

【 评价方法学 】

电感耦合等离子体发射光谱法测定右旋糖酐铁中重金属元素时的基体效应和内标校正方法研究

马 超¹, 孟 策¹, 张彩霞², 陈欣怡¹, 王 博¹, 任晓文^{1*}

1. 天津药物研究院 药物制剂研究中心, 天津 300193

2. 天津药物研究院 总经理办公室, 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, 验证基体效应干扰, 考察内标物校正干扰, 测定8种重金属元素的含量。**结果** 内标法校正基体效应干扰, 待测元素回收率由83%~90%提高为94%~100%, 方法准确度良好, 加标回收率在94.3%~101.5%, 方法精密度良好(RSD<3.5%, n=6)。各待测元素线性关系良好, 相关系数均大于0.999, 检出限为0.22~8.54 ng/mL, 定量限为0.68~25.73 ng/mL。**结论** 方法准确度高、灵敏度高、迅速可靠, 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); 基体效应; 内标法; 右旋糖酐铁

中图分类号: R917 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2017)08-1098-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.08.012

Correction of matrix effect in determination of heavy metal elements in iron dextran by icp-oes internal standard method

MA Chao¹, MENG Ce¹, ZHANG Cai-xia², CHENG Xin-yi¹, WANG Bo¹, REN Xia-wen¹

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

2. General manager's office, Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of 8 heavy metal elements of Pb, Cd, As, Hg, Co, V, Se, Mo in iron dextran by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). **Method** Through selection of detection wavelengths, optimization of instrument parameters, verification of matrix effect interference and investigation of internal standard for correction of matrix effect interference, the 8 heavy metal elements were analyzed by ICP-OES. **Results** The recovery rate of the detected elements were increased from 83%—90% to 94%—100%, after correction of matrix effect interference by internal standard method. The accuracy of the method were good. The spiked recoveries of the detected elements were from 94.3% to 101.5%. The precision of the method were good (RSD < 3.5%, n = 6). The linearities of the detected elements were good, and the correlation coefficients were all greater than 0.999. The detection limits were from 0.22 to 8.54 ng/mL. The quantization limits were from 0.68 to 25.73 ng/mL. **Conclusion** The established method was accurate, sensitivity, rapid and reliable, which can be applied to the determination of contents of 8 heavy metal elements in iron dextran.

Key words: inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES); matrix effect; internal standard method; iron dextran

右旋糖酐铁是一种抗贫血药物, 临床疗效显著, 主要用于治疗慢性失血、营养不良、慢性肾病等引起的贫血^[1-2]; 药物副作用少, 对于婴幼儿和妊娠妇女也具有良好的安全性和疗效^[3-4]。右旋糖酐铁

为金属络合物药物, 重金属元素的残留需重点关注^[5]。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^[6], 将铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼8种

收稿日期: 2017-03-13

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@tjpr.com

*通信作者 任晓文(1966—), 女, 研究员, 主要从事药物新剂型及药物分析研究。Tel/Fax: (022) 23006953

元素评估为具有明显毒性的高风险元素,要求测定药物中上述重金属元素的含量,评估其风险。

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、灵敏的特点^[7-9]。本研究通过实验验证了ICP-OES法测定右旋糖酐铁中重金属时基体效应干扰,考察了多种内标元素对干扰的校正作用,建立了ICP-OES法测定右旋糖酐铁中8种重金属元素的分析方法,校正了基体效应干扰,得出准确可靠的测定结果,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),工作站为:ICP Expert,版本号:7.1.0.6821;AL104 型电子天平(瑞士梅特勒公司),精度十万分之一;移液枪(德国爱芬道夫公司);SB-5200D 超声仪(宁波新芝科技有限公司)功率 300W;玻璃仪器均用 20%硝酸溶液浸泡过夜,并用超纯水冲洗干净;载气为 99.99%高纯氦气。

1.2 试剂

标准溶液:铅(1 000 µg/mL GSB04-1742-2004)、镉(1 000 µg/mL GSB04-1721-2004)、砷(1 000 µg/mL GSB04-1714-2004)、汞(1 000 µg/mL GSB04-1729-2004)、钴(1 000 µg/mL GSB04-1722-2004)、钒(1 000 µg/mL GSB04-1759-2004)、硒(1 000 µg/mL GSB04-1751-2004)、钼(1 000 µg/mL GSB04-1737-2004)、铁(10 000 µg/mL GNM-SFE-001-2013)、锆(100 µg/mL GNM-SGE-002-2013)、铈(100 µg/mL GNM-SSC-002-2013)、钇(100 µg/mL GNM-SY-002-2013)、铟(100 µg/mL GNM-SIN-002-2013)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 MΩ·cm 超纯水。

