

CHROM. 7746

## GASCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG VON POLY(OXY-ÄTHYLEN)SORBITANESTERN

W. LINDNER

*Institut für Pharmazeutische Chemie, Universität Graz, A-8010 Graz (Österreich)*

(Eingegangen am 30. Mai 1974)

### SUMMARY

#### *Gas chromatographic determination of esters of poly(oxyethylene)sorbitan*

Esters of poly(oxyethylene)sorbitan (polysorbates), used as emulgators in the preparation of aqueous solutions of hydrophobic substances, were saponified. The components of the fatty acids thus obtained were determined quantitatively by gas chromatography in the form of their methyl esters, applying the conversion factor  $f_{\text{exp}}$ .

$$f_{\text{theo}} \leq f_{\text{exp}} = \frac{\text{Polysorbate (g)}}{\text{Fatty acid methyl ester (g)}}$$

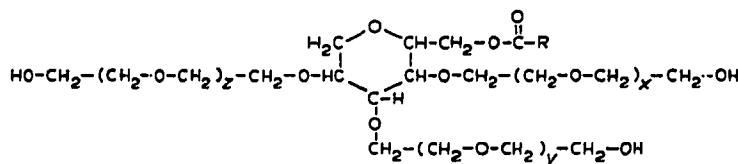
Formulation of the conversion factor  $f_{\text{theo}}$ —defined as the weight ratio of the polysorbate (according to the presumed structural formula) to the accompanying fatty acids (as their methyl esters)—and determination of the experimental conversion factor  $f_{\text{exp}}$ , make the above method of quantitative determination possible. Moreover, the difference between  $f_{\text{theo}}$  and  $f_{\text{exp}}$  is a measure of the amount of side products of the polysorbates.

### EINLEITUNG

Bei zahlreichen Arzneimittelpräparaten (Ampullenlösungen, Hustensaft etc.) tritt häufig das Problem auf von hydrophoben Substanzen wässrige Lösungen zu bereiten. Dies gelingt meist nur unter Zuhilfenahme von Emulgatoren, deren Konzentrationen im allgemeinen im Promillbereich liegen. Da es sich bei den Lösungsmitteln um sogenannte Hilfsstoffe handelt, wird deren quantitative Bestimmung in der Arzneimittelanalyse noch nicht gefordert. Durch die schleimlösenden Eigenschaften einiger Emulgatoren kann diesen aber auch der Charakter eines Wirkstoffes zugeschrieben werden, was wiederum eine quantitative Analyse notwendig macht.

Die analytischen Bestimmungsmethoden von Emulgatoren des Typs Poly(oxyäthylen)sorbitanester (Polysorbat) sind zahlreich ausgearbeitet und im Review von Bauer<sup>1</sup> zusammengefasst. Auf Grund der mangelhaften Verdampfbarkeit der Poly-

sorbate ist die Gaschromatographie (GC) nur über den Umweg geeigneter Derivatisierung als Analysenmethode einsetzbar. Hierfür bieten sich laut der Strukturformel mehrere Möglichkeiten an: (1) Die Silylierung der endständigen freien Hydroxylgruppen: Dies ergibt ein sehr hoch siedendes und damit kaum unzersetzt verdampfbares Endprodukt, welches somit für die GC nur schwer verwendbar ist. (2) Bei der Verseifung von Polysorbitanen erhält man einerseits Poly(oxyäthylen)sorbitane, welche wie Lundquist und Meloan<sup>2</sup> beschreiben, direkt gaschromatographierbar sind, allerdings nur qualitativ. Die gaschromatographische Bestimmung dieser als Trimethylsilyläther wird in der Literatur beschrieben<sup>3,4</sup>.



