

使用Hansel iQuad 2300 ICP-MS 测试生理盐水中的24种元素

作者 仵文旺 衡昇质谱（北京）仪器有限公司

使用一个流量的氦气KED模式对生理盐水中的24个元素按照ICH-Q3D&Q2 USP要求进行方法学研究



前言

随着全球药品监管趋同化，国际协调理事会（ICH）Q3D、（ICH）Q2 与美国药典（USP）通则 协同推进了药物中元素杂质的风险评估与控制要求。传统重金属检测法因灵敏度低、选择性差，已无法满足痕量元素杂质的精准定量需求。在此背景下，电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）凭借其超低检测限（ppt 级）、多元素同步分析及同位素分辨能力，成为 ICH Q3D 框架下元素杂质分析的核心技术。

ICH Q3D（R2）依据元素毒性及给药途径（口服、注射、吸入及透皮），将 24 种元素分为 1 类（如 As、Cd、Hg、Pb）、2A/2B 类（如 Co、Ni）和 3 类（如 Cu、Li），并设定每日允许暴露量（PDE）。ICP-MS 可覆盖全类别元素的检测需求，确保复杂样品（如高盐注射液）的准确性。

然而，ICP-MS 分析仍面临技术挑战：基体效应导致的信号抑制，手动增大稀释倍数虽然可以抑制基体效应，又会引起污染对结果的稳定性与准确性造成影响

药品中或前处理过程中引入的某些物质，造成的质谱干扰，比如 ClO 对 V 的干扰。

随着中国药典与 ICH 的深度协调，以及联用技术（如 HPLC-ICP-MS）的拓展，该技术将在药物全生命周期监控中发挥更关键的作用。

本文采用衡昇 iQuad2300 型 ICP-MS，按照 ICH 与 USP 的要求，按照医药行业内习惯对生理盐水进行方法学验证。

实验部分

样品和试剂

样品：市售的四个厂家的生理盐水，其中三个为清洗液作为测试样品，另外一个为注射液，作为方法验证样品。

试剂：G3 盐酸；G3 硝酸，自制 18.2 MΩ·cm 超纯水。

元素标准溶液

元素标液：购买自国家有色的元素单标。

内标溶液：使用 Ge，Tb，Bi 等元素作为内标。

样品前处理

取样品 25ml 加入 1ml 盐酸，0.5ml 硝酸，加入一定体积的混标，最后用纯化水稀释至刻度。线性配置采用 2%盐酸&1%硝酸溶液作为稀释剂。

仪器与方法关键参数

使用 Hansel iQuad 2300 型 ICP-MS 进行分析。使用一个流量的氦气 KED 模式。iQuad 2300 独特的电子稀释设计，可以在同一种氦气流量下，实现去除多原子离子质谱干扰的能力，同时区分不同元素受到的质谱干扰程度，实现针对性，差异化的抗干扰效果。

使用 ICP-MS 软件内的自动调谐功能对 ICP-MS 进行优化。

表 1 2300 ICP-MS 运行条件

参数	设置
RF 功率 (W)	1500
等离子体气流量(L/min)	14
氦气流速 (mL/min)	5.5
进样方式	三通在线加内标，蠕动泵提升
雾化器流量	1.05
雾化器类型	同心玻璃
积分时间	0.5-2s

之所以强调仪器 KED 效果的重要性是因为: 实验中的溶剂必须含有 2%盐酸以稳定 Ag, Hg, Os 与贵金属元素, 但同时带来了大量的 ClO, ClOH, ArCl 多原子离子质谱干扰。2300 强势的碰撞效果, 会在本次实验中发挥关键作用。

结果与讨论

限值与线性:

表2 元素杂质的PDE数据, 引自ICH-Q3D

元素	类别	口服PDE (µg/天)	注射PDE (µg/天)	吸入PDE (µg/天)
Cd	1	5	2	3
Pb	1	5	5	5
As	1	15	15	2
Hg	1	30	3	1
Co	2A	50	5	3
V	2A	100	10	1
Ni	2A	200	20	6
Tl	2B	8	8	8
Au	2B	300	300	3
Pd	2B	100	10	1
Ir	2B	100	10	1
Os	2B	100	10	1
Rh	2B	100	10	1
Ru	2B	100	10	1
Se	2B	150	80	130
Ag	2B	150	15	7
Pt	2B	100	10	1
Li	3	550	250	25
Sb	3	1200	90	20
Ba	3	1400	700	300
Mo	3	3000	1500	10
Cu	3	3000	300	30
Sn	3	6000	600	60
Cr	3	11000	1100	3

