

中图分类号: R917; R927.1 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)08-0088-04
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.08.021



电感耦合等离子体质谱法测定注射用芝麻油中 10 种无机元素含量*

黄 华¹, 郑 明¹, 何志刚², 程 闯^{1△}

(1. 浙江省衢州市食品药品检验研究院, 浙江 衢州 324000; 2. 浙江龙游聚兴医药科技有限公司, 浙江 衢州 324400)

摘要:目的 建立测定注射用芝麻油中 10 种无机元素含量的电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法。方法 采用微波消解法前处理样品, 采用 ICP-MS 内标标准曲线法检测各元素含量, 射频功率为 1 500 W, 雾化室温度为 2 ℃, 采用氦碰撞模式, 载气(氩气)流速为 0.8 L/min。结果 铅、镉、砷、汞、钴、钒、镍、锂、锑、铜质量浓度分别在 1.25~12.5 ng/mL、0.50~5.0 ng/mL、4.00~40.0 ng/mL、0.75~7.5 ng/mL、1.25~12.5 ng/mL、2.50~25.0 ng/mL、5.00~50.0 ng/mL、62.50~625.0 ng/mL、22.50~225.0 ng/mL、75.00~750.0 ng/mL 范围内与各元素和内标仪器响应值比值线性关系良好($r > 0.990 0$), 检测限为 0.000 2~0.042 0 μg/g, 定量限为 0.075~7.5 μg/g; 精密度、重复性试验结果的 RSD 均小于 10%; 平均加样回收率为 78.64%~110.39%, RSD 为 1.40%~6.41% ($n = 9$)。结论 所建立的方法灵敏, 结果准确可靠, 可用于注射用芝麻油中 10 种无机元素含量的测定。

关键词: 电感耦合等离子体质谱法; 注射用芝麻油; 无机元素; 含量测定

Determination of 10 Inorganic Elements in Sesame Oil for Injection by Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry

HUANG Hua¹, ZHENG Ming¹, HE Zhigang², CHENG Chuang¹

(1. Quzhou Institute for Food and Drug Control, Quzhou, Zhejiang, China 324000; 2. Zhejiang Longyou Juxing Pharmaceutical Technology Co., Ltd., Quzhou, Zhejiang, China 324400)

Abstract: Objective To establish the inductively coupled plasma - mass spectrometry (ICP - MS) method for determining the contents of 10 inorganic elements in Sesame Oil for Injection. **Methods** The samples were pretreated by the microwave digestion method, and the contents of inorganic elements were detected by the ICP - MS internal standard curve method. The radio frequency power was 1 500 W, the nebulizer temperature was 2 ℃, the helium collision mode was adopted, and the carrier gas (argon) flow rate was 0.8 L/min. **Results** The linear ranges of lead, cadmium, arsenic, mercury, cobalt, vanadium, nickel, lithium, antimony and copper were 1.25 - 12.5 ng/mL, 0.50 - 5.0 ng/mL, 4.00 - 40.0 ng/mL, 0.75 - 7.5 ng/mL, 1.25 - 12.5 ng/mL, 2.50 - 25.0 ng/mL, 5.00 - 50.0 ng/mL, 62.50 - 625.0 ng/mL, 22.50 - 225.0 ng/mL, 75.00 - 750.0 ng/mL respectively ($r > 0.990 0$). The limit of detection (LOD) was in the range of 0.000 2 to 0.042 0 μg/g, and the limit of quantitation (LOQ) was in the range of 0.075 to 7.5 μg/g. The RSDs of precision and repeatability tests were lower than 10%. The average recovery rates of the above 10 inorganic elements were in the range of 78.64% to 110.39%, with the RSDs of 1.40% to 6.41% ($n = 9$). **Conclusion** The established method is sensitive, accurate and reliable, which can be used for the determination of 10 inorganic elements in Sesame Oil for Injection.

