

## Die quantitative Bestimmung von Äthylenglykol durch Head-Space-Gaschromatographie

H. Magerl, E. Pöhlmann und W. Hager

Institut für Rechtsmedizin der Universität Würzburg, Versbacher Str. 3, D-8700 Würzburg, Bundesrepublik Deutschland

### The Determination of Ethylene Glycol by Head-Space Gaschromatography

**Summary.** A simple, easy to do, and precise method in the determination of ethylene glycol in biological material is presented. After oxidation of ethylene glycol with sodiummetaperjodate is the resulting formaldehyde with sodiumborhydride to methanol reduced. The stoichiometric amount of resulting methanol is determined by Head-Space-Gaschromatography. The determination is made with peakheight method.

**Key word:** Ethylene glycol determination, Head-Space-Gaschromatography

**Zusammenfassung.** Zur Bestimmung von Äthylenglykol in biologischem Material wird eine einfache, rasch durchführbare und präzise Methode beschrieben. Nach Oxidation des Äthylenglykols mit Natriummetaperjodat wird der entstandene Formaldehyd mit Natriumborhydrid zum Methanol reduziert. Das in stöchiometrischen Mengen entstandene Methanol wird durch Head-Space-Gaschromatographie bestimmt. Die Auswertung der Chromatogramme erfolgt nach der Peakhöhen-Methode.

**Schlüsselwort:** Äthylenglykolbestimmung, Head-Space-Gaschromatographie

### Einführung

Äthylenglykol, eine farb- und geruchslose, süßlich schmeckende Flüssigkeit findet als Lösungsmittel für Farbstoffe und als Frostschutzmittel Verwendung. Durch mangelhafte Kennzeichnung und unsachgemäße Aufbewahrung kommt es nicht ganz selten zu Unfällen. Eine perorale Aufnahme von 25 g ist für den erwachsenen Menschen unschädlich. Mengen von ca. 100 g erwiesen sich jedoch als sehr toxisch. Das klinische Bild der akuten und subakuten Intoxikation ist in der Literatur beschrieben [1–5]. Wegen der dringlichen intensiv-medizinischen Behandlung ist im Verdachtsfalle eine quantitative Sofortanalyse von Trink-

*Sonderdruckanfragen an:* Dr. H. Magerl (Adresse siehe oben)

resten, Blut und Urinproben im Rahmen toxikologischer Untersuchungen unumgänglich.

Infolge der guten Löslichkeit in Wasser ist Äthylglykol mit den gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln aus dem Untersuchungsmaterial kaum extrahierbar. Nach Deutschem Arzneibuch (DAB 7) erfolgt die quantitative Bestimmung des Glykols durch Oxidation mit Natriummetaperjodat und anschließender Bestimmung des Perjodat-Verbrauchs [6, 7].

Die photometrische Bestimmung des bei der Oxidation von Äthylenglykol entstehenden Formaldehyds mit Chromotropsäure ist eine weitere Möglichkeit des quantitativen Nachweises [8].

Für die Bestimmung von Äthylenglykol im Organewebe oder in Körperflüssigkeiten sind die genannten Verfahren nur bedingt anwendbar, weil sie unspezifisch sind und somit falsch-positive Befunde auftreten können.

Zur Umgehung dieser Störungen wird auch die Oxidation mit Natriummetaperjodat, Destillation des entstandenen Formaldehyds und anschließendem Nachweis mit Chromotropsäure empfohlen [3]. Eigene Untersuchungen zeigten jedoch, daß bei der Destillation je nach Formaldehydkonzentration Verluste zwischen 10–30% zu erwarten sind. Zudem erfordert das Verfahren einen erheblichen Zeitaufwand.

Durch Derivatisierung mit Benzoylchlorid wird Äthylenglykol in biologischem Material gaschromatographisch nachgewiesen [9]. Durch zusätzliche Anwendung der Massenspektroskopie erfolgt eine Steigerung der Nachweisempfindlichkeit.

