

药用辅料功能性及安全性研究 应用文集



前言

药用辅料是药物制剂的基础材料，在药品成分中的占比通常在 80%以上。其能够提高药品稳定性，并具有增溶、助溶、赋形、充当载体、缓控释等功能。药用辅料与药物的临床疗效、生物利用度、毒副作用等密切相关，是实现药品安全、高效的基础，因此药用辅料是药品质量控制的重要组成部分。

自第一版《中国药典》(1953 年版)开始即收载药用辅料，最初只收载辅料品种，至 2010 年版《中国药典》扩充了药用辅料的药典标准体系，2015 年版药典的药用辅料标准与通则类标准合并单独形成了《中国药典》第四部。到目前 2020 版《中国药典》，药用辅料标准体系更加完备。2020 版《中国药典》中总共包含 355 种药用辅料的标准，其中新增 65 种，修订了 212 种，整体辅料标准都得到极大提升，对制药企业提出了更高的要求。

在药品的生产过程中，为了保证高效生产并最终得到符合质量要求的产品，会加入各种外源性辅料。药用辅料作为一种化学物质，并非完全惰性的，有些辅料不仅有活性甚至还有一定的毒性。对药用辅料的功能性和安全性进行评价对药品质量控制具有重要意义。

药用辅料检测的项目说明：1、对辅料进行定性鉴别和定量测定，确保使用的辅料未被掺假或污染；2、杂质检查。应选择一些灵敏度高，专属性强的检测仪器，比如 LC/MS,GC/MS。对于一些金属杂质，还需要了解其价态来确定是否有毒性；3、药理学、毒理学研究。对于新型的辅料，需考察其药代效果，以及是否会与原料药、药包材接触而产生基因毒性杂质等有害物质。

为满足国内迅速发展的行业需求和发展形势，针对药用辅料的功能性和安全性，岛津企业管理（中国）有限公司分析中心开发出一系列针对制剂中辅料的分析解决方案。本应用文集将这些应用汇总整理，为客户实验室质量管理人员提供更多分析方法选择，帮助其提高分析实验室的分析方法开发效率。

岛津企业管理（中国）有限公司
分析中心

目 录

第一章、药用辅料功能性及安全性	1
一、功能性和安全性要求	1
二、相关规定及标准	4
三、当前研究热点和应用方向	6
第二章、药用辅料功能性及安全性应用数据集	9
一、药用辅料功能性评价	9
1、含量分析	9
HPLC 测定中/长链脂肪乳注射液中大豆油和中链甘油三酸酯的含量	11
LCMS 法检测角鲨烯疫苗佐剂中司盘 85	15
LCMSMS 定量重组人白介素中十二烷基硫酸钠	20
AAS 测定注射用头孢他啶中助溶剂碳酸钠的含量	26
GC 用于聚山梨酯 80 中的脂肪酸含量比例分析	29
GC 测定供药用和药用辅料的脂类物质中脂肪酸组成	31
2、粒度与晶型分析	38
SALD 测定二氧化钛粉末样品的粒径分布	39
药用蒙脱石晶型与杂质含量控制	42
3、分子量测定	45
MALDI-TOF MS 检测 PEG23000 的分子量及分布	46
MALDI-TOF MS 检测多西他赛注射剂中的吐温 80 分子量	49
MALDI-TOF MS 对注射剂中辅料吐温 80 进行降解评价	53
MALDI-TOF MS 检测乙交酯丙交酯共聚物 (PLGA) 的分子量及分布	57
GPC 测定玻璃酸钠相对分子质量及其分布	60
二、药用辅料安全性评价	64
1、元素杂质分析	65
ICPMS 测定二氧化硅中多种金属杂质元素的含量	69
ICPMS 测定注射剂辅料中的元素杂质含量	73
ICPMS 测定中链甘油三酸酯中杂质元素含量	78
ICPMS 测定明胶空心胶囊中的多种重金属元素	82
2、有机杂质分析	87

GC 测定吐温 80 中乙二醇、二甘醇、三甘醇	90
GC 测定药用辅料聚山梨酯 80 中 6 种杂质含量	94
GCMS 结合 SPME Arrow 定性分析吐温降解产物	98
Nexera Mikros 微流量在线捕集系统检测乳糖辅料中微量 α -乳白蛋白	102
LC 测定淀粉中马来酸与马来酸酐总量及富马酸含量	109
3、其它	113
制药行业纯净水中总有机碳分析干湿法对比	114
X 射线衍射法测定药用滑石粉中的石棉	118
气相色谱法测定供药用和药用辅料的脂类物质中反式脂肪酸含量	122
附录：本文集收录分析检测项目及对应分析仪器快速索引	129

第一章、药用辅料功能性及安全性

一、功能性和安全性要求

近年来随着我国药品审评审批制度改革，特别是仿制药一致性评价和原辅包与制剂关联评审的深入推进，制药行业得到快速发展。与此同时，药用辅料的研制、生产和使用也得到了前所未有的关注和推动。

药用辅料系指生产药品和调配处方时使用的赋形剂和附加剂，是除活性成分以外，在安全性方面已进行了合理的评估，一般包含在药物制剂中的物质。在作为非活性物质时，药用辅料除了赋形、充当载体、提高稳定性外，还具有增溶、助溶、调节释放等重要功能，是可能会影响到制剂的质量、安全性和有效性的重要成分。因此，应关注药物辅料与药品的相互作用及其本身的安全性。

药用辅料产业的高质量发展是我国制药行业高质量发展的重要基础。作为制剂配方的重要组成部分，药用辅料在标准体系建设、质量管理体系、上下游供应链管理等诸多方面发力，不断促进制剂质量的提升。



药用辅料研发流程

药用辅料的分类可从来源、用途、剂型、给药途径进行分类。

按来源分类可分为天然物、半合成物和全合成物。

按用于制备的剂型分类主要包括片剂、注射剂、胶囊剂、颗粒剂、眼用制剂、鼻用制剂、栓剂、丸剂、软膏剂等。

按用途分类可分为溶剂、抛射剂、增溶剂、助溶剂、乳化剂、着色剂、黏合剂等。

按给药途径分类可分为口服、注射、黏膜、经皮或局部给药、经鼻或吸入给

药和眼部给药等。

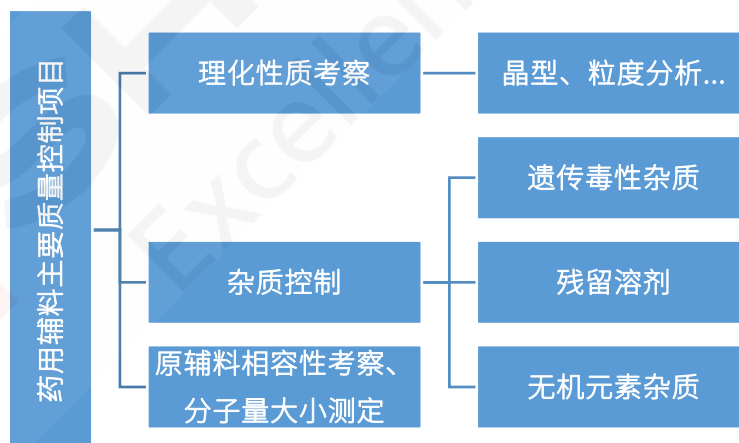
同一药用辅料可用于不同给药途径、不同剂型、不同用途。

对辅料功能性和制剂性能具有重要影响的物理化学性质，可称为药用辅料的功能性相关指标（functionality-related characteristics, FRCs）。如稀释剂粒径可能影响固体制剂的成型性，增稠剂分子量可能影响液体制剂的黏度，粒径和分子量就属于功能性相关指标。因此，对功能性相关指标的测定、分级和制定限度范围对保证制剂的质量具有重要意义。

药用辅料的功能性一般取决于其物理化学性质，某些情况下，还可能受副产物或药用辅料中其他附加剂影响。药用辅料需在制剂中发挥其功能性，制剂的处方工艺均可能对药用辅料功能性的发挥产生显著影响。因此，药用辅料功能性相关指标的评价应针对特定制剂及其处方工艺，并通常采用多种研究方法对功能性相关指标进行研究。

药用辅料功能性相关指标主要针对一般化学的手段难以评价功能性的药用辅料，如稀释剂等十九大类。

药用辅料和药物活性成分共同组成了我们日常使用的药品，药用辅料同药物活性成分一样全程参与了体内的吸收、分布、代谢、排泄过程，所以药用辅料的安全性直接影响了药物制剂的质量。辅料相对于制剂中的活性成分而言，应该属于惰性物质。然而，现有研究报道很多辅料可引起不良反应，如苯甲醇致喘息，丙二醇致溶血等等。所以对其中有生理活性成分的限度控制是药用辅料安全性评价的重要组成部分，也是药用辅料主要质量控制项目中的重要一环。



药用辅料质量控制项目

药用辅料质量控制体系中主要对辅料的质量以及毒性成分进行控制，合格的药用辅料必须通过质量控制体系，并符合安全性要求。

一般安全性要求包括：

- 1) 无毒害，无副作用
- 2) 无不良影响，不降低药效

- 3) 化学性质稳定，不受外界条件影响
- 4) 与主药无配伍禁忌，不影响主药疗效和质量检测
- 5) 不与包装材料发生作用
- 6) 用量小，作用大

在实际工作中发现，不是所有的辅料均是惰性物质，其中一些辅料已经表明具有潜在的毒性。而一些药用辅料由于潜在的毒性引发了药害事件，如 30 年代的磺胺酞剂悲剧，在这一事件中，磺胺酞剂中未经监测的辅料是致服用该制剂很多儿童死亡的元凶。次年，美国联邦食品、药品和化妆品法案（法案）颁布，该法案要求生产者进行药物制剂的安全性测试，并提交新药申请（NDAs）来保证上市之前的安全性。所以从那时起，FDA 已经意识，某些用于商业产品中的其他辅料可能会在美国和其他国家的处方药和非处方药（OTC）消费者中造成严重的毒性反应。

因此针对辅料的具有明确分析方法质量标准，对于严格控制辅料质量和提高用药安全性，有着重要的影响。同样的，对于药用辅料而言，它是药品中的重要成分，尽管不是活性成分，但对制剂性能的影响是不言而喻的。在一定程度上，药物制剂中的药用辅料质量(特别是规格、级别)是药品的核心，在仿制药质量和疗效一致性评价中发现有原研企业专门定制其辅料，成为仿制的重要门槛。

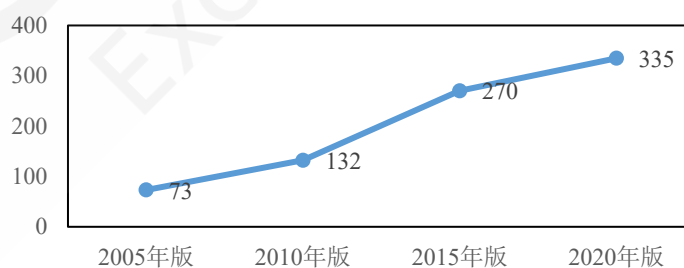
仿制药质量和疗效一致性评价的推进，让业界充分认识了药用辅料功能性和安全性研究的意义，必将推动药用辅料的发展。合理制定药用辅料标准，可有利于保证药用辅料本身和制剂的安全性，并使功能性指标符合关联制剂的性能。

二、相关规定及标准

以我国的情况来看,《中国药典》对药用辅料质量标准的收载工作起步较晚,药典辅料标准的收载量在较长历史阶段始终维持较低水平。近年来,随着药用辅料的重要性被广泛认同,我国药用辅料产业和药用辅料标准研究得到较快发展。从历史沿革看,《中国药典》中收载药用辅料品种正文的形式可大体分为三个阶段。第一阶段:从第一版《中国药典》(1953年版)开始,就收载了蒸馏水、盐酸、醋酸、硝酸等药用辅料标准,这既体现了药用辅料标准对于药品质量控制的重要性,也充分说明了《中国药典》对于药用辅料高度关注由来已久。从第二版(1963年版)起,《中国药典》分为一部(中药)和二部(化药为主)两部,药用辅料标准被纳入二部药典,与其他品种混合编排,此种方式一直延续到2005年版药典之前。

第二阶段:从2005年版《中国药典》开始,药用辅料改为在二部中单独列出,称为“正文品种第二部分”,更便于检索查阅;该版药典共收载73个药用辅料标准。2010年版《中国药典》新增62个药用辅料标准,总数扩增至132个;该版还首次收载了药用辅料的通则(附录II),扩充了药用辅料的药典标准体系。

第三阶段:自2015年版《中国药典》,药用辅料标准与通则类标准合并单独形成了《中国药典》第四部,新增138个药用辅料标准,总数扩增至270个;并首次收载了9601<药用辅料功能性指标研究指导原则>,强化了药用辅料功能性相关指标在标准体系中的地位。2020年版药典继续扩大药用辅料品种标准的收载,新增65个,修订212个(有实质修订的116个,仅文字规范的96个);新增药用辅料指导原则2个,修订药用辅料通则和指导原则各1个。所列数据表明,本版药典的药用辅料标准体系更加完备。

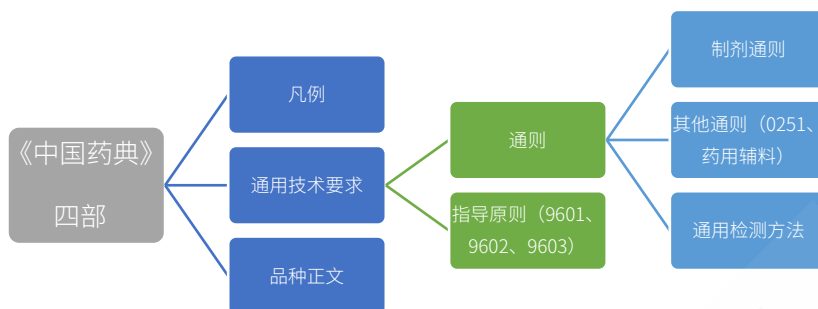


《中国药典》收载药用辅料品种数量变化趋势

2020年版药典三位一体结构更加清晰,药用辅料标准由品种正文及其引用的凡例、通用技术要求共同构成。

2020年版药典收载的药用辅料通用技术要求包括通则0251<药用辅料>,9601<药用辅料功能性相关指标指导原则>(修订)、9602<动物源药用辅料指导原则>(新增)和9603<预混与共处理药用辅料质量控制指导原则>(新增)3个

指导原则以及相关的通用检测方法。



2020年版药典药用辅料通用技术要求结构图

新版药典对于药用辅料的高质量发展提出了新的标准要求。药用辅料标准和要求的升级可以更好地规范药品制造行业或者是上游供应商，在保证药品安全有效方面提供了有力保障。

对比而言，发达国家对药用辅料的监管更为全面。美国对药用辅料的采用DMF (Drug Master File, 药品主文件) 管理制度，是一种为原辅包企业提供，向监管机构提交其机密信息以支持第三方药品申请人所提交申请的制度。另外还建立了药品生产登记制度和非活性成分数据库 (IID) 等配套措施，前者收录了生产者的生产场地和其生产的药品清单，这些信息可用于 FDA 进行上市后不良反应检测、现场核查、监测进口产品等监督，后者数据库包含了 FDA 已批准药品中使用的辅料信息，如名称、给药途径、化学物质登记号 (CAS 号)、唯一成分识别号 (UNII)、最大用量等，以上信息有助于企业进行产品研发和监管者监管，DMF 管理结合配套措施制度形成多方面多领域管理方式，极大提高管理效率。

欧洲药品质量管理局 (EDQM) 对药用辅料也进行了相应监管，包括《欧洲药典》专论的药用辅料适用性认证制度 (CEP) 和欧洲药物管档案 (EDMF) 备案两种方式。CEP 证书只能处理《欧洲药典》收藏的物质，包括原料药和药用辅料，可控制用于药品的质量，我国的药用辅料也可申请 CEP 证书；而 EDMF 适用于除生物原料外的左右原料药，若该辅料已获得 CEP 证书，则在上市许可申请中辅料部分可以由 CEP 证书替代其相关资料；二是对于《欧洲药典》未收录的辅料，则与制剂一同进行审评。

主要国家和地区药用辅料管理制度比较

	美国	欧洲	中国
管理制度	DMF	CEP 认证	随制剂提交资料
审评审批	与制剂关联评审	独立	非独立
适用范围	关键性辅料	EP 收录	EP 未收录
适用标准	《美国药典国家处方集》	《欧洲药典》及各成员国药典	《中国药典》部颁标准、地方标准及行业适用标准

三、当前研究热点和应用方向

《中国药典》辅料标准正文的起草是基于国内已有药用辅料的使用情况、供应现状或生产水平而修订的。《中国药典》辅料标准以严谨为根本，顺应行业发展、分析技术发展和工业发展需要，标准水平不断提高。我国药用辅料的标准存在标准缺失、标准不完善和方法陈旧等问题。因此，当前在我国制药行业中，科学构建药用辅料药典标准体系显得非常重要。

药用辅料研究中，功能性指标是针对特定用途制定的，是反映辅料使用功能的关键参数，是辅料质量的核心。随着色谱技术得到越来越多的应用，该类方法已经成为药用辅料鉴别的重要方法。针对占据现有使用辅料较大比例的高分子型辅料，其关键物质含量，平均分子量及分子量分布的情况均会影响其物理性质与加工性能。因此针对开发如 HPLC 测定中长链脂肪乳注射剂中大豆油和中链甘油三酯的含量、GC 用于聚山梨酯 80 中脂肪酸含量比例分析、GC 法测定脂类物质中脂肪酸组成等色谱方法，作为鉴别的重要项目。

与此同时，针对疫苗等生物制剂中含有的微量辅料检测，尝试了色谱联用技术提升检测的灵敏度和准确性，如本册文集中收录的疫苗佐剂角鲨烯案例，为增加角鲨烯佐剂在疫苗溶液中的分散度，进而增加佐剂对抗原蛋白的吸附，往往需要在佐剂中加入表面活性剂，如吐温 80 和司盘 85。这两种表面活性剂具有分子量分布宽，色谱峰较宽，紫外响应较低的特点，如果以蒸发光散射检测器为检测手段，难以检测到两种表面活性剂的分离，以及表面活性剂与角鲨烯的分离。本文集以 LCMS-2020 为检测器，提高检测选择性和检测灵敏度，实现角鲨烯佐剂中司盘 85 的选择性检测。

聚合物类辅料的分子量属于药用辅料的功能性指标，不同的分子量及分子量分布表现出该类物质不同物理化学性质，进而体现不同的用途，如不同分子量的聚乙二醇（PEG）就有溶剂、包衣剂剂乳膏基质等不同的用途，而在制药过程中发挥不同的作用。传统对于高分子量物质的分子量及分布测定常采用凝胶排阻色谱（GPC），操作时间长，影响因素多。随着质谱技术的发展，越来越多的情况下，研究者尝试使用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF）快速得到聚合物的分子量分布、多分散性以及端基结构信息，MALDI-TOF 具有分析速度快、仪器维护方便和软件合规的特点，已是聚合物分析的有力工具。

在固体制剂中，大量使用的填充剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、掩味剂、稳定剂等可能会对终产品的性能如：溶解度、生物利用度、含量均匀度、稳定性等产生显著的影响。究其原因，同原料药一样，辅料粉体的颗粒特性也是制剂产品开发和质量控制中至关重要的因素之一。粒径及粒径分布是颗粒特性的重要体现，

药典收录的粒径检测方法有筛分法和激光衍射法。筛分法虽然简单易操作，但受限于筛层数，所以对粒径分布的测量略显粗糙，在一定程度上影响了结果的精度。而激光粒度仪测量方法具有测量粒径范围大、分辨率高、检测速度快、重复性好等特点，并且整个操作过程一般都可以在 3-5 分钟之内完成，结果输出为连续的粒径分布数据，全面而详尽，此外使用仪器检测对结果的完整性和有效性更加有保障。因此，在辅料现代化研究中将有越来越多的项目考虑使用激光粒度仪。本文集中以遮光剂二氧化钛的研究为例，介绍了 SALD-2300 产品在粒度分布上的应用。

另一方面，安全性评价中杂质的研究主要关注污染和使假掺杂，生物毒素、重金属元素污染等是其重要方面。以重金属元素为例，辅料中重金属含量超标会直接影响最后制剂中重金属的含量，药品含有重金属不但会影响药效，还会对人体健康造成威胁，要严格按照标准控制药品中重金属的含量。所以药用辅料中重金属的检测是药品检验中常见项目，检测元素种类包括铜、铅、铬、镍、锡等。USP 和 ICHQ3D 颁布了金属元素限量的要求，我们新版药典也对药用辅料标准元素杂质项目进行了相关修订，相比传统的比色法方法，原子吸收分光光度法等，增加了 ICPAES 和 ICPMS 法的比例，可以更为快捷、准确测定辅料中重金属残留。本文集结合热点和研究方向，收录了如辅料二氧化硅和明胶空心胶囊中多种金属元素测定的 ICPMS 方法供读者参考。

在有机杂质方面，辅料中的有机杂质种类较为复杂。有的有机杂质和药物的不良反应密切相关，必须在标准中加以控制。如常用的药用辅料吐温 80 在合成工艺及使用和存储中会产生一些副产物和降解产物，包括乙二醇、二甘醇与三甘醇。GC 法可以很好的完成对其残留量的检测工作。

除常见小分子杂质外，蛋白类大分子物质的残留也对辅料的安全性产生威胁。乳糖是近些年来使用越来越广泛的药用辅料，作为赋形剂及填充剂能提高片剂硬度，增加抗磨性能，而且可以提高片剂在体内的溶出性，促进体内生物利用度的作用。由于乳糖在自然界中仅存在于哺乳动物的乳汁中，工业中从乳清中提取，其中难免存在残留的动物蛋白如乳清蛋白、乳白蛋白等成为人体使用中的过敏原。基于含量低但副作用大的原因，开发一种高效、灵敏、可靠的检测方法显得尤为重要，而 LCMSMS 结合微流液相分离手段让检测能力得到了进一步提升。

此外，在药典辅料标准正文中，除常见的色谱、质谱和光谱类方法外，其他如 X 射线衍射等新方法的使用也得到推广。例如，滑石粉作为重要的药用辅料，其中的石棉残留是一类致癌物质，《中国药典》自 2015 年版开始增加了 X-衍射用于滑石粉中石棉的检测，其对于保护患者具有重要意义。

我国药用辅料研发和生产相较于欧美发达国家和地区发展起步晚，存在一定

的差距，但在我国医药工业迅猛发展的带动下，近些年取得了长足发展。随着国民生活质量改善与提高，民众对药品安全性要求提高，药用辅料作为影响医药制剂安全性和先进性的重要物质之一，当前其开发和应用的的重要性已开始引起医药界和国家相关主管部门的高度重视，集合新分析方法和应用方案的辅料功能性和安全性研究势必成为当下研究的热点和方向。



第二章、药用辅料功能性及安全性应用数据集

一. 药用辅料功能性评价

对辅料功能性和制剂性能具有重要影响的物理化学性质，可称为药用辅料的功能性相关指标。如稀释剂粒径可能影响固体制剂的成型性，增稠剂分子量可能影响液体制剂的黏度，粒径和分子量就属于功能性相关指标。因此，对功能性相关指标的测定、分级和制定限度范围对保证制剂的质量具有重要意义。

药用辅料的功能性一般取决于其物理化学性质，某些情况下，还可能受副产物或药用辅料中其他附加剂影响。药用辅料需在制剂中发挥其功能性，制剂的处方工艺均可能对药用辅料功能性的发挥产生显著影响。因此，药用辅料功能性相关指标的评价应针对特定制剂及其处方工艺，并通常采用多种研究方法对功能性相关指标进行研究。

针对药用辅料的功能性评价，会使用到不同的分析手段：例如使用 LC、LCMS 分析辅料含量，激光粒度仪分析辅料粒度，对于分子量的分析则可以使用 MALDI-TOF 等手段。

