

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.1.4

马拉硫磷对照品的制备

温芳,张秀英,郭桂芳,陆连寿,万仁玲,郝利华,巩忠福

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[收稿日期] 2020-09-18 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 01-0020-05 [中图分类号] S859.79

[摘要] 通过对马拉硫磷对照品候选物进行全面质量控制,以美国药典委员会提供的马拉硫磷对照品作为溯源对照品,用高效液相方法通过协作标定对制备的马拉硫磷对照品进行定值,确定制备马拉硫磷对照品含量为 99.0%,相对标准偏差为 0.3%。通过对马拉硫磷对照品的研制,期望能对兽用化学药品对照品的研制提供一些参考意见和建议。

[关键词] 马拉硫磷;对照品;定值

Preparation of Malathion Reference Substance

WEN Fang, ZHANG Xiu-ying, LU Lian-shou, GUO Gui-fang, WAN Ren-ling,

HAO Li-hua, GONG Zhong-fu

(Chinese Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Abstract: We subject the malathion candidate materials to comprehensive quality control checks. Testing USP malathion reference substance as a traceable reference, and determine the content of malathion candidate materials using HPLC method by collaborative testing. the average content of malathion candidate materials was 99.0% with RSD of 0.3%. it would help for the research and preparation reference substance of veterinary chemical drug.

Key words: malathion; reference substance; determination content

马拉硫磷是一种较早应用的有机磷杀虫剂,主要以触杀、胃毒合熏蒸毒杀灭害虫,具有广谱、低毒、使用安全等特点。我国、美国及欧盟等均批准其作为兽药使用,美国^[1]和欧盟^[2]已将马拉硫磷及其制剂收录入药典中,并可提供马拉硫磷及其杂质的对照品,我国已将精制马拉硫磷原料及制剂收录入 2017 年版《兽药国家标准》^[3](化学药品卷)中,但还未提供相关标准物质。

为控制马拉硫磷产品质量,满足兽药产品检验

需求,本研究参照美国药典、欧洲药典以及我国 2017 年版《兽药国家标准》(化学药品卷)拟定了马拉硫磷对照品质量标准,依据该质量标准对马拉硫磷对照品候选物进行了全面质量控制,并以美国药典委员会提供马拉硫磷对照品作为溯源对照品,通过协作标定方法对马拉硫磷对照品候选物进行定值,经专家组审查,现已入库发放,填补了我国兽药标准物质研制的一项空白。

1 材料与方法

1.1 材料 马拉硫磷对照品(批号:1374408,含量 99.2%) 和异马拉硫磷对照品(批号:1349604,含量 97%),美国药典委员会提供;马拉硫磷对照品候选物(纯度 99.2%),山东省化学农药及中间体产品质量监督检验站提供;甲醇、丙酮,色谱纯;水为符合 GB/T6682 规定的一级水;高效液相色谱仪 e2695,美国 waters 公司提供;气相色谱仪 7890A, Agilent 公司提供;XP105 天平, METTLER 公司提供;787KFTitrino 水分测定仪,瑞士万通公司提供。

1.2 方法

1.2.1 相对密度 按《中国兽药典》(2015 版)一部^[4]相对密度测定方法中的比重瓶法测定。

1.2.2 鉴别

1.2.2.1 取本品 2 mL,加甲醇 2 mL,摇匀,加 1 mol/L 氢氧化钠溶液 2 mL,摇匀,静置 2 min,再加 0.5 mol/L 硫酸溶液数滴,使溶液呈无色,加醋酸铜试液 2 mL,生成深黄色沉淀;

1.2.2.2 高效液相方法 在含量测定项下记录的色谱图中,马拉硫磷对照品候选物溶液主峰的保留时间应与马拉硫磷对照品溶液主峰的保留时间一致。

1.2.3 检查

1.2.3.1 游离酸 取本品约 2 g,精密称定,加无水乙醇 20 mL 和溴酚蓝指示液数滴,摇匀,用氢氧化钠滴定液(0.02 mol/L)滴定至溶液为蓝色,同时以空白试验校正。

1.2.3.2 异马拉硫磷^[1-2] 色谱条件:照含量测定项下的色谱条件进行试验,检测波长为 210 nm,异马拉硫磷和马拉硫磷的相对保留时间分别为 0.5 和 1.0。

测定法:精密称取异马拉硫磷对照品适量,用甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中约含 0.1 mg 的异马拉硫磷对照品溶液,精密量取 20 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图;另精密称取马拉硫磷对照品候选物适量,用甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中约含 20 mg 的马拉硫磷溶液,同法测定。平行测定 2 份异马拉硫磷对照品和 2 份马拉硫磷对照品候选物,按外标法以峰面积计算马拉硫磷对照品候选物中

异马拉硫磷含量。

1.2.3.3 水分测定方法 按照《中国兽药典》(2015 版)一部^[4]水分测定法第一法费休氏法进行。

1.2.4 含量测定方法 色谱条件与系统适用性试验:用高效液相方法测定^[1-3]。用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(30 cm \times 3.9 mm, 10 μ m);以甲醇-水(50:30)为流动相;检测波长为 254 nm;流速 1.0 mL/min。理论板数按马拉硫磷峰计算不低于 2500,与相邻峰的分度应符合要求。

