

· 研究报告 ·

浅谈 2010 年版《中华人民共和国药典》纯化水检查方法的完善

柳强^{1,2}, 孙治国¹, 陈熠¹, 陈琦¹, 黄华林¹, 高静¹ (1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 解放军 68315 部队, 甘肃 张掖 734000)

[摘要] 目的 对《中华人民共和国药典》2010年版二部附录 XVI 制药用水项下纯化水中酸碱度、硝酸盐、亚硝酸盐、氨以及微生物的检查方法提出修改建议。**方法** 对纯化水中硝酸盐、亚硝酸盐及氨的检查中所用试剂和比色器皿的使用、操作方法进行分析探讨, 提出平皿法能否用于纯化水微生物的检查, 探讨了仪器分析在纯化水各指标检查中使用的可行性。**结果** 明确了纯化水杂质检查比色器皿的选择及试剂量的精密度范围等, 平皿法适用于对纯化水中微生物的检查, 可以替代薄膜过滤法; 仪器分析是纯化水检查的发展趋势, 值得提倡。**结论** 应完善并及时修订纯化水中硝酸盐、亚硝酸盐及氨的检查标准; 微生物检查方法使用薄膜过滤法或平皿法均可; 《中国药典》应提倡利用仪器分析等现代技术手段对纯化水进行检查检测。

[关键词] 纯化水; 硝酸盐; 亚硝酸盐; 氨; 仪器分析

[中图分类号] R92 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)03-0252-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.03.015

Discussion on the purified water inspection methods in the Chinese Pharmacopoeia of edition 2010

LIU Qiang^{1,2}, SUN Zhiguo¹, CHEN Yi¹, CHEN Qi¹, HUANG Hualin¹, GAO Jing¹ (1. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. No. 68315 Troops of PLA, Zhangye 734000, China)

[Abstract] **Objective** To modify the purified water analysis methods in the Chinese Pharmacopoeia (Vol. II, Edition 2010), and mainly focus on the pH value determination, analysis of nitrate and nitrite, and the inspection of microorganism. **Methods** The usage of reagents and colorimetric tubes in the analysis of nitrate and nitrite were inquired, the feasibility of plating culture used in the inspection of microorganism were proposed, and the suggestion of using more instrumental analysis instead of titrimetric analysis in the purified water inspection was raised. **Results** The choice of colorimetric apparatus and the precision of the reagents were explicit. The plating method was better in convenience and reliability than membrane-filter procedure during the microorganism inspection. Instrumental analysis is the trend of purified water inspection and deserved to be recommended. **Conclusion** Based on our own and others' studies, the methods of impurity analysis are improved, which might be accepted in the revision of Chinese Pharmacopoeia in future.

[Key words] purified water; nitrate; nitrite; ammonia; instrumental analysis

纯化水作为一种制药用水, 可用作溶剂配制普通药物制剂或试验用水; 中药注射剂、滴眼剂等灭菌制剂所用饮片的提取溶剂; 口服、外用制剂配制用溶剂或稀释剂; 非灭菌制剂用器具的清洗用水等^[1,2]。纯化水的质量是否符合药典标准, 直接关系到药品和制剂的安全性, 因此, 在 2010 年版《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》) 中确立了 10 项检查指标, 从酸碱度、硝酸盐、亚硝酸盐、氨、电导率、总有机

碳、易氧化物、不挥发物、重金属和微生物等方面对纯化水的质量提出详细要求。《中国药典》中对这 10 项检查的操作过程及所用试剂进行了详细的规定, 以确保检查结果可靠, 操作重复性好。但在实际操作中, 我们发现《中国药典》所述的操作过程有部分描述不够详实具体, 可能导致检验者根据个人习惯操作, 进而出现实验重复性差, 结果出现偏差。笔者根据个人实际操作中所遇到的问题, 结合文献报道, 对《中国药典》中纯化水的部分检查方法进行了修改完善, 旨在使其更加详细准确, 更具指导作用。

1 纯化水中硝酸盐的检查方法

2010 年版《中国药典》中规定: 取纯化水 5 ml 置试管中, 于冰浴中冷却, 加 10% 氯化钾溶液

[基金项目] 重大新药创制专项(2013ZX09J13109-04B); 第二军医大学大学生创新能力培养基金(ZD2013027)

[作者简介] 柳强, 本科. E-mail: ummsund@163.com

[通讯作者] 高静, 博士, 副教授, 硕士生导师. 研究方向: 新型药物给药系统. Tel: (021)81871293; E-mail: gjsmmu@126.com

0.4 ml与0.1%二苯胺硫酸溶液0.1 ml,摇匀,缓缓滴加硫酸5 ml,摇匀,将试管于50℃水浴中放置15 min,溶液产生的蓝色与标准硝酸盐溶液0.3 ml,加无硝酸盐的水4.7 ml,用同一方法处理后的颜色比较,不得更深(0.000 006%)。

