

保和丸中外源性邻苯二甲酸酯类的检测

姚羽, 张琳, 王文艳, 马敏 (山西省食品药品检验所, 太原 030001)

摘要 **目的:** 为考察聚氯乙烯固体药用硬片中邻苯二甲酸酯类 (PAEs) 向保和丸中迁移情况, 建立了检测方法。**方法:** 采用 Elite-5 (30 m × 0.32 mm, 0.25 μm) 毛细管色谱柱, 氢火焰离子化检测器 (FID), 进样温度为 250 °C, 检测器温度为 300 °C, 载气为氮气, 程序升温, 不分流进样, 进样量为 1 μL。并结合气相色谱-质谱法 (GC-MS) 对样品中的 PAEs 进行定性确认。**结果:** 6 种 PAEs 在各自的浓度范围内呈良好线性关系, r 为 0.9994 ~ 0.9999, 平均加样回收率为 96.8% ~ 100.4% ($n=9$, RSD 均小于 3.0%)。3 批样品的包材和药品中均有 PAEs 检出。**结论:** 该方法分离效果好、操作简便、快速、灵敏度高、精密度好, 适用于保和丸中 6 种 PAEs 的同时测定。样品的加速试验表明, 聚氯乙烯固体药用硬片中的 PAEs 存在向药品迁移的现象。

关键词: 药包材质量; 酞酸酯; 聚氯乙烯材料; 增塑剂; GC; 保和丸; GC-MS; 药品包装安全性

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2017)04-0441-06

doi:10.16153/j.1002-7777.2017.04.016

Detection of Exogenous Phthalate Esters in Baohe Pills

Yao Yu, Zhang Lin, Wang Wenyan, Ma Min (Shanxi Institute for Food and Drug Control, Taiyuan 030001, China)

Abstract **Objective:** To determine the migration of phthalate esters (PAEs) in polyvinyl chloride (PVC) sheet with solid pharmaceutical packaging to Baohe pills, so as to establish a detection method. **Methods:** The PAEs solvents were separated on Elite-5 capillary column (30 m × 0.32 mm, 0.25 μm). FID was used as detector with a temperature of 300 °C, and the inlet temperature was 250 °C. The carrier gas was nitrogen and the column temperature was programmed. Splitless injection was conducted, and the injection volume was 1 μL. GC-MS was used for the qualitative confirmation of PAEs of samples. **Results:** The peak area and concentration of six kinds of PAEs showed good linearity ($r=0.9994-0.9999$). The average recovery rate was 96.8%–100.4% ($n=9$, RSD < 3.0%). The PAEs were detected in drugs and the drug packaging materials in the three batches of samples. **Conclusion:** The method showed good separation and was simple, rapid, sensitive and precise, which was suitable for the simultaneous detection of six PAEs in Baohe pills. The accelerated testing showed that PAEs in PVC sheet with solid pharmaceutical packaging could migrate to drugs.

Keywords: pharmaceutical packaging material quality; phthalate esters; PVC material; plasticizer; GC; Baohe pills; GC-MS; safety of pharmaceutical packaging

邻苯二甲酸酯 (phthalic acid esters, PAEs) 又称酞酸酯, 是邻苯二甲酸形成的酯的统称。主要用于聚氯乙烯材料, 使聚氯乙烯由硬塑胶变为有

弹性的塑胶, 起到增塑剂的作用。世界卫生组织已将 PAEs 公布为内分泌干扰物, 其对生殖系统、内分泌系统、神经系统等存在毒性效应^[1-3]。PAEs

与树脂以物理融合方式结合；在存放不当的条件下，如高温、加热或与油脂性物质接触等情况下，很容易向所包装药物迁移，给用药安全带来潜在危害^[4]。

保和丸大蜜丸剂型，常采用聚氯乙烯固体药用硬片与药用铝箔构成的泡罩包装。聚氯乙烯固体药用硬片最常用的增塑剂有邻苯二甲酸二丁酯（DBP）、邻苯二甲酸二正辛酯（DNOP）、邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯（DEHP）等^[5]。

