

乙醇衍生顶空气相色谱测定氢氯噻嗪原料药中微量甲醛和甲酸的含量

周婷^{1,2}, 曾苏^{1*}

(1. 浙江大学药学院, 杭州 310058; 2. 浙江华海药业股份有限公司, 临海 317024)

摘要 目的: 开发微量甲醛和甲酸在原料药中的测定方法。**方法:** 本文建立了一种新型便捷的测定氢氯噻嗪原料药中残留甲醛和甲酸的乙醇衍生顶空气相色谱分析方法, 并对建立的方法进行分析方法学验证。在本文检测条件下, 甲醛被衍生化成二乙氧基甲烷, 甲酸被衍生化成甲酸甲酯。**结果:** 甲醛的最低检测限为 $31 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 最低定量限为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 甲醛的回收率在 90.0%~110.0% 之间, 甲醛和二乙氧基甲烷之间的转化率为 99.7%; 甲酸的最低检测限为 $30 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 最低定量限为 $99 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 甲酸的回收率在 90.0%~110.0% 之间, 甲酸和甲酸乙酯之间的转化率为 100.5%。氢氯噻嗪原料药在该色谱条件下不干扰测定, 使用建立的方法对不同批次的氢氯噻嗪进行检测, 均未检出甲酸, 甲醛含量在最低定量限水平以下。**结论:** 本方法经方法学验证, 适用于氢氯噻嗪原料药中微量甲醛和甲酸的含量控制。

关键词: 氢氯噻嗪; 利尿剂; 微量甲醛; 甲酸; 二乙氧基甲烷; 甲酸乙酯; 新型乙醇衍生; 顶空气相色谱

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2017)05-0862-07

doi: 10.16155/j.0254-1793.2017.05.17

Quantitative analysis of trace amount of formaldehyde and formic acid in hydrochlorothiazide API using ethanol derivative method with headspace gas chromatography

ZHOU Ting^{1,2}, ZENG Su^{1*}

(1. College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;

2. Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co., Ltd., Linhai 317024, China)

Abstract Objective: To develop a method for quantitative analysis of trace amount of formaldehyde and formic acid in drug substance. **Methods:** A new and convenient ethanol derivative method from headspace gas chromatography was established for quantitative analysis of residual formaldehyde and formic acid in hydrochlorothiazide API. The established method was validated by analytical methodology. Under the present detection condition, formaldehyde was derived into diethylformal, and formic acid was derived into ethyl formate. **Results:** For formaldehyde, the detection limit was $31 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, the quantification limit was $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; the recovery was within 90.0%~110.0%, the percent conversion from formaldehyde to diethylformal was 99.7%. For formic acid, the detection limit was $30 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, the quantification limit was $99 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; the recovery was within 90.0%~110.0%, the percent conversion from formic acid to ethyl formate was 100.5%. There was no interference from

* 通信作者 Tel:(0571)88208405; E-mail: zengsu@zju.edu.cn

第一作者 Tel:(0576)85016300; E-mail: adazhou@huahai pharm.com

hydrochlorothiazide API during analyzation. In different batches of hydrochlorothiazide, formic acid was not detected and formaldehyde was under the quantification limit. **Conclusion:** This method is fully validated and applicable to quantitative analysis of trace amount of formaldehyde and formic acid in hydrochlorothiazide API for quality control.

Keywords: hydrochlorothiazide; diuretics; trace amount of formaldehyde; formic acid; diethylformal; ethyl formate; new type of ethanol derivative; headspace gas chromatography

氢氯噻嗪(hydrochlorothiazide)是一种利尿剂,为治疗中等程度水肿的首选药物。可用于各种类型的水肿,对心脏性水肿如充血性心力衰竭引起的水肿很有效。氢氯噻嗪降压作用强度中等,目前仍为降压治疗的基础药物之一,临床上广泛用于各种类型的高血压,常与其他降压药合用增强降压效果。在氢氯噻嗪原料药合成工艺中使用了甲醛,中国药典和人用药物注册技术要求国际协调会(ICH)均未要求对甲醛的残留进行检测。众所周知,甲醛具有毒性和挥发性,对人类身体健康有较大危害,并且甲醛还可能会被氧化成甲酸,因甲醛及甲酸这2种物质对人体均有较大的损伤,故迫切需要对在氢氯噻嗪产品中甲醛和甲酸的残留做严格控制,建立一种稳定、有效的残留量检测方法。

