

·药物分析·

蒸馏水 NO_2^- 与 NO_3^- 检查方法的探索和改进

杨以真 冯皓

(浙江省台州医院 临海 317000)

摘要 本文对《中国药典》1990年版蒸馏水 NO_2^- 与 NO_3^- 检查方法进行了探索和改进。以不同浓度的盐酸液代替醋酸液作灵敏度比较实验。实验证明以盐酸液(0.02mol/L)代替醋酸(6mol/L)和盐酸液(0.05mol/L)代替醋酸(36%)配制对氨基苯磺酸- α -萘胺试液的改进法Ⅱ既能避免醋酸所致的高发假阳性结果,又能达到药典法所要求的灵敏度;而且所配试剂稳定性好。为防止醋酸诱发的假阳性提供了有效方法,作为蒸馏水 NO_2^- 与 NO_3^- 检查方法具有一定的实用价值。

关键词 蒸馏水;冰醋酸; NO_2^- 与 NO_3^- 检查法;假阳性

Discussion and modification on the method for detecting $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ in distilled water

Yang Yizhen, Feng Hao

(Zhejiang Taizhou Hospital Linhai 317000)

ABSTRACT A method which was hydrochloric acid instead of acetic acid was used for detecting $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ in distilled water. It avoids frequent false positive from acetic acid.

KEY WORDS distilled water, acetic acid, false positive, $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ detection.

《中国药典》1990年版对蒸馏水 NO_2^- 与 NO_3^- 的检查采用重氮化偶合反应,这无疑是检测痕微量 NO_2^- 与 NO_3^- 的最灵敏方法。但其不足之处是假阳性发生率很高。据有关文献报道,其中由醋酸和冰醋酸所致的假阳性分别为 66.6% 和 50%^[1]。我们在实际检测工作中也体会到国产冰醋酸的高发假阳性是本试验失败的主要原因。为了避免醋酸带来的假阳性结果,设想以一定浓度的盐酸代替试验中的醋酸。通过系列比较实验,结果令人满意,特报道如下。

一、试剂与器材

盐酸(AR,杭州化学试剂厂);冰醋酸

(AR,浙江兰溪市化工试剂厂);无水对氨基苯磺酸(优级纯,上海试剂三厂); α -萘胺(AR,上海试剂总厂第三分厂);锌粉(AR,上海化学试剂分装厂);亚硝酸钠(CP,上海试剂一厂);硝酸钠(AR,上海试剂厂);蒸馏水(多效蒸馏水机生产经无氨蒸馏水法蒸馏而得);纳氏比色管 50ml 系列;pHS-Z 型精密酸度计(上海雷磁仪器厂)。

醋酸(36%),醋酸液(6mol/L)用冰醋酸自配;盐酸液(0.1mol/L, 0.05mol/L, 0.02mol/L, 0.01mol/L)均用盐酸自配;对氨基苯磺酸- α -萘胺试液(下称 Griess's)按药典法配制;改进 Griess's 液 I 号和 II 号分别

以盐酸液(0.1mol/L 和 0.05mol/L)代替醋酸依法配制。

取干燥恒重的亚硝酸钠和硝酸钠分别配制 NO₂⁻ 标准液和 NO₃⁻ 标准液,使每毫升含 NO₂⁻ 0.046μg;含 NO₃⁻ 0.062μg。

二、实验方法与结果

(一)分别在水样 15ml 中加醋酸液(6mol/L)18ml, Griess's 液 2ml, 锌粉 0.01g 为药典法;加盐酸液(0.1mol/L)18ml, 改进 Griess's 液 I 号 2ml, 锌粉 0.01g 为改进法 I;加盐酸液(0.02mol/L)18ml, 改进 Griess's 液 II 号 2ml, 锌粉 0.01g 为改进法 II;加盐酸液(0.01mol/L)18ml, 改进 Griess's 液 I 号 2ml, 锌粉 0.01g 为改进法 III。

(二)测定醋酸液(6mol/L), 盐酸液(0.1mol/L, 0.02mol/L, 0.01mol/L)及药典

法和改进法 I、II、III 的试验溶液的 pH 值。结果见表 1。

表 1 几种试验液的 pH 值

测试液	pH 值
醋酸液(6mol/L)	1.56
盐酸液(0.1mol/L)	1.16
盐酸液(0.02mol/L)	1.68
盐酸液(0.01mol/L)	2.20
药典法	1.88
改进法 I	1.25
改进法 II	1.88
改进法 III	2.06

(三)取 50ml 纳氏比色管 32 支, 分别加入 NO₂⁻ 标准液 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 各 4 份, 用蒸馏水稀释至 15ml, 以药典法, 改进法 I、II 和 III 依次加入试剂, 摇匀, 放置 15min 后目视比色; 同法作 NO₃⁻ 检出灵敏度的比较。结果见表 2。

表 2 NO₂⁻ 与 NO₃⁻ 检测结果的比较

	NO ₂ ⁻ 标准液加入毫升数								NO ₃ ⁻ 标准液加入毫升数							
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0	5.0	0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	7.0
药典法	±	+	+	+	+	+	+	+	±	±	±	±	±	+	+	+
改进法 I	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+
改进法 II	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	±	+	+	+
改进法 III	-	±	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	±	±	+	+