Äthylenglykohlaltiges Blutplasma kann auch direkt gaschromatographisch untersucht werden [10]. Die dabei auftretenden Verunreinigungen am Injektor- und Säulensystem führen jedoch bei höherer Probenzahl zu einem erheblichen Empfindlichkeitsverlust.

Im folgenden wird über eine Methode berichtet, die es erlaubt, Äthylenglykol in Körperflüssigkeit und Organmaterial schnell, empfindlich und quantitativ zu bestimmen.

## Material und Methoden

Reagenzien: p.a.-Reagenzien der Firma Merck, Darmstadt.

Äthylenglykollösung: 2, 4 bzw. 6 g Äthylenglykol in 1000 ml Wasser. 0,5 mol-Natriummetaperjodatlösung: 10,7 g Natriummetaperjodat, Aqua dest. ad 100 ml.

0,038 mol-Natriumwolframatlösung: 11,23 g Natriumwolframat, 0,2 mol Schwefelsäure ad 100 ml.

Natriumborhydrid: 2 mg.

Geräte: F 42 Head-Space-Gaschromatograph mit automatischem Probengeber der Firma Perkin-Elmer, Bodenseewerk Überlingen. Injektionsflaschen (20 ml) für Gaschromatographen mit Butylkautschuk-Gummistopfen und Aluminiumbördelkappen der Firma Müller & Müller-Joh., Holzminnen. Ultra-Turrax (PT 18–10), IKA Werk Stauff i. Br.

GC-Parameter: Metallsäule 2 m, 1/8", 15% Carbowax 1500, Chrom. W. NAW 80 – 100 mesh; Säulentemp.: 75°C, Dosiernadel 150°C; Injektor 150°C; Detektor (FID) 150°C; Wasserbad des Rotors 60°C.

Trägergas N<sub>2</sub> 25 ml/min; Brenngase H<sub>2</sub> 35 ml/min; Luft 300 ml<sup>2</sup>/min; Empfindlichkeit 1 × 32; Dosierzeit 3 s.

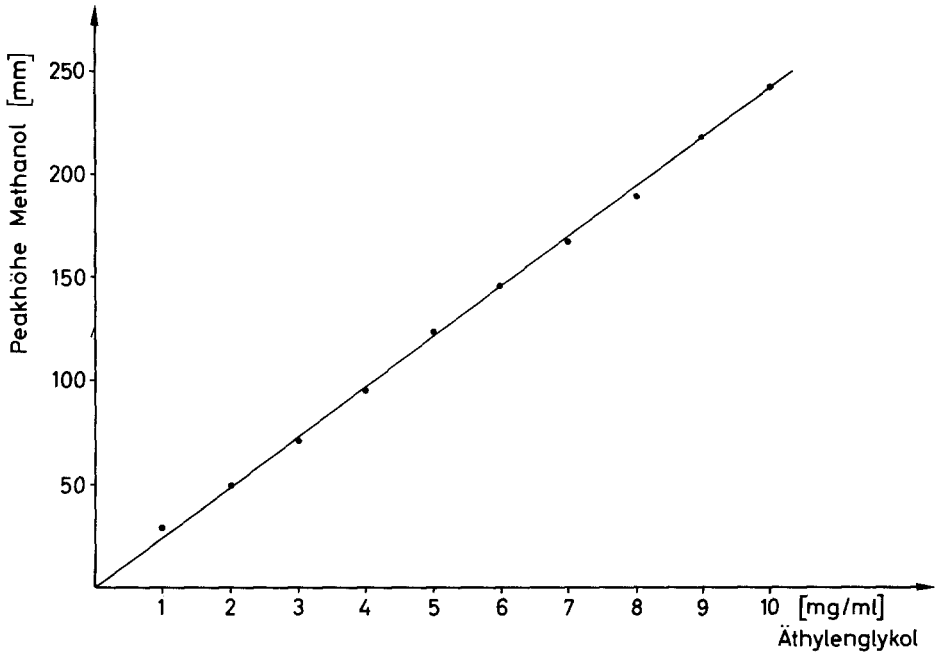


Abb. 1. Äthylenglykol Linearitätsprüfung (Meßwert; Peakhöhe Methanol als Mittelwert einer Doppelbestimmung)

