

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)24-0093-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.24.021



气相色谱 - 质谱联用法测定药用胶塞中对特辛基苯酚含量*

李美玲, 卢秀芳, 刘文枚, 钟 亚, 陈 江[△]

(重庆海关技术中心, 重庆 400020)

摘要:目的 建立测定药用胶塞中对特辛基苯酚含量的气相色谱 - 质谱联用法。方法 色谱柱为 Agilent DB - 5MS 柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 载气为高纯氦气; 进样口温度为 250 °C, 分流比为 5:1, 进样量为 1 μL, 流速为 1.5 mL/min; 升温程序。离子源温度为 230 °C, 四极杆温度为 150 °C, 选择性离子监测(SIM)离子 m/z 为 57、107、135、136, 定量离子 m/z 为 135(相对丰度 100%); 溶剂切割时间为 4.5 min; 图谱采集时间为 14 min。选择 3 个厂家 8 批胶塞样品, 分别以 pH 5 磷酸二氢钠缓冲液、pH 10 氨 - 氯化铵缓冲液、50% 乙醇、乙醇、二氯甲烷提取, 外标法进行多点校正定量。结果 对特辛基苯酚质量浓度在 0.05 ~ 1 μg/mL 范围内与峰面积线性良好($r = 0.9999, n = 5$), 检测限为 0.005 μg/mL, 定量限为 0.01 μg/mL; 精密度试验结果的 RSD 小于 2%; 加样回收率为 92.97% ~ 102.41%, RSD 为 6.95% ~ 14.93% ($n = 9$)。8 批样品中 6 批检出对特辛基苯酚, 且对特辛基苯酚在碱性及高弱极性有机相介质下更易浸出。结论 该方法简便高效, 灵敏度高, 精密度、准确性良好, 可用于测定药用胶塞浸中对特辛基苯酚含量。

关键词:气相色谱 - 质谱联用法; 药用胶塞; 对特辛基苯酚; 含量测定

Determination of *p* - Tert - Octylphenol in Medicinal Rubber Stoppers by GC - MS

LI Meiling, LU Xiufang, LIU Wenmei, ZHONG Ya, CHEN Jiang

(Chongqing Customs Technical Center, Chongqing, China 400020)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS) method for determining the content of *p* - tert - octylphenol in medicinal rubber stoppers. **Methods** The chromatographic column was the Agilent DB - 5MS column (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), the carrier gas was high - purity helium, the inlet temperature was 250 °C, the split ratio was 5:1, the injection volume was 1 μL, the flow rate was 1.5 mL/min, and the temperature was programmed. The ion source temperature was 230 °C, the quadrupole temperature was 150 °C, the ions at the selective ion monitoring (SIM) mode had a m/z of 57, 107, 135, 136, and the quantitative ion had a m/z of 135 (relative abundance of 100%), the solvent cutting time was 4.5 min, and the collection time for the spectrum was 14 min. The *p* - tert - octylphenol in eight batches of rubber stoppers from three manufacturers was extracted with sodium dihydrogen phosphate buffer (pH 5), ammonia - ammonium chloride buffer (pH 10), 50% ethanol, ethanol and dichloromethane, and the external standard method was used for corrected quantification. **Results** The linear range of *p* - tert - octylphenol was 0.05 - 1 μg/mL ($r = 0.9999, n = 5$). The limit of detection was 0.005 μg/mL and the limit of quantification was 0.01 μg/mL. The RSDs of the precision test was lower than 2%, and the recovery rate was in the range of 92.97% to 102.41%, with the RSDs of 6.95% to 14.93% ($n = 9$). The *p* - tert - octylphenol was detected in six out of eight batches of samples, which was more easily extracted in alkaline and highly - weakly polar organic phase media.

*基金项目: 重庆市科研机构绩效激励引导专项[cstc2021jxjl00012]。

第一作者: 李美玲, 女, 大学本科, 助理工程师, 研究方向为药品相容性、药品质量检验分析, (电子信箱)2963839687@qq.com。

[△]通信作者: 陈江, 男, 硕士研究生, 副高级工程师, 研究方向为药品相容性、密封完整性、基因毒素杂质, (电子信箱)156773605@qq.com。

10 - 15.

[17] 色·哈斯巴干. 玛拉哈扎布治疗疮疡的经验[J]. 蒙医药, 1990, 24(2): 15 - 16.

