

电感耦合等离子体发射光谱法测定右旋糖酐铁中 8 种重金属元素及光谱干扰的校正

马超^{1,2}, 房思萌^{1,2}, 米楠^{1,2}, 臧可昕^{1,2}, 苏慕君^{1,2}

1. 天津药物研究院 制剂中心, 天津 300193

2. 天津药物研究院 释药技术与药代动力学国家重点实验室, 天津 300193

摘要: 目的 建立用电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)测定右旋糖酐铁中铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼 8 种重金属元素含量的分析方法。方法 通过检测波长考察, 仪器参数优化, 应用干扰元素校正法(IEC)校正光谱干扰, 测定 8 种重金属元素的量。结果 应用 IEC 法校正光谱干扰, 回收率在 88.7%~101.3%之间, 方法准确度良好, 各待测元素线性关系良好, 相关系数均大于 0.999, 检出限为 0.12~7.26 ng/mL, 定量限为 0.40~23.96 ng/mL, 方法精密性良好(RSD<3.5%, n=6)。结论 应用 IEC 法进行光谱校正后的结果明显优于未加校正的常规法测定结果。建立的方法准确、灵敏、迅速, 可用于右旋糖酐铁中 8 种重金属元素含量的测定。

关键词: 电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES); 干扰元素校正法(IEC); 光谱干扰; 右旋糖酐铁; 重金属元素

中图分类号: R917.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2017)03-0335-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.03.009

Determination of eight heavy metal elements in iron dextran by inductively coupled plasma optical emission spectrometry and correction of spectral interference

MA Chao^{1,2}, FANG Si-meng^{1,2}, MI Nan^{1,2}, ZANG Ke-xin^{1,2}, SU Mu-jun^{1,2}

1. Centre of Pharmaceutics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

2. State Key Laboratory of Drug Delivery Technology and Pharmacokinetics, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of eight heavy metal elements (Pb, Cd, As, Hg, Co, V, Se, and Mo) in iron dextran by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). **Methods** Through detection wavelength selection, optimization of instrument parameters and applying interference element correction (IEC) method to correction of spectral interference, the eight heavy metal elements were analyzed by ICP-OES. **Results** The elements recoveries were from 88.7% to 101.3% by correction of spectral interference with IEC method. The accuracy of the method was good. The linearities of the detected elements were good, and the correlation coefficients were all greater than 0.999. The detection limits were from 0.12 to 7.26 ng/mL. The quantization limits were from 0.40 to 23.96 ng/mL. The precision of the method was good (RSD<3.5%, n=6). **Conclusion** The results of the spectral interference correction by IEC method are greatly superior to the results of conventional method. The established method is accurate, sensitive, and rapid, which can be applied to the determination of contents of eight heavy metal elements in iron dextran.

Key words: inductively coupled plasma optical emission spectrometry; interference element correction; spectral interference; iron dextran; heavy metal elements

右旋糖酐铁是一种抗贫血药物, 临床疗效显著, 且副作用少。对于慢性失血、营养不良、慢性肾病等引起的贫血有良好的疗效^[1-2], 对于婴幼儿和妊娠

妇女也具有良好的安全性和有效性^[3]。右旋糖酐铁为金属络合物药物, 可能存在重金属元素的残留, 重金属元素残留会影响药物质量危及患者用药安全

收稿日期: 2016-09-29

作者简介: 马超(1984—), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事药物质量研究。Tel: 18722043988 E-mail: mac@tjipr.com

和药物疗效^[4]。国外对药物中重金属元素的残留量有严格限制。人用药品注册技术要求国际协调会(ICH)颁布的 Q3D 提出重金属元素杂质分类要求和残留限度^[5], 规定了各元素的允许日暴露量(PDE), 其中 1 类和 2A 类重金属元素因具有明显毒性被评估为高风险元素, 元素分类和允许日暴露量见表 1。

表 1 高风险元素分类和允许日暴露量

Table 1 Classification and permitted daily exposures for high risk assessment elemental impurities