在WHO关于饮用水质量的指南文件^[1]中讨论了甲醛的毒性以及明确指出已有证据表明甲醛经口服途径不是致癌物质,在文献中甲醛经口服摄入的日可耐受摄入量(TDI)为0.15 mg·kg⁻¹,以成年人50 kg体重和假设每天最大的摄入来源为10 g,可计算得到甲醛0.075%的限度要求。而甲酸是ICH指南Q3C^[2]和各国药典明确规定的3类溶剂,限度为0.5%。本文建立了一种高灵敏度和特异性的同时测定甲醛和甲酸的方法,结果表明该方法适用于氢氯噻嗪中微量甲醛和甲酸的含量控制。

甲醛含量的测定方法比较多,主要有分光光度法和色谱法。分光光度法中最被广泛应用的是乙酰丙酮比色法和酚试剂比色法^[3-7],但该方法试验操作较烦琐,灵敏度不高,选择性较低,易受酚试剂和其他醛类物质的干扰,造成测定结果有一定的误差。甲醛相对分子质量小,用气相色谱法分析时出峰时间早,且在FID检测器中响应较低,灵敏度不高;用液相色谱法分析,由于甲醛极性大,出峰时间早,且在紫外检测器中无吸收,因此用普通的气相色谱法和液相色谱法均难以直接检测,一般需要先对甲醛进

行衍生化。常用的衍生试剂为2,4-二硝基苯肼(2,4-dinitrophenylhydrazine),再用气相色谱法或液相色谱法进行测定,但操作复杂耗时^[8-12],在特定化学原料药检测过程中可能存在干扰而造成重复性较差。目前也有文献报道用直接进样毛细管气相色谱法测定氢氯噻嗪中甲醛的残留量,但直接进样易污染色谱柱,灵敏度较低^[13]。

本研究是利用甲醛和甲酸在1%对甲基苯磺酸乙醇溶液环境中60℃反应,甲醛和甲酸可完全转化成二乙氧基甲烷和甲酸乙酯^[14],因该反应在顶空气相色谱检测的顶空瓶保温过程中即可发生,无需额外增加人工衍生步骤,从而简化了操作,提高了精密度和准确度。

1 化学衍生化反应原理

甲醛和甲酸在少量对甲基苯磺酸催化条件下,可以分别和乙醇反应,形成二乙氧基甲烷和甲酸乙酯,在此条件下这2个反应基本可以达到定量转化,反应式如图1所示:

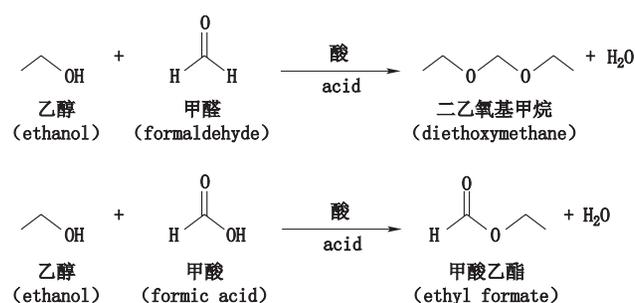


图1 衍生化反应方程式

Fig. 1 Reaction equation of derivation

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Agilent 7890A & 7697A 自动顶空气相色谱仪 配备FID检测器(Agilent公司)。Stabliwax(30 m × 0.53 mm × 1.0 μm; 固定液:聚乙二醇; RESTEK公司)。

乙醇(分析纯,杭州化学试剂有限公司),对甲基

苯磺酸(分析纯,临安青山化工厂),二甲亚砜(色谱纯,ROE公司),甲酸(分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司),甲醛溶液(37%~40%)(分析纯,杭州化学试剂有限公司),甲酸乙酯(分析纯,偃师市新鑫香料厂),二乙氧基甲烷(分析纯,阿拉丁公司),氢氯噻嗪样品(浙江华海药业制备)。