岛津是全球领先的仪器供应商拥有完整的色谱、质谱、光谱产品线，为药用辅料的功能性评价提供全方位的解决方案，创造全新的可能性。本章汇编岛津药用辅料功能性研究应用解决方案，共收录应用文章 13 篇，涉及 LC、LCMS、LCMSMS、GPC、AAS、GC、SALD、MALDI-TOF 等相关仪器，供相关领域人员参考。

1、含量分析

高效液相色谱法是药用辅料含量测定的重要手段，一般采用紫外检测器进行数据采集，对于一些紫外吸收较弱，它们的定性和定量需要使用液相通用型检测器，如糖类、吐温和聚乙二醇的检测，示差折光检测器 (RID) 和蒸发光检测器 (ELSD)、LCMS、LCMSMS 则是解决这一问题的有力武器。



Nexera LC-40



LCMS-2020



LCMS-8050

对于一些挥发性和半挥发性的药用辅料可采用气相色谱法进行测定，如二甲醚、十八醇等。而一些无机助溶剂的测定可采用 AAS、ICP 等光谱仪。



AA-7000

本章节收录了近期使用岛津 HPLC、LCMS、LCMSMS、AAS 等仪器对药用辅料含量进行测定的文章，仅供相关领域同仁参考。

HPLC 测定中/长链脂肪乳注射液中大豆油和中链甘油三酸酯的含量

摘要: 建立高效液相色谱-蒸发光散射检测法 (HPLC-ELSD) 测定中/长链脂肪乳注射液中大豆油和中链甘油三酸酯的含量。方法采用 Shim-pack HRC-SIL 色谱柱, 以正己烷- 异丙醇 - 冰乙酸为流动相, 蒸发激光散射检测器检测。定量测定的大豆油和中链甘油三酸酯重现性良好, 在 5 -200mg/L 浓度范围内, 两组分峰面积的自然对数分别与相应浓度的自然对数呈良好线性关系, 相关系数分别为 0.9996 和 0.9997, 加标回收率在 90%以上。本方法准确、快捷、方便, 是直接测定中/ 长链脂肪乳注射液中大豆油和中链甘油三酸酯含量的有效方法。

关键词: 大豆油、中链甘油三酸酯、高效液相色谱-蒸发激光散射检测法

中/长链脂肪乳注射液是肠外营养支持疗法中所应用的新一代脂肪乳剂。由于在危重病、外伤、手术等应激病患者的救治中,以其合理的供能、提供必需脂肪酸、提高蛋白利用率和提高免疫系统功能等许多优点而受到医学界的重视。该注射液由大豆油和中链甘油三酸酯、卵磷脂、甘油、注射用水经乳化、均质而成。由于大豆油和中链甘油三酸酯为无紫外吸收的物质, 无法采用液相色谱

法常规的紫外检测器检测, 因此本文采用 HPLC-ELSD 法同时测定注射液中的大豆油和中链甘油三酸酯含量。

ELSD-LT II 低温型蒸发光散射检测器是岛津公司最新推出的产品, 该产品采用低温蒸发技术, 保证了半挥发性或热不稳定性化合物的高灵敏度检测。同时通过改良检测单元中的设计来降低峰展宽, 获得极高的灵敏度。

1. 实验部分

1.1 仪器

Shimadzu LC-20A系统, 包括LC-20AD输液泵, DGU-20A3在线脱气机, SIL-20AC自动进样器, CTO-20AC柱温箱, ELSD-II蒸发光散射检测器, CBM-20A系统控制器, LCSolution工作站

1.2 分析条件

色 谱 柱: Shim-pack HRC-SIL, 4.6 mm ID×150 mm L, 5.0 μm

流 动 相: 正己烷: 异丙醇: 冰醋酸 = 99.45: 0.5: 0.05

流 速: 1.0 mL/min

柱 温: 30°C

检 测: ELSD检测, 雾化气: N₂ 350KPa, 蒸发温度: 40°C

进样体积： 10 μ L

1.3 样品前处理

标准品溶液的制备 取大豆油及中链甘油三酸酯对照品各 0.25g，精密称定，置 50ml 量瓶中，加正己烷-异丙醇（1：1）的混合溶液，使溶解并稀释至刻度。精密量取 0.1、0.2、0.4、1.0、2.0 和 4.0 mL，分别置 100ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀，制得含量分别为 5.0、10、20、50、100、200mg/L 的标准溶液。

样品溶液制备 精密量取中/长链脂肪乳注射液 1ml 置 50ml 量瓶中，用上述混合溶液稀释至刻度，摇匀，精密量取 3ml，置 100ml 量瓶中，用流动相稀释至刻度，摇匀。

2. 结果讨论

2.1 标准色谱图

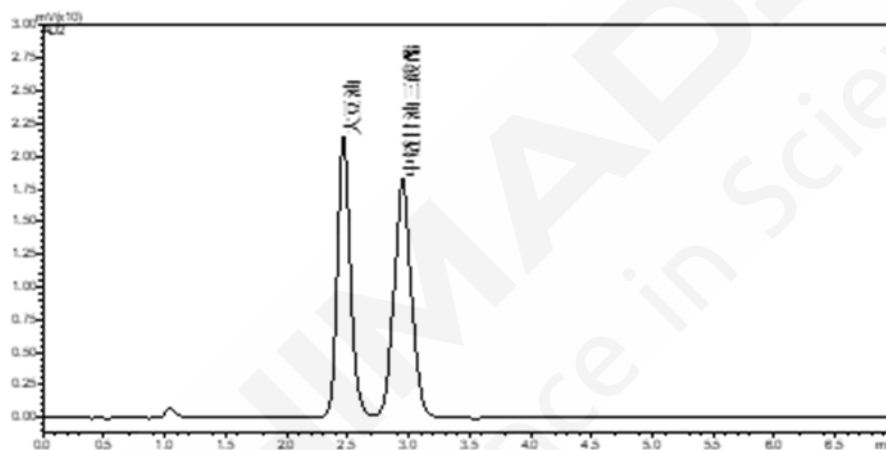


图 1 大豆油和中链甘油三酸酯标准样品色谱图（50 mg/L）

2.2 线性范围和检出限

取含大豆油和中链甘油三酸酯分别为 5.0、10、20、50、100、200mg/L 的标准样品，进样 10 μ L，以峰面积自然对数和浓度自然对数计算线性回归方程。实验结果如图 1，大豆油保留时间 2.521 min，中链甘油三酸酯的保留时间为 3.047 min，二者分离度为 2.03，分离良好。大豆油线性回归方程为 $\ln C = 0.5693 \times \ln A - 2.9141$ ($r = 0.9996$)，中链甘油三酸酯线性回归方程： $\ln C = 0.5658 \times \ln A - 2.9129$ ($r = 0.9997$)，在 5.0 - 200mg/L 浓度范围内，线性关系良好。大豆油和中链甘油三酸酯的检出限和定量限，见表 1。

表 1. 大豆油和中链甘油三酸酯的检出限和定量限

组分	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
大豆油	0.97	3.23
中链甘油三酸酯	1.10	3.67

2.3 精密度

取含量50mg/L标准样品连续进样5次，考察保留时间和峰面积的精密度。实验结果如下，保留时间RSD%< 0.2%，峰面积RSD%< 1.6%。

表 2. 精密度考察结果 (n=5)

	大豆油		中链甘油三酸酯	
	保留时间 (min)	峰面积	保留时间 (min)	峰面积
1	2.519	171821	3.044	199401
2	2.520	165264	3.046	197850
3	2.524	169221	3.053	193517
4	2.523	168166	3.053	194570
5	2.518	170512	3.041	200564
Average	2.521	168997	3.047	197180
RSD(%)	0.103	1.47	0.178	1.54

2.4 加标回收率试验

取中/长链脂肪乳注射液样品，分别添加10mg/L和100mg/L两个浓度级别的标准样品，考察回收率。样品加标色谱图见图2，回收率结果见表3，回收率结果良好，均大于90%。

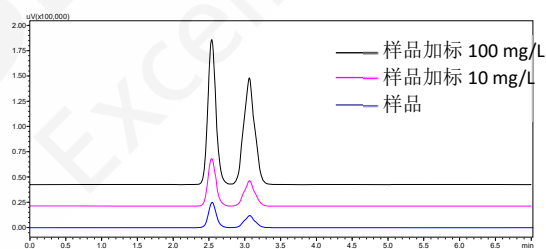


图 2 样品加标色谱图

表 3 样品加标回收率考察结果 (%)

	加标 10 mg/L		加标 100 mg/L	
	大豆油	中链甘油三酸酯	大豆油	中链甘油三酸酯
1	95.2	96.4	101.6	103.2
2	91.5	90.3	98.0	96.9
3	91.3	92.9	95.1	94.2
Average	92.7	93.2	98.2	98.1

3. 结论

本文使用岛津液相色谱-蒸发光散射检测器，建立了同时检测中/长链脂肪乳注射液中大豆油和中链甘油三酸酯的方法，该方法准确、方便，重现性、回收率、线性范围内的相关性等均能满足要求，是直接测定中/长链脂肪乳注射液中大豆油和中链甘油三酸酯含量的有效方法。



LCMS 法检测角鲨烯疫苗佐剂中司盘 85

摘要: 本文利用 LCMS-2020 液相色谱-质谱联用仪, 建立了一种角鲨烯佐剂中司盘 85 的测定方法。在 10~1000 mg/L 浓度范围内线性关系良好, 相关系数达到 0.999 以上, 方法检出限在 3 mg/L。50 mg/L、200 mg/L、500 mg/L 标准品溶液各连续进样 6 针, 峰面积 RSD 分别为 3.78%、0.79%、2.75%。100 mg/L、200 mg/L、250 mg/L 加标浓度的加标回收率为 95.77%~97.56%。该方法简单方便, 能够有效准确的检测疫苗佐剂中司盘 85 的含量。

关键词: LCMS-2020液相色谱-质谱联用仪 司盘85 疫苗佐剂

佐剂是很多疫苗的重要组成部分。佐剂的加入降低了抗原蛋白的使用量, 从而降低疫苗生产成本、疫苗毒性并增加疫苗的活性。铝佐剂是中国市场上唯一批准使用的疫苗佐剂。随着近年来疫苗事件的发生以及新型疫苗的出现, 研发新佐剂的需求逐渐提升。角鲨烯作为一种新型的油乳剂类的疫苗佐剂, 具有可生物降解的优势, 在流感疫苗的开发中得到了广泛应用。随着新冠疫情的发展, 新冠疫苗的研发进展迅速。由于新冠疫苗需求量大, 灭活病毒数量有限, 为了降低抗原使用量, 增加免疫效果, 新冠疫苗中需

使用一定量的佐剂, 如传统的铝佐剂和新型佐剂。

为了增加角鲨烯佐剂在疫苗溶液中的分散度, 从而增加佐剂对抗原蛋白的吸附, 往往需要在佐剂中加入表面活性剂, 如吐温 80和司盘85。这两种表面活性剂具有分子量分布宽, 色谱峰较宽, 紫外响应较低的特点, 以蒸发光散射检测器为检测手段, 难以实现两种表面活性剂的分离, 以及表面活性剂与角鲨烯的分离。本文以LCMS-2020为检测器, 提高检测选择性和检测灵敏度, 实现角鲨烯佐剂中司盘85的选择性检测。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30AD 与 LCMS-2020 联用系统, 具体配置为:

系统控制器:	CBM-20A	脱气机:	DGU-20A ₅
输液泵:	LC-30AD×2	自动进样器:	SIL-30AC
柱温箱:	CTO-30A	质谱检测器:	LCMS-2020
色谱工作站:	LabSolutions Ver. 5.91		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱	: Shim-pack GIST C18 (50 mm×2.1 mm I.D., 2 μm, P/N: 227-30001-02, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)
流动相	: A 相-水; B 相-乙腈
流速	: 0.3 mL/min
柱温	: 40°C
进样量	: 0.5 μL
洗脱方式	: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 70%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
6.00	泵	B.Conc	89
6.01	泵	B.Conc	95
8.00	泵	B.Conc	95
8.01	泵	B.Conc	70
10.00	控制器	Stop	

质谱条件:

分析仪器	: LCMS-2020	DL 温度	: 250°C
离子源	: ESI (+)	加热模块温度	: 200°C
雾化气流速	: 1.5 L/min	干燥气流速	: 15 L/min
接口温度	: 400°C	扫描模式	: SIM
SIM 参数	: 451.30		

2. 样品前处理

表 2. 化合物信息

中文名	英文名	CAS 号
司盘 85	Span-85	26266-58-0
吐温 80	Tween 80	9005-65-6
角鲨烯	Squalene	7683-64-9

准确量取 40 μL 样品加入离心管中, 加入 660 μL 乙腈, 涡旋混匀, 加入 300 μL 二氯甲烷, 涡旋混匀, 备用。

3. 结果与讨论

3.1 溶解度考察

考察吐温 80、司盘 85 和角鲨烯分别在水、乙腈、甲醇、石油醚、二氯甲烷中的溶解度，取 100 μ L 溶质加入 900 μ L 溶剂，结果如表 2 所示。吐温 80、司盘 85 和角鲨烯均可与二氯甲烷互溶。角鲨烯佐剂是角鲨烯、吐温 80 和司盘 85 以一定比例混合后分散于水溶液中制得。为了实现样品的完全溶解，本研究采用混合溶剂溶解样品。用乙腈稀释样品后，加入二氯甲烷，样品溶解性良好，可直接进样到 LC-MS 系统分析。样品溶剂中乙腈与二氯甲烷的体积比约为 7:3。

表 2. 溶解度考察结果

溶质\溶剂	水	乙腈	甲醇	石油醚	二氯甲烷
吐温 80	溶解	溶解	溶解	乳浊液	溶解
司盘 85	分层	分层	分层	溶解	溶解
角鲨烯	分层	分层	分层	溶解	溶解

3.2 蒸发光散射检测器与质谱检测器比较

检测司盘 85 的传统方法是用蒸发光散射检测器，本文优先使用蒸发光散射检测器建立了方法，分析了吐温 80、司盘 85、角鲨烯单标和未知样品。结果如图 1 所示，吐温 80 存在多个色谱峰，该色谱峰与司盘 85 的色谱峰部分重叠。司盘 85 出峰情况与吐温 80 类同，色谱峰较为分散，且与吐温 80 和角鲨烯均有重叠之处，以 ELSD 为检测器难以实现司盘 85 的定量分析。

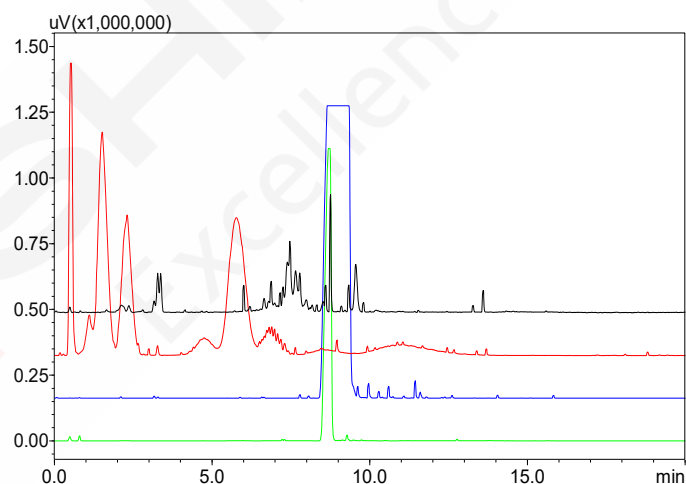


图 1. ELSD 检测器色谱图（自上而下，黑色：司盘 85；红色：吐温 80；蓝色：角鲨烯；绿色：未知样品）

以 LCMS-2020 为检测系统建立方法，司盘 85、吐温 80 和角鲨烯均为混合物，质谱信息较为复杂，利用 SIM 模式选择司盘 85 的一个特征离子 (m/z 451.30) 进行检测，结果如图 2 所示。吐温 80 和角鲨烯单标在司盘 85 出峰处无干扰，可实现角鲨烯佐剂中司盘 85 的选择性检测和含量测定。

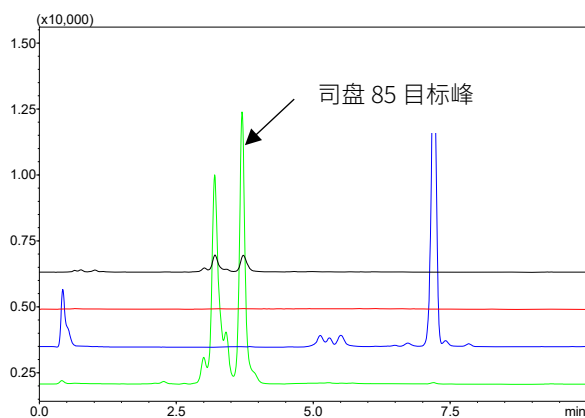


图 2. 质谱检测器色谱图 (自上向下, 黑色: 标准样品-10 ppm; 红色: 溶剂; 蓝色: 吐温 80 角鲨烯混合样品; 绿色: 未知样品)

通过比较, 本文选择 LCMS-2020 进行后续方法的建立。

3.3 方法学参数

3.3.1 标准曲线

用乙腈二氯甲烷溶液 (乙腈: 二氯甲烷体积比为7: 3) 分别配制10、20、50、200、500、1000 mg/L的司盘85标准溶液。取0.5 μ L进样, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标做标准曲线, 标准曲线如图3所示, 结果如表3所示。

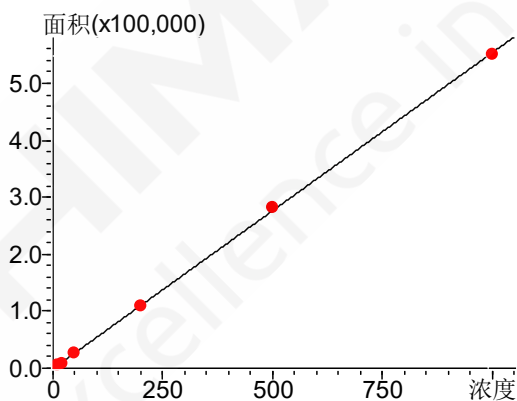


图 3. 司盘 85 标准曲线

表 3. 各组分相关系数及检出限

名称	线性方程	线性范围(mg/L)	相关系数	准确度(%)
司盘 85	$Y = (554.482) X + (-678.259)$	10~1000	0.9999	87.9~102.5

3.3.2 方法重复性

取50 mg/L、200 mg/L、500 mg/L标准品溶液各连续进样6针, 考察仪器的重复性, 测定结果见表4。

表 4. 司盘 85 重复性结果 (n=6)

组分名称	浓度 (mg/L)	峰面积 RSD(%)
司盘 85	50	3.78
	200	0.79
	500	2.75

3.3.3 回收率

将疫苗佐剂样品按照前文第2节前处理方法处理后进行100 mg/L、200 mg/L、250 mg/L浓度加标后上机检测，平行3份样品考察回收率和RSD，具体结果如表5所示。三个浓度加标的回收率在95.77%-97.56%范围内，RSD不超过6.37%。

表 5. 添加回收率结果

组分名称	浓度 (mg/L)	平均回收率 (%)	RSD(%)
司盘 85	100	96.54	1.29
	200	97.56	6.37
	250	95.77	5.76

3.3.4 检出限与定量限

以信噪比不小于 3 为检出限 (LOD)，不小于 10 为定量限(LOQ)。测得本方法的 LOD 和 LOQ 如表 6 所示。

表 6. 定量限与检出限

组分名称	项目	浓度 (mg/L)	信噪比 S/N
司盘 85	定量限	10	12.16
	检出限	3	4.75

3.4 角鲨烯佐剂中司盘 85 的定量

将佐剂样品按照第 2 节的方法处理后,进样到 LCMS-2020 系统分析,结果如表 7 所示。两次测试样品,测得样品中含量接近,表明该方法具有较好的重复性。两批次角鲨烯佐剂中,司盘 85 的含量接近,表明该佐剂具有较好的批次重复性。

表 7. 佐剂样品检测结果

样品批号	平行 1 (mg/L)	平行 2 (mg/L)	平均值 (mg/L)
1	3176.400	3201.975	3189.188
2	3316.175	3342.175	3329.175

4. 结论

本方法采用岛津 LCMS-2020 检测角鲨烯疫苗佐剂中司盘 85, 在 10~1000 mg/L 浓度范围内标准曲线线性良好, 相关系数在 0.999 以上, 方法检出限为 3 mg/L。三个浓度标准溶液重复性考察 RSD 小于 3.78%, 精密度良好。三浓度的加标回收率为 95.77%-97.56%。两批样品检测结果分别为 3189.188 mg/L 和 3329.175 mg/L。该方法简单方便, 能够有效准确的检测角鲨烯疫苗佐剂中司盘 85 的含量。

LCMSMS 定量重组人白介素中十二烷基硫酸钠

摘要: 本文用 LCMS-8045 建立了重组人白介素中十二烷基硫酸钠 (SDS) 含量测定的方法。系统考察了流动相和色谱柱对峰形 (灵敏度) 的影响, 对比了不同提取溶剂 (盐溶液、酸溶液、碱溶液和乙腈水溶液) 对测定结果的影响。此外还考察了加标回收、测试精密度、进样重复性、灵敏度和线性范围等参数。结果显示, 本方法具有较宽的线性范围、较好的重复性 (峰面积 RSD% <3%)、较好的回收率 (93%-99%) 和较高的检测灵敏度 (进样 1 μL 所得 LOQ 为 9.34 $\mu\text{g}/\text{L}$)。该方法可用于重组人白介素样品中 SDS 的检测。

关键词: LC-MS/MS 重组人白介素 十二烷基硫酸钠 SDS

表面活性剂十二烷基硫酸钠 (SDS) 是常用的生物制品 (尤其是蛋白类生物制品) 助溶剂, 能促进蛋白溶解并维持蛋白样品的稳定性。但过量的 SDS 会对人体产生副作用, 因此应将 SDS 用量控制在明确的安全范围内。此外, 在重组蛋白的质量标准研究汇总发现, 用鲎试剂法检测细菌内毒素含量和用抑菌圈法测定残余抗生素活性时, 检品中的 SDS 对实验结果有干扰, 必须将其中的 SDS 稀释到一定的浓度后才能排除干扰。无论监

控产品中 SDS 含量, 还是避免其对重组蛋白测试结果的影响, 均需要对产品中 SDS 的含量进行测定。

SDS 是一种紫外吸收弱的化合物 (如图 1), 难以通过紫外检测器直接检测, 有必要发展一种前处理简单、抗干扰能力强、灵敏度高、适合复杂基质中 SDS 含量测定的方法。本文开发的高效液相串联质谱法, 可应对上述要求, 适合重组人白介素中间品和成品中 SDS 的含量测定。

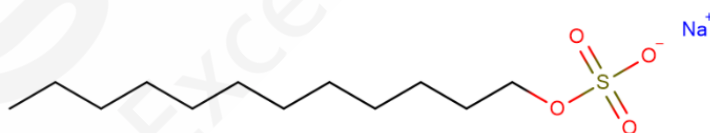


图 1. SDS 结构

1. 实验部分

1.1 仪器

LC-30AD (高压二元泵), SIL-30AC_{MP} (自动进样器), CTO-20AC (柱温箱), CBM-20A (系统控制器); LCMS-8045 (三重四极杆质谱仪) 配 ESI 电离源; LabSolutions Ver. 5.96 (色谱工作站)。

1.2 分析条件

色谱条件

色谱柱：Kinetex C18 (2.1 x 50 mm, 2.7 μ m)

流动相：A-5 mMNH₄Ac+0.01%FA 水溶液；
B-0.01%FA-乙腈

柱温：30°C

梯度：见表 1

流速：0.3 mL/min

进样体积：1 μ L

进样清洗：三路清洗方式 (R0-R1-R2)

质谱条件：

1) LCMS-8045

离子源：ESI，正模式

雾化气流速：3.0 L/min

干燥气流速：10 L/min

驻留时间：10 ms

接口温度：300°C

MRM 参数：见表 2

DL 温度：250°C

接口电压：4.0kV

表 1. 梯度程序

时间 (min)	B%	时间 (min)	B%
0	20	4.1	20
3	90	7	20
4	90		

表 2. MRM 参数

物质名称	前体离子	产物离子	驻留时间 (msec)	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
SDS	265.0	97.0*	10	18.0	26.0	15.0
		80.0	10	13.0	55.0	30.0

