

# 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

沈卫阳\*, 宋旻昕, 金祥飞, 史文吏(中国药科大学理学院/药物质量与安全预警教育部重点实验室, 南京210009)

中图分类号 R972;R979.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)17-1568-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.17.10

**摘要** 目的:建立测定一次性使用静脉营养输液器中增塑剂邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)溶出量的方法。方法:采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法,以邻苯二甲酸二丁酯为内标,使用一次性使用静脉营养输液器制备营养液,测定室温放置和模拟临床输液24 h后营养液中DEHP的溶出量。采用Rtx-5 MS色谱柱;进样口温度:300 ℃;载气:氦气;程序升温模式:起始温度200 ℃,15 ℃/min升温至280 ℃,维持5 min;EI离子源,离子源温度:250 ℃,接口温度:280 ℃;采集模式:选择离子监测模式(SIM);质荷比( $m/z$ )149。结果:DEHP检测质量浓度的线性范围为0.2~30  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 8$ ),检测限为0.01  $\mu\text{g/ml}$ ,定量限为0.04  $\mu\text{g/ml}$ ,平均回收率为102.4%,RSD为4.23% ( $n=3$ ),精密度试验RSD为2.7% ( $n=5$ )。室温放置24 h营养液中DEHP溶出量为0.547~17.400 mg,模拟临床输液24 h后营养液中DEHP溶出量为8.779~10.620 mg,均小于成人的耐受摄入量(30 mg)。结论:本法简单、快速、准确,可用于一次性使用静脉营养输液器中DEHP溶出量的测定。

**关键词** 一次性使用静脉营养输液器;邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯;气相色谱-质谱联用

## Determination of DEHP Released from Disposable Venous Nutrition Transfusion Instruments by GC-MS

SHENG Wei-yang, SONG Min-xin, JIN Xiang-fei, SHI Wen-li (School of Science, China Pharmaceutical University/Key Lab of Drug Quality Control and Pharmacovigilance, Ministry of Education, Nanjing 210009, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for the determination of the dissolution of di (2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP) from disposable venous nutrition transfusion instruments. METHODS: GC-MS analysis was performed. Using dibutyl phthalate as internal standard, the determination was performed on Rtx-5 MS column with injector temperature of 300 ℃ using helium as carrier gas by temperature programming: initial temperature 200 ℃, increasing to 280 ℃ at rate of 15 ℃/min maintained for 5 min. EI ion source was adopted with temperature of 250 ℃ in acquisition mode; the injector temperature was set at 280 ℃. The ion monitoring mode was SIM, and the selected ion was  $m/z$  149. RESULTS: The linear range of DEHP was 0.2-30  $\mu\text{g/ml}$  ( $r=0.999\ 8$ ) with an average recovery of 102.4% (RSD=4.23%,  $n=3$ ). The detection limit was 0.01  $\mu\text{g/ml}$ , and the limit of quantification was 0.04  $\mu\text{g/ml}$ . RSD of precision test was 2.7% ( $n=5$ ). The dissolution of DEHP were 0.547-17.400 mg at room temperature for 24 hours. The dissolution of DEHP were 8.779-10.620 mg after 24 h simulated use in the clinic, which were not more than the limit of tolerance intake (30 mg). CONCLUSIONS: The method is simple, rapid and accurate, and can be used for the determination of DEHP released from disposable venous nutrition transfusion instruments.