[18] 都 仁, 脑 明. 治疗骨质增生治验[J]. 蒙医药, 1990, 25(3): 7 - 8.

[19] 王 栋, 王 伟, 林 燕, 等. 蒙药孟根乌苏 - 18 临床试验患者血液中汞的含量分析[J]. 中国药事, 2012, 26(4): 332 - 334.

[20] 青 玉, 巴图德力根, 韩志强, 等. 蒙药孟根乌苏乌日乐长期毒性研究[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(3): 147 - 150.

[21] 佟海英, 范盎然, 王 旭, 等. 蒙药孟根乌苏(水银) - 18 味丸对大鼠肾脏毒性及其机制探讨[J]. 中华中医药杂志, 2016, 12(31): 5260 - 5265.

[22] 佟海英, 范盎然, 于 雪, 等. 蒙药孟根乌苏(水银) - 18 味丸中 Hg、Fe、Ca、Cu、Pb 等 5 种金属元素含量测定及小鼠急性毒性实验研究[J]. 中国民族医药杂志, 2015, 10(10): 52 - 56.

[23] 包勒朝鲁, 乌日娜, 红 梅, 等. 蒙成药孟根乌苏 - 18 味丸的急性毒性和长期毒性研究[J]. 世界科学技术 - 中医药现代化, 2014, 6(10): 2259 - 2265.

[24] 佟海英, 范盎然, 于 雪, 等. 蒙药孟根乌苏 - 18 味丸、孟根乌苏炮制品的肝肾毒性作用研究[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(1): 25 - 33.

[25] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.

(收稿日期: 2023 - 11 - 20; 修回日期: 2024 - 09 - 20)

Conclusion This method is simple, efficient, sensitive, precise and accurate, which can be used for the determination of *p*-tert-octylphenol in medicinal rubber stoppers.

Key words: gas chromatography - mass spectrometry; medicinal rubber stopper; *p*-tert-octylphenol; content determination

药用胶塞是注射剂药品包装材料中重要组件之一,其既应满足包装系统对密封性的要求,又不可引入存在安全性风险的浸出物(或浸出物水平需符合安全性要求)^[1]。但为了保证药用胶塞的良好性能,常添加多种橡胶助剂,如抗氧化剂、活性剂、硫化剂、硫化促进剂等^[2-3]。对特辛基苯酚又名辛基苯酚,属烷基酚类化合物,作为表面活性剂、抗氧化剂常添加于药用胶塞中^[4-6]。对特辛基苯酚为有毒化学品,对眼睛、皮肤和黏膜有刺激作用和腐蚀性,可导致、充血、疼痛、灼烧感、视力模糊^[2],且可能导致雌性性早熟和雄性精子数量减少及质量下降等不良反应^[7]。由于药用胶塞与药品直接接触,在长期运输和贮存中,对特辛基苯酚可能会迁移至药物中,影响药品质量,危害人体健康,因此,对对特辛基苯酚浸出量的控制非常必要^[8]。鉴于此,本研究中采用气相色谱-质谱联用法检测药用胶塞(浸提液)中对特辛基苯酚,现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7890A-5975C型气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司);EF AA-DC24-Rt型氮吹仪(上海安谱实验股份科技有限公司);XH-B型旋涡混合器(江苏康健医疗用品有限公司);KQ-500DB型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)

1.2 试剂

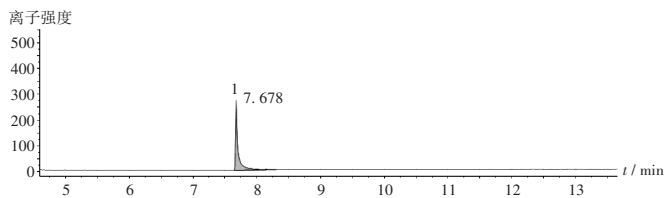
胶塞(厂家1,批号分别为20181101、M170920122-53、M171103222-72、QAV01-20200301,编号A-1、A-2、A-3、A-4;厂家2,批号分别为201810321、201801350、202201303,编号B-1、B-2、B-3;厂家3,批号为171136,编号C-1)。对特辛基苯酚对照品(CF-Wlabs,批号为E-527100-NU1,纯度99.11%)。盐酸为优级纯,磷酸二氢钠、氢氧化钠、氯化铵、氨水为分析纯,乙醇、二氯甲烷、正己烷、乙腈为色谱纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

