

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.09.023

气相色谱-质谱法检测中药液袋中16种邻苯二甲酸酯

王小艳, 张 涛

(河南省安阳市食品药品检验检测中心, 河南 安阳 455000)

摘要:目的 建立测定中药液袋中16种邻苯二甲酸酯(PAEs)的气相色谱-质谱(GC-MS)法。方法 采用串联四极杆气质联用仪, 色谱柱为 Agilent HP-5MS 型弹性石英毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm), 初始温度 60℃、保持 1 min, 以 20℃/min 的速率升至 220℃、保持 1 min, 以 5℃/min 的速率升至 280℃、保持 4 min, 载气为氦气, 流速为 1.0 mL/min; 采用电子轰击离子源(EI), 温度为 280℃, GC-MS 辅助加热温度为 280℃, 四极杆温度为 150℃, 扫描模式为选择离子监测(SIM)。结果 16种 PAEs 的质量浓度在 0.990~995.000 ng/mL 范围内与峰面积线性关系良好; 检测限为 0.02~2.09 pg/mL, 定量限为 0.07~5.38 pg/mL; 精密度和稳定性试验的 RSD 均小于 8.0%; 平均回收率为 93.12%~104.27%, RSD 为 0.80%~4.94%(n=9)。8批中药液袋中均检测出了增塑剂邻苯二甲酸二异丁酯、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯。结论 该方法简单准确、稳定性好, 可用于中药液袋中16种 PAEs 的检测。

关键词: 中药液袋; 气相色谱-质谱法; 邻苯二甲酸酯

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)09-0098-04

Determination of 16 Kinds of Phthalates in Traditional Chinese Medicine Liquid Bags by GC-MS

WANG Xiaoyan, ZHANG Tao

(Anyang Center for Food and Drug Control, Anyang, Henan, China 455000)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for the determination of 16 kinds of phthalates (PAEs) in traditional Chinese medicine (TCM) liquid bags. **Methods** A tandem quadrupole GC-MS was adopted, the chromatographic column was Agilent HP-5MS elastic quartz capillary column (30 m×0.32 mm, 0.25 μm), the initial temperature was maintained at 60℃ for 1 min, heated to 220℃ at the rate of 20℃/min, maintained for 1 min, then heated to 280℃ at the rate of 5℃/min, maintained for 4 min. The carrier gas was helium, and the flow rate was 1.0 mL/min. The ionization mode was adopted with electron-bombardment ion source and the temperature was 280℃, the auxiliary heating temperature of GC-MS was 280℃, the temperature of quadrupole was 150℃, and the scanning mode was selective ion monitoring (SIM). **Results** The linear range of 16 kinds of PAEs was 0.990-995.000 ng/mL. The limit of detection (LOD) was in the range of 0.02-2.09 pg/mL, the limit of quantitation (LOQ) was in the range of 0.07-5.38 pg/mL, and the RSDs of precision and stability tests were less than 8.0%. The average recovery of 16 kinds of PAEs was in the range of 93.12%-104.27% with an RSD of 0.80%-4.94% (n=9). Plasticizer such as diisobutyl phthalate (DIBP), dibutyl phthalate (DBP) and di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) were detected in the eight batches of TCM liquid bags. **Conclusion** The method is simple, accurate and stable, which can be used for the determination of 16 kinds of PAEs in TCM liquid bags.

Key words: traditional Chinese medicine liquid bag; GC-MS; phthalate

邻苯二甲酸酯(PAEs)又称增塑剂,能增强塑料的韧性及塑性,降低加工温度,性能优异,与乙烯基及其他聚合物相容性良好,已广泛应用于聚氯乙烯(PVC)、聚乙烯(PE)、聚乙酸乙烯酯(PVA)等塑料包装。塑料药品包装材料(简称药包材)如聚丙烯(PP)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、PVC等也常使用增塑剂,以提高包装的灵活性、柔韧性和弹性^[1-3],而塑料药包材中残留的增塑剂会释放到药物中造成污染。由于PAEs在人体和动物体内发挥着类似雌激素的作用,可能会干扰内分泌,使男子精液量和精子数量减少,严重的还会导致睾丸癌,也可能增加女性肥胖和患乳腺癌的风险,还可能造成儿童性早熟^[4-8]。欧盟、美国、世界卫生组织、日本、中国都先后将PAEs列入“优先控制污染物名单”,

