

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2023.02.13

《中国兽药典》与美、英两国药典水分测定法对比分析

马秋冉,于晓辉,王 雷,杨 星,顾进华*

(中国兽医药品监察所,北京 100081)

[收稿日期] 2022-07-14 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2023) 02-0081-06 [中图分类号] S859.79

[摘 要] 比较 2020 年版《中国兽药典》与 2022 年版美、英两国药典水分测定法,为《中国兽药典》水分测定法的修订提供参考。对三部药典的收载情况、测定法原理、取样量、试剂、仪器、方法确认等方面进行对比和讨论。通过对比分析可知,《中国兽药典》收载方法最多,分类最细,但仍可从方法确认、细化要求、引进新方法等方面进行优化和提高。

[关键词] 水分测定法;中国兽药典;美国药典;英国药典

Analysis on the Test of Water Determination Methods among Chinese Veterinary Pharmacopoeia, U. S. Pharmacopoeia and British Pharmacopoeia

MA Qiu-ran, YU Xiao-hui, WANG Lei, YANG Xing, GU Jin-hua*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 10081, China)

Corresponding author: GU Jin-hua, E-mail: gujinhua@sohu.com

Abstract: In order to provide a reference for the revision of water determination of the Chinese Veterinary Pharmacopoeia(CVP). The three pharmacopoeia were compared and discussed in the terms of the collection situation, determination principle, sampling amount, reagents, instruments and method confirmation. The CVP has the most collection methods and the most detailed classification, but it can still be optimized and improved from methods confirmation, refinement requirements, introduction of new methods and other aspects.

Key words: water determination; CVP; USP; BP

兽药中的水分包括结晶水和吸附水,水分含量的多少,对兽药的稳定性、理化性质及药效作用等均有影响。有效控制兽药水分可预防兽药吸潮、霉变、水解、氧化等^[1],因此,在兽药研发与生产中需采用准确可靠的水分检查法。目前,三部药典均收载水分测定法通则或附录。本文比较分析了《中国兽药典》与美、英两国药典^[2-4]的水分测定法,以期

为相关研究提供借鉴,也为《中国兽药典》水分测定

基金项目: 兽药行业公益性重点专项“《中国兽药典》附录检测方法研究(201903)”

作者简介: 马秋冉,助理研究员,从事化学药品检验工作。

通讯作者: 顾进华。E-mail: gujinhua@sohu.com

法的修订提供参考。

1 《中国兽药典》与美、英两国药典水分测定法概况

《中国兽药典》2020 年版收载 5 种水分测定法,分别为费休氏法(容量滴定法和库仑法)、甲苯法、气相色谱法、烘干法和减压干燥法,其中费休氏法收录在一部,甲苯法和气相色谱法在一部和二部中均有收录,烘干法和减压干燥法收录在二部。《美国药典》2022 年版收载 3 种测定法,分别为滴

定法(直接滴定法、剩余滴定法和库伦滴定法)、甲苯共沸蒸馏法和重量分析法。《英国药典》2022 年版收载 3 种测定法,分别为半微量水分测定法(直接滴定法和剩余滴定法)、甲苯蒸馏法、微量水分测定法(库伦滴定法)。三部药典中水分测定法可归纳为 4 类,即费休氏法(直接滴定法、剩余滴定法和库伦滴定法)、重量分析法(烘干法、减压干燥法和干燥失重法)、甲苯法和气相色谱法。《中国兽药典》与美、英两国药典水分测定法汇总见表 1。

表 1 三国药典水分测定法比较

Tab 1 Comparison table of water determination methods in three pharmacopoeia			
序号	《中国兽药典》2020 年版 0832 水分测定法	《美国药典》2022 年版 <0921>水分测试	《英国药典》2022 年版 附录 IX C 水分测定法
1	第一法(费休氏法)(一部) ①容量滴定法 ②库仑法	方法 I(滴定法)	方法 I 半微量水分测定
		Ia 直接滴定法	IA 直接滴定法
		Ib 剩余滴定法	IB 剩余滴定法
		Ic 库伦滴定法	
2	第二法(甲苯法)(一部、二部)	方法 II(甲苯共沸蒸馏法)	方法 II 甲苯蒸馏法 方法 III 微量水分测定法
3	第三法(气相色谱法)(一部、二部)	方法 III(重量分析法)	库伦滴定法
4	第四法(烘干法)(二部)		
5	第五法(减压干燥法)(二部)		