**KEYWORDS** Disposable venous nutrition transfusion instruments; Di (2-ethyl hexyl) phthalate; GC-MS

- tion and rescues memory deficits in a mouse model of alzheimer disease[J]. *Neurotherapeutics*, 2013, 10(2):340.
- [7] 先雄斌,杨朝鲜.大鼠脑缺血再灌注模型的建立[J].中国老年学杂志,2009,29(19):2521.
- [8] 汪梦霞,廖锦华,马达,等.大鼠在体心肌缺血再灌注模型的建立[J].临床医学工程,2013,20(5):533.
- [9] McDonald MC, Zacharowski K, Bowes J, et al. Tempol reduces infarct size in rodent models of regional myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27(5/6):493.
- [10] Garcia JH, Wagner S, Liu KF, et al. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats: statistical validation[J]. *Stroke*, 1995, 26(4):627.
- [11] Villena J, Henriquez M, Torres V, et al. Ceramide-induced formation of ROS and ATP depletion trigger necrosis in lymphoid cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44(6):1146.
- [12] Abdallah DM, El-Abhar HS, Abdel-Aziz DH. TEMPOL, a membrane-permeable radical scavenger, attenuates gastric mucosal damage induced by ischemia/reperfusion: a key role for superoxide anion[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 603(1/3):93.
- [13] Matsumoto K, Hyodo F, Koretsky AP, et al. High-resolution mapping of tumor redox status by magnetic resonance imaging using nitroxides as redox-sensitive contrast agents[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(8):2455.
- (收稿日期:2013-10-18 修回日期:2014-02-17)
- \* 副教授,博士。研究方向:仪器分析与药物质量控制。电话:025-86185380。E-mail: wyshen@hotmail.com

邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)是聚氯乙烯(PVC)类一次性使用输液器中被广泛应用的邻苯二甲酸酯类增塑剂。增塑剂是一种增加材料柔软性或使材料液化的添加剂。由于DEHP与PVC分子之间仅以范德华力和氢键相连,在临床使用过程中,DEHP会从PVC输液器中迁移出来,伴随药物输注进入人体<sup>[1-2]</sup>。近年来关于DEHP的毒性研究表明,DEHP及其代谢产物可对哺乳动物的生殖系统产生很大的危害<sup>[3]</sup>,并且具有慢性毒性<sup>[4-5]</sup>,人体内的长期累积对人类中枢神经<sup>[6]</sup>以及肝脏组织<sup>[7-8]</sup>均有影响。因此,美国FDA在其发表的关于DEHP增塑PVC医疗器械安全性评价的研究报告中指出要重视和监控医疗器械中增塑剂DEHP的溶出量<sup>[9]</sup>。

由于静脉营养液输液体积大,并且成分复杂,仅仅使用色谱法并不能满足试验对灵敏度以及定性定量的要求。本文选择临床上常用的静脉营养液作为研究对象,建立了检测DEHP的气相色谱-质谱联用(GC-MS)法<sup>[10]</sup>,对其进行了方法学验证,并对一次性使用静脉营养输液器在使用过程中DEHP的溶出量进行了测定,以考察其安全性。

## 1 材料

### 1.1 仪器

GC/MS-QP2010 Ultra气质联用仪和AOC-20i自动进样器(日本岛津公司);BSA124S型分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司)。

### 1.2 药品与试剂

邻苯二甲酸二丁酯(天津市化学试剂二厂,分析纯);DEHP对照品(中国食品药品检定研究院,批号:350003-201001,纯度:99.9%);正己烷(色谱纯,美国Tedia试剂公司,重蒸后使用)。

### 1.3 输液器

一次性使用静脉营养输液器(江苏康进医疗器材有限公司,批号:20100611B、20100625B、20100708B)。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的配制

2.1.1 内标液。精密称取邻苯二甲酸二丁酯0.1 g(实际称样量:0.1028 g),置于100 ml量瓶中,用正己烷溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取1 ml,加正己烷至1 000 ml,摇匀即得。

