

# 顶空气相色谱法测定夫西地酸中有机溶剂残留量

栾成章\*, 祝波, 王尊文, 王亮(青岛市药品检验所, 青岛市 266071)

中图分类号 R927.2 文献标识码 A 文章编号 1001-0408(2006)07-0535-02

**摘要** 目的:建立以顶空气相色谱法测定夫西地酸中有机溶剂残留量的方法。方法:色谱柱为聚乙二醇 20 000 DM - WAX 毛细管柱,柱温采取程序升温,检测器温度为 250,载气为氦气,流速为 7ml/min,分流比为 1:1。结果:有机溶剂丙酮、甲醇、乙醇检测浓度线性范围分别为 2.04~102.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $r = 0.9992$ )、2.00~99.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $r = 0.9995$ )、2.04~102.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $r = 0.9995$ ),平均回收率分别为 98.7%、99.2%、101.7%,RSD 分别为 2.11%、1.98%、2.01%。结论:本方法简便、结果准确,适用于夫西地酸中有机溶剂残留量的测定。

**关键词** 夫西地酸;顶空气相色谱法;有机溶剂;残留量

## Determination of Organic Solvent Residual Volume in Fusidic Acid by Headspace Gas Chromatography

LUAN Chengzhang, ZHU Bo, WANG Zunwen, WANG Liang (Qingdao Institute for Drug Control, Qingdao 266071, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To determine organic solvent residual volume in fusidic acid by headspace gas chromatography. METHODS: The determination was performed on polyoxyl 20 000 DM - WAX capillary, the column was subjected to temperature programming, the detector temperature was 250, the carrier gas was helium, the flow rate was 7ml/min and the split ratio was 1:1. RESULTS: The linear detectable concentration ranges of acetone, methanol and ethanol were 2.04~102.50 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $r = 0.9992$ ), 2.00~99.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $r = 0.9995$ ) and 2.04~102.34 $\mu\text{g}/\text{ml}$  ( $r = 0.9995$ ), respectively, their average recovery rates were 98.7%, 99.2% and 101.7%, respectively with RSD at 2.11%, 1.98% and 2.01%, respectively. CONCLUSIONS: The method is simple, accurate, and suitable for the determination of organic solvent residual volume in fusidic acid.

**KEY WORDS** Fusidic acid; Headspace gas chromatography; Organic solvent; Residual volume

夫西地酸为一种经发酵制得的具有甾体骨架的抗生素,具有抗革兰阳性菌、奈瑟球菌、结核杆菌的作用。由于其在提取纯化过程中使用了丙酮、甲醇、乙醇等溶剂,上述溶剂可对人体产

生危害,因此须控制产品中这些溶剂的残留量在规定范围内。根据国际人用药品注册技术要求协调大会(ICH)规定,将本品在提纯过程中使用的溶剂分别划分为二类和三类溶剂,且对每

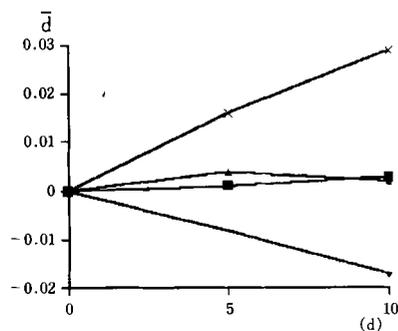


图2 影响因素试验 $\bar{d}$ 折线图

Fig 2 Turning curve diagram of influencing factors tests

### 3 讨论与结论

因高温试验(60, 5, 10d), 强光照射试验(5, 10d), 所得的  $t$  均  $> t_{1-0.05/2}$ , 即认为试验前、后的新霉胺百分比有显著性差异。注意到高温试验(60)  $\bar{d} < 0$ , 因此可认为试验后的新霉胺百分比高于试验前; 而强光照射试验  $\bar{d} > 0$ , 因此可认为试