2 《中国兽药典》与美、英两国药典水分测定法简介及对比分析

2.1 费休氏法

2.1.1 方法介绍 卡尔·费休氏法是 Karl Fischer 在 1935 年提出的水分测定方法,简称费休氏法。根据碘的来源,分为容量法和库仑法,容量法按滴定方式不同可分为直接滴定法和剩余滴定法。直接滴定法根据碘和二氧化硫在吡啶和甲醇溶液中与水定量反应的原理来测定水分。剩余滴定法通过向样品中加入过量已标定的费休氏滴定液,再利用已标定的水标准溶液反滴剩余的费休氏滴定液,由消耗水标准溶液的量计算水分^[5]。库伦滴定法中的碘,由阳极电解液电解产生,当所有水被反应

完时,电极极化,反应停止,根据法拉第定律,产生的碘量与通过的电量成正比,可以通过测量总电量计算水分。

三种滴定方法根据测定原理不同,分别适用于测定不同样品。直接滴定法适用范围最广,可以直接测定样品中的游离水和结晶水,特别适用于测定遇热易破坏、引湿性强的样品。剩余滴定法适用于结晶水释放缓慢,造成直接滴定法测量时间较长的样品。库仑法适用于含微量水分(0.0001%~0.1%)的样品,特别适用于测定化学惰性物质如烃类、醇类和酯类中的水分。

2.1.2 对比分析 《中国兽药典》与美、英两国药典费休氏法差异见表 2。

表 2 费休氏法对比表

Tab 2 Comparison table of Karl Fischer method			
《中国兽药典》2020 年版		《美国药典》2022 年版	《英国药典》2022 年版
收载情况	第一法(费休氏法)(一部) ①容量滴定法 ②库仑法	方法 I(滴定法) Ia 直接滴定法 Ib 剩余滴定法 Ic 库伦滴定法	方法 I 半微量水分测定 IA 直接滴定法 IB 剩余滴定法 方法 III 微量水分测定法 库仑滴定法
费休氏滴定液的制备	称取碘(置硫酸干燥器内 48 h 以上)110 g, 置干燥的具塞锥形瓶中,加无水吡啶 160 mL,注意冷却,振摇至碘全部溶解,加无水甲醇 300 mL,称定重量,将锥形瓶置水浴中冷却,在避免空气中水分侵入的条件下,通入干燥的二氧化硫至重量增加 72 g,再加无水甲醇使成 1000 mL,密塞,摇匀,在暗处放置 24 h。	量取吡啶 100 mL,置于 250 mL 量瓶中,冰浴保持冷却,通干燥的二氧化硫使体积增加至 200 mL,将碘 125 g 加入至甲醇 670 mL 和上述吡啶溶液 170 mL 中,冷却,振摇使碘溶解,过夜。	/
样品	容量法:样品应消耗费休氏液 1~5 mL; 库仑法:样品含水量应在 0.5~5 mg。	滴定法:样品含水量应为 2~250 mg,且当样品为胶囊时,取不少于 4 个胶囊的混合内容进行测定;当样品为片剂时,在不影响检验结果的环境下将不少于 4 片的样品研磨至细粉末后测定; 库仑法:样品含水量应在 0.5~5 mg。	/
费休氏液的标定	采用 10~30 mg 纯化水标定	当检测水分不大于 1%时,使用 F 值小于 2.0 的费休氏试液,并用 75~125 mg 酒石酸钠标定;当检测水分大于 1%时,使用 25~50 mg 纯化水标定	根据水分大小,选用合适的标定方法
方法适用性	/	/	需对水分测定法准确性进行确认,例如当已知样品水分量为 2.5~25 mg 时,可向样品中添加 50~100% 的水,平行测定至少 5 次,若平均回收率为 97.5~102.5% 时即认为方法可靠。

