

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2020.21.017

## 药用胶塞中残留水分检测方法探讨\*

吴红洋<sup>1</sup>,詹宇杰<sup>1</sup>,李莎<sup>1</sup>,蒋波<sup>1</sup>,余春梅<sup>2</sup>,蒋猛<sup>2</sup>,范能全<sup>1△</sup>

(1. 重庆市食品药品检验检测研究院,重庆 401121; 2. 西南药业股份有限公司,重庆 400038)

**摘要:**目的 建立药用胶塞残留水分的测定方法。方法 采用卡式炉-卡尔费休法,通过优化取样部位、取样方式、加热时间等条件,测定胶塞中的水分含量。结果 优化后的条件为冠部剪碎,取样量约为200 mg,加热温度为250℃,加热时间为45 min,载气流量为40 mL/min;该方法准确度和灵敏度较高;平均加样回收率为95.36%,RSD为1.33%(n=6)。结论 该方法操作简单、结果准确、重复性好,可用于药用胶塞中水分含量的快速测定。

**关键词:**卡式炉-卡尔费休法;药用胶塞;残留水分

中图分类号:R955

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2020)21-0059-03

### Detection of Residual Moisture in Medicinal Rubber Stopper

WU Hongyang<sup>1</sup>, ZHAN Yujie<sup>1</sup>, LI Sha<sup>1</sup>, JIANG Bo<sup>1</sup>, YU Chunmei<sup>2</sup>, JIANG Meng<sup>2</sup>, FAN Nengquan<sup>1</sup>

(1. Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing, China 401121; 2. Southwest Pharmaceutical Co., Ltd., Chongqing, China 400038)

**Abstract: Objective** To establish a method for the detection of residual moisture in a medical rubber stopper. **Methods** The sampling position, sampling method and heating time were optimized, and the moisture content in the rubber stopper was detected by the oven sample changer-Karl Fisher method. **Results** The optimized conditions were as follows: the crown of medical rubber stopper was cut into pieces, the sample size was 200 mg, the heating temperature was 250℃, the heating time was 45 min, and the carrier gas flow rate was 40 mL/min. The accuracy and sensitivity of the method were high, the average recovery was 95.36%, and the RSD was 1.33% (n=6). **Conclusion** The method is simple, accurate and reproducible, which can be used for the rapid detection of moisture in a medical rubber stopper.

**Key words:** oven sample changer-Karl Fisher method; medical rubber stopper; residual moisture

胶塞中的残余水分易迁移至药物中,会影响药品的安全性,特别是对于水分较敏感的冻干制品和抗生素粉

针剂<sup>[1-2]</sup>。研究表明,冻干制剂的水分来源主要是胶塞残留水分的释放,胶塞的清洗、灭菌过程均会导致水分

\*基金项目:重庆市科研机构绩效激励引导专项项目[csct2019jxjl130040]。

第一作者:吴红洋,女,硕士研究生,工程师,研究方向为药包材相容性,(电子信箱)why751224021@163.com。

△通信作者:范能全,男,硕士研究生,正高级工程师,研究方向为药包材相容性与新药药理学,(电子信箱)fannqcq@163.com。

提取时间:考察了不同提取时间下待测成分的含量差异。取样品粉末(过5号筛)约5 g,3份,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇50 mL,分别超声提取30, 45, 60 min。结果表明,3份样品中待测成分的含量无明显差异,故选择超声处理30 min。

#### 参考文献:

- [1] 王心亚,潘敬舜. 益肾壮骨丸治疗膝关节骨性关节炎75例分析[J]. 吉林中医药,2004,24(6):19.
- [2] 梁晋如. 山茱萸的化学成分及其生物活性研究[D]. 西安:西北大学,2014.
- [3] 叶贤胜. 中药山茱萸的化学成分和生物活性研究[D]. 北京:北京中医药大学,2017.
- [4] 袁莉丽,姜红波. 山茱萸的主要化学成分及药理作用[J]. 化学与生物工程,2011,28(5):7-9.
- [5] 雷小小,苏艳莹,李美云,等. 山茱萸环烯醚萜苷中马钱苷和莫诺苷的研究进展[J]. 上海中医药杂志,2018,52(1):104-108.
- [6] CAO G, ZHANG Y, CONG XD, et al. Research progress on the chemical constituents and pharmacological activities of *Fructus*

*corni* [J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2019, 18(3):208-213.

