

# 甲硝唑环氧乙烷残留量的检测

冯晓明 马家贞(北京 100050 中国药品生物制品检定所)

**摘要** 目的:建立甲硝唑中残留环氧乙烷的测定方法。方法:采用顶空气相色谱法,以 SE-30 毛细管柱为色谱柱, FID 检测器。用模拟基质进行校正因子的测定,以氯仿为内标测定甲硝唑中的环氧乙烷。结果:日内精密度为 0.31 %,方法平均回收率为 101.4 %,最低检测限为 0.02 $\mu$ g/g。结论:简化了测定水不溶物中环氧乙烷(标准加入法)的方法,排除由于药物吸水性和顶空体积变化带来的方法误差,方法简便、准确。

**关键词** 甲硝唑;环氧乙烷;残留

**Determination for residue of ethylene oxide on metronidazole**

**ABSTRACT OBJECTIVE:** To established a method for the determination of ethylene oxide in metronidazole .

**METHOD:**Headspace GC method was adopted for the determination with SE-30 capillary column and FID detector .The correct factor in metronidazole which is free of ethylene oxide ,chloroform was used as internal standard .

**RESULTS:**The average was determined recovery was 101.4 % (  $S = 3.3\%$  ) ,precision was 0.31 % and the limit of quantitation was 0.02  $\mu\text{g/g}$  .

**CONCLUSION:**The method reduced the error come from the hydrophilic character of drug and the variation of headspace volume .It was simple and accurate .

**KEY WORDS** metronidazole ,ethylene oxide ,residue

甲硝唑中的环氧乙烷是在灭菌过程中引入的,由于毒性作用,其残留量必须加以控制(不得过 $10\mu\text{g/g}$ ),但由于甲硝唑只溶于酸性介质,而环氧乙烷遇酸则水解为乙二醇,难以测定。对于不溶物中残留有机溶剂的测定,常采用标准加入法以消除标准曲线和样品测定基质不一致(或干扰)所带来的误差,方法繁琐,不利于常规检测,本方法采用内标法,以二氯甲烷为内标,以甲硝唑原料作为基质测定校正因子,方法快速简便、准确。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

气相色谱仪:Autosystem 9000,顶空进样器(带22ml样品瓶):SH-40,积分仪:1022型,以上仪器均为Perkin Elmer公司制造。

### 1.2 试剂和材料

环氧乙烷:含量100%,3M Surgical公司制造,二氯甲烷(AR级),双蒸馏水,甲硝唑原料:天津河北制药厂一分厂提供(和样品同一批号,不含环氧乙烷)。

## 2 色谱条件

色谱柱:毛细管柱,SE-30(或类似柱),polydimethylsiloxane涂渍,长约30m,内径:0.32mm;液膜厚度:1.25 $\mu\text{m}$ ;检测器:FID;载气:氮气(纯度95.5%以上);载气流量:2~4ml/min;压力控制20PSI;分流比1:20,燃气流量:空气350ml/min,氢气:35ml/min;温度:检测器:190 $^{\circ}\text{C}$ ,汽化室:200 $^{\circ}\text{C}$ ,炉温:40 $^{\circ}\text{C}$ ,保持1.5min,按30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至180 $^{\circ}\text{C}$ 保持4min;顶空送样器条件:样品温度:70 $^{\circ}\text{C}$ ;传送温度:110 $^{\circ}\text{C}$ ;进样针温度:100 $^{\circ}\text{C}$ ;加热时间:15min,加压时间:1min,进样时间:0.08min。