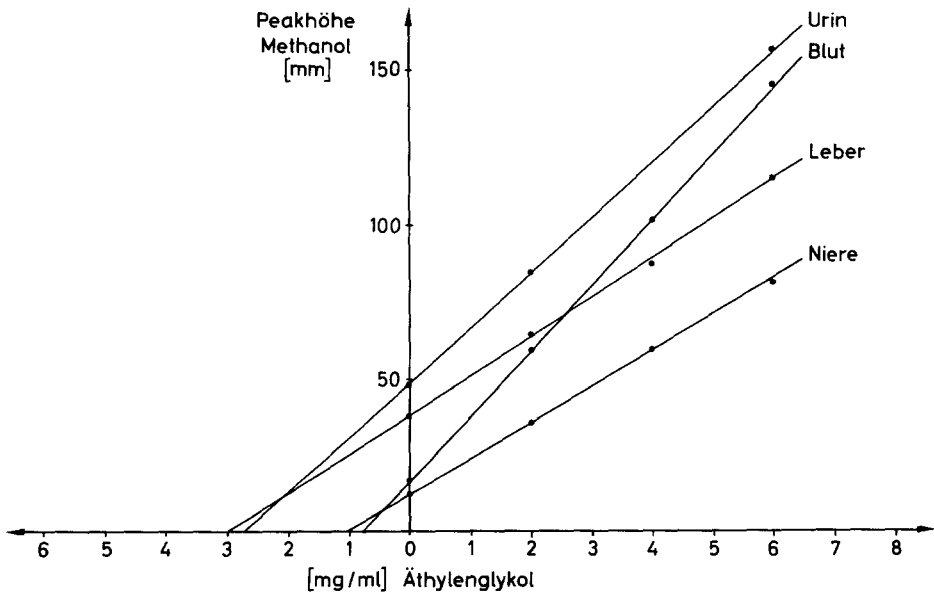


Abb. 2. Graphische Meßwertermittlung von letalen Äthylenglykolkonzentrationen durch Zugabe definierter Äthylenglykolstandardlösungen

### Durchführung der Methode

a) Urin: 1,0 ml der Urinprobe wird mit Wasser auf 10,0 ml aufgefüllt. 0,2 ml dieser Verdünnung werden in einer Injektionsflasche mit 0,1 ml Natriummetaperjodatlösung und nach 5 min mit 2 mg Natriumborhydrid versetzt. Nach beendeter Wasserstoffentwicklung wird die Flasche verschlossen und vor Beginn der Analyse 30 min im Wasserbad des Probengebers bei 60°C inkubiert.

b) Blut und Organewebe: 1,0 ml Blut oder 1,0 g Organmaterial werden mit 1,0 ml Natriumwolframatlösung versetzt und auf 10,0 ml mit 0,2 mol Schwefelsäure aufgefüllt. Anschließend wird mit einem Ultra-Turrax-Gerät homogenisiert. Nach Zentrifugieren werden 0,2 ml des Überstandes weiter nach (a) behandelt.

c) Zugabe von Äthylenglykol zum Untersuchungsmaterial (Additionsmethode): Vom Untersuchungsmaterial werden vier Proben entnommen. Drei davon werden mit 1,0 ml einer wässrigen Äthylenglykollösung unterschiedlicher Konzentration (2,4 bzw. 6 g/l Äthylenglykol) versetzt und weiter nach (a) bzw. (b) behandelt.

### Ergebnisse

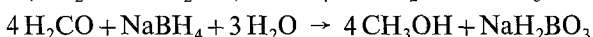
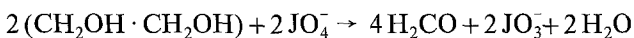
Empfindlichkeit und Linearität: Durch Vergrößern der Probenmenge und bei einer maximalen Verstärkung des Detektorsignales läßt sich die Empfindlichkeit erheblich steigern. Dies bedeutet, daß eine Äthylenglykolkonzentration von 0,05 mg/ml noch mit ausreichender Genauigkeit nachgewiesen werden kann. Aus Abb. 1 ergibt sich, daß eine Eichgerade zur Bestimmung von wässrigen Äthylenglykollösungen in einem Konzentrationsbereich von 1 bis 10 mg/ml linear verläuft.