目前，PAEs的检测方法主要有气相色谱法（GC）、高效液相色谱法（HPLC）、气相色谱-质谱联用法（GC-MS）和高效液相色谱-质谱联用法（HPLC-MS），其中，应用最为广泛的是GC和GC-MS^[6-7]。本文建立了同时测定6种常用邻苯二甲酸酯类含量的气相色谱法，并对保和丸中迁移的PAEs进行了检测。

1 仪器与试剂

PerkinElmer Clarus 680 气相色谱仪，FID 检测器（PerkinElmer 公司），Elite-5（30 m×0.32 mm，0.25 μm）毛细管色谱柱（5% 苯基-95% 二甲基聚硅氧烷，PerkinElmer 公司）；Agilent GC 6890N-5975B 气-质联用仪（Agilent 公司）；赛多利斯 BP-211D 型电子天平（Sartorius 公司）；BL610 型电子天平（Sartorius 公司）。

邻苯二甲酸二甲酯（DMP）、邻苯二甲酸二乙酯（DEP）、邻苯二甲酸二丁酯、邻苯二甲酸二（2-乙基己基）酯、邻苯二甲酸二壬酯（DNNP）、邻苯二甲酸二正辛酯，购自 Dr.Ehrenstorfer 公司。二氯甲烷、甲醇试剂均为色谱纯。

保和丸样品 1（山西康威制药有限责任公司，批号：2120406）；保和丸样品 2（青海宝鉴堂国药有限公司，批号：WJ631096）；保和丸样品 3（山西旺龙神农药业有限公司，批号：20111101）。

2 方法与结果

2.1 气相色谱条件

色谱柱为 Elite-5（30 m×0.32 mm，0.25 μm）；升温程序：起始温度 60℃，保持 1 min，以 20℃·min⁻¹ 升温至 220℃，保持 1 min，再以 5℃·min⁻¹ 升温至 280℃，保持 4 min；进样口温度：250℃；

检测器温度：300℃；载气为氮气，恒定流速 2 mL·min⁻¹；不分流进样；进样量：1 μL。

2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品储备液的制备

精密称取 DMP、DEP、DBP、DEHP、DNNP、DNOP，用二氯甲烷分别配制成浓度为 0.1930、0.0988、0.1812、0.1861、0.0862、0.1320 g·L⁻¹ 的对照品溶液，摇匀备用。

2.2.2 供试品溶液的制备

取一粒完整包装的大蜜丸，将 PVC 硬片粉碎，精密称定其质量，10 mL 二氯甲烷溶剂浸泡 15 min，提取液定容至 10 mL，作为包材供试品溶液；将药丸切成小块，精密称定其质量，10 mL 乙酸乙酯超声提取 5 min，提取液浓缩至 2 mL，作为药品供试品溶液。

2.3 系统适用性试验

在“2.1”节的色谱条件下，分别取空白溶剂、对照品混合溶液进样，各 PAEs 的理论塔板数均大于 10000，相邻 PAEs 的分离度均大于 1.5。空白溶剂色谱图中，无干扰测定的杂质峰。见图 1。

