

药用橡胶塞中 17 种多环芳烃测定方法

张罗红, 黄婉莎, 张欣, 江燕
(四川省食品药品检验检测院, 成都 610000)

摘要: **目的** 建立药用橡胶塞中 17 种多环芳烃的气相色谱-串联质谱测定方法, 评估其残留多环芳烃的安全性。**方法** 采用丙酮/正己烷 ($V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$) 作为提取溶剂, 微波萃取胶塞中目标物, 以 D8-萘、D10-芘、D12-苯并[a]芘为内标进行定量分析。**结果** 该方法在 2~200 ng/mL 线性良好, 相关系数 R 为 0.9984~0.9999, 方法检出限范围为 0.35~1.25 ng/g, 回收率为 92.24%~118.47%, 测定结果的相对标准偏差为 0.86%~13.23%。采用上述方法对市场上 8 个厂家的 17 批胶塞进行提取, 其中均提取出不同多环芳烃, 致癌性多环芳烃检出量为 0.0004~0.1278 $\mu\text{g/g}$; 3 批胶塞检出苯并[a]芘量为 0.0013~0.0042 $\mu\text{g/g}$; 非明确致癌性多环芳烃检出量为 0.0004~0.2980 $\mu\text{g/g}$ 。**结论** 该方法准确、灵敏、简便, 可用于定量测定胶塞中残留的高风险致癌性多环芳烃 (五环以上)。

关键词: 多环芳烃; 微波萃取; 药用胶塞; 可提取物; 气相色谱-串联质谱

中图分类号: TB484.9; O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2021)17-0010-10

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2021.17.002

Determination Methodology of 17 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Pharmaceutical Rubber Stoppers

ZHANG Luo-hong, HUANG Wan-sha, ZHANG Xin, JIANG Yan
(Sichuan Institute for Food and Drug Control, Chengdu 610000, China)

ABSTRACT: This paper developed determination methodology of gas chromatography-tandem mass spectrometry for 17 polycyclic aromatic hydrocarbons of pharmaceutical rubber stoppers to evaluate the safety of residual polycyclic aromatic hydrocarbons. A mixture of acetone-hexane ($V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$) was used as the extraction solvent, the target substances of rubber stopper were extracted by microwave, and D8-naphthalene, D10-pyrene and D12-benzo[a]pyrene were used as internal standards for quantification analysis. Good linearity was observed within the range of 2-200 ng/mL, the correlation coefficient R was 0.9984-0.9999, and the limit of detection was in the range of 0.35-1.25 ng/g in this methodology. Besides, the recovery ranged from 92.24% to 118.47% (RSD: 0.86%-13.23%). The above method was used to extract 17 batches of rubber stoppers from 8 manufacturers on the market, and different polycyclic aromatic hydrocarbons were extracted from them. The detected amount of carcinogenic PAHs was in the range of 0.0004 to 0.1278 $\mu\text{g/g}$, benzo[a]pyrene from 3 batches of the rubber stoppers were in the range of 0.0013-0.0042 $\mu\text{g/g}$ and the detected amount of unclear carcinogenic PAHs was 0.0004-0.2980 $\mu\text{g/g}$. This method is accurate, sensitive, simple and suitable for the quantitative determination of the residual high-risk carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (above five rings) in rubber stoppers.

收稿日期: 2021-01-25

基金项目: 四川省食品药品检验检测院科研项目 (2019-KYYL-012)

作者简介: 张罗红 (1972—), 女, 副主任药师, 主要研究方向为食品及药品包装材料检测及相容性。

通信作者: 江燕 (1981—), 女, 副主任药师, 主要研究方向为食品及药品包装材料检测及相容性。

KEY WORDS: polycyclic aromatic hydrocarbons; microwave extraction; pharmaceutical rubber stoppers; extractable substances; gas chromatography-tandem mass spectrometry

药用橡胶塞主要分为注射液用卤化丁基胶塞、注射用无菌粉末用卤化丁基胶塞和卤化覆膜丁基胶塞。药用橡胶塞中一般会加入炭黑作为补强填充剂、着色剂，其中炉法炭黑含有多多种多环芳烃（PAHs）^[1]，且国产炭黑的原料油（煤焦油）是极其复杂的化学物质混合物，已发现多种煤焦油中存在多环芳烃^[2]。另据国内外文献报道，以橡胶作为内包装材料的脂肪乳、气雾剂等药品制剂中已检出多环芳烃类物质^[3-4]。美国国家环境保护局（EPA）、美国毒物与疾病登记署（ATSDR）、国际癌症研究机构（IARC）均认定以苯并[a]芘为代表的 6 种多环芳烃为效价较高的致癌物^[5-6]。不同环数的多环芳烃在不同溶剂中的可提取量不一致^[7]，在胶塞与药品接触时均有可能迁移入药品，在我国新药研发中，《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则（试行）》明确了多环芳烃类为重点关注对象^[1]。综上所述，研究药用橡胶塞中残留多环芳烃尤为重要^[8]。