2.2 溶液的配制

稀释液:1%对甲基苯磺酸乙醇溶液-二甲亚砜(4:1)。

空白溶液:稀释液。

储备溶液A:称取甲酸乙酯6.44 mg,精密称定于100 mL量瓶中,用稀释液稀释至刻度,混匀,即得(甲酸乙酯质量浓度:64.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

储备溶液B:称取二乙氧基甲烷13.88 mg,精密称定于100 mL量瓶中,用稀释液稀释至刻度,混匀,即得(二乙氧基甲烷质量浓度:138.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

标准溶液:准确移取储备溶液A 10.0 mL和储备溶液B 10.0 mL于100 mL量瓶中,用稀释液稀释至刻度,混匀,即得(甲酸乙酯质量浓度:6.44 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;二乙氧基甲烷质量浓度:13.88 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)。

2.3 实验步骤

2.3.1 色谱条件 色谱柱:Stabliwax(30 m \times 0.53 mm \times 1.0 μm);载气:氮气;柱流量:5.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$;分流比:1:1;程序升温:40 $^{\circ}\text{C}$ 保持10 min,然后以20 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 上升到140 $^{\circ}\text{C}$,保持5 min;检测器温度:260 $^{\circ}\text{C}$;进样口温度:140 $^{\circ}\text{C}$;进样量:1.0 mL;顶空瓶保温温度:60 $^{\circ}\text{C}$;顶空瓶保温时间:60 min。

2.3.2 样品溶液配制 称取氢氯噻嗪样品0.1 g,精密称定,置20 mL顶空瓶中,加稀释液5.0 mL,加盖密封,振荡混匀,即得质量浓度为0.02 g $\cdot\text{mL}^{-1}$ 的样品溶液。

2.3.3 样品分析 按照色谱条件依次进样空白溶液、标准溶液和样品溶液,记录峰面积。甲醛和甲酸的定性分别以衍生化产物二乙氧基甲烷和甲酸乙酯色谱峰保留时间作为依据。

2.3.4 计算方法 甲醛和甲酸含量分别以下列公式来计算:

$$\text{甲醛含量} = \frac{C_s \times R_1}{C_1 \times R_s} \times \frac{30.30}{104.15}$$

式中, C_s 为标准溶液中二乙氧基甲烷的质量浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), C_1 为样品溶液的质量浓度($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), R_s 为标准溶液所得到的色谱图中二乙氧基甲烷的峰面积, R_1 为样品溶液所得到的色谱图中二乙氧基甲

烷的峰面积,30.03为甲醛的摩尔质量($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$),104.15为二乙氧基甲烷的摩尔质量($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)。

$$\text{甲酸含量} = \frac{C_s \times R_1}{C_1 \times R_s} \times \frac{46.03}{74.08}$$

式中, C_s 为标准溶液中甲酸乙酯的质量浓度($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), C_1 为样品溶液的质量浓度($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), R_s 为标准溶液所得到的色谱图中甲酸乙酯的峰面积, R_1 为样品溶液所得到的色谱图中甲酸乙酯的峰面积,46.03为甲酸的摩尔质量($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$),74.08为甲酸乙酯的摩尔质量($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)。