2 方法与结果

2.1 检测波长的考察

分别配制铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼元素的标准溶液,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,且满足各待测元素互不干扰,元素发射光谱强度高。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

观测方式影响发射光谱的信号强度和检测灵敏度;高频入射功率、雾化气流速、泵速会影响多原子离子产率,从而对信号强度和相对偏差产生影响。为提高信号强度,降低干扰,提高分析灵敏度,需对仪器工作参数进行优化。考察各待测元素,分别在轴向和径向观测方式下,在不同高频入射功率、等离子气流量、泵速下比较信号强度及信噪比。确定最优观测方式为轴向,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 基体效应干扰的考察

右旋糖酐铁样品中的铁元素和相对分子质量 5 000~7 500 的右旋糖酐分子,可改变待测元素的电离平衡,使其电子发射空间分布发生移动,影响等离子体中原子线和离子线的强度^[10];还可影响待测溶液的密度、黏度、表面张力等,影响 ICP 雾化效率,从而产生基体效应。

精密量取铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼元素标准溶液,每种元素中分别加入系列量的右旋糖酐铁标准溶液作为基体溶液,配制待测元素溶液与基体溶液的混合溶液作为供试品,测定各待测元素回收率,结果见表 1。

其中零基体中测得的待测元素回收率为参考值。随着基体溶液质量浓度的升高,基体效应增强,待测元素回收率逐渐降低,测得铅、镉、砷、汞、钴、硒元素的回收率降低为 83%~90%。回收率偏低是由于右旋糖酐铁的基体效应导致的。

2.4 内标元素的选择

内标元素与待测元素应具有相近的电离能、激发电位和原子或离子半径。锆(Ge)元素与待测元素铅同族,与待测元素砷、镉、汞也是临族元素,理论上符合内标元素的选择要求。铈(Sc)、钇(Y)、铟(In)为 ICP 测定中常用的内标元素。采用哪种元素作为内标元素,应考察内标元素是否能反映干扰情况,内标法检测结果是否符合准确性和精密度的相关要求^[11]。

在含有 50 ng/mL 锆、铈、钇、铟元素内标物的右旋糖酐铁基体样品中,分别加入已知量的铅、镉、砷、汞、钴、钒、硒、钼元素标准溶液,测试回收率,结果见表 2。锆元素为内标物,使铅、镉、砷、汞、钴、硒元素的回收率提高了约 10%,采用 50 ng/mL 的锆元素为内标可以校正基体效应的干扰。

表1 基体效应干扰测定回收率结果

Table 1 Result of recoveries were interfered by matrix effect

基体质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%							
	铅	镉	砷	汞	钴	钒	硒	钼
0	100.4	100.2	99.4	100.1	99.6	100.3	99.9	100.5
10	99.7	99.9	99.4	98.7	99.3	100.1	99.5	100.3
50	95.2	96.5	95.1	93.3	97.2	100.2	96.6	100.2
100	90.2	92.6	90.6	89.4	92.3	99.8	93.4	99.8
500	86.3	89.1	85.9	87.5	91.1	99.5	90.2	100.3
1 000	83.8	87.2	85.3	86.2	91.3	99.8	90	99.6
3 000	83.9	87.1	84.6	85.9	90.8	99.6	89.8	100.1
5 000	83.2	86.8	84.7	86.1	90.7	99.3	89.9	99.7

表2 锆、钪、钇、铟4种内标物校正后测定回收率结果

Table 2 Result of recoveries were corrected by Ge, Sc, Y, In 4 kinds of internal standard