分 类	元 素	允许日暴露量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$)	允许浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	风险评 估
1	铅	5	0.5	高风险
	镉	5	0.5	必须进
	砷	15	1.5	行风险
	汞	40	4.0	评估
2A	钴	50	5.0	高风险
	钒	120	12	必须进
	硒	170	17	行风险
	钼	180	18	评估

电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)是 ICH 推荐的重金属检查方法之一, 具有快速、准确、灵敏、可靠的特点。光谱干扰是 ICP-OES 法检测的主要干扰因素, 38 版《美国药典》规定须采用适当的方法对光谱干扰进行校正^[6]。干扰元素校正法(IEC)是美国 Agilent 公司提出的一种光谱干扰校正技术, 通过光谱图形解析, 分离干扰谱线, 从而校正干扰元素对待测元素的光谱干扰。2015 版《中国药典》和 38 版《美国药典》均未收载右旋糖酐铁中单一重金属元素的检测方法^[7-8]。本研究依照 ICH Q3D 和《美国药典》的要求, 建立了 ICP-OES 法测定右旋糖酐铁中 1 类和 2A 类 8 种重金属元素的分析方法, 并应用 IEC 法校正光谱干扰, 为右旋糖酐铁的质量控制和临床安全用药提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 5100 电感耦合等离子体发射光谱仪(美国安捷伦科技有限公司); AL104 型电子天平(瑞士梅特勒公司); 移液枪(德国爱芬道夫公司); 玻璃仪器均用 20% 硝酸溶液浸泡过夜, 用超纯水冲洗干净; 载气为 99.99% 高纯氩气。

1.2 试剂

标准溶液: 铁(10 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GNM-SFE-001-2013)、铅(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1742-2004)、镉(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1721-2004)、砷(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1714-2004)、汞(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1729-2004)、钴(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1722-2004)、钒(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1759-2004)、硒(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1751-2004)、钼(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ GSB04-1737-2004) 单元素标准溶液均由国家有色金属及电子材料分析测试中心提供。硝酸(色谱纯, 科密欧公司); 实验用水为 18.2 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 超纯水。

2 方法与结果

2.1 检测波长的考察

采用 ICP-OES 法测定右旋糖酐铁样品, 其中铁元素发射谱线多、浓度高, 易对其他待测元素产生光谱干扰。测定铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼 8 种重金属元素, 应选择受铁元素干扰小且各待测元素之间互相不干扰的检测波长。

分别配制铁、铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼的标准溶液, 右旋糖酐铁和 8 种待测元素的混合溶液, 考察各元素在不同波长下的特征发射光谱图。选择各待测元素的特征发射光谱波长作为检测波长, 且满足各元素受铁干扰较小, 元素之间互不干扰, 元素发射光谱强度较强。确定检测波长为: 铅 220.353 nm、镉 228.802 nm、砷 188.980 nm、汞 194.164 nm、钴 231.497 nm、钒 327.612 nm、硒 196.026 nm、钼 287.151 nm。

2.2 仪器工作条件的考察

高频入射功率、雾化气流速、泵速等会影响单电荷离子、氧化物离子、双电荷离子等多原子离子产率, 从而对发射光谱的强度和相对偏差产生影响。为获得高单电荷离子产率、提高分析灵敏度、降低干扰, 需对仪器工作参数进行优化。考察各待测元素, 在不同高频入射功率、等离子气流量、泵速下的信号强度及信噪比。确定最优高频入射功率为 1.3 kW, 雾化气体积流量为 0.7 L/min, 泵速为 10 r/min。

2.3 光谱干扰校正的考察

在 ICP-OES 光源中, 铁元素约有 4 000 条谱线, 右旋糖酐铁样品中铁的质量分数约 25%, 谱线展宽显著, 几乎不可避免与待测元素的分析谱线发生叠加, 产生光谱干扰。右旋糖酐铁样品的测定中, 各待测元素之间互相不干扰, 铁元素的光谱干扰是主要干扰因素。