3 结果讨论

3.1 衍生化时间和温度对结果的影响

以稀释液配制14.15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的二乙氧基甲烷溶液和8.23 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的甲酸乙酯溶液,分别考察了顶空瓶不同保温时间(10、20、30、40、50、60和70 min)和顶空瓶不同保温温度(40、50、60和70 $^{\circ}\text{C}$)条件下二乙氧基甲烷和甲酸乙酯的峰面积的影响。由表1可以得出,从顶空瓶保温时间10 min开始,二乙氧基甲烷和甲酸乙酯的峰面积基本没有明显变化,说明10 min的衍生化时间即可达到反应平衡,且衍生化时间对结果的影响不大。由表2可以得出,从顶空瓶保温温度40 $^{\circ}\text{C}$ 开始,二乙氧基甲烷和甲酸乙酯的峰面积呈上升趋势,说明衍生化温度越高,气液平衡时所得的二乙氧基甲烷和甲酸乙酯的峰面积越大。但由于稀释液是乙醇,它在常压下的沸点为78 $^{\circ}\text{C}$,顶空瓶保温温度太高,溶剂挥发太多,压力增加,可能会导致瓶子破裂等情况。故方法选择顶空瓶保温温度60 $^{\circ}\text{C}$,在这个衍生温度下,方法学研究能保证足够的灵敏度和转化率即可。

表1 衍生化时间的影响

Tab. 1 Influence of derivation time

序号 (No.)	衍生化时间 (derivation time)/min	二乙氧基甲烷 峰面积 (peak area of diethylformal)	甲酸乙酯 峰面积 (peak area of ethyl formate)
1	10	180	193
2	20	189	199
3	30	176	190
4	40	176	189
5	50	177	192
6	60	176	192
7	70	178	193

表 2 衍生化温度的影响

Tab. 2 The Influence of derivation temperature

序号 (No.)	顶空瓶保温温度 (vial equilibrium temperature)/°C	二乙氧基甲烷 峰面积 (peak area of diethylformal)	甲酸乙酯 峰面积 (peak area of ethyl formate)
1	40	88	105
2	50	134	149
3	60	176	192
4	70	239	249

3.2 方法学研究

3.2.1 方法特异性 将空白溶液、标准溶液分别进样分析,从所得色谱图中发现,空白溶液中有约甲酸乙酯最低检测限 1/2 水平的干扰峰存在,即相当于样品含量为 $24 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 的甲酸乙酯干扰,二乙氧基甲烷没有干扰峰存在,甲酸乙酯和二乙氧基甲烷之间的分离度在 1.5 以上,均不影响样品的检测。色谱图见图 2。

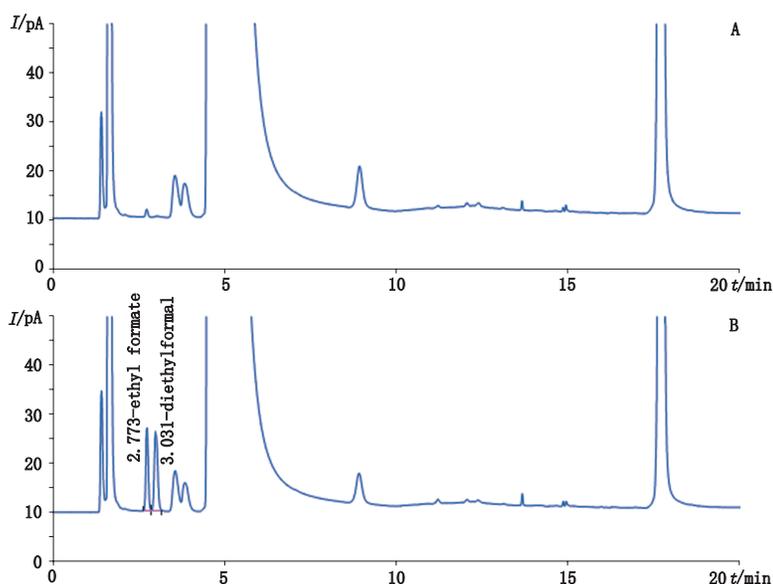


图 2 空白溶液 (A) 与标准溶液 (B) GC 图谱

Fig. 2 GC chromatograms of blank solution (A) and standard solution (B)

3.2.2 方法的检测限和定量限 分别称取二乙氧基甲烷 14.33 mg 和甲酸乙酯 6.46 mg,精密称定于 100 mL 量瓶中,用稀释液稀释至刻度,混匀,采用逐步稀释法来确定方法的检测限和定量限。检测限定义为信噪比约等于 3 时所检测到的浓度,本方法中的二乙氧基甲烷的检测限为 $2.1495 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,相当于样品含量为 $107 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,换算成甲醛相当于样品含量为 $31 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;甲酸乙酯的检测限为 $0.969 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,相