国内文献曾报道，胶塞中提取出的多环芳烃多为低分子量的非致癌性多环芳烃，文中建立的方法可以筛查出胶塞中残留的高风险致癌性多环芳烃（五环以上多环芳烃），所测定的 17 种多环芳烃包含了 EPA 已确认的 16 种优先关注的 PAHs，也覆盖了《化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则（试行）》中要求重点关注的多环芳烃。

1 实验

1.1 材料和仪器

主要材料：甲苯，分析纯，成都科隆化学品有限公司；正己烷、异丙醇、乙酸乙酯、丙酮，色谱纯，Fisher Chemical；16 种混合多环芳烃对照品（见表 1），上海安谱实验科技股份有限公司；苯并[e]芘（见表 1），Aldrich 公司；D8-萘（见表 1），O2Si 公司；D10-芘（见表 1），O2Si 公司；D12-苯并[a]芘（见表 1），LGC Labor GmbH 公司。

主要仪器：气相色谱-质谱联用仪（TSQ QUANTUMXLS），美国 Thermo 公司；微波消解仪（MARS6 classic），美国 CEM 公司；电子天平（XS205DU），梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；超声波仪（HS20500D），天津市恒奥科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 GC-MS 仪器条件

1）气相色谱条件：DB-EUPAH 毛细管气相色谱柱（20 m×0.180 mm×0.14 μm），载气为高纯氦气，

表 1 对照品和内标物质信息
Tab.1 Information on reference substances and internal standard substances

序号	化合物名称	CAS 号	纯度
1	萘	91-20-3	0.999
2	萘烯	208-96-8	0.964
3	芴	83-32-9	0.99
4	芴	86-73-7	0.99
5	菲	85-01-80	0.989
6	蒽	120-12-7	0.992
7	荧蒽	206-44-0	0.995
8	芘	129-00-0	0.975
9	苯并[a]蒽	56-55-3	0.99
10	屈	218-01-9	0.988
11	苯并[b]荧蒽	205-99-2	0.999
12	苯并[k]荧蒽	207-08-9	0.994
13	苯并[e]芘	192-97-2	0.98
14	苯并[a]芘	50-32-8	0.998
15	茚并[1,2,3-cd]芘	193-39-5	0.99
16	二苯并[a,h]蒽	53-70-3	0.994
17	苯并[g,h,i]花	191-24-2	0.996
I	D8-萘	1146-65-2	0.998
II	D10-芘	1718-52-1	0.991
III	D12-苯并[a]芘	63466-71-7	0.9748

流速为 1.0 mL/min，进样口温度为 280 °C；程序升温条件，在 50 °C 下保持 2 min，以 20 °C/ min 升温至 180 °C，保持 4 min，再以 15 °C/min 升温至 280 °C，保持 4 min，再以 5 °C/min 升温至 315 °C，保持 2 min；进样量为 1 μL；进样方式为不分流脉冲进样。

2）质谱条件：电子轰击离子源（EI），离子源温度为 280 °C；传输线温度为 280 °C；监测模式为多反应监测模式（SRM）；SRM 质谱分析参数见表 2。

1.2.2 溶液的制备

1）内标溶液的制备。取适量 D12-苯并[a]芘（约 10 mg），精密称定，置于 10 mL 容量瓶中，加正己烷溶解，并稀释至刻度，摇匀，即得 D12-苯并[a]芘贮备液；精密量取表 1 中 D8-萘、D10-芘内标对照品和 D12-苯并[a]芘贮备液各 100 μL，置于装有少量正己烷的 100 mL 容量瓶中，加正己烷溶解并稀释至刻

表 2 PAHs 和内标物的保留时间、定量离子对、定性离子对和碰撞能量
Tab.2 Retention time, qualitative ions, quantitative ions and the collision energy (CE) of PAHs and internal standard substances

名称	母离子	子离子	碰撞能量	保留时间/min	名称	母离子	子离子	碰撞能量	保留时间/min
D8-萘	136	108(定量)	13	6.37	苯并[a]蒽	228	202	20	19.14
	136	134	13			228	226(定量)	30	
萘	128	102(定量)	20	6.39	屈	228	202	20	19.29
	128	126	20			228	226(定量)	30	
	128	127	25						
苊烯	152	126	20	8.51	苯并[b]荧蒽	252	226	20	21.85
	152	150(定量)	30			252	250(定量)	30	
苊	153	126	40	8.69	苯并[k]荧蒽	252	226	20	21.94
	153	151	40			252	250(定量)	30	
	153	152(定量)	20						
芴	166	115	40	9.50	苯并[a]芘	252	226	20	23.34
	166	139	30						
	166	163	20			252	250(定量)	30	
	166	165(定量)	20						
菲	178	152(定量)	20	12.73	苯并[e]芘	252	226	34	23.14
	178	176	25			252	250(定量)	34	
蒽	178	152(定量)	20	12.85	D12-苯并[a]芘	264	260(定量)	39	23.24
	178	176	20			264	236	39	
荧蒽	202	150	40	16.19	茚并[1,2,3-cd]芘	276	224	50	27.49
	202	152	30			276	248	50	
	202	200(定量)	20			276	274(定量)	50	
芘	202	150	40	16.79	二苯并[a,h]蒽	278	250	50	27.58
	202	152	30			278	276(定量)	40	
	202	200(定量)	20						
D10-芘	212	210	34	16.75	苯并[g,h,i]芘	276	224	50	28.68
	212	208(定量)	34			276	248	50	
						276	274(定量)	50	