*表示定量离子

2. 样品前处理

对照品溶液：称取适量 SDS (Sodium dodecyl sulfate, 购自 Sigma, CAS #: 151-21-3) 对照品，用水配制成 1 mg/L 的母液备用。取母液适量，用 0.1%FA-水溶液逐级稀释、配制成浓度为 1-1000 μ g/L 范围内的对照品溶液。

原液：用 500 mM 磷酸盐水溶液稀释至 1 mL，配成原液母液。取 100 μ L 母液，用 500 mM 磷酸盐水溶液逐级稀释 100 倍 (中间溶液)；取中间溶液 100 μ L，加 900 μ L 乙腈，混匀后，14000 r/min，离心 10 min，取上清液分析。

成品：用 500 mM 磷酸盐水溶液溶解到 1 mL，配成成品母液。取 100 μ L 母液，用 500 mM 磷酸盐水溶液逐级稀释 100 倍 (中间溶液)；取中间溶液 100 μ L，加 900 μ L 乙腈，混匀后，14000 r/min，离心 10 min，取上清液分析。

加标回收：取对照品母液 100 μ L、加入 100 μ L 水和 800 μ L 乙腈 (对照)；取 100 μ L 样品、加入 100 μ L 水和 800 μ L 乙腈 (样品)；取 100 μ L 样品、加入 100 μ L 对照品母液和 800

μL 乙腈，混匀（加标样品）。将以上溶液以 14000 r/min 离心 10 min 后，取上清液分析。
回收率= ((A 加标样品-A 样品) / A 对照) × 100% 。A: 目标化合物峰面积。对照品溶液浓度为测试样品浓度的 80%、100%和 120%。

3. 结果与讨论

3.1 色谱条件优化

SDS 为强阴离子，容易与反相色谱柱残留的高能位点基团作用，出现拖尾峰。本文考察了有机相种类和水相添加剂种类对峰形的影响。与甲醇相比，乙腈可为 SDS 提供更为对称的峰形。以乙腈为有机相，进一步考察了纯水相、水相添加甲酸（0.1%）和水相添加甲酸铵-甲酸（2 mM 甲酸铵-0.01%甲酸）对 SDS 峰形的影响，结果如图 2 所示。纯水相条件下，色谱峰呈现出两边展宽的现象，水相添加甲酸出现前伸峰，水相添加甲酸铵-甲酸，色谱峰峰宽降低且无明显拖尾或前伸。因此，选择乙腈作为有机相，添加甲酸铵-甲酸的水相作为另一相，用于 SDS 分析。

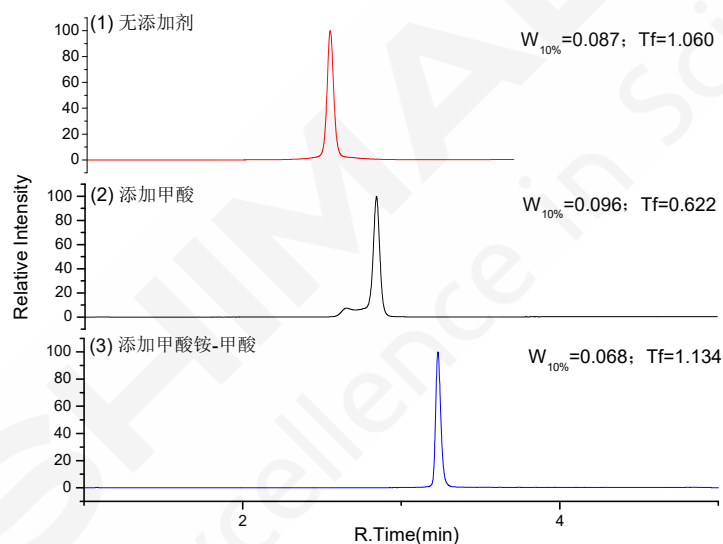


图2. SDS色谱条件优化谱图 (W10%:10%峰高处峰宽; Tf: 拖尾因子)

3.2 提取条件优化

本文考察了乙腈、5%甲酸、5%氨水、500 mM 乙酸铵(pH =6)和 500 mM 磷酸二氢钠 (pH=6.8)作为提取剂对 SDS 提取的影响，结果如表 3 所示。不同提取溶剂均可实现 SDS 的提取，但磷酸盐作为提取溶剂测得的含量稍高。因此，选择磷酸盐作为提取溶剂。

表 3. 不同提取溶剂对 SDS 测定结果的影响

提取溶剂	原液 (μg/L)	成品 (μg/L)
乙腈	620.7	139.2
5%甲酸	610.7	149.6
5%氨水	591.3	138.4
500 Mm 乙酸铵(pH =6)	597.6	148.7
500 mM 磷酸二氢钠(pH =6.8)	625.1	155.9

3.3 方法学考察

取 1.2 所述各浓度对照品溶液，按照 1.3 所述分析条件进行测定。用 ASTM 法，以目标化合物 S/N 不小于 3 和 10 所对应的浓度分别为 LOD 和 LOQ 浓度，测得本方法中 SDS 的 LOD 为 4.67 $\mu\text{g/L}$ (S/N=5.3)，LOQ 为 9.34 $\mu\text{g/L}$ (S/N=11.0)。以待测样品大致浓度为中心，左右共取 5-6 个浓度点，以浓度为横坐标，目标化合物峰面积为纵坐标，各组分线性回归方程及相关系数见表 4。结果表明各组分在考察浓度范围内线性关系良好， R^2 大于 0.999，各标准点精准度在 95-105% 之间。

表 4. 各组分工作曲线及相关系数

No.	名称	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	线性方程	R^2
1	SDS	9.34-1000	$A = 1559.5 C - 11961$	0.9992

取高 (299 $\mu\text{g/L}$)、中 (74.75 $\mu\text{g/L}$)、低 (18.69 $\mu\text{g/L}$) 三个浓度的 SDS 对照品溶液，平行进样 5 针，计算目标化合物的峰面积相对标准偏差 (RSD%) 分别为 2.78%、1.49% 和 0.89%，可满足定量分析的需求。

本文从两方面考察了方法的回收率：第一、不同基质对回收率测试的影响(原液和成品)；第二、不同来源产品中不同浓度的加标回收。其中，不同基质的加标以浓度居中的样品 (约 500 $\mu\text{g/L}$) 为考察对象，考察 100% 加标，原液和成品的回收率分别为 99.8% 和 97.2%。不同来源产品中不同浓度的加标回收 (80%、100% 和 120% 加标) 考察结果如表 5 所示，无论是低浓度还是高浓度加标回收，均可得到较好的回收率，回收率在 93.2%-98.7% 之间。

表 5. 不同来源产品加标回收率

来源编号	样品中 SDS 浓度 ($\mu\text{g}/$ 支)	RSD%		
		80%加标	100%加标	120%加标
3	3.9	95.2%	94.5%	95.6%
2	240.2	94.0%	93.2%	94.6%
2	376.3	97.9%	98.7%	98.4%

3.4 样品测试

将本方法用于 24 批次重组人白介素中 SDS 的含量测定，结果如表 6 所示，典型色谱质谱图如图 3 所示。

表 6. 不同来源重组人白介素产品中 SDS 的含量测定

来源编号	样品编号	SDS (µg/支)	来源编号	样品编号	SDS (µg/支)
原液	P01	356.4	M03	P18	410.6
M01	P02	318		P19	500.4
M02	P03	339.5		P20	372.2
	P11	613.6	M04	P05	32.0
	P12	590.4	M05	P06	550.6
	P13	628.9		P22	387.5
	P14	732.6	M06	P07	8.1
	P15	662.0	M07	P08	12.6
M03	P04	510		P09	395.9
	P21	350.5		P10	625.9
	P16	349.0		P23	15.9
	P17	315.7		P24	412.2

注：P23 和 P08 为液体

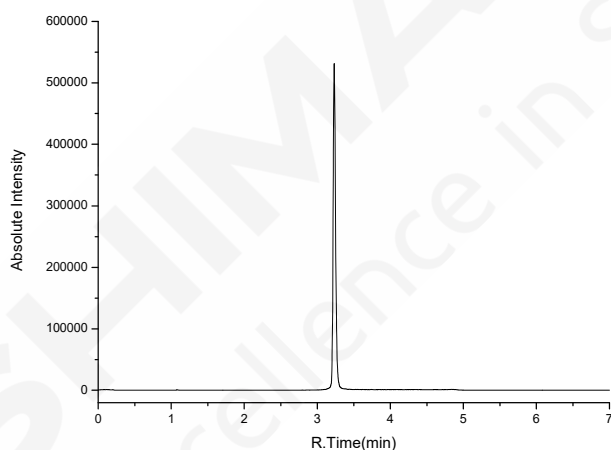


图 3. P05 中 SDS 含量测定

从结果可以看出，SDS 在原液和成品中的含量从几 µg/支到几百 µg/支不等，并且溶液样品中 SDS 的含量显著低于固体样品。怀疑为样品稳定性影响。

进一步测试样品稳定性，溶解固体后进行溶解后立即测试和放置 5 天后测试，两次测试结果，如图 4 所示。样品溶解 5 天后测试得到的 SDS 含量普遍低于立即测试结果，推测原因为溶液中的 SDS 容易吸附在样品容器（玻璃）上，导致样品溶液中实际的 SDS 含量减少。这种吸附会随时间的增加而增加，因此推测液体制剂中 SDS 含量普遍低于固体制剂的原因为玻璃容器对 SDS 的吸附。该现象在标品测试中也有发现，如果选择玻璃材质样品瓶放置 SDS，浓度随放置时间增加而降低。

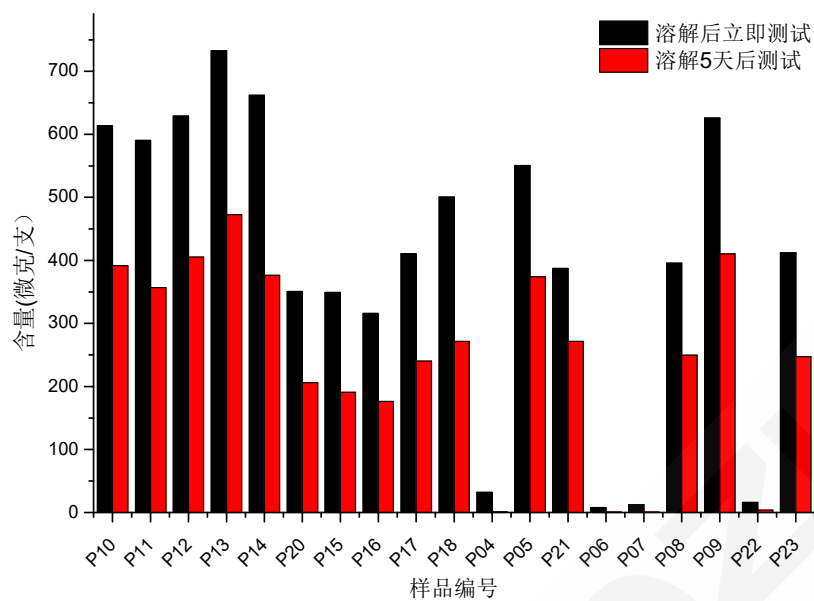


图 4. 样品溶解后不同测试时间对测得结果的影响

4. 结论

本文建立了一种 LC-MS/MS 定量方法，用于重组人白介素中 SDS 的含量测定。该方法弥补了现有方法的不足，线性范围宽、灵敏度高、重复性好、且免受基质干扰，可用于原液和成品中 SDS 的含量测定。

AAS 测定注射用头孢他啶中助溶剂碳酸钠的含量

摘要: 本文采用原子吸收分光光度法,以 Na 空心阴极灯为光源,空气-乙炔火焰原子化器,选择 330.3 nm 为分析线,建立了注射用头孢他啶中助溶剂碳酸钠含量的方法。实验结果显示,钠元素的检测浓度线性范围为: 0-111.65ppm($r=0.9998$); 平均回收率为 95-106%范围内 ($RSD<2\%$) 检出限为 0.24 ppm。试验结果表明,该方法灵敏度高、准确性好,可用于注射用头孢他啶中碳酸钠的含量测定。

关键词: 原子吸收光谱法 碳酸钠 注射用头孢他啶

头孢他啶 (Ceftazidime, CAZ) 是第三代头孢菌素类广谱抗生素,与第一、二代头孢菌素相比,其抗菌谱进一步扩大,对 β -内酰胺酶高度稳定。临床上用于治疗中重度感染。由于头孢他啶亲水性较弱,制剂中通常加入碳酸钠作助溶剂以增加其水溶性。《美国药典》31版采用原子吸收分光光度法测定碳酸钠的含量,《中国药典》2005年版未对碳酸钠的含量进行控制,而是通过检测注射用头孢他啶的pH值及含量

均匀度来间接控制头孢他啶的纯度,不能直接检测主成分的含量。

在质量控制中增加碳酸钠的含量测定,一方面可以提高质量标准,达到国外同品种药物的质量控制要求;另一方面,可以客观准确地计算出头孢他啶的纯度,对于控制药品质量,保证用药安全、有效具有重要意义。

本文碳酸钠的检测可通过原子吸收光谱法测定 Na^+ 来实现。

1. 实验部分

1.1 实验仪器及试剂

Shimadzu AA-7000 原子分光光度计

氯化钠 (天津基准化学试剂有限公司,含量: 99.95-100.05%)

Shimadzu 十万分之一电子天平

注射用头孢他啶两种 (A、B) 硝酸 (优级纯) 实验所用器皿均为玻璃制品

1.2 样品前处理

由于氯化钠较之碳酸钠稳定且易于储存,因此以氯化钠为对照品。

氯化钠储备液: 精密称量 709.31 mg 氯化钠对照品,置于 250 mL 容量瓶中,加水溶解稀释至刻度,即得到 $C(Na^+)=1115.50$ ppm 的溶液,作为氯化钠储备液。

样品溶液: 分别精密称取 A 试样 0.1371 g; B 试样 0.1278 g,置于 100 mL 容量瓶中,加适量水溶解后,加入硝酸 10 mL,用水稀释至刻度,作为样品溶液。

空白溶液：去硝酸 10 mL 置于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，即得。

2. 结果与讨论

2.1 标准曲线

分别取氯化钠储备液 0, 1, 2, 5, 10 mL，加入 10 mL 硝酸，用水定容至 100 mL，对应得到 0, 11.1650, 22.3300, 55.8240, 111.6500 ppm 的 Na 标准溶液，经仪器分析得到标准曲线如下。Na 标准曲线的相关系数达到 0.9998，具有良好的线性关系。

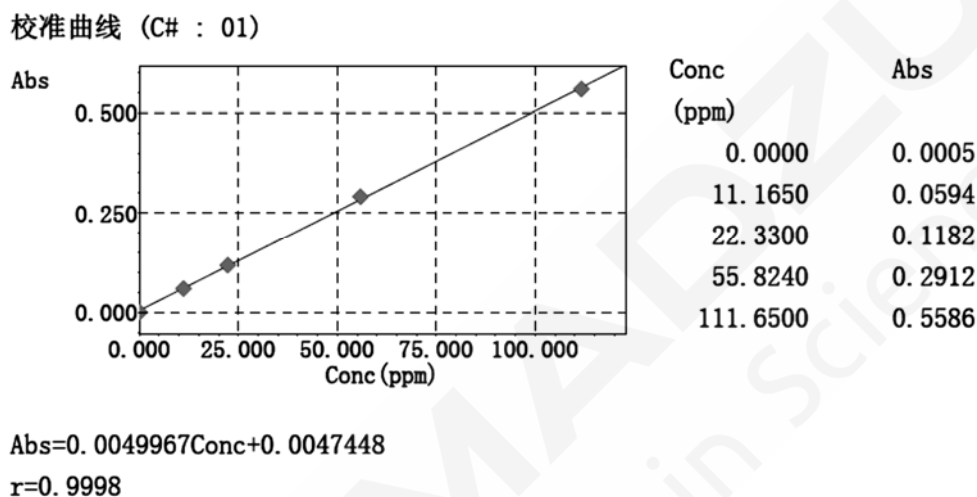


图2. Na标准曲线

2.2 精密度实验测定结果

对 A、B 两个样品进行平行 6 次测定 Na 含量，RSD \leq .1%，结果见表 2。

表 1. 样品精密度测定结果

编号	测定结果 (ppm)						平均值 (ppm)	RSD(%)
	1	2	3	4	5	6		
样品 A	60.93	60.73	60.83	61.41	60.99	61.20	61.01	0.41
样品 B	55.24	55.06	55.16	55.80	56.01	55.92	55.54	0.78

2.3 加标回收率实验及方法的检出限

分别精密称取 A 样品 0.1260 g，B 样品 0.1284 g，置于 100 mL 容量瓶中，加适量水溶解后，加入硝酸 10 mL，A 样品中加 2 mL 氯化钠储备液，B 样品中加 5 mL 氯化钠储备液，用水稀释至刻度，测试其吸光度值。

表 2. 样品的加标回收率

元素	样品本底值 (ppm)	加标量 (ppm)	测定值 (ppm)	平均值 (ppm)	回收率 (%)	RSD (%)
A	56.55	22.33	78.78	77.46	99.55	1.91
			77.82		95.25	
			78.20		96.95	
			78.02		96.15	
			114.83		106.11	
B	55.60	55.82	113.14	113.73	103.08	1.31
			113.58		103.87	
			113.35		103.46	

对样品空白进行 11 的检测，计算其标准偏差，以 3 倍的标准偏差除以标准曲线斜率得到该方法对 Na 的检出限为 0.24 ppm。

2.4 样品中碳酸钠含量的计算

取 A、B 样品各两份，测试其中碳酸钠的含量。

表 3 样品中碳酸钠含量的检测结果

样品	质量 (g)	碳酸钠含量 (%)
A-1	0.1371	10.34
A-2	0.1260	10.34
B-1	0.1278	9.98
B-2	0.1285	9.97

3. 结论

本文采用火焰原子化法，建立了测定注射用头孢他啶中助溶剂碳酸钠含量的方法。该方法在 0~111 ppm 范围内，线性良好，相关系数为 0.9998，平均回收率为 95~106% 范围内 (RSD<2%) 检出限为 0.24 ppm。计算结果显示，A，B 两个样品中助溶剂碳酸钠的含量分别为 10.34% 和 9.98%。试验结果表明，该原子吸收光度法灵敏度高、选择性好，适用范围广，可用于注射用头孢他啶中碳酸钠的含量测定。

GC 用于聚山梨酯 80 中的脂肪酸含量比例分析

聚山梨酯 80 为非离子型表面活性剂，具有水溶性，作为一种安全的乳化剂常用于软膏（面霜）中。还作为油溶性维生素的增溶剂用于注射剂和保健饮料中。日本厚生劳动省告示第 47 号（2014 年 2 月 28 日）颁布了《修改日本药典（Japanese Pharmacopoeia）》（2011 年日本厚生劳动省告示第 65 号）部分内容的相关事宜》，并于同日起开始执行。

药典在药物各条款有关聚山梨酯 80 的条款中，增加了脂肪酸含量比这一条款。药典规定使用系统适应性试验进行分析。实际样品分析中，先将样品溶解到氢氧化钠溶液中，再使用气相色谱法分析在三氟化硼甲醇试剂中衍生化的样品溶液时，规定脂肪酸含量比为：十四烷酸 5.0%以下，十六烷酸 16.0%以下，软脂油酸 8.0%以下，硬脂酸 6.0%以下，油酸 58.0%以下，亚油酸 18.0%以下，亚麻酸 4.0%以下。本文向您介绍对药物各项中有关聚山梨酯 80 的“脂肪酸含量比”进行系统适应性试验的示例。

系统适应性实验

实验规定将表 1 的脂肪酸甲酯混合物 0.50 g 溶解到庚烷中定容到 50.0 mL，制备系统适应性溶液，从中量取 1.0 mL 后，加入庚烷定容到 10.0 mL。

按照表 2 的条件进行分析，进样量 1 μ L 时，药典规定十四烷酸甲酯的信噪比应大于 5。图 1 为分析 1 μ L 样品得到的色谱图。由图可知，十四烷酸甲酯的信噪比大于 5。

表 1 系统适应性试验溶液

名称	Fatty Acids Methyl Ester Mixture	Content (%)
十四烷酸甲酯	Methyl Myristate	5 %
十六烷酸甲酯	Methyl Palmitate	10 %
硬脂酸甲酯	Methyl Stearate	15 %
二十烷酸甲酯	Methyl Arachidate	20 %
油酸甲酯	Methyl Oleate	20 %
顺-11-二十烯酸甲酯	Methyl <i>cis</i> -11-Eicosenoate	10 %
二十二烷酸甲酯	Methyl Behenate	10 %
二十四烷酸甲酯	Methyl Lignocerate	10 %

表 2 分析条件

仪	器 : GC-2010 Plus AF/AOC-20i	进 样 口 温 度 : 250 °C
色	柱 : Stabilwax (30 m × 0.32 mm I.D. df=0.5 μ m)	检 测 器 温 度 : 250 °C
谱	温 : 80 °C - 10 °C/min - 220 °C (40 min)	分 流 比 : 1:20
柱	气 : He, 50cm/sec	进 样 体 积 : 1 μ L
载		

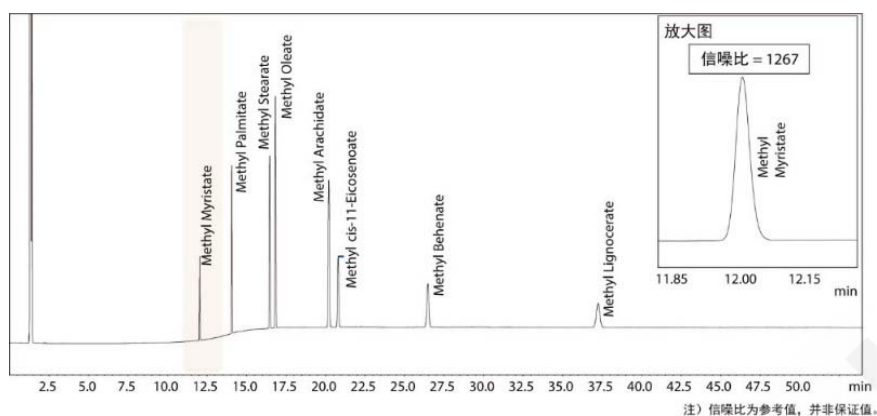


图1 稀释 10 倍后的系统适应性测试溶液的色谱图

系统适应性实验规定：按照表 2 的条件对 1 μL 溶液进行分析时，硬脂酸甲酯和油酸甲酯依次出峰，其分离度应大于 1.8，硬脂酸甲酯峰的理论塔板数应大于 30,000。