R = Alkylrest höherer Fettsäuren

x = y = z = 6

Die vorliegende Arbeit hat nun zum Ziel Polysorbate nach Verseifung über die Fettsäurekomponente als Methylester einer quantitativen gaschromatographischen Bestimmung zuzuführen. Für die Ausarbeitung dieser Analysenmethode wurden Polysorbate der Firma Atlas mit dem Produktnamen Tween<sup>®</sup> sowie Polysorbate unbekannter Hersteller, bezogen durch die Firma Herba, verwendet. Bei diesen Polysorbaten handelt es sich um grosstechnische Produkte, die durch automatisierte und standardisierte Verfahren hergestellt werden und somit hinsichtlich ihrer Zusammensetzung weitgehend konstant bleiben.

Auf Grund des Produktionsverlaufes können in einem Polysorbat theoretisch folgende Grundbausteine als Verunreinigungen auftreten: freies Polyäthylen, verschiedene hochkondensierte Polyäthylenglykole, freies Sorbitol sowie 1,4- bzw. 1,5-Sorbitan und Sorbit.

Daneben kommen noch freie Fettsäuren in Frage, deren Anteile meistens unter einem Prozent liegen wie Plotkowiak<sup>5</sup> angibt und auch durch eigene Messungen bestätigt wird (Tabelle I). Unter der Annahme, dass es sich bei den Polysorbaten um ein einheitliches Produkt handelt, lässt sich aus der Strukturformel ein Umrechnungsfaktor  $f_{\text{theo}}$ , der als das Gewichtsverhältnis des Polysorbates und der dazugehörigen Fettsäure (als Methylester angegeben) definiert ist, errechnen.

$$f_{\text{theo}} \leq f_{\text{exp}} = \frac{\text{Polysorbat (g)}}{\text{Fettsäuremethylester (g)}}$$

Der experimentelle Faktor  $f_{\text{exp}}$  wird durch Einwaage von Polysorbat, anschliessender Verseifung und quantitativer gaschromatographischer Bestimmung der Hauptfettsäure ermittelt. Dieser ist meist grösser als  $f_{\text{theo}}$ , der Unterschied zwischen beiden kann als Mass für den Anteil an Nebenprodukten angesehen werden.

Nimmt man andererseits an, dass die Gesamtkonzentration an Nebenprodukten zwischen relativ engen Grenzen schwankt, wie es durch den automatisierten Produktionsprozess gegeben erscheint und durch Analysen verschiedener Chargen bestätigt werden muss, lässt sich nun aus dem experimentell bestimmten Faktor  $f_{exp}$  und der gemessenen Konzentration an Fettsäuremethylester der Gehalt eines bestimmten Polysorbates der Probe angeben.

## EXPERIMENTELLES

Die Aufarbeitung einer wässrigen Lösung deren Emulgatorgehalt im Promillbereich liegt wurde wie unten ausgeführt:

10 ml einer wässrigen Emulgatorlösung wird mit 1 ml 0.5% methanolischer Lösung eines entsprechenden Fettsäuremethylesters als innerer Standard versetzt und gemeinsam mit 10 ml methanolischer 0.1 N KOH am Wasserbad 1 Std. verseift. Nach Abkühlung wird die Probe mit verdünnter HClangesäuert und dreimal mit Cyclohexan ausgeschüttelt. Die Extraktion sowohl mit Äther als auch Chloroform bringt schlechtere Ergebnisse. Die verseiften Extrakte werden neutral gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und bis fast zur Gänze eingeengt.

Der Rückstand mit den freien Fettsäuren wird mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt, die erhaltenen Fettsäuremethylester können nach entsprechender Einengung der Reaktionslösung direkt quantitativ gaschromatographiert werden.

Zur Durchführung der Analysen wurden die Fraktometer F 21 und Modell 900 der Firma Perkin-Elmer verwendet, wobei beide mit einem Glaseinspritzsystem ausgerüstet sind. Als Trennsäule diente eine Stahlsäule 200 cm lang, Innendurchmesser 3 mm, Säulenfüllung 2.5% EGS auf Chromosorb G/AW-DMCS 80–100 mesh.