2.1.2 DEHP贮备液(1 000 μg/ml)。精密称取DEHP对照品0.1 g(实际称样量:0.1010 g),置于100 ml量瓶中,加内标液溶解并稀释至刻度,摇匀即得。

2.1.3 DEHP溶液。精密量取DEHP贮备液2 ml,置于10 ml量瓶中,分别用内标液稀释成质量浓度分别为200、100 μg/ml的DEHP溶液。

### 2.2 GC-MS条件

2.2.1 色谱条件。Rtx-5 MS色谱柱(30.0 m×0.25 mm,0.25 μm);进样口温度:300 ℃,分流进样,分流比:10:1;进样量:0.1 μl;载气:氮气;柱流量:2 ml/min,吹扫流量:20 ml/min;程序升温模式:起始温度200 ℃,15 ℃/min速率升温至280 ℃,维持5 min。

2.2.2 质谱条件。EI离子源,离子源温度:250 ℃,接口温度:280 ℃,溶剂延迟时间:2 min;采集模式:选择性离子监测模式(SIM)质荷比(*m/z*)149,采集时间:2~6 min。

### 2.3 方法学研究

2.3.1 专属性试验。精密称取DEHP对照品适量,用正己烷溶解并稀释制成1 ml含有DEHP 10 μg的溶液,进样测定,质谱采集模式为全扫描模式。精密量取100 μg/ml的DEHP溶液,加内标液稀释成含DEHP为0.2 μg/ml的溶液,进样测定。按照

一次性使用静脉营养输液器的使用方法,将静脉营养液按配方组成灌装,室温条件下,取待测的营养液4 ml,置于玻璃离心管中,加内标液4 ml,涡旋10 min,取正己烷层溶液作为样品溶液,进样测定。结果DEHP的保留时间为5.54 min,以丰度最大的离子*m/z* 149作为监测离子,正己烷、内标均不干扰测定,表明本方法专属性良好。DEHP全扫描模式MS图见图1,气相色谱图见图2。

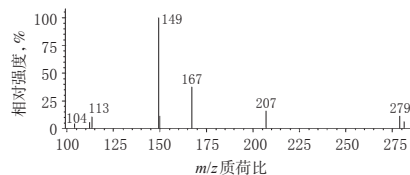


图1 DEHP全扫描模式MS图

Fig 1 MC spectrogram of DEHP in full scan mode

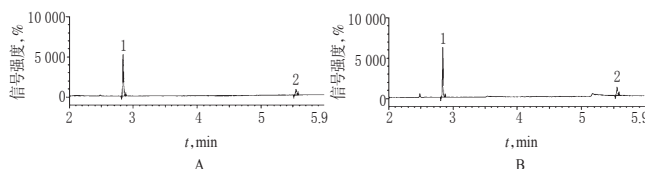


图2 气相色谱图

A. 对照品+内标; B. 样品(批号:20100611B)+内标; 1. 内标; 2. DEHP

Fig 2 GC chromatograms

A. substance control+internal standard; B. sample (No. 20100611B)+internal standard; 1. internal standard; 2. DEHP

2.3.2 标准曲线的建立。分别精密量取100 μg/ml的DEHP溶液适量,用内标液稀释成含DEHP质量浓度分别为0.2、0.5、1、2、5、10、20、30 μg/ml的标准系列溶液,分别精密量取各标准系列溶液0.1 μl注入气质联用仪,记录色谱图。以DEHP与内标的峰面积比(*y*)对质量浓度(*x*)进行线性回归。得回归方程为 $y=0.6737x-0.093$ ( $r=0.9998$ ),结果表明,DEHP检测质量浓度的线性范围分别为0.2~30 μg/ml。

2.3.3 进样精密度考察。取质量浓度为10 μg/ml的DEHP溶液,精密量取0.1 μl,连续进样5次,记录色谱图,计算峰面积的RSD为2.7%( $n=5$ ),表明该方法进样精密度良好。

2.3.4 检测限与定量限考察。取质量浓度为0.2 μg/ml的DEHP溶液,以稀释法测定检测限(信噪比为3)及定量限(信噪比为10),结果表明,本方法DEHP的检测限为0.01 μg/ml,定量限为0.04 μg/ml。