Die quantitative Bestimmung im biologischen Material erfolgt nach der Additionsmethode, um die durch unterschiedliche Probenbeschaffenheit auftretenden Matrixeffekte auszugleichen. Abbildung 2 zeigt die gemessene Konzentration bei einer letalen Äthylenglykolintoxikation. Es konnten im Untersuchungsmaterial folgende Konzentrationen (in mg/ml) nachgewiesen werden:

Urin: 2,7; Blut: 0,8; Leber: 3,0; Niere: 1,0.

### Diskussion

Für unsere Untersuchungen wählten wir ein Verfahren, das in einer Oxidation des Äthylenglykols mit Natriummetaperjodat und anschließender Reduktion des entstandenen Formaldehyds mit Natriumborhydrid besteht. Das dabei gebildete Methanol wird gaschromatographisch durch Dampfdruckanalyse bestimmt. Vorversuche mit wässrigen Äthylenglykollösungen zeigten, daß die Oxidation mit Natriummetaperjodat und anschließende Reduktion mit Natriumborhydrid auch als „Eintopf“-Reaktion quantitativ verläuft. Der Überschuß an Natriumborhydrid neutralisiert dabei das saure Milieu (Wasserstoffentwicklung!) Die Reduktion des Formaldehyds verläuft dann ungehindert im alkalischen Milieu (pH 9) nach folgender Formel:



Die Probenvorbereitung erfordert für die Bestimmung von 15 Analysen ca. 1 h. Die verwendeten Reagenzien und Lösungen sind über einen längeren Zeitraum bei +4°C-Lagerung stabil.

Als Head-Space-Parameter wurden von uns weitgehend die für die Blutalkoholbestimmung üblichen Geräteeinstellungen angewendet. Verunreinigungen oder Störungen, die die Auswertung der Chromatogramme beeinträchtigen, wurden nicht beobachtet. Der automatische Meßvorgang und die kurze Analysenzeit (für 30 Proben ca. 90 min) ist ein wesentlicher Vorteil dieser Methode bei klinischen Kontrolluntersuchungen.

## Literatur

1. Boemke F (1943) Beitrag zur Toxikologie und Pathologie des Äthylenglykols (Glysantin). *Virchows Arch [Pathol Anat]* 310: 106-108
2. Doerr W, Kraft A, Rauschke J (1947) Über experimentelle Glykolvergiftung. *Klin Wochenschr* 24/25: 749-754
3. Boltz W, Machata G, Skala O (1962) Zur Kenntnis der subakuten Vergiftung mit Äthylenglykol. *Beitr Gerichtl Med* XXII: 42-50
4. Hjelt K, Tamminen V, Fortelius P, Raekallio J, Alha A (1957/58) Zwei tödliche Äthylenglykolvergiftungen. *Dtsche Z Gesamte Gerichtl Med* 46: 730-734
5. Peterson CD, Collins AJ, Himes JM, Bullock ML, Keane WF (1981) Pharmacokinetics during therapy with Ethanol and Hemodialysis. *N Eng J Med* 304: 21-23
6. Malaprade L (1928) Action de polyalcools sur l'acide periodique. Application analytique. *Bull Soc Chim France* 43: 683-687
7. Böhme H, Hartke K (1968) Kommentar zum Deutschen Arzneibuch 7. Ausgabe. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. GOVI-Verlag GmbH, Frankfurt
8. Auerhoff H, Lohmann V (1957) Die Perjodatreaktion in der pharmazeutischen Analyse. *Dtsch Apotheker Ztg* 97: 904-905
9. Vycudilik W (1978) Kurzmitteilung zum Nachweis von Äthylenglykol in biologischem Material. *Beitr Gerichtl Med* 36: 71-74
10. Bost RO, Sunshine I (1980) Ethylene glycol analysis by gas chromatography. *J Anal Toxicol* 4: 102-103

Eingegangen am 13. Dezember 1982