

ICP-Optical Emission Spectroscopy

作者:

Ken Neubauer

Aaron Hineman

PerkinElmer, Inc.

Shelton, CT

根据美国药典通则 USP<232>/<233>，采用 ICP-OES 及新一代按照 21 CFR Part 11 法规要求设计 的软件，分析测定过敏药物 的应用

简介

随着美国药典 USP <232>/<233> 成品药元素杂质分析标准的实施^{1,2}，制造商必须检测成品中药中的金属含量是满足法规要求的。关于 USP<232>/<233> 法规的详细说明，可参考之前的文献³，本文仅作一些简要描述。USP <232> 中对目标元素定义的每日允许暴露限量值 (PDE) 是基

于给药途径的，如表 1 所示有口服，注射或吸入给药。相比口服药，注射和吸入式给药会更快的进入血液，因此它们的每日允许暴露限制会低一些。

表 1. USP <232> 规定的元素每日允许暴露值（口服和吸入用药）。

元素	类别	口服药物每日允许暴露值 * (µg/日)	注射药物每日允许暴露值 * (µg/日)	吸入药物每日允许暴露值 * (µg/日)
Cd	1	5	2	2
Pb	1	5	5	5
As (无机)	1	15	15	2
Hg (无机)	1	30	3	1
Co	2A	50	5	3
V	2A	100	10	1
Ni	2A	200	20	5
Tl	2B	8	8	8
Au	2B	100	100	1
Ir	2B	100	10	1
Pd	2B	100	10	1
Pt	2B	100	10	1
Os	2B	100	10	1
Rh	2B	100	10	1
Ru	2B	100	10	1
Ag	2B	150	10	7
Se	2B	150	80	130
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

* PDE = 每日允许暴露值按照 50 kg 人体体重计算。

USP<233> 中规定的分析要求都基于每个元素的 J 值而定的，J 值是根据药品每日允许暴露值（PDE）和样品制备过程中的稀释倍数共同确定的数值。考虑到 J 值的重要性，加上 J 值因元素和药品而异，珀金埃尔默可提供专业 J 值计算器。USP<233> 中规定验证定量分析方法的 4 个检查标准是准确性，重复性，重现性及系统适用性，表 2 列出了每个标准的要求。

制药公司和供应商要将产品销往美国，必须在监管的环境下运营，因此，按照法规 21CFR Part 11 要求对药品材料进行分析非常重要。该条例设定了有关电子记录、电子签名、审计追踪方面的标准，确保分析测试过程中数据的完整性和可靠性。Syngistix™ for ICP Enhanced Security™ 软件（4.0 版或更高版本）帮助公司满足 21 CFR Part 11 的法规要求，并且操作性最好。

表 2. USP<233> 定量程序分析标准。

标准	说明
准确性	检测 0.5J、J 和 1.5J 的加标样品，回收率必须介于 70-150% 之间。
重复性	按 J 值加标的六个独立样品，其测量值的相对标准偏差（RSD%）必须低于 20%。
重现性	用不同仪器或不同分析员在不同日期分析六份溶液。12 个测量值的相对标准偏差（RSD%）必须低于 25%。
系统适用性	在一批样品分析之前和结束时测量高校准标准溶液，两个结果之间的差异必须小于 20%。

本实验根据美国药典通则 USP<232>/<233>，使用 PerkinElmer Avio® 500 ICP-OES 及新一代按照 21 CFR Part 11 法规要求设计的软件，分析测定过敏药物。

实验

样品和样品制备

从本地采购三种不同品牌的过敏药；每种均含有 10 mg 氯雷他定作为有效成分。所有片剂单重 0.10 g，每日剂量一片。

采用 Titan MPS™ 微波样品制备系统（珀金埃尔默，美国康涅狄格州谢尔顿），利用表 3 所示样品和试剂完成样品制备。目的在于：在保持溶液稳定性的同时，尽可能减少样品制备中所需的酸，从而降低成本，减少浪费。硝酸（HNO₃）用于维持溶液中绝大多数元素的稳定性，而盐酸（HCl）则用于稳定汞（Hg）和铂族元素（PGE）的稳定。盐酸的存在，可能会引起 Ag 的问题，Ag 在低浓度的 HCl 中出现沉淀。然而，当盐酸量较大时，银较为稳定。因此，必须在完成消解所需的最少用酸量与使用足量的盐酸来稳定 Ag 和 PGEs 之间找到平衡。结果表明，3% HNO₃ + 3% HCl (v/v) 可以将样品完全消解，并且确保所有元素在溶液中都是稳定的。较低的 HCl 浓度会引起 Ag 和 / 或 PGEs 的问题。