2.4 线性关系考察

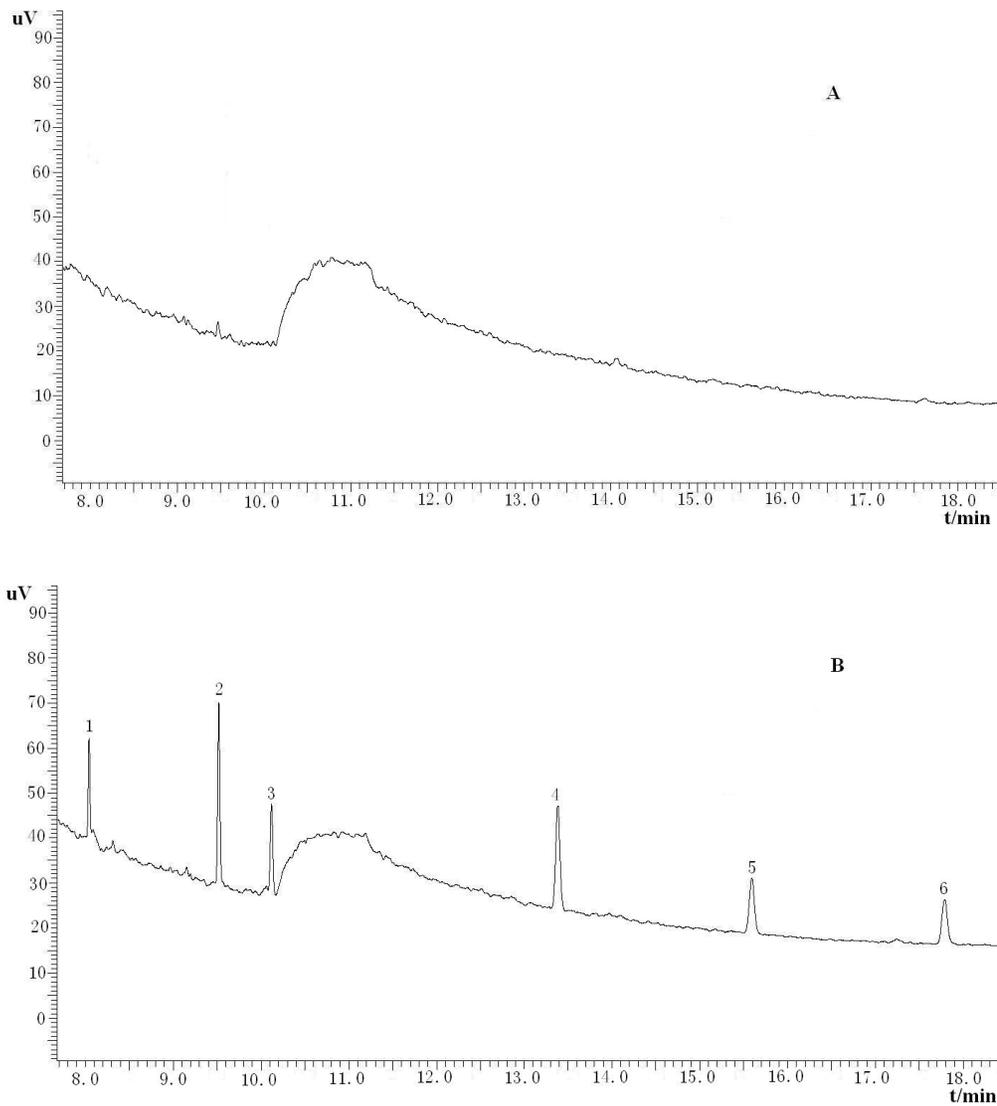
取 6 种对照品储备液，分别配制成各自浓度梯度的溶液。将上述配制的溶液各进样 1 μL（n=5），记录色谱图，以样品质量浓度 ρ（mg·L⁻¹）为横坐标、峰面积为纵坐标，绘制标准曲线，结果见表 1。

2.5 精密度试验

在“2.1”节色谱条件下，取配制的对照品混合溶液连续进样 6 次，记录色谱图。测得 DMP、DEP、DBP、DEHP、DNNP、DNOP 峰面积 RSD 分别为 0.59%、0.75%、0.31%、0.21%、1.36%、0.64%。

2.6 稳定性试验

取“2.5”节中配制的对照品混合溶液，于 0、2、4、6、8、10、12、24 h 分别进样，记录色谱图。测得 DMP、DEP、DBP、DEHP、DNNP、DNOP 的峰面积 RSD 分别为 0.84%、1.10%、0.81%、0.31%、0.98%、0.77%，表明样品溶液室温放置 24 h 内稳定性良好。



A. 二氯甲烷溶剂; B. 对照品溶液 (1-DMP; 2-DEP; 3-DBP; 4-DEHP; 5-DNNP; 6-DNOP)。

图1 气相色谱图

表1 6种PAEs的回归方程和线性范围

PAEs	回归方程	相关系数 /r	线性范围 / (mg · L ⁻¹)	检测限 / (mg · L ⁻¹)
DMP	A = 4288 ρ - 545.0	0.9998	0.53 ~ 8.40	9.60 × 10 ⁻³
DEP	A = 4689 ρ - 735.2	0.9998	0.62 ~ 9.92	10.10 × 10 ⁻³
DBP	A = 5980 ρ + 3534	0.9994	0.58 ~ 9.28	12.40 × 10 ⁻³
DEHP	A = 6479 ρ - 804.0	0.9999	0.50 ~ 8.00	6.60 × 10 ⁻³
DNNP	A = 4688 ρ - 355.4	0.9999	0.50 ~ 8.00	8.70 × 10 ⁻³
DNOP	A = 5898 ρ - 873.1	0.9999	0.50 ~ 8.00	7.30 × 10 ⁻³