并禁用或限用相关PAEs。本研究中参照2015年版《中国药典(四部)》附录9101药品质量标准分析方法验证指导原则和文献[9-16],采用气相色谱-质谱(GC-MS)法测定中药液袋中16种PAEs。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7890B-7010B型串联四极杆气质联用仪(美国Agilent公司);Mettler XP205型电子天平(梅特勒-托利多集团有限公司,精度为0.01 mg);1820V型纯水机(重庆摩尔水处理设备有限公司);Sigma 3-30K型高速台式冷冻离心机(德国Sigma公司)。

1.2 试剂

16 PAEs对照品溶液(美国First Standard公司,批号

第一作者:王小艳,女,大学本科,主管中药师,研究方向为中药材及中成药的质量检测,(电子信箱)yandede-2004@163.com。

为S017205,质量浓度为100 μg / mL);磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、磷酸、三乙胺(分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司);乙酸乙酯、正己烷、丙酮、二氯甲烷(色谱纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);甲醇(色谱纯,美国J. T. Baker公司);中药液袋(市售,编号分别为样品1至样品8)。

2 方法

2.1 试验条件

2.1.1 色谱条件

色谱柱:Agilent HP-5MS型弹性石英毛细管柱(30 m×0.32 mm,0.25 μm);进样口温度:280℃,不分流进样;进样量:1 μL;程序升温:初始温度为60℃、保持1 min,以20℃/min的速率升至220℃、保持1 min,再以5℃/min的速率升至280℃、保持4 min;载气:高纯氮气;载气流速:1.0 mL/min。

2.1.2 质谱条件

电子轰击离子源(EI),温度为280℃;GC-MS辅助加热温度:280℃;四极杆温度:150℃;溶剂延迟:6 min;扫描模式:选择离子监测(SIM),1个定量离子,2个定性离子,分时段检测。16种PAEs的信息及GC-MS测定参数见表1。

表1 16种PAEs的信息及GC-MS测定参数

Tab.1 Information of 16 kinds of PAEs and GC-MS determination parameters

编号	PAEs	CAS号	含量(%)	t_R (min)	特征碎片离子(m/z)
1	邻苯二甲酸二甲酯(DMP)	131-11-3	99.0	7.82	163 [*] ,77,133
2	邻苯二甲酸二乙酯(DEP)	84-66-2	99.5	8.68	149 [*] ,177,105
3	邻苯二甲酸二异丁酯(DIBP)	84-69-5	99.5	10.42	149 [*] ,104,22
4	邻苯二甲酸二丁酯(DBP)	84-74-2	99.0	11.17	149 [*] ,104,223
5	邻苯二甲酸二(2-甲氧基)乙酯(DMEP)	117-82-8	99.5	11.50	59 [*] ,149,104
6	邻苯二甲酸二(4-甲基-2戊基)酯(BMPP)	84-63-9	98.8	12.27	149 [*] ,167,85
7	邻苯二甲酸二(2-乙氧基)乙酯(DEEP)	605-54-9	98.0	12.58	72 [*] ,149,104
8	邻苯二甲酸二戊酯(DPP)	131-18-0	99.4	12.96	149 [*] ,237,104
9	邻苯二甲酸二乙基己酯(DNHP)	84-75-3	98.0	15.11	149 [*] ,251,104
10	邻苯二甲酸丁基苄酯(BBP)	85-68-7	98.0	15.26	149 [*] ,91,206
11	邻苯二甲酸二(2-丁氧基)乙酯(DBEP)	117-83-9	99.8	16.71	149 [*] ,85,193
12	邻苯二甲酸二环己酯(DCHP)	84-61-7	99.0	17.38	149 [*] ,167,104
13	邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)	117-81-7	99.0	17.62	149 [*] ,167,104
14	邻苯二甲酸二苯酯(DPHP)	84-62-8	99.0	17.74	225 [*] ,77,104
15	邻苯二甲酸二正辛酯(DNOP)	117-84-0	98.0	20.01	149 [*] ,279,104
16	邻苯二甲酸二壬酯(DNP)	84-76-4	97.4	22.54	149 [*] ,293,167

注:*为定量离子; t_R 为保留时间; m/z 为质荷比。

Note: * refers to the quantitative ion; t_R refers to the retention time; m/z refers to the mass-to-charge ratio.