上表是ICH给出的不同摄入途径的元素PDE, 在不超过规定值时, 认为对人体健康没有显著风险。我们需要通过每日最大用量(MDI)来计算出限值, 再把样品稀释考虑进去就是对应的线性的J值。

$J = PDE / MDI \times \text{样品浓度}$, 美国药典要求至少两个标准 (0.5J和1.5J) 去画出标准曲线, 由于低于30%PDE的元素杂质可不再予以考虑, 制药公司通常使用0.3J进行风险评估。

表3 方法验证的线性设定浓度

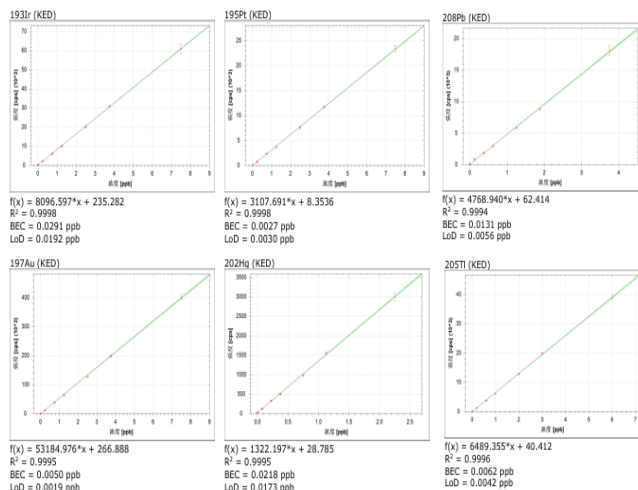
元素	10%J/ µg/l	30%J/ µg/l	50%J/ µg/l	100%J/ µg/l	150%J/ µg/l	300%J/ µg/l
Li	6.25	18.75	31.25	62.5	93.75	187.5

V	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Cr	27.5	82.5	137.5	275	412.5	825
Co	0.125	0.375	0.625	1.25	1.875	3.75
Ni	0.5	1.5	2.5	5	7.5	15
Cu	7.5	22.5	37.5	75	112.5	225
As	0.375	1.125	1.875	3.75	5.625	11.25
Se	2	6	10	20	30	60
Mo	37.5	112.5	187.5	375	562.5	1125
Ru	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Rh	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Pd	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Ag	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Cd	0.05	0.15	0.25	0.5	0.75	1.5
Sn	15	45	75	150	225	450
Sb	2.25	6.75	11.25	22.5	33.75	67.5
Ba	17.5	52.5	87.5	175	262.5	525
Os	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Ir	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Pt	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Au	0.25	0.75	1.25	2.5	3.75	7.5
Hg	0.075	0.225	0.375	0.75	1.125	2.25
Tl	0.2	0.6	1	2	3	6
Pb	0.125	0.375	0.625	1.25	1.875	3.75

在极端情况下, 如果样品中元素含量达到J附近, 添加1.5J的样品将导致浓度达到2.5J。再者当小于30%PDE时, 元素杂质可以不再考虑其风险。少数用户会刻意将考察范围做到10%PDE, 以此更好得监测元素杂质, 所以, 线性范围我们设置为0.1-3J。

为了实验配制的方便, 元素混标通过单元素标液, 混合成一个24元素混标; 内标溶液则是1%硝酸和2%盐酸中的200ppb锆、20ppb Tb和20ppb Bi溶液。