2.3.5 回收率与精密度试验。取10 ml玻璃离心管15个,加入4 ml的静脉营养液,再分别加入40、200、1 000 μg/ml的DEHP溶液100 μl,每个质量浓度5份,涡旋1 min,再加入内标液4 ml,涡旋10 min,取正己烷层0.1 μl进行测定,记录色谱图,代入回归方程计算回收率及RSD,结果平均回收率为102.4%,RSD为4.23%,详见表1。

### 2.4 样品含量测定

2.4.1 静脉营养液配方。静脉营养液其成分复杂,处方多样化。本试验选取的研究对象为临床上常用的一种静脉营养液,其配方为:5%葡萄糖氯化钠注射液1 000 ml、20%中/长链脂肪乳注射液(C6-C24)250 ml、8.5%复方氨基酸注射液250 ml、0.9%氯化钠注射液1 300 ml、50%葡萄糖注射液180 ml、10%氯化钾注射液20 ml、胰岛素16 u。

2.4.2 试验方案。按照一次性使用静脉营养输液器的使用方法,将静脉营养液按配方组成灌装于3批输液器中,分别考察

表1 回收率试验结果(n=5)

Tab 1 Results of recovery test(n=5)

加入值, $\mu\text{g/ml}$	测定值, $\mu\text{g/ml}$	回收率, %	平均回收率, %	RSD, %
1.010	0.997	98.73	101.9	5.4
1.010	1.053	104.30		
1.010	1.113	110.20		
1.010	1.009	99.90		
1.010	0.973	96.29		
5.050	5.130	101.60	105.6	5.2
5.050	5.636	111.60		
5.050	5.301	105.00		
5.050	5.582	110.50		
5.050	5.003	99.06		
25.250	25.750	102.00	99.71	2.1
25.250	24.880	98.53		
25.250	25.630	101.50		
25.250	25.190	99.75		
25.250	24.440	96.78		

其在室温放置和模拟输液两种条件下DEHP的溶出量<sup>[11]</sup>。由于静脉营养液要求在24 h内使用完毕,因此考察时间定为24 h。

2.4.3 室温放置条件。按照一次性使用静脉营养输液器的使用方法,将静脉营养液按配方组成灌装于3批输液器中,将其在室温(25℃)条件下放置,于0、4、12、24 h分别取出营养液50 ml,待测。

2.4.4 模拟输液条件。按照一次性使用静脉营养输液器的使用方法,将静脉营养液按配方组成分别灌装于3批输液器中,以25滴/min的速度输出,输出时间约24 h,结束后,用玻璃器皿收集输出营养液,待测。

2.4.5 分析方法。取待测的营养液4 ml,置于玻璃离心管中,加内标液4 ml,涡旋10 min,取正己烷层0.1  $\mu\text{l}$ ,注入气质联用仪,记录色谱图,代入回归方程计算DEHP的质量浓度和溶出量。室温放置和模拟输液条件下营养液中DEHP的浓度及溶出量测定结果见表2(表中0 h是指静脉营养液灌装于输液器中混匀后立即取出的营养液)、表3。

表2 室温放置条件下营养液中DEHP的质量浓度及溶出量(n=3)

Tab 2 The concentration and dissolution of DEHP in venous nutrition liquid at the room temperature(n=3)

时间, h	DEHP质量浓度, $\mu\text{g/ml}$	DEHP溶出量, mg
0	0.338	0.547
4	0.824	1.311
12	4.358	6.684
24	11.650	17.400

表3 模拟输液条件下营养液中DEHP的质量浓度及溶出量(n=3)

Tab 3 The concentration and dissolution of DEHP in venous nutrition liquid under simulated conditions(n=3)

输液器批号	DEHP质量浓度, $\mu\text{g/ml}$	DEHP溶出量, mg
20100611B	6.556	10.620
20100625B	5.419	8.779
20100708B	5.678	9.198

