

· 检验检测 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.16.008

3种测定输血器中邻苯二甲酸二乙酯溶出量方法比较

兰婉玲,刘兴兰[△],朱茜,高小艳,游延军,张磊

(四川省食品药品检验检测院,四川成都 610097)

摘要:目的 比较3种方法测定一次性使用输血器中邻苯二甲酸二乙酯(DEHP)溶出量的效果。方法 采用紫外-可见分光光度法、气相色谱法、气相色谱-质谱联用法测定国内8家企业生产的一次性使用输血器中DEHP溶出量。结果 紫外-可见分光光度法测得的数值较高,气相色谱法与气相色谱-质谱联用法结果基本一致。结论 该研究可为建立一次性使用输血器中DEHP溶出量测定方法提供参考。

关键词:一次性使用输血器;邻苯二甲酸二乙酯;溶出量;紫外-可见分光光度法;气相色谱法;气相色谱-质谱联用法

中图分类号:R973;R979.9

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)16-0025-04

Comparison of Three Methods for Determination of Diethyl Phthalate Dissolution in Blood Transfusion Apparatus

LAN Wanling, LIU Xinglan, ZHU Xi, GAO Xiaoyan, YOU Yanjun, ZHANG Lei

(Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu, Sichuan, China 610097)

Abstract: Objective To compare the effect of three methods for the determination of diethyl phthalate (DEHP) dissolution in disposable blood transfusion apparatus. **Methods** The dissolution of DEHP in disposable blood transfusion apparatus produced by 8 domestic manufacturers was determined by ultraviolet-visible (UV) spectrophotometry, gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results** The values measured by UV spectrophotometry were higher, but the results obtained by GC and GC-MS were basically the same. **Conclusion** This study can provide reference for the establishment of a method for the determination of DEHP dissolution in disposable blood transfusion apparatus.

Key words: disposable blood transfusion apparatus; diethyl phthalate; dissolution; ultraviolet-visible spectrophotometry; gas chromatography; gas chromatography-mass spectrometry

一次性使用输血器多采用聚氯乙烯(PVC)材料,PVC类产品在加工中均会加入一定量增塑剂,现临床使用的增塑剂多为邻苯二甲酸二乙酯(DEHP),部分增塑剂可能溶出并进入血液中^[1]。现行一次性使用输血器标准 GB8369-2005^[2]中并未制订 DEHP 溶出量的检测方法,GB14232.1-2004^[3](“传统型血袋”标准)中对血袋 DEHP 有测定方法和限度要求。YY/T 0927-2014^[4]指南中提到,可采用气相色谱(GC)法、气相色谱-质谱联用(GC/MS)法、紫外-可见分光光度(UV)法检测 DEHP 的溶出量^[5-9]。本研究中采用上述 3 种检测方法,对四川省评价性抽验的 8 家企业一次性使用输血器中增塑剂 DEHP 的溶出量进行测定,为增修输血器中 DEHP 的检测方法提供参考,并可推广到所有含 DEHP 增塑剂输液输血类产品中 DEHP 溶出量的测定。现报道如下。

1 材料

1.1 仪器

Carry 100 型紫外分析仪(美国 Varian 公司);GC-2010 型气相色谱仪(日本 Shimadzu 公司);Thermo Trace GC Ultra/Tsq Quantum Xls 型气相色谱-质谱仪(美国

Thermo Fisher 公司);一次性使用输血器(国内 8 家生产企业,42 批次,详见表 1)。

表 1 试验用输血器来源

厂家	批号	厂家	批号	厂家	批号
A 厂	k20160119	B 厂	20150716	D 厂	20150914
A 厂	k20160107	C 厂	20160311 07	D 厂	20151109
A 厂	k20160307	C 厂	20160111 04	E 厂	20151026
A 厂	k20151121	C 厂	20151201 10	E 厂	20160404
A 厂	k20151109	C 厂	20151121 08	E 厂	20160314
A 厂	k20151020	C 厂	20151111 08	F 厂	20151221
A 厂	k20150831	C 厂	20151101 10	F 厂	20151130
A 厂	k20150808	C 厂	20151101 03	F 厂	160118
A 厂	k20150623	C 厂	20160301 06	F 厂	151023
A 厂	k20150606	C 厂	20160201 01	G 厂	151003
A 厂	k20150407	C 厂	20151201 03	G 厂	150906
A 厂	k20151023	C 厂	20151111 01	G 厂	150706
A 厂	k20151020	C 厂	20150911 06	H 厂	151011
B 厂	20150811	C 厂	20160311 07	H 厂	150704