测定法:精密称取马拉硫磷对照品适量,用甲醇溶解并稀释制成每 1 mL 中约含 10 mg 马拉硫磷对照品溶液,精密量取 20 μ L,注入液相色谱仪,记录色谱图;精密称取马拉硫磷对照品候选物适量,同法配制并测定。按外标法以峰面积计算马拉硫磷对照品候选物中马拉硫磷含量。平行测定 2 份马拉硫磷对照品和 5 份马拉硫磷对照品候选物。

1.2.5 定值方法 协作标定方法:3 家单位协作标定;含量测定按照 1.2.4 高效液相方法进行;每家单位均由 2 人进行测试;每人测试平行样不少于 5 份(每人测试用对照品至少应取 2 份);单人平行样的相对标准偏差应小于 0.5%,2 人间的相对偏差应小于 0.3%。3 家单位协作标定,测定结果进行加权平均计算。

2 结果与分析

2.1 相对密度 测定结果为 1.23。

2.2 鉴别

2.2.1 生成深黄色沉淀;

2.2.2 马拉硫磷对照品 候选物溶液主峰保留时间为 16.999,马拉硫磷对照品溶液主峰保留时间为 16.994,保留时间一致。图谱见图 3 和图 4。

2.3 检查

2.3.1 游离酸 用空白试验校正后,测得游离酸的结果为 0.02%;

2.3.2 异马拉硫磷 将浓度约为 0.1 mg/mL 的 2 份异马拉硫磷对照品溶液和浓度约为 20 mg/mL 的 2 份马拉硫磷对照品候选物溶液,分别进样 2 针。异马拉硫磷和马拉硫磷的相对保留时间分别为 0.5

和 1.0。按外标法计算马拉硫磷对照品候选物中异马拉硫磷的含量,其平均值为 0.06%,修约为 0.1%,具体实验结果见表 1。异马拉硫磷对照品图谱见图 1,马拉硫磷对照品候选物图谱见图 2。

表 1 马拉硫磷对照品候选物中异马拉硫磷含量测定结果

Tab 1 Content of isomalathion in malathion reference

material candidates

	峰面积		含量/%
样 1	60135	57327	0.05
样 2	71605	70955	0.08
含量平均值(%)	0.06		

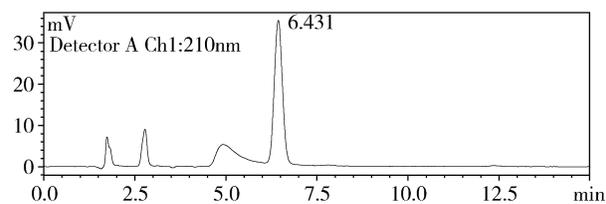


图 1 异马拉硫磷对照品图谱

Fig 1 Chromatogram of isomalathion reference substance

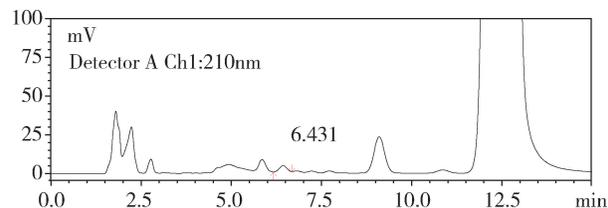


图 2 马拉硫磷对照品候选物图谱

Fig 2 Chromatogram of malathion reference substance candidate

2.3.3 水分测定结果 用 3 份重蒸水标定费休氏试液,得 F 值为 3.5645;测定 3 份供试品的水分平均值为 0.1%。

表 2 马拉硫磷对照品候选物含量测定结果

Tab 2 Content of malathion reference substance candidate

		1	2	3	4	5
峰面积	1	7107935	7102627	7166851	7083077	7173099
	2	7114649	7102602	7172550	7083372	7160555
含量/%	1	98.78	98.67	98.74	98.78	98.88
	2	98.88	98.67	98.82	98.78	98.71
含量平均值/%		98.77%				
相对标准偏差		0.04%				

2.3 含量测定结果

2.3.1 系统适用性结果 将浓度约为 10 mg/mL 的马拉硫磷对照品溶液连续进样 5 针,其峰面积的相对标准偏差为 0.2%,理论塔板数大于 2500,与相邻峰的分度符合方法要求。

2.3.2 含量测定结果 将浓度约为 10 mg/mL 的 2 份马拉硫磷对照品溶液和 5 份马拉硫磷对照品候选物溶液,分别进样 2 针,按外标法计算 5 份马拉硫磷对照品候选物的含量,其含量平均值为 98.77%,修约为 98.8%,实验结果表明该候选物满足制备马拉硫磷对照品原料的要求。具体实验结果见表 2。马拉硫磷对照品图谱见图 3,马拉硫磷对照品候选物图谱见图 4。