当于样品含量为 $48 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,换算成甲酸相当于样品含量为 $30 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。定量限定义为信噪比约等于 10 时所检测到的浓度,本方法中的二乙氧基甲烷的定量限为 $6.93 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,相当于样品含量为 $347 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,换算成甲醛相当于样品含量为 $100 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$;甲酸乙酯的定量限为 $3.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,相当于样品含量为 $160 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,换算成甲酸相当于样品含量为 $99 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。定量限色谱图见图 3。

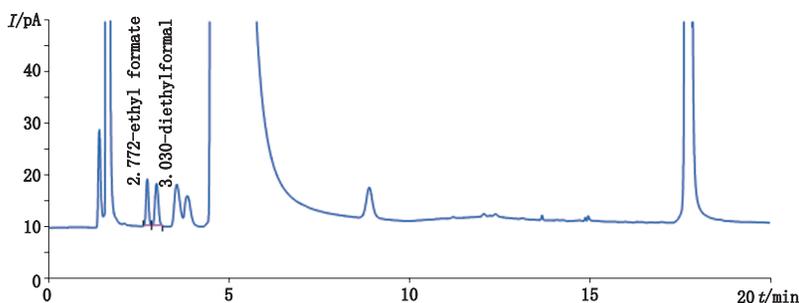


图 3 定量限图谱

Fig. 3 GC chromatogram of quantification limit

3.2.3 线性范围 分别考察了甲醛、甲酸、二乙氧基甲烷和甲酸乙酯的线性范围。

甲醛线性范围: 称取甲醛溶液 11.45 mg, 精密称定于 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 取该溶液逐步稀释成质量浓度为 2.12、2.544、3.392、4.24、5.088 和 6.36 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的一系列甲醛溶液, 考察方法的线性。结果表明在 2.12~6.36 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 标准方程:

$$Y=8.259X-3.836 \quad r^2=0.9964$$

甲酸线性范围: 称取甲酸 4.06 mg, 精密称定于 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 取该溶液逐步稀释成质量浓度为 2.03、2.436、3.248、4.06、4.872 和 6.09 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的一系列甲酸溶液, 考察方法的线性。结果表明在 2.03~6.09 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 标准方程:

$$Y=12.348X+4.8172 \quad r^2=0.9982$$

二乙氧基甲烷线性范围: 称取二乙氧基甲烷

14.33 mg, 精密称定于 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 取该溶液逐步稀释成质量浓度为 7.165、8.598、11.464、14.33、17.196 和 21.495 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的一系列二乙氧基甲烷溶液来考察方法的线性。结果表明在 7.165~21.495 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 标准方程:

$$Y=8.750X-9.215 \quad r^2=0.9828$$

甲酸乙酯线性范围: 称取甲酸乙酯 6.46 mg, 精密称定于 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 取该溶液逐步稀释成浓度为 3.23、3.876、5.168、6.46、7.752 和 9.69 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的一系列甲酸乙酯溶液来考察方法的线性。结果表明在 3.23~9.69 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好, 标准方程:

$$Y=12.15X+5.542 \quad r^2=0.9938$$

转化率考察: 用线性浓度通过在 2 种不同的体系中目标物的单位浓度峰面积来考察甲醛和二乙氧基甲烷、甲酸和甲酸乙酯之间的转化率。见表 3 和表 4。

表 3 甲醛与二乙氧基甲烷之间的转化率计算结果

Tab. 3 Percent conversion from formaldehyde to diethylformal

序号 (No.)	单位浓度峰面积 (peak area per unit concentration)		转化率 (percent conversion) /%
	二乙氧基甲烷体系 (diethylformal system)	甲醛体系 (formaldehyde system)	
1	7.691	7.697	100.08
2	7.579	7.740	102.12
3	7.651	7.839	102.46
4	8.799	8.032	91.28
5	7.695	8.324	108.17
6	8.433	7.934	94.08

甲醛与二乙氧基甲烷之间的平均转化率 (average percent conversion from formaldehyde to diethylformal): 99.7%