Key words: inductively coupled plasma - mass spectrometry; Sesame Oil for Injection; inorganic element; content determination

注射用芝麻油为药用辅料, 主要作为生产注射液的制药溶剂, 用量较大。其由芝麻油通过碱炼、水洗、脱色、脱臭等精制过程除去系列杂质得到。生产过程中, 原料、辅料、生产设备等均可能引入元素杂质, 诱导药物降解, 并存在潜在毒性^[1], 故需控制其残留量, 并评估产品风险^[2-6]。由于我国审评审批制度改革中药用辅料关联审评制度的实行及药物注射剂审评审批有关要求更加严格, 应对注射剂所用辅料建立完善的质量保证体系, 并在元素杂质等方面建立严格的控制措施和标准。基于此, 本研究中参照人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)Q3D元素杂质指导原则^[7-8], 结合注射用

芝麻油的生产工艺及给药途径, 确定需对其中 1 类[铅(Pb)、镉(Cd)、砷(As)、汞(Hg)]、2A 类[钴(Co)、钒(V)、镍(Ni)]和 3 类[锂(Li)、锑(Sb)、铜(Cu)]元素进行风险评估和控制, 并参考文献[9-15], 建立了电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)法测定注射用芝麻油中无机元素的含量, 为评估和控制其中的无机元素提供数据支持。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

7900 型 ICP-MS 仪(美国 Agilent 公司); XP205 型电子天平(瑞士 Mettler Toledo 公司, 精度为 0.01 mg);

*基金项目: 浙江省药品监管系统科技计划项目[2023022]。

第一作者: 黄华, 女, 大学本科, 主任药师, 研究方向为药物检测与质量标准, (电子信箱)43719437@qq.com。

△通信作者: 程闯, 男, 大学本科, 副主任药师, 研究方向为药物检测与质量标准, (电子信箱)86847348@qq.com。

Elix Essential 5型超纯水机(法国 Millipore 公司);Multi-wave Pro 微波消解仪(奥地利 Anton Paar 公司)。

1.2 试药

注射用芝麻油(浙江龙游聚兴医药科技有限公司,批号分别为 20190901, 20210401, 20210701)。Pb, Cd, Co, V, Ni, Li, Sb, Cu 单元素标准溶液(国家有色金属及电子材料分析测试中心,质量浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$);As 单元素标准溶液(上海安谱实验科技股份有限公司,质量浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$);金(Au)单元素标准溶液(美国 AccuStandard 公司,质量浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$);Hg 单元素标准溶液(质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$),内标溶液[Li、钪(Sc)、锗(Ge)、铟(In)、铋(Bi)等,质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$],均购于美国 Agilent 公司;硝酸、盐酸均为优级纯,水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

射频功率:1 500 W;雾化室温度:2 $^{\circ}\text{C}$;等离子气流速:15.0 L/min;辅助气流速:0.8 L/min;载气(氩气)流速:0.8 L/min;氦碰撞模式(流速:3.0 mL/min)。

2.2 溶液制备

混合元素标准系列溶液:分别精密量取上述 10 种待测元素标准溶液各适量,用 5% 硝酸溶液稀释,制成每 1 mL 中分别含 Pb, Cd, As, Hg, Co, V, Ni, Li, Sb, Cu 0.25, 0.1, 0.8, 0.15, 0.25, 0.5, 1, 12.5, 4.5, 15 μg 的混合元素标准贮备液(含 5% 盐酸溶液);精密量取 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 2.5 mL, 加入 Au 单元素标准溶液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)0.2 mL, 置 50 mL 容量瓶中,用 5% 硝酸溶液定容,即得(见表 1)。

表 1 混合元素标准系列溶液(ng/mL)

Tab. 1 Standard series solution of mixed elements (ng / mL)											
待测元素	1	2	3	4	5	待测元素	1	2	3	4	5
Pb	1.25	2.5	5	10	12.5	V	2.50	5	10	20	25.0
Cd	0.50	1.0	2	4	5.0	Ni	5.00	10	20	40	50.0
As	4.00	8.0	16	32	40.0	Li	62.50	125	250	500	625.0
Hg	0.75	1.5	3	6	7.5	Sb	22.50	45	90	180	225.0
Co	1.25	2.5	5	10	12.5	Cu	75.00	150	300	600	750.0

内标溶液:精密量取 1.2 项下内标溶液适量,用 5% 硝酸溶液稀释,制成质量浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液。

供试品溶液及空白溶液:取样品 0.5 g,精密称定,置聚四氟乙烯消解管中,加硝酸 4 mL,120 $^{\circ}\text{C}$ 预消解 30 min,放置过夜,加过氧化氢溶液 1 mL,混匀,密闭,置微波消解仪中,程序升温消解(消解程序见表 2);消解完成后,冷却至室温,将溶液定量转移至 50 mL 容量瓶中,用少量水洗涤 3 次,合并洗涤液至容量瓶中,再加入 Au 单元素标准溶液(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)0.2 mL,用水定容,摇匀,即得。

表 2 微波消解程序

Tab. 2 Procedure of microwave digestion			
起始温度($^{\circ}\text{C}$)	升温时间(min)	结束温度($^{\circ}\text{C}$)	保持时间(min)
室温	8	130	8
130	8	165	8
165	15	185	35