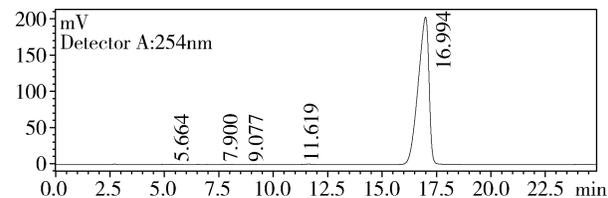


图 3 马拉硫磷对照品图谱

Fig 3 Chromatogram of malathion reference substance

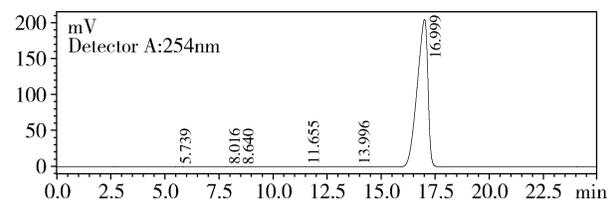


图 4 马拉硫磷对照品候选物图谱

Fig 4 Chromatogram of malathion reference substance candidate

3 定值结果

算结果和合并计算结果分别见表 3、表 4 和表 5:

3.1 协作标定结果 协作标定结果、加权平均计

表 3 协作标定结果汇总表

Tab 3 Table of collaborative calibration results

	测定人					
	1 甲	1 乙	2 甲	2 乙	3 甲	3 乙
平均值	98.78	98.91	99.19	99.32	98.59	98.76
相对标准偏差(%)	0.04	0.10	0.13	0.06	0.32	0.35
测量次数	5	6	5	5	5	5

表 4 3 家单位协作标定结果的加权平均值

Tab 4 The weighted average of the calibration results of three units

测定人	测定次数(n)	平均值(\bar{x})	方差(S^2)	权重(W)	$\sum w_i$	$W \bar{x}$	$\sum w_i x_i$	加权平均值
1 甲	5	98.78	0.0016	3125	3725	308688	358143	98.80
1 乙	6	98.91	0.0100	600		49455		
2 甲	5	99.19	0.0169	296	1685	29360	167315	99.30
2 乙	5	99.32	0.0036	1389		137955		
3 甲	5	98.59	0.1024	49	90	4831	8880	98.67
3 乙	5	98.76	0.1225	41		4049		

表 5 3 家单位标定结果加权平均值的合并计算

Tab 5 Combined calculation of weighted average of calibration results of three units

实验室	测定次数	几何均值(\bar{P}_T)	权重和($\sum w_i$)	\bar{P}_T 的方差	方差和	校正权重(W_2)	加权平均值
1	11	98.80	3625	0.01426	0.05945	16.821	98.99
2	10	99.30	1685	0.01808	0.06327	15.805	
3	10	98.67	90	0.16344	0.20863	4.793	
总和	41		5400	0.19578		37.419	

3.2 定值结果 对 3 家单位协作标定结果进行加权平均计算,得出马拉硫磷对照品候选物含量的加权平均值为 98.99%,相对标准偏差为 0.3%,修约为 99.0%,所以本研究制备的马拉硫磷对照品含量赋值为 99.0%。

4 讨论与结论

WHO 发布的化学对照品一般指导原则规定用于含量测定用对照品需要至少 3 家实验室对其进行协作标定;中国兽医药品监察所制定的《兽药标准物质研制技术规范(试行)》也规定新兽药标准物质采用溯源标准物质定值时,原则上应由 2 个以

上(含 2 个)外部实验室协作标定,所以本次制备的马拉硫磷对照品采用外标法,由 3 家单位协作标定来定值,保证了马拉硫磷对照品含量赋值的准确性和重现性。

我国 2017 年版《兽药国家标准》(化学药品卷)收录的马拉硫磷原料含量测定方法为气相法,但在研究过程中发现,通过改变柱温、气体流速、分流比等色谱条件^[5],马拉硫磷主峰中仍有 1 小峰未能完全分离,所以用气相方法测定马拉硫磷含量存在定量准确性的问题,所以本研究参照美国药典和欧盟药典用高效液相方法作为制备马拉硫磷对照

品的含量测定方法。

当对照品用于专属性的含量测定方法时,确定杂质的含量是很重要的。本研究参照美国药典及欧盟药典质量标准增加了对杂质异马拉硫磷的质量控制,保证了马拉硫磷对照品含量定值结果的准确性。

3 家单位协作标定结果相对标准偏差为 0.3%,满足用高效液相方法对标准物质定值的统计学要求。

参考文献:

[1] USP. Council of Expert. USP 40 NF 35[S].
[2] European Directorate for the Quality of Medicines&Health care. EUROPEAN PHARMACOPOEIA 9.0[S].

[3] 中国兽药典委员会. 兽药质量标准(化学药品卷)(2017 年版)[S].
Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Standard of Veterinary Drug(Chemical Drug Volume)(2017)[S].
[4] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典 2015 年版一部[S].
Veterinary Pharmacopoeia Commission of the People's Republic of China. Veterinary Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Volume I)(2015). [S].
[5] 陈铁春,李国平,赵永辉. 农药分析手册[S]. 化学工业出版社. 2013: 177 - 179.
Chen T C, Li G P, Zhao Y H. Handbook of pesticide analysis [S]. Chemical Industry Press. 2013: 177 - 179.

(编辑:陈希)