmaceutical analysis[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1990, 8(8):929

(2018-10-09 收稿)