验后的新霉胺百分比低于试验前。因高温试验(40, 5, 10d), 高湿度试验(5, 10d), 所得的  $t$  均  $< t_{1-0.05/2}$ , 即认为试验前、后的新霉胺百分比无显著性差异。

试验结果表明, 硫酸核糖霉素中的新霉胺杂质在 60 高温、强光照射条件下不稳定, 新霉胺在此条件下含量会产生变化, 60 高温条件下含量升高, 强光照射条件下含量降低; 在 40 高温、高湿度条件下稳定。因此, 为控制新霉胺杂质的含量, 在药品生产、包装、贮存及运输过程中须避免高温, 尤其是 60 以上的温度。对于新霉胺杂质在强光照射条件下百分比降低情况, 可进一步考察硫酸核糖霉素其它检查项目在强光照射条件下的稳定性, 看此条件是否能为提高产品质量提供帮助。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(二部) [S]. 2000年版. 北京: 化学工业出版社, 2000: 附录 197~198, 867.
- [2] 韩可勤, 杨静化. 医药应用数理统计 [M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 179.

(收稿日期: 2005-04-25 修回日期: 2005-06-04)

\* 副主任药师。研究方向: 新药、进口药品质量标准研究。电话: 0532-85782259

种溶剂的限度作了相应规定。目前,测定残留溶剂的方法有顶空进样法和直接进样法<sup>[1]</sup>,笔者建立了顶空毛细管气相色谱法,并采用顶空进样方式测定夫西地酸中丙酮、甲醇和乙醇的残留量,方法简便、准确。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

6890N 型气相色谱仪、FID 检测器及色谱工作站、G1888 自动顶空进样器,均由美国 Agilent 公司提供。

### 1.2 试剂

夫西地酸样品(北京依格斯医药技术开发有限公司,批号: B3325、B3385、B5891);丙酮、甲醇、乙醇均为色谱纯,氢氧化钠为分析醇。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

色谱柱:聚乙二醇 20 000DM - WAX 毛细管柱(30m × 0.53mm, 1.00μm);柱温:程序升温,起始温度 70,保持 4min,并以 30 / min 的速率升温至 180,保持 1.5min;载气:高纯氮气,压力约为 5.6Psi;起始柱流速:7ml/min;氢火焰离子化检测器温度:250;进样器温度:150,进样方式:分流,分流比:1:1;顶空温度:85;平衡时间:45min。分别取相同体积的“2.6”项下的对照品溶液和样品溶液在上述色谱条件下进样,气相色谱详见图 1。

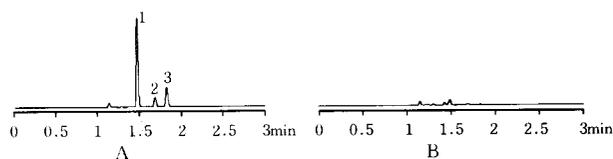


图 1 气相色谱

A. 对照品;B. 样品;1. 丙酮;2. 甲醇;3. 乙醇

Fig 1 GC

A. reference substance;B. sample;1. acetone;2. methanol;3. ethanol

### 2.2 线性关系考察

准确称取丙酮、甲醇、乙醇各约 100mg,置于预先盛有少量水的 100ml 容量瓶中,加水至刻度,摇匀,作为对照品溶液的储备液。准确量取储备液适量,加入 2mol/L 氢氧化钠溶液 5ml,加水逐倍稀释,分别制成每 1ml 约含 100、50、25、10、5、2μg 的溶液,作为对照品溶液,按“2.1”项下色谱条件,分别取相同体积的顶空气体注入气相色谱仪,记录色谱,测定峰面积,以对照品浓度(X)为横坐标,峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程分别为  $Y_{\text{丙酮}} = 13.3767X + 0.03273$  ( $r = 0.9992$ ,  $n = 3$ )、 $Y_{\text{甲醇}} = 1.7901X + 0.02948$  ( $r = 0.9995$ ,  $n = 3$ )、 $Y_{\text{乙醇}} = 3.8480X + 0.06008$  ( $r = 0.9995$ ,  $n = 3$ )。结果表明,丙酮、甲醇、乙醇的线性范围分别为 2.04 ~ 102.50μg/ml、2.00 ~ 99.98μg/ml、2.04 ~ 102.34μg/ml。