采用 IEC 法校正光谱干扰, 是通过对待测元素

和铁元素的标准样品分别进行测定,用所得到的谱图数据进行图形解析,将铁元素的光谱信号从表观光谱信号中扣除,从而将待测元素光谱信号分辨出来以达到校正的目的。

2.3.1 常规法测定回收率 分别精密量取铁、铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼单元素标准溶液适量,置同一量瓶中,用2%硝酸溶液稀释制成含铁7 500 $\mu\text{g/mL}$,含8种待测元素浓度相当于限度的50%、100%、150%的溶液各3份,作为回收率样品溶液。不考虑铁元素的光谱干扰,常规法测定,计算各元素回收率和RSD值,铅、镉、砷、钴、硒、钼元素的回收率在117.8%~205.7%, $\text{RSD}(n=9)$ 大于25%,测定结果与真实值存在偏差,不校正光谱干扰无法得出准确测定结果。

2.3.2 IEC法校正光谱干扰测定回收率 精密量取铁元素标准溶液适量,用2%硝酸溶液稀释制成含铁2 500、5 000、7 500、10 000 $\mu\text{g/mL}$ 的系列质量浓度标准溶液,绘制铁元素工作曲线。分别精密量取铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼元素标准溶液适量,配制系列浓度标准溶液,绘制待测元素工作曲线。取“2.3.1”项下的回收率样品溶液,进行试验。在各元素的选定检测波长下,分别测定铁元素、待测元素和回收率样品溶液,进行图形解析,分辨铁元素光谱信号和待测元素光谱信号,扣除铁干扰。各待测元素经IEC法校正后的光谱图见图1。

常规法和IEC法测定各元素回收率结果见表2,IEC法测得回收率在88.7%~101.3%, $\text{RSD}(n=9)$ 小于3.5%。经IEC法校正后测得的回收率明显优于常规法测得的回收率。采用IEC法校正光谱干扰,可以得出准确测定结果。

2.4 样品溶液的配制

2.4.1 空白溶液 以2%硝酸溶液为空白溶液。

2.4.2 铁标准溶液的配制 精密量取铁单元素标准溶液适量,用2%硝酸溶液稀释制成含铁2 500、5 000、7 500、10 000 $\mu\text{g/mL}$ 的系列浓度铁标准溶液。

2.4.3 待测元素标准贮备液的配制 分别精密量取铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼单元素标准溶液适量,置同一量瓶中,用2%硝酸溶液稀释制成含铅0.15 $\mu\text{g/mL}$ 、镉0.15 $\mu\text{g/mL}$ 、砷0.45 $\mu\text{g/mL}$ 、汞1.2 $\mu\text{g/mL}$ 、钴1.5 $\mu\text{g/mL}$ 、钒3.6 $\mu\text{g/mL}$ 、硒5.1 $\mu\text{g/mL}$ 、钼5.4 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液,作为标准贮备液。

2.4.4 待测元素标准溶液的配制 分别精密量取标

准贮备液2、5、7、10 mL,分置50 mL量瓶中,用2%硝酸溶液稀释定容,制成系列浓度待测元素标准溶液。

2.4.5 供试品溶液的配制 取右旋糖酐铁研细粉约300 mg,精密称定,置10 mL量瓶中,加2%硝酸溶液适量,超声使溶解,放置室温,加2%硝酸溶液至刻度,摇匀。

2.5 测定法

在仪器最优化的条件下,分别测定空白溶液、铁标准溶液、待测元素标准溶液和供试品溶液。扣除空白,采用IEC法进行光谱图形解析,校正铁元素光谱干扰,以外标曲线法计算各待测元素的量。

