盐析-顶空气相色谱法测定三层共挤输液袋中油墨残留溶剂在复方电解质葡萄糖注射液中的迁移量

田绍琼，陈　苑，梅　蕾，林黄静，张毅兰*

（医药先进制造国家工程研究中心，上海医药工业研究院药品包装材料科研检验中心，
国家药品监督管理局药包材与药物相容性研究重点实验室，上海 201203）

摘要：建立了盐析 - 顶空气相色谱法测定三层共挤输液袋中油墨残留溶剂丁酮（**2**）、甲基异丁基酮（**3**）和正丁醇（**4**）在复方电解质葡萄糖注射液（**1**）中的迁移量。采用 HP-INNOWAX 色谱柱（60 m×0.32 mm×0.50 μm），氢火焰离子化检测器，柱流速为 1.2 ml/min，进样口温度为 200 ℃，顶空瓶中加入盐析试剂无水硫酸钠 2.5 g。结果显示，**2**、**3** 和 **4** 分别在相应浓度范围内线性关系良好，检测限分别为 0.006、0.002 6、0.012 μg/ml，平均回收率（n=3）分别为 100.9%、104.4%、96.1%，RSD 分别为 4.1%、6.2%、6.2%。建立的方法专属性好、灵敏度高、操作简便，可用于测定 **2**、**3** 和 **4** 在 **1** 中的迁移量。

关键词：盐析；顶空气相色谱法；三层共挤输液袋；油墨残留溶剂

中图分类号：R917　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1001-8255(2022)09-1328-05

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.09.015

Determination of Migration of the Ink Residual Solvents from Three-layer Co-extrusion Infusion Bag in Compound Electrolyte Glucose Injection by Salting Out-headspace Gas Chromatography

TIAN Shaoqiong, CHEN Yuan, MEI Lei, LIN Huangjing, ZHANG Yilan*

(*NMPA Key Lab. for Compatibility Studies of Pharmaceutical Products and Packaging Materials, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry Research and Inspection Center of Pharmaceutical Packaging Center, Niational Advanced Medical Engineering Research Center, Shanghai 201203*)

ABSTRACT: A salting out-headspace gas chromatography method was established for the determination of migration of the ink residual solvents, namely butanone (**2**), methyl isobutyl ketone (**3**) and *n*-butyl alcohol (**4**), from in three-layer co-extrusion infusion bag in compound electrolyte glucose injection (**1**). The HP-INNOWAX column (60 m× 0.32 mm×0.50 μm) and hydrogen flame ionization detector were used, the column flow rate was 1.2 ml/min, and the injection port temperature was 200 ℃. Anhydrous sodium sulfate (2.5 g) as the salting-out agent was added to the headspace vial. The results showed it was linear for **2**, **3** and **4** in the corresponding concentration ranges, the detection limits were 0.006, 0.002 6, 0.012 μg/ml, and the average recoveries (n=3) were 100.9%, 104.4%, 96.1%, with the RSDs of 4.1%, 6.2%, and 6.2%, respectively. The established method has good specificity, high sensitivity and simple operation, which can be used to determine the migration of **2**, **3** and **4** in **1**.

Key Words: salting out; headspace gas chromatography; three-layer co-extrusion infusion bag; ink residual solvent

三层共挤输液袋常用于包装大容量注射液，袋上标识一般采用油墨印刷，而印刷油墨中多含正丁醇等溶剂[1]，这些溶剂可能残留于包装袋上并向内包装溶液迁移[2]。为确保用药安全，油墨残留溶剂

