

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2021.09.015

微波消解-原子吸收火焰法测定肝精补血素口服液中总铁含量*

申二永¹, 金建闻², 李 杨¹

(1. 河南省食品药品检验所·国家药品监督管理局中药材及饮片质量控制重点实验室, 河南 郑州 450018;
2. 河南省食品药品审评查验中心, 河南 郑州 450018)

摘要:目的 建立测定肝精补血素口服液中总铁含量的微波消解-原子吸收火焰法。方法 原子吸收火焰法测定波长为248.3 nm, 灯电流为4 mA, 狭缝宽度为0.2 nm, 氘灯背景校正。结果 总铁质量浓度在0.5~5.0 mg/L范围内与吸光度线性关系良好($r=0.999\ 2$); 回收率为100.55%, RSD 为1.46% ($n=9$)。结论 该方法简便, 重复性好, 精密度高, 结果准确, 可用于肝精补血素口服液的质量控制。
关键词:肝精补血素口服液; 质量标准; 原子吸收火焰法; 微波消解; 总铁; 含量

中图分类号: R932; R284.1; R286.0

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2021)09-0053-04

Content Determination of Total Iron in Ganjing Buxuesu Oral Liquid by Microwave Digestion-Atomic Absorption Spectrometry

SHEN Eryong¹, JIN Jianwen², LI Yang¹

(1. Henan Institute for Food and Drug Control, NMPA Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine and Decoction Pieces, Zhengzhou, Henan, China 450018; 2. Henan Food and Drug Evaluation and Inspection Center, Zhengzhou, Henan, China 450018)

Abstract: Objective To establish a microwave digestion-atomic absorption spectrometry method for the content determination of total iron in Ganjing Buxuesu Oral Liquid. **Methods** The wavelength of atomic absorption spectrometry was 248.3 nm, the lamp current was 4 mA, the slit width was 0.2 nm, and the background absorption was corrected by the deuterium lamp. **Results** The linear range of total iron was 0.5-5.0 mg/L ($r=0.999\ 2$), the recovery rate of total iron was 100.55% with RSD of 1.46% ($n=9$). **Conclusion** The method is simple, reproducible, precise and accurate, which can be used for the quality control of Ganjing Buxuesu Oral Liquid.

Key words: Ganjing Buxuesu Oral Liquid; improvement of quality standards; atomic absorption spectrometry; microwave digestion; total iron; content

肝精补血素口服液是由肝精膏(由鲜猪肝提取)、党参、枸杞子、枸橼酸铁铵、维生素B₁ 5种原料制成的非处方药,具有养血益气、滋补肝肾功效,对于缓解贫血症状和提升血红蛋白水平疗效较好,可用于成人及儿童缺铁性贫血的治疗。肝精补血素口服液对改善缺铁性贫血的症状,显著强于西药铁制剂^[1-3]。枸橼酸铁铵为有机铁剂,是该方中核心的造血原料,故需控制好总铁含量。肝精补血素口服液现行质量标准《卫生部药品标准中药成方制剂(第十三册)》(WS₃-B-2530-97)^[4]。经实际检验及调研生产企业,现行标准的方法存在含量偏低和重复性差的问题,各相关生产企业均建议修订或提高该检验方法。本研究中建立了微波消解-原子吸收火焰法测定肝精补血素口服液中总铁含量的方法^[5-7]。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

AAS-ZEEnit700 P型原子吸收分光光度计(德国耶拿分析仪器股份公司);GBC SavantAA型原子吸收分光光度计(澳大利亚GBC公司,配有AS-1型铁空心阴极灯);MARS6型微波消解仪(美国CEM公司);Milli-Q型超纯水处理系统(美国Millipore公司)。

1.2 试剂

铁元素标准溶液(标示质量浓度为1 000 mg/L,批号为19C006-8,国家有色金属及电子材料分析测试中心);65%纯硝酸(优级纯,德国Merck公司)。肝精补血素口服液(厂家A,河南灵佑药业股份有限公司,批号分别为20140805,20150510,20150805;厂家B,河南省奥林匹克药业有限公司,批号分别为170101,170102,180901,180902,190801,191213,200301,200302;厂家C,开封康诺药业有限公司,批号分别为H18010, H18012, H18013, H18014, H18015, H18016, H18017, H18018, H18019, H18020)。