1.2 试剂

DEHP 对照品(德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH,批号为

第一作者:兰婉玲,女,大学本科,副主任药师,研究方向为药品、医疗器械、药包材质量及相容性试验,(电话)028-87877184 (电子信箱)894064256@qq.com。

[△]通信作者:刘兴兰,女,大学本科,副主任药师,研究方向为药品、医疗器械、药包材质量及相容性试验,(电话)028-64020272。

C16173000, 含量为 98.5%); 甲醇、乙醇、正己烷为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 紫外-可见分光光度法

2.1.1 测定波长

经全波长扫描, 确定测定波长为 272 nm。

2.1.2 溶液制备

取 DEHP 对照品适量, 精密称定, 以无水乙醇制成对照品溶液。用质量浓度为 0.937 3 ~ 0.937 8 g/mL 的乙醇作为浸提液, 取适量, 分别加入 3 支输血管中(加至约总容量的 90%), 在 37 °C 下浸泡 1 h, 取出, 收集浸提液混合, 摇匀, 即得供试品溶液。以乙醇作为阴性对照溶液。

2.1.3 方法学考察

专属性考察: 取 2.1.2 项下 3 种溶液各适量, 按 2.1.1 项下条件进样测定, 记录色谱图。详见图 1。结果阴性对照溶液在与 DEHP 对照品溶液相同保留时间处无干扰峰, 表明专属性良好。

线性关系考察: 取 DEHP 对照品适量, 精密称定, 取无水乙醇制成质量浓度为 119.200, 59.590, 35.760, 23.837, 11.920 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液, 精密量取 10 μL , 按 2.1.1 项下条件进样测定, 记录吸光度。以 DEHP 质量浓度 (X , $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标, 吸光度 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y_1 = 0.0031X_1 - 0.0006$, $r = 0.9998$ ($n = 5$)。结果表明, DEHP 质量浓度在 11.92 ~ 119.20 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与吸光度线性关系良好。

精密度试验: 取 2.1.2 项下对照品溶液适量, 按 2.1.1 项下条件连续进样测定 6 次, 记录吸光度。结果的 RSD 为 2.90% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

稳定性试验: 取 2.1.2 项下供试品溶液(批号为

151011) 适量, 分别于室温下放置 0, 10, 20, 24, 48 h 时按 2.1.1 项下色谱条件进样测定, 记录吸光度。结果的 RSD 为 3.28% ($n = 5$), 表明供试品溶液室温放置 48 h 内基本稳定。

重复性试验: 精密称取样品(批号为 151011) 适量, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.1.1 项下条件进样测定, 记录吸光度并计算含量。结果的 RSD 为 4.68% ($n = 6$), 表明方法重复性良好。

2.2 GC 法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: HP-5 柱 (30 m $\times$ 0.32 mm, 0.25 μm); 程序升温: 初始温度 90 °C, 以 20 °C/min 的速率升温至 200 °C、保持 1 min, 以 20 °C/min 的速率升温至 240 °C、保持 2 min, 以 20 °C/min 的速率升温至 270 °C, 保持 2 min; 进样口温度: 250 °C; 检测器温度: 280 °C; 进样量: 1.0 μL 。

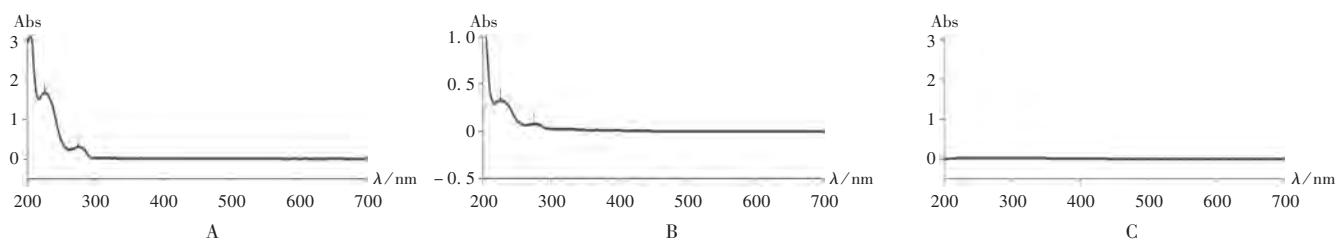
2.2.2 溶液制备

取 DEHP 对照品适量, 精密称定, 置 50 mL 容量瓶中, 加正己烷定容, 即得质量浓度为 595.925 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品溶液。以正己烷作为阴性对照溶液。