2.1.2.1 收载情况 由于中药成分复杂,干扰反应的因素较多,因此,《中国兽药典》仅一部中收载了费休氏法。《美国药典》将三种测定方法合并归在滴定法项下,并分别进行阐述。《英国药典》根据样品含水量的不同,将直接滴定法和剩余滴定法归在半微量水分测定项下,将库仑滴定法单独归在微量水分测定项下。

2.1.2.2 费休氏滴定液的制备 《中国兽药典》和《美国药典》分别规定了费休氏滴定液制备方法,但两者在具体操作上略有不同,具体方法见表 2。《英国药典》未规定费休氏滴定液制备方法。考虑到容量法测定水分时,均需标定费休氏滴定液,且实际测定过程中多采用商品化费休氏滴定液,因此

笔者认为各国药典制备方法无需统一。

2.1.2.3 样品 样品量直接影响水分测定结果准确性,《中国兽药典》和《美国药典》库仑法样品量要求一致,均为 0.5~5 mg。容量法中,《美国药典》直接给出样品含水量范围,但范围较宽,指导意义不强,但明确要求当样品为胶囊或片剂时,应取不小于 4 个/片的样品进行测定,取样更具代表性。《中国兽药典》以消耗滴定液体积为标准更具实际意义,实验人员可以根据所用费休氏滴定液的 F 值计算出合适的样品量。《英国药典》未对样品量进行规定。

2.1.2.4 费休氏试液标定 通过对比可知,《中国药典》标定方法单一,均采用纯化水。《美国药典》

更灵活,可根据水分大小,选用更合适的标定方法。《英国药典》标定方法范围更大,分析人员可根据实际情况自由选择。

2.1.2.5 方法适用性 《中国兽药典》和《美国药典》未对测定方法适用性进行要求。《英国药典》则更加严谨,要求对水分测定法准确性进行确认,只有水分测定回收率符合要求,才能认为方法测定结果准确可靠。

2.2 重量分析法

2.2.1 方法介绍 重量分析法是基于测定样品失

去水分前后重量差异的水分测定法。三部药典中重量分析法共包括烘干法、减压干燥法和干燥失重法。根据测定条件不同,烘干法适用于不含或少含挥发性成分的中药,减压干燥法适用于含有挥发性成分的贵重药物,以及其他在高温下易分解、变质的样品,干燥失重适用范围较广,但作为水分测定法时,应确保样品中不含其他挥发性成分。

2.2.2 对比分析 《中国兽药典》与《美国药典》重量分析法差异见表 3,《英国药典》未收载重量分析法。

表 3 重量分析法对比

Tab 3 Comparison table of gravimetric	
《中国兽药典》2020 年版	
《美国药典》2022 年版	
收载情况	第四法(烘干法)(二部) 第五法(减压干燥法)(二部)
样品	烘干法:2~5 g 减压干燥法:0.5~1 g
干燥温度/时长	烘干法:100~105℃干燥 5 h
停止条件	连续两次称重的差异不超过 5 mg 为止

2.2.2.1 收载情况 《中国兽药典》二部收载烘干法和减压干燥法,一部未收载重量分析法,但在附录 0661 热分析法中介绍热重法可用于药物的水分测定,并且确保样品中不含有其他挥发性成分。《美国药典》方法 III 为重量分析法,其中分别规定了化学药品、生物制品、植物药的测定法。《英国药典》未在水分测定法下收载重量分析法,而是单独列在附录 IX D 干燥失重法项下,并且未对干燥温度、时长、停止条件等进行规定。

2.2.2.2 样品 《中国兽药典》中烘干法样品量为 2~5 g,减压干燥法样品量为 0.5~1 g。《美国药典》中干燥失重取样量为 1~2 g,植物药取样量为 10 g。对比可知,中美两部药典烘干法取样量差异较大,但均能满足测定需求。