根据USP <730>的要求: 线性相关系数R不低于0.995, 本方法实际得到的线性R均大于0.999。



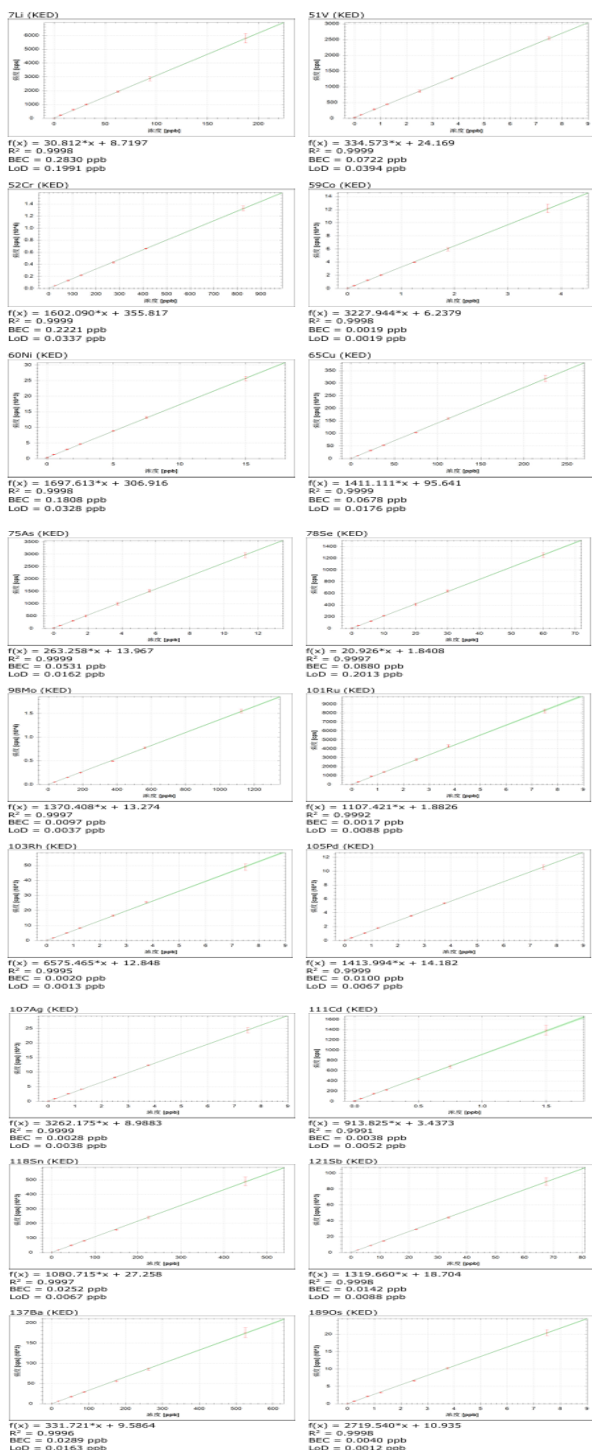


图1 本方法的24元素线性与质量数

理论定量限, 方法定量限 (LOQ) 方法检出限 (LOQ) 与准确度, 精密度的关系

根据美国药典的要求, 元素杂质分析方法需要进行定量限, 检出限的评估。本次实验的过程空白是2%盐酸/1%硝酸, 分别平行制备七份该空白溶液, 分别计算3SD, 10SD即可得到LOD与LOQ。

值得说明的是: 由于这些空白本质上并不含有样品基体, 所以该定量限浓度是后续实际加标浓度的极限。

根据USP<233> 要求: 在样品基体里加入0.1J, 0.3J, J, 1.5J浓度, 各自平行制备三份平行溶液。另外制备6组J浓度的样品加标溶液进行重复性判定。

表4 准确度与精密度的实验结果

项目	ACC-10, %	RSD, %	ACC-30, %	RSD, %	ACC-100, %	RSD, %	ACC-150, %	RSD, %
7Li	94	6	92	2	89	1	89	1
51V	93	4	94	4	94	1	93	1
52Cr	89	1	87	0.4	88	1	87	2
59Co	96	2	92	1	92	0.4	93	1
60Ni	94	3	90	1	89	2	89	1
65Cu	86	2	86	1	84	1	85	1
75As	97	6	92	1	92	2	94	1
78Se	91	5	90	2	90	3	90	2
98Mo	91	2	89	1	89	2	88	2
101Ru	107	5	102	4	105	2	105	2
103Rh	103	4	100	1	101	1	101	1
105Pd	100	3	98	1	97	3	98	2
107Ag	98	3	96	3	97	1	96	1
111Cd	86	6	95	2	95	1	96	2
118Sn	97	1	98	0.4	97	1	100	2
121Sb	103	1	102	1	102	0.4	104	1
137Ba	102	3	101	1	100	1	103	2
189Os	105	4	103	3	104	3	104	2
193Ir	98	1	95	3	97	1	96	1
195Pt	97	3	94	2	95	2	93	0.5
197Au	90	6	90	1	92	1	91	1
202Hg	111	6	96	6	96	2	97	0.2
205Tl	92	5	95	0.4	99	2	98	0.1
208Pb	100	3	97	4	96	1	97	2