度, 摇匀, 即得质量浓度约为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的同位素内标贮备液; 再精密量取同位素内标贮备液 2 mL, 置于装有少量正己烷的 10 mL 容量瓶中, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度约为 200 ng/mL 的同位素内标溶液, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保存。

2) 对照品溶液的制备。取苯并[e]芘适量 (约 20 mg), 精密称定, 置于 10 mL 容量瓶中, 加正己烷溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得苯并[e]芘贮备液; 精密量取 16 种多环芳烃对照品溶液、苯并[e]芘贮备液各 100 μL , 置于装有少量正己烷的 100 mL 容量瓶中, 加正己烷溶解, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量

浓度约为 2 $\mu\text{g/mL}$ 的 17 种多环芳烃对照品贮备液; 取 10 mL 容量瓶 7 个, 分别精密加入质量浓度约为 200 ng/mL 的同位素内标溶液 1 mL, 再分别精密加入 17 种多环芳烃对照品贮备液 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 μL , 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度约为 2, 4, 10, 20, 40, 100, 200 ng/mL 的对照品溶液, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中避光保存。

3) 供试品溶液的制备。取整块的药用胶塞 (不剪碎) 约 2 g, 精密称定, 置于微波消解管中, 精密加入 9 mL 正己烷和丙酮的混合溶液 (体积比为 1:1)、1 mL 质量浓度约为 200 ng/mL 的同位素内标

溶液，在 100 ℃下微波萃取 30 min，冷却至室温，用玻璃漏斗过滤，取滤液于旋蒸瓶中，另取约 10 mL 正己烷/丙酮（ $V_{\text{正己烷}}:V_{\text{丙酮}}=1:1$ ）溶液，分 2 次洗涤胶塞，合并洗涤液于上述旋蒸瓶中，在 35 ℃下旋蒸至约 1 mL，转至 10 mL 量瓶中，用少量正己烷洗涤旋蒸瓶 3 次，将洗液转至上述量瓶中，加正己烷至刻度，过滤，即得胶塞提取液。同法制备空白液。

2 结果与讨论

2.1 提取条件的优化

2.1.1 萃取溶剂和样品取样方式的选择

PAHs 的辛醇-水分配系数较高，能溶于多数非极性 or 中等极性有机溶剂，如正己烷、丙酮和二氯甲烷等^[9]，此研究采用微波萃取，考察同一胶塞分别在剪碎和整块情况下^[10-11]，用不同溶剂（包括异丙醇、正己烷、甲苯、乙酸乙酯、丙酮/二氯甲烷（ $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:1$ ）、正己烷/二氯甲烷（ $V_{\text{正己烷}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:1$ ）、丙酮/正己烷（ $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$ ），以及不

同比率的丙酮、正己烷和甲苯）提取，结果见表 3—4。结果表明，如果提取溶剂时采用正己烷、丙酮/正己烷（ $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$ ）、甲苯等对胶塞渗透性较好的溶剂，则整块胶塞提取效果略高于剪碎胶塞；异丙醇、甲苯对萘的提取效果最好，丙酮/正己烷（ $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$ ）对于四环以上的多环芳烃（芘、苯并[a]芘等）的提取效果最好；虽然增加对萘提取效果较好的溶剂（甲苯）在提取溶剂中的比例（ $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}:V_{\text{甲苯}}=3:3:2$ ），提取液中萘的提取量略有增加，但是对四环以上环芳烃的提取效率仍不如丙酮/正己烷（ $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$ ）；相同胶塞样品分别采用异丙醇、丙酮/正己烷（ $V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$ ）进行 3 次反复提取，结果见表 5。结果表明，2 种提取溶剂均不能完全提取胶塞中的萘；鉴于同一溶剂不能对胶塞中残留的不同环数多环芳烃达到最大提取效果，且苯并[a]芘等多种五环以上的多环芳烃具有高风险致癌性（苯并[a]芘每日允许暴露量（PDE）仅为 0.27 μg/d^[5]），无明显致癌性的多环芳烃-萘的 PDE 为 50 μg/d（按照较严格的美国产品质量研究所（PQRI）注射剂系统性毒性界定阈值（QT 值）为 50 μg/d 来设定^[5]），文