2.2.2.3 干燥温度和停止条件 《中国兽药典》和

《美国药典》干燥温度基本一致,但停止条件不同。其中《中国兽药典》以连续两次称重的差值不大于 5 mg 为限度,《美国药典》以不超过 0.25% 为限度。结合样品量计算,《中国兽药典》停止条件相当于两次称重之差在 0.25%~0.1%,较《美国药典》要求更为严格。

2.3 甲苯法

2.3.1 方法介绍 甲苯法利用水与甲苯沸点不同,密度不同且相互不溶等物理性质,将样品与甲苯混合蒸馏,水、挥发性成分可随甲苯一同馏出。根据水在一定温度时的相对密度和水分测定管水的体积读数,可测得样品的含水量。甲苯法适用于含挥发性成分且成分复杂的样品,主要用于中药水分测定。

2.3.2 对比分析 《中国兽药典》与美、英两国药典甲苯法差异见表 4。

表 4 甲苯法对比

Tab 4 Comparison table of gravimetric

	《中国兽药典》2020 年版	《美国药典》2022 年版	《英国药典》2022 年版
收载情况	第二法(甲苯法)(一部、二部)	方法 II 甲苯共沸蒸馏法	方法 II 甲苯蒸馏法
仪器装置	500 mL 的短颈圆底烧瓶,水分测定管,直行冷凝管,外管长 40 cm	500 mL 的短颈圆底烧瓶,水分测定管,直行冷凝管,外管长 40 cm 套管内径为 9 ~ 11 cm,水分测定管长 235 ~ 240 cm,冷凝管若为直行冷凝管,长约 40 cm,孔径不小于 8 mm,接收管容积为 5 mL,柱形部分长为 146 ~ 156 mm,最小刻度为 0.1 mL	500 mL 的短颈圆底烧瓶,圆柱形管,连接管,刻度接收管,回流冷凝器仪器部分关键尺寸:回流冷凝管长大于 200 mm,圆柱形管 125 mm,刻度接收管 175 mm,最小刻度为 0.1 mL
样品	取供试品适量(约相当于含水量 1 ~ 4 mL)	取供试品适量(约相当于含水量 2 ~ 4 mL)	取供试品适量(约相当于含水量 2 ~ 3 mL)

《中国兽药典》和美、英两国药典收载甲苯法内容基本一致,均包括仪器,测定法,试剂等内容,但在细节方面略有差异。在仪器方面,《美国药典》不但介绍了仪器装置的各组成部分,并且对尺寸也有明确要求,介绍的更为细致,能够更好地规范测定法。在取样量方面,《中国兽药典》样品量相当于含水量 1 ~ 4 mL,《美国药典》的样品量相当于含水量 2 ~ 4 mL,《英国药典》的样品量相当于含水量 2 ~ 3 mL,三部药典虽略有差异,但均能保证读数的准确性。在试剂方面,均要求使用水饱和的甲苯,分析人员应特别注意。

2.4 气相色谱法 气相色谱法是利用水蒸气与乙醇在载气和固定相间分配系数不同而分离,再以外标法,按水峰峰面积计算样品水分。气相色谱法适用于气体样品、易挥发或可转化为易挥发物质的液体和固体的水分测定。目前,《中国兽药典》2020 年版仅有二部中辛夷采用该法测定水分。《美国药典》和《英国药典》在水分测定法下均未收载气相色谱法。

3 建议与小结

3.1 建议费休氏法引入方法确认 现三部药典均已收载费休氏法,该方法具有专属性强、分析速度快、准确度高等优点。《中国兽药典》《美国药典》和《英国药典》均对测定原理、仪器组成、操作方法、适用范围等进行阐述,但确保水分测定准确的思路不同。《中国兽药典》和《美国药典》通过规范费休氏滴定液制备方法、要求样品含有一定量水分和准