在消解容器中加入每份样品，随后加入 HNO₃、HCl 和去离子水。同时对样品进行消解前加标。在对密封罐进行密封及微波消解前，将其敞口静置 10 分钟，以便在最初的反应中产生的气体能够安全排放。

Titan MPS 消解程序如表 4 所示。消解是在前两步完成的，第 3 步是快速冷却容器，以便安全操作。如果忽略这一步骤，可能需要更长的冷却时间。

需要注意的是，虽然二氧化硅是药物中的常用赋形剂，但是过敏药中不含作为非活性成分的二氧化硅（SiO₂）。含 SiO₂ 的片剂也可以按照类似的方法消解，但需要加入 0.5 mL 氢氟酸（HF）。有关含 SiO₂ 片剂的消解和分析，可参见另一份应用报告。⁴

表 3. 各消解容器中的样品量和酸用量。

样品	各消解容器数量	HNO ₃ 70% (mL)	HCl 35% (mL)	水 (mL)
片剂	1 片 = 0.10 g	1.5	1.5	7

表 4. Titan MPS 消解程序。

步骤	温度 (°C)	压力 (Bar)	爬升时间 (分钟)	保持时间 (分钟)	功率 (%)
1	160	35	5	1	90
2	190	35	5	5	100
3*	50	35	1	15	0

* 冷却步骤

根据 USP <233> 要求，配置 0.5J, 1.5J 的标准溶液在 3% HNO₃ + 3% HCl (v/v) 中，空白溶液中仅含有酸，所有测量都是根据外部标准曲线。为评估潜在干扰，可按 J 值制备各分析物的单一元素标准品，单独分析并观察光谱图。表 5 显示了本实验中不同 J 值下的分析物浓度。

表 5. 不同 J 值下的分析物浓度。

元素	0.5J (mg/L)	1J (mg/L)	1.5J (mg/L)
Cd	0.05	0.1	0.15
Pb	0.05	0.1	0.15
As	0.15	0.3	0.45
Hg	0.3	0.6	0.9
Co	0.5	1	1.5
V	1	2	3
Ni	2	4	6
Tl	0.08	0.16	0.24
Au	1	2	3
Ir	1	2	3
Pd	1	2	3
Pt	1	2	3
Rh	1	2	3
Ru	1	2	3
Ag	1.5	3	4.5
Se	1.5	3	4.5
Li	5.5	11	16.5
Sb	12	24	36
Ba	14	28	42
Mo	30	60	90
Cu	30	60	90
Sn	60	120	180
Cr	110	220	330

仪器条件

在表 6 所列条件和参数下，按照表 7 所示观测方式，采用 PerkinElmer Avio 500 ICP-OES 系统开展所有分析。采用标准进样组件和条件，其中氩气总消耗量是 9 L/min。所有测量均根据在 3% HNO₃ + 3% HCl (v/v) 中的校准曲线进行。在所有空白、标准品和样品中加入钇 (Y) 和钪 (Sc)，作为内标。

表 6. Avio 500 ICP-OES 仪器条件。

参数	数值
雾化器	MEINHARD® K 型
雾室	玻璃旋流雾室
采样速率	1.0 mL/min
射频功率	1500 W
进样管	2.0 mm id Alumina
雾化气流量	0.70 mL/min
辅助气流量	0.2 L/min
等离子体气流量	8 L/min
炬管位置	-3
高压	关闭
读取时间范围	1-5 秒
重复次数	3

表 7. 元素、波长和等离子体观测方式。

元素	波长 (nm)	等离子体观测
Ag	338.289	轴向
As	193.696	轴向
Au	242.795	轴向
Ba	233.527	径向
Cd	214.440	轴向
Co	238.892	轴向
Cr	267.716	轴向
Cu	327.393	轴向
Hg	194.168	轴向
Ir	208.882	轴向
Li	670.784	径向
Mo	202.031	轴向
Ni	231.604	轴向
Pb	220.353	轴向
Pd	340.458	轴向
Pt	214.423	轴向
Rh	343.489	轴向
Ru	240.272	轴向
Sb	217.582	轴向
Se	196.026	轴向
Sn	189.927	轴向
Tl	190.801	轴向
V	309.801	轴向
Sc (内标)	361.383	径向
Y (内标)	371.029	轴向