四个浓度水平的加标回收率范围: 84.0%-110.9%, 精密度范围: 0.1%-6.5%, 完全满足USP<233>规定的: 加标回收率70%-150%, 精密度小于20%的要求

我们在此友情提醒行业内的用户: 精密度RSD较大的元素, 可以通过最低加标浓度与LOQ的比值预测: 数值较小的元素一般来说RSD会较差, 所谓仪器稳定性好, 其实是与LOQ能做得更低等价。LOQ不仅仅与一款仪器的出厂性能有关, 更与实验室环境, 试剂耗材, 仪器实际状态, 高氨气流量下的方法灵敏度有关。

表5 本方法24种元素LOD与LOQ/μg/l

项目	LOD	LOQ	10%J	10%J/LOQ
7Li	0.486	1.618	6.25	3.9
51V	0.037	0.124	0.25	2.0
52Cr	0.023	0.076	27.5	361.4
59Co	0.001	0.005	0.125	26.0
60Ni	0.031	0.104	0.5	4.8
65Cu	0.017	0.055	7.5	136.3
75As	0.026	0.088	0.375	4.3
78Se	0.094	0.311	2	6.4
98Mo	0.081	0.270	37.5	139.0
101Ru	0.004	0.012	0.25	21.1
103Rh	0.002	0.006	0.25	44.9
105Pd	0.008	0.028	0.25	8.8
107Ag	0.002	0.008	0.25	33.0
111Cd	0.002	0.008	0.05	6.7
118Sn	0.027	0.089	15	168.8
121Sb	0.008	0.027	2.25	82.4
137Ba	0.018	0.059	17.5	298.5
189Os	0.010	0.034	0.25	7.4
193Ir	0.011	0.038	0.25	6.5
195Pt	0.002	0.008	0.25	31.2
197Au	0.006	0.020	0.25	12.6
202Hg	0.006	0.019	0.075	3.9
205Tl	0.005	0.017	0.2	12.1
208Pb	0.005	0.015	0.125	8.1

表6 方法重复性结果/μg/l

元素	REP-1	REP-2	REP-3	REP-4	REP-5	REP-6	RS D
Li	70.9 2	72.4 4	73.1 9	70.1 2	74.7 8	72.0 7	2%
V	2.96	2.94	3.04	2.92	2.84	3.01	2%
Cr	307. 06	310. 51	321. 01	306. 51	297. 77	303. 34	3%
Co	1.47	1.51	1.52	1.44	1.50	1.51	2%
Ni	5.81	5.71	5.73	5.68	5.75	5.88	1%
Cu	81.2 0	83.1 1	81.7 5	81.6 7	82.3 3	82.5 7	1%
As	4.32	4.37	4.55	4.45	4.31	4.48	2%
Se	22.2 7	22.9 3	23.5 8	23.5 4	22.4 5	23.2 6	2%
Mo	431. 69	430. 79	441. 99	422. 39	423. 79	423. 47	2%
Ru	3.41	3.39	3.44	3.43	3.36	3.46	1%
Rh	3.29	3.20	3.24	3.27	3.30	3.42	2%
Pd	3.23	3.14	3.21	3.13	3.15	3.30	2%
Ag	2.39	2.48	2.48	2.39	2.43	2.44	2%
Cd	0.63	0.62	0.63	0.61	0.64	0.64	2%
Sn	190. 12	196. 34	195. 28	188. 42	193. 32	195. 46	2%
Sb	29.7 4	30.4 6	29.5 1	30.3 2	29.7 7	30.3 7	1%

Ba	227. 08	234. 41	233. 40	226. 99	233. 29	230. 33	1%
Os	3.44	3.33	3.43	3.31	3.44	3.50	2%
Ir	3.15	3.19	3.16	3.12	3.10	3.16	1%
Pt	3.11	3.04	3.07	3.03	3.03	3.06	1%
Au	3.00	2.96	3.01	2.94	3.02	3.03	1%
Hg	0.97	0.94	0.97	0.95	0.99	0.99	2%
Tl	2.59	2.49	2.49	2.53	2.56	2.60	2%
Pb	1.57	1.57	1.59	1.54	1.61	1.60	2%

溶液稳定性问题

在有意添加的情况下, ICH指导原则要求的元素可能为24种, 而这些元素化学性质不同, 将单标配成混标之后, 溶液稳定性, 对结果将会有显著的影响。尤其是储备液混标, 配制过程繁琐, 研究其稳定性对减少工作量, 提高分析精度, 减少异常很有价值。数据表明: 24中考察元素的稳定性为88%-106%, 满足分析基本要求。