### 2.3 精密度试验

取“2.2”项下系列浓度为 25μg/ml 的对照品溶液,重复顶空进样 10 次,按“2.1”项下色谱条件测定峰面积,计算得丙酮、甲醇、乙醇的 RSD 分别为 2.11%、1.98%、2.01%,表明精密度良好。

### 2.4 加样回收率试验

采用加样回收的方法测定。准确称取本品 250mg,置于

50ml 量瓶中,分别加入 3 种不同浓度的对照品溶液,按样品测定方法进行回收率计算,结果详见表 1。

表 1 回收率试验结果(n = 3)

溶剂	加入量 (μg/ml)	测得量 (μg/ml)	回收率 (%)	$\bar{x}$ (%)	RSD (%)
丙酮	25.62	24.90	97.2	98.7	1.4
	51.25	50.84	99.1		1.2
	102.50	102.83	100.3		1.2
甲醇	24.99	24.61	98.5	99.2	2.3
	49.99	49.64	99.3		2.5
	99.98	99.78	99.8		2.7
乙醇	25.58	25.88	101.2	101.7	2.1
	51.17	52.45	102.5		1.8
	102.34	103.67	101.3		1.9

### 2.5 最低检测限的测定

取浓度为 2μg/ml 的对照品溶液,用水稀释 5 倍,按“2.1”项下色谱条件,以基线噪音峰的 3 倍计算,丙酮、甲醇、乙醇的检测限分别为 0.025、0.25、0.10μg/ml。

### 2.6 样品含量测定

准确称取本品 250mg,置于 50ml 容量瓶中,加入 2mol/L 氢氧化钠溶液 5ml,使其溶解,加水至刻度,摇匀,作为样品溶液;取“2.2”项下浓度为 25μg/ml 的溶液,作为对照品溶液。分别各取 10ml 于顶空样品瓶中,密封,于 85 加热 45min,分别取相同体积的上述溶液的顶空气体注入气相色谱仪,按“2.1”项下色谱条件测定,记录色谱,以峰面积按外标法计算含量,结果详见表 2。

表 2 样品中有机溶剂残留量测定结果(n = 3)

溶剂	批号		
	B3325	B3385	B5891
丙酮	0.006	0.006	0.003
甲醇	未检出	0.03	0.04
乙醇	未检出	未检出	未检出

## 3 讨论

测定有机溶剂残留量目前多采用顶空进样法,该方法操作简单,不易损坏色谱柱,且快速,重现性好。笔者曾选用不同极性的毛细管色谱柱,如 HP - FFAP、DB - 624,经多次试验,发现聚乙二醇 20 000 和 HP - FFAP 均能使溶剂得到基线分离,最后选择了较常用的聚乙二醇 20 000 色谱柱。考虑到顶空进样中产生的水蒸气易造成聚乙二醇 20 000 色谱柱涂膜性质的改变,笔者采用程序升温法进行检测,以达到色谱柱在线老化,保证较好的分离效果。对于顶空条件,笔者经反复试验,最后确定了上述顶空条件,使试验达到较好的测定灵敏度和精密度。由于夫西地酸难溶于水,易溶于酸碱溶液,样品中加入 2mol/L 氢氧化钠溶液 5ml,可将夫西地酸制成水溶液。根据 ICH 规定,本试验所检测的 3 种残留溶剂均分别属于二类和三类溶剂,规定限度范围较宽,生产厂家规定的 3 种残留溶剂限度均为 0.1%,优于 ICH 规定,故 3 批样品仅检出微量的残留溶剂。

## 参考文献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(二部)[S]. 2005 年版. 北京:化学工业出版社,2005:附录 54.

(收稿日期:2006-02-13 修回日期:2006-03-01)