Für die quantitativen Messungen hat ein elektronischer Integrator Modell D 26 der Firma Perkin-Elmer Verwendung gefunden.

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In die Untersuchung sind die in Tabelle I angeführten Polysorbate, welche sich nur in der Hauptfettsäurekomponente unterscheiden, einbezogen worden, wobei laut der Formel  $x = y = z = 6$  ist. Der experimentelle Faktor  $f_{exp}$  ist der Mittelwert von mindestens sechs verschiedenen Einwaagen. Pro Einwaage wurden mindestens drei Entnahmen gemacht und pro Entnahme ca. sechs Einzelbestimmungen. Durch die Wiederholung aller einzelnen Schritte erhält man ein Mass für die Reproduzierbarkeit der Methode, welches durch die Standardabweichung ausgedrückt wird.

Da es sich bei den in der Industrie verwendeten Fettsäuren um keine Reinprodukte handelt, sind bei allen untersuchten Polysorbaten, neben den theoretisch zu erwartenden Produkten Polysorbatester anderer Fettsäuren vorhanden. Das verseifte Polysorbat hat somit meist neben der Hauptfettsäure auch die dem inneren Standard entsprechende Fettsäure als Untergrund.

Um diese Fehlerquelle im Rechnungsgang berücksichtigen zu können ist es notwendig das Gewichtsverhältnis von Hauptfettsäure und von der dem Analysengang entsprechenden Fettsäure die als innerer Standard dienen soll, in Form einer Korrekturmessung zu bestimmen (Tabelle I).

**TABELLE I**  
**THEORETISCHE UND EXPERIMENTELL BESTIMMTE UMRECHNUNGSFAKTOREN EINIGER POLYSORBATE**

<i>Hauptfettsäure der Poly- sortate*</i>	<i>Gew.-% freie Fettsäure**</i>	<i>Korrektur- wert***</i>	<i>Innerer Standard (Fettsäure- methylester)</i>	<i>Theoretisches Molekulargewicht</i>	<i>f<sub>theo</sub></i>	<i>f<sub>exp</sub></i>	<i>S<sub>rel</sub> (%)</i>	<i>Neben- produkt (Gew.-%)</i>
Laurinsäure	0.5	87.38:12.62	Palmitinsäure ME	1270	5.93	9.19 ± 0.367	± 4	27.5
Palmitinsäure	6.2	93.38:6.62	Stearinsäure ME	1326	4.91	6.58 ± 0.132	± 2	17.0
Stearinsäure	1.0	51.87:48.13	Palmitinsäure ME	1354	4.54	9.39 ± 0.300	± 3.2	53.4
Olsäure	0.3	97.77:2.23	Stearinsäure MF	1352	4.57	5.72 ± 0.097	± 1.7	12.6

\* Entspricht in dieser Reihenfolge den Produkten der Firma Atlas: Tween 20®, Tween 40®, Tween 60®, Tween 80®.

\*\* Als Methylester angegeben.

\*\*\* Gewichtsverhältnis von Hauptfettsäuremenge zu der ursprünglich vorhandenen Menge jener Fettsäure, die im Analysengang als innerer Standard zugesetzt wird (als Methylester bestimmt).

Ebenso muss der Gewichtsanteil von freien Fettsäuren im Polysorbat bekannt sein, um den Umrechnungsfaktor  $f_{\text{exp}}$  entsprechend zu korrigieren. Folgend ein Analysenbeispiel zur Faktorenbestimmung  $f_{\text{exp}}$  von Tween 80®.

Einwaage Tween 80®: 45.64 mg/10 ml  
Einwaage innerer Standard: 4.27 mg/ml

	<i>Analysenwert (Peak %)</i>	<i>Korrekturwert*</i> (Peak %)	<i>Korrigierter Analysenwert (Peak %)</i>
Ölsäure ME	64.06	$\begin{pmatrix} 97.77 \\ : \\ 2.23 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 64.06 \\ : \\ 1.46 \end{pmatrix}$	64.06
Stearinsäure ME	35.94		34.48
$f_{\text{exp}}$ von Tween 80® =	$\frac{45.64}{7.92 - 0.02} = 5.77$		

\* Das Verhältnis der Fettsäure ME im Korrekturwert wird auf den Analysenwert bezogen, wobei der Peak % Wert des zu bestimmenden Fettsäuremethylesters als Basis dient.

