

原子吸收法测定甲硝唑原料药中镉含量的方法研究

郑利伟

作者单位: 112000 辽宁, 铁岭市药品检验所分析室

作者简介: 郑利伟(1981-), 男, 大学本科, 医学学士, 副主任药师, 研究方向: 药品分析检测、药品研发。E-mail: 979021815@qq.com

[摘要] **目的** 建立测定甲硝唑原料药中镉含量的测定方法。**方法** 采用石墨炉原子吸收光谱法, 供试品经微波消解处理后测定, 镉测定波长 228.8 nm, 狭缝 0.7 nm, 光源灯电流 8 mA。**结果** 镉浓度在线性范围 0~2 ng/ml 范围内与吸光度呈良好线性关系, 平均加样回收率为 98.4% (RSD = 1.2%, $n=9$)。**结论** 方法准确快捷, 专属性强, 检出限低, 精密度高, 回收率好, 线性范围宽, 稳定性好。

[关键词] 甲硝唑; 石墨炉原子吸收分光光度法; 镉; 微波消解

[中图分类号] R 917 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2019)08-0905-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2019.08.22

Determination of cadmium in metronidazole by raw materials atomic absorption spectrometry ZHENG Liwei. Analysis Room of Tieling Drug Inspection Institute, Liaoning 112000, China

[Abstract] **Objective** To establish a method for the determination of cadmium in metronidazole raw materials. **Methods** Graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) was used to determine the metronidazole samples after microwave digestion. The cadmium determination wavelength was 228.8 nm, the slit was 0.7 nm, and the light source current was 8 mA. **Results** There was a good linear relationship between cadmium concentrations and absorbances in the linear range of 0 ~ 2 ng/ml, and the average recovery was 98.4% (RSD = 1.2%, $n=9$). **Conclusion** The method has the advantages of accuracy, quickness, specificity, low detection limit, high precision, good recovery, wide linear range and good stability.

[Key words] Metronidazole; Graphite furnace atomic absorption spectrometry; Cadmium; Microwave digestion

甲硝唑是抗阿米巴药、抗滴虫药、抗厌氧菌药, 是硝基咪唑类的衍生物^[1], 临床应用广泛, 用于治疗或预防厌氧菌引起的系统或局部感染, 如腹腔、消化道、下呼吸道、皮肤及软组织、骨和关节等部位的厌氧菌感染, 还可用于口腔厌氧菌感染。其制剂类型广泛, 有片剂、胶囊剂、注射剂、复方制剂等, 特别是在现实生活中几乎是口腔感染、牙病的必吃药。药品生产过程总会引进重金属等杂质污染物, 而原料药的生产是至关重要的环节^[2], 其金属离子污染物不但具有毒性, 还会影响药品的稳定性、保质期等并产生有害的副作用。临床用药时存在将重金属传入人体的风险, 因此控制原料药中重金属就很重要^[3]。中国药典 2015 年版二部采用目视比色法对其重金属进行检查, 其误差大, 没有定量控制的分析, 美国药典^[4]新通则 <232> 和 <233> 元素杂质控制新标准和新方法已将现行的目视比色法替换为仪器分析法 (AAS, ICP-OES, ICP-MS)^[5]。本文采用微波消

解-石墨炉原子吸收光谱法 (GFAAS) 测定甲硝唑中镉含量, 方法准确、简单、灵敏。

1 材料与方法

1.1 材料 AA-7000 型原子吸收分光光度计 (日本岛津公司), MAS-6 微波消解仪 (美国 CEM 公司), Milli-Q 超纯水系统 (美国 Milli-pore 公司), 标准镉溶液 1 000 $\mu\text{g/ml}$ (国家标准物质研究中心, 批号 GBW08612-16061), 甲硝唑 (湖北宏源药业股份有限公司, 批号: 180206, 180508, 180805), 硝酸 (优级纯), 实验用水为超纯水 (电阻率 18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$)。

1.2 方法

1.2.1 标准储备液制备 精密量取镉标准液 1.0 ml, 置 100 ml 量瓶中, 用 1% 硝酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 1.0 ml, 置 200 ml 量瓶中, 用 1% 硝酸溶液稀释至刻度, 摇匀, 即得 50 ng/ml 标准储备液。

1.2.2 供试品溶液制备 取甲硝唑原料药约 0.5 g, 精密称定, 置消解罐中, 加硝酸 5 ml, 密塞, 置微波消

解仪内进行消解处理^[6],微波功率 800 W,5 min 升温至 120 ℃,保持 5 min,2 min 升温至 140 ℃,保持 10 min,3 min 升温至 190 ℃,保持 15 min。消解完毕,待冷却后取出,用水将内容物转移至 100 ml 量瓶中,用水洗涤消解罐,洗液转移至量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。另取硝酸 5 ml,按上述操作同时制备空白溶液。

