



中华人民共和国国家标准

GB/T 40189—2021

牙膏中甲硝唑和诺氟沙星的测定 高效液相色谱法

Determination of metronidazole and norfloxacin in toothpaste—
High performance liquid chromatography method

2021-05-21 发布

2021-12-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国口腔护理用品标准化技术委员会(SAC/TC 492)归口。

本标准起草单位:江苏省产品质量监督检验研究院,江苏省理化测试中心,南京晓庄学院。

本标准主要起草人:洪华、高宏、林红英、潘虹、孙长恩、朱利利、黄惠、肖苏熠、朱宇宏、张晓强、王莉、蔡晶、马慧娟、张弼、王玮。



牙膏中甲硝唑和诺氟沙星的测定 高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了牙膏中禁用抗生素类药物甲硝唑和诺氟沙星含量的高效液相色谱(HPLC)测定方法。

本标准适用于牙膏中禁用抗生素类药物甲硝唑和诺氟沙星含量的测定。

本标准方法检出限为 1 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

样品用提取液提取后,上清液经 0.45 μm 滤膜过滤,用高效液相色谱-紫外检测法测定,保留时间定性,外标峰面积法定量。

4 试剂和标准物质

除非另有说明,所有试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 提取液:0.1%(体积分数)甲酸水溶液:乙腈(95:5,体积比)。

4.2 乙腈(流动相用):色谱纯。

4.3 磷酸:分析纯。

4.4 三乙胺:分析纯。

4.5 甲硝唑标准储备液:称取 0.1 g(精确至 0.000 2 g)甲硝唑标准品到 100 mL 容量瓶中,加提取液定容至刻度线,甲硝唑质量浓度为 1 mg/mL,作为标准储备液备用。

4.6 诺氟沙星标准储备液:称取 0.1 g(精确至 0.000 2 g)诺氟沙星标准品到 100 mL 容量瓶中,加提取液定容至刻度线,诺氟沙星质量浓度为 1 mg/mL,作为标准储备液备用。

4.7 混合标准溶液:分别移取甲硝唑和诺氟沙星标准储备液各 10 mL 至 100 mL 容量瓶中,加提取液定容至刻度线。配制质量浓度为 100 mg/L 的甲硝唑、诺氟沙星混合标准溶液。经 0.45 μm 滤膜过滤。

5 仪器和设备

5.1 高效液相色谱仪:配有二极管阵列检测器。

5.2 分析天平:感量为 0.000 1 g。

5.3 pH 计。

5.4 超声波清洗器。

5.5 高速离心机。

5.6 比色管:25 mL。

6 试样制备

牙膏样品挤弃约 20 mm 后,准确称取 5 g 样品(精确至 0.000 1 g)至 25 mL 比色管中,加入提取液(4.1)至刻度线,涡旋振荡 2 min,25 ℃ 以下水浴超声 10 min。静置后移取上清液 10 mL 至 10 mL 具塞离心管,4 000 r/min 离心 10 min,0.45 μm 滤膜过滤待测。

7 高效液相色谱测定

7.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C₁₈ 不锈钢柱(250 mm×4.6 mm×5 μm)。
- b) 检测波长:290 nm。
- c) 流动相:0.1%(体积分数)磷酸水溶液:乙腈(83:17,体积比)用三乙胺调节 pH 值到 2.5~3.0。
- d) 流速:1.0 mL/min。
- e) 柱温:30 ℃。
- f) 进样量:10 μL。

7.2 标准工作液制备

将 100 mg/L 的混合标准储备溶液(4.7)用流动相液逐级稀释,配制成 50 mg/L、20 mg/L、10 mg/L、5 mg/L 的标准工作液。经 0.45 μm 滤膜过滤备用。在设定色谱条件下,分别取 10 μL 进行分析。以标准系列溶液的质量浓度为横坐标(mg/L)、对照品峰面积为纵坐标绘制校准曲线(线性相关系数 $R \geq 0.999\ 0$)。甲硝唑和诺氟沙星混合标准样品液相色谱图参见附录 A 中图 A.1。

7.3 测定步骤

样品按照第 6 章的步骤处理完成后按照 7.1 的仪器条件进行上机检测,样品待测液中甲硝唑和诺氟沙星的响应值应在标准曲线的线性范围内,超过线性范围则应稀释后再进样测定。

7.4 空白试验

除不加试样外,均按第 6 章的处理步骤和 7.1 的仪器条件进行检测。

8 结果计算

结果按式(1)计算,计算结果保留两位有效数字。

$$X = \frac{(\rho - \rho_0) \times V \times w}{m \times 100} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中甲硝唑和诺氟沙星的质量分数,单位为毫克每千克(mg/kg);

ρ ——通过标准曲线求得试样溶液中的甲硝唑和诺氟沙星的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

ρ_0 ——通过标准曲线求得的空白试剂中甲硝唑和诺氟沙星的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——样品的最终定容体积,单位为毫升(mL);

w ——甲硝唑和诺氟沙星标准品的质量分数,%;

m ——称取的样品量,单位为克(g)。

试验结果以平行测定结果的算数平均值为准,在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过平均值的5%。

9 精密度

按本测定方法所确定的实验条件,在添加质量分数为5.0 mg/kg~100.0 mg/kg的范围内,回收率在85.0%~110.0%之间,相对标准偏差小于5%。

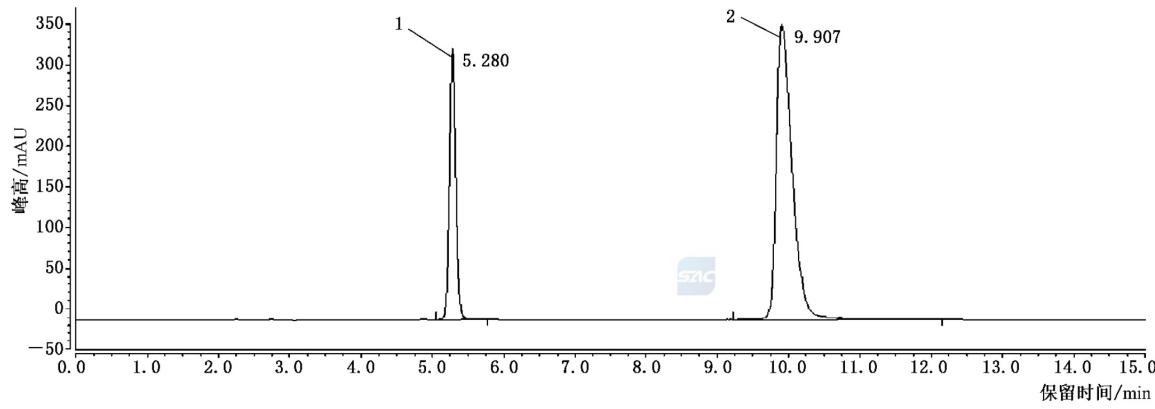
10 阳性样品的鉴定

当检出阳性样品时应将样品与标准品的光谱图进行对照,看两者的特征谱图是否一致,从而鉴定是否为假阳性样品。

附 录 A
(资料性附录)

甲硝唑和诺氟沙星混合标准样品液相色谱图

甲硝唑和诺氟沙星混合标准样品液相色谱图参见图 A.1。



说明：
1——甲硝唑；
2——诺氟沙星。

图 A.1 甲硝唑和诺氟沙星混合标准样品液相色谱图