图 2 为分析 1 μL 溶液得到的色谱图。由图可知，硬脂酸甲酯和油酸甲酯的分离度大于 1.8，硬脂酸甲酯的理论塔板数大于 30,000。

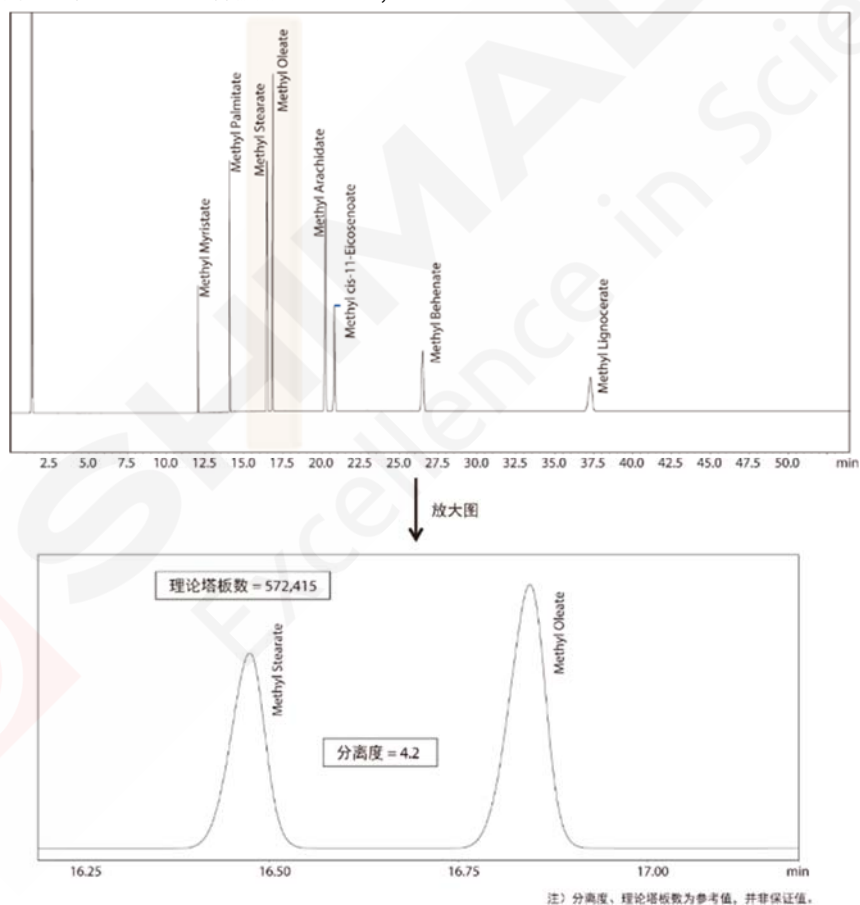


图 2 系统适应性测试溶液的色谱图

本文翻译自：(株) 岛津制作所 全球应用开发支持中心 (GADC) 应用文《聚山梨酯 80 中的脂肪酸含量比例分析》

GC 测定供药用和药用辅料的脂类物质中脂肪酸组成

摘要：本文建立了气相色谱仪检测供药用和药用辅料的脂类物质中脂肪酸组成的分析方法。分析结果表明：仪器性能良好，理论塔板数和分离度等参数可满足 2020 版药典《0713 脂肪与脂肪油测定法》中脂肪酸组成测定部分对于系统适用性的要求。脂肪酸甲酯混合溶液重复进样 6 次，各组分保留时间相对标准偏差小于 0.1%，峰面积相对标准偏差小于 5%，重复性良好，可依据此方法进行脂肪酸组成的分析。

关键词：气相色谱仪 药用辅料 脂肪酸

脂肪是人体三大营养素之一，具有构建机体组织、提供人体活动所需能量等重要的生理作用。在临床治疗上，以植物油为原料，辅以磷脂乳化剂、等渗剂等制成的脂肪乳剂常被用于无法进食或严重缺乏营养的患者，这种乳剂可供静脉注射，能完全被机体代谢和吸收，以供给人体必需的脂肪酸和能量。此外，植物油也可作为药用辅料添加在脂溶性药物中，承担分散载体、润滑剂、赋形剂等作用。

由于脂肪酸的组成及其配比在很大程度上决定了它的营养价值和保健功效，故对于食物中脂肪酸的组成已有较成熟的研究。

针对用作特殊人群的药物和药用辅料中的脂肪酸组成的研究，也同样具有重要的意义。在最新发布的2020版药典中，《0713 脂肪与脂肪油测定法》通则在2015版的基础上，增订了供药用和药用辅料的脂类物质及类似物的脂肪酸组成、反式脂肪酸等测定项目。

本文建立了用气相色谱分析方法测定药用和药用辅料脂类物中脂肪酸组成的方法，对供试样进行甲酯化处理上机分析，根据各脂肪酸甲酯的保留时间定性，使用峰面积归一化法定量。各色谱峰分离度良好，可满足2020版药典要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

气相色谱仪：Nexis GC-2030

1.2 分析条件

色谱柱：Rtx-wax, 30 m×0.53 mm×1 μm

柱温程序：70°C(2 min)_5°C/min_240°C(24 min)

进样口温度：220°C

载气控制方式：恒流 (6.0 mL/min)

进样方式：分流进样

(分流比为10:1)

进样量：1 μL

检测器温度：260°C

氢气流量：32 mL/min

空气流量：200 mL/min

尾吹流量：24 mL/min

1.3 样品前处理



2. 结果讨论

2.1 标准溶液色谱图

以正庚烷为溶剂配制浓度为0.1 mg/mL的棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯溶液，考察系统适用性。棕榈酸甲酯峰C16:0 (26.88 min) 和硬脂酸甲酯峰C18:0 (30.39 min) 相对于油酸甲酯峰C18:1 9c (30.74 min) 的保留时间分别为0.87和0.99，理论塔板数>1000，各色谱峰分离度良好，符合2020药典对于系统适用性的要求。分离度放大图见图1。

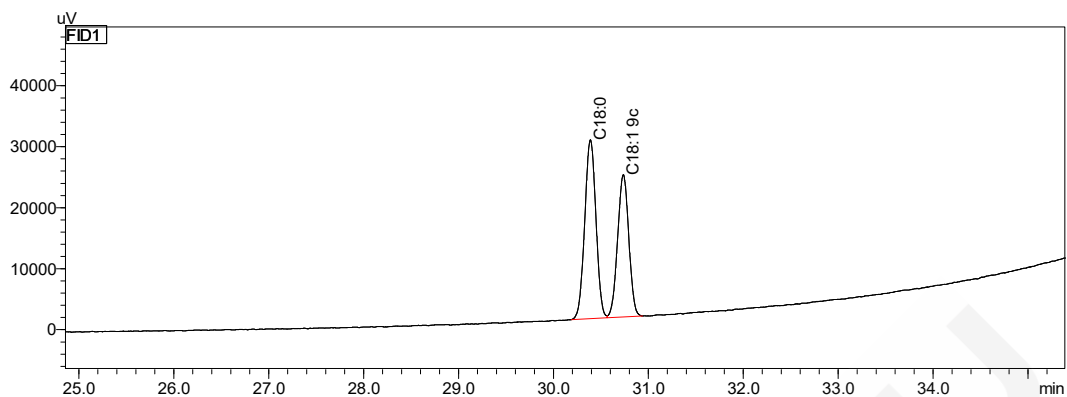


图1 系统适用性溶液气相色谱放大图

以正庚烷为溶剂配制总浓度为10 mg/mL 脂肪酸甲酯混合标准溶液，气相色谱图见图2，相关化合物信息见表1。

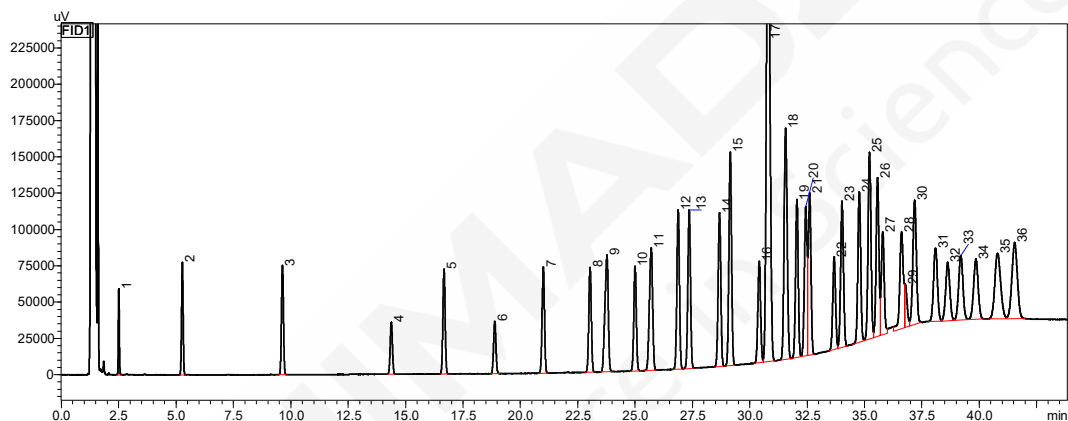


图2 脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

表1 常见脂肪酸甲酯信息

No.	中文名称	简称	CAS#	保留时间 (min)
1	丁酸甲酯	C4:0	623-42-7	2.50
2	己酸甲酯	C6:0	106-70-7	5.27
3	辛酸甲酯	C8:0	111-11-5	9.64
4	癸酸甲酯	C10:0	110-42-9	14.38
5	十一烷酸甲酯	C11:0	1731-86-8	16.68
6	十二烷酸甲酯	C12:0	111-82-0	18.89
7	十三烷酸甲酯	C13:0	1731-88-0	21.00
8	十四烷酸甲酯	C14:0	124-10-7	23.04
9	十四碳烯酸甲酯 (顺-9+反-9)	C14:1 c+t	72025-18-4 56219-06-8	23.77
10	十五烷酸甲酯	C15:0	7132-64-1	25.00
11	十五碳烯酸甲酯 (顺-10+反-10)	C15:1 c+t	90176-51-5 90176-52-6	25.71
12	十六烷酸甲酯	C16:0	112-39-0	26.88

13	十六碳烯酸甲酯 (顺-9+反-9)	C16:1 c+t	10030-74-7 1120-25-8	27.36
14	十七烷酸甲酯	C17:0	1731-92-6	28.68
15	十七碳烯酸甲酯 (顺-10+反-10)	C17:1 c+t	369657-02-3 75190-82-8	29.15
16	十八烷酸甲酯	C18:0	112-61-8 14620-36-1 2462-84-2	30.41
17	十八碳烯酸甲酯 (顺-6+反-6+顺-9+反-9+顺-12+反-12)	C18:1 c+t	6198-58-9 2777-58-4 112-62-9 6198-58-9	30.79
18	十八碳二烯酸甲酯 (顺-9, 12+反-9, 12)	C18:2 c+t	2566-97-4 112-63-0	31.56
19	十九碳烯酸甲酯(反-7+反-10)	C19:1 t	-- 84675-68-3	32.05
20	十八碳三烯酸甲酯(顺-6, 9, 12)	C18:3n6	16326-32-2	32.44
21	十八碳三烯酸甲酯(顺-9, 12, 15)	C18:3n3	301-00-8	32.61
22	二十烷酸甲酯	C20:0	1120-28-1	33.68
23	二十碳烯酸甲酯(顺-11+反-11)	C20:1 c+t	69119-90-0 2390-09-2	34.02
24	二十碳二烯酸甲酯(顺-11, 14)	C20:2	2463-02-7	34.77
25	二十一烷酸甲酯+	C21:0+	6064-90-0	35.22
26	二十碳三烯酸甲酯(顺-8, 11, 14)	C20:3n6	21061-10-9	35.57
27	二十碳三烯酸甲酯(顺-11, 14, 17)	C20:3n3	55682-88-7	35.57
28	二十碳四烯酸甲酯(顺-5, 8, 11, 14)	C20:4n6	2566-89-4	35.80
29	二十碳五烯酸甲酯(顺-5, 8, 11, 14, 17)	C20:5n3	2734-47-6	36.62
30	二十二烷酸甲酯	C22:0	929-77-1 1120-34-9 7439-44-3	36.78
31	二十二碳烯酸甲酯(顺-13+反-13)	C22:1 c+t	1120-34-9 7439-44-3	37.19
32	二十二碳二烯酸甲酯(顺-13, 16)	C22:2	61012-47-3	38.10
33	二十三烷酸甲酯	C23:0	2433-97-8	38.62
34	二十二碳四烯酸甲酯(顺-7, 10, 13, 16)	C22:4	13487-42-8	39.19
35	二十二碳五烯酸甲酯(顺-7, 10, 13, 16, 19)	C22:5n3	108698-02-8	39.86
36	二十四烷酸甲酯+	C24:0+	2442-49-1	40.79
36	二十一碳五烯酸甲酯(顺-4, 7, 10, 13, 16)	C22:5n6	108698-02-8	41.54
36	二十二碳六烯酸甲酯(顺-4, 7, 10, 13, 16, 19)+ 二十四碳烯酸甲酯(顺-15)	C22:6n3+ C24:1	2566-90-7 2733-88-2	41.54

2.2 重复性实验

用正庚烷配制总浓度为10 mg/L的脂肪酸甲酯标准溶液，重复测试6次，计算相对标准偏差。6次重复测试的保留时间相对标准偏差小于0.1%，峰面积相对标准偏差小于5%，重复性良好。具体结果见表2：

表 2 重复性实验结果 (n=6)

No.	化合物	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	No.	化合物	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
1	C4:0	0.04	4.92	19	C19:1 t	0.01	3.37
2	C6:0	0.04	1.09	20	C18:3n6	0.01	3.37
3	C8:0	0.02	2.77	21	C18:3n3	0.01	3.44
4	C10:0	0.01	2.85	22	C20:0	0.01	3.08
5	C11:0	0.01	3.16	23	C20:1 c+t	0.01	3.19
6	C12:0	0.01	3.22	24	C20:2	0.01	3.30
7	C13:0	0.01	3.34	25	C21:0+C20:3n6	0.01	3.28
8	C14:0	0.01	3.34	26	C20:3n3	0.01	3.36
9	C14:1 c+t	0.01	3.39	27	C20:4n6	0.01	3.34
10	C15:0	0.01	3.27	28	C20:5n3	0.01	3.76
11	C15:1 c+t	0.01	3.33	29	C22:0	0.03	3.79
12	C16:0	0.01	3.32	30	C22:1 c+t	0.01	3.13
13	C16:1 c+t	0.01	3.40	31	C22:2	0.01	3.15
14	C17:0	0.01	3.30	32	C23:0	0.01	2.96
15	C17:1 c+t	0.01	3.30	33	C22:4	0.02	3.10
16	C18:0	0.01	3.32	34	C22:5n3	0.01	3.10
17	C18:1 c+t	0.01	3.29	35	C24:0+C22:5n6	0.01	3.30
18	C18:2 c+t	0.01	3.33	36	C22:6n3+C24:1	0.02	3.45

2.3 样品测试结果

应用本方法对两个药用大豆油样品进行了测定。样品 1 的色谱图如下：

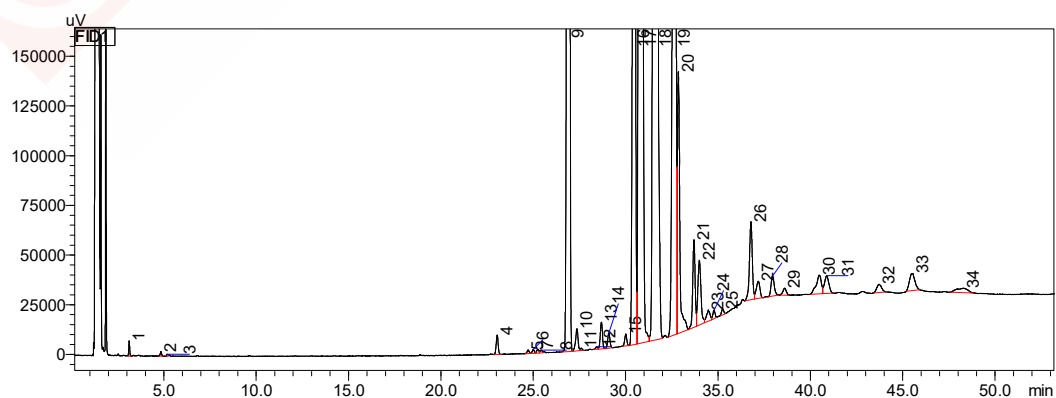


图 3 药用大豆油-1 样品色谱图

根据药典要求，按照峰面积归一化法计算样品中脂肪酸甲酯峰含量，结果如下：

表 3 药用大豆油-1 样品脂肪酸组成测试结果

No.	化合物	保留时间(min)	峰面积	含量(%)
1	C14:0	23.04	74156	0.066
2	C15:0	25.00	14797	0.013
3	C16:0	26.90	11775101	10.412
4	C16:1 c+t	27.36	102761	0.091
5	C17:0	28.69	111204	0.098
6	C17:1 c+t	29.09	65729	0.058
7	C18:0	30.45	5134245	4.540
8	C18:1 c+t	30.82	24304613	21.492
9	C18:2 c+t	31.65	59394450	52.521
10	C18:3n3	32.64	8527843	7.541
11	C20:0	33.70	394891	0.349
12	C20:1 c+t	33.99	377481	0.334
13	C20:2	34.78	36497	0.032
14	C21:0+C20:3n6	35.25	26455	0.023
15	C22:0	36.78	420428	0.372
16	C22:1 c+t	37.18	118158	0.104
17	C22:2	37.95	121688	0.108
18	C23:0	38.61	43084	0.038
19	C24:0	40.88	146901	0.130

样品 2 的色谱图如下：

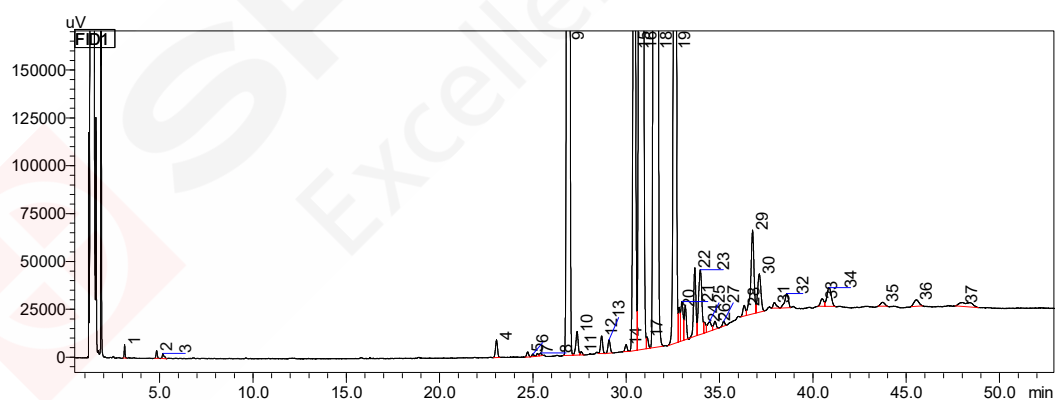


图 4 药用大豆油-2 样品色谱图

根据药典要求，按照峰面积归一化法计算样品中脂肪酸甲酯峰含量，结果如下：

表 4 药用大豆油-2 样品脂肪酸组成测试结果

No.	化合物	保留时间(min)	峰面积	含量(%)
1	C14:0	23.05	68920	0.066
2	C15:0	25.00	9525	0.009
3	C16:0	26.90	11302366	10.875
4	C16:1 c+t	27.36	106811	0.103
5	C17:0	28.68	74588	0.072
6	C17:1 c+t	29.08	59306	0.057
7	C18:0	30.43	2949015	2.838
8	C18:1 c+t	30.80	26430917	25.432
9	C18:2 c+t	31.62	54441952	52.385
10	C18:3n3	32.61	5610569	5.399
11	C20:0	33.67	450591	0.434
12	C20:1 c+t	33.97	409825	0.394
13	C20:2	34.76	41706	0.040
14	C21:0+C20:3n6	35.22	20727	0.020
15	C22:0	36.77	520381	0.501
16	C22:1 c+t	37.13	244098	0.235
17	C22:2	37.94	34264	0.033
18	C23:0	38.60	101609	0.098
19	C24:0	40.86	157968	0.152

3. 结论

本文建立了气相色谱仪检测供药用和药用辅料的脂类物质中脂肪酸组成的分析方法。分析结果表明：仪器性能良好，理论塔板数和分离度等参数可满足 2020 版药典《0713 脂肪与脂肪油测定法》中脂肪酸组成测定部分对于系统适用性的要求。脂肪酸甲酯混合溶液重复进样 6 次，各组分保留时间相对标准偏差小于 0.1%，峰面积相对标准偏差小于 5%，重复性良好，可依据此方法进行脂肪酸组成的分析。

2、粒度与晶型分析

ICH Q8 (R2) 强调了将材料属性和工艺参数与药品关键质量特性 (CQAs) 关联起来作为风险评估和质量风险管理的重要性。这意味着对材料属性及其差异性的研究在新药产品的开发、生产过程中扮演重要角色。目前很多辅料供应商已经精确控制辅料的取代度、粒径、晶型等理化性质，并对其做较为详尽的定性或定量研究。

有文献指出关键物料特性会影响辅料单个或多个功能特性。越来越多研究发现粒径等因素会影响溶胀效率、脱水特性、可压缩能力差异等等。这些与药品质量特性有关的理化性质差异是辅料功能性差异的基础，对其定性或定量研究，可以构建辅料差异性范围及特性辅料与药品制剂间的控制策略。

激光粒度仪是当今最流行的粒度测量仪器，有测量动态范围大、测量速度快、重复性好、操作方便等优点。



SALD-2300

辅料的多晶型现象同药物一样，通过对物质本身稳定性、溶剂度、硬度、流动性等物理化学性质的影响进而影响药物的溶出速度和生物利用度等。因此在辅料的研发和质量控制中，晶型分析亦是重要的检测方向。常用的检测手段包括：单晶 X 射线衍射、粉末 X 射线衍射、热分析、红外、拉曼及核磁等。



XRD-7000

本节收录了使用岛津激光粒度仪对药用辅料的粒径分布，以及使用 XRD 用于辅料晶型进行研究的解决方案，供相关人员参考。

SALD 测定二氧化钛粉末样品的粒径分布

摘要：本文利用岛津激光粒度仪 SALD-2300 湿法测定二氧化钛粉末样品的粒径和粒径分布。实验结果表明，六次分析中值粒径相对标准偏差（RSD）为 0.85%，仪器操作简便，数据稳定，重现性好。

关键词：激光粒度仪 SALD-2300 二氧化钛 粒径分布

激光粒度仪是当今最流行的粒度测量仪器，有测量动态范围大、测量速度快、重复性好、操作方便等优点。激光粒度进样方式分为干法、湿法两种。湿法是利用水或其它试剂将样品颗粒分散后测量；而干法测试则是样品在空气中分散测量。

二氧化钛具有无毒、最佳的不透明性、最佳白度和光亮度，被认为是现今世界上性能最好的一种白色颜料。钛白粉的粘附力强，不易起化学变化，被广泛应用于涂料、塑料、造纸、印刷油墨、化纤、橡胶、化妆品等工业。由于二氧化钛粉末的粒径大小会对颗粒的比表面积、表面活性、透明度，甚至最终产品的颜色造成影响，所以对二氧化钛颗粒的粒径及粒径分布已成为非常受关注的一项指标。

本文使用岛津激光粒度仪 SALD-2300 湿法测定二氧化钛粉末样品的粒径和粒径分布，仪器操作简便，数据稳定，重现性好。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津激光粒度仪 SALD-2300，循环池 SALD-MS23