采用 Syngistix for ICP Enhanced Security (4.0 版本) 软件, 可满足制药行业数据完整性要求。本软件具备 Syngistix for ICP-OES 的所有功能及其他功能, 可满足 21 CFR 第 11 部分针对监管行业的所有要求, 包括电子签名、电子数据审查、按照权限不同设置用户和群组、审计追踪、版本追踪等等⁵。图 1-3 显示了电子签名、电子数据审查的示例, 以及同一方法不同版本之间的差异。

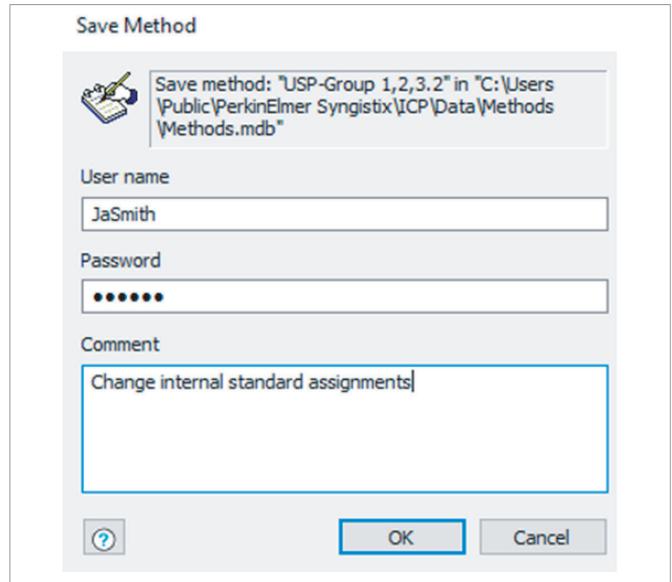


图 1. Syngistix for ICP Enhanced Security (4.0 版本) 电子签名示例。电子签名前, 需要输入用户名称和密码。如有需要, 可新增评论。管理员可设置何时需要电子签名。

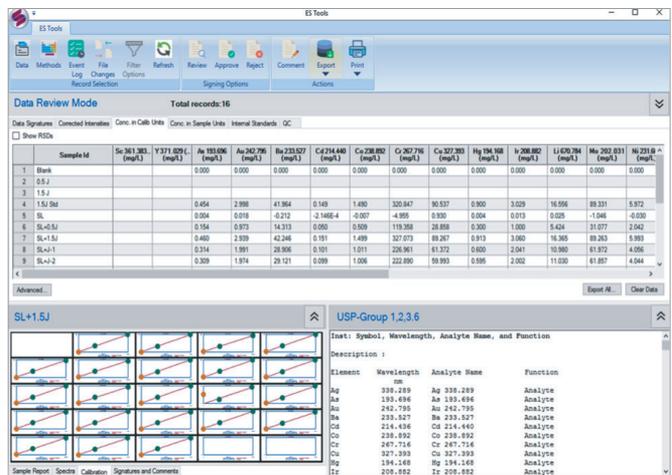


图 2. Syngistix for ICP Enhanced Security (4.0 版本) 电子数据审查示例。在数据模块中, 可并排比较结果、光谱和校准值, 以及在自定义窗口下审查和新增签名和评论。这有助于快速、方便查看数据。具有适当权限的人还可批准或拒绝数据。

Name	Version	Status	Signed By	Timestamp	Revision	Comment
USPGroup1-2A	3	Original	PKC -FPO	6/13/2018 10:11:38 AM		
USPGroup1-2Bnew cal	5	Original	PKC -FPO	6/13/2018 11:09:36 AM		Changed calibration units and va
USP-Group 1.2.3	9	Original	PKC -FPO	6/13/2018 2:08:59 PM		
USP-Group 1.2.3	9	Original	PKC -FPO	6/13/2018 2:08:59 PM		
USP-Group 1.2.3	8	Original	PKC -FPO	6/13/2018 2:08:38 PM		
USP-Group 1.2.3	7	Original	PKC -FPO	6/13/2018 2:08:19 PM		
USP-Group 1.2.3	6	Original	PKC -FPO	6/13/2018 2:08:53 PM		
USP-Group 1.2.3	5	Original	PKC -FPO	6/13/2018 2:08:22 PM		
USP-Group 1.2.3	4	Original	PKC -FPO	6/13/2018 1:58:59 PM		
USP-Group 1.2.3	3	Original	PKC -FPO	6/13/2018 1:58:02 PM		Change internal standard concen
USP-Group 1.2.3	1	Original	PKC -FPO	6/13/2018 11:25:59 AM		