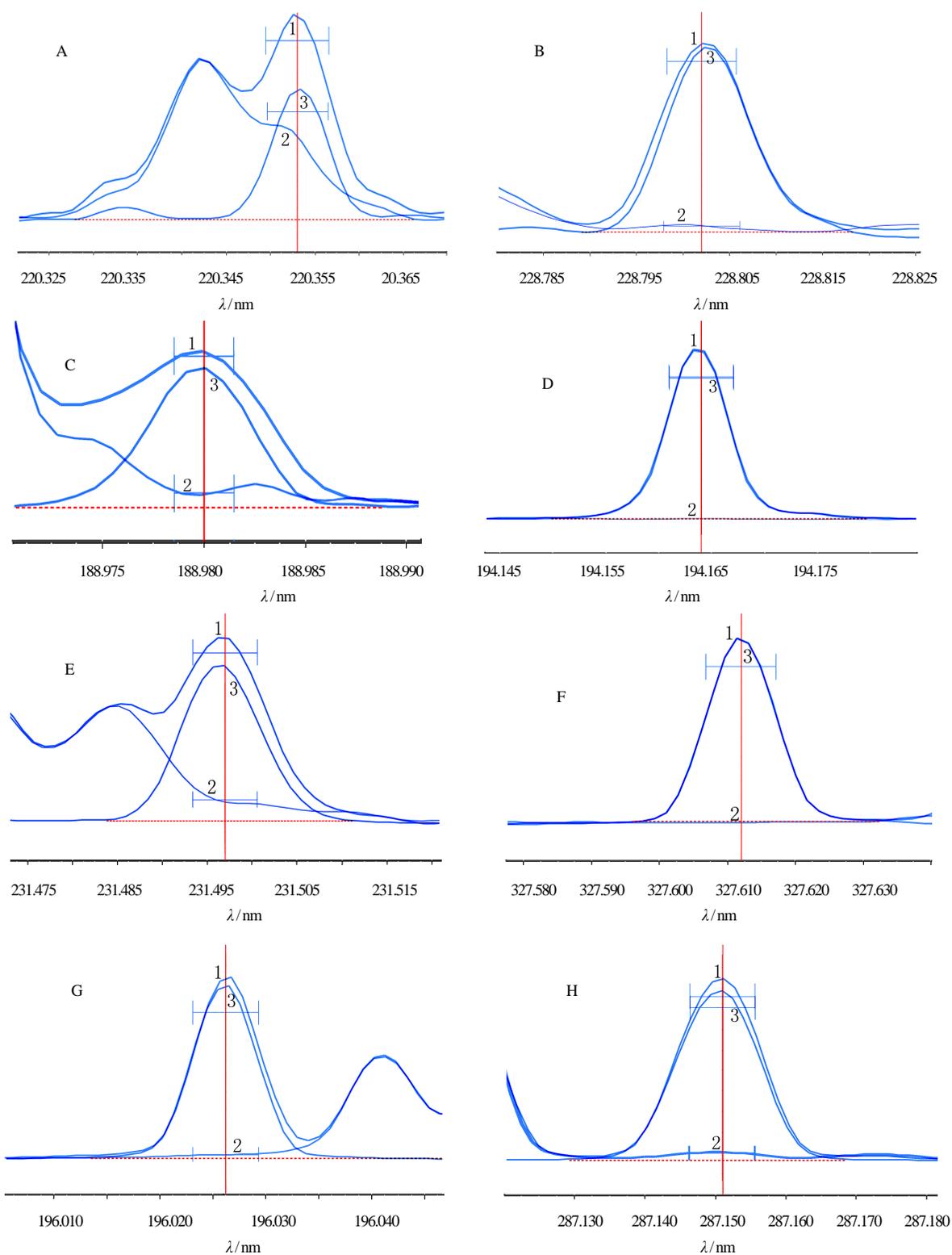
2.6 方法学验证

2.6.1 线性关系 取“2.4.3”项下配制的标准贮备液,用2%硝酸稀释成系列浓度的标准溶液。以2%硝酸溶液为空白溶液,依次测定系列浓度的标准溶液,以各重金属元素测定强度为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线。各元素的线性回归方程、相关系数和线性范围数据见表3,结果表明铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼8种重金属元素的标准曲线线性关系良好,相关系数均在0.999以上。