1.2 分析条件

进样方式：循环池，泵速调为5档

1.3 样品前处理

取适量样品分散于无水乙醇中，然后再取适量分散后的样品加入到仪器的循环池中，乙醇作为分散介质，泵速调为 5 档，超声 4 分钟后直接测定粒径分布。

2. 结果与讨论

测定数据结果如下图 2, 3 所示。

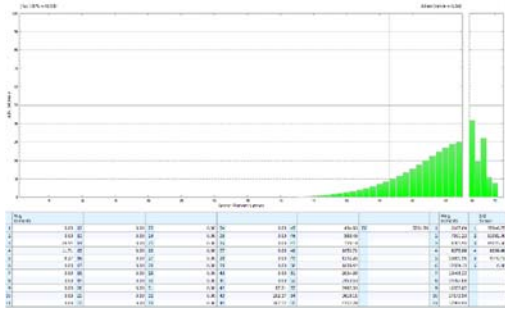


图 2. 样品光强分布图

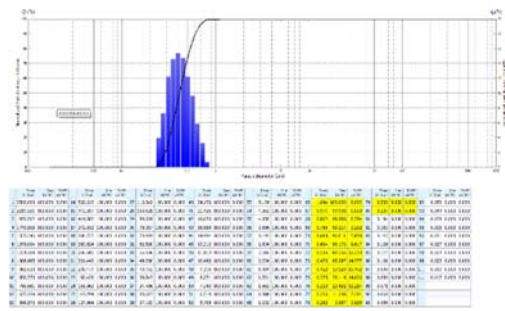


图 3. 样品粒径范围图

软件根据光强结果图（如图 2 所示），利用米氏定律计算得到样品粒径范围结果（如图 3 所示）。使用上述方法重复六次测定样品结果如下：

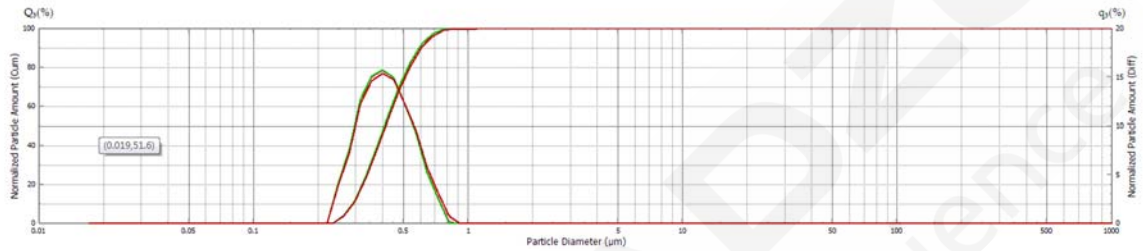


图 4. 六次重复测量结果

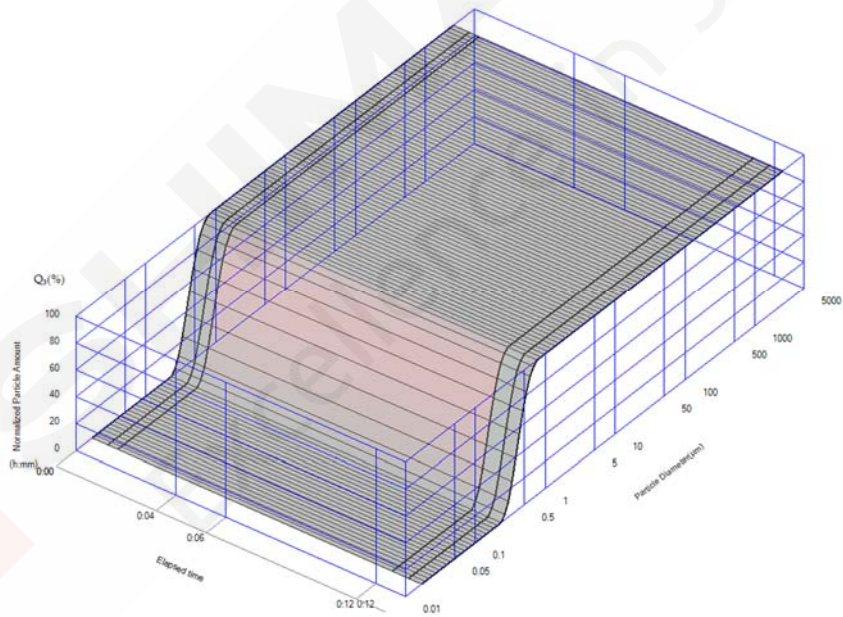


图 5. 六次重复测量三维图谱结果

测得二氧化钛粉末粒度范围数据如下：

表 1. 二氧化钛粉末粒度分布数据结果

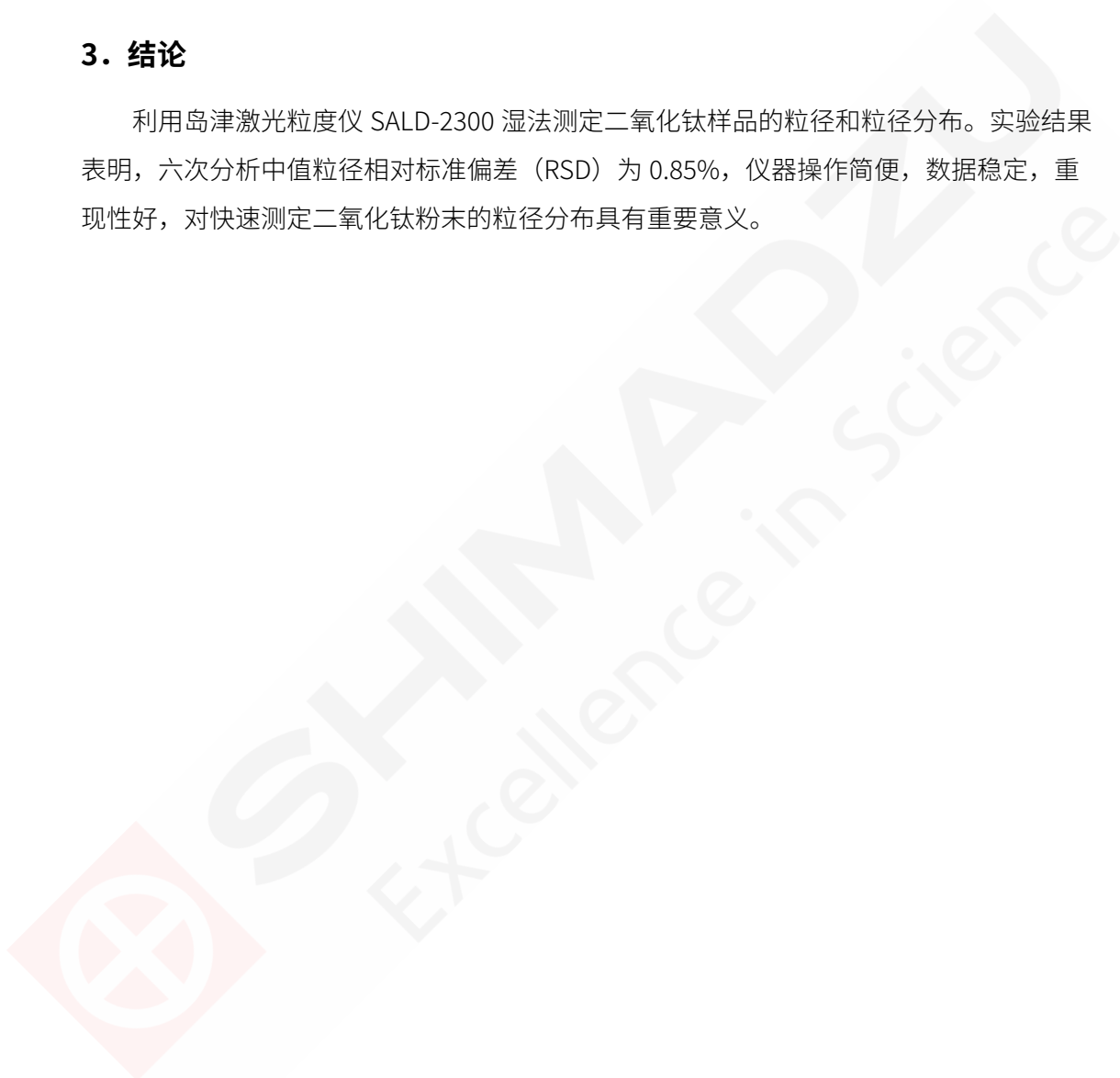
次数	中值粒径 (μm)	平均值 (μm)	10%D (μm)	90%D (μm)
1	0.412	0.415	0.288	0.602
2	0.412	0.415	0.288	0.602
3	0.412	0.415	0.288	0.602
4	0.406	0.408	0.285	0.590

5	0.407	0.409	0.285	0.592
6	0.407	0.409	0.285	0.591
平均值	0.409	0.412	0.286	0.596

测定中设定折射率2.65，吸光度0.048。该二氧化钛样品的中值粒径平均值为0.409 μm ，计算得到相对标准偏差RSD为0.85%。

3. 结论

利用岛津激光粒度仪 SALD-2300 湿法测定二氧化钛样品的粒径和粒径分布。实验结果表明，六次分析中值粒径相对标准偏差（RSD）为 0.85%，仪器操作简便，数据稳定，重现性好，对快速测定二氧化钛粉末的粒径分布具有重要意义。



药用蒙脱石晶型与杂质含量控制

摘要：蒙脱石在医药行业有广泛的应用。中国药典明确规定药用蒙脱石的晶型，并采用和蒙脱石特征峰的峰高比的办法来控制杂质含量。本文使用岛津 X 射线衍射仪，按照中国药典要求，测定药用蒙脱石的晶型和杂质含有情况。测试结果表明，使用 XRD 控制蒙脱石质量简便易行，是药企和药检机构的必备利器。

关键词：蒙脱石，中国药典，岛津，X射线衍射仪

蒙脱石是层状结构的二八面体的硅酸盐矿物，由二层硅氧四面体中间夹铝氧八面体组成，因其特殊的晶体结构而具有良好的吸附能力、阳离子交换能力和吸水膨胀能力，在医药行业获得了广泛的应用。由于具有吸水性、悬浮性、分散性、粘结性、触变性，使其作为制剂辅料具有乳化、增稠、助悬、吸附的功能，是优良的药用辅料。

蒙脱石药物质量与安全性由蒙脱石和其杂质方英石、石英、长石相的相对含量决定。其中方英石是物理提纯难以分离，并对人体健康有害因而需要严格限制的有害杂质，其含量检测有特别的意义。但是由于蒙脱石本身就是硅酸盐矿物，致使通常的化学分析方法无法分析其中的方英石 (SiO_2) 和石英 (SiO_2) 含量。X 射线衍射分析技术能够直接测试矿物的物相，在蒙脱石的质量控制方面有得天独厚的优势，在铜靶的 XRD 图谱上，蒙脱石衍射峰 2θ 在 5.8° 、 19.8° ，方英石衍射峰 2θ 约为 22° ，石英衍射峰 2θ 约为 26.7° 。

中国药典中明确要求控制蒙脱石的晶型，要求其“X 射线粉末衍射图谱蒙脱石的 X 射线衍射图谱应与对照品图谱中的蒙脱石特征峰 (2θ 分别约为 5.8° 、 19.8° 、 61.9°) 一致”，并对其方英石等杂质含量提出了控制要求，以与蒙脱石特征峰 (19.8°) 的峰高比控制杂质的含量，要求“X 射线粉末衍射图谱中，方英石衍射峰的峰高比不得过 50%，其他单个杂质衍射峰的峰高比不得过 70%”。

本文展示如何利用岛津 X 射线衍射仪 (XRD) 控制药用蒙脱石晶型，并对其杂质进行分析，以判断送检样品是否符合中国药典的要求，为药企和药检机构提供简便易行的质量控制手段。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 X 射线衍射仪 XRD7000

1.2 分析条件

测试参数

X 光管电压 (XG Voltage): 40 kV

X 光管管流 (XG Current): 40 mA

扫描模式 Scan mode: 连续扫描 θ -2 θ

角度范围 Scan Range: 全谱 2 - 80°, 杂质确认 15-35°

步长 step: 0.02°

扫描速度 Scan speed: 全谱 2°/min, 杂质确认 1°/min

狭缝 (Slit condition): DS -1°, SS -1°, RS -0.15mm

强度单位 (Unit): CPS

样品处理: 直接测试, 取适量放于铝制样品池, 使用玻璃板轻轻压平;

2. 结果讨论

2.1 蒙脱石全谱

中国药典明确要求, 蒙脱石的 X 射线衍射图谱应与对照品图谱中的蒙脱石特征峰 (2θ 分别约为 5.8°、19.8°、61.9°) 一致。

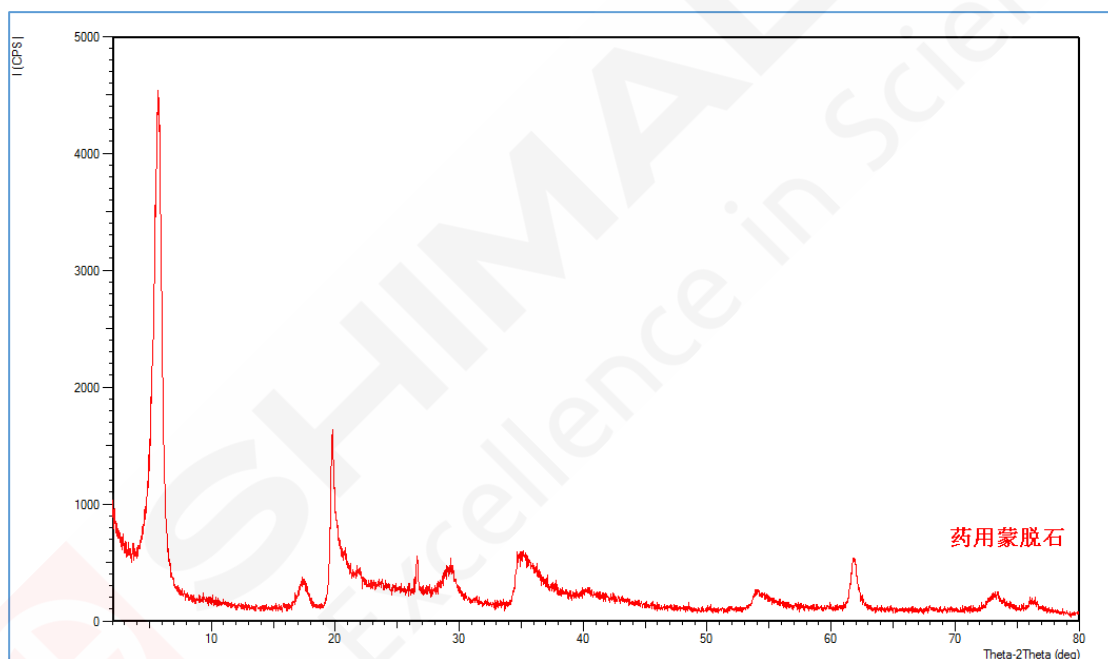


图 1 药用蒙脱石全谱

从衍射图谱可以看到, 该蒙脱石样品在 5.67°、19.85°、61.8°有衍射峰, 符合中国药典的要求. 对其做物相分析可知, 26.6°的衍射峰为石英峰, 22°附近有微弱的方英石衍射峰。

2.2 蒙脱石中方英石及其他杂质的测试

中国药典中明确给出了药用蒙脱石杂质测试 X 射线粉末衍射条件, 在衍射角 2θ 为 15°~35°的范围内以每分钟 1°的速度扫描, 记录衍射图谱, 以图谱的基线为底线, 分别量取蒙脱石特征峰 (2θ 约为 19.8°)、方英石衍射峰(2θ 约为 22.0°)和其他杂质衍射峰的峰顶至底线的高度, 计算各峰高相对于蒙脱石特征峰高的比值。

按照中国药典给出的参数, 对 15°~35°区域进行精细扫描, 得到衍射谱图如图 2 所示。

根据衍射峰情况判断，样品中方英石、石英等杂质的峰高比明显符合中国药典的要求，以 19.8°蒙脱石特征峰为基准，方英石衍射峰(约 22°)的峰高比未超出 50%，石英衍射峰(26.6°)及其他杂质衍射峰的峰高比未超出 70%。

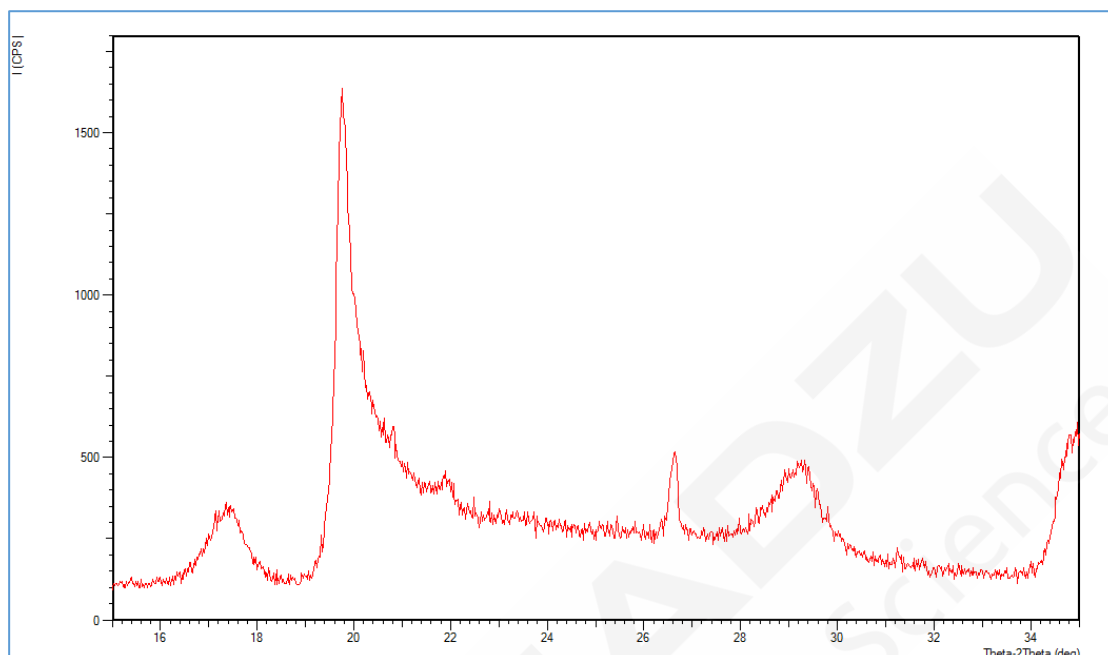


图 2 蒙脱石中杂质的检测

3. 结论

本文根据中国药典二部的要求，使用岛津 X 射线衍射仪测试了药用蒙脱石的晶型及杂质含有情况，该方法操作简单，可用于判定蒙脱石晶型及杂质情况是否符合中国药典的要求，为药企和药检机构提供简便易行的质量控制手段。

3、分子量测定

药用辅料的分子量属于药用辅料的功能性指标。大多数药用辅料均为聚合物，分子量大小不同，其性质作用也各不相同。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF MS）具有简单、快速获取从低分子到高分子各种样品的分子量信息的优点，广泛应用于研究开发以及质量控制领域中各种合成材料及天然产物的分子量测定，聚合物的分子量测定及结构分析便是其典型应用之一。



岛津 MALDI-7090 质谱仪



岛津 AXIMA-Performance 质谱仪

凝胶过滤色谱法（GPC）根据目标物质分子体积的大小实现分离，具有快速、简便和不受杂质干扰等特点。

本章收录了近期使用岛津 MALDI-TOF MS、GPC 对药用辅料分子量测定的应用案例，供相关人员参考。

MALDI-TOF MS 检测 PEG23000 的分子量及分布

摘要: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 是进行聚合物分子量检测及结构分析的常用手段之一, 它可以快速给出聚合物的质量分布, 单体结构等信息, 并可以有效对聚合物的端基结构进行分析。本文使用岛津 MALDI-7090, 以反式-2-[3-(4-叔丁基苯基)-2-甲基-2-亚丙烯基]丙二腈 (DCTB) 为基质, 分析聚乙二醇 23000 (PEG23000), 得到了分子量的分布及单体结构信息。

关键词: 台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-7090 聚乙二醇 分子量

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 具有简单、快速获取从低分子到高分子各种样品的分子量信息的优点, 聚合物的分子量测定及结构分析便是其典型应用之一。岛津的基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-7090, 具有飞行距离长 (线性模式 2.1 米、反射模式 4.1 米)、分析速度快 (2000 Hz 355 nm 固态激光器采集)、仪器维护方便 (True Clean 自动 UV 激光光源清洗) 和软件满足 21 CFR Part 11 合规性的特点。

聚合物是由称为单体的次级单元重复连接而成的分子, 由于其物理和化学性质, 在医学、药学等各个领域发挥着重要的作用。聚合物的分析可以使用 SEC/GPC 分析、

NMR/FT-IR 分光法等的各种分析手法, 其中, MALDI-TOF 由于可以快速得到聚合物的分子量分布、多分散性以及端基结构信息, 因此, 广泛应用于制造业和质量实验室。

PEG 聚乙二醇具有优良的润滑性、保湿性、分散性, 是良好的粘接剂、抗静电剂、柔软剂, 在化妆品、制药、化纤、橡胶、塑料、农药及食品加工等行业中均有着极为广泛的应用。本文以反式-2-[3-(4-叔丁基苯基)-2-甲基-2-亚丙烯基]丙二腈 (DCTB) 为基质, 应用 MALDI-7090 及聚合物分析软件 Polymerix (Sierra Analytics) 分析了常用药用辅料聚乙二醇 23000 (PEG23000) 的分子量分布及单体信息, 可作为聚合物样品分析时的参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-7090

1.2 分析条件

调谐模式: 反射正离子模式

激光器: 355 nm 固态激光器

扫描范围: m/z 10000-40000

激光能量: 115-120

脉冲引出质量: 23000 Da

2. 样品前处理

取样品加四氢呋喃配制为10 mg/mL的样品工作液。取10 μ L的样品工作液、10 μ L的DCTB基质溶液（20 mg/mL）、5 μ L辅助盐溶液NaTFA（5 mg/mL）预混合，再取1 μ L混合液点靶，自然干燥后将靶板送入质谱分析。

3. 结果与讨论

合理基质的选择等前处理过程是影响MALDI-TOF信号表现的主要方面。本实验过程中使用聚合物分析常用基质CHCA、Dithranol、THAP等进行测试，结果表现为样品离子化效果较差而致无明显目标信号。经过多次筛选，最后选定DCTB基质，质谱图信号良好。

PEG23000的质谱检测结果如图2所示。样品检测到聚合物离子峰系列，相邻聚合单元分子量相差44 Da，其中信号强度较高的离子峰系列的分子量分布与结构式 $\text{CH}_3\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}_2$ 相符。样品的分子量分布信息由聚合物软件Polymerix（Sierra Analytics）分析计算。Polymerix软件分析结果见表1。

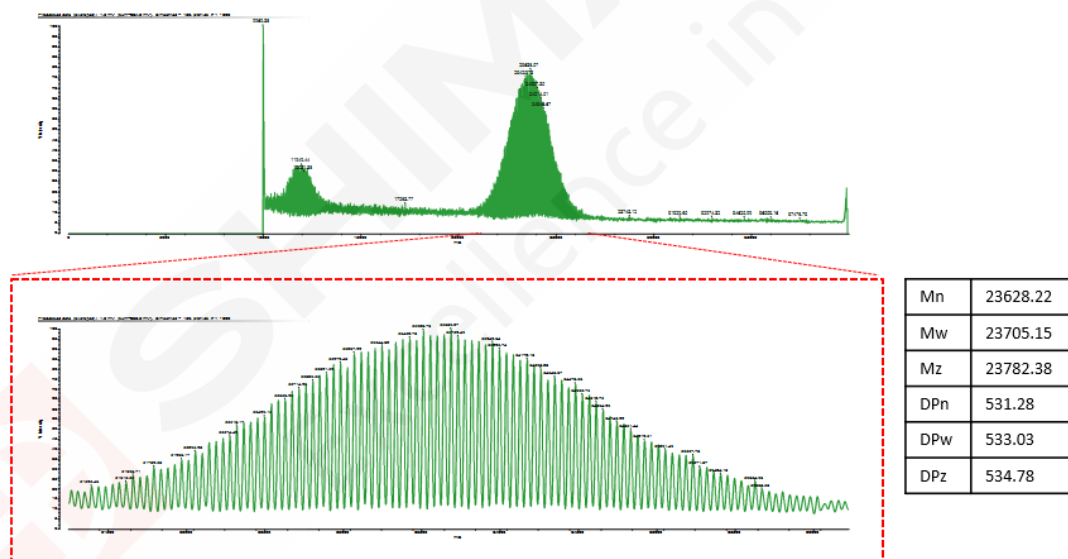


图 2. PEG23000 样品一级质谱图（上：m/z 10000-40000；下：局部放大 m/z 21000-26000）

表 1 Polymerix 软件分析结果

参数	M _n	M _w	M _z	PD	DP _n	DP _w	DP _z	Repeat	Adduct	Series Formula
结果	23628.22	23705.15	23782.38	1.003	531.28	533.03	534.78	C ₂ H ₄ O	Na	CH ₃ O(C ₂ H ₄ O) _n C ₁₀ H ₁₁ O ₃ N ₂