2 方法与结果

2.1 元素测定条件

测定波长:248.3 nm;灯电流:4 mA;狭缝宽度:0.2 nm。采用对应的空心阴极灯,火焰原子吸收法测定铁(Fe),氘灯背景校正^[8-11]。

2.2 微波消解程序升温条件^[12-13]

详见表1。

2.3 溶液制备

精密量取本品1 mL,置适宜的聚四氟乙烯消解罐

*基金项目:国家药典委员会国家药品标准提高项目[2015Z103]。

第一作者:申二永,大学本科,男,主管药师,研究方向为中药检验,(电子信箱)sheneryong@sina.com。

表1 微波消解程序升温条件

Tab. 1 Temperature-programmed conditions of microwave digestion

步骤	爬升时间(min)	保持时间(min)	温度(℃)	功率(W)
1	10	2	120	1 800
2	5	2	160	1 800
3	5	25	190	1 800

内,加入硝酸 10 mL,混匀,盖好盖子,置微波消解炉内按程序升温条件进行消解。消解完全后,赶酸,剩余液体用 2% 硝酸溶液转移至 50 mL 容量瓶中,精密量取 2 mL,用 2% 硝酸溶液稀释至 20 mL 容量瓶中,摇匀,作为供试品溶液。同法制备试剂空白溶液。

2.4 方法学考察

标准曲线建立:取铁元素标准溶液(质量浓度为 1 000 mg/L),用 2% 硝酸溶液分别稀释制成质量浓度为 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mg/L 的系列标准溶液,以质量浓度(X , mg/L)为横坐标、吸光度(Y)为纵坐标绘制标准曲线。按 2.1 项下条件进行测定,得线性回归方程 $Y=0.0069X+0.0627$, $r=0.9992$ ($n=6$)。结果表明,总铁质量浓度在 0.5~5.0 mg/L 范围内与吸光度线性关系良好。

精密度试验:取适量铁元素标准溶液,加 2% 硝酸溶液,配制得质量浓度为 3 mg/L 的对照品溶液,按 2.1 项下测定条件,连续测定 6 次。结果的 RSD 为 1.42% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取样品(批号为 H18016)6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液并测定。结果铁吸收度的 RSD 为 1.13% ($n=6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取样品(开封康诺药业有限公司,批号为 H18016),按供试品溶液制备方法制备,分别于 0,2,4,8,12,24 h 时进行测定。结果铁吸收度的 RSD 为 1.01% ($n=6$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

加样回收试验:取已知含量的样品(批号为 H18016,铁质量浓度为 1.498 mg/mL)0.5 mL,量取 9 份,分别精密加入铁元素标准溶液(质量浓度为 1 000 mg/L)0.4,0.5,0.6 mL,按 2.3 项下方法制备供试品溶液。精密吸取对照品溶液与供试品溶液,分别注入液相色谱仪,测定铁的含量,计算回收率。结果见表 2。

2.5 不同人员操作及新旧方法结果比较

原容量法标准:精密量取样品 10 mL,置 250 mL 碘量瓶中,加水 10 mL,加硫酸溶液(1:1, V/V)2 mL,摇匀,放冷至 15℃,加入 1% 高锰酸钾溶液 6 mL,盐酸 15 mL,40% 碘化钾溶液 5 mL,摇匀,在暗处放置 15 min,加水 50 mL,用硫代硫酸钠液(0.05 mol/L)滴定,近终点时加入淀粉指示液 2 mL,继续滴定至紫色消失,并将滴定结果用空白试验校正(试剂中不加 1% 高锰酸钾液),

表2 加样回收试验结果($n=9$)

Tab. 2 Results of the recovery test($n=9$)