收稿日期：2021-11-17

作者简介：田绍琼(1985—)，女，硕士，从事药品与包装材料相容性研究。

通信作者：张毅兰(1963—)，女，研究员，从事药品包装材料科研检验。

E-mail：zhangyilansh@163.com

在注射液中的迁移是带油墨印刷的三层共挤输液袋和注射液相容性研究的重点。复方电解质葡萄糖注射液（compound electrolyte glucose injection，**1**）采用带油墨印刷的三层共挤输液袋包装，依据该输液袋中油墨残留溶剂种类的鉴别及包装材料生产商提供的产品配方信息，拟定该三层共挤输液袋中油墨残留溶剂关注对象为丁酮（butanone，**2**）、甲基异丁基酮（methyl isobutyl ketone，**3**）和正丁醇（*n*-butyl alcohol，**4**）。**2** 和 **4** 被人用药品技术要求国际协调理事会（ICH）列为具有低潜在毒性的第 3 类溶剂，**3** 被列为应限制的第 2 类溶剂 [3]，均可对人体健康产生不同程度的危害，故需建立测定 **2** ～ **4** 在 **1** 中迁移量的方法并进行安全性评价。

2、**3** 和 **4** 均为极性溶剂，测定极性溶剂在水性基质样品中的含量时，会存在灵敏度偏低的问题，检测灵敏度可能难以达到分析评价阈值要求。目前，对 **1** 中 **2** ～ **4** 的测定研究较为缺乏，有文献报道采用固相微萃取进行富集浓缩后，建立气相色谱法测定丙酮 [4]；以氯化钠为盐析试剂，采用顶空气相色谱法测定乙醇和甲醇 [5—6]；但检测灵敏度均较低。为解决 **1** 中 **2** ～ **4** 测定灵敏度较低的问题，本研究建立了以无水硫酸钠为盐析试剂的盐析 - 顶空气相色谱法测定 **1** 中油墨残留溶剂 **2**、**3** 和 **4** 的迁移量，以期为 **1** 中 **2**、**3** 和 **4** 的迁移研究提供参考。

1 仪器与试药

GC-2010 Plus 型气相色谱仪（配有氢火焰离子检测器）购于日本岛津公司；BSA224S-CW 型电子分析天平（精度 0.1 mg）和 ALC-2100.2 型电子分析天平（精度 0.01 g）均购于德国 Sartorius 公司。

1（企业 A，规格 100 ml，批号 1E20D291、1E20D292、1E20D301）；**2**（含量 >99.5%，批号 20180607）、**3**（含量 >99.5%，批号 20170721）、**4**（含量 >99.5%，批号 20171109）的对照品均购于国药集团化学试剂有限公司；*N*,*N*- 二甲基甲酰胺（DMF，德国 CNW Technologies 公司，色谱纯，批号 N1290144）；氯化钠和无水硫酸钠均为分析纯，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱 HP-INNOWAX 柱（60 m×0.32 mm×0.50 μm）；顶空平衡温度 70 ℃；顶空平衡时间 30 min；载气 高纯氮气；柱流速 1.2 ml/min；进样口温度 200 ℃；分流比 10 ∶ 1；检测器温度 250 ℃；柱温 程序升温，50 ℃保持 2 min，以 10 ℃ /min 速率升至 200 ℃，保持 5 min。

2.2 溶液配制

空白溶液：取无水硫酸钠 2.5 g，置 20 ml 顶空瓶中，精密加入未经三层共挤输液袋包装的 **1** 5 ml，加盖密封，即得。

混合对照品溶液：分别精密称定 **2**、**3** 和 **4** 对照品适量，用 DMF 稀释，配制成 **2**、**3** 和 **4** 质量浓度分别为 0.5、0.2、1.0 mg/ml 的混合对照品溶液 A；精密移取混合对照品溶液 A 适量，用 DMF 稀释，配制成 **2**、**3** 和 **4** 质量浓度分别为 0.025、0.01、0.05 mg/ml 的混合对照品溶液 B。

供试品溶液：取无水硫酸钠 2.5 g，置 20 ml 顶空瓶中，精密加入 **1** 5 ml，加盖密封，即得。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性试验