在该检查项下,笔者认为有以下几点值得商榷。首先,按照《中国药典》中所述,该检查最终以试管进行比色,但实际操作中试管间往往存在色差,从而影响实验结果判断的准确性。为使比色结果准确可靠,应选用容量适宜、内径大小一致的专用比色管。考虑到比色时的总体积为5.5 ml,溶剂中有硫酸并需要振摇,因此可选用体积为10 ml的具塞比色管。其次,“冰浴中冷却”一步,由于冷却效果对后续实验结果有较大影响,为体现《中国药典》的严谨性及保证实验结果的可重复性,建议对冰浴冷却的时间做出详细规定。笔者在实际操作中发现5 min冰浴即可冷却纯化水至10℃,能满足测定要求。再次,“缓缓滴加硫酸5 ml,摇匀”一步,由于硫酸溶于水释放大热,使溶液温度升高,生成非蓝色副产物,进而影响实验结果的判定。建议改为:逐滴加入硫酸5 ml,边加边在冰浴中振摇,使其温度不高于50℃。最后,在量的描述上,《中国药典》中“加10%氯化钾溶液0.4 ml与0.1%二苯胺硫酸溶液0.1 ml”以及“溶液产生的蓝色与标准硝酸盐溶液0.3 ml”中所涉及的溶液量对实验结果影响极大,因此描述应更为准确,以保证测定效果的重现性。建议对体积的描述应增加一位有效数字。

针对以上存在问题及建议,最终纯化水中硝酸盐的检查方法可表述为:取纯化水5 ml置试管中,于冰浴中冷却5 min,加10%氯化钾溶液0.40 ml与0.1%二苯胺硫酸溶液0.10 ml,摇匀,逐滴加入硫酸5.0 ml,边加边在冰浴中振摇,使其温度不高于50℃。将试管于50℃水浴中放置15 min,然后将试液全部转移至10 ml具塞比色管中。溶液产生的蓝色与标准硝酸盐溶液0.30 ml,加无硝酸盐的水4.7 ml,用同一方法处理后溶液产生的蓝色比较,不得更深(0.000 006%)。

2 纯化水中亚硝酸盐、氨的检查方法

2010年版《中国药典》中对于亚硝酸盐的检查方法为:取纯化水10 ml,置纳氏管中,加对氨基苯磺酰胺的稀盐酸溶液(1→100)1 ml与盐酸萘乙二胺溶液(0.1→100)1 ml,产生的粉红色,与标准亚硝酸盐溶液0.2 ml,加无亚硝酸盐的水9.8 ml,用同一方法处理后的颜色比较,不得更深

(0.000 002%)。对氨的检查中规定:取纯化水50 ml,加碱性碘化汞钾试液2 ml,放置15 min;如显色,与氯化铵溶液1.5 ml,加无氨水48 ml与碱性碘化汞钾试液2 ml制成的对照液比较,不得更深(0.000 03%)。

对亚硝酸盐和氨的检查,2010年版《中国药典》中所用的化学反应联合目视比色法简便快捷,专属性强,但操作烦琐。这些方法的检查结果判断与硝酸盐检查法类似,出现了比色用器具选择不准确的问题。对于最终以色差判定结果的检验来说,容器的色差会对结果产生较大影响^[3]。根据最终检测溶液的体积,笔者建议在亚硝酸盐的检查中统一选用10 ml具塞比色管。而在氨的检查中,邓雪玉等^[4]指出,尽管最终检查液的体积为52 ml,但50 ml的纳氏比色管刻度上方尚有20 ml体积,选用该规格比色管不影响操作并可使观测效果最佳,建议《中国药典》修订时将比色容器明确为内径大小一致的50 ml纳氏比色管以消除比色容器选用的随意性。

史建勋等^[5]建立了免化学试剂离子色谱法(RFIC法)快速检查纯化水中的氯化物、硫酸盐、硝酸盐、亚硝酸盐4种阴离子,分析1个纯化水样品仅需12 min,且最低检出限均低于10 μg/L,具有很好的灵敏度和重现性,可以满足纯化水的分析要求。在检测过程中不需使用化学试剂,且离子色谱法已列入2010版《中国药典》,可考虑以该法逐步代替化学反应检测法。

3 纯化水中微生物限度的检查方法

2010年版《中国药典》中对微生物限度的检查规定:取纯化水,采用薄膜过滤法处理后,依法检查(附录XI J),细菌、霉菌和酵母菌总数每1 ml不得超过100个。

该法在实际操作过程中,步骤烦琐,且由于滤膜面积有限,菌落多时清晰度欠佳,明显影响计数的准确性。庄华玲等^[6]早在2010年版《中国药典》发布之前,就针对2005年版《中国药典》中纯化水微生物限度检查提出了两点值得商榷之处,一是对检验量未做具体要求,1 ml的体积指的是“供试品的供试液”还是“适宜稀释级的供试液”并未指明^[7];二是提出了以操作更为简便的平皿法进行检查的可行性。时至今日,这些问题仍旧存在。陈力奋等^[8,9]也就该问题探讨了平皿法检查纯化水微生物限度的可行性,通过与薄膜过滤法相比较,发现平皿法适用于纯化水中微生物的检查,其操作更为简便,且结果更清晰准确。