不取样品,同法制备空白溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验:取混合元素标准系列溶液(编号 3),按 2.1 项下试验条件进样测定,共 4 次,计算信号漂移值。结果 10 种待测元素的漂移值为 0.91%~10.62%,均未超过 15%,符合要求。

专属性试验:取稀释液(5% 硝酸溶液)、空白溶液和混合元素标准系列溶液(编号 1)各适量,分别按 2.1 项下试验条件进样测定,结果稀释液和空白溶液中各元素的仪器响应值均较低,且远小于定量限溶液,说明稀释液和空白溶液对测定影响小,专属性良好。

线性关系考察:取稀释液(5% 硝酸溶液)和 2.2 项下混合元素标准系列溶液各适量,按 2.1 项下试验条件依次进样测定,采用内标标准曲线法,以各元素与内标仪器响应值比值(Y)为纵坐标、待测元素质量浓度(X , ng/mL)为横坐标进行线性回归。结果见表 3。

表 3 线性关系及检测限考察结果

Tab. 3 Results of the linear relation test and LOD investigation				
待测元素	回归方程	r	线性范围(ng/mL)	检测限($\mu\text{g}/\text{g}$)
Pb	$Y_1 = 6.387 \times 10^{-3} X_1 + 2.941 \times 10^{-2}$	0.990 6	1.25~12.5	0.000 2
Cd	$Y_2 = 3.767 \times 10^{-3} X_2 + 1.372 \times 10^{-4}$	0.999 9	0.50~5.0	0.006 0
As	$Y_3 = 6.075 \times 10^{-3} X_3 + 2.250 \times 10^{-4}$	0.999 9	4.0~40.0	0.001 5
Hg	$Y_4 = 1.318 \times 10^{-3} X_4 + 1.265 \times 10^{-5}$	0.999 9	0.75~7.5	0.010 0
Co	$Y_5 = 8.798 \times 10^{-3} X_5 + 9.543 \times 10^{-4}$	0.999 9	1.25~12.5	0.000 3
V	$Y_6 = 3.015 \times 10^{-3} X_6 + 3.136 \times 10^{-4}$	1.000 0	2.50~25.0	0.005 0
Ni	$Y_7 = 2.358 \times 10^{-3} X_7 + 1.622 \times 10^{-2}$	0.999 9	5.0~50.0	0.013 0
Li	$Y_8 = 1.496 \times 10^{-3} X_8 + 1.250 \times 10^{-1}$	0.996 4	62.50~625.0	0.026 3
Sb	$Y_9 = 3.975 \times 10^{-3} X_9 + 1.795 \times 10^{-4}$	1.000 0	22.50~225.0	0.042 0
Cu	$Y_{10} = 6.199 \times 10^{-3} X_{10} + 1.151$	0.999 9	75.0~750.0	0.007 0

检测限考察:取 2.2 项下空白溶液适量,按 2.1 项下试验条件连续进样测定 11 次,以空白溶液仪器响应值的 3 倍标准偏差对应质量浓度为检测限,结果见表 3。

定量限考察:取混合元素标准系列溶液(编号 1)适量,共 3 份,按 2.1 项下试验条件进样测定,计算各待测元素的质量浓度和加标回收率,结果 Pb, Cd, As, Hg, Co, V, Ni, Li, Sb, Cu 的定量限分别为 0.125, 0.05, 0.4, 0.075, 0.125, 0.25, 0.5, 6.25, 2.25, 7.5 $\mu\text{g}/\text{g}$,加标回收率为 75.1%~108.0%,表明各元素定量限测定结果符合准确度和精密度的要求。

重复性试验:取样品(批号为20190901)0.5 g,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,加混合元素标准贮备液1.0 mL,平行6份,按2.1项下试验条件进样测定。结果各元素含量的RSD为1.53%~2.28%(n=6),表明方法重复性良好。

中间精密度试验:由另一分析人员在不同时间,按重复性方法进行试验,共测定12次。结果各元素含量的RSD为2.28%~9.74%(n=12),表明方法的中间精密

度良好。

加样回收试验:取样品(批号为20190901)0.5 g,精密称定,按2.2项下方法制备供试品溶液,各9份,按限度浓度的80%,100%,120%加入各待测元素标准溶液,计算各元素与内标仪器响应值比值,并计算加样回收率。结果见表4。