表 3 不同提取溶剂对胶塞中 PAHs 提取效果的比较
Tab.3 Effect of different extraction solvents on the extraction rate of PAHs ng/g

化合物	异丙醇		正己烷		甲苯		乙酸乙酯	
	完整	剪碎	完整	剪碎	完整	剪碎	完整	剪碎
萘	118.83	101.87	20.46	19.51	106.90	92.96	18.01	17.21
菲	31.73	28.72	34.41	31.12	29.01	26.64	32.41	32.35
荧蒽	18.71	22.69	25.64	24.85	26.56	25.92	20.47	27.68
芘	116.36	180.33	187.17	187.57	187.69	192.28	134.00	219.52
苯并[g,h,i]芘	19.91	27.56	28.59	28.53	26.02	25.51	23.93	45.74
D10-芘回收率/%	81.55	60.08	71.07	61.35	69.83	61.41	83.70	70.62

注：供试品中均加入 40 ng/mL D10-芘内标溶液作为质控品

表 4 不同混合溶剂对胶塞中 PAHs 提取效果的比较
Tab.4 Effect of different mixed solvents on the extraction rate of PAHs ng/g

化合物	$V_{\text{丙酮}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:1$		$V_{\text{正己烷}}:V_{\text{二氯甲烷}}=1:1$		$V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$		$V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}:V_{\text{甲苯}}=3:3:2$
	完整	剪碎	完整	剪碎	完整	剪碎	完整
萘	26.39	22.08	19.81	22.85	29.65	28.91	54.49
菲	39.36	46.48	33.39	44.34	45.63	39.64	22.46
荧蒽	25.12	29.62	26.63	33.65	36.57	31.35	16.82
芘	165.3	191	184.25	212.47	264.9	244.09	128.61
苯并[g,h,i]芘	31.72	42.99	33.52	41.79	45.84	46.05	18.93
D10-芘回收率/%	73.21	80.02	71.70	81.13	84.84	79.06	70.05

注：供试品中均加入 40 ng/mL D10-芘内标溶液作为质控品

表 5 提取溶剂对胶塞中 PAHs3 次反复提取的结果
Tab.5 Results of three times repeated extraction of PAHs by extraction solvent

ng/g

化合物	萃取次数	异丙醇		$V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$	
		完整	剪碎	完整	剪碎
萘	第 1 次	118.83	101.87	29.65	28.91
	第 2 次	111.08	82.72	6.32	5.90
	第 3 次	79.34	85.57	9.20	5.18
菲	第 1 次	31.73	28.72	45.63	39.64
	第 2 次	2.86	2.37	2.15	1.60
	第 3 次	7.51	4.21	4.03	5.40
荧蒽	第 1 次	18.71	22.69	36.57	31.35
	第 2 次	1.66	1.86	1.58	1.04
	第 3 次	3.55	1.91	1.67	1.70
芘	第 1 次	116.36	180.33	264.90	244.09
	第 2 次	25.44	32.59	28.74	19.09
	第 3 次	30.29	14.74	13.84	12.54
苯并[g,h,i]芘	第 1 次	19.91	27.56	45.84	46.05
	第 2 次	4.14	6.98	6.73	6.03
	第 3 次	4.47	6.14	7.27	6.69

中选择了高风险致癌性多环芳烃(以苯并[a]芘为代表的五环以上多环芳烃类)有良好提取效果的丙酮/正己烷($V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$)作为提取溶剂,对完整胶塞直接进行提取,既能达到高效准确地筛查出胶塞中残留高风险致癌性多环芳烃(五环以上)的含量,也能满足无明确致癌性多环芳烃的可提取量评估要求。

2.1.2 提取溶剂体积的选择

选用不同料液比(0.2, 0.08 g/mL)的样品与提取溶剂^[15]对同一胶塞进行微波萃取,结果见图 1。提取结果无显著差异,故选择样品与提取溶剂的料液比为 0.2 g/mL。

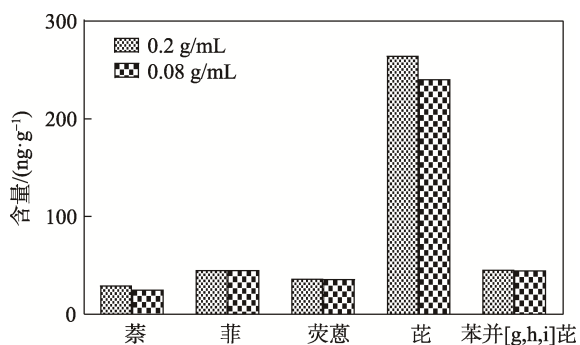


图 1 不同提取溶液体积的提取结果

Fig.1 Extraction efficiency of different extraction volume

2.1.3 提取方式的选择

将欧盟橡胶标准(AFPs GS 2014:01 PAK^[12])中多环芳烃的提取方法(甲苯在 60 °C下超声萃取 1 h)与甲苯微波萃取^[13]方法进行比较,结果见表 6。结果表明,甲苯微波萃取优于甲苯超声萃取,且在 60 °C下超声萃取对提取容器的密封性要求较高。对于选用挥发性溶剂提取样品,提取结果的重现性较差^[14]。

