

ICS XX.XXX

CCS X XX

# 团 体 标 准

T/CNPPA XXXX—202X

## 药品包装用橡胶密封件中 *N*-亚硝胺 含量的测定

(征求意见稿)

Determination of *N*-nitrosamine content in rubber seals for pharmaceutical packaging

202X-XX-XX 发布

202X-XX-XX 实施

中国医药包装协会 发布

## 目 次

前言 .....	II
1 范围 .....	1
2 规范性引用文件 .....	1
3 术语和定义 .....	1
4 概述 .....	1
5 试剂和材料 .....	2
6 仪器设备 .....	2
7 样品制备 .....	2
8 测定 .....	3
9 结果计算 .....	3
附录 A（资料性附录） 本文件检测的12种N-亚硝胺 .....	5
附录 B（资料性附录） 12种N-亚硝胺和内标物GC-MS/MS测定的离子对和碰撞能量 .....	6
附录 C（资料性附录） 12种N-亚硝胺和内标物的SRM色谱图示例 .....	7



## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国医药包装协会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：



# 药品包装用橡胶密封件中*N*-亚硝胺含量的测定

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题，使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

## 1 范围

本文件描述了药品包装用橡胶密封件中*N*-亚硝胺含量测定的气相色谱-串联质谱联用法。

本文件适用于药品包装用橡胶密封件，包括（卤化）丁基橡胶密封件、聚异戊二烯橡胶密封件、硅橡胶密封件、乙丙橡胶密封件。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

中华人民共和国药典（2020年版）四部

## 3 术语和定义

本文件无需要界定的术语和定义。

## 4 概述

*N*-亚硝胺属于强致癌有机化合物，药品包装用橡胶密封件中的*N*-亚硝胺主要产生于高温硫化成型过程。在特定使用环境下，橡胶密封件中含有的*N*-亚硝胺可能释放出来，进而影响药品的安全有效。

为测定药品包装用橡胶密封件中*N*-亚硝胺的含量，本文件采用丙酮为浸提介质，对样品中的*N*-亚硝胺进行水浴超声浸提，并采用气相色谱-串联质谱联用法（GC-MS/MS）对浸提液中的*N*-亚硝胺进行测定，内标法定量。

经验证后，也可采用其他方法进行测定。

**注：***N*-亚硝胺类物质易被紫外线分解，样品浸提液、样品供试液、标准物质、标准工作溶液及内标溶液等须避光，以避

免其暴露于日光或荧光灯下。

## 5 试剂和材料

5.1 丙酮，色谱纯。

5.2 12种 *N*-亚硝胺混合标准溶液，12种 *N*-亚硝胺的具体信息见附录 A。

5.3 内标物：*N*-亚硝基二异丙胺 (*N*-Nitroso-di-iso-propylamine, CAS 号 601-77-4)；经验证后，也可选用其他化合物作为内标物。

5.4 内标溶液：用丙酮将内标物 (5.3) 配制质量浓度为 20 ng/mL 的内标溶液，于 -20 °C 下避光保存。

5.5 标准工作溶液：用内标溶液 (5.4) 对 12 种 *N*-亚硝胺混合标准溶液 (5.3) 进行稀释，配制成内标物浓度均为 20 ng/mL、各目标物浓度范围在 0.6~200 ng/mL 的系列标准工作溶液。

**注：***N*-亚硝基吡咯烷的推荐线性范围为 2~50 ng/mL，*N*-亚硝基二苄基胺的推荐线性范围为 5~200 ng/mL，其他 10 种目标物的推荐线性范围为 0.6~20 ng/mL。上述系列标准工作溶液中须确保各目标物应至少包含 5 个浓度点。

## 6 仪器设备

6.1 气相色谱-三重四级杆串联质谱联用仪。

6.2 恒温超声波清洗机。

6.3 分析天平 (精度：0.1 mg)。

## 7 样品制备

### 7.1 样品供试液的制备

取样品，剪成粒径约 3 mm 的颗粒，按照 2 mL/g 的比例加入内标溶液 (5.4)，于 (40±2) °C 水浴中超声浸提 60 min，取出后放冷至室温，得样品浸提液。样品浸提液经 0.22 μm 有机滤膜过滤或采用其他净化方式处理后，即得样品供试液。