2.4 样品中10种无机元素含量测定

取3批样品各适量,按2.2项下方法制备供试品溶

表4 加样回收试验结果(n=9)
Tab.4 Results of the recovery test (n=9)

待测元素	样品含量(ng)	加入量(ng)	测得量(ng)	回收率(%)	$\bar{X}(\%)$	RSD(%)	待测元素	样品含量(ng)	加入量(ng)	测得量(ng)	回收率(%)	$\bar{X}(\%)$	RSD(%)
Pb		200	160.60	80.30	83.10	2.57	Co	13.15	200	173.30	80.08	78.64	1.40
		200	161.35	80.68				13.18	200	171.30	79.06		
		200	161.45	80.73				13.08	200	171.45	79.19		
		250	210.40	84.16				13.08	250	209.25	78.47		
		250	205.40	82.16				13.03	250	208.60	78.23		
		250	214.20	85.68				13.13	250	213.60	80.19		
		300	252.60	84.20				13.16	300	243.60	76.81		
		300	255.35	85.12				13.13	300	247.05	77.97		
		300	254.55	84.85				13.03	300	246.25	77.74		
Cd		80	64.80	81.00	80.46	2.90	V		400	355.25	88.81	87.00	2.34
		80	64.55	80.69					400	358.40	89.60		
		80	65.20	81.50					400	359.70	89.93		
		100	82.60	82.60					500	431.30	86.26		
		100	81.70	81.70					500	424.55	84.91		
		100	83.75	83.75					500	434.45	86.89		
		120	92.05	76.71					600	504.85	84.14		
		120	93.55	77.96					600	519.25	86.54		
		120	93.90	78.25					600	515.50	85.92		
As		640	712.70	111.36	110.39	3.21	Ni		800	706.80	88.35	86.67	5.20
		640	706.65	110.41					800	709.60	88.70		
		640	709.80	110.91					800	708.10	88.51		
		800	919.40	114.93					1 000	909.00	90.90		
		800	903.35	112.92					1 000	890.40	89.04		
		800	916.15	114.52					1 000	918.75	91.88		
		960	1 010.40	105.25					1 200	961.50	80.13		
		960	1 026.95	106.97					1 200	978.90	81.58		
		960	1 020.15	106.27					1 200	971.20	80.93		
Hg		120	105.10	87.58	87.15	2.25	Li		10 000	10 401.40	104.01	103.23	5.61
		120	105.60	88.00					10 000	11 523.00	115.23		
		120	106.10	88.42					10 000	10 542.15	105.42		
		150	134.45	89.63					12 500	12 703.60	101.63		
		150	131.20	87.47					12 500	12 327.20	98.62		
		150	133.20	88.80					12 500	12 440.95	99.53		
		180	150.35	83.53					15 000	16 134.30	107.56		
		180	154.65	85.92					15 000	15 234.70	101.56		
		180	153.05	85.03					15 000	14 324.40	95.50		

续表 4 加样回收试验结果($n = 9$)
Continued Tab. 4 Results of the recovery test ($n = 9$)

待测元素	样品含量(ng)	加入量(ng)	测得量(ng)	回收率(%)	$\bar{X}(\%)$	$RSD(\%)$	待测元素	样品含量(ng)	加入量(ng)	测得量(ng)	回收率(%)	$\bar{X}(\%)$	$RSD(\%)$
Sb	21.75	3 600	3 601.85	99.45	97.44	1.75	Cu		12 000	11 406.00	95.05	89.44	6.41
	21.79	3 600	3 591.60	99.16					12 000	11 484.65	95.71		
	21.64	3 600	3 606.40	99.58					12 000	11 509.35	95.91		
	21.64	4 500	4 389.90	97.07					15 000	12 416.75	82.78		
	21.56	4 500	4 327.70	95.69					15 000	12 182.60	81.22		
	21.72	4 500	4 429.60	97.95					15 000	12 525.05	83.50		
	21.76	5 400	5 141.90	94.82					18 000	16 088.75	89.38		
	21.72	5 400	5 251.00	96.84					18 000	16 345.10	90.81		
	21.56	5 400	5 229.55	96.44					18 000	16 306.45	90.59		

液,按 2.1 项下试验条件进样测定。根据注射用芝麻油生产工艺流程,参考 ICH Q3D 指导原则^[7],以供注射用辅料中此 10 种元素的允许质量浓度为本试验的元素杂质限度。3 批样品中仅批号 20190901 可检出 Co (0.025 5 $\mu\text{g/g}$)、Sb(0.043 0 $\mu\text{g/g}$),批号 20210701 可检出 Co(0.001 2 $\mu\text{g/g}$)。Pb, Cd, As Hg, Co, V, Ni, Li, Sb, Cu 的限度值分别为 0.5, 0.2, 1.5, 0.3, 0.5, 1, 2, 25, 9, 30 $\mu\text{g/g}$ 。可见,各批样品无机元素含量远小于限度值。