2.2 溶液制备

混合对照品溶液:精密量取16 PAEs对照品1 mL,

置10 mL容量瓶中,加正己烷稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液(质量浓度为10 μg / mL),分别精密量取对照品贮备液适量,加正己烷稀释,摇匀,用0.22 μm微孔滤膜滤过,即得。

供试品溶液:将中药液袋洗净,干燥,粉碎至大小约为0.2 cm×0.2 cm样品,取1.0 g,精密称定,置三角瓶中,加入25 mL正己烷,超声提取(功率为250 W,频率为33 kHz)30 min,于阴凉处放置24 h。将提取液过滤至50 mL容量瓶中,滤渣用适量正己烷洗涤3次,合并提取液,用正己烷稀释至刻度,摇匀,精密量取10 mL,氮气吹干,残渣加2 mL正己烷溶解,用0.22 μm微孔滤膜滤过,即得。

2.3 方法学考察

专属性试验:取2.2项下混合对照品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,提取每个峰的质谱图,再在NIST谱库中检索、确认。16种PAEs的总离子流色谱图见图1。

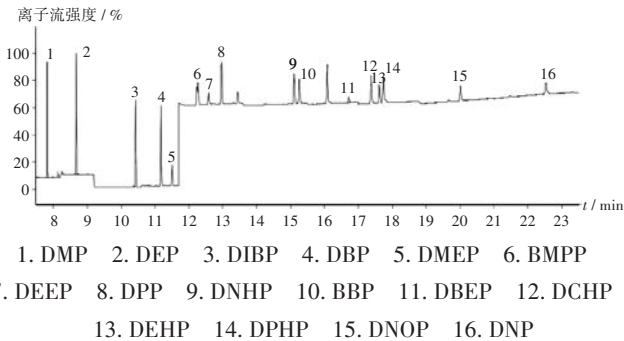


图1 16种PAEs的总离子流色谱图

1. DMP 2. DEP 3. DIBP 4. DBP 5. DMEP 6. BMPP
7. DEEP 8. DPP 9. DNHP 10. BBP 11. DBEP 12. DCHP
13. DEHP 14. DPHP 15. DNOP 16. DNP

Fig.1 Total ion flow chromatograms of 16 kinds of PAEs

线性关系考察:分别取2.2项下系列混合对照品溶液,在2.1项下试验条件进样测定7次,以质量浓度(C , ng / mL)为横坐标、PAEs的峰面积(A)为纵坐标进行线性回归。结果见表2。

检测限与定量限确定:取2.2项下混合对照品溶液适量,用正己烷逐级稀释,按2.1项下试验条件进样测定,记录16种PAEs的信噪比(S/N),以 S/N 为3:1时的质量浓度为检测限,以 S/N 为10:1时的质量浓度为定量限。结果见表2。

精密度试验:取质量浓度为10 ng / mL的混合对照品溶液,按2.1项下试验条件进样测定6次,记录峰面积,计算相对标准偏差,结果见表2。表明仪器精密度良好。

稳定性试验:取质量浓度为4 ng / mL的混合对照品溶液,分别于0,3,6,9,12,20,24 h时按2.1项下试验条件进样测定,记录峰面积,计算日内相对标准偏差。

表2 16种PAEs的方法学考察结果
Tab.2 Results of methodology investigation of 16 kinds of PAEs

PAEs	回归方程	线性范围 (ng/mL)	r (n=7)	检测限/定量限 (pg/mL)	RSD(%)		回收率(%, n=9)	
					精密度试验	稳定性试验	$\bar{X}(\%)$	RSD(%)
DMP	$A = 2\,970.04\,C - 38.33$	0.990~792.000	0.999 2	0.08/0.59	1.67	4.01	93.12	3.02
DEP	$A = 2\,271.68\,C + 840.70$	0.995~796.000	0.999 1	0.02/0.07	1.03	2.22	98.57	1.07
DIBP	$A = 3\,509.48\,C + 34\,689.95$	0.995~995.000	0.998 5	0.04/0.09	1.24	5.06	98.34	4.94
DBP	$A = 4\,009.52\,C + 34\,603.27$	9.900~990.000	0.999 4	0.02/0.08	0.88	0.78	104.26	4.12
DMEP	$A = 679.39\,C - 593.31$	1.990~497.500	0.999 7	0.28/1.83	3.71	5.41	101.07	2.99
BMPP	$A = 1\,492.97\,C - 161.79$	1.976~494.000	0.995 7	0.81/2.41	1.52	1.43	96.49	4.68
DEEP	$A = 257.72\,C - 341.23$	4.900~490.000	0.997 4	0.54/1.52	1.50	4.24	99.41	1.42
DPP	$A = 3\,142.19\,C - 1\,498.48$	4.970~497.000	0.996 0	0.02/0.10	1.02	6.75	95.46	1.81
DNHP	$A = 2\,459.32\,C - 1\,118.67$	1.960~490.000	0.993 2	0.35/1.03	2.16	7.14	99.25	0.80
BBP	$A = 968.20\,C + 244.58$	1.960~196.000	0.997 9	0.42/1.74	1.62	6.13	99.46	1.42
DBEP	$A = 270.97\,C - 316.02$	1.996~499.000	0.999 0	2.09/5.38	1.11	2.67	104.27	1.28
DCHP	$A = 1\,573.81\,C - 822.00$	1.980~495.000	0.993 5	0.30/1.72	1.03	3.21	100.64	2.25
DEHP	$A = 1\,392.04\,C + 4\,337.71$	4.950~792.000	0.991 1	0.06/0.21	1.37	6.64	100.64	3.27
DPHP	$A = 2\,015.89\,C - 1\,413.61$	1.980~990.000	0.999 4	0.33/0.51	1.71	4.57	93.32	1.48
DNOP	$A = 1\,774.03\,C - 2\,152.38$	1.960~980.000	0.992 8	1.28/3.75	1.66	5.63	95.13	2.36
DNP	$A = 1\,465.75\,C - 2\,650.88$	1.948~974.000	0.996 0	1.13/4.40	1.84	4.14	98.96	3.98