色谱条件:色谱柱为Agilent DB-5MS柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm);载气为高纯氦气;进样口温度为250 °C,分流比为5:1,进样量为1 μL,流速为1.5 mL/min;程序升温,从80 °C开始,以15 °C/min的速率升至200 °C,再以30 °C/min的速率升至280 °C,保持3 min。

质谱条件:离子源温度为230 °C,四极杆温度为150 °C,选择性离子监测(SIM)离子 m/z 为57、107、135、



1. 对特辛基苯酚

图1 定量离子色谱图

1. *p*-Tert-octylphenol

Fig. 1 Quantitative ion chromatograms

136, 定量离子 m/z 为135(相对丰度100%);溶剂切割时间为4.5 min;图谱采集时间为14 min。色谱图见图1。

2.2 溶液制备

对照品溶液:称取对特辛基苯酚对照品10 mg,精密称定,置10 mL容量瓶中,用乙腈溶解并定容,得质量浓度为1.00 mg/mL的对照品贮备液;精密吸取1.0 mL,置100 mL容量瓶中,用乙腈定容,即得。

供试品溶液:取剪碎至2 mm × 2 mm大小颗粒状的样品,用纯水洗净,滤纸吸干,取适量,准确称定,置250 mL聚四氟乙烯试剂瓶中。按0.2 g/mL的比例(下同)^[9],分别加入pH 5磷酸二氢钠缓冲液、pH 10氨-氯化铵缓冲液,密封,置高压灭菌锅中,121 °C加热2 h,放冷至室温,得提取溶液1、2;分别加入50%乙醇、乙醇、二氯甲烷,超声(功率500 W、频率40 kHz,下同)处理2 h,得提取溶液3、4、5。精密量取上述2种缓冲溶液,50%乙醇,提取溶液1、2、3各5.0 mL,置25 mL比色管,加入二氯甲烷5.0 mL,超声处理10 min,取二氯甲烷层,置15 mL离心管;往25 mL比色管中加入二氯甲烷5.0 mL重复萃取1次,取二氯甲烷层合并于15 mL离心管,40 °C水浴条件下氮吹至干;准确加入乙腈5.0 mL,涡旋振荡1 min,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,得空白对照1及供试品溶液1、2、3。精密量乙醇、二氯甲烷及提取溶液4、5各2.0 mL,置15 mL离心管,于40 °C水浴条件下氮吹至干,准确加入乙腈2.0 mL,涡旋振荡1 min,经0.22 μm微孔滤膜滤过,取续滤液,得空白对照2及供试品溶液4、5。

2.3 方法学考察

线性关系考察:取对照品溶液1,0.5,0.2,0.1,0.05 mL,置10 mL容量瓶中,用乙腈定容,得质量浓度分别为1,0.5,0.2,0.1,0.05 μg/mL的系列对照溶液。按2.1项下试验条件进样测定,记录色谱图。以对特辛基苯酚质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、定量离子对应峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程 $Y =$

表1 加样回收试验结果 ($n = 9$)

Tab. 1 Results of the recovery test ($n = 9$)

提取介质	基质含量 ($\mu\text{g/mL}$)	加入量 ($\mu\text{g/mL}$)	测得量 ($\mu\text{g/mL}$)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)	提取介质	基质含量 ($\mu\text{g/mL}$)	加入量 ($\mu\text{g/mL}$)	测得量 ($\mu\text{g/mL}$)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)	提取介质	基质含量 ($\mu\text{g/mL}$)	加入量 ($\mu\text{g/mL}$)	测得量 ($\mu\text{g/mL}$)	回收率 (%)	\bar{X} (%)	RSD (%)
pH 5 磷酸二氢钠缓冲液	-	0.1	0.116	116.0			50% 乙醇	-	1.0	0.959	95.9			二氯甲烷	-	0.2	0.225	112.5		
	0.1	0.112	112.0			1.0		0.906	90.6			0.2	0.203		101.5	92.97	13.51			
	0.1	0.111	111.0			1.0		0.903	90.3			0.2	0.206		103.0					
	0.2	0.175	87.5			1.0		0.112	112.0			1.0	0.781		78.1					
	0.2	0.171	85.5	94.36	14.93	1.0		0.120	120.0			1.0	0.798		79.8					
	0.2	0.168	84.0			1.0		0.116	116.0			1.0	0.758		75.8					
	1.0	0.843	84.3			0.2		0.178	89.0			1.0	0.758		75.8					
	1.0	0.843	84.3			0.2		0.171	85.5	101.78	12.34	1.0	0.094		94.0					
	1.0	0.846	84.6			0.2		0.176	88.0			1.0	0.098		98.0					
pH 10 氯化钠缓冲液	-	0.1	0.119	119.0			乙醇	-	1.0	1.034	103.4				-	0.2	0.198	99.0		
	1.0	0.117	117.0			1.0		1.018	101.8			0.2	0.207		103.5	102.41	6.95			
	1.0	0.119	119.0			1.0		1.003	100.3			0.2	0.209		104.5					
	0.2	0.181	90.5			0.1		0.096	96.0			1.0	1.147		114.7					
	0.2	0.170	85.0	99.42	14.57	1.0		0.095	95.0			1.0	1.111		111.1					
	0.2	0.175	87.5			1.0		0.095	95.0			1.0	1.029		102.9					