Die Faktoren  $f_{\text{theo}}$  und  $f_{\text{exp}}$ , die als Berechnungsbasis das Polysorbatmolekül laut der Formel haben, zeigen beachtlich grosse Differenzen, was somit als Mass für die Uneinheitlichkeit der jeweiligen Emulgatoren zu werten ist.

Die Konzentration an Nebenprodukten laut Tabelle I kann bei den untersuchten Proben über 50 % betragen. Es kommen zu den oben genannten möglichen Verunreinigungen von Polysorbaten noch als weitere Hauptkomponenten der Heterogenität die Poly(oxyäthylen)sorbitanester zahlreicher Fettsäuren hinzu. Ganz stark tritt dies bei Poly(oxyäthylen)sorbitanmonostearat zutage, wo über die Hälfte des Emulgators nicht dem Produkt laut der Formel entspricht.

Die Überprüfung der Methode mit verschiedenen Chargen ist mangels geeigneten Materials nur an zwei Beispielen durchgeführt worden, wobei die Mittelwerte der Faktoren  $f_{\text{exp}}$  nur um 1.7 % differierten. Bei dem Vergleich von Tween 80® mit einem entsprechenden Polysorbat das durch die Firma Herba bezogen wurde, ist ein Abweichen des Faktors  $f_{\text{exp}}$  um weniger als 1 % zu beobachten.

Die Übertragbarkeit der beschriebenen Umrechnungsfaktoren auf alle im Handel befindlichen Emulgatoren dieses Typs ist nicht bedingungslos zulässig, doch zeigt obiges Beispiel, dass zu grosse Unterschiede nicht zu erwarten sind.

## DANK

Für die Unterstützung der Arbeiten sei Herrn Prof. Dr. G. Zigeuner herzlich gedankt, ebenso Frau Ing. R. Wolf, die massgeblich an der Ausführung der Analysen beteiligt war.

## ZUSAMMENFASSUNG

Emulgatoren des Typs Poly(oxyäthylen)sorbitanfettsäureester (Polysorbate) werden durch Verseifung, anschliessender quantitativer gaschromatographischer

Bestimmung der Fettsäurekomponente als Methylester und mittels eines Umrechnungsfaktors  $f_{\text{exp}}$  quantitativ bestimmt.

$$f_{\text{theo}} \leq f_{\text{exp}} = \frac{\text{Polysorbat (g)}}{\text{Fettsäuremethylester (g)}}$$

Durch die Formulierung des Umrechnungsfaktors  $f_{\text{theo}}$ , der als das Gewichtsverhältnis von Polysorbat, laut angenommener Strukturformel, und zugehöriger Fettsäure (als Methylester) definiert ist, und die Ermittlung des experimentellen Umrechnungsfaktors  $f_{\text{exp}}$  wird einerseits obige Bestimmungsmethode ermöglicht, andererseits ist die Differenz zwischen  $f_{\text{theo}}$  und  $f_{\text{exp}}$  ein Mass für die Menge an Nebenprodukten der Polysorbate.

#### LITERATUR

- 1 F. J. Bauer, *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 50 (1972) 85.
- 2 G. Lundquist und C. E. McLean, *Anal. Chem.*, 43 (1971) 1122.
- 3 J. Tornquist, *Acta Chem. Scand.*, 21 (1967) 2095.
- 4 M. K. Withers, *J. Gas Chromatogr.*, 6 (1968) 242.
- 5 Z. Plotkowiak, *Acta Pol. Pharm.*, 26 (1969) 359.