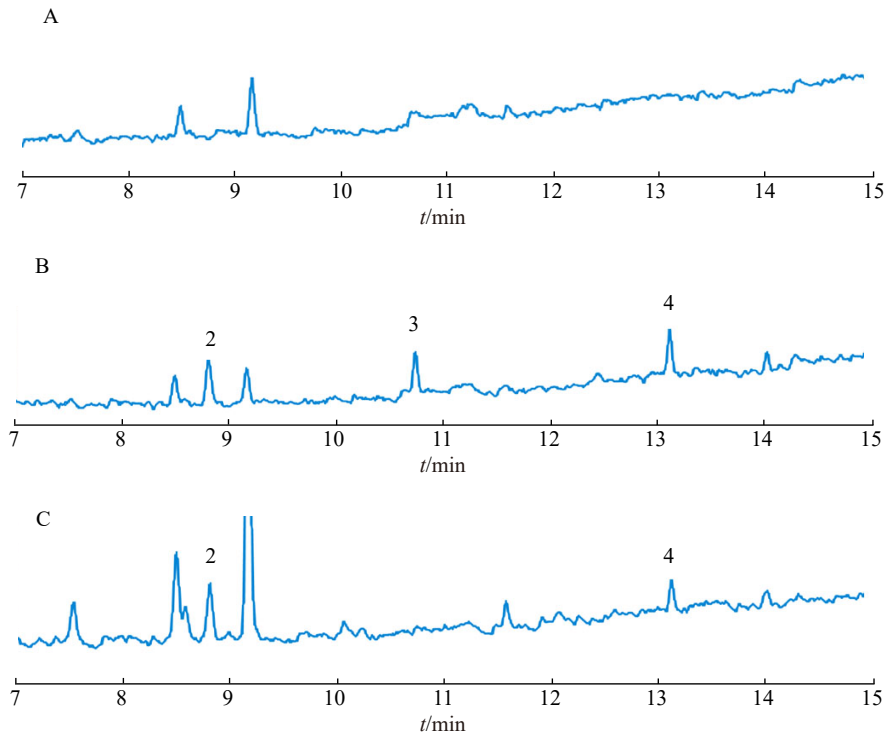
取“**2.2**”项下空白溶液，精密加入“**2.2**”项下混合对照品溶液 B 4 μl，作为混合对照溶液；另取“**2.2**”项下空白溶液和供试品溶液（批号 1E20D291），按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，并记录色谱图。结果见图 1，空白溶液中其他化合物峰对 **2**、**3** 和 **4** 的测定无干扰，**2**、**3** 和 **4** 与相邻色谱峰分离度均大于 1.5，方法专属性良好。

2.3.2 精密度试验

取“**2.2**”项下空白溶液，精密加入“**2.2**”项下混合对照品溶液 B 6 μl，作为精密度试验溶液，平行配制 6 份，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，**2**、**3** 和 **4** 峰面积的 RSD（*n*=6）分别为 1.8%、3.1%、4.3%，说明方法精密度良好。

2.3.3 稳定性试验

取“**2.3.2**”项下精密度试验溶液，分别于 0、2、6、16、24 h 时按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。另取“**2.2**”项下空白溶液，于相同时间点进行测定。结果显示，**2**、**3** 和 **4** 峰面积的 RSD（*n*=5）分别为 3.6%、2.6% 和 7.8%，各时间点的空白溶液不干扰目标物



A：空白溶液，B：混合对照溶液，C：供试品溶液

2－**2**；3－**3**；4－**4**

图 1　典型色谱图

Fig.1　Typical Chromatograms

的测定，说明建立的方法稳定性良好。

2.3.4　线性关系考察

取“**2.2**”项下空白溶液，分别加入“**2.2**”项下混合对照品溶液 A 0.2、0.4、1、2、4 μl，作为系列线性试验溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，以系列线性试验溶液的质量浓度 *c* 为横坐标、峰面积 *A* 为纵坐标，绘制标准曲线。结果显示，**2**、**3** 和 **4** 分别在 0.020 ～ 0.402、0.008 ～ 0.170、0.040 ～ 0.800 μg/ml 内线性关系良好；线性方程分别为 *A*=58 922.480 2*c*+17.028 2、*A*=122 220.081 1*c*+13.605 3、*A*=29 826.870 4*c*+32.417 9；相关系数 *r* 分别为 0.999 8、0.999 7、0.999 7。