1.2.3 测定条件和方法 采用高温分解涂层石墨管,测定波长 228.8 nm,狭缝 0.7 nm,光源灯电流 8 mA,石墨炉程序升温条件:干燥温度 120 ℃,20 s,灰化温度 350 ℃,20 s,原子化温度 2 000 ℃,5 s,进样体积 10 μl。

2 结果

2.1 标准溶液的制备和线性试验 精密量取 1.2.1 项标准储备液 0、0.4、1.0、2.0、3.0、4.0 ml 分别置 100 ml 量瓶中,用 1% 硝酸溶液稀释至刻度,摇匀,作为浓度。0、0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 ng/ml 标准溶液,以 1% 硝酸溶液作为空白溶液,每个浓度平行测定 3 份,进样体积 10 μl,分别测定,取吸收度平均值,以质量浓度 C 为横坐标,吸收度 A 为纵坐标进行线性回归,回归方程为: $A = 0.05238C + 0.00755$, $r = 0.9993$,线性范围 0 ~ 2 ng/ml。

2.2 加样回收试验^[7] 取甲硝唑样品 9 份,每份约 0.5 g,精密称定,分别置消解罐中,加硝酸 5 ml,每 3 份分别精密加入 1.2.1 项标准储备液 1.0、2.0、3.0 ml,混匀,按 1.2.2 项同法制备加样试验,分别按 1.2.3 项下方法测定,计算回收率,平均加样回收率为 98.4% (RSD = 1.2%, n = 9)。见表 1。

表 1 加标回收试验结果 (n = 9)

称样量 (g)	加入量 (ng)	测得量 (ng)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
0.5012	50	48.56	97.12		
0.5018	50	49.12	98.24		
0.5006	50	48.86	97.72		
0.5022	100	99.63	99.63	98.4	1.2
0.5025	100	97.86	97.86		
0.5008	100	98.20	98.20		
0.5010	150	148.52	99.01		
0.5009	150	147.26	98.17		
0.5026	150	149.53	99.69		

2.3 检出限 取 1.2.2 项下供试品空白溶液,连续进样 20 次,按 1.2.3 项下方法测定,由吸收度标准偏差^[8]的 3 倍和标准曲线的斜率计算镉的最低检测浓度为 0.032 ng/ml。按供试品的称量和稀释步骤,计算方法的检出限为 0.006 μg/g (6 μg/kg)。

2.4 重复性试验 取同一批甲硝唑样品 6 份,每份约 0.5 g,精密称定,按 1.2.2 项方法制备溶液,分别

按 1.2.3 项下方法测定,结果含镉量 2.76 μg/kg, RSD = 1.8%,表明方法的重复性良好。

2.5 精密度的试验 分别取标准溶液 0.5 ng/ml、1.5 ng/ml,连续测定 6 次,按 1.2.3 项下方法测定吸光度, RSD 分别为 1.8%、1.5%,结果表明方法的精密度良好。

2.6 样品测定 分别取三批样品,按 1.2.2 项下方法制备,再按 1.2.3 项测定条件测定,三批样品结果含镉量分别为 2.56 μg/kg、2.68 μg/kg、2.82 μg/kg,均低于检出限 6 μg/kg。

3 讨论

3.1 本研究发现在样品处理过程中,甲硝唑在稀释直接进样时,其他金属离子杂质对测定有干扰,因此改用微波消解法^[9]进行处理,可获得澄清溶液。微波消解具有加热速度快、加热均匀、试剂用量少、低空白、节能高效等优点,同时操作时避免了挥发损失和样品的污染,提高了分析的准确度和精密度,回收率实验获得令人满意的结果。

3.2 本方法采用石墨炉原子吸收法,测定简单快速,灵敏度和精密度高,对比火焰原子吸收法可以避免原子浓度在火焰气体中的稀释,分析灵敏度得到了显著的提高。该法用于测定痕量金属元素,在性能上比其他许多方法好,但不能同时测多个金属杂质元素,线性范围窄,对复杂样品需要对干扰进行消除。石墨管在选择时,普通石墨管表面空隙高,多次使用后表面变化大,样品易渗入,原子化效率低^[10],同时有记忆效应,而高温分解涂层石墨管表面光滑致密,样品不易渗入,记忆效应低,灵敏度大大提高。

3.3 中国药典 2015 年版二部对甲硝唑原料药的重金属检测标准为限量的检查^[11],并没有要求计算镉含量,本方法检测甲硝唑原料药样品结果虽低于检出限,主要受限于此次选择样品中镉含量相对低,但方法可以准确地测出样品中镉含量,而且专属性强,灵敏度高,回收率高,检出限低,方法检出限为 6 μg/kg,而重金属检测目视比色法的检出限为 50 μg/kg^[12]。本方法可以检测到更低浓度的镉污染,进一步对原料药进行质量控制,降低镉污染累积至危害健康的风险,有效提高临床用药的安全性。依据本法的拓展,笔者会在后续的工作中对其他重金属(如铅、铬等)作进一步研究。

参考文献

- 1 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典二部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 212.
- 2 姜小林, 董素萍, 舒靖能. ICH Q3D 新制剂元素杂质评估及控制的要点解读 [J]. 中国药事, 2017, 31(8): 854 - 860.