表 4 甲酸与甲酸乙酯之间的转化率计算结果

Tab. 4 Percent conversion from formic acid to ethyl formate

序号 (No.)	单位浓度峰面积 (peak area per unit concentration)		转化率 (percent conversion) /%
	甲酸乙酯体系 (ethyl formate system)	甲酸体系 (formic acid system)	
1	13.599	13.723	100.91
2	13.389	13.536	101.10
3	13.076	13.145	100.53
4	13.744	13.165	95.79
5	12.727	13.244	104.06
6	12.585	12.677	100.73

甲酸与二乙氧基甲烷之间的平均转化率 (average percent conversion from formic acid to ethyl formate): 100.5%

$$\text{甲醛与二乙氧基甲烷之间转化率} = \frac{C_s \times R_1}{C_1 \times R_s} \times 100\%$$

式中, C_s 为二乙氧基甲烷体系中二乙氧基甲烷的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), C_1 为甲醛体系中由甲醛换算成二乙氧基甲烷的理论浓度 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 即 C_1 为甲醛浓

度 $\times 104.15/30.03$ (104.15 为二乙氧基甲烷的摩尔质量 ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$), 30.03 为甲醛的摩尔质量 ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)), R_s 为二乙氧基甲烷体系中所得到的色谱图中二乙氧基甲烷的峰面积, R_1 为甲醛体系中所得到的色谱图中二乙氧基甲烷的峰面积。

$$\text{甲酸与甲酸乙酯之间转化率} = \frac{C_s \times R_1}{C_1 \times R_s} \times 100\%$$

式中, C_s 为甲酸乙酯体系中甲酸乙酯的浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), C_1 为甲酸体系中由甲酸换算成甲酸乙酯的理论浓度 ($\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$), 即 C_1 为甲醛浓度 $\times 74.08/46.03$ (74.08 为甲酸乙酯的摩尔质量 ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$), 46.03 为甲酸的摩尔质量 ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$)), R_s 为甲酸乙酯体系中所得到的色谱图中甲酸乙酯的峰面积, R_1 为甲酸体系中所得到的色谱图中甲酸乙酯的峰面积。

3.2.4 方法的回收率及精密度 分别称取二乙氧基甲烷 13.88 mg 和甲酸乙酯 6.44 mg, 精密称定

于 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 准确移取该溶液 10.0 mL 至 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 即得储备溶液; 称取氢氯噻嗪样品 0.1 g, 精密称定, 置于 20 mL 顶空瓶中, 加储备溶液 5.0 mL, 加盖密封, 振摇混匀。平行制备 6 份测试溶液, 溶液中含氢氯噻嗪质量浓度为 $0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 二乙氧基甲烷质量浓度为 $13.88 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 甲酸乙酯质量浓度为 $6.44 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 测定二乙氧基甲烷和甲酸乙酯回收率并计算 RSD。由表 5 可以得出, 二乙氧基甲烷和甲酸乙酯的日内和日间回收率的 RSD 均小于 5%, 表明方法均有较好的精密度。

表 5 方法的日内、日间回收率和精密度

Tab. 5 Precision and recovery for intra-day and inter-day

序号 (No.)	日内 (intra-day)				日间 (inter-day)			
	二乙氧基甲烷 (diethylformal)		甲酸乙酯 (ethyl formate)		二乙氧基甲烷 (diethylformal)		甲酸乙酯 (ethyl formate)	
	回收率 (recovery) /%	RSD /%	回收率 (recovery) /%	RSD /%	回收率 (recovery) /%	RSD /%	回收率 (recovery) /%	RSD /%
1	91.2	3.1	100.4	1.5	87.6	4.7	106.5	4.4
2	97.8		99.0		97.4		108.5	
3	93.0		97.2		99.6		111.8	
4	98.8		100.6		96.7		107.6	
5	96.7		100.4		85.7		99.6	
6	97.1		101.2		94.9		101.0	