2.2.3 方法学考察

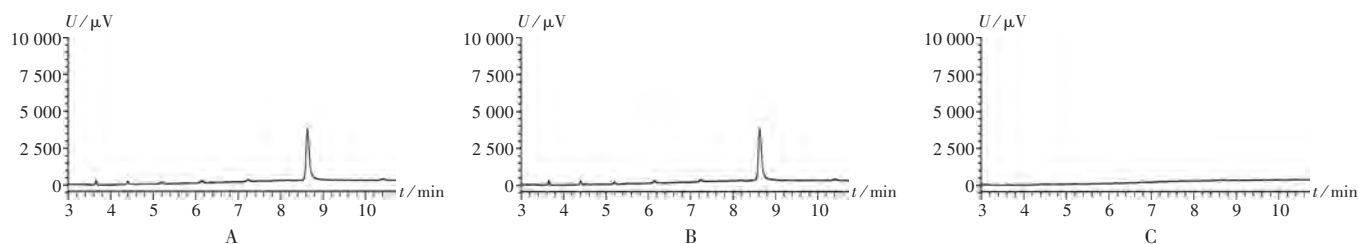
专属性考察: 取 2.2.2 项下对照品溶液、阴性对照溶液和 2.1.2 项下供试品溶液各适量, 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录色谱图。详见图 2。结果阴性对照溶液在与 DEHP 对照品溶液相同保留时间处无干扰峰, 表明专属性良好。

线性关系考察: 取 DEHP 对照品适量, 精密称定, 加正己烷制成质量浓度为 119.200, 59.590, 35.760, 23.837, 11.920 $\mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液, 精密量取 1 μL , 按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积。以



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图1 紫外-可见分光光谱图



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图2 气相色谱图

DEHP 质量浓度 (X , $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标、峰面积 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y_2 = 1\,097.5 X_2 - 3\,127.1$, $r = 0.999\,6$ ($n = 5$)。结果表明, DEHP 质量浓度在 $11.920 \sim 119.200 \mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

精密度试验: 取 2.2.2 项下对照品溶液适量, 按 2.2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次, 记录峰面积。结果的 RSD 为 1.73% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品 (批号为 151011) 适量, 共 6 份, 分别加入低、中、高质量浓度的 DEHP 对照品溶液, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.2.1 项下色谱条件进样测定, 记录峰面积并计算回收率。结果见表 2。

表 2 GC 加样回收试验结果 ($n = 9$)

样品含量(μg)	加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD (%)
6.18	6.25	12.355	98.80		
6.20	6.25	12.395	99.12	98.00	1.70
6.01	6.25	12.015	96.08		
10.07	10.00	20.143	100.73		
10.06	10.00	20.116	100.56	101.64	1.70
10.36	10.00	20.723	103.63		
12.84	12.50	25.678	102.70		
12.11	12.50	24.215	96.84	100.82	3.42
12.87	12.50	25.736	102.93		