元素	内标物	加标量/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	测量值/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%	元素	内标物	加标量/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	测量值/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率/%
铅	无	15.0	12.6	83.7	钴	无	150	135	90.2
	锆	15.0	14.2	94.6		锆	150	149	99.5
	钪	15.0	14.3	95.5		钪	150	148	98.9
	钇	15.0	14.0	93.1		钇	150	149	99.2
	铟	15.0	13.9	92.6		铟	150	151	100.8
镉	无	15.0	13.0	86.9	钒	无	360	356	98.9
	锆	15.0	14.9	99.3		锆	360	357	99.2
	钪	15.0	14.0	93.2		钪	360	365	101.3
	钇	15.0	13.8	91.8		钇	360	361	100.4
	铟	15.0	13.6	90.4		铟	360	356	99.0
砷	无	45.0	38.0	84.5	硒	无	510	457	89.6
	锆	45.0	43.3	96.2		锆	510	499	97.8
	钪	45.0	39.3	87.3		钪	510	468	91.7
	钇	45.0	38.5	85.5		钇	510	461	90.3
	铟	45.0	38.3	85.1		铟	510	458	89.8
汞	无	120	104	86.4	钼	无	540	537	99.5
	锆	120	114	95.1		锆	540	543	100.6
	钪	120	106	88.2		钪	540	536	99.3
	钇	120	104	86.8		钇	540	534	98.8
	铟	120	103	85.9		铟	540	538	99.7

2.5 样品溶液的配制

2.5.1 空白溶液 以2%硝酸溶液作为空白溶液。

2.5.2 内标溶液的配制 精密量取锆元素标准溶液适量,用2%硝酸溶液稀释制成含锆0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,即得。

2.5.3 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、钼元素标准溶液适量,置同一量瓶中,用溶媒稀释制成每毫升含铅0.15

μg 、镉0.15 μg 、砷0.45 μg 、汞1.2 μg 、钴1.5 μg 、钒3.6 μg 、硒5.1 μg 、钼5.4 μg 的混合对照品溶液,作为标准贮备液。

2.5.4 对照品溶液的配制 向5个50 mL量瓶中分别加入1、2、5、7、10 mL的标准贮备液和5 mL内标溶液,用2%硝酸溶液稀释定容,制成系列浓度对照品溶液。

2.5.5 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 15 min 使溶解, 放至室温, 精密加入内标溶液 1 mL, 加 2%硝酸溶液至刻度, 摇匀。

2.6 测定法

在仪器最优化的条件下, 分别测定空白溶液、对照品溶液和供试品溶液。扣除空白, 校正光谱干扰, 以内标法计算各待测元素的含量。

2.7 方法学验证

2.7.1 线性关系 取“2.5.3”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, 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。

2.7.2 检出限与定量限 取空白溶液连续进样 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) 所对应的各元素浓度作为定量限。检出限与定量限结果见表 4, 各元素的检出限与定量限均能满足分析要求。

表 3 线性回归方程、相关系数和线性范围

Table 3 Linear regression equations, correlation coefficients and linearity range

元素	线性回归方程	<i>r</i>	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
铅	$y = 3\,031.5x + 4.324\,3$	0.999 1	0 ~ 0.15
镉	$y = 26\,482x - 0.223\,4$	0.999 6	0 ~ 0.15
砷	$y = 1\,006.8x - 3.264\,7$	0.999 4	0 ~ 0.45
汞	$y = 3\,757.1x + 0.281\,5$	0.999 2	0 ~ 1.2
钴	$y = 3\,184.2x + 10.235$	0.999 7	0 ~ 1.5
钒	$y = 39\,823x + 56.721$	0.999 8	0 ~ 3.6
硒	$y = 1\,400.5x - 5.321\,2$	0.999 3	0 ~ 5.1
钼	$y = 12\,203x - 30.618$	0.999 6	0 ~ 5.4

表 4 方法检出限与定量限结果

Table 4 Detection limits and the quantization limits of the method

元素	检出限/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
铅	0.55	1.66
镉	0.39	1.15
砷	4.36	13.11
汞	2.52	7.56
钴	0.30	0.94
钒	0.22	0.68
硒	8.54	25.73
钼	0.79	2.36

2.7.3 精密度 取右旋糖酐铁 T1610102 批样品 6 份, 每份约 300 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液, 按照“2.5.5”项下方法配制供试品溶液, 分别测定, 以内标法计算各待测元素的含量和 RSD 值, 得各待测元素含量 RSD 值在 0.35%~3.36%, 方法精密度良好。

2.7.4 加标回收率 取右旋糖酐铁 T1610102 批样

品 9 份, 每份约 300 mg, 精密称定, 分置 10 mL 量瓶中, 每份精密加入“2.5.2”项下内标溶液 1 mL; 其中 3 份精密加入“2.5.3”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, 以内标法计算各元素回收率和 RSD 值, 结果见表 5, 各元素的加标回收率在 94.3%~101.5%, RSD ($n=9$) 小于 3.5%, 方法准确度良好。