3.2.5 方法的准确度 分别称取二乙氧基甲烷 13.88 mg 和甲酸乙酯 6.44 mg, 精密称定于 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 分别准确移取该溶液 5.0、8.0、10.0、12.0 mL 至 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 即得各储备溶液; 称取氢氯噻嗪样品 0.1 g, 精密称定, 置于 20 mL 顶空瓶中, 加各储备溶液 5.0 mL, 加盖密封, 振摇混匀。使用这 4 个浓度 (二乙氧基甲烷: 6.94 、 11.104 、 13.88 、 $16.656 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 甲酸乙酯: 3.22 、 5.152 、 6.44 、 $7.728 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 的溶液来考察方法回收率。回收率的计算以添加氢氯噻嗪 (终浓度为 $0.02 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 测得的待测物峰面积与未添加氢氯噻嗪时的峰面积的比值表示。由表 6 中可以得出, 二乙氧基甲烷和甲酸乙酯的回收率在 90%~110% 之间。

3.2.6 溶液稳定性 分别称取二乙氧基甲烷 13.88 mg 和甲酸乙酯 6.44 mg, 精密称定于 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀, 准确移取该溶液 10.0 mL 至 100 mL 量瓶中, 用稀释液稀释至刻度, 混匀。分别

表 6 方法的准确度

Tab. 6 Accuracy of the method

序号 (No.)	二乙氧基甲烷 (diethylformal)		甲酸乙酯 (ethyl formate)	
	C/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 (recovery) /%	C/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 (recovery) /%
	1	6.94	96.1	3.22
2	11.104	96.2	5.152	103.9
3	13.88	92.6	6.44	99.4
4	16.656	96.1	7.728	98.1

在 0 h 和 6 h 使用该溶液进样测定。结果表明样品在室温环境下放置 6 h 内没有发生明显变化。

3.3 样品测定

使用建立的顶空气相色谱方法对连续生产的不同批次的氢氯噻嗪进行检测, 均未检出甲酸, 甲醛含量在 0.007% 左右, 在最低定量限水平以下。色谱图见图 4。

4 结论

本文建立了一种衍生顶空气相色谱分析氢氯噻

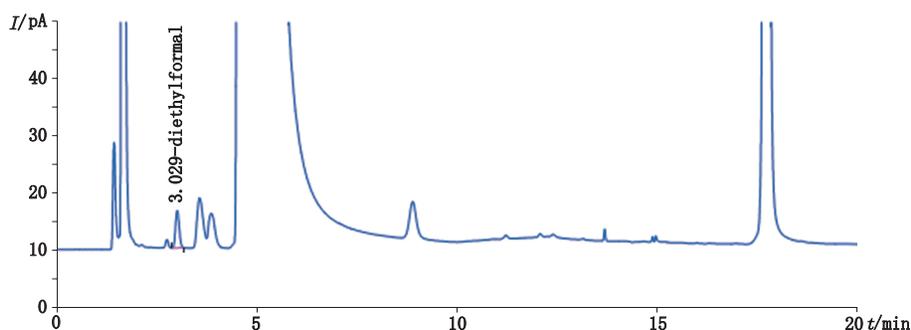


图4 样品溶液图谱

Fig. 4 GC chromatogram of sample solution

噻中微量甲醛和甲酸的检测方法。使用建立的方法对氢氯噻嗪样品进行检测,结果表明该方法具有样品处理简单,灵敏度高,特异性好等优点,非常适用于氢氯噻嗪等原料药中微量甲醛和甲酸的准确快速检测。