2.3 GC/MS 法

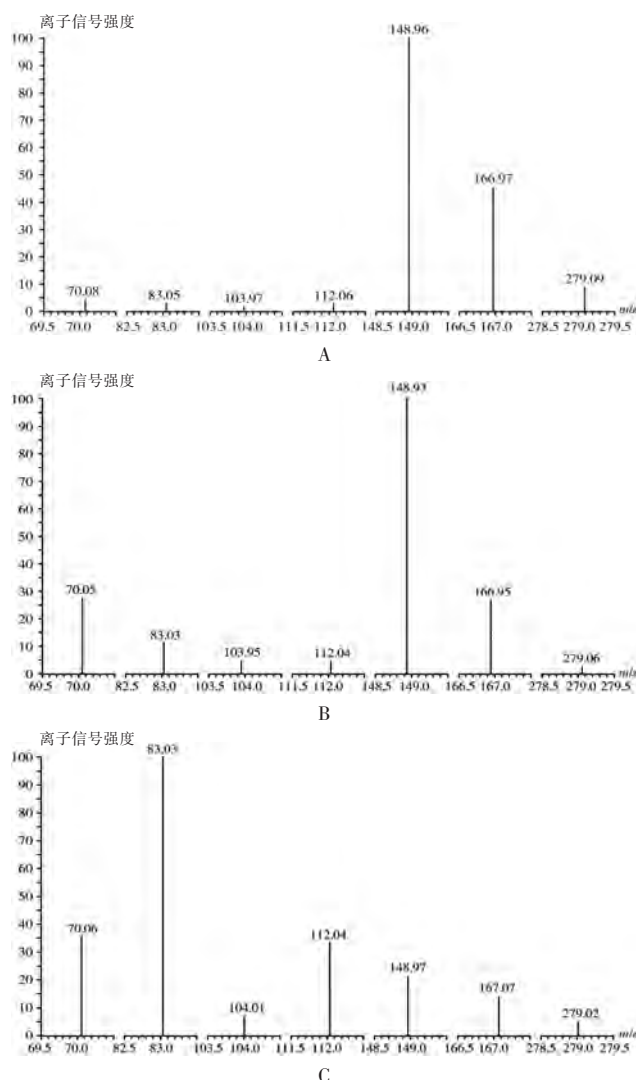
2.3.1 试验条件

色谱柱: TR-5MS 柱 ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm}$, $0.25 \mu\text{m}$); 离子源温度: 230°C ; 电子能量: 70 eV ; 程序升温: 初始温度 150°C 、保持 1 min , 再以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 280°C 、保持 7 min ; 进样口温度: 280°C ; 进样体积: $1 \mu\text{L}$; 测定方式: SIM 定量; 定量离子: m/z 149。

2.3.2 方法学考察

专属性试验: 取 2.2.2 项下对照品溶液、阴性对照溶液和 2.1.2 项下供试品溶液各适量, 按 2.3.1 项下试验条件进样测定, 记录质谱图。详见图 3。结果阴性对照溶液在与 DEHP 对照品溶液相同保留时间处无干扰峰, 表明专属性良好。

线性关系考察: 取 DEHP 对照品适量, 精密称定, 取正己烷制成质量浓度为 $2.38, 1.19, 0.60, 0.06, 0.03 \mu\text{g/mL}$ 的系列对照品溶液, 精密量取 $1 \mu\text{L}$, 按 2.3.1 项下试验条件进样测定, 记录离子信号强度。以 DEHP 质量浓度 (X , $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标、离子信号强度 (Y) 为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $Y_3 = 2 \times 10^6 X_3 + 7\,713.5$, $r = 0.999\,7$ ($n = 5$)。结果表明, DEHP 质量浓度在 $0.03 \sim 2.38 \mu\text{g/mL}$ 范围内与离子信号强度线性关系良好。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照溶液

图 3 气相色谱-质谱图

精密度试验: 取 2.2.2 项下对照品溶液适量, 按 2.3.1 项下试验条件连续进样测定 6 次, 记录离子信号强度。结果的 RSD 为 3.07% ($n = 6$), 表明仪器精密度良好。

加样回收试验: 取已知含量的样品 (批号为 151011) 适量, 共 6 份, 分别加入一定质量浓度的 DEHP 对照品溶液, 按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 再按 2.3.1 项下试验条件进样测定, 记录离子信号强度并计算回收率。结果见表 3。

2.4 样品测定

取 42 批样品各适量, 分别按 2.1.2 项下方法制备供试品溶液, 再按上述 3 种试验条件进样测定, 平行测定 3 次, 计算样品含量。结果见表 4。

3 讨论

一次性使用输血器里 DEHP 的溶出量是与输血器 PVC 粒料中 DEHP 的加入量有关, 不同企业的输血器产品配方不完全一样, 由本研究结果可知, 8 家企业的

表3 GC/MS加样回收试验结果($n=6$)

加入量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	$\bar{X}$ (%)	RSD(%)
12.5	11.884	95.07	95.40	2.48
12.5	11.753	94.02		
12.5	11.499	91.99		
12.5	11.923	95.38		
12.5	12.162	97.30		
12.5	12.332	98.66		

表4 8家生产企业一次性使用输血器中DEHP溶出量试验结果

企业编号	测定结果($\text{mg}/100\text{ mL}$)			测定结果的比较	
	紫外	GC	GC-MS	紫外/GC-MS	GC/GC-MS
1	8.33	2.54	2.58	3.23	0.98
2	6.70	3.07	3.02	2.22	1.02
3	8.20	2.67	2.59	3.17	1.03
4	7.32	2.97	2.72	2.69	1.09
5	9.77	2.64	3.12	3.13	0.85
6	7.48	2.22	2.11	3.55	1.05
7	9.40	2.36	2.41	3.90	0.98
8	7.23	3.05	2.73	2.65	1.12
$\bar{X}$	8.05	2.69	2.66	3.07	1.02

DEHP增塑剂加入比例差异不大。

采用同一个对照品,3种不同测定方法测定同一供试品溶液,UV法测试的数据与GC和GC/MS法的结果差异较大。分析原因大致如下:邻苯二甲酸酯是一类增塑剂,其结构相似,DEHP及其他邻苯二甲酸酯类成分在272 nm^[4]波长处均有吸收,测定结果为在272 nm波长处有紫外吸收的所有成分,故导致UV检测结果虚高。