2.7 回收率试验

精密称取9份保和丸样品1的聚氯乙烯固体药用硬片包装(每份0.5g,剪碎),分成低、中、高浓度组,每组3个样本,分别加入低、中、高3个不同浓度的6种PAEs混合对照品溶液,然后加入10mL二氯甲烷溶剂浸泡15min,浸提液定容至10mL,分别进样测定,记录色谱图。按外标法计算回收率,分别计算低、中、高浓度组的平均回收率,再计算低、中、高浓度所有样本的总平均回收率。结果见表2。平均回收率在96.8%~100.4%,表明回收率良好。

2.8 检出限

取对照品溶液采用逐步稀释法制成一定浓度的溶液,以信噪比(S/N)为3:1时确定其检出限。6种PAEs的检出限测定结果见表1。

2.9 样品中PAEs的测定

按“2.2.2”节下的配制方法制备供试品溶液,进行测定,按外标法计算样品中PAEs的含量,3批样品中均只检出DEHP,而DMP、DEP、DBP、DNNP、DNOP均未检出,DEHP含量测定结果见表3。

表2 6种PAEs的回收率结果

PAEs	原有量/mg	加入量/mg	测得量/mg	平均回收率/%(n=3)	RSD/%	总平均回收率/%(n=9)
DMP	ND	4.00	3.85	96.2	2.1	97.2
	ND	5.00	4.84	96.8	1.3	
	ND	6.00	5.92	98.7	1.0	
DEP	ND	4.00	3.89	97.2	1.7	98.1
	ND	5.00	4.87	97.4	0.6	
	ND	6.00	5.98	99.7	1.4	
DBP	ND	4.00	4.05	101.2	1.6	100.4
	ND	5.00	5.03	100.6	2.4	
	ND	6.00	5.96	99.3	2.8	
DEHP	8.80	7.04	15.54	95.7	1.2	97.1
	8.80	8.80	17.33	96.9	2.4	
	8.80	10.56	19.22	98.7	1.5	
DNNP	ND	4.00	3.89	97.2	2.6	97.7
	ND	5.00	4.84	96.8	1.8	
	ND	6.00	5.94	99.0	1.6	
DNOP	ND	4.00	3.84	96.0	2.4	96.8
	ND	5.00	4.81	96.2	1.2	
	ND	6.00	5.90	98.3	2.7	

注:ND为未检出。

表 3 样品中 DEHP 含量测定结果

样品	包材供试品溶液浓度 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	包材中含量 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	药品供试品溶液浓度 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	药品中含量 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
1	241.53	10.0	0.055	1.2×10^{-5}
2	32.36	1.1	0.015	3.3×10^{-6}
3	169.89	7.1	0.125	2.8×10^{-5}

2.10 样品的加速试验研究

参照《药品包装材料和药物相容性试验指导原则》(YBB00142002-2015)^[8], 将 3 批样品放置在

40 °C、相对湿度 90% 的环境下, 分别于 5、10、15、30、40 d 对药品中的 PAEs 进行检测, 考察药品中 PAEs 迁移量的变化情况, 结果见表 4。

表 4 加速试验结果

放置天数 / d	样品 1 DEHP 检出量 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	样品 2 DEHP 检出量 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	样品 3 DEHP 检出量 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
0	1.2×10^{-5}	3.3×10^{-6}	2.8×10^{-5}
5	2.0×10^{-5}	5.6×10^{-6}	3.2×10^{-5}
10	2.9×10^{-5}	1.4×10^{-5}	3.8×10^{-5}
15	3.4×10^{-5}	1.9×10^{-5}	4.2×10^{-5}
30	3.9×10^{-5}	2.3×10^{-5}	4.7×10^{-5}
40	4.6×10^{-5}	2.6×10^{-5}	5.2×10^{-5}