- [7] 苟丽琼,姜媛媛,吴一起,等. 芍药有效成分与药理活性研究进展[J]. 基因组学与应用生物学,2018,37(9):4022-4029.
- [8] 李丽萍,张杜鹃,冯坤苗,等. 白芍总苷治疗类风湿关节炎药理作用及机制研究进展[J]. 山东医药,2019,59(26):111-113.
- [9] 叶先文,夏澜婷,任洪民,等. 白芍炮制的历史沿革及化学成分、药理作用研究进展[J]. 基因组学与应用生物学,2020, 51(7):1951-1969.
- [10] 胡延喜. 赤芍总苷在大鼠体内药代动力学和芍药苷与血清白蛋白相互作用研究[D]. 沈阳:辽宁大学,2018.
- [11] 陆小华,马骁,王建,等. 赤芍的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药,2015,46(4):595-602.
- [12] 胡娟,吴志生,黄美霞,等. 中药复方制剂质量控制中含量测定指标的选择思路[J]. 福建中医学院学报,2008, 18(3):71-72.
- [13] 肖小河. 走向精准的中药质量评价与控制[J]. 药学报, 2019,54(12):2139-2140.

(收稿日期:2020-05-20)

增加<sup>[3-5]</sup>,但国家药包材标准尚未对胶塞的残余水分进行控制。目前,测定胶塞的水分主要有干燥失重法和卡式炉-卡尔费休法。干燥失重法检测时间较长,且胶塞中的挥发性物质也会随着水分一起挥发,造成结果不准确<sup>[6-7]</sup>。卡式炉-卡尔费休法属于碘量法,仅测定水分含量,专属性强,准确度高,应用较广泛。国际标准化组织(ISO)8362-5 附录 A 中使用卡氏炉加热温度 140℃,将胶塞中的水分蒸发出来并导入卡尔费休试剂中进行测量,取加热 90,85,80,75,70 min 时的含水量数据,通过外推线斜率读出水分含量<sup>[8]</sup>。该方法检测时间较长,计算烦琐。袁怡等<sup>[9]</sup>以升高卡式炉温度,通过设定相对漂移值为滴定终点测定胶塞中水分含量,但由于仪器的相对漂移值是瞬间结果,不能真实反映胶塞中的残余水分。本研究中采用卡尔费休法,通过考察取样部位、取样方式和加热时间对水分检测结果的影响,建立一种准确、快速测定药用胶塞残留水分的方法。现报道如下。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

C30S 型库伦法水分测定仪,Strombili 型加热炉进样器,XPE205 型电子天平(精度为 0.01 mg),均购自瑞士 Mettler Toledo 公司;UN 型烘箱(美国 Memmert 公司);Milli-Q Advantag A10 型超纯水机(德国默克密理博公司)。

### 1.2 试剂

水分标准品(批号为 FN1330754,含量为 0.99% ± 0.02%),库伦法阴阳极液(批号为 2020131),均购自德国 Merck 公司;超纯水;注射用溴化丁基橡胶塞(生产企业 A,批号为 190205)。

## 2 方法与结果

### 2.1 仪器条件

加热炉温度:(250 ± 2)℃;加热时间:45 min;初始漂移值:25 μg/min;搅拌速率:45%;载气流量:40 mL/min。

### 2.2 试验方法

取胶塞 10 只,各剪取冠部 1 块,剪成细小块状(20 mm<sup>3</sup>),称取约 200 mg,置干燥的卡式炉样品瓶中,立即用铝箔片密封。空白样品瓶同法操作。检测完毕后,仪器自动扣除空白值,并得出水分含量结果,平行试验 3 份,所得结果采用 SPSS 19.0 统计学软件进行分析。结果见表 1 至表 3。

