**附件1-14 药包材环氧乙烷测定法征求意见稿**

**4209 药包材环氧乙烷测定法**

本法适用于采用环氧乙烷灭菌的药包材中环氧乙烷残留量的测定。

本法在一定温度下，用水萃取样品中所含环氧乙烷，用顶空气相色谱法测定环氧乙烷的含量。

**色谱柱**

可选用能满足待测环氧乙烷分离要求的毛细管柱或其他适宜色谱柱。除另有规定外，极性相近的同类色谱柱之间可以互换使用。一般选用如下毛细管色谱柱：中等极性色谱柱，固定相一般为(6%)氰丙基苯-(94%)二甲基硅氧烷，如DB-624（30m×0.25mm×1.4*μ*m）、DB-VRX（30m×0.25mm×1.4*μ*m）。

**系统适用性试验**

（1）用环氧乙烷峰计算，毛细管色谱柱的理论塔板数一般不低于5000。

（2）色谱图中，环氧乙烷峰与其相邻色谱峰的分离度应大于1.5。

（3）所用色谱条件应使供试品中的杂质和环氧乙烷完全分开，如应能保证环氧乙烷与乙醛实现完全分离。

**对照贮备液的制备**

取外部干燥的容量瓶，加入一定体积的水，加瓶塞，称重，精确到0.1mg。用注射器注入适当体积的环氧乙烷对照品（环氧乙烷纯品），不加瓶塞，轻轻摇匀，盖好瓶塞，称重，前后两次称重之差，即为溶液中所含环氧乙烷的重量，加水至刻度，摇匀，作为对照贮备液。也可采用市售有证环氧乙烷标准溶液作为对照贮备液。

**供试品溶液的制备**

供试品溶液的制备应在取样后立即进行，否则应将供试品封于由聚四氟乙烯密封的金属容器中保存。除另有规定外，供试品溶液的制备方法为：将供试品截为5mm的碎块，称取1.0g放入20ml顶空瓶中加5ml水，立即压盖密闭。

**测定法**

除另有规定外，测定方法一般采用第一法；当第一法测定结果不符合规定时，应采用第二法进行复验或测定；当存在干扰峰或不能判定是否为目标物时，采用第三法对环氧乙烷进行定性验证。

**第一法（外标法）**

**色谱条件**（供参考）柱温起始温度一般为50℃，保持10分钟；进样口温度为200℃；检测器（FID）温度为250℃；载气流速1.5ml/min。

**对照品溶液的制备** 对照品溶液浓度应与样品中残留浓度相近。在20ml顶空瓶中预先加入5ml水，用微量注射器精密吸取对照贮备液适量（根据供试品中环氧乙烷的实际残留量确定对照品溶液浓度，通常对照品溶液的色谱峰面积与供试品中对应的色谱峰面积比值不超过2倍），注入顶空瓶中，立即压盖密闭，摇匀。

**测定法** 将对照品溶液和供试品溶液，分别置于60℃±1℃的条件下平衡40分钟（如手动进样，进样器预热至相同温度）。分别取1ml液上气体注入气相色谱仪中，记录色谱图，测定环氧乙烷的峰面积。分别平行测定不少于2份对照品溶液和供试品溶液。按外标法以峰面积计算供试品溶液中的环氧乙烷浓度，按下式计算供试品中的环氧乙烷残留量（*μ*g/g）。

式中 *X*为供试品中的环氧乙烷残留量，*μ*g/g；

5为供试品溶液的体积，ml；

*c*为供试品溶液中环氧乙烷的浓度，*μ*g/ml；

*m*为供试品的质量，g。

**第二法（标准曲线法）**

**色谱条件**（供参考）同第一法。

**系列对照品溶液的制备** 系列对照品溶液的浓度范围应包含供试品中残留环氧乙烷的浓度。取20ml顶空瓶数个，预先各加5ml水，用微量注射器吸取一定体积的对照贮备液分别注入各顶空瓶，立即压盖密闭，摇匀，配成0.4~20*μ*g/ml系列对照品溶液，应不少于5个浓度点（必要时可根据供试品实际情况调整线性范围）。

**测定法** 将系列对照品溶液和供试品溶液分别置于60℃±1℃的条件下平衡40分钟（如手动进样，进样器预热至相同温度）。分别取1ml液上气体注入气相色谱仪中，测定环氧乙烷峰面积。分别平行测定不少于2份各系列对照品溶液和供试品溶液。以峰面积为纵坐标，对照品溶液的浓度为横坐标，回归计算标准曲线。根据标准曲线求得供试品溶液中环氧乙烷的浓度，按第一法中的公式计算供试品中的环氧乙烷残留量（*μ*g/g）。