Section	Parameter	USP-Group 1.2.3.9	USP-Group 1.2.3.2
1	Spectrometer Page-Define Analysis	Wavelength change	Analyte_Cd 214.462, Wavelength 214.44
2	Process Page-Spectral Corrections	BQC for analyte Cd 214.462	BQC1: 0.046, BQC2: 0.044
3	Process Page-Spectral Corrections	BQC for analyte Hg 194.168	BQC1: 0.040, BQC2: 0.040
4	Process Page-Spectral Corrections	BQC for analyte Pt 340.458	BQC1: 0.069, BQC2: 0.069
5	Process Page-Spectral Corrections	BQC for analyte Rh 343.459	BQC1: 0.072, BQC2: 0.072
6	Process Page-Spectral Corrections	BQC for analyte V 309.310	BQC1: 0.066, BQC2: 0.066

图 3. 在 Syngistix for ICP Enhanced Security (4.0 版本) 中, 通过文件变更功能, 可快速简便地显示同一方法不同版本之间的差异或两个不同方法之间的差异。在文件变更模式下, 选择两种方法或同一方法的不同版本, 点击显示差异按钮即可。界面将显示不同方法差异列表, 便于批准或拒绝方法。

结果和讨论

干扰评估

为评估潜在干扰, 采用单元素标准物质测量所有分析物, 并比较光谱图。本实验表明, 某些分析物也可能干扰其他分析物, 导致结果偏差和不准确性。因此, 分析员必须格外小心, 因为即使测量时存在干扰, 也可能通过 USP <233> 标准。对绝大多数分析物而言, 可选择不存在干扰的波长, 但砷 (As)、铑 (Rh) 和铱 (Ir) 属于例外情况。图 4 是存在铂 (Pt) 和铬 (Cr) 干扰的 As 193.696 nm 的光谱图。每种元素浓度为 1.5J。显然, Cr 和 Pt 峰与 As 峰重叠明显。

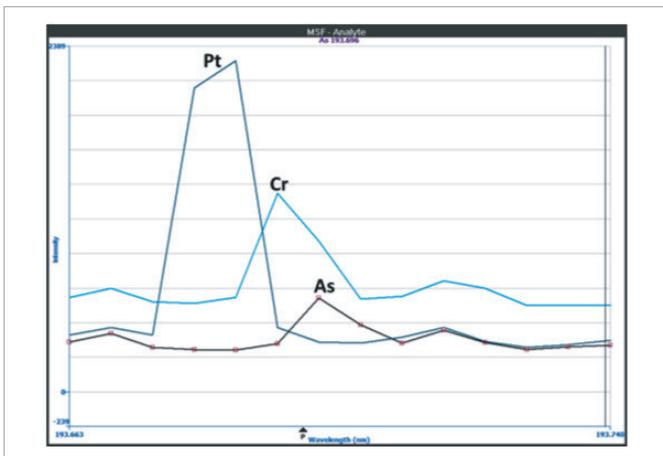


图 4. As 193.696 nm 以及铂 (Pt) 和铬 (Cr) 光谱图。所有单一元素标准品均为 1.5J 浓度水平。

这些干扰可通过多元光谱拟合技术 (MSF) 来消除。MSF 是 Syngistix 软件里用来消除光谱干扰的工具。^{6,7} 图 5 显示了应用 MSF 后的 As 光谱图, 其消除了光谱重叠, 确保无干扰地分析 As。