取样量(mL)	样品含量(mg)	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
0.5	0.749	0.4	1.152	100.75		
0.5	0.749	0.4	1.151	100.50		
0.5	0.749	0.4	1.149	100.00		
0.5	0.749	0.5	1.234	97.00		
0.5	0.749	0.5	1.258	101.80	100.55	1.46
0.5	0.749	0.5	1.251	100.40		
0.5	0.749	0.6	1.357	101.33		
0.5	0.749	0.6	1.359	101.67		
0.5	0.749	0.6	1.358	101.50		

即得每 1 mL 硫代硫酸钠液质量浓度(0.05 mol/L)相当于 2.7925 mg 的铁溶液。取样品 13 批,分别按原容量法标准及原子吸收火焰法操作,对不同人员操作及新旧方法测定结果进行比较。结果见表 3。

表3 不同人员操作及新旧方法测定结果比较(mg/mL)

Tab. 3 Comparison of the results between two operators with new and old methods(mg/mL)

批号	操作人员 1		操作人员 2	
	容量法	火焰法	容量法	火焰法
H18010	1.31	1.47	0.67	1.47
H18012	1.36	1.49	0.88	1.51
H18013	1.31	1.52	0.73	1.52
H18014	1.31	1.46	0.64	1.50
H18015	1.32	1.52	0.64	1.52
H18016	1.29	1.48	0.64	1.52
H18017	1.30	1.51	0.58	1.51
H18018	1.25	1.51	0.62	1.47
H18019	1.27	1.50	0.76	1.50
H18020	1.24	1.51	0.64	1.51
170102	1.31	1.22	0.72	1.16
180901	1.25	1.23	0.79	1.23
191213	1.26	1.15	0.82	1.19

2.6 不同品牌仪器测定结果比较

取样品 3 批(批号分别为 H18016, H18017, H18018),按 2.3 项下方法制备供试品溶液,采用火焰法测定,分别采用德国耶拿 AAS-ZEEnit700P 型、澳大利亚 GBC SavantAA 型原子吸收分光光度计,按 2.1 项下条件测定。结果见表 4。表明使用不同品牌仪器的含量测定结果稳定。

2.7 样品含量测定

取 21 批样品,依法制备供试品溶液,按 2.1 项下元素测定条件和 2.2 项下微波消解程序升温条件测定样品中总铁的含量。结果见表 5。

3 讨论

3.1 容量法问题和限度规定不严谨

1) 试验方法。查阅现行部颁标准的起草说明,该标

表4 不同品牌原子吸收分光光度计测定结果比较(mg/mL)

Tab. 4 Comparison of results between two brands of atomic absorption spectrophotometers(mg/mL)

仪器型号	H18016	H18017	H18018
AAS-ZEEnit700P 型	1.50	1.51	1.49
GBC SavantAA 型	1.51	1.51	1.49

表5 样品总铁含量测定结果(mg/mL)

Tab. 5 Results of content determination of total iron in the samples (mg/mL)

生产厂家	批号	总铁含量	生产厂家	批号	总铁含量
A	20140510	1.56	C	H18010	1.47
	20140805	1.51		H18012	1.50
	20150805	1.49		H18013	1.52
B	180901	1.23		H18014	1.48
	170102	1.19		H18015	1.52
	180902	1.17		H18016	1.50
	170101	1.18		H18017	1.51
	190801	1.51		H18018	1.49
	191213	1.24		H18019	1.50
	200301	1.16		H18020	1.51
	200302	1.23			

准采用的容量法主要参照了枸橼酸铁铵的含量测定方法,原理为枸橼酸铁铵加酸变成三价铁离子(Fe^{3+}),利用 Fe^{3+} 在酸性条件下氧化碘化钾析出碘,用硫代硫酸钠溶液滴定,以测定含量。由于肝精补血素口服液为复方制剂,该方法并不完全适用于该剂型的测定。由表3可见,同一批样品不同人员测定结果差距大,结论也不同,易造成市场监督抽检出现争议。分析原因,滴定终点判断是颜色由黄紫色变成淡黄色(标准规定滴定至紫色消失),由于辅料和其他药味的干扰(该药品性状为暗红色的澄清液体),造成该滴定终点不易判断,导致测定结果因人而异。同时,3家生产企业均反映样品在保质期内,枸橼酸铁铵可能会逐渐与其他辅料发生反应,形成其他价态,导致部分消耗,而原容量法的前处理并不能完全将所有价态的铁转化为 Fe^{3+} ,易造成近效期的样品含量测定结果进一步降低。