结果见表2。表明混合对照品溶液在常温下24 h内稳定性良好。

加样回收试验:取样品50.5 g,精密称定,按2.2项下供试品溶液制备方法制备溶液,每个质量浓度平行3份。按2.1项下试验条件进样测定,并计算回收率。结果见表2。

2.4 样品含量测定

取样品1至样品8各适量,按2.2项下方法制备供试品溶液,按2.1项下试验条件进样测定,并计算样品含量。结果见表3。

表3 样品含量测定结果(μg/g)

Tab.3 Results of content determination of PAEs in samples(μg/g)							
编号	DIBP	DBP	DEHP	编号	DIBP	DBP	DEHP
样品1	0.04	0.84	1.32	样品5	0.40	1.21	0.14
样品2	0.03	0.28	1.74	样品6	0.49	1.10	2.21
样品3	0.07	0.52	0.71	样品7	0.45	0.83	7.12
样品4	1.81	2.54	0.92	样品8	0.32	0.65	2.44

3 讨论

3.1 提取溶剂选择

样品前处理时,分别以乙酸乙酯、正己烷、丙酮、二氯甲烷、甲醇为提取溶剂,结果甲醇因干扰过大而被排除,其余4种提取溶剂均检测出DIBP和DBP。最终选取干扰相对较小的正己烷作为提取溶剂,并在批处理中排除了空白干扰。

3.2 提取方法选择

分别以16种PAEs的含量为指标,考察了回流(20, 30, 40, 60 min)提取和超声(20, 30, 40 min)提取的提取

效果。结果超声提取30 min后于阴凉处放置24 h时,16种PAEs的含量均最高,并能提取完全。

3.3 方法评价

本试验中所建立的中药液袋中16种PAEs的GC-MS检测方法简单、灵敏,定性、定量测定结果准确,可满足药包材中多种PAEs的定性、定量测定要求,为完善药包材的质量控制提供了可靠依据,

我国尚无标准规定PAEs在药包材中允许检出量,本次收集的8批中药液袋中均检测出了增塑剂DIBP(0.03~1.81 μg/g)、DBP(0.28~2.54 μg/g)和DEHP(0.14~7.12 μg/g)。建议在生产加工及包装时,使用合格的药包材,以降低PAEs带来的风险,保障人民群众的用药安全。

参考文献

[1] 王鹏功,高明星,程刚,等.气相色谱-质谱法对食用油中17种邻苯二甲酸酯的测定[J].食品科学,2012,18(33):246-249.

[2] 李映梅,刘江情,李长昱,等.GC-MS法测定电子烟烟油中17种邻苯二甲酸酯类化合物[J].安徽农业科学,2017,45(6):68-70.

[3] 程寿峰,王婕,刘开茂,等.GC-MS法测定不同包装酱油、醋中16种邻苯二甲酸酯类塑化剂含量研究[J].贵州师范大学学报(自然科学版),2018,36(5):90-94.

[4] 熊含鸿,曾玩炯.白酒中17种邻苯二甲酸酯测定方法初探[J].酿酒,2013,40(3):93-96.

[5] 曹国洲,肖道清,朱晓艳.食品接触制品中邻苯二甲酸酯类增塑剂的风险评估[J].食品科学,2010,31(5):325-327.

[6] 黄鹏,林子淳.GC-MS法测定塑料玩具中6种塑化剂的