4. 结论

本文应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-7090 分析 PEG23000，直接得到了样品的分子量分布、单体质量的信息。MALDI-7090 作为基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱，具有飞行距离长、分析速度快、仪器维护方便和软件合规的特点，是聚合物分析的有力工具。



MALDI-TOF MS 检测多西他赛注射剂中的吐温 80 分子量

摘要: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 是进行聚合物分子量检测及结构分析的常用手段之一, 它可以快速给出聚合物的质量分布和单体结构等信息, 并可以有效对聚合物的端基结构进行分析。本文使用岛津 AXIMA-Performance, 以地蒽酚 (Dithranol) 为基质, 分析多西他赛注射剂中的吐温 80, 得到了分子量的分布及单体结构信息。

关键词: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 AXIMA-Performance 吐温80 分子量

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 是进行聚合物分析的常用工具, 可以快速进行聚合物分子量检测及结构分析。岛津的基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 AXIMA-Performance, 支持高能 CID 模式、具备独特弯曲场反射管、飞行距离长, 非常适合进行聚合物等高分子物质的分析。岛津 AXIMA 系列仪器分析软件 Launchpad 配置了聚合物分析软件 Polymer Analysis, 同时可以和第三方聚合物分析软件 Polymerix 联用, 均能快速分析获取聚合物相关信息。

“聚合物”一词来自希腊语“很多部分”, 用来表示由重复的亚基 (单体) 组成的材料。聚合物的常见的分析方法有 SEC/GPC 分析、NMR/FT-IR 分光法等。与传统方法相比,

MALDI-TOF MS 更加简便快捷, 能在短时间内得到聚合物的分子量分布、多分散性以及端基结构信息。因此, MALDI-TOF MS 进行聚合物分析的应用越来越普遍。

吐温 80, 又称聚山梨酯-80, 是一种药用辅料, 经常用作注射液及口服液的增溶剂或乳化剂; 胶囊剂用分散剂; 软膏剂用乳化剂和基质; 栓剂用基质等。在食品工业中用作乳化剂, 还广泛用于高级化妆品、轻纺、医药工业作增溶剂, 也可以广泛用于纺织、油漆、农药、印刷、石油等行业作乳化剂、稳定剂、润滑剂、柔软剂、抗静电剂。本文以地蒽酚 (Dithranol) 为基质, 应用 AXIMA-Performance 分析了药用辅料吐温 80 的分子量分布及单体信息, 可作为聚合物样品分析时的参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 AXIMA-Performance

1.2 分析条件

调谐模式: 反射正离子模式

扫描范围: m/z 10-20000

激光器: 337 nm 氮气激光器

激光能量: 75-90

脉冲引出质量：2000 Da

2. 样品前处理

取10 μL 的多西他赛注射液样品溶液、10 μL 的地葱酚基质溶液（30 mg/mL）、5 μL 辅助盐溶液NaTFA（5 mg/mL）预混合，再取1 μL 混合液点靶，自然干燥后将靶板送入质谱分析。

3. 结果与讨论

合适基质的选择等前处理过程是影响 MALDI-TOF MS 信号表现的主要方面。本实验过程中使用聚合物分析常用基质 CHCA、DCTB、THAP 等进行测试，结果表现为样品离子化效果较差而致无明显目标信号。经过多次筛选，最后选定地葱酚基质，质谱图信号良好。

样品的质谱检测结果如图 2 所示。在 m/z 500-2800 Da 检测到三个不同的聚合物正态分布的离子峰系列。分别与吐温 80 的理论分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{O}_6(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ 、吐温 80 失去一分子 H_2O 的理论分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{42}\text{O}_5(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ 、吐温 80 得到一分子 H_2O 的理论分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{46}\text{O}_7(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ 相符合。

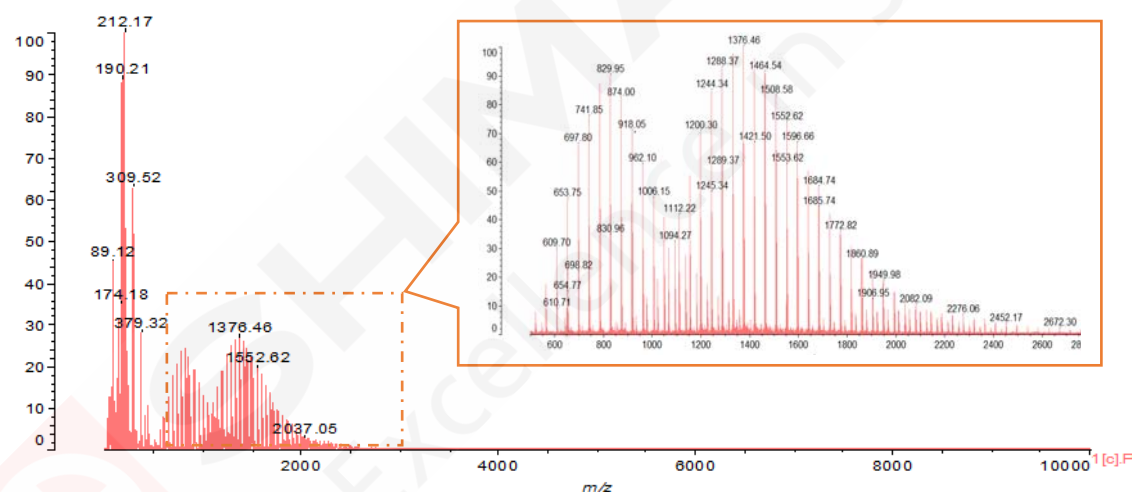
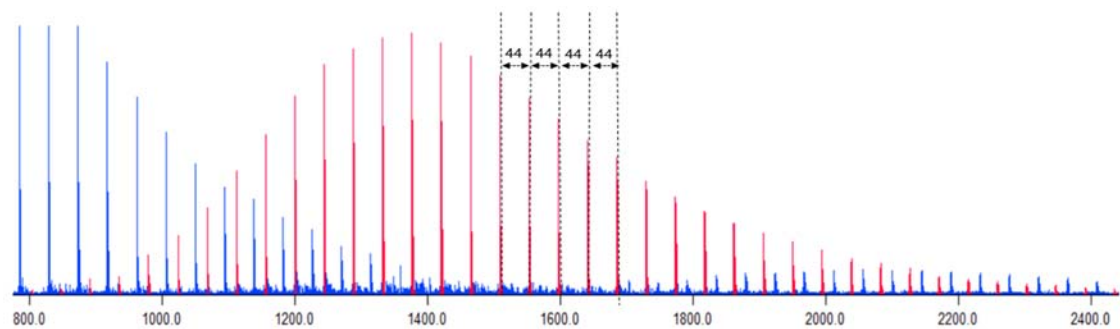


图 2.样品一级质谱图 (m/z 10-10000); 插图: 局部放大图 (m/z 500-2800)

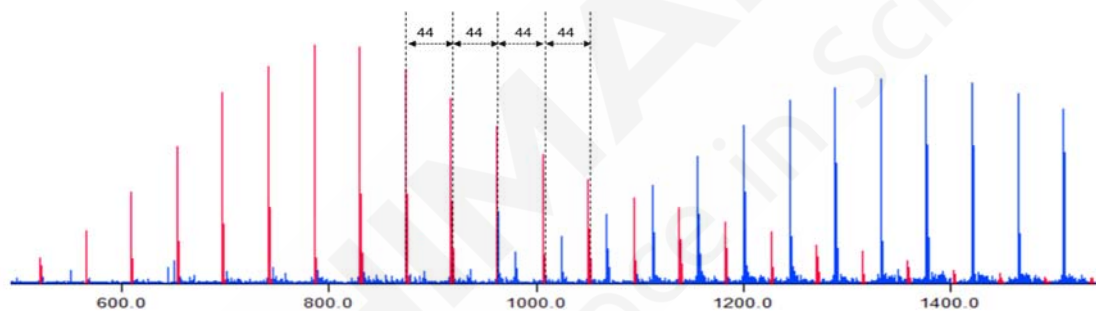
将数据用聚合物分析软件 Polymerix 进行分析。首先，如图 3 所示，在 m/z 800-2400 Da 检测到相邻聚合单元分子量相差 44 Da 的聚合物离子峰系列（红色标识峰），分子量分布与吐温 80 的理论分子式 $\text{C}_{24}\text{H}_{44}\text{O}_6(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$ 相符，重均分子量 1586.475 Da，单体分子量 44 Da。



Homopolymer Results Summary																
Series Label	Mn	Mw	Mz	PD	DPn	DPw	DPz	Percent Series	Percent Spectrum	Alpha Ind Group	Repeat	Omega Ind Group	Charge State	Adduct	Loss	Series Formula
Total/Average	1498.255	1586.475	1713.454	1.059	24.302	26.306	29.190	100.00	19.94	H	C2H4O	C2H4306	1 Na			H [C2H4O] _n C2H4306 + Na
S1	1498.255	1586.475	1713.454	1.059	24.302	26.306	29.190	100.00	19.94	H	C2H4O	C2H4306	1 Na			H [C2H4O] _n C2H4306 + Na

图 3. 样品 Polymerix 分析结果 (m/z 800-2400 Da)

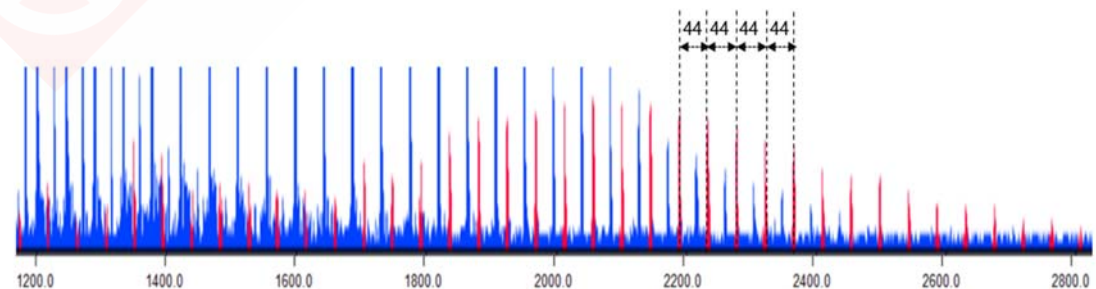
其次，如图 4 所示，在 m/z 500-1500 Da 检测到相邻聚合单元分子量相差 44 Da 的聚合物离子峰系列（红色标识峰），分子量分布与在吐温 80 基础上失去一分子 H₂O 的理论分子式 C₂₄H₄₂O₅(C₂H₄O)_n 相符，重均分子量 1188.254 Da，单体分子量 44 Da。



Homopolymer Results Summary																
Series Label	Mn	Mw	Mz	PD	DPn	DPw	DPz	Percent Series	Percent Spectrum	Alpha Ind Group	Repeat	Omega Ind Group	Charge State	Adduct	Loss	Series Formula
Total/Average	977.779	1188.254	1654.383	1.215	12.480	17.261	27.849	100.00	11.79	H	C2H4O	C2H4306	1 Na	H2O		H [C2H4O] _n C2H4306 + Na - H2O
S1	977.779	1188.254	1654.383	1.215	12.480	17.261	27.849	100.00	11.79	H	C2H4O	C2H4306	1 Na	H2O		H [C2H4O] _n C2H4306 + Na - H2O

图 4. 样品 Polymerix 分析结果 (m/z 500-1500 Da)

最后，如图 5 所示，在 m/z 1200-2800 Da 检测到相邻聚合单元分子量相差 44 Da 的聚合物离子峰系列（红色标识峰），分子量分布与吐温 80 得到一分子 H₂O 的理论分子式 C₂₄H₄₆O₇(C₂H₄O)_n 相符，重均分子量 2190.857 Da，单体分子量 44 Da。



Homopolymer Results Summary																
Series Label	Mn	Mw	Mz	PD	DPn	DPw	DPz	Percent Series	Percent Spectrum	Alpha Ind Group	Repeat	Omega Ind Group	Charge State	Adduct	Loss	Series Formula
Total/Average	2013.195	2190.857	2357.120	1.089	35.590	39.625	43.401	100.00	3.87	H	C2H4O	C2H4507	1 Na			H [C2H4O] _n C2H4507 + Na
S1	2013.195	2190.857	2357.120	1.089	35.590	39.625	43.401	100.00	3.87	H	C2H4O	C2H4507	1 Na			H [C2H4O] _n C2H4507 + Na

图 5. 样品 Polymerix 分析结果 (m/z 1200-2800 Da)

4. 结论

本文应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 AXIMA-Performance 分析吐温 80，直接得到了样品的平均分子量、多分散度、聚合度、单体质量的信息，有助于研究吐温 80 的分子量分布情况和结构解析，为医药、食品、轻纺等领域中吐温的分析提供新的思路。AXIMA-Performance 作为基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱，具有飞行距离长、分析速度快、仪器维护方便的特点，是聚合物分析的有力工具。



MALDI-TOF MS 对注射剂中辅料吐温 80 进行降解评价

摘要：本文建立了应用台式 MALDI-TOF 对注射剂中辅料吐温 80 进行降解评价的方法。结果表明，注射剂中吐温 80 在特定环境下容易发生降解，通过比较标品及注射剂中吐温 80 的分子量分布，可以对注射剂中吐温 80 的降解程度进行评价。该方法简单易行，数据精确、分析速度快、通量高，为医药行业注射剂中辅料吐温 80 的质量控制提供了参考。

关键词：基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020 吐温80 降解

吐温80，又名聚山梨酯80，化学名称为聚氧乙烯山梨醇酐单油酸酯，是一种亲水型非离子表面活性剂，在注射剂中广泛地用作药物的增溶剂，可以增加药物的溶解性。注射剂在临床应用时，由于避过了肝肠循环直接进入人体，吸收快、作用迅速，一旦辅料出现质量问题，就会迅速对机体产生不可逆的损伤，危害程度很大。吐温80具有很强的破裂细胞膜的作用而引起刺激性，溶血性和组胺释放(致敏性)，近年来国内外出现多起因吐温80质量问题或使用不当导致注射剂不良反应(过敏、溶血等)的报道。吐温80中亲脂成份包括不饱和脂肪酸，这些不饱和

脂肪酸十分容易氧化降解而产生更多的有毒成份，由此而产生的毒副反应将会超过产品本身带来的益处。吐温80来源复杂，对吐温80原料的质量以及注射剂中吐温80的降解程度进行监测对保证临床用药安全至关重要。

本文应用台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020，通过比较标品及注射剂中吐温 80 的分子量分布，可以快速对注射剂中吐温 80 的降解程度进行评价。该方法简单易行，数据精确、分析速度快、通量高，为医药行业注射剂中辅料吐温 80 的质量控制提供了参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

MALDI-8020 台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪

1.2 分析条件

调谐模式：线性正离子模式

激光器：355 nm 固态激光器

扫描范围：m/z 500-5000

激光能量：65

1.3 样品前处理

取吐温80标品按注射剂中吐温80的浓度比例加入用于配制注射剂的缓冲液中，作为吐温80对照样品。取样品加水稀释10倍作为样品工作液。取1 μL NaTFA(三氟乙酸钠, 1 mg/mL) 点靶，自然干燥。取1 μL 样品工作液和1 μL 葱三酚基质溶液 (20 mg/mL) 依次点在靶点的盐结晶层上，自然干燥后将靶板送入质谱分析。

2. 结果与讨论

2.1 吐温 80 标品分析

使用岛津 MALDI-8020 分析吐温 80 标品的一级质谱图见图 2。质谱图中可见三个明显的“钟形”离子峰簇，分别为 m/z 500-1600、 m/z 1100-2700、 m/z 2500-4000，其中 m/z 1100-2700 之间的离子峰簇信号强度最高。以该离子峰簇为例，使用 Polymerix 软件进行分子量统计分析，结果见表 1，相邻不同质谱峰相差 44 Da，与吐温 80 的单体 $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ 分子量相符。

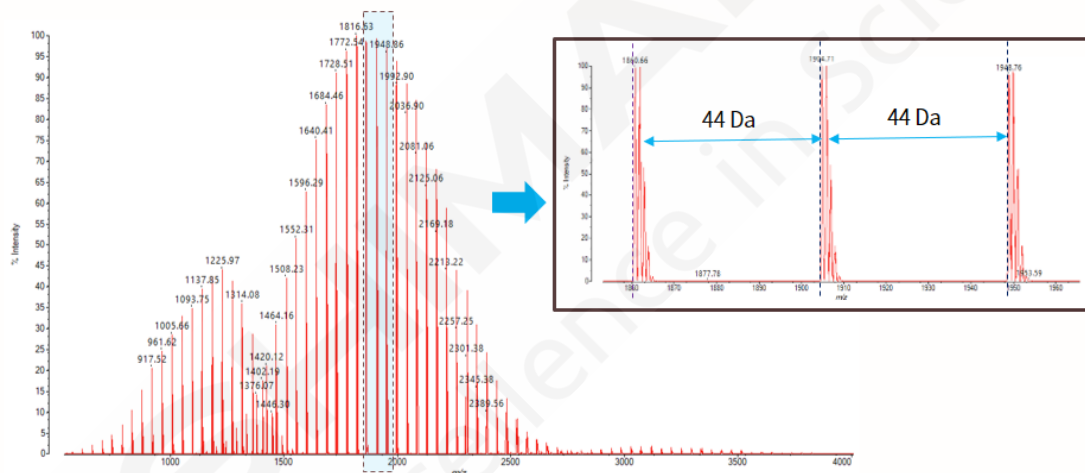


图 2. 吐温 80 标品的一级质谱图

2.2 不同处理的注射液制剂缓冲液吐温 80 降解分析

取某医药企业提供的两份注射液制剂缓冲液样品，保存条件分别为 4°C 20 天及 40°C 28 天，应用 MALDI-8020 进行分子量检测，质谱图见图 3，分子量统计信息见表 1。由图可见， 4°C 保存 20 天时，注射液中吐温 80 的分子量分布与标品相比无显著变化，但 40°C 保存 28 天时吐温 80 重均分子量明显变小，检测到 m/z 500-1100、 m/z 1000-1800、 m/z 1200-2000 三个离子峰簇，其中 m/z 1200-2000 离子峰簇中包含的质谱峰的数量较多，可能为吐温 80 降解后产生的碎片。该结果表明吐温 80 不太稳定，受特定环境影响容易发生降解，应用 MALDI-8020 通过分子量检测可以对是否发生降解进行监测。

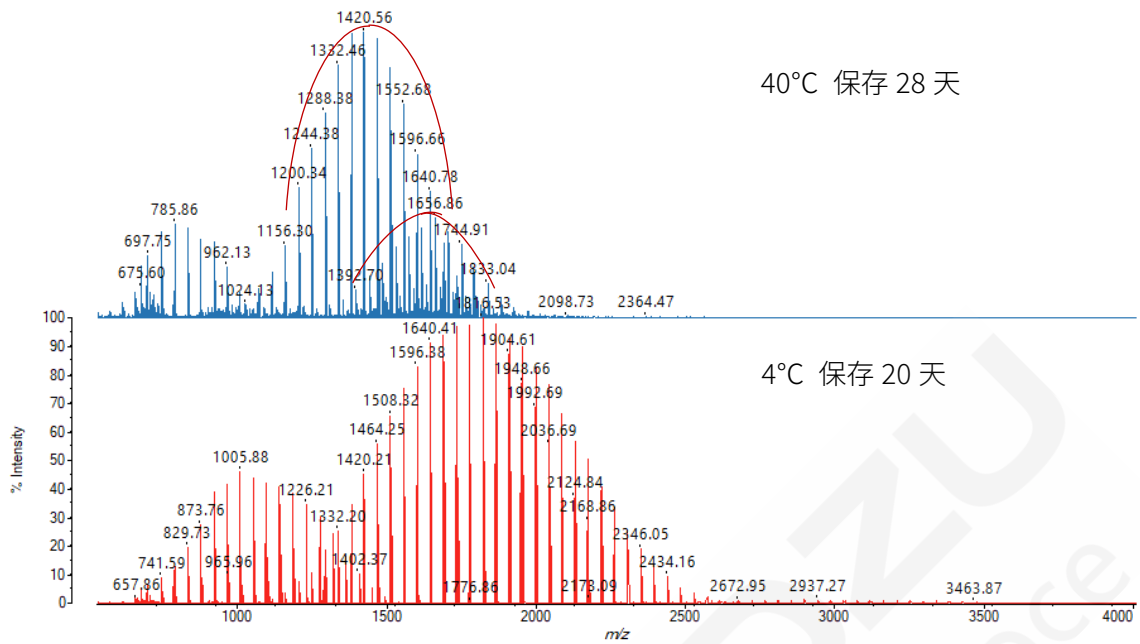


图 3. 不同保存条件下的注射液制剂缓冲液中吐温 80 的一级质谱图

2.3 不同品牌多西他赛注射液中吐温 80 分子量分析

从市场上购买三种不同品牌的多西他赛注射液，应用 MALDI-8020 进行分子量分析，检测结果见图 4。从结果来看，品牌 1 与品牌 3 吐温 80 的分子量分布相比标品无明显变化，但品牌 2 中的吐温 80 的重均分子量明显减小，检测到 m/z 500-1100、 m/z 1000-1800、 m/z 1400-1900 三个离子峰簇，可能是吐温 80 在原料来源、药物生产或成品保存过程中发生了降解所致。应用 MALDI-8020 对注射剂中吐温 80 进行分子量检测，简单易行，检测结果可为吐温 80 的质控提供参考，有助于保障临床用药安全。

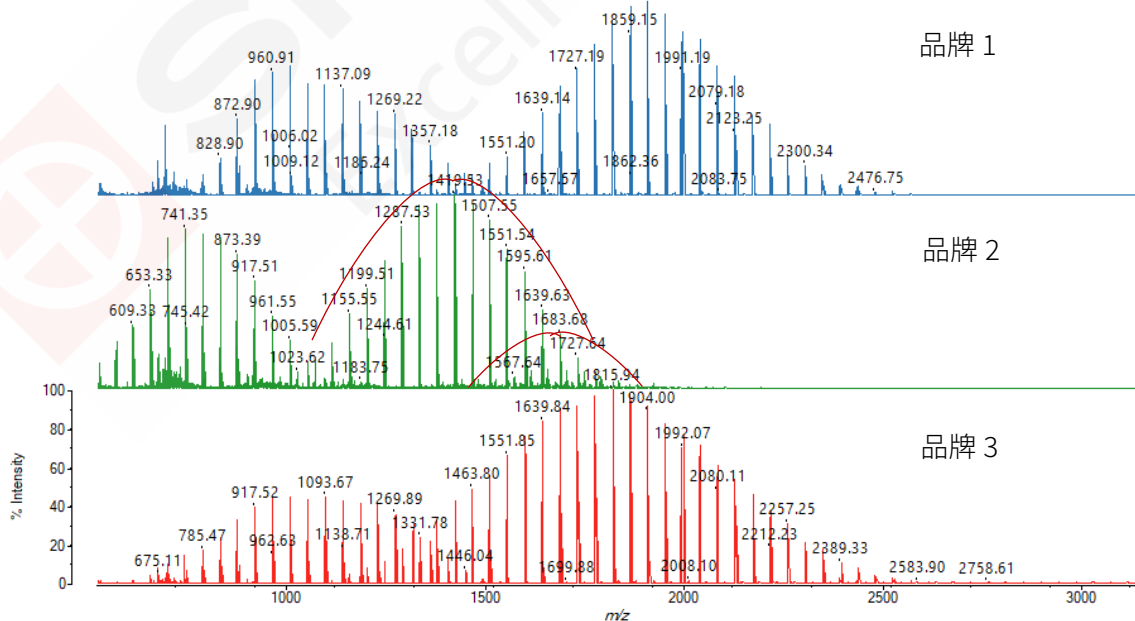


图 4 市售不同品牌注射剂中吐温 80 的一级质谱图

表 1 样品分子量统计信息 (分析软件: Polymerix)