2.3.5　回收率试验

取“**2.2**”项下空白溶液，共 9 份，每 3 份为 1 组，各组分别加入“**2.2**”项下混合对照品溶液 B 6、8、10 μl，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果显示，**2**、**3** 和 **4** 的平均回收率（*n*=3）分别为 100.9%、104.4%、96.1%，RSD 分别为 4.1%、6.2%、6.2%。

2.3.6　检测限和定量限

取“**2.2**”项下空白溶液，分别加入“**2.2**”项下混合对照品溶液 B，以信噪比为 3 ∶ 1 时的供试液质量浓度为检测限，以信噪比为 10 ∶ 1 时的供试液质量浓度为定量限。结果显示，**2**、**3** 和 **4** 的检测限分别为 0.006、0.002 6、0.012 μg/ml，定量限分别为 0.02、0.008 5、0.04 μg/ml。

2.4　样品测定

取带油墨印刷的三层共挤输液袋包装的 **1** 加速稳定性样品，按“**2.2**”项下方法制备供试品溶液，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定，结果见表 1。

3　讨论

3.1　盐析试剂的选择

2、**3** 和 **4** 均为极性溶剂，采用顶空 - 气相色谱法直接检测其在 **1** 中的迁移量时，灵敏度较低，然而向顶空样品瓶中加入无机盐可改变挥发性组分的

分配系数。本研究依据该原理，考察了不同质量浓度的氯化钠和无水硫酸钠对目标溶剂响应值的影响。取 20 ml 顶空瓶，分别加入如表 2 所示的氯化钠和无水硫酸钠，精密加入未经三层共挤输液袋包装的 **1** 5 ml，加盖密封，加入 **2**、**3**、**4** 质量浓度均为 5 mg/ml 的混合对照品溶液 1 μl，按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果见表 2，顶空样品瓶中加入氯化钠和无水硫酸钠后，目标溶剂峰面积明显增大，且无水硫酸钠的影响更显著。当无水硫酸钠的加入量 >2.5 g 时，目标溶剂峰响应值不再随无水硫酸钠加入量的增加而增强，故本研究选择加入无水硫酸钠 2.5 g 作为盐析试剂，与未加盐析试剂相比，可分别提高 **2**、**3** 和 **4** 响应值约 8、6 和 11 倍，有效提高了检测灵敏度。

3.2 顶空条件的选择

顶空平衡温度和时间会影响挥发性组分的响应及稳定性，本研究依据目标溶剂和样品基质的沸点，考察了平衡温度分别为 70 和 80 ℃，平衡时间分别为 10、20、30、40 min 时目标溶剂的响应。取“**2.3.2**”项下精密度试验溶液，除平衡温度和平衡时间，其余按“**2.1**”项下色谱条件进样测定。结果表明，相同平衡温度（70 ℃）下，目标溶剂峰在加热时间不小于 20 min 时，响应达峰值并保持恒定，为保证目标溶剂峰挥发完全平衡，选择顶空平衡时间为 30 min。顶空加热温度为 70 和 80 ℃时（顶空平衡时间为 30 min），除 **4** 响应略强，其他溶剂响应基本一致，而 70 ℃时各目标溶剂响应的稳定性更好，故平衡温度选择 70 ℃。

3.3 安全性评价

大鼠腹膜注射 **2** 时的半数致死量（LD_{50}）为 607 mg/kg[7]，参考欧洲药品管理局（EMA）指导原则由 LD_{50} 计算无明显作用剂量（NOEL：NOEL=LD_{50}×70/2 000），计算得 **2** 的 NOEL 为 21.24 mg/kg。根据 ICH 指导原则由 NOEL 计算每日允许暴露量［PDE：PDE=NOEL× 体质量 /（F1×F2×F3×F4×F5），体质量以 50 kg 计；由大鼠外推到人，F1=5；**2** 为有机溶剂，F2=10；短期研究，F3=10；未观察到严重毒性，F4=1；不发生反应的量已测得，F5=1］，计算得 **2** 的 PDE 为 2.12 mg。**1** 的最大日剂量为 2 500 ml，**2** 的迁移量 <0.020 μg/ml，每天最大摄入量 <50 μg，远小于 PDE 值。