4 建立纯化水的仪器检测方法

纯化水的检查中,除了电导率使用仪器进行分析外,其余均为容量分析。随着分析化学的进步,仪器分析越来越普及,相对于容量分析,利用仪器检测更加方便快捷,省时省力。在结果的准确性和重现性上,仪器分析亦更胜一筹。

在纯化水的检查中,仪器分析可以扮演重要角色,譬如酸碱度可应用 pH 计进行快速测定,取代精确度不高、影响因素较多的变色法。在 2010 年版《中国药典》中规定,10 ml 纯化水样品中加入甲基红指示液 2 滴,不得显红色,加溴麝香草酚蓝指示液 5 滴,不得显蓝色。甲基红的变色范围是 pH 4.4~6.2, pH 值越低,红色越明显。溴麝香草酚蓝的变色范围是 pH 6.0~7.6,变色范围内随 pH 升高,由黄色转变为蓝色。实际测定中,我们以上海市居民饮用水为样品,以实验室自制的去离子水为对照,以《中国药典》中规定的甲基红和溴麝香草酚蓝指示液进行变色法测定,凭借肉眼观察溶液颜色变化。由于个体对颜色的敏感度差异,实验组 6 位成员所得色差结论不一,重复实验 3 次并采纳多数意见,确定样品在甲基红指示液加入后呈淡黄色,溴麝香草酚蓝指示液加入后呈淡绿色,与对照品相近,判定 pH 合格。

相较于烦琐且主观性较强的变色法,若以 pH 计测定,样品溶液的 pH 值可以精确至小数点后两位,且测量过程仅需数秒,结果更为客观可信。

5 结语

纯化水作为制药用水的一种,可用于配制诸多口服用药,并可进一步精制成为注射用水。纯化水

的快速检查是其制备中的重要环节,其效率和准确度至关重要。近几版《中国药典》中对纯化水的检查项目不断进行修订,但对每一检查项下的具体操作步骤和方法未进行过修改完善。笔者在进行野战制药用水制备的具体操作过程中,遇到了诸多不够明确的检查步骤和方法,给纯化水的检测带来困难。因而根据个人实际操作,并结合部分参考文献中的方法改进,汇成本文。为了保证药典的规范性、严谨性和先进性,纯化水的检查方法应结合分析化学的研究进展,不断修改及完善,确保检验结果的可靠及准确。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:411-412.
- [2] 孙晶晶,柯云玲,邵益丹,等. 不同贮存条件对纯化水质量的影响[J]. 中国消毒学杂志,2014,31(4):353-356.
- [3] 梁 熠. 纯化水中亚硝酸盐检查商榷[J]. 中国药师,2012,15(1):126-127.
- [4] 邓雪玉,覃志高. 纯化水中氨检查商榷[J]. 中国药师,2012,15(3):434-435.
- [5] 史建勋,茅海琼. RFIC 法快速检查纯化水中 4 种阴离子[J]. 药物分析杂志,2011,31(1):135-137.
- [6] 庄华玲,李艳芳,吴国盛. 纯化水微生物限度检查方法的商榷[J]. 中国药师,2006,9(10):975.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 年版二部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2005:303.
- [8] 陈力奋,刘建国,屈晓萍,等. 用平皿法检测纯化水的微生物限度[J]. 海峡药学,2006,18(1):88-89.
- [9] 米海生. 纯化水系统的微生物控制[J]. 黑龙江科技信息,2012,26,14.

[收稿日期] 2015-01-15 [修回日期] 2015-05-15

[本文编辑] 顾文华

(上接第 251 页)

度计算分析可知各批次红参药材稳定性较高,可用于控制药材的质量,以保证制剂质量的稳定性,也为含红参制剂尤其是注射剂的指纹图谱研究提供参考依据。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:143.

- [2] 罗国安,王明义,曹 进,等. 建立我国现代中药质量标准体系的研究[J]. 世界科学技术-中药现代化,2002,4(4):5-11.
- [3] 刘唯芬,熊 英,幕善学,等. 红参 HPLC 指纹图谱研究[J]. 辽宁中医杂志,2009,36(7):1178-1179.
- [4] 蔡 萍,肖 娟,张水寒,等. 红参超微饮片的指纹图谱研究[J]. 中华中医药杂志,2011,26(7):1513-1515.
- [5] 郑 重,宋凤瑞,刘淑莹,等. 人参、红参皂苷类成分指纹图谱研究[J]. 质谱学报,2012,33(6):327-333.

[收稿日期] 2014-08-14 [修回日期] 2014-12-09

[本文编辑] 顾文华