表 6 不同提取方式的提取结果
Tab.6 Results of different extraction methods

ng/g

化合物	微波萃取		超声萃取	
	完整	剪碎	完整	剪碎
萘	106.90	92.96	79.95	78.07
菲	29.01	26.64	22.49	20.67
荧蒽	26.56	25.92	25.99	24.76
芘	187.69	192.28	150.66	125.55
苯并[g,h,i]芘	26.02	25.51	24.01	25.37
D10-芘回收率/%	69.83	61.41	61.78	50.49

注:供试品中均加入 40 ng/mL D10-芘内标溶液作为质控品

2.1.4 提取时间的选择

采用 10 mL 丙酮/正己烷 ($V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$) 作为提取溶剂, 对同一样品采用相同方式, 分别于 15, 30, 45, 60 min 进行微波萃取, 结果见图 2。结果显示, 提取时间为 15, 30, 45, 60 min 时, 其提取结果无显著差异, 鉴于提取时间为 30 min 时其萃取量稳定性最好 (RSD 为 3.41%~11.82%, $n=6$, D-10 茈回收率为 80.62%), 故选择 30 min 作为提取时间。

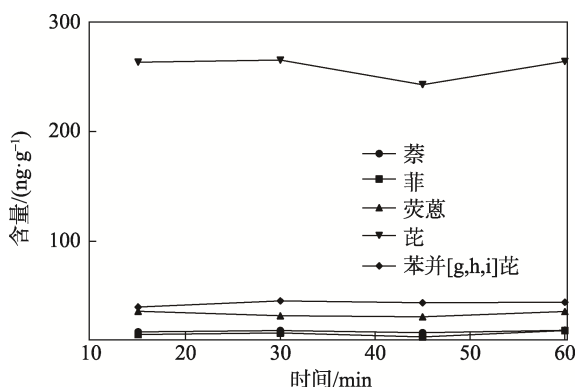


图 2 不同提取时间的提取结果
Fig.2 Extraction efficiency of different extraction time

2.2 色谱柱的选择

文中选用 DB-5MS 柱、DB-EUPAH 毛细管气相色谱柱进行分析, 17 种多环芳烃在 DB-EUPAH 毛细管气相色谱柱上的分离效果优于 DB-5MS 柱, 特别是对同分异构体苯并[b]荧蒹和苯并[k]荧蒹, 且峰形较好, 见图 3; 对于未经净化的胶塞提取液, DB-EUPAH 毛细管气相色谱柱也具有更好的耐受性, 且完成多批次样品实验后柱效降低不明显。

2.3 气相色谱和质谱条件的优化

采用不分流脉冲进样的方式可提高 17 种多环芳烃的分析灵敏度。分析方法采用 SRM 监测模式, 可使定性定量更准确, 能更好地排除胶塞中其他共提物的影响, 减少样品前处理过程。选择质谱图中丰度相对较高、分子量相对较大、干扰较小的离子作为母离子, 再确定监测离子对。文中考察了离子源温度 (250~300 °C) 的影响, 结果中峰面积无明显差别, 综合考虑离子源的污染等因素, 选用 280 °C 作为离子源温度。

2.4 线性范围和检测限

由表 7 可知, 当各目标物质量浓度为 2~200 ng/mL (即样品中各目标物含量为 0.01~1 μg/g) 时, 线性关系良好, 相关系数为 0.9984~0.9999。取上述混合对照品溶液, 依次稀释, 照上述色谱和质谱条件

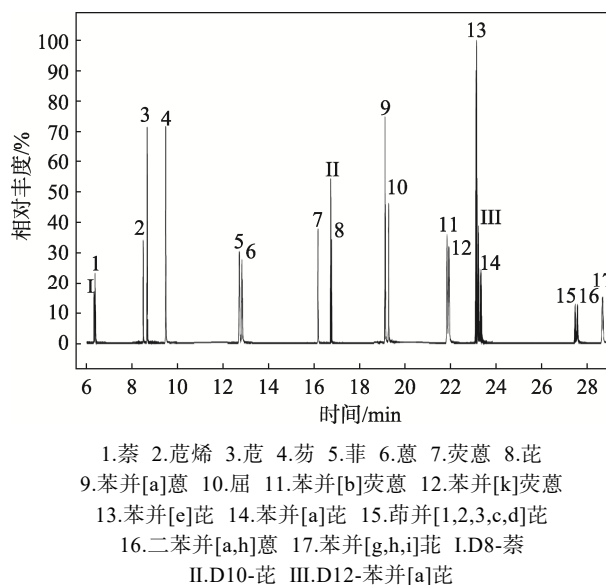


图 3 17 种 20 ng/mL 多环芳烃和 3 种内标的总离子流图
Fig.3 Total ion chromatogram of 17 kinds of PAHS and 3 kinds of internal standard substance in 20 ng/mL