### 2.3 方法学考察

精密度试验:取胶塞,按 2.2 项下试验方法分别测定 6 次。结果见表 4,表明仪器精密性良好。

加样回收试验:取胶塞 6 份,精密称定,每份加入适量超纯水,立即密封,按拟订方法进样测定,并计算加样回收率。结果见表 5。

表 1 不同取样部位含水量测定结果(n=3)

| 编号 | 取样部位 | 取样方式 | 加热时间(min) | 含水量( $\bar{X} \pm s, \%$ ) | P     |
|----|------|------|-----------|----------------------------|-------|
| 1  | 冠部   | 剪碎   | 30        | 0.97 ± 0.05                | >0.05 |
| 2  | 塞部   | 剪碎   | 30        | 0.91 ± 0.04                |       |
| 3  | 冠部   | 剪碎   | 45        | 1.17 ± 0.03                | >0.05 |
| 4  | 塞部   | 剪碎   | 45        | 1.24 ± 0.05                |       |
| 5  | 冠部   | 剪碎   | 60        | 1.41 ± 0.06                | >0.05 |
| 6  | 塞部   | 剪碎   | 60        | 1.39 ± 0.05                |       |

表 2 不同取样方式含水量测定结果(n=3)

| 编号 | 取样部位 | 取样方式 | 加热时间(min) | 含水量( $\bar{X} \pm s, \%$ ) | P     |
|----|------|------|-----------|----------------------------|-------|
| 1  | 冠部   | 剪碎   | 30        | 0.97 ± 0.05                | <0.05 |
| 2  | 冠部   | 未剪碎  | 30        | 0.78 ± 0.01                |       |
| 3  | 冠部   | 剪碎   | 45        | 1.17 ± 0.03                | <0.05 |
| 4  | 冠部   | 未剪碎  | 45        | 1.01 ± 0.01                |       |
| 5  | 冠部   | 剪碎   | 60        | 1.41 ± 0.06                | <0.05 |
| 6  | 冠部   | 未剪碎  | 60        | 1.06 ± 0.02                |       |

表 3 不同加热时间相对漂移值、外推线斜率及含水量测定结果(n=3)

| 编号 | 前处理  | 加热时间(min) | 相对漂移值( $\bar{X} \pm s, \mu\text{g}/\text{min}$ ) | 外推线斜率( $\bar{X} \pm s$ ) | 含水量( $\bar{X} \pm s, \%$ ) | P     |
|----|------|-----------|--------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------|-------|
| 1  | 冠部剪碎 | 30        | 36.47 ± 1.14                                     | 0.87 ± 0.03              | 1.05 ± 0.03                | >0.05 |
| 2  | 冠部剪碎 | 45        | 32.50 ± 1.49                                     | 0.57 ± 0.02              | 1.26 ± 0.04*               | <0.05 |
| 3  | 冠部剪碎 | 60        | 30.47 ± 1.30                                     | 0.53 ± 0.01              | 1.46 ± 0.05                | <0.05 |
| 4  | 冠部剪碎 | 75        | 29.20 ± 0.30                                     | 0.50 ± 0.01              |                            | <0.05 |
| 5  | 冠部剪碎 | 90        | 28.63 ± 0.31                                     | 0.47 ± 0.02              |                            | <0.05 |
| 6  | 冠部剪碎 | 105       | 28.03 ± 0.31                                     | 0.46 ± 0.02              |                            |       |