确标定费休氏滴定液等方式使水分测定方法准确可靠,而《英国药典》通过调整方法关键参数,使回收率符合要求的方式保证水分测定准确。近几年工作中,多次遇到水分含量较低的样品,对于这种样品,尽管已使用市售 F 值最低的费休氏试滴定液测定,也不能满足消耗体积大于 1 mL,但测定结果经验证是准确可靠的。因此,笔者认为通过调整方法关键参数,使回收率符合要求,进而保证水分测定准确的思路更为科学,而不应该本末倒置,过分追求费休氏滴定液消耗体积。

3.2 建议进一步细化具体要求 《中国兽药典》与美、英两国药典相比,收载测定法最多,分类最细,适用范围最广,但在细化要求方面仍有优化空间。例如甲苯法中,建议增加仪器装置具体规格,进而更好指导分析人员选择合适装置;烘干法中,适用范围为“不含或少含挥发性成分的中药”,建议明确挥发性成分的限量,帮助分析人员选择合适的测定法。

3.3 建议适当引入新方法 近年来,随着科技的进步与完善,许多新技术被应用于水分测定。热重法^[6]是在程序控制温度下,测量物质质量与温度关系的技术,具有简便、快速、准确的优点,《美国药典》2022 年版已将此法用于亚胺培南等药品的水分测定。微波法^[7]是利用微波干燥样品时,含水样品引起能力消耗远大于干样品引起的损耗,通过测定微波能量损耗即可求出样品含水量,方法测定时间短,操作方便,准确度高等优点,目前主要用于粮

食、石油等产品水分测定。红外光谱法^[8]是根据水分对某一波长红外光的吸收程度与其在样品中含量的关系测定水分的方法。上述新方法可作为现有水分测定法的重要补充,也为兽药中水分测定提供新的解决思路。

水分含量不仅是药物研发阶段的重要研究内容,也是评价产品质量的关键指标。本文介绍了《中国兽药典》与美、英两国药典中的水分测定法的收载情况以及测定原理,对比分析了三部药典在仪器装置、试剂、取样量、方法适用性等方面的异同点,发现我国兽药水分测定法仍存在优化和探讨的空间,《中国兽药典》可在上述方面对水分测定法进行修订。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典分析检测技术指南[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017:1.
Committee of China Pharmacopoeia. Guidance on Analysis and Testing technology of the Chinese Pharmacopoeia [M], 2020 edition[S]. Beijing: China Medical Science Press, 2017:1.
- [2] 中国兽药典委员会.《中华人民共和国兽药典》2020 年版[S],2020.
Committee of China Veterinary Pharmacopoeia. Veterinary Pharmacopoeia of People's Republic of China, 2020 edition[S].
- [3] The United States Pharmacopoeial Convention. United States

Pharmacopoeia 2022: General Chapter < 921 > Water Determination [S].

- [4] British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia 2022 [S].
- [5] 周浩,王慧洁,赵媛媛,等. 药品水分测定方法的选择及策略[J]. 中国药科大学学报. 2022,53(1):113-119.
Zhou H, Wang H J, Zhao Y Y, *et al.* Selection and strategy of water determination methods in pharmaceuticals[J]. Journal of China Pharmaceutical University. 2022,53(1):113-119.
- [6] 刘文峰,林木良. 热重法在药品水分测定上的应用研究[J]. 广东化学. 2003,(2):1-3.
Liu W F, Lin M L. Application of thermogravimetric method in the determination of moisture content of medicine. Guangdong Chemical Industry. 2003,(2):1-3
- [7] 肖筱,李微,郭艳华,等. 微波法测定新鲜生姜水分的研究[J]. 保鲜与加工. 2010,10(6):17-19.
Xiao X, Li W, Guo Y H, *et al.* Moisture Content in fresh ginger by microwave method. Storage and Process. 2010, 10 (6): 17-19.
- [8] 孙巧红,伊博文,闫小平,等. 多功能红外水分测定仪快速测定颗粒剂水分含量. 时珍国医国药. 2016, 27 (10): 2408-2409.
Sun Q H, Yin B W, Yan X P, *et al.* Multi-functional infrared moisture meter rapid determination of moisture content of granules. Lishizhen Medicine and material medica research. 2016,27(10):2408-2409.

(编辑:侯向辉)