美国FDA器械与辐射健康中心的《PVC医疗器械中迁移出的DEHP的安全性评价》报告中指出,成人对DEHP非肠道摄入的耐受摄入量为0.6 mg/(kg·d)<sup>[9]</sup>,按正常人50 kg计算,人体每天最大可耐受的DEHP量为30 mg。从表2与表3结果可知,3批样品在室温放置与模拟输液条件下24 h DEHP的溶出量均小于30 mg,在人体最大可耐受量范围之内。

### 3 讨论

按照一次性使用静脉营养输液器的使用方法,将静脉营养液按一般配方组成灌装于输液器中,在室温放置和模拟输液两种条件下测定的DEHP溶出量应均小于人体每天最大可耐受的量。

本文所建立的GC-MS法具有检测灵敏度高、线性范围宽的特点。鉴于静脉营养液输液体积大、成分复杂(含碳水化合物、氨基酸、脂肪乳、电解质、维生素、微量元素和水等),若采用高效液相色谱法,难以实现DEHP与静脉营养液中所含组分的有效分离。文献<sup>[11,12]</sup>中仅以乙醇水溶液等作为各类药物的代表,未考虑到药物对DEHP测定的干扰,且样品预处理需要旋转蒸发。笔者通过提取方法的优化,结合MS中的SIM,避免了输液中药物对DEHP测定的干扰。

综上所述,本文所建立的GC-MS法灵敏度高、重复性好、专属性强、简便可行,可最大程度地排除干扰,且定量准确,可用于一次性使用静脉营养输液器输液过程中DEHP的检测。

### 参考文献

- [1] 刘曦,于晶晶,王红,等.高效液相色谱法测定一次性使用输液器中DEHP溶出量[J].中国医疗器械信息,2012(6):29.
- [2] 陈琳,钱青,张喆,等.医疗途径中增塑剂DEHP的溶出及其安全性研究概况[J].中国药房,2011,22(33):3 073.
- [3] 周婉格,王统菲,周任,等.邻苯二甲酸二辛酯对哺乳动物生殖系统影响的研究进展[J].国际生殖健康/计划生育杂志,2013,32(1):50.
- [4] Koch HM, Rossbach B, Drexler H, *et al.* Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates-determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine[J]. *Environ Res*, 2003, 93(2):177.
- [5] 谢沁珊,王杉杉,蔡风云,等.塑料增塑剂DEHP环境污染水平、人体负荷及生物毒性的初步研究[J].公共卫生与预防医学,2012,21(5):19.
- [6] 王蛟,董越,袁琴,等.邻苯二甲酸二乙基己酯(DEHP)对神经系统发育的毒性研究[J].亚太传统医药,2011,7(9):178.
- [7] 郑涤新,耿媛媛,王婕,等.导管类医疗器械DEHP检测方法辨析[J].化学工程与装备,2010(6):175.
- [8] 陈文婕,戴红,陈敏,等.邻苯二甲酸二乙基己酯(DEHP)对小白鼠肝脏毒性及脂质过氧化损伤[J].生态毒理学报,2012,7(1):93.
- [9] U.S. Food and Drug Administration. *Safety assessment of di (2-ethyl hexyl) phthalate (DEHP) released from PVC medical devices*[R/OL].(2001)[2013-11-10].<http://www.fda.gov/downloads/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm080457.pdf>.
- [10] 关皓月,赵霞,孙会敏.GC-MS/SIM法测定明胶空心胶囊中的邻苯二甲酸酯类化合物[J].中国新药杂志,2013,22(4):482.
- [11] 王君,栾玲玉,张继斌,等.食品包装用PVC中3种增塑剂的残留及特定条件下的迁移规律[J].包装工程,2013,34(1):29.
- [12] 马明,清江,周韵,等.气相色谱-串联质谱法测定塑料食品接触材料中DBP及DEHP迁移量[J].环境化学,2013,32(4):708.

(收稿日期:2013-11-11 修回日期:2014-01-21)