**第三法（气质联用色谱法）**

**色谱条件**（供参考） DB-VRX（60m×0.25mm×1.4*μ*m），起始柱温一般为35℃，保持10分钟；以高纯氦气为载气，流速为1.0ml/min；进样口温度为200℃；检测器为质谱。

**质谱条件**（供参考） 离子源为电子轰击源（EI）；电离强度为70eV；离子源温度为230℃；辅助加热温度为240℃；采用全扫描方式测定，扫描范围为29~300m/z；溶剂切除时间为5分钟。

**对照品溶液的制备** 对照品溶液的浓度应能够保证实现准确定性。在20ml顶空瓶中预先加入5ml水，用微量注射器精密吸取对照贮备液适量，注入顶空瓶中，立即压盖密闭，摇匀。

**测定法** 将对照品溶液和供试品溶液，分别置于60℃±1℃的条件下平衡40分钟（如手动进样，进样器预热至相同温度）。分别取1ml液上气体注入气相色谱-质谱联用仪中，记录质谱图，所得质谱图与NIST谱库中的标准质谱图进行比对，同时，结合与对照品保留时间的一致性，定性判断是否为环氧乙烷。

【附注】（1）供试品溶液制备时，应优先取供试品中环氧乙烷残留量较大的部分，如高分子材料，一般情况下，金属、玻璃等环氧乙烷残留量较小。

（2）第三法的仪器检出限为1.3*μ*g/ml。

起草单位：山东省医疗器械和药品包装检验研究院 联系电话：0531-82682912

参与单位：上海市食品药品包装材料测试所、深圳市食品药品检验研究院

**药包材环氧乙烷测定法起草说明**

1. 制修订的目的意义

1. 环氧乙烷是一种可刺激体表并引起强烈反应的易燃性气体。在很多情况下，环氧乙烷具有致突变性、胎儿毒性和致畸特性，对睾丸功能具有不良作用，并能对体内的多个器官系统产生损害。在动物致癌研究中，吸入EO可产生几种致瘤性变化，包括白血病、脑肿瘤和乳房肿瘤，而食入或皮下注射EO仅在接触部位形成肿瘤。1994年国际癌症研究机构（IARC）依据EO的作用机理，重新将其划分为人类致癌物质（一类）。基于此，建立符合中国药典要求的、稳定可靠的环氧乙烷测定法具有重要意义。

2. 形成“药包材环氧乙烷残留量测定法”方法标准，科学有效指导药包材环氧乙烷残留量测定。

1. 起草过程

1. 查阅国内外相关标准，并进行了标准比对。

2. 根据与参与单位沟通交流，初步确定了药包材环氧乙烷测定法。

3. 收集代表性样品进行了环氧乙烷残留量测定，对测定方法进行了实验验证和结果分析，以优化测定方法。

4. 形成“药包材环氧乙烷测定法”征求意见稿。

1. 制修订的总体思路

遵循药典委对药包材标准体系的架构思路，参照现行《国家药包材标准》环氧乙烷残留量测定法（YBB00242005-2015），并收集了在日常试验时存在的问题，提高该检测方法的适用性和可操作性，完善本测定法。

1. 需重点说明的问题

本标准为新增方法标准，按《中国药典》2020年版格式编制，确定的主要内容有：

1. 名称：按《中国药典》2020年版及药包材标准命名原则，拟定标准名称为：药包材环氧乙烷测定法。

2. 适用范围：标准适用于采用环氧乙烷灭菌的药包材环氧乙烷残留量的测定。

3. 色谱柱：环氧乙烷在药包材中的使用主要是作为灭菌剂，乙醛则是药包材中聚对苯二甲酸乙二醇酯（PET）材料的分解产生的，二者可能同时存在于同一产品中。由于乙醛与环氧乙烷二者极性相似，分子量相同，且都极易挥发，二者在色谱柱中均出峰较早，不容易分离。故根据二者的分离情况对色谱柱进行了考察，给出了可实现环氧乙烷和乙醛完全分离的推荐色谱柱，即中等极性色谱柱，固定相一般为(6%)氰丙基苯-(94%)二甲基硅氧烷，如DB-624（30m×0.25mm×1.4*μ*m）、DB-VRX（30m×0.25mm×1.4*μ*m）。

4. 系统适用性：本标准规定了系统适用性试验应满足的要求，本标准确定了环氧乙烷残留量测定的色谱条件和系统适用性试验的要求，以环氧乙烷峰计算，毛细管色谱柱的理论塔板数一般不低于5000，环氧乙烷峰与其相邻色谱峰的分离度应大于1.5且应能保证环氧乙烷与乙醛实现完全分离。

5. 对照品贮备液的制备：基于环氧乙烷对照品的市售情况调研结果及对市售对照品的试验验证，本标准规定可采用环氧乙烷纯品配制对照贮备液，也可采用市售有证环氧乙烷标准溶液作对照贮备液。

6. 供试品溶液的制备：基于试验验证，与YBB00242005《环氧乙烷残留量测定法》相比删除了注射器或容器类样品的制备方法，并在附注中作了如下说明：供试品溶液制备时，应优先取供试品中环氧乙烷残留量较大的部分，如高分子材料，一般情况下，金属、玻璃等环氧乙烷残留量较小。其余内容与YBB标准保持一致。

7. 测定法：与YBB00242005《环氧乙烷残留量测定法》相比增加了第三法（气质联用色谱法），以对环氧乙烷进行定性验证。基于试验验证，本标准对YBB00242005《环氧乙烷残留量测定法》中的色谱条件进行了优化，给出了新的供参考的色谱条件。

本标准为方法标准，规定了药包材环氧乙烷残留量的检测方法，不设立限度。具体限度要求，参见各中小通则项下。