2) 限度规定。标准规定限值为每1 mL不得少于1 mg,按照检验结果修约,其范围为0.6~1.4 mg,范围过宽,同样会导致市场监督抽检出现争议。

3.2 投料问题

经调研生产企业发现,企业在实际生产中购进的枸橼酸铁铵中总铁的含量为20.5%~22.5%,根据处方投料5 g枸橼酸铁铵制成成品,成品中总铁的含量应为每1 mL含1.025~1.125 mg。由于原标准存在3.1项下的2个问题,3家生产企业在实际生产中,为避免产品总铁含量低于限度规定或避免争议,实际投料均为

6~8 g,投料量超出处方规定的20%~60%。

3.3 样品前处理方式考察和方法选择

根据投料量折算,样品需稀释500倍,考察了直接稀释法、直接稀释加离子释放剂(氯化锶)法、湿法消解及微波消解法。结果表明,直接稀释法和直接稀释加离子释放剂(氯化锶)法,上机样品溶液尽管有机物含量低于1%,但由于样品是直接稀释,口服液中的糖分和其他辅料会干扰测定,造成测定数据不稳定,同时回收率过高,超出相关技术要求的规定,故不采用上述两法。湿法消解和微波消解法回收率均较理想,可采用该两法,考虑到湿法消解时间较长及所需试剂量较多,故优先选择微波消解法。总铁的测定现行方法主要有容量法、原子吸收火焰法、电感耦合等离子体-质谱法,考虑到铬超标药用胶囊事件后,各药品生产企业均配备了原子吸收分光光度计及微波消解仪,而电感耦合等离子体-质谱仪价格昂贵,使用成本偏高,故优先选用微波消解-原子吸收火焰法测定总铁含量。

3.4 限度拟订

处方中枸橼酸铁铵投料量为5 g,成品理论每1 mL应含总铁1.025~1.125 mg,参考原标准“本品含枸橼酸铁铵,以铁计算,每1 mL不得少于1 mg”,建议限度按照理论值的90%计算,拟定为“本品含枸橼酸铁铵,以铁计算,每1 mL不得少于0.90 mg”。

3.5 方法评价

采用新建立的微波消解-原子吸收火焰法测定总铁的含量,避免了原容量法存在的终点不易判断的问题及枸橼酸铁铵的损失问题,解决了企业困扰的投料问题,方法简便,重复性好,精密度高,可用于肝精补血素口服液的质量控制。

参考文献

- [1] 袁卫梅,吴生谦. 肝精补血素口服液的药效学研究[J]. 中国药业,2006,15(17):29-30.
- [2] 韩海年,宫临征,张金霞. 肝精补血素联合铁剂治疗缺铁性贫血临床观察[J]. 中国误诊学杂志,2007,7(19):4467.
- [3] 邓智建,曹冬梅,石太新. 血生口服液联合枸橼酸铁铵口服液治疗儿童缺铁性贫血临床观察[J]. 医学信息(内·外科版),2009,22(11):1057-1058.
- [4] WS₃-B-2530-97,卫生部药品标准·中药成方制剂(第十三册)[S].
- [5] 王永姣,李卓,张亚锋,等. 微波消解-火焰原子吸收分光光度法测定复方肝浸膏片中铁的含量[J]. 食品安全质量检测学报,2019,10(18):6261-6265.
- [6] 张立雯,苏广海,谢演晖,等. 原子吸收光谱法测定中成药中4种有害元素的方法研究[J]. 中国现代中药,2008,10(9):23-26.
- [7] 朱泽兵,张德伟,牟腊梅,等. 原子吸收分光光度法测定铁屑和枸橼酸铁铵中6种重金属[J]. 中国药师,2018,21(3):512-515.