**注：**若样品浸提液经净化处理，应保证目标物具有良好的回收率，回收率限度要求可参见《中华人民共和国药典》(2020 年版) 四部 9101 分析方法验证指导原则。

### 7.2 空白对照液的制备

照样品供试液，同法制备空白对照液。

## 8 测定

### 8.1 气相色谱-串联质谱联用仪参考工作条件

- a) 毛细管色谱柱：HP-FFAP（30 m×250 μm，0.25 μm）或等效色谱柱；
- b) 进样口温度：270 °C；
- c) 进样量：1 μL，不分流进样；
- d) 载气：氦气，1.5 mL/min；
- e) 柱温：40 °C保持 2 min，以 8 °C/min 升温至 140 °C，保持 5 min，再以 50 °C/min 升温至 240 °C，保持 10 min；
- f) 传输线温度：240 °C；
- g) 离子源类型：EI 源；
- h) 离子源温度：300 °C；
- i) 溶剂延迟：3.5 min；
- j) 扫描模式：选择反应监测（SRM）模式，推荐的监测离子对及碰撞能量设定见附录 B。

**注 1：**12 种 *N*-亚硝胺和内标物的 SRM 色谱图示例见附录 C。

**注 2：**上述气相色谱-串联质谱联用仪工作条件仅为推荐选择的参考条件，考虑到所用仪器和色谱柱的差异，测试中可对上述条件进行适当调整，所用仪器工作条件应进行方法学验证，方法学验证中的各项限度要求可参见《中华人民共和国药典》（2020 年版）四部 9101 分析方法验证指导原则。

### 8.2 样品分析

取标准工作溶液、空白对照液和样品供试液进样分析，采用内标法进行定量。

## 9 结果计算

以每种 *N*-亚硝胺的浓度为横坐标，以 *N*-亚硝胺与内标物的相对响应比为纵坐标，建立标准工作曲线及回归方程，计算样品供试液中 *N*-亚硝胺的质量浓度，单位为 ng/mL。

样品中每种 *N*-亚硝胺含量和 *N*-亚硝胺总量分别按式（1）、式（2）计算：

$$X_i = \frac{\rho_i \times V}{m} \times 10^{-3} \quad (1)$$

$$X_{\text{总量}} = \sum X_i \quad (2)$$

式中：

$X_i$  ——样品中每种 *N*-亚硝胺的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$\rho_i$  ——样品供试液中每种 *N*-亚硝胺的质量浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

$V$  ——样品供试液的体积，单位为毫升（mL）；

$m$  ——样品的质量，单位为克（g）；

$X_{\text{总量}}$  ——样品中  $N$ -亚硝胺的总量，单位为毫克每千克（mg/kg）。



## 附录 A

(资料性附录)

本文件检测的 12 种 *N*-亚硝胺本文件检测的 12 种 *N*-亚硝胺具体信息见表 A.1。表 A.1 本文件检测的 12 种 *N*-亚硝胺

序号	化合物中文名称	英文名称	CAS 号	分子式
1	<i>N</i> -亚硝基二甲胺	<i>N</i> -Nitroso-dimethylamine	62-75-9	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O
2	<i>N</i> -亚硝基甲基乙基胺	<i>N</i> -Nitroso-methylethylamine	10595-95-6	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O
3	<i>N</i> -亚硝基二乙胺	<i>N</i> -Nitroso-diethylamine	55-18-5	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O
4	<i>N</i> -亚硝基二丙胺	<i>N</i> -Nitroso-di-n-propylamine	621-64-7	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O
5	<i>N</i> -亚硝基二丁胺	<i>N</i> -Nitroso-di-n-butylamine	924-16-3	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O
6	<i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -甲基苯胺	<i>N</i> -Nitroso- <i>N</i> -methylaniline	614-00-6	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O
7	<i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -乙基苯胺	<i>N</i> -Nitroso- <i>N</i> -ethylaniline	612-64-6	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O
8	<i>N</i> -亚硝基哌啶	<i>N</i> -Nitroso-piperidine	100-75-4	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O
9	<i>N</i> -亚硝基吡咯烷	<i>N</i> -Nitroso-pyrrolidine	930-55-2	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O
10	<i>N</i> -亚硝基吗啉	<i>N</i> -Nitroso-morpholine	59-89-2	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
11	<i>N</i> -亚硝基二苯胺	<i>N</i> -Nitroso-diphenylamine	86-30-6	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> N <sub>2</sub> O
12	<i>N</i> -亚硝基二苄基胺	<i>N</i> -Nitroso-dibenzylamine	5336-53-8	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O

附录 B  
(资料性附录)

12 种 *N*-亚硝胺和内标物 GC-MS/MS 测定的离子对和碰撞能量

12 种 *N*-亚硝胺和内标物 GC-MS/MS 测定的离子对和碰撞能量见表 B.1。

表 B.1 12 种 *N*-亚硝胺和内标物 GC-MS/MS 测定的离子对和碰撞能量 (推荐选择)