2.6.2 检出限与定量限 以2%硝酸溶液作为空白溶液,连续进样11次测定强度,以空白溶液强度的3倍标准偏差(3SD)所对应的各元素质量浓度作为检测限;以空白溶液强度的10倍标准偏差(10SD)所对应的各元素质量浓度作为定量限。检出限与定量限结果见表3,各元素的检出限与定量限均能满足分析要求。

2.6.3 精密度 取右旋糖酐铁T1607042批样品6份,每份约300 mg,精密称定,置10 mL量瓶中,按照“2.4.5”项下方法配制供试品溶液,分别测定,采用IEC法校正光谱干扰,计算得各待测元素质量浓度RSD值在0.30%~3.44%,方法精密度良好。

2.6.4 加标回收率 取右旋糖酐铁T1607042批样品9份,每份约300 mg,精密称定,置10 mL量瓶中。其中3份精密加入“2.4.3”项下的标准贮备液0.5 mL,3份精密加入标准贮备液1.0 mL,3份精密加入标准贮备液1.5 mL,分别相当于加入各元素限度浓度的50%、100%、150%,加2%硝酸溶液稀释定容。取以上9份溶液,分别测定,采用IEC法校正光谱干扰,计算各元素回收率和RSD值,结果各元素的加标回收率在89.0%~102.0%,RSD小于3%,方法准确度良好。



1-表观叠加谱线; 2-铁干扰谱线; 3-校正后的待测元素谱线

1- apparent superimposed spectral line; 2- iron interference line; 3- corrected elemental line

图1 铅(A)、镉(B)、砷(C)、汞(D)、钴(E)、钒(F)、硒(G)和钼(H)元素经IEC法校正后的光谱图
 Fig. 1 Spectra of Pb (A), Cd (B), As (C), Hg (D), Co (E), V (F), Se (G), and Mo (H) with correction by IEC method

表2 常规法和 IEC 法测定回收率结果

Table 2 Recoveries of conventional method and IEC method

方法	铅		镉		砷		汞		钴		钒		硒		钼	
	回收率/%	RSD/%														
常规	205.7	25.27	117.8	7.45	147.9	15.92	89.5	1.24	141.3	14.41	97.8	0.64	122.4	9.05	134.7	12.69
IEC	91.5	2.04	93.1	1.44	88.7	1.37	89.2	3.47	91.9	1.57	99.1	1.65	90.3	2.19	101.3	1.35

表3 线性回归方程、相关系数、线性范围、检出限与定量限

Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients, and linearity range, Detection limits and quantization limits

元素	线性回归方程	相关系数	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	检出限/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
铅	$y = 3\ 015.6x + 1.164\ 5$	0.999 5	0~0.15	0.41	1.35
镉	$y = 26\ 520x - 0.018\ 2$	0.999 6	0~0.15	0.25	0.84
砷	$y = 1\ 024.6x + 0.325\ 2$	0.999 2	0~0.45	3.35	11.06
汞	$y = 3\ 774.4x - 0.493\ 3$	0.999 7	0~1.2	1.82	6.01
钴	$y = 3\ 189.6x + 18.957$	0.999 8	0~1.5	0.19	0.63
钒	$y = 39\ 637x + 196.53$	0.999 8	0~3.6	0.12	0.40
硒	$y = 1\ 398.3x + 9.643$	0.999 0	0~5.1	7.26	23.96
钼	$y = 12\ 186x - 61.385$	0.999 3	0~5.4	0.57	1.88

2.6.5 样品测定 取6个批次的右旋糖酐铁样品,按照“2.4”项下方法,测定铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼8种重金属元素的量,结果见表4,其中T1604061、T1604071批铅元素超限,其他批次8种重金属元素的量均符合要求。