## 3 实验方法

### 3.1 溶液配制

**3.1.1 环氧乙烷储备液的配制** 在100ml量瓶中加入80ml双蒸馏水,具塞称重(精确至0.0001g),迅速加入1~1.5ml环氧乙烷后摇匀,加塞后再次称重,两次重量

之差即为加入的环氧乙烷重量,稀释至刻度,计算此储备液环氧乙烷的含量( $11.34\text{mg/ml}$ )存放于冰箱中备用。

**3.1.2 内标溶液的配制** 取250ml量瓶加入少量双蒸水,用微量注射器加入5 $\mu\text{l}$ (相当于6.8mg)二氯甲烷,用双蒸水定容,摇匀备用。

**3.1.3 校正溶液的配制** 精密量取环氧乙烷储备液44 $\mu\text{l}$ ,加至50ml量瓶中,用内标溶液定容(含环氧乙烷10 $\mu\text{g/ml}$ ),此溶液须在1d内使用。

### 3.2 系统适应性试验

**3.2.1 柱效** Allech Associates, Inc 制造,批测试柱,  $n > 1000$ 。

**3.2.2 分离度**  $R > 1.5$ 。

**3.2.3 日内精密度** 平行精密称取5份同一批号甲硝唑原料各1000mg,精密量取校正溶液1ml(10 $\mu\text{g/ml}$ ),置样品瓶中,密塞,按2所述条件在8h内测定,结果相对标准偏差(RSD)为0.31%。

### 3.3 校正因子的测定

操作同3.2.3法(色谱图见图1),计算校正因子。

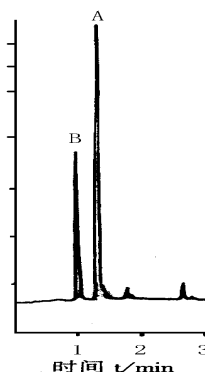


图1 校正溶液色谱图

A-内标峰;B-环氧乙烷(氯仿)

### 3.4 样品中环氧乙烷的测定

取甲硝唑样品1000mg,加入内标溶液1ml,密塞,按2所述条件测定,记录峰面积(色谱图见图2),计算

样品中环氧乙烷的含量,结果批号为 98048,96190,98049,96189,96191 和 98050 的 EO 含量( $\mu\text{g/g}$ )均为 0.0。

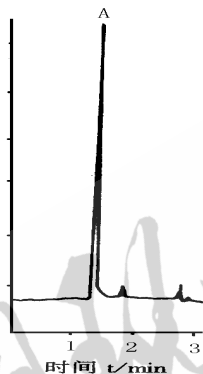


图 2 样品色谱图

A - 内标峰

表 1 加样回收率测试结果

| 样品/批号 | 测得值 | 标准加入量/ $\mu\text{g}$ | 测得值/ $\mu\text{g}$ |      |      | 回收率/ % | 标准偏差/ % | 平均回收率/ % |
|-------|-----|----------------------|--------------------|------|------|--------|---------|----------|
| 98050 | 0.0 | 5.5                  | 5.6                | 5.8  | 5.4  | 101.8  | 3.6     |          |
| 98048 | 0.0 | 7.5                  | 7.7                | 7.2  | 7.4  | 99.1   | 3.4     | 101.4    |
| 96191 | 0.0 | 17.5                 | 18.8               | 18.0 | 17.8 | 104.0  | 2.9     |          |

### 3.5 加样回收率的测定

精密称取以下 3 个批号的样品中各 1000 mg,分别加入含内标和环氧乙烷 5.5,7.5 和 17.5 $\mu\text{g/ml}$  的溶液 1 ml,测定环氧乙烷(平行测定 3 次),计算加入的环氧乙烷量,结果见表 1。

### 3.6 最低检测浓度

以色谱信号衰减度为 2,信噪比为 4:1,最低检测浓度为 0.02 $\mu\text{g/g}$ 。

## 4 结果与讨论

试验结果证实,采用顶空气相色谱法按以上方法检测甲硝唑残留环氧乙烷,其系统适应性、方法精密度符合《美国药典》1995 年版要求,方法加样回收率、精密度均可满足测试要求。检测 6 个批号样品均未检出残留环氧乙烷(不大于 10 $\mu\text{g/g}$ ),符合限量要求。