2.7.5 样品测定 取 6 个批次的右旋糖酐铁样品, 按照“2.5”项下方法, 测得铅、镉、砷、汞、钴、

表 5 加标回收率结果

Table 5 Spiked recoveries of the method

元素	平均回收率/%	RSD/%	元素	平均回收率/%	RSD/%
铅	94.3	2.42	钴	99.7	1.18
镉	99.4	0.71	钒	100.4	1.74
砷	96.8	3.24	硒	97.5	2.92
汞	95.4	1.73	钼	101.5	1.82

钒、硒、钼 8 种重金属元素的含量见表 6。各批次样品中的 8 种重金属元素含量均符合限度要求。该

方法能够准确测定重金属元素含量,可以为药品安全性评价和制药工艺改进提供数据支持。

表 6 样品测定结果

Table 6 Determination results of samples

批号	质量浓度/(ng·mL ⁻¹)							
	铅	镉	砷	汞	钴	钒	硒	钼
T1607042	9.4	5.8	29.4	11.5	106.2	64.8	44.1	85.7
T1607151	9.8	5.5	28.8	11.9	101.3	62.7	43.3	84.2
T1608112	8.3	5.3	28.6	10.4	100.9	59.2	42.5	82.5
T1608232	8.5	5.2	27.5	10.8	105.4	61.5	44.0	80.8
T1609141	8.2	5.1	27.8	11.3	99.2	60.2	43.1	78.5
T1610102	7.9	5.3	26.6	10.7	97.0	60.8	42.7	80.1

3 讨论

3.1 基体效应的产生机制

基体效应是指样品中各成分对分析信号测量的联合效应,包含了样品中除分析物以外的所有其它成分所产生的干扰和分析物的非浓度信号的贡献。右旋糖酐铁中的铁元素是一种易电离元素,电离电位低,有较大分数的原子电离,促进电子碰撞和横向扩散,导致电离平衡移动,影响等离子体的能量传递效率,从而产生基体效应。右旋糖酐分子中含有大量的 C、H 元素,热分解产生大量的氢,增加了电子密度,提高了等离子体的热导性能,也可影响雾化室内的气溶胶形成和传输情况,从而产生基体效应。测定右旋糖酐铁中重金属元素时基体效应不可避免,为获得准确的测定结果,需采用内标法校正基体效应。

3.2 内标元素电离能对内标校正结果的影响

内标元素锆的第一电离能为 762 kJ/mol,待测元素的电离能与其相差较小,锆能够反映待测元素所受干扰的情况,内标校正后回收率在 94%以上。钪的第一电离能为 633 kJ/mol,钇为 600 kJ/mol,钼为 558 kJ/mol,与镉、汞、砷的电离能相差较大,校正后回收率在 85%~90%,校正效果不理想。故选择与待测元素电离能相近的内标元素可以得到较好的校正效果。

3.3 元素质量数差异对内标校正结果的影响

待测元素与内标元素锆的质量数差异在 1~50,变化范围较大。将待测元素校正前、后浓度与加标浓度进行比较,回收率由 83%~90%提高为 94%~100%。可见内标法校正基体效应中对质量数差异不敏感,采用单一内标物同时校正不同质量数

的多种元素是可行的。

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] 郑磊,熊子波,王青,等. 静脉注射右旋糖酐铁治疗腹膜透析肾性贫血的效果观察 [J]. 中国综合临床, 2015, 5(31): 401-403.
- [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] 赵志英. 不同剂量右旋糖酐铁分散片治疗妊娠期缺铁性贫血的疗效对比分析 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(33): 105-106.
- [5] 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.
- [6] Guideline for Elemental Impurities Q3D [S]. 2013.
- [7] 颜敏,刘园园,贺瑞玲,等. ICP-MS 法测定药用玻璃容器中 13 种金属元素的浸出量 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 133-137.
- [8] 伍国怡. 微波消解 ICP-MS 法测定复方丹参片中 5 种金属元素含量 [J]. 中国药师, 2016, 19(7): 1405-1407.
- [9] 陈莹,王长生,况刚,等. 微波消解 ICP-OES 法测定藏药珍宝类药物坐珠达西及其主要矿物药原料中 26 种无机元素及相关性分析 [J]. 中草药, 2016, 47(13): 2346-2352.
- [10] 刘坤杰,李文军,李建强,等. ICP-AES 分析法中铁基体非光谱干扰效应的机理研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2011, 31(4): 1110-1114.
- [11] 龚思维,楚民生,胥成名,等. ICP-AES 内标法测定钢铁及其合金样品中的化学成分 [J]. 化学分析计量, 2012, 21(4): 59-61.