3 讨论

国内外对重金属元素杂质控制日趋严格,ICH及38版《美国药典》对重金属元素杂质的要求,已从原来的重金属元素总量检测细化到单一元素的质量控制。传统的重金属限度检测方法采用比色法,专属性差,灵敏度低,测定结果为重金属元素的总和,不能检测单个元素的浓度。电感耦合等离子体

发射光谱法具有专属性强、灵敏度高、线性范围宽,能够在短时间内同时对多种痕量重金属元素进行分析测定,是目前较为先进的重金属元素测定方法^[9-10]。

右旋糖酐铁中铁元素发射谱线多,浓度高,原子间碰撞的机会多,谱线展宽显著,不可避免地对待测元素产生干扰。采用IEC法进行光谱干扰校正,对待测元素的表现光谱信号进行复原分解,分辨出背景基线、铁干扰谱线和待测元素分析谱线,从而校正光谱干扰,测定结果的准确度明显优于未加校正的常规测定方法。

综上所述,采用电感耦合等离子体发射光谱法

表4 样品测定结果

Table 4 Determination results of the samples

批号	铅($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	镉($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	砷($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	汞($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	钴($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	钒($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	硒($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	钼($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
T1604061	21.5	5.1	26.4	10.9	113.0	63.3	40.9	80.7
T1604071	22.5	5.0	26.0	11.4	114.5	64.4	41.3	79.7
T1607042	8.6	4.8	25.8	10.3	100.5	62.0	39.7	80.5
T1607151	9.0	5.0	25.4	9.9	101.7	61.6	38.4	79.4
T1608112	7.4	4.7	25.0	9.2	93.6	60.0	38.1	78.9
T1608232	7.8	4.9	24.8	8.9	90.8	60.7	38.5	80.2
T1604061	21.5	5.1	26.4	10.9	113.0	63.3	40.9	80.7
限度	15.0	15.0	45.0	120.0	150.0	360.0	510.0	540.0

测定右旋糖酐铁中 8 种重金属元素含量, 应用 IEC 法校正光谱干扰, 显著提高了测定的准确度。通过方法验证, 各重金属元素线性关系良好 (相关系数均大于 0.999), 线性范围宽, 检出限为 0.12~7.26 ng/mL, 定量限为 0.40~23.96 ng/mL, 方法精密度良好, 准确度良好。可用于右旋糖酐铁的重金属元素含量测定, 为右旋糖酐铁的质量控制和安全性评价提供科学依据, 并可为今后提高药品质量标准提供方法依据。

参考文献

- [1] Besarab A, Amin N, Ahsan M, et al. Optimization of epoietin therapy with intravenous iron therapy in hemodialysis patients [J]. Am Soc Nephrol, 2000, 11(3): 530-538.
- [2] Bhandari S, Brownjohn A, Turney J. Effective utilization of erythropoietin with intravenous iron therapy [J]. Clin Pharm Ther, 1998, 23(1): 73-78.
- [3] 张玉峰. 右旋糖酐铁口服液治疗婴幼儿营养性缺铁性贫血的疗效观察 [J]. 临床研究, 2014, 12(9): 80.
- [4] 陈阳, 金薇, 杨永健. 电感耦合等离子体发射光谱法在国内药物分析中的应用现状 [J]. 药物分析杂志, 2013, 33(6): 907-914.
- [5] Guideline for Elemental Impurities Q3D [S]. 2013
- [6] USP [S]. 38th ed. 2015: 153-156
- [7] 中国药典 [S]. 二部. 2015: 171-172.
- [8] USP [S]. 38th ed. 2015: 3974-3975.
- [9] 杨园, 谷亦平. ICP-MS 测定一次性使用重力输液式输液器及静脉输液针中 5 种重金属元素的残留量 [J]. 中国药师, 2015, 18(12): 2184-2186.
- [10] 兴丽, 王梅, 赵凤敏. ICP-MS 两种模式下测定亚麻籽中微量元素及其不确定度评定 [J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(1): 226-230.