3 GC-MS 确认

色谱柱: HP-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 石英毛细管柱, 载气为氦气。升温程序: 初温 60 °C, 保持 1 min, 以 20 °C · min⁻¹ 的速率升至 220 °C, 保持 1 min, 再以 5 °C · min⁻¹ 升温至 300 °C, 保持 7 min。进样口温度: 250 °C; 色谱-质谱接口温度: 300 °C。电离源为 EI 源, 电离能量: 70 eV, 选择监视离子 (m/z): 149 amu, 进样量: 1 μL , 不分流进样。

取供试品溶液和 DEHP 的对照品溶液分别注入气质联用色谱仪, 记录色谱图及质谱图。供试品溶液和对照品溶液的选择离子色谱峰在相同保留时间处出现, 且对应质谱碎片离子的质荷比与对照品一致, 均出现 149、167 和 279 的碎片峰, 确证该样品中检出的是 DEHP。

4 结论与讨论

本文在参考文献^[9-11]的基础上, 建立了测定 6

种常用邻苯二甲酸酯类 (PAEs) 含量的气相色谱法, 并对保和丸的聚氯乙烯固体药用硬片与药品中的 PAEs 进行了检测。该方法分离效果好、操作简便快速、灵敏度高、精密度好, 为考察药品中 PAEs 迁移量的检测提供依据。

3 批样品的包材和药品中均有 PAEs 检出。样品储存温度升高、湿度加大的加速试验结果显示: 随着放置时间增长, 药品中 PAEs 的迁移量也增加, 证实环境条件变化, 包材中的 PAEs 会迁移到制剂中。

参考文献:

- [1] Kavlock R, Boekelheide K, Chapin R, et al. NTP Center for the Evaluation of Risks to Human Eproduction: Phthalates Expert Panel Report on the Reproductive and Developmental Toxicity of Dibutylphthalate[J]. Reprod Toxicol, 2002, 16 (5): 489-527.

- [2] Van Wezel AP, van Vlaardingen P, Posthumus R, et al. Environmental Risk Limits for Two Phthalates, with Special Emphasis on Endocrine Disruptive Properties[J]. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 2000, 46(3): 305-321.
- [3] Tully K, Kupfer D, Dopico AM, et al. A Plasticizer Released from IV Drip Chambers Elevates Calcium Levels in Neurosecretory Terminals[J]. *Toxicol Applied Pharmacology*, 2000, 168(2): 183-188.
- [4] 杨科峰, 厉曙光, 蔡智鸣. 食用油及其加热产物中酞酸酯类增塑剂的分析[J]. *环境与职业医学*, 2002, 19(1): 37-39.
- [5] 刘慧杰. 邻苯二甲酸酯类化合物的毒理学效应及对人群健康的危害[J]. *第三军医大学学报*, 2004, 26(19): 1778-1781.
- [6] 陈朝琼, 严平, 李茂全, 等. 邻苯二甲酸酯的分析方法研究进展[J]. *成都医学院学报*, 2007, 2(1): 63-66.
- [7] 房丽萍, 牛增元, 蔡发, 等. 邻苯二甲酸酯类增塑剂分析法进展[J]. *分析科学学报*, 2005, 21(6): 687-691.
- [8] YBB00142002-2015 国家药包材标准: 药品包装材料和药物相容性试验指导原则[S]. 2005: 381-382.
- [9] GB/T 21911-2008 国家标准: 食品中邻苯二甲酸酯的测定[S]. 2008.
- [10] 韦兴利, 施恭辉, 林珑. 用气相色谱法测定PVC产品中邻苯二甲酸酯类的含量[J]. *聚氯乙烯*, 2010, 38(3): 29-31.
- [11] 王成云, 张绍文, 张伟亚. PVC玩具和儿童用品中6种限用邻苯二甲酸酯类增塑剂的同时测定[J]. *聚氯乙烯*, 2008, 32(2): 30-33.

(收稿日期 2016年6月31日 编辑 范玉明)