在GC和GC/MS法中,首先,两者对供试品的分离行为是一致的,MS采用了高速电子束撞击气态分子,把电离出来的离子加速导入质量分析器中,然后按碎片离子的质荷比大小顺序进行收集和记录,得MS图,可以定性和定量,可以分离与DEHP类似成分的其他邻苯二甲酸酯成分,增加了鉴定功能。只要GC优化色谱条件,样品中物质分离度好,GC与GC/MS的结果基本一致。气相色谱仪比气相色谱/质谱仪价格便宜很多,气相色谱仪的普及度要高于质谱,可在国家标准中规定采用GC/MS法用于鉴定存在邻苯二甲酸酯类的化合物,从检测限分析,建议测定常量采用GC法,测定迁移量微量采用GC/MS法。

据文献[10-16]报道,DEHP增塑剂具有生殖毒性、致癌和致畸性,对血液系统有影响,有肝脏毒性。所以在使用以DEHP为增塑剂的PVC产品时,往往需要控制DEHP加入量,以控制产品中DEHP的溶出量。紫外-可见分光光度法在安全性评价上可作为一个警示,具体精准分析还需采用GC法和GC/MS法的数据更准确。

临床目前使用的输液器、输血器及血袋产品大多为以DEHP为增塑剂的PVC材质的产品,现行有效的血袋标准(GB14232.1-2004标准方法)的测定方法为紫外-可见分光光度法,输血器(GB8369-2005)和输液器(GB8368-2005)在标准中并未设置DEHP的指标,本研究中仅以一次性使用输血器为例说明,结果3种方法下DEHP迁移量出现完全不同的结果,建议在输血器和输液器标准中以适宜的方法增加DEHP迁移量的指标控制,修订血袋中DEHP对应的方法和指标,真实地反映产品特性和产品风险,以免虚高的数据引起老百姓对使用产品的恐慌,造成不必要且不良的社会影响。

参考文献:

- [1] 杨晓冬. PVC医疗器械中增塑剂DEHP的安全性评价[J]. 中国医疗器械杂志, 2012, 36(2): 118-120.
- [2] GB8369-2005, 一次性使用输血器[S].
- [3] GB14232.1-2004, 人体血液及血液成分袋式塑料容器第1部分: 传统型血袋[S].
- [4] YY/T 0927-2014, 聚氯乙烯医疗器械中邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)溶出量测定指南[S].
- [5] 曾晓晖, 倪宏英, 陈长荣, 等. 气相色谱质谱法测定血液保存液中DEHP的含量[J]. 海峡药学, 2016, 28(3): 69-70.
- [6] 曾晓晖, 张雅丽, 倪宏英, 等. 紫外分光光度法测定血液保存液中DEHP的含量[J]. 海峡药学, 2015, 27(10): 74-76.
- [7] 郑建, 王敏珠, 王安燕, 等. 医用注射器具中DEHP增塑剂溶出量测定[J]. 中国医疗器械杂志, 2015, 39(6): 451-453.
- [8] 沈卫阳, 宋旻昕, 金祥飞. GC-MS法测定一次性使用静脉营养输液器中增塑剂DEHP的溶出量[J]. 中国药房, 2014, 25(17): 1568-1570.
- [9] 刘萌, 王晓园. 分散相液相微萃取法测定通过输液管后注射液中的邻苯二甲酸酯增塑剂含量[J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(7): 926-930.
- [10] 林锐, 靳洪涛, 王爱平. 医疗器械中增塑剂的应用和安全性研究进展[J]. 中国药物警戒, 2014, 11(2): 100-103.
- [11] 沈秋婷, 郑雄, 陈银广. 增塑剂DEHP生物毒性及控制策略的研究进展[J]. 环球科学与技术, 2016(39): 111-116.
- [12] 谢文佳. 邻苯二甲酸酯类增塑剂的研究现状[J]. 食品工程, 2014, 2(6): 12-14.
- [13] 武杰, 吴希庆, 萨音白刚. 邻苯二甲酸酯类塑化剂毒性研究进展[J]. 包头医学院学报, 2013, 29(5): 121-123.
- [14] 刘乃榕, 王少鹏, 杨光. 邻苯二甲酸酯类毒性作用研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2016, 38(5): 492-495.
- [15] 刘成虎, 吴平, 骆红宇, 等. 一次性使用输血器生物学风险评定方法探讨[J]. 中国医疗器械信息, 2016, 22(3): 47-51.
- [16] 奚廷斐, 王春仁. 邻苯二甲酸二异辛酯增塑聚氯乙烯医疗器械的安全性评价[J]. 中国医疗器械信息, 2005, 11(2): 27-30.

(收稿日期: 2018-11-15)