同理，**4** 的大鼠静脉注射 LD_{50} 为 310 mg/kg[8]，计算得 NOEL 为 10.85 mg/kg，PDE 为 1.09 mg，**1** 中 **4** 的迁移量 <0.040 μg/ml，每天最大摄入量 <

表 1　1 样品的测定结果 /μg·ml^{-1}

Tab.1　Determination Results of **1** Samples/μg·ml^{-1}

化合物	**1** 批号	加速 0 个月	加速 3 个月	加速 6 个月
2	1E20D291	0.006<迁移量<0.02	<0.006	<0.006
	1E20D292	0.006<迁移量<0.02	<0.006	<0.006
	1E20D301	0.006<迁移量<0.02	<0.006	<0.006
3	1E20D291	未检出	未检出	未检出
	1E20D292	未检出	未检出	未检出
	1E20D301	未检出	未检出	未检出
4	1E20D291	<0.012	<0.012	0.012<迁移量<0.04
	1E20D292	0.012<迁移量<0.04	0.012<迁移量<0.04	0.012<迁移量<0.04
	1E20D301	0.012<迁移量<0.04	0.012<迁移量<0.04	0.012<迁移量<0.04

表 2　不同盐析试剂对目标溶剂峰面积的影响

Tab.2　Effects of Different Salting-out Agents on Target Solvent Peaks

化合物	未加盐析试剂	氯化钠/g			无水硫酸钠/g			
		1.0	2.0	3.0	1.0	2.0	2.5	3.0
2	7 117	16 027	26 181	26 220	23 810	55 872	59 641	59 757
3	22 844	59 663	94 051	94 961	78 948	130 551	136 795	136 869
4	2 204	5 930	11 145	11 049	8 097	22 941	25 035	25 110

100 μg，远小于 PDE 值。

根据 ICH 残留溶剂的指导原则，**3** 的 PDE 为 4 mg，样品中 **3** 未检出，以检测限为最大可能摄入量计算得 **3** 最大摄入量 <6.5 μg，也不超过 PDE 值。

参考文献：

[1] 郭蕾蕾, 李　莹, 李海山, 等. 顶空-气相色谱-质谱联用法同时测定紫外光固化胶印油墨中27种溶剂残留[J]. 色谱, 2018, **12**(36): 1342-1348.

[2] 许亚宁, 王建清, 王玉峰, 等. 油墨溶剂在食品软包装中的残留及迁移规律[J]. 包装工程, 2016, **10**(37): 97-103.

[3] ICH. Q3C(R8), Impurities: guideline for residual solvents [EB/OL]. [2021-11-01]. https://www. gmp-compliance. org/guidelines/gmp-guideline/ich-q3cr8-impurities-guideline-for-residual-solvents.

[4] ILIPRONTI T, CAMPOS S D, MULLER C C. SPME fiber coated by arrayed ZNRs for sampling and concentration of polar residual solvents for further analysis using GC FID [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2019, **174**: 644-649.

[5] 周燕琴. 顶空气相色谱法测定工业废水中乙醇和异丙醇研究[J]. 环境科学与管理, 2015, **40**(9): 154-156.

[6] 侯善华, 姜晓辉, 丁　杨, 等. 顶空-气相色谱法测定墨水中的甲醇[J]. 广东化工, 2016, **16**(43): 180-181.

[7] LUNDBERG I, EKDAHL M, KRONEVI T, *et al*. Relative hepatotoxicity of some industrial solvents after intraperitoneal injection or inhalation exposure in rats [J]. *Environ Res*, 1986, **40**(2): 411-420.

[8] WANG G, BAI N. Structure-activity relationships for rat and mouse LD_{50} of miscellaneous alcohols [J]. *Chemosphere*, 1998, **36**(7): 1475-1483.