样品	DPn	DPw	DPz	Mn	Mw	Mz
吐温 80 标品	41.42	42.10	42.76	1855.75	1885.90	1914.92
缓冲液 1	39.22	40.02	40.80	1758.95	1794.12	1828.41
缓冲液 2	31.31	31.77	32.26	1410.42	1431.01	1452.39
市售 1	41.29	41.77	42.24	1850.22	1871.19	1892.00
市售 2	30.98	31.34	31.69	1395.96	1411.91	1427.58
市售 3	39.66	40.49	41.30	1778.37	1814.84	1850.30

备注: 缓冲液 1-某注射液制剂缓冲液 4°C保存 20 天; 缓冲液 2-某注射液制剂缓冲液 40°C保存 28 天; 市售 1-市售多西他赛注射液品牌 1; 市售 2-市售多西他赛注射液品牌 2; 市售 3-市售多西他赛注射液品牌

3. 结论

本文应用台式基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 MALDI-8020 检测注射液中吐温 80 的分子量分布信息, 通过样品与标品的分子量变化对比, 可以判断吐温 80 是否发生明显降解, 为吐温 80 的质控评价提供参考。MALDI-8020 作为台式基质辅助激光解析电离飞行时间质谱, 操作简便、体积紧凑、分析速度快、仪器维护方便, 性能卓越, 是医药行业中聚合物类辅料分子量分析的有力工具。

MALDI-TOF MS 检测乙交酯丙交酯共聚物 (PLGA) 的分子量及分布

摘要: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 是进行聚合物分子量检测及结构分析的常用手段之一, 它可以快速给出聚合物的质量分布, 单体结构等信息, 并可以有效对聚合物的端基结构进行分析。本文使用岛津 AXIMA-Performance, 以地蒽酚 (Dithranol) 为基质, 分析乙交酯丙交酯共聚物 (PLGA), 得到了分子量的分布及单体结构信息。

关键词: 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 AXIMA-Performance 乙交酯丙交酯共聚物 分子量

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 具有操作简便、能够快速获取各类样品分子量信息等优点, 聚合物的分子量测定及结构分析便是其典型应用之一。岛津的基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 AXIMA-Performance, 具有飞行距离长 (线性模式1.2米、反射模式2.0米)、充分利用真正的高能CID条件 (20 keV碰撞能量+氦气) 和独特弯曲场反射管等特点。以上特点适合于包括聚合物在内的高分子物质分析。

聚合物是由称为单体的次级单元重复连接而成的分子, 由于其物理和化学性质, 在医学、药学等各个领域发挥着重要的作用。

聚合物的分析可以使用SEC/GPC分析、NMR/FT-IR 分光法等的各种分析手法, 其中, MALDI-TOF MS由于可以快速得到聚合物的分子量分布、多分散性以及端基结构信息, 因此, 广泛应用于制造业和质量实验室。

乙交酯丙交酯共聚物 (PLGA) 为丙交酯、乙交酯的环状二聚物在亲核引发剂催化作用下的开环聚合物。一般用作药用辅料和缓释材料。本文以地蒽酚 (Dithranol) 为基质, 应用AXIMA-Performance分析了药用辅料乙交酯丙交酯共聚物 (PLGA) 的分子量分布及单体信息, 可作为聚合物样品分析时的参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 AXIMA-Performance

1.2 分析条件

调谐模式: 线性正离子模式

激光器: 337 nm 氮气激光器

扫描范围: m/z 10-20000

激光能量: 70-120

脉冲引出质量：2000 Da

2. 样品前处理

将PLGA样品加四氢呋喃配制为10 mg/mL的样品工作液。取10 μ L的样品工作液、10 μ L的地葱酚基质溶液（20 mg/mL）、5 μ L辅助盐溶液NaTFA（5 mg/mL）预混合，再取1 μ L混合液点靶，自然干燥后将靶板送入质谱分析。样品前处理流程如图2所示。

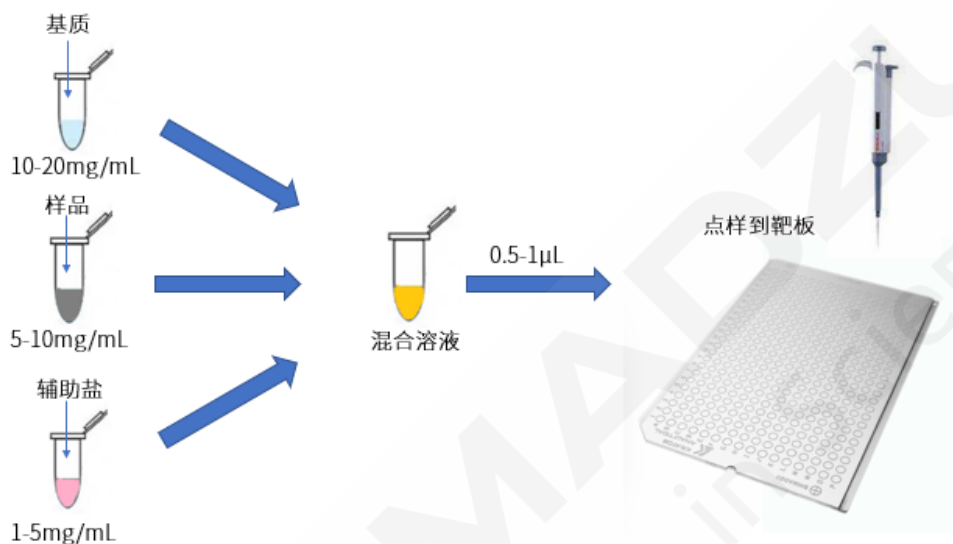
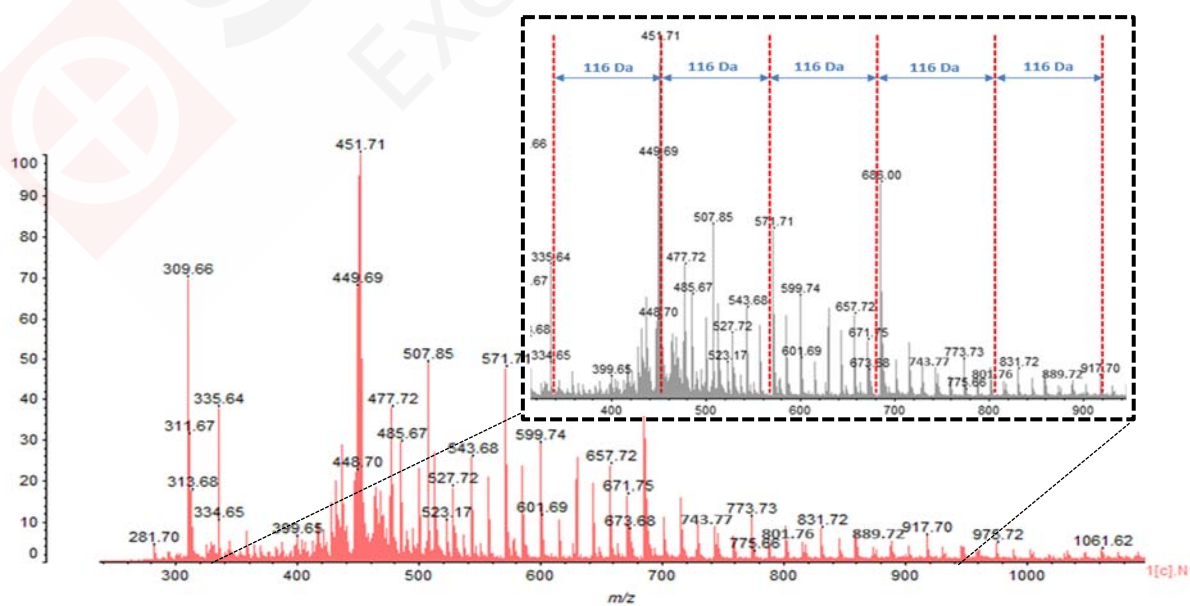


图2. 聚合物样品点样方法

3. 结果与讨论

合适基质的选择等前处理过程是影响 MALDI-TOF MS 信号表现的主要方面。本实验过程中使用聚合物分析常用基质 CHCA、DCTB、THAP 等进行测试，结果表现为样品离子化效



果较差而致无明显目标信号。经过多次筛选，最后选定地蒽酚基质，质谱图信号良好。

图 3. PLGA 样品质谱图 (m/z 200-1100); 插图: 局部放大图 (m/z 330-920)

PLGA 样品的质谱检测结果如图 3 所示。PLGA 样品在 m/z 200-1100 Da 检测到一系列离子峰。其中, 335.64 Da、451.71 Da、571.71 Da、686.00 Da、801.76 Da、917.70 Da (用红色虚线标识) 每两个相邻峰分子量差值约为 116 Da, 与乙交酯单体 $C_4H_4O_4$ 分子量相符。其中, 如图 4 所示, 309.66 Da、451.71 Da、599.74 Da、743.77 Da、889.72 Da (用红色虚线标识) 每两个相邻峰分子量差值约为 144 Da, 与丙交酯单体 $C_6H_8O_4$ 的分子量相符。

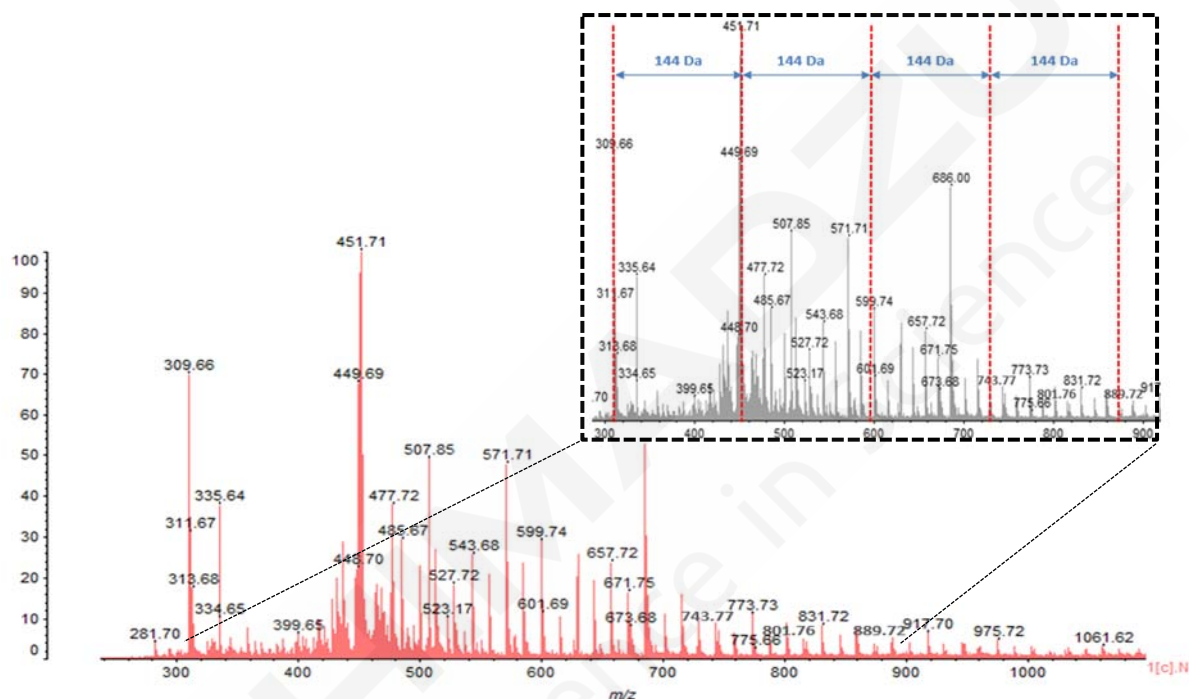


图 4. PLGA 样品质谱图 (m/z 200-1100); 插图: 局部放大图 (m/z 300-900)

4. 结论

本文应用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 AXIMA-Performance 分析乙交酯丙交酯共聚物 (PLGA), 直接得到了样品的分子量分布、单体质量的信息。AXIMA-Performance 作为基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱, 具有飞行距离长、分析速度快、仪器维护方便的特点, 是聚合物分析的有力工具。

GPC 测定玻璃酸钠相对分子质量及其分布

摘要：本文建立了一种使用岛津 Prominence GPC 系统对玻璃酸钠的重均分子量及分子量分布进行测定。本方法采用聚苯乙烯硫酸酯钠盐作为标准品，由 GPC 软件将进行普适校正计算，建立相对分子量校准曲线，采用线性回归方程。对未知样品 1 和 2 进行重均分子量及分子量分布进行测定，考察数均分子量及多分散系数的重现性，结果表明两个样品重复分析两次的 ΔM_n 均小于其 r_m 值， ΔD 均小于其 r_D 值。本方法可用于快速、准确测定玻璃酸钠分子量。

关键词：凝胶过滤色谱法；玻璃酸钠；相对分子质量及其分布

玻璃酸钠(sodium hyaluronate, SH)，又称透明质酸钠，是广泛存在于动物组织细胞间质中的一种酸性黏多糖，其结构为葡萄糖醛酸和N-乙酰氨基葡萄糖双糖单位重复连接，重均分子量 M_w 为 $10^5\sim 10^7$ 。玻璃酸钠的 M_w 不同，其药理作用有很大差别，重均分子量 M_w 不小于400,000，分布宽度 M_w/M_n 小于3.0的玻璃酸钠用于滴眼剂或药用辅材；重均分子量 M_w 为600,000~1,500,000，分布宽度 M_w/M_n 小于3.0的玻璃酸钠用于骨科；重

均分子量 M_w 为1,000,000~2,000,000，分布宽度 M_w/M_n 小于3.0的玻璃酸钠用于眼科手术。

准确测定玻璃酸钠的重均分子量 M_w 及其分子量分布是控制其质量的重要指标之一。凝胶过滤色谱法根据玻璃酸钠分子体积的大小实现分离，具有快速、简便和不受杂质干扰等特点。本文建立了岛津 Prominence凝胶渗透色谱测定玻璃酸钠重均分子量及分布宽度的方法。

1. 实验条件

1.1 仪器

本实验使用岛津 Prominence GPC 系统。具体配置为 LC-20AD（输液泵），SIL-20A（自动进样器），CTO-20A（柱温箱），RID-10A（示差折光检测器），CBM-20A（系统控制器）和 LCsolution Ver. 1.26 SP1（色谱工作站），GPC for LCsolution 数据处理软件。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shodex OHpak SB-806 HQ 8.0 mm I.D. × 300 mm L.

流动相：0.2 M NaCl

流速：0.5 mL/min

进样体积：100 μ L

柱温：35 $^{\circ}$ C

计算方法：采用线性回归方程，普适校正法计算(标准品 K 值为 0.00018, α 值为 0.65; 玻璃酸钠 K 值为 0.00057, α 值为 0.75)。

1.3 样品制备

标准溶液配制：以流动相配制质量浓度为 0.1%的聚苯乙烯硫酸酯钠盐作为分子量校准曲线，标准曲线的分子量分布表见表 1。

表 1 标准工作液分子量分布表

标准样品	分子量 Mp
STD1	129000
STD2	305000
STD3	673000
STD4	976000
STD5	2350000

样品制备：将 10 mg/mL 的液体样品用流动相稀释 10 倍配制成 0.1%溶液，静置过夜，0.45 μm 滤膜过滤后进样分析。

2. 实验结果

2.1 聚苯乙烯硫酸酯钠盐标准样品色谱图

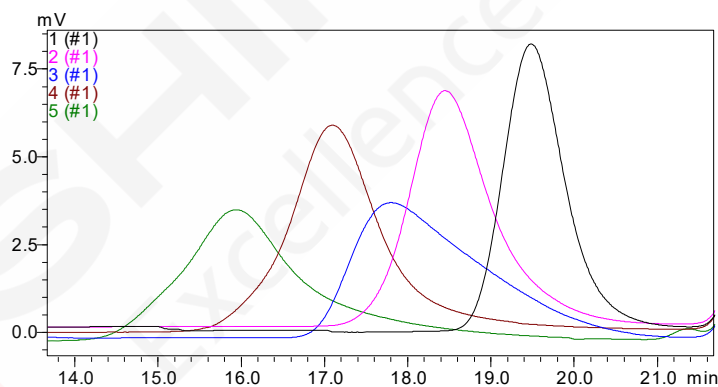


图 1 聚苯乙烯硫酸酯钠盐标准品色谱图

2.2 相对分子量校准曲线

由 GPC 软件进行普适校正计算线性回归方程，相对分子量的校准曲线如图 2 所示。

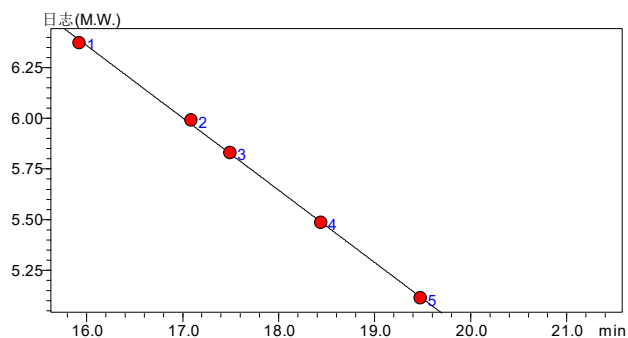


图 2 相对分子量校准曲线

2.3 实际样品分析

将制备好的样品 1 和 2 溶液注入凝胶过滤色谱分析, 色谱图如图 3 和 5 所示, 分子量分布如图 4 和 6 所示。用 GPC 软件计算出样品的分子量及分子量分布, 见表 2。

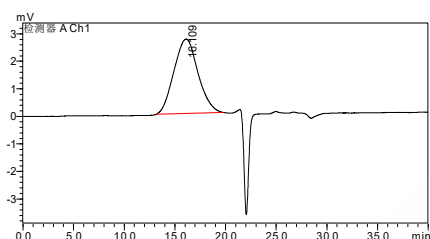


图 3 样品 1 的色谱图

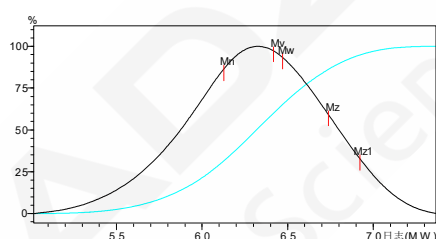


图 4 样品 1 分子量分布曲线

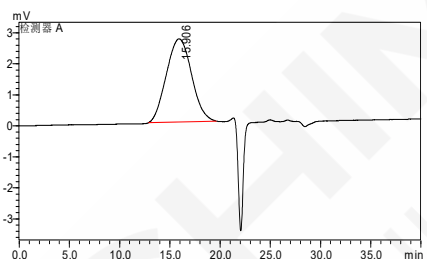


图 5 样品 2 的色谱图

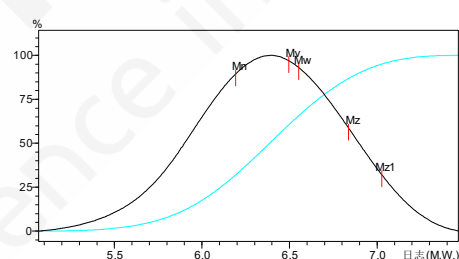


图 6 样品 2 分子量分布曲线

表 2 样品分子量分布表

样品编号	样品 1	样品 2
保留时间	16.109	15.906
Mn	1338837	1560034
Mw	2953458	3570261
Mz	5480687	6879496
Mw/Mn	2.20599	2.28858

2.4 重复性

为测定方法的重复性,将制备好的样品 1 和 2 溶液重复分析 2 次, 用 GPC 软件分别计算出样品 1 和样品 2 重复分析 2 次所得到的数均分子量及多分散系数的重现性见表 3, 结果表明两个样品重复分析两次的 ΔM_n 均小于其 r_m 值, ΔD 均小于其 r_D 值。

表 3 样品数均分子量和多分散系数的重现性考察

样品编号	Mn	Mw/Mn (D)
S1-1	1338837	2.20599
S1-2	1290130	2.22281
Δ Mn	48707 ($<r_m$)	
Δ D	0.01682 ($<r_D$)	
S2-1	1560034	2.28858
S2-2	1529216	2.33833
Δ Mn	30818 ($<r_m$)	
Δ D	0.04975 ($<r_D$)	

* 样品 S1 两次测定值的 $r_m=131448.4$, $r_D=0.13286$; 样品 S2 两次测定值的 $r_m=154462.5$, $r_D=0.13881$ 。其中 $r_m=0.01$ Mn, 式中 Mn 表示数均分子量的平均值; $r_D=0.06D$, 式中 D 表示多分散系数测定值的平均值。

3. 结论

使用岛津 Prominence GPC 系统对玻璃酸钠的重均分子量及分子量分布进行测定。本方法采用聚苯乙烯硫酸酯钠盐作为标准品, 建立相对分子量校准曲线, 采用线性拟合, 拟合方程为: $\log(M.W.)=ax+b$; 其中 $a=-0.3574001$, $b=12.07843$; $R=0.9996$ 。对未知样品 1 和 2 进行重均分子量及分子量分布进行测定, 考察数均分子量及多分散系数的重现性, 结果表明两个样品重复分析两次的 Δ Mn 均小于其 r_m 值, Δ D 均小于其 r_D 值。本方法可用于快速、准确测定玻璃酸钠分子量。

二、药用辅料安全性评价

药用辅料作为药品生产过程中重要的添加剂,其各项性质的本身同样影响着药物的安全性。一般使用中,大多使用不具有活性成分的物质作为辅料,伴随着研究的深入和使用的扩大,事实上不是所有的药用辅料均是惰性物质,一些辅料已经被证实具有潜在的毒性。例如紫杉醇是一种重要的抗癌药,其注射剂含增溶剂聚氧乙烯蓖麻油,该表面活性剂可以通过增溶提高紫杉醇的溶解度,但也极大增加了药品的过敏性。因此,药用辅料的选择应充分考虑安全性因素。

药用辅料的安全性问题究其原因不仅来自物料其本身,还可能来自其生产过程中带入的有机杂质残留、无机元素污染以及在使用贮存期间有毒有害物质的污染、有效成分的降解、其他异物的引入等等。

对于药用辅料的安全性评价可分为以下几种情况:

一般毒性 (共性)	特殊毒性	添加物毒性	环境、包装等污染
<ul style="list-style-type: none">• 重金属• 有机溶剂等	<ul style="list-style-type: none">• 合成单体• 催化剂残留等	<ul style="list-style-type: none">• 稳定剂• 抑菌剂• 规格• 用量等	<ul style="list-style-type: none">• 微生物• 病原体• 包装中物质转移等

随着分析检测技术的发展,仪器分析已成为药用辅料安全性研究的重要手段,使用合理的分析方法将对药用辅料安全性评价提供重要的保障。本章主要收录近期使用岛津相关设备对药用辅料进行安全性研究的应用解决方案 12 篇,涵盖元素分析、有机杂质分析、溶剂残留分析、异物分析等方面,涉及 LC、GC、GCMS、LCMS、XRD、TOC 等相关仪器,可为相关领域人员提供参考。

1、元素杂质分析

元素杂质指的是药物中含有的对人体有危害的金属元素，如铅、镉、砷、汞。目前对于化学药物，主要执行的限制标准来源于人用药品技术要求国际协调理事会提出的 ICH Q3D 元素杂质指南中对于不同元素限值的规定，其将元素杂质根据人体危害和残留风险分为 1 类、2A 类、2B 类、3 类，对于不同类别的不同元素，又根据药物的摄入途径规定了不同日摄入量限值。在规定日摄入量限值的基础上，根据不同药物的剂量差异，可以计算相应的元素杂质限值。

辅料中重金属含量超标会直接影响最后制剂中重金属的含量，药品含有重金属不但会影响药效，还会对人体健康造成威胁，要严格按照标准控制药品中重金属的含量，所以，药用辅料中重金属的检测是药品检验中常见项目，检测元素种类包括铜、铅、铬、镍、锡等。

控制元素杂质在安全的范围需要评估的最重要的是最终药物的元素杂质含量水平。目前通用的测试方法主要来源于美国药典的通则 USP233，其对测试使用仪器、样品处理方法等进行了指导，最重要的是给出了根据要控制的元素杂质限值进行测试方法的系统验证的方法。