进行分析, 计算其信噪比, 以信噪比 $S/N \geq 3$ 时对应的对照品溶液浓度为仪器检测限, 信噪比 $S/N \geq 10$ 时对应的对照品溶液浓度为仪器定量限, 方法检测限为 0.35~1.25 ng/g, 方法定量限为 1.15~4.15 ng/g, 结果见表 7。

2.5 精密度

取质量浓度约为 20 ng/mL 的混合对照品溶液, 按照上述测定方法分别进样 6 次, 计算各对照品峰面积与内标物质峰面积的比值的 RSD, 结果见表 8。RSD 为 0.99%~3.44%, $n=6$, 表明仪器进样精密度良好。

2.6 回收率

取整块的胶塞样品 (不剪碎) 约 2 g, 精密称定, 加入混合对照品溶液适量, 照 1.2.2 中的方法制备回收供试液, 制成加标质量浓度分别为 10, 20, 30 ng/mL 的样品各 3 份, 照上述方法测定, 17 种多环芳烃回收率结果见表 8。回收率为 92.24%~118.47%, 回收率 RSD 为 0.86%~13.23% ($n=9$)。

2.7 胶塞样品测定结果

采用上述方法对市场 8 个主要厂家生产的 17 批胶塞进行提取, 并按每日 10 瓶使用量, 估算人体每日最大摄入量, 见表 9。结果表明, 17 批胶塞中均检出不同多环芳烃, 其中检出频率较高的品种依次为萘、苊、茈、芴、菲、荧蒹、苯并[g,h,i]茈、苊烯、蒽; 7 批胶塞中检出致癌性多环芳烃, 其中 3 批胶塞中检出苯并[a]茈, 1 批胶塞的苯并[a]茈的每日最大摄入量计算值为 0.33 μg/d, 超过其 PDE 值 (0.27 μg/d);

10 批胶塞中检出非明确致癌性多环芳烃, 每日最大摄入量计算值为 0.03 ~ 15.44 $\mu\text{g}/\text{d}$, 均低于 50 $\mu\text{g}/\text{d}$ 的

PDE 值。17 批胶塞中每个胶塞多环芳烃总提取量的最大值为 3.39 μg 。

表 7 线性范围、回归方程、相关系数、检测限和定量限

Tab.7 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantification

化合物名称	回归方程	相关系数	线性范围/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	检测限/($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)	定量限/($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$)
萘	$y=0.7050x+0.1662$	0.9993	2.01 ~ 200.70	0.63	2.09
萘烯	$y=0.6592x+0.0908$	0.9998	1.95 ~ 195.30	0.61	2.04
萘	$y=0.5777x-0.1267$	0.9997	2.02 ~ 201.90	0.76	2.53
芴	$y=0.4559x-0.1333$	0.9996	1.99 ~ 199.09	0.54	1.78
菲	$y=1.1242x-0.1540$	0.9996	1.99 ~ 199.50	0.94	3.12
蒽	$y=1.4455x-0.1712$	0.9994	1.99 ~ 199.09	1.25	4.15
荧蒽	$y=2.0685x-0.1323$	0.9998	1.99 ~ 199.10	0.47	1.56
芘	$y=2.0056x-0.0976$	0.9999	1.97 ~ 196.80	0.53	1.76
苯并[a]蒽	$y=0.9594x-0.1390$	0.9994	1.98 ~ 299.70	0.37	1.24
屈	$y=1.3520x-0.1581$	0.9996	1.96 ~ 302.70	0.74	2.45
苯并[b]荧蒽	$y=2.3824x-0.1612$	0.9993	2.00 ~ 302.55	0.47	1.56
苯并[k]荧蒽	$y=2.2871x-0.1607$	0.9992	1.96 ~ 298.65	0.46	1.54
苯并[e]芘	$y=0.4750x-0.0980$	0.9994	1.47 ~ 147.39	1.25	4.15
苯并[a]芘	$y=2.7310x-0.1550$	0.9990	1.99 ~ 199.30	0.35	1.15
茚并[1,2,3-cd]芘	$y=5.2705x-0.1867$	0.9984	2.00 ~ 199.84	0.84	2.78
二苯并[a,h]蒽	$y=4.7890x-0.1568$	0.9985	1.97 ~ 197.11	0.62	2.06
苯并[g,h,i]芘	$y=4.0979x-0.2211$	0.9984	1.90 ~ 189.53	0.71	2.37