- 郝杰,张哲峰,毕小平. 原料药杂质研究与控制浅析[J]. 中国现代应用药学,2015,32(6):757-763.
- U. S. Pharmacopeial Convention. USP36-NF31 [S]. 36th revision, 31th Edition. Washington: The United States Pharmacopeial Convention, 2013:151-155.
- 张慧敏,余敏芝,陈旭,等.《美国药典》新通则<232>和<233>元素杂质控制新标准和方法介绍及其对医药界的影响[J]. 中国药房,2014,25(17):1601-1603.
- 陈阳,杨永健. 化学原料药中19种金属杂质的检测研究[J]. 药物分析杂志,2012,32(4):631-635.
- 曹珺,赵丽娟,钟儒刚. 原子吸收光谱法测定食品中重金属含量的研究[J]. 食品科学,2012,33(7):304-309.
- 沈梅,马安德. 微波消化在药品微量元素测定中的应用[J]. 中国测试技术,2007,33(4):123-125.
- 赵瑞军. 微波消解-石墨炉原子吸收法测定鱼粉中的铅和镉[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版),2014,31(1):50-53.
- 陈阳,宋冬梅,杨永健. 石墨炉原子吸收光谱法测定硫酸鱼精蛋白中的镉[J]. 药物分析杂志,2015,35(1):93-96.
- 李滋,刘帅,唐素芳. 各国药典中重金属检查方法的比较分析[J]. 天津药学,2017,29(3):48-51.
- 中华人民共和国卫生部. GB5009.15-2003 食品中镉的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003:111-112.

[收稿日期 2019-01-06][本文编辑 韦所芬 刘京虹]

纠正抗凝剂依赖性假性血小板减少症患者 血小板计数一例 · 病例报告 ·

王冬

作者单位: 430071 湖北,武汉大学中南医院检验科

作者简介: 王冬(1988-),男,大学本科,学士学位,检验技师,研究方向:临床免疫学。E-mail:78156482@qq.com

[关键词] 抗凝剂; 假性血小板减少; 有效纠正; 计数

[中图分类号] R 973.2; R 558+.2 [文章编号] 1674-3806(2019)08-0907-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2019.08.23

1 病例介绍

患者,女,57岁,因“右肺腺癌化疗”来我院门诊就诊。患者无皮肤瘀点、瘀斑、牙龈出血和鼻出血及胃肠道出血等表现;否认高血压、心脏病、糖尿病等系统病史,否认乙肝、结核等传染病史,否认重大外伤史,否认食物药物过敏史;凝血象等检查结果正常。经复片镜检确认为EDTA-K₂依赖性假性血小板减少。分别采集1份干燥红管无抗凝剂血3 ml、1份肝素锂抗凝血3 ml、1份枸橼酸钠抗凝血2 ml和1份EDTA-K₂抗凝血2 ml外周血样本。无抗凝剂血采集后迅速上机检测;肝素锂、枸橼酸钠和EDTA-K₂抗凝血采集后分别于0、15、30、60、120 min上机检测1次。抽取静脉血的同时,立即用稀释液按《全国临床检验操作规程》(第4版)的操作方法进行血小板手工计数。上机检测同时分别从4份样本中取约10 μl血进行涂片,行瑞氏吉姆萨染色,在油镜下观察血小板分布情况。不同抗凝剂在0 min时上机检测血常规结果见表1。血小板手工计数和不同抗凝剂在不同时间上机检测计数结果见表2。无抗凝

剂血和肝素锂、枸橼酸钠、EDTA-K₂抗凝血在不同时间油镜下血小板分布情况见图1。

表1 不同抗凝剂在0 min时上机检测血常规结果

项目	无抗凝剂血标本	EDTA-K ₂ 抗凝血标本	肝素锂抗凝血标本	枸橼酸钠抗凝血标本
WBC(×10 ⁹ /L)	4.67	4.40	4.35	4.22
RBC(×10 ¹² /L)	4.08	4.05	4.09	3.70
HGB(g/L)	128.00	128.00	127.00	116.00
PLT(×10 ⁹ /L)	189.00	85.00	184.00	163.00
NEUT%(%)	66.80	65.70	66.20	66.60
LYMPH%(%)	24.80	25.70	26.00	25.10
MONO%(%)	7.50	7.50	6.40	6.90
EO%(%)	0.90	1.10	1.40	1.40
BASO%(%)	0.00	0.00	0.00	0.00
NEUT#(×10 ⁹ /L)	3.12	2.89	2.88	2.81
LYMPH#(×10 ⁹ /L)	1.16	1.13	1.13	1.06
MONO#(×10 ⁹ /L)	0.35	0.33	0.28	0.29
EO#(×10 ⁹ /L)	0.04	0.05	0.06	0.06
BASO#(×10 ⁹ /L)	0.00	0.00	0.00	0.00