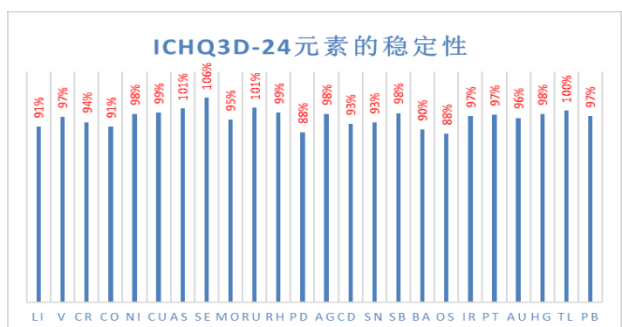


图2 稳定性数据: 以新配制的24元素混标配成100%J浓度下的混标溶液, 以新制溶液为基准, 标定放置23天的24元素混标配溶液配成100%J浓度下的溶液

市场上生理盐水的元素杂质水平

注射液的所有元素含量均低于LOQ, 也低于10%J, 完全符合ICH的元素杂质要求。清洗液用途的生理盐水, 整体上看: Cr, Ni, Sb, Ba, Pb高于LOQ, 但三个厂商的注射液仅有一家的Ni超过10%J同时低于30%J。

由于样品量少, 无法代替整体市场的元素杂质水平, 但至少在一定程度上可以说: 整理上生理盐水元素杂质水平没问题, 且生理盐水中: 注射液元素杂质含量由于清洗液, Ni元素可能是需要重点关注的元素。

表7 生理盐水测试结果/μg/l

元素	LOQ	10%J	注射液	清洗液-1	清洗液-2	清洗液-3
Li	1.618	6.250	-0.326	-0.159	-0.223	-0.294
V	0.124	0.250	-0.043	-0.059	-0.060	-0.058
Cr	0.076	27.50	0.045	0.081	0.157	0.706

PROCEDURES

Co	0.005	0.125	0.003	0.001	0.003	0.027
Ni	0.104	0.500	0.044	-0.038	0.025	0.656
Cu	0.055	7.500	0.036	0.312	0.139	0.059
As	0.088	0.375	0.004	-0.026	0.012	-0.009
Se	0.311	2.000	0.015	0.091	0.106	0.222
M o	0.270	37.50	0.022	0.077	-0.014	-0.039
Ru	0.012	0.250	0.005	0.003	0.005	0.004
Rh	0.006	0.250	0.001	0.001	0.001	0.002
Pd	0.028	0.250	0.006	-0.003	0.002	0.006
Ag	0.008	0.250	0.002	0.001	0.004	0.001
Cd	0.008	0.050	0.003	0.005	0.007	0.006
Sn	0.089	15.00	-0.035	0.033	-0.012	-0.027
Sb	0.027	2.250	0.000	0.092	0.112	0.322
Ba	0.059	17.50	0.128	0.034	3.590	0.073
Os	0.034	0.250	0.001	0.038	0.001	0.003
Ir	0.038	0.250	0.003	0.003	0.001	-0.005
Pt	0.008	0.250	0.004	0.004	0.008	0.008
Au	0.020	0.250	-0.001	0.011	0.000	-0.002
Hg	0.019	0.075	0.011	0.012	0.012	0.016
Tl	0.017	0.200	0.002	0.015	0.006	0.002
Pb	0.015	0.125	0.002	0.028	0.071	0.096

结论

1. 本次方法验证证明衡昇 iQuad 2300 型 ICP-MS 应对 ICH, USP 规范中的元素杂质分析的能力, 即便对于高盐基体, 把 24 元素做到 10%J 的浓度也是完全胜任。
2. 分析方法中由于 ΔH 这个参数的灵活性, 可以减少氦气气体切换的时间, 提高分析效率与方法灵活性。使得 iQuad 2300 可以只使用一个氦气流量进行 24 元素的分析。
3. 本次实验证明了 24 元素的溶液稳定性, 可以给大家提供参考, 市售的生理盐水整体上元素杂质控制得比较好。

参考文献

1. Guideline for elemental impurities. ICH Q3D(R2)
2. ICH Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and methodology
3. USP<232> Elemental Impurities-Limits
4. USP<233> Elemental Impurities-Procedures
5. USP<1226> VERIFICATION OF COMPENDIAL