表 8 精密度和回收率

Tab.8 Precision and recovery

化合物名称	精密度(RSD, $n=6$)/%	样品含量/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	供试液含量/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	加标量/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	平均回收率/ %	RSD($n=9$)/%
萘	1.70	2.52	12.08	9.99	99.67	5.18
			23.6	19.98		
			31.86	29.97		
萘烯	0.99	0	10.75	9.64	108.60	7.03
			22.05	19.28		
			28.9	28.92		
萘	1.24	0	10.34	9.9	106.14	7.65
			22.77	19.8		
			29.4	29.7		
芴	1.19	0	11.95	9.9	115.44	6.97
			23.65	19.8		
			31.54	29.7		
菲	1.28	6.14	18.18	9.89	118.47	4.86
			30.24	19.78		
			39.31	29.67		

续表 8

化合物名称	精密度(RSD, n=6)/ %	样品含量/ (ng·mL ⁻¹)	供试液含量/ (ng·mL ⁻¹)	加标量/ (ng·mL ⁻¹)	平均回收率/ %	RSD(n=9)/%
蒽	1.21	0	10.25	9.92	100.96	2.07
			19.79	19.84		
			29.7	29.76		
荧蒽	1.65	4.85	15.76	9.95	108.89	3.68
			27.23	19.9		
			36.06	29.85		
芘	2.60	40.26	51.83	9.75	103.42	13.23
			59.66	19.5		
			67.21	29.25		
苯并[a]蒽	1.63	0	10.73	9.9	106.88	7.89
			22.66	19.8		
			29.05	29.7		
屈	1.53	0	10.39	9.88	104.19	5.31
			21.57	19.76		
			29.12	29.64		
苯并[b]荧蒽	2.54	0	10.98	9.99	105.85	5.71
			21.73	19.98		
			29.64	29.97		
苯并[k]荧蒽	3.01	0	10.12	9.94	99.30	2.70
			19.79	19.88		
			28.78	29.82		
苯并[e]芘	1.63	0	7.26	7.35	92.24	10.32
			11.95	14.7		
			21.31	22.05		
苯并[a]芘	3.44	0	10.84	9.98	103.96	4.75
			20.85	19.96		
			29.58	29.94		
茚并[1,2,4-cd]芘	2.97	0	9.7	9.9	97.86	0.86
			19.53	19.8		
			28.8	29.7		
二苯并[a,h]蒽	3.44	0	10.04	9.94	102.68	6.57
			21.89	19.88		
			28.91	29.82		
苯并[g,h,i]花	2.89	6.53	18.49	9.96	114.11	4.76
			28.94	19.92		
			39.29	29.88		

表 9 胶塞中多环芳烃残留情况
Tab.9 Residue of PAHs of rubber stoppers

分类	化合物	检出批数	最大提取量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	最小提取量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	每日最大摄入量(按每 日 10 瓶计)/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	PDE($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
非明确致 癌多环芳 烃	萘	17	0.0643	0.0037	1.08	50
	萘烯	9	0.0251	0.0006	1.96	50
	萘	15	0.0459	0.0016	3.58	50
	芴	14	0.0412	0.0016	1.05	50
	菲	14	0.298	0.0037	7.6	50
	蒽	7	0.02	0.0012	0.51	50
	荧蒽	14	0.0292	0.002	1.96	50
	芘	15	0.2301	0.0024	15.44	50
	苯并[g,h,i]芘	11	0.0685	0.0011	5.34	50
致癌多环 芳烃	苯并[e]芘	1	0.0004	0.0004	0.03	50
	苯并[a]蒽	6	0.0059	0.0006	0.15	10.55
	屈	5	0.1278	0.0006	3.26	9.1
	苯并[b]荧蒽	3	0.0007	0.0006	0.05	28.47
	苯并[k]荧蒽	1	0.0004	0.0004	0.03	79.1
	苯并[a]芘	3	0.0042	0.0013	0.33	0.27
	茚并[1,2,3-cd]芘	4	0.0113	0.0011	0.88	61.2
	二苯并[a,h]蒽	3	0.0431	0.0006	1.1	8.5

注：非明确致癌性 PAHs 的 PDE 值按照严格的 PQRI 注射剂系统性毒性 QT 值 50 $\mu\text{g}/\text{d}$ 来设定^[5]；致癌性 PAHsPDE 值的计算参照美国环境保护局 U.S.EPA 策略^[5]

3 结语

建立了胶塞中 17 种多环芳烃测定的 GC-MS/MS 方法，采用丙酮/正己烷 ($V_{\text{丙酮}}:V_{\text{正己烷}}=1:1$) 作为提取溶剂，相较于已有文献报道的提取方法，其能更准确地检测出胶塞中残留的高风险致癌性多环芳烃（五环以上）的含量。在提取前加入同位素内标物质 D8-萘、D10-芘、D12-苯并[a]芘，可提高不同多环芳烃的定量准确性。相较于已有文献报道的方法，平行提取 2 份样品再浓缩，可检出更低痕量水平的多环芳烃，能更好地满足致癌性多环芳烃的安全评估。检测 17 批胶塞结果显示，胶塞中存在引入致癌性多环芳烃的风险，胶塞中萘的残留量普遍较高，且不能用溶剂全部萃出，在脂溶性药物中有迁移的风险，已发现萘在脂肪乳类制剂中的迁移量大于胶塞中萘的提取量，存在安全风险。同一胶塞厂家不同胶塞中残留多环芳烃的种类和含量也有较大差异，这应与胶塞的配方工艺相关。