注:\* P > 0.05。

表 4 精密度试验结果(n=6)

| 编号 | 取样量(g)   | 含水量(%) | $\bar{X}(\%)$ | RSD(%) |
|----|----------|--------|---------------|--------|
| 1  | 0.196 76 | 1.17   | 1.20          | 1.83   |
| 2  | 0.197 09 | 1.18   |               |        |
| 3  | 0.197 85 | 1.20   |               |        |
| 4  | 0.196 91 | 1.21   |               |        |
| 5  | 0.198 02 | 1.23   |               |        |
| 6  | 0.197 73 | 1.21   |               |        |

表 5 加样回收试验结果(n=6)

| 取样量(μg) | 样品含量(μg) | 加入量(μg) | 测得量(μg) | 回收率(%) | $\bar{X}(\%)$ | RSD(%) |
|---------|----------|---------|---------|--------|---------------|--------|
| 194 820 | 2 363    | 1 560   | 3 832.2 | 94.18  | 95.36         | 1.33   |
| 197 890 | 2 363    | 1 490   | 3 793.9 | 96.03  |               |        |
| 198 790 | 2 363    | 1 370   | 3 691.9 | 97.00  |               |        |
| 198 060 | 2 363    | 1 640   | 3 935.8 | 95.90  |               |        |
| 194 430 | 2 363    | 1 390   | 3 689.6 | 95.44  |               |        |
| 194 570 | 2 363    | 1 440   | 3 710.6 | 93.58  |               |        |

## 3 讨论

### 3.1 样品前处理方式

适宜的前处理方式对于保证水分检测结果的准确

性至关重要,主要包括取样部位和取样方式。参照 ISO 8362-5 的取样方式,本研究中采用剪取胶塞冠部和塞部各一块、剪碎和不剪碎的处理方式,结果显示,不同取样部位的含水量无显著差异( $P > 0.05$ ),表明胶塞中的水分分布较均匀。TEMPLETON 等<sup>[10]</sup>的研究表明,当卡氏炉温度为 250 ℃ 时,胶塞被平均切成 8 块和 16 块的水分含量一致,只是测定所需时间不同。胶塞被切得越小,测定所需时间越短,表明胶塞剪碎的程度对水分测定结果有一定影响。本研究结果显示,胶塞剪碎和未剪碎的水分含量有显著差异( $P < 0.05$ )。同时,由于胶塞具有吸水性,尤其是在湿度较高的环境下吸附大气中的水分会更多<sup>[11-12]</sup>。环境条件对样品制样过程有影响,尤其是胶塞长时间暴露在空气中,会影响胶塞中残余水分含量的结果。因此,胶塞并不是剪切得越小越好,本研究中通过前期的预试验,最终选定胶塞块为 20 mm<sup>3</sup>。

### 3.2 加热时间

通过干燥失重法测定水分含量,胶塞在湿热灭菌后至少需要干燥 3 h 才可能将胶塞残留水分含量控制至原有水平<sup>[13]</sup>。而采用卡式炉加热法测定水分含量,通过升高温度能减少样品的加热时间。胶塞中的水分主要包括自由水和结合水,随着加热温度的升高,一些被胶塞中亲水性成分束缚的水分更易释放出来,故温度不同测得水分含量不一致<sup>[14]</sup>。WANG 等<sup>[14]</sup>及 CORVELEYN 等<sup>[15]</sup>的研究中均采用卡式炉温度 250 ℃ 测定冻干胶塞中的水分。本研究结果显示,随着加热时间的延长,胶塞中的水分释放得越缓慢,仪器瞬间的相对漂移值不能准确反映胶塞中的残留水分,因此以仪器的相对漂移值来判断滴定终点会导致水分含量测定结果不准确。