参考文献

- [1] World Health Organization (WHO). Formaldehyde in Drinking-Water: Background Document for Development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality (GDWQ) [EB/OL]. 2005 [2016-05-26]. http://www.who.int/water_sanitation_health/water-quality/guidelines/chemicals/formaldehyde/en/
- [2] The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Impurities: Guideline for Residual Solvents Q3C [EB/OL]. (2011-02-04) [2016-05-26]. <http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>
- [3] 刘文君,赵红,白亮,等.分光光度法测定室内空气中甲醛的方法研究 [J]. 中国环境监测, 2003, 19 (4): 32
LIU WJ, ZHAO H, BAI L, *et al.* Study on the determination of the indoor air formaldehyde by spectrometer-photometry method [J]. Environ Monit China, 2003, 19 (4): 32
- [4] 吕玉琼,林凯,侯德波.香菇中甲醛含量的监测报告 [J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12 (6): 701
LÜ YQ, LIN K, HOU SB. Monitoring report of formaldehyde content in the mushroom [J]. Chin J Health Lab Technol, 2002, 12 (6): 701
- [5] 宋建华,殷晓梅,刘红霞,等.酚试剂分光光度法测定空气中甲醛 [J]. 理化检验-化学分册, 2008, 44 (3): 278
SONG JH, YIN XM, LIU HX, *et al.* Phenol reagent spectrophotometry determination of formaldehyde in the air [J]. Phys Test Chem Anal Part B: Chem Anal, 2008, 44 (3): 278
- [6] 王军鹏,陈素玲,曹丽玲,等.酚试剂比色法测定水发产品中甲醛含量方法研究 [J]. 中国煤炭工业医学杂志, 2007, 10 (10): 1233
WANG JP, CHEN SL, CAO LL, *et al.* Study on determination of formaldehyde in waterlogged food products by phenol reagent colorimetric method [J]. Chin J Coal Ind Med, 2007, 10 (10): 1233
- [7] 王芳,杨文英.新酚试剂比色法测定工作场所空气中的甲醛 [J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16 (7): 810
WANG F, YANG WY. New phenol reagent colorimetric method for determination of formaldehyde in workplace air [J]. Chin J Health Lab Technol, 2006, 16 (7): 810
- [8] 顾娟红,朱振华,陈军,等.衍生气相色谱法测定纺织品中的游离甲醛 [J]. 能源环境保护, 2011, 25 (1): 29
GU JH, ZHU ZH, CHEN J, *et al.* Determination of free formaldehyde in textiles by derivative gas chromatography [J]. Energy Environ Prot, 2011, 25 (1): 29
- [9] 范衍琼,周韬,李玉萍,等.直接进样毛细管气相色谱测定空气中甲醛的研究 [J]. 现代预防医学, 2005, 32 (7): 779
FAN YQ, ZHOU T, LI YP, *et al.* Study on the method for determination of formaldehyde in the air by direct injection capillary gas chromatography [J]. Mod Prev Med, 2005, 32 (7): 779
- [10] 陈笑梅,施旭霞,朱卫建,等.高效液相色谱直接测定甲醛衍生物反应条件的研究 [J]. 分析化学, 2004, 32 (11): 1489
CHEN XM, SHI XX, ZHU WJ, *et al.* A study of the reaction condition for direct determination of formaldehyde derivative by HPLC [J]. Chin J Anal Chem, 2004, 32 (11): 1489
- [11] 徐炜,魏春青.食品中游离甲醛的高效液相色谱测定方法的研究 [J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18 (3): 230
XU W, WEI CQ. Determination of free formaldehyde in foods by HPLC [J]. Chin J Food Hyg, 2006, 18 (3): 230
- [12] 李军,朱凤妹,彭涛,等.啤酒中甲醛的液相荧光光谱检测方法研究 [J]. 中国食品学报, 2007, 7 (5): 128
LI J, ZHU FM, PENG T, *et al.* Study on the determination of formaldehyde in beer by LC-FLU [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2007, 7 (5): 128
- [13] 可钰,张建业,阎学斌,等.用毛细管气相色谱法测定氢氯噻嗪中甲醛的残留量 [J]. 光谱实验室, 2005, 22 (5): 1111
KE Y, ZHANG JY, YAN XB, *et al.* Determination of residual amount of formaldehyde in hydrochlorothiazide by capillary GC [J]. Chin J Spectrosc Lab, 2005, 22 (5): 1111
- [14] FARRELL TP, FERRIZZI D. Determination of trace formic acid and formaldehyde in film coatings comprising polyvinyl alcohol (PVA) [J]. AAPS J, 2008, 10 (S2): 773

(本文于 2016 年 5 月 26 日收到)