三、讨论

(一)本试验为重氮化偶合反应, 应在微酸性中进行^[2]。选择适当的 pH 值是反应达到最佳灵敏度的重要条件, 对几种实验测试液的 pH 值进行预测结果表明, 改进法 II 与药典法试验液的 pH 值一致(表 1), 因而推想此法的可行性。虽然无机酸可能会从亚硝酸盐中析出游离亚硝酸, 但因改进法 II 中所含盐酸浓度极低, 从表 2 中可看出对灵敏度无影响。

(二)本实验表明(表 2), 采用改进法 II 在灵敏度方面能达到有关报道的目视最低检出 NO₂⁻ 的浓度(0.657μg/L)^[3]。改进法 I 灵敏度稍差, 改进法 III 次之, 与本实验所测 pH 值对反应灵敏度的影响一致。且试剂的

稳定性优于药典法。由于醋酸的不稳定和高发假阳性, 虽用原封经预测无假阳性物质的冰醋酸配制的 Griess's 液经存放 2~3d 后即呈现肉眼可见的微红色, 实验阴性管也逐渐显色而影响结果的观察。盐酸配制的试液却无此现象。

(三)有报道采用在 pH2~2.5 条件下, NO₂⁻ 与对氨基苯磺酰胺起重氮化作用, 再与盐酸 N-(1-萘基)-乙二胺产生偶合反应, 生成紫红色的偶氮染料检查 NO₂⁻^[4], 此法避免了醋酸的使用, 可防止假阳性发生, 其最低检出浓度为 1μg/L。是否可作为蒸馏水 NO₂⁻ 与 NO₃⁻ 检查方法, 有待进一步审定。

(四)曾对 3 个厂家的 9 批盐酸进行本试验, 结果无一例出现假阳性, 而要获得无致假

阳性物质的冰醋酸,在实际采购工作中是很困难的。改进法Ⅱ既能避免试验的假阳性,灵敏度又不低于药典法;而且所配试剂稳定,不需要对阳性物质进行预测,因而为防止醋酸所致假阳性提供了有效可行的方法,作为蒸馏水 NO_2^- 与 NO_3^- 的检查方法具有一定的实用价值。

参考文献

- [1]周文孝. 蒸馏水 NO_2^- 与 NO_3^- 杂质检查假阳性结果的成因及防止. 中国药学杂志, 1995;30(2):109
- [2]南京药学院主编. 分析化学. 第1版, 北京:人民卫生出版社, 1981:49
- [3]中国医学科学院卫生研究所. 水质分析法. 第4版, 北京:人民卫生出版社, 1974:145~7
- [4]中国医学科学院卫生研究所. 生活饮用水水质检验方法. 第2版, 北京:人民卫生出版社, 1983:142~4

高效液相色谱法在体内药物分析中的应用

王晓丹

(佳木斯医学院药学系 佳木斯 154000)

用高效液相色谱法测定体内药物及其代谢产物,可为药物代谢动力学,临床药理学和毒理学等研究提供科学依据。体内药物分析最常用的体液是比较容易得到的血样(血浆、血清、全血)、尿样、唾液及组织液,特殊情况下也采用乳汁、泪液、胆汁、羊水、粪便等接近有关药物作用点的检体^[1]。

一、血样中的药物浓度测定

血浆和血清是体内药物分析最常采用的样本,选用最多的是血浆,因为当药物在体内达到稳定状态时,血浆中药物浓度被认为是与药物在作用点的浓度密切相关,即血浆中的药浓可以反映药物在体内的状况^[2]。

Marten 等^[3]主张用 ODS 柱进行药物的代谢研究,因为药物经代谢后,一般代谢产物的极性比药物本身的极性大,在反相柱上比药物先流出。选择内标时,应使内标物的保留时间比药物的长些,不会干扰代谢产物的分离和测定。某些含氮化合物,还可采用反相离子对色谱法。

Kraak 等^[4]用柱头浓缩法在 RP-8 反相柱上测定了血样中的抗惊厥药。血样经用高氯酸脱蛋白离心后取上清液注样,用 5ml 的进样圈,依次注入水 2ml,供试液 1ml 和水 2ml,药物保留在柱头,保留能力小的其它成

份被 2ml 水洗脱走,流动相继而洗脱药物,这样可以降低检出限量,注样 50 次,未见柱效下降。

Triebig 等^[5]测定生物体液(血浆和脑脊液)中的氯霉素,试样置水浴中用高氯酸沉淀蛋白质,离心后取上清液注样,用 Nuclosil C_{18} 柱,甲醇-水为流动相,254nm 检测波长,检测限量为 0.5mg/l 体液。注样 200 次,未见柱效下降。

Adnan 等^[6]用 $\mu\text{BondapakC}_{18}$ 柱,甲醇-水为流动相,250nm 检测波长,茶碱作为内标测定了血浆和尿中的开林,求得口服 60mg 的片剂,1h 后血浓度为 0.10~1.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$,半衰期约为 1.5~5.6h,在体内的清除主要靠代谢。

祁广建^[7]等测定血清中头孢唑啉浓度,试样加入高氯酸摇匀后,置超声波发生器中超声震荡 5min,取出后离心 10min,取上清液直接进样,用 Nuceleosil C_{18} 色谱柱,以 MeOH/0.01M KH_2PO_4 (60:60v/v) 为流动相。回归方程的相关系数 r 为 0.9990 ($n=6$),回收率为 94.39%, $\text{CV}=2.44\%$ ($n=6$),检测波长为 254nm。

屈建等^[8]用反相高效液相色谱法测定了血清中的茶碱,用 CLC-ODS 柱,含