由于胶塞中水分含量与加热时间呈递增曲线关系,随着加热时间的延长,曲线斜率逐渐变缓,直至趋近于水平直线,故加热时间的选择是水分测定结果准确性的重要影响因素。为保证测定结果的准确度和精密度,本研究中分别通过计算某一固定时间段内的相对漂移值和外推线斜率,同时考察加热时间与这两者间的显著性差异,以综合评价结果来选择最佳加热时间,以此来判定滴定终点。结果表明,随着加热时间的延长,水分含量逐渐增加,相对漂移值和外推线斜率逐渐变小且变化速率趋于平缓。当加热时间为 30 min 和 45 min 时,相对漂移值和外推线斜率与加热时间均有显著差异( $P < 0.05$ );当加热时间为 45 min 和 60 min,甚至继续延长加热时间时,相对漂移值和外推线斜率与加热时间均无显著差异( $P > 0.05$ )。故选择加热时间为 45 min。

综上所述,本研究中建立的方法操作简单,灵敏度高,准确性好,可为胶塞中水分的快速测定提供参考,可用于药用胶塞的残留水分控制。

### 参考文献:

- [1] 王备战. 清洗工艺对药用丁基橡胶塞残余水分的影响[J]. 机电信息,2014(23):54-56.
- [2] 徐斌,王弢,周园,等. 冻干麻疹减毒活疫苗残余水分影响因素的探讨[J]. 微生物学免疫学进展,2010,38(1):22-25.
- [3] 赵霞,胡昌勤,金少鸿. 对考察药用丁基胶塞与药物相容性的思考与建议[J]. 中国药事,2007,21(10):810-812.
- [4] 陈哲文,张亚达,秦洁,等. 影响生物制品冻干粉针剂水分的探讨[J]. 微生物学免疫学进展,2002,30(4):44-47.
- [5] 高建锋,张翠萍,董雪,等. 不同干燥处理方法对冻干胶塞水分及外用人凝血酶质量的影响[J]. 中国输血杂志,2018,31(11):1300-1303.
- [6] 吴倩,胡星宇,熊马剑,等. 注射用冷冻干燥用卤化丁基橡胶塞残留水分不同测定方法的比较[J]. 药品评价,2019,16(2):20-23.
- [7] 谢兰桂,赵霞,尹光,等. 基于定制试验设计法的注射用冷冻干燥用卤化丁基橡胶塞残留水分测量相关影响因素研究[J]. 药物分析杂志,2019,39(12):2206-2213.
- [8] International Organization for Standardization. 2016, Injection containers and accessories - Part 5: Freeze drying closures for injection vials: ISO 8362-5[S]. Geneva: International Organization for Standardization, 2016.
- [9] 袁怡,付蒙,胡敏. 冻干胶塞水分测定方法的比较[J]. 中国药品标准,2018,19(5):403-407.
- [10] TEMPLETON AC, PLACEK J, XU H, et al. Determination of the moisture content of bromobutyl rubber stoppers as a function of processing: implications for the stability of lyophilized products[J]. PDA J Pharm Sci and Tech, 2003, 57(2):75-87.
- [11] DONOVAN PD, CORVARI V, BURTON MD, et al. Effect of stopper processing conditions on moisture content and ramifications for lyophilized products: comparison of "low" and "high" moisture uptake stoppers[J]. PDA J Pharm Sci and Tech, 2007, 61(1):51-58.
- [12] 袁怡,付蒙,胡敏. 胶料配方和贮存湿度对冻干胶塞吸附性能的影响[J]. 橡胶工业,2019,66(5):363-365.
- [13] 何艳,邹梅娟,卓秋琪,等. 胶塞中残留水分对艾司奥美拉唑钠冻干制剂质量的影响[J]. 中国药物经济学,2019,14(12):36-38.
- [14] WANG Z, FRANKEL BA, LAMBERT WJ. Determination of moisture in rubber stoppers: effect of karl fischer oven temperatures[J]. PDA J Pharm Sci and Tech, 2001, 55(3):162-170.
- [15] CORVELEYN S, SMEDT SD, REMON JP. Moisture absorption and desorption of different rubber lyophilisation closures[J]. Int J Pharmaceutics, 1997, 159(1):57-65.

(收稿日期:2020-02-27;修回日期:2020-04-11)