在 Rh 和 Ir 中也应用了 MSF (图中未显示), 二者均存在钼 (Mo) 光谱干扰。在正确使用的前提下, MSF 有助于消除干扰, 改善检测限。

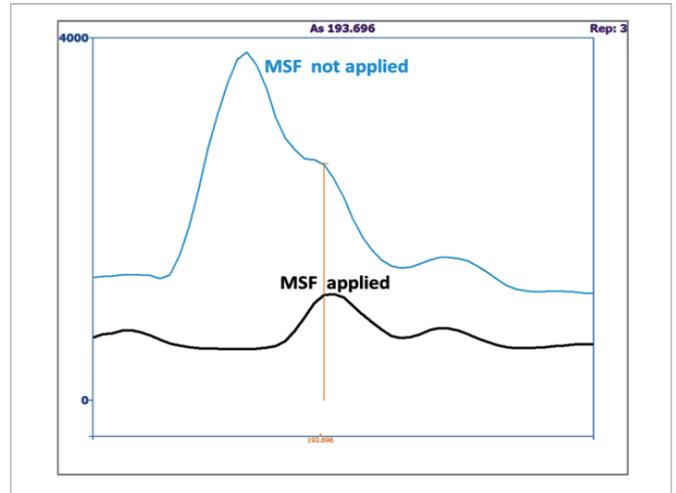


图 5. 应用 MSF 前 (蓝色) 后 (黑色), 过敏药片中 As 193.696 nm 光谱情况 (1.5J 分析物加标)。

样品分析

各元素在所有分析样品中的浓度均低于 0.3J, 该值比每日允许暴露值 (PDE) 低三倍以上, 常用作可操作临界值。

满足 USP<233> 标准

为满足表 2 中所列的评估标准, 选择一个品牌的过敏药, 按照所有验证要求进行测试。

首先, 分别在样品批次分析开始 (及校准后) 和结束时测量 1.5J 标准品测定系统的适应性。系统漂移值低于 4% (图 6), 说明该方法完全满足 20% 的可接受限制。

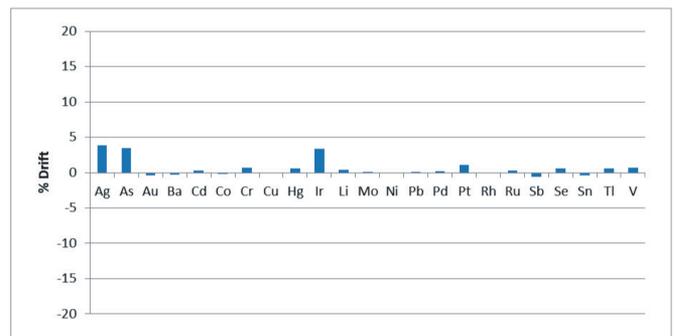


图 6. 系统适用性: 通过在批次样品分析前和结束时, 测量 1.5J 标准样得出的漂移值

满足系统适用性标准后, 对方法的准确度进行评估。按照准确度的评估标准, 样品消解前, 分别加入 0.5J, 1J 和 1.5J 的浓度。再将加标样品加入微波消解容器内, 完成全部样品消解程序后, 并进行分析, 结果可证明样品制备过程没有分析物的损失。图 7 显示所有回收率均在 10% 内, 完全满足 70-150% 的方法标准要求。

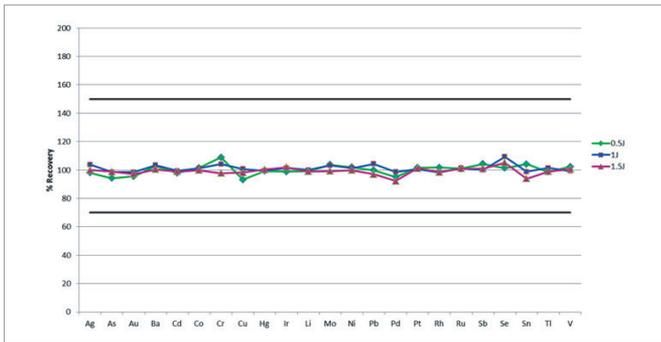


图 7. 过敏药片中加标 0.5J、1J 和 1.5J 的回收率。黑线表示 USP<233> 限值。

在确认方法的准确性后，接下来对测量重复性进行评估，对六个样品进行消解前加标（按照元素杂质限制水平 J 值加标），再对样品进行分析，结果显示所有测量值的相对标准偏差 RSD 均低于 6%，轻易满足法规不高于 20%（NMT）的标准要求。