序号	化合物中文名称	定量离子对 (m/z)	定量离子对碰 撞能量(eV)	定性离子对 (m/z)	定性离子对碰 撞能量(eV)
1	<i>N</i> -亚硝基二甲胺	74.1→44.1	5	74.1→42	15
2	<i>N</i> -亚硝基甲基乙基胺	88.1→71	5	88.1→43.1	5
3	<i>N</i> -亚硝基二乙胺	102.1→85.1	5	102.1→29.1	10
4	<i>N</i> -亚硝基二丙胺	130.1→113.1	5	130.1→43	10
5	<i>N</i> -亚硝基二丁胺	116.1→99.1	5	116.1→74	10
6	<i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -甲基苯胺	107.1→106.1	10	107.1→77	25
7	<i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -乙基苯胺	121.1→106.1	10	121.1→77	30
8	<i>N</i> -亚硝基吡啶	114.1→84.1	5	114.1→97.1	5
9	<i>N</i> -亚硝基吡咯烷	100.1→55.1	5	100.1→43	10
10	<i>N</i> -亚硝基吗啉	116.1→86	5	116.1→56.1	10
11	<i>N</i> -亚硝基二苯胺	169.1→168.1	10	169.1→167.1	25
12	<i>N</i> -亚硝基二苄基胺	91.1→65	15	91.1→39.1	30
内标物	<i>N</i> -亚硝基二异丙胺	130.1→88.1	5	130.1→42.1	10

附录 C  
(资料性附录)

12 种 *N*-亚硝胺和内标物的 SRM 色谱图示例

在本文件 7.1 部分所列的气相色谱-串联质谱联用仪参考工作条件下, 12 种 *N*-亚硝胺和内标物的 SRM 色谱图示例见图 C.1。

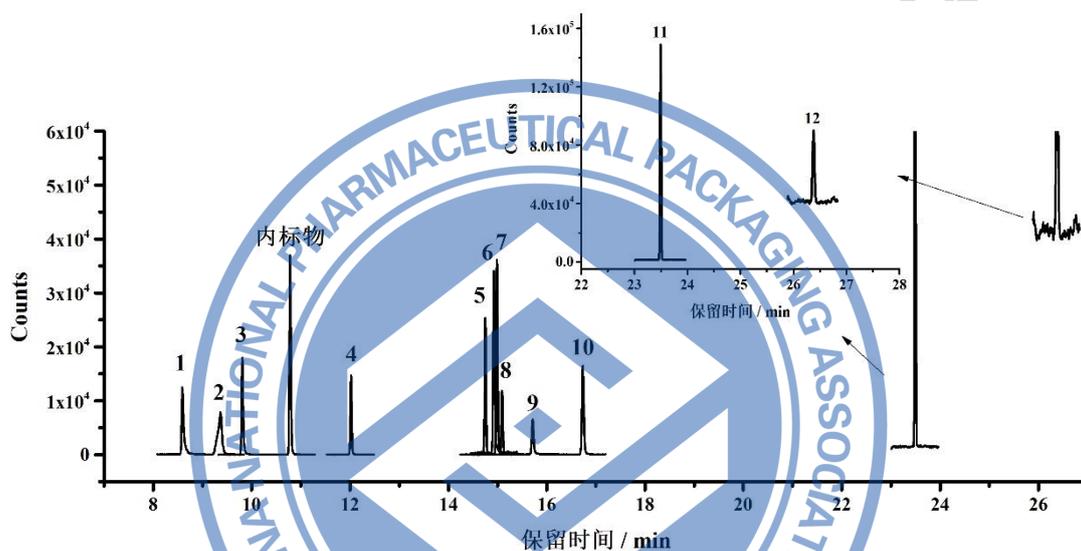


图 C.1 12 种 *N*-亚硝胺和内标物的 SRM 色谱图示例

标引序号说明:

- |                                    |                          |
|------------------------------------|--------------------------|
| 1—— <i>N</i> -亚硝基二甲胺;              | 8—— <i>N</i> -亚硝基哌啶;     |
| 2—— <i>N</i> -亚硝基甲基乙基胺;            | 9—— <i>N</i> -亚硝基吡咯烷;    |
| 3—— <i>N</i> -亚硝基二乙胺;              | 10—— <i>N</i> -亚硝基吗啉;    |
| 4—— <i>N</i> -亚硝基二丙胺;              | 11—— <i>N</i> -亚硝基二苯胺;   |
| 5—— <i>N</i> -亚硝基二丁胺;              | 12—— <i>N</i> -亚硝基二苄基胺;  |
| 6—— <i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -甲基苯胺; | 内标物—— <i>N</i> -亚硝基二异丙胺。 |
| 7—— <i>N</i> -亚硝基- <i>N</i> -乙基苯胺; |                          |