注：- 为未检出或低于检测限。表2同。

Note: - indicates that *p*-tert-octylphenol is not detected or the content is below the limit of detection (for Tab. 1 - 2).

14 708. 868 34 X - 82. 790 24 ($r = 0.999\ 9, n = 5$)。结果表明,对特辛基苯酚质量浓度在 0.05 ~ 1 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与峰面积线性关系良好。

检测限与定量限考察:取对照品溶液,用乙腈稀释,按 2.1 项下试验条件进样,以信噪比 (S/N) 为 3, 10 时溶液质量浓度作为仪器检测限与定量限。结果分别为 0.005 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 。

精密度试验:取质量浓度为 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液,按 2.1 项下试验条件连续进样 6 次,记录峰面积。结果的 RSD 为 1.36% ($n = 6$),表明仪器精密度良好。

加样回收试验:取样品以上述 2 种缓冲液、50% 乙醇、乙醇、二氯甲烷为提取介质,按 2.2 项下样品方法制备 3 个质量浓度水平的加样溶液,按 2.1 项下试验条件进样测定,记录峰面积,并计算回收率。结果见表 1。

2.4 样品含量测定

取 8 批药用胶塞,以加样回收试验中 5 种提取介质,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,均平行 2 份,按 2.1 项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果见表 2。

3 讨论

3.1 色谱条件选择

对特辛基苯酚为烷基酚类化合物,故预试验中选用中等极性 DB-624 柱和弱极性 DB-5 MS 柱进行对比分析,结果后者峰形对称且杂质干扰更少,更适用于特辛基苯酚的检测。并根据分离度、保留时间及目标物灵敏度等因素,对色谱柱载气流量、分流比、程序升温等条件

表2 样品含量测定结果 ($\mu\text{g/mL}, n = 2$)

Tab. 2 Results of content determination of *p*-tert-octylphenol in samples ($\mu\text{g/mL}, n = 2$)

提取介质	A-1	A-2	A-3	A-4	B-1	B-2	B-3	C-1
pH 5 磷酸二氢钠缓冲液	0.048	0.043	-	-	-	-	-	0.045
pH 10 氯化铵缓冲液	0.10	0.062	-	-	-	-	-	0.044
50% 乙醇	0.070	0.014	-	-	0.010	-	-	0.055
乙醇	0.21	0.22	0.12	0.046	0.20	-	-	0.34
二氯甲烷	16.98	7.25	2.12	0.14	1.20	-	-	7.68

进行优化,最终确定了本研究中所用的色谱条件。

3.2 样品处理方法选择

预试验中萃取溶剂分别选用二氯甲烷、正己烷、乙腈进行考察^[10-11]。试验结果表明,二氯甲烷萃取能力在各提取溶液中优于其他两种溶剂,萃取效果明显,更适用于各提取溶液中对特辛基苯酚的萃取,且易挥发,对特辛基苯酚在乙腈中的稳定性较二氯甲烷更好,故选用二氯甲烷萃取,乙腈定容。考察超声 10 min,用二氯甲烷重复萃取 2 次,萃取率满足回收率要求。经 0.22 μm 滤膜时滤膜无吸附。故试验选用二氯甲烷,萃取 2 次,氮吹至干后乙腈溶解并定容,经 0.22 μm 滤膜滤过。

3.3 样品测定结果分析

8 批样品中除 B-2、B-3 样品外均有对特辛基苯酚检出(其中 3 批在各种提取介质中均有检出,另 3 批