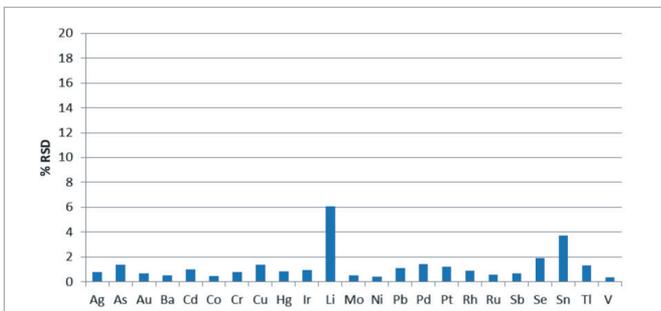


图 8. 六个单独片剂加标样品（消解前）的 RSD。

最后，通过在两个不同日期，分析相同六个溶液的方法，验证方法的重现性。12 次测量的 RSD 值显示远低于 25% 的方法标准要求值（图 9），轻易满足该要求。

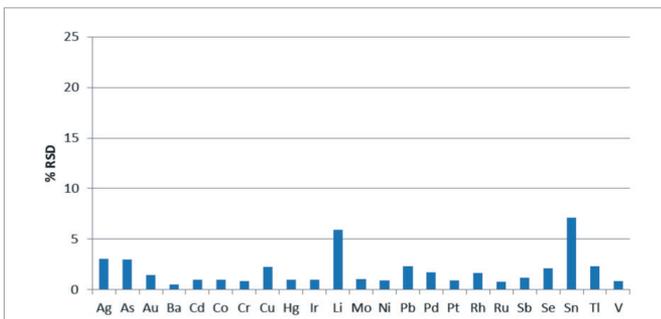


图 9. 在不同的 2 天分析过敏药的六个加标样品（消解前）的 RSD（共 12 个测量值）

结论

该应用证明 Avio 500 ICP-OES 完全满足 USP <232>/

<233> 对口服过敏药的检测要求，采用的 Syngistix for ICP Enhanced Security 软件（4.0 版）为帮助实验室符合 21 CFR Part 11 法规的要求提供了工具。Titan MPS 密闭消解仪可在无分析物损失，用酸量最小的前提下，完成快速全消解。光谱干扰问题可以尽可能通过选择其它波长避免，对于找不到无干扰的谱线可用的元素，可采用 MSF 技术消除干扰。

制药公司和供应商将产品销售至美国，必须符合 21 CFR Part 11 法规要求。Syngistix™ for ICP Enhanced Security™ 软件（4.0 版本）具备 21 CFR Part 11 法规要求的功能（例如数据完整性、电子签名和电子记录、安全审查追踪等），确保监管实验室数据的安全性和可追溯性。因此，采用 Avio 500 ICP-OES 及 Syngistix for ICP Enhanced Security 软件（4.0 版本），所开发的方法完全满足 USP<232> 关于系统适用性，准确性，重复性和重现性的要求。

参考文献

1. General Chapter <232> Elemental Impurities – Limits: 2nd Supplement of USP 35-NF 30.
2. General Chapter <233> Elemental Impurities – Procedures: 2nd Supplement of USP 35-NF 30.
3. "Implementation of USP New Chapters <232> and <233> of Elemental Impurities in Pharmaceutical Products", white paper, PerkinElmer, 2013.
4. "Analysis of SiO₂- and TiO₂-Containing Medications Using ICP-OES Following USP 232/233 Guidelines with Software Designed to Aid in 21 CFR Part 11 Compliance", application note, PerkinElmer, 2018.
5. "Syngistix for ICP Enhanced Security Software for 21 CFR Part 11 Compliance", product note, PerkinElmer 2018.
6. "Multicomponent Spectral Fitting", technical note, PerkinElmer, 2017.
7. "Using Multicomponent Spectral Fitting to Resolve Difficult Interferences in Metallurgical Samples with the Avio 500 ICP-OES", application note, PerkinElmer, 2017.

所用耗材

耗材	部件编号
进样管，黑 / 黑 (0.76 mm id), PVC	N0777043 (敞口) 09908587 (非敞口)
排液管，红 / 红 (1.14 mm id)	09908585 (PVC) N077319 (弹性混合物)
自动进样管	B0193233 (15 mL) B0193234 (50 mL)

珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司
地址：上海张江高科技园区张衡路 1670 号
邮编：201203
电话：021-60645888
传真：021-60645999
www.perkinelmer.com.cn



欲获悉全球办事处的完整清单，请登录 www.perkinelmer.com/ContactUs

版权 ©2018，珀金埃尔默公司。版权所有。PerkinElmer® 是珀金埃尔默公司的注册商标。所有其他商标属于相应所有者的财产。