参考文献：

- [1] 国家食品药品监督管理局. 化学药品与弹性体密封件相容性研究技术指导原则（试行）[Z]. 2018: 26—34.
CFDA. Technical Guidelines for Research on the Compatibility of Chemicals and Elastomer Seals (Trial)[Z]. 2018: 26—34.
- [2] 谢忠麟. 多环芳烃与橡胶制品[J]. 橡胶工业, 2011, 58(6): 359—376.
XIE Zhong-lin. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Rubber Products[J]. Rubber Industry, 2011, 58(6): 359—376.
- [3] BOHRER D, VIANA C, BARICHELLO M M, et al. Presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rubber Packaging Materials and in Parenteral Formulations Stored in Bottles With Rubber Stoppers[J]. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 2017, 41: 1037—1044.

- [4] 叶晓霞, 马娟, 金方, 等. 吸入气雾剂多环芳烃浸出物的 GC-MS/MS 测定[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(7): 994—998.
YE Xiao-xia, Ma Juan, JIN Fang, et al. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Extracts from Inhaled Aerosols by GC-MS/MS[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2018, 49(7): 994—998.
- [5] 郝鹏超. “特殊化合物”多环芳烃 (PAHs) 作为胃肠道外给药方式的再评价(二)[J]. 医药包装, 2020, 67(1): 44—56.
HAO Peng-chao. Re-evaluation of "Special Compounds" Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) as Parenteral Administration (2)[J]. Pharmaceutical Packaging, 2020, 67(1): 44—56.
- [6] World Health Organization Regional Office for Europe. Air Quality Guidelines for Europe[M]. Denmark Copenhagen: WHO Regional Publications, 2000: 92—96.
- [7] 王敬, 项佳林, 韩林, 等. 固相萃取-气相色谱-串联质谱法测定蔬菜中 16 种多环芳烃[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7(12): 4878—4885.
WANG Jing, XIANG Jia-lin, HAN Lin, et al. Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Vegetables by Solid Phase Extraction-Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Journal of Food Safety and Quality Inspection, 2016, 7(12): 4878—4885.
- [8] 李志艳, 梅蕾, 张毅兰. 气质联用法测定药用橡胶中挥发性潜在迁移物[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(3): 413—421.
LI Zhi-yan, MEI Lei, ZHANG Yi-lan. Determination of Volatile Potential Migrants in Rubber for Pharmaceutical Use by GC-MS[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2017, 48(3): 413—421.
- [9] 清江, 马明, 周韵. 气相色谱-三重四极杆质谱法测定橡胶类食品接触材料中的多环芳烃[J]. 环境化学, 2014, 33(7): 1243—1246.
QING Jiang, MA Ming, ZHOU Yun. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rubber Food Contact Materials by Gas Chromatography-Triple Quadrupole Mass Spectrometry[J]. Environmental Chemistry, 2014, 33(7): 1243—1246.
- [10] 王宏菊, 刘丽, 李英, 等. 微波萃取-GC/MS 联用法测定橡胶及其制品中多环芳烃[J]. 分析试验室, 2008, 27(9): 62—65.
WANG Hong-ju, LIU Li, LI Ying, et al. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rubber and Its Products by Microwave Extraction-GC/MS Combined Method[J]. Analysis Laboratory, 2008, 27(9): 62—65.
- [11] 刘莉, 李婷婷, 朱碧君, 等. 药用丁基胶塞化学助剂检测及与药物相容性研究进展[J]. 江西化工, 2017(1): 11—14.
LIU Li, LI Ting-ting, ZHU Bi-jun, et al. Detection of Chemical Additives in Butyl Rubber Stopper and Advances in Research and Development on Drug Compatibility[J]. Jiangxi Chemical, 2017(1): 11—14.
- [12] AfPS-GS-2014-01-PAK-EN, Testing and Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the Course of Awarding the GS Mark[S].
- [13] GEISS O, SENALDI C, BIANCHI I, et al. A Fast and Selective Method for the Determination of 8 Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rubber and Plastic Materials[J]. Journal of Chromatography A, 2018, 1566: 13—22.
- [14] SIBEKO M A, ADENIJI A O, OKOH O O, et al. Trends in the Management of Waste Tyres and Recent Experimental Approaches in the Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) from Rubber Crumbs[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27: 43553—43568.
- [15] 马玉楠, 蔡弘, 骆红宇, 等. 《药品与包装相容性理论与实践第1版》[M]. 北京: 化学工业出版社, 2019: 258—285.
MA Yu-nan, CAI Hong, LUO Hong-yu, et al. Theory and Practice Compatibility of Pharmaceutical Products and Packaging First edition[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2019: 258—285.