3 讨论

3.1 前处理条件

本试验中以微波消解法行样品前处理,因芝麻油为含高碳链化合物,难消解,故预试验中考察了硝酸+双氧水、硝酸+盐酸和硝酸+硫酸不同组合的消解效果,结合本课题组前期研究结果得出最佳消解条件,使样品消解完全,符合检测要求,满足方法学验证要求。

3.2 内标元素选择

本研究中采用内标标准曲线法进行分析,能减少工作条件变化对分析结果的影响,还能消除基质干扰,从而提高定量分析的准确度。前期试验显示,⁷Li 选用其他内标元素测定时,内标液中的⁶Li 有一定的干扰作用,而选用⁶Li 作为⁷Li 的内标元素测定时,结果符合方法学要求。

3.3 方法评价

药用辅料的质量对药品的安全性、有效性、稳定性有重要影响。本研究中建立了测定注射用芝麻油中 10 种无机元素含量的 ICP-MS 法,方法灵敏,结果准确可靠,符合国际国内最新药典及法规要求,以此对 3 批注射用芝麻油中各无机元素含量进行测定,结果均远小于 ICH Q3D 中注射用辅料元素杂质规定的限度值,表明注射用芝麻油中元素杂质风险低,安全系数较高。该结果还能对评估和控制产品中元素杂质的含量提供数据基础。

参考文献

[1] WANG T, WU J, HARTMAN R, et al. A multi-element ICP-MS survey method as an alternative to the heavy metals limit test for pharmaceutical materials [J]. J Pharm Biomed Anal,

2000, 23(5): 867-890.

[2] 袁利佳,汪小燕,王佳,等. 关联审评政策下药用辅料与药包材变更管理的思考[J]. 中国药事, 2022, 36(2): 121-127.

[3] 吴浩,王惠华,周坛树. 我国药用辅料的管理、风险因素分析及监管对策思考[J]. 中国药事, 2022, 36(3): 268-272.

[4] 马骏威,安娜. 药用辅料风险评估及管理的策略[J]. 中国医药工业杂志, 2020, 51(8): 1080-1084.

[5] 朱晨华,周舟,沈杰,等. 乙二胺四乙酸络合-氨水溶解-电感耦合等离子体质谱法测定酸性原料药中 24 种元素杂质的含量[J]. 理化检验:化学分册, 2023, 59(1): 105-109.

[6] 吴洁,黄青兰. 化学原料药中元素杂质的风险评估[J]. 上海医药, 2019, 40(1): 74-77.

[7] ICH. ICH Q3D Step 4 Version Guideline For Elemental Impurities [EB/OL]. (2014-12-16) [2023-01-19]. http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3D/Q3D_Step-4.pdf.

[8] 庄目德. ICHQ3D 指南应用与药品杂质元素风险评估实例研究[J]. 海峡药学, 2019, 31(2): 92-95.

[9] 裴丽娟,杨继章,李建,等. 电感耦合等离子体质谱法同时测定布南色林原料药中 12 种金属元素含量[J]. 中国药业, 2022, 31(20): 65-68.

[10] 梁健谋,王芸. ICP-MS 同时测定鱼肝油中 21 种重金属元素残留量[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(10): 1161-1165.

[11] 顾霄,朱思琪,郑金琪. 葡萄糖酸钙注射液 24 种元素杂质测定方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(2): 278-284.

[12] 李正艳,周芸芸,赵婷婷,等. 复方乳酸钠葡萄糖注射液中 12 个元素杂质的质量研究[J]. 药物分析杂志, 2020, 40(12): 2186-2192.

[13] 赵啸虎,郭美玲,张红梅. ICP-MS 同时测定化风丹中 5 种常见金属元素的含量[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(23): 2953-2956.

[14] 杨方方,梁鹏云,刘常凯,等. 微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定富硒茶叶中硒含量的方法研究[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(4): 153-157.

[15] 李成森,刘天竹,张晔,等. 五海瘰癧丸中 17 种重金属及有害元素残留量测定及风险评估[J]. 中国药业, 2021, 30(19): 65-69.

(收稿日期: 2023-03-10; 修回日期: 2023-08-20)