重金属测定样品前处理的方法有：干灰法、湿法消解法和微波消解法三大类。药典中常用的检测方法包括重金属检查法（比色法）、原子吸收分光光度法、电感耦合等离子体发射光谱法、电感耦合等离子体质谱法等。

2020 年版药典部分药用辅料标准元素杂质修订项目汇总

药品名称	增修订检测项目	检测元素	限值	检测方法	备注
硅酸镁铝	含量测定	镁、铝	铝含量与镁含量之比应符合规定	ICP-AES	2015 年版药典滴定法修订为 ICPAES
胶囊用明胶	检查	铬	含铬不得超过百万分之二	ICP-MS 或 AAS	2020 版修订以 ICP-MS 为仲裁方式
明胶空心胶囊	检查	铬	含铬不得超过百万分之二	ICP-MS 或 AAS	2020 版新增 ICPMS 法，以 ICP-MS 为仲裁方式
中链甘油三酸酯	检查（供注射用）	铜、铅、铬、镍、锡	含铬不得超过 0.000005%，铜不得超过 0.0001%，铅不得超过 0.00001%，镍不得超过 0.00001%，锡不超过 0.00001%	AAS 或 ICPMS	2020 版新增品种标准



ICP-9800 全谱发射光谱仪



ICPMS-2030

SHIMADZU
Excellence in Science

ICPMS 测定二氧化硅中多种金属杂质元素的含量

摘要:本文采用了岛津ICPMS-2030型电感耦合等离子体质谱仪测定了二氧化硅样品中的Ce、Co、Cr、Cu、Fe、Mn及Ni等7种金属元素。实验结果表明,该方法具有灵敏度高,检出限低(0.20~8.89 $\mu\text{g}/\text{kg}$),精密度高($\text{RSD} \leq 2.15\%$),分析速度快,操作简单,加标回收率在98.6~108.0%,该方法可适于二氧化硅样品的金属杂质元素测定。

关键词: 二氧化硅 ICPMS-2030 金属杂质元素

二氧化硅是制造玻璃、耐火材料、光导纤维、电子工业材料以及适应玻璃、镜片、光学仪器等的原料。仪器加工生产的水晶粉、水晶砖、石英砂和硅微粉等产品,用于不同目的时,对其微量杂质元素的含量有不同的要求,通常必须严格控制。目前采用的国家标准分析方法包含了化学分析法、原子吸收光谱法等,但都具有操作麻烦,耗时多,仪器精密度灵敏度达不到

要求等缺点。

电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)能同时测定多种金属元素含量,具有较高的灵敏度和较低的检出限,在痕量金属含量的测定方面具有较大优势。

本文用硫酸-氢氟酸溶样,在盐酸介质中用岛津新品电感耦合等离子体质谱仪ICPMS-2030测定二氧化硅中的微量杂质元素,获得了较满意的分析结果。

1 实验部分

1.1 仪器

岛津 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪

1.2 实验器皿及试剂

实验所用器皿分别为塑料或玻璃材质,使用硝酸溶液(1+1)浸泡24小时后,用去离子水冲洗,干燥备用;实验所用试剂为优级纯试剂,实验用水为超纯去离子水。

1.3 样品的前处理

称取1.0 g(精确至0.0001g)试样,用少量水浸润,加10mL氢氟酸,再加5滴硫酸(1+1),加热至样品溶至尽干,如果样品为溶解完全,再重复一次。冷却后加入2mL盐酸(1+1),加热至样品溶解清亮后,转移至50mL容量瓶定容,去离子水定容,同时做空白试样。

1.4 仪器参数

等离子体参数:

高频功率: 1.2 kW

辅助气流速: 1.1 L/min

炬管类型: Mini

雾化室: 旋流

采样深度: 5.0 mm

等离子体气流速: 8.0 L/min

载气流速: 0.7 L/min

雾化器类型: 同心

雾室温度：5°C

高频频率：27.12 MHz

碰撞池参数：

碰撞气种类：He

碰撞气流速：6.0 mL/min

池电压：-21V

能量过滤器电压：7.0V

2. 结果与讨论

2.1 标准曲线溶液配制

使用1% 盐酸配制Ce、Co、Cr、Cu、Fe、Mn及Ni的标准溶液（含100 µg/L的内标Ge、Sc、In）。配制浓度如表2所示。

表 2. 标准溶液浓度及分析质量数

元素	质量数 (amu)	标准曲线浓度(µg/L)						
		Blank	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
Ce*	142	µg/L	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0
Co*	59	µg/L	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0
Cr*	52	µg/L	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0
Cu*	65	µg/L	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0
Fe*	56	µg/L	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0
Mn*	55	µg/L	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0
Ni*	60	µg/L	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	50.0

注：*为使用氦气碰撞模式

2.2 部分元素标准曲线如下

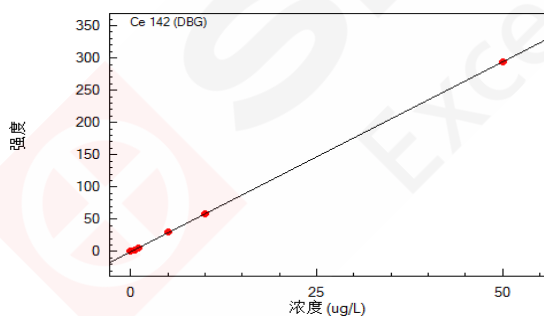


图 1 Ce 元素标准曲线 r=1.0000

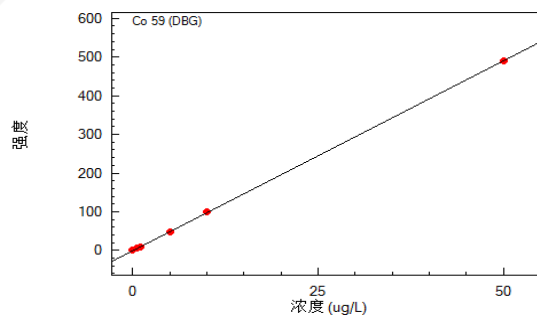


图 2 Co 元素标准曲线 r=1.0000

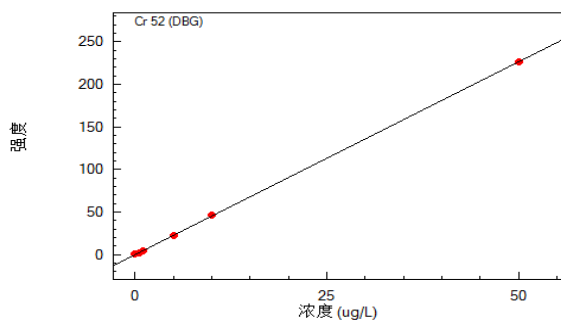


图 3 Cr 元素标准曲线 $r=1.0000$

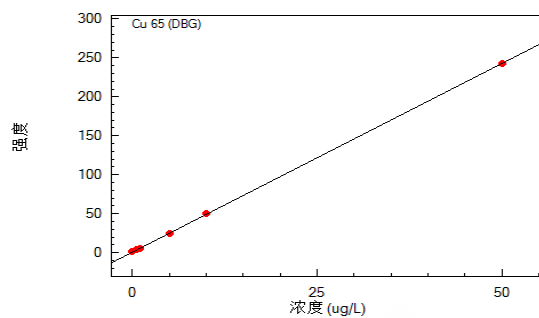


图 4 Cu 元素标准曲线 $r=1.0000$

2.3 部分元素质量轮廓图

质谱分析存在着同量异位素干扰、多原子离子干扰、难熔氧化物干扰、双电荷离子干扰和基体干扰等多种类型的干扰因素。ICPMS-2030的八极杆碰撞池通过引入氦气碰撞，可以有效地消除干扰。当分析结果异常，需要经验去识别甄选时，岛津LabSolutions ICPMS软件具有独特的“诊断助手”功能，可根据各元素的质量灵敏度、等效背景浓度、干扰情况等因素综合判断，对结果做出“Best”，“Good”和“NG”的判断，并给出相应的诊断依据，可大大提高分析效率并保证分析结果的准确。

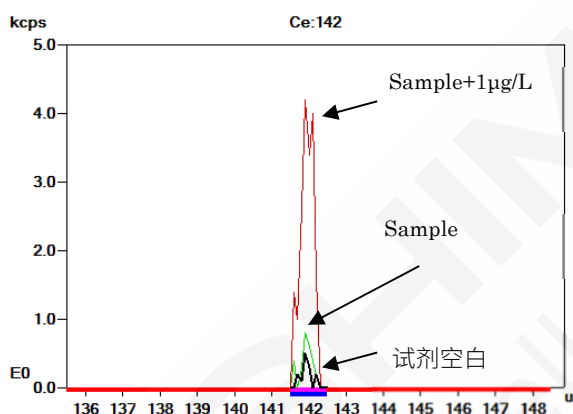


图 5 Ce 元素质量轮廓图

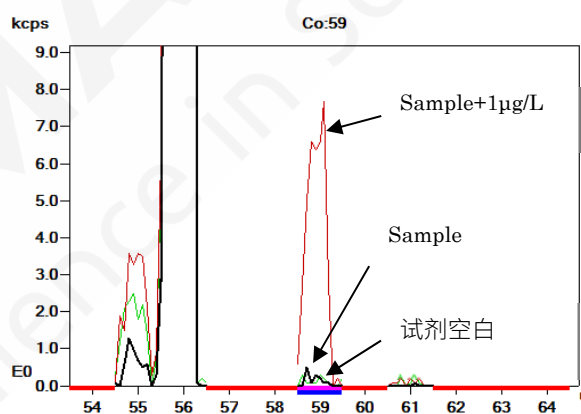


图 6 Co 元素质量轮廓图

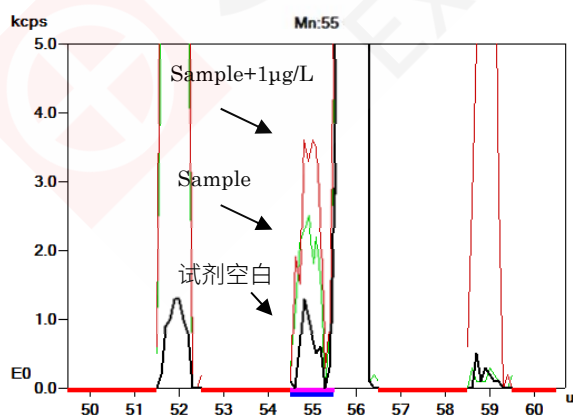


图 7 Mn 元素质量轮廓图

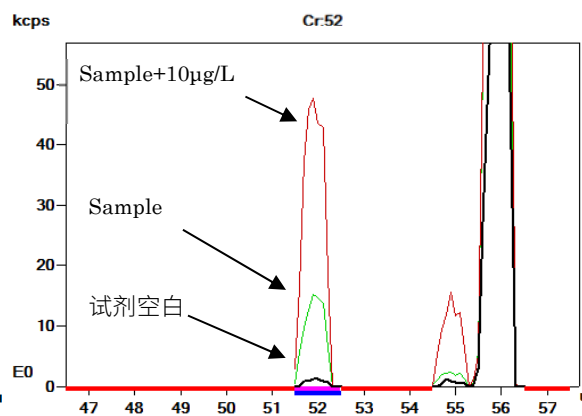


图 8 Cr 元素质量轮廓图

2.4 样品分析及检出限

对样品空白的分析元素进行11次测定，计算各元素的方法检出限，同时做加标实验。实验结果见表3。

表 3. 二氧化硅样品分析结果

元素	校正 内标	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	检测浓度 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	测定结果 ($\mu\text{g}/\text{g}$)	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	加标回收 率 (%)	RSD(% (n=3)
Ce	115In	0.27	N.D.	N.D.	1.0	99.4	0.05
Co	72Ge	0.20	N.D.	N.D.	1.0	98.6	0.14
Cr	45Sc	0.87	4.504	225.2	10.0	98.7	0.68
Cu	72Ge	0.45	1.9	95	1.0	106.0	1.33
Fe	45Sc	8.89	16.4	820	10.0	101.0	1.15
Mn	45Sc	0.73	1.27	63.5	1.0	108.0	0.69
Ni	72Ge	1.56	0.9613	48.065	1.0	101.5	2.15

注：N.D.为未检出

3. 结论

使用岛津公司电感耦合等离子体质谱仪ICPMS-2030同时测定了二氧化硅样品中的Ce、Co、Cr、Cu、Fe、Mn及Ni等7种金属元素。分析结果加标回收率良好。实验结果表明，该方法具有灵敏度高，检出限低(0.20~8.89 $\mu\text{g}/\text{kg}$)，精密度高 ($\text{RSD} \leq 2.15\%$)，分析速度快，操作简单，加标回收率在98.6~108.0%，该方法可适于二氧化硅样品的金属元素测定。

ICPMS 测定注射剂辅料中的元素杂质含量

摘要：本文参考 ICH Q3D 元素杂质指南及 USP<233>对杂质元素的测定方法，利用电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）测定了注射剂辅料中杂质元素的含量。实验结果表明：各元素的相关系数 $r > 0.9998$ ，加标回收率在 91.7~109.9%之间，满足 USP<233>对样品加标回收率 70%~150%的要求，6 份样品 1 倍限量值加标结果的相对标准偏差小于 3%，方法的精密度值（%RSD）完全符合 USP<233>规定每种目标元素的 RSD 值小于 20%的要求，该方法操作简便、快速，样品前处理简单，可以满足 ICH Q3D 中辅料中杂质元素限量值的测定要求。

关键词：ICH Q3D USP<233> ICP-MS 辅料 杂质元素

原料药制成不同剂型的药用制剂必须加入一些有助于制剂成型、稳定、增溶、助溶、缓释、控释等不同功能和作用的各种辅料。

磺丁基-β-环糊精钠是高水溶性环糊精衍生物，能很好地与药物分子包合形成非共价复合物，从而提高药物的稳定性、水溶性、安全性，降低肾毒性、缓和药物溶血性，控制药物释放速率，掩盖不良气味等。磺丁基-β-环糊精钠对含氮类药物具有特殊的亲和力与包合性，已广泛应用于注射药、口服药、鼻部用药、眼部用药。

元素杂质是药品审评的关注重点之一，是药物研发和全生命周期管理中的重要内

容。ICH Q3D元素杂质指南对药用辅料的元素杂质限值进行了规定。2017年，中国成为 ICH（人用药品注册技术要求国际协调会）正式会员，中国药典2020年版通则9102《药品杂质分析指导原则》中明确要求，应参照 ICH Q3D对药物中的无机杂质进行研究。

本文根据该注射剂在临床中的最大日使用剂量以及参考 ICH Q3D的限量要求和 USP <233>中 ICP-MS方法规程，采用直接稀释法处理磺丁基-β-环糊精钠注射剂辅料，使用岛津 ICPMS-2030测定了该辅料中多种杂质元素含量。该方法操作简单，定量准确，可以满足 ICH Q3D对注射液辅料中杂质元素限量值的测定要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪

1.2 实验器皿及试剂

实验所用器皿分别为塑料或玻璃材质，使用硝酸溶液（1+1）浸泡 24 小时后，用去离子水冲洗，干燥备用；实验所用 HNO₃ 为优级纯试剂，实验用水为超纯去离子水。

1.3 样品前处理

准确称取30 mg试样，加入Au溶液作为稳定剂（最终溶液中Au浓度为 1 mg/L），用1%硝酸定容至10 g，摇匀，待测。同法制备样品空白溶液和样品加标溶液。

1.4 仪器参数

ICP-MS仪器分析条件见表1。

表 1. ICP-MS 分析条件

参 数	参数设定	参 数	参数设定
高频功率	1.20 kW	等离子体气	9.0 L/min
辅助气	1.10 L/min	载气	0.70 L/min
炬管类型	Mini 炬管	雾化器	同心雾化器
雾化室	旋流雾室	雾化室温度	5°C
采样深度	5.0 mm	高频频率	27.12 MHz
碰撞气	He	碰撞气流速	6 mL/min
池电压	-21 V	能量过滤器电压	7.0 V

2. 结果与讨论

2.1 标准曲线溶液配制

根据该注射剂日最大使用剂量 (≤ 15 g/day) 定义目标元素限值“J”值为分析杂质元素的可接受浓度，即样品经前处理后待测元素在溶液中的最大限值。USP<233> 规定了标准曲线系列为两个标准溶液和一个空白溶液，每个元素标准溶液高浓度为目标限值的1.5倍（即1.5 J），低浓度为目标限值的0.5倍（即0.5 J），待测元素的目标限值（即J）。

利用1%硝酸溶液配制空白溶液、0.5 J和1.5 J浓度的各个元素混合标准溶液，加入Au溶液作为稳定剂（最终溶液中Au浓度为1 mg/L），各元素的限量值及标准溶液浓度见表2。内标元素 In、Bi 浓度均为 50 $\mu\text{g/L}$ ，Ge、Sc 浓度为500 $\mu\text{g/L}$ ，采用内标组件在线添加。

表 2. 元素限值及标准曲线溶液浓度系列

元素	分类	注射给药 PDE ($\mu\text{g/day}$)	元素限值 ($\mu\text{g/g}$)	元素限值 J ($\mu\text{g/L}$)	标准曲线系列 ($\mu\text{g/L}$)		
					0	0.5 J	1.5 J
¹¹⁴ 镉 (Cd)	1	2	0.13	0.4	0	0.2	0.6
²⁰⁸ 铅 (Pb)	1	5	0.33	1.0	0	0.5	1.5
⁷⁵ 砷 (As)	1	15	1.00	3.0	0	1.5	4.5
²⁰² 汞 (Hg)	1	3	0.20	0.6	0	0.3	0.9
⁵⁹ 钴 (Co)	2A	5	0.33	1.0	0	0.5	1.5
⁵¹ 钒 (V)	2A	10	0.67	2.0	0	1.0	3.0
⁶⁰ 镍 (Ni)	2A	20	1.33	4.0	0	2.0	6.0
⁷ 锂 (Li)	3	250	16.7	50	0	25	75
¹²¹ 锑 (Sb)	3	90	6.00	18	0	9.0	27
⁹⁵ 钼 (Mo)	3	1500	100.0	300	0	150	450

⁶³ 铜 (Cu)	3	300	20.0	60	0	30	90
⁵² 铬 (Cr)	3	1100	73.3	220	0	110	330

备注：1. PDE为每日允许暴露剂量 ($\mu\text{g}/\text{day}$)；

2. 根据15 g/day的剂量（参考该注射剂临床使用说明书）及稀释333倍计算得到元素限值

(J)

2.2 部分元素标准曲线

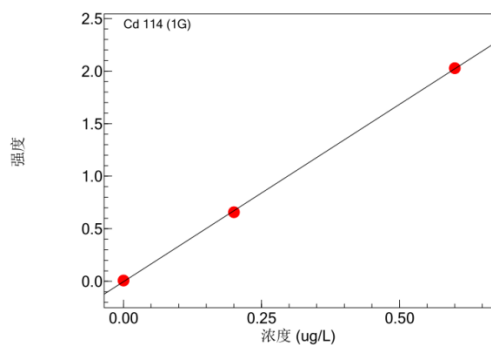


图 1. Cd 元素的标准曲线 $r=0.99991$

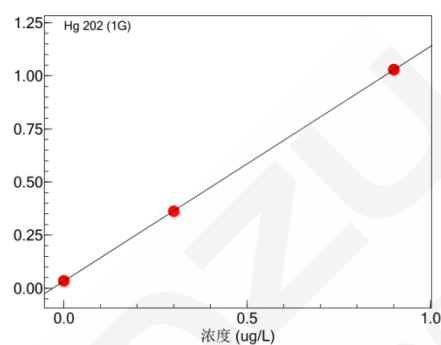


图 2. Hg 元素的标准曲线 $r=0.99999$

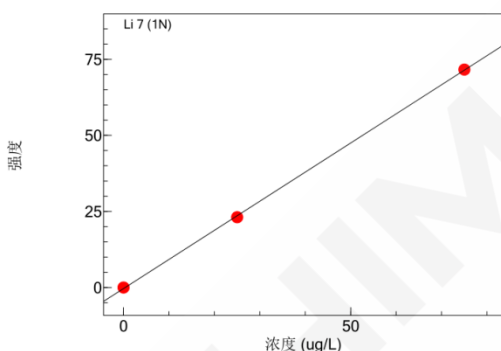


图 3. Li 元素的标准曲线 $r=0.99993$

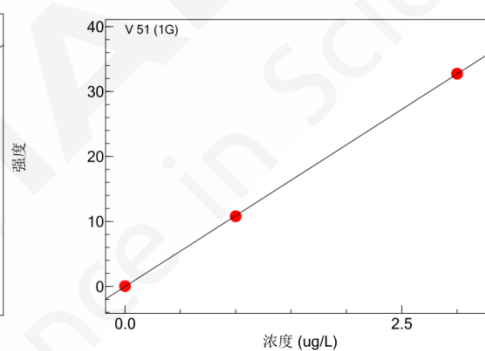


图 4. V 元素的标准曲线 $r=0.99998$

2.3 样品分析结果及加标回收率

按照实验方法，对空白溶液重复测定10次，取3倍强度的标准偏差除以曲线斜率求得各元素在溶液中的检出限；根据样品稀释倍数（333倍），求得该方法的检出限；

测定样品中的杂质元素含量，每个样品重复测定3次；

USP<233> 的指导原则规定了样品加标回收率的方法是向样品中加入0.5 J限量的标准溶液，本实验中分别样品中加入0.5 J、1.0 J和1.5 J的标准溶液，然后求出加标回收率，以便更全面系统的考察方法准确性。

表3. 样品分析及加标回收率

分析元素	内标元素	方检出限 (µg/g)	分析结果 (µg/L)	RSD (n=3,%)	0.5 J 加标回收率(%)	1.0 J 加标回收率(%)	1.5 J 加标回收率(%)
镉 (¹¹⁴ Cd)	¹¹⁵ In	0.0009	N.D.	-	98.9	98.0	95.7
铅 (²⁰⁸ Pb)	²⁰⁹ Bi	0.001	N.D.	-	107.2	105.9	106.8
砷 (⁷⁵ As)	⁷² Ge	0.003	N.D.	-	108.4	109.9	108.0
汞 (²⁰² Hg)	²⁰⁹ Bi	0.002	N.D.	-	96.0	101.6	100.2
钴 (⁵⁹ Co)	⁴⁵ Sc	0.0004	0.010	5.93	91.7	93.7	94.0
钒 (⁵¹ V)	⁴⁵ Sc	0.0008	0.023	5.06	95.7	97.4	96.7
镍 (⁶⁰ Ni)	⁷² Ge	0.002	0.21	5.64	96.0	96.6	98.0
锂 (⁷ Li) *	⁴⁵ Sc*	0.0006	0.12	4.22	100.9	101.6	102.1
锑 (¹²¹ Sb)	¹¹⁵ In	0.002	N.D.	-	99.1	99.5	99.5
钼 (⁹⁵ Mo)	¹¹⁵ In	0.01	N.D.	-	102.3	103.8	103.0
铜 (⁶³ Cu)	⁷² Ge	0.04	N.D.	-	93.3	93.8	93.5
铬 (⁵² Cr)	⁴⁵ Sc	0.001	0.44	3.31	95.5	96.1	95.8

备注：1、*代表无碰撞模式；

2、N.D.代表未检出

分析结果显示，岛津ICPMS-2030质谱仪测定注射剂辅料中的杂质元素含量，各元素的方法检出限远低于元素杂质含量限值，可以满足ICH Q3D对注射剂辅料中杂质元素的限量要求。

0.5倍、1倍和1.5倍的限量值的加标回收率在91.7~109.9%之间，满足USP<233>对样品加标回收率需要70%~150%的要求。

2.4 方法精密度实验

为了验证本方法的重复性，取6份同样的样品，分别向样品中加入各元素的1倍限量值（即 1.0 J），求出6份样品加标测定结果的RSD值，确定方法的精密度，其结果见表4。

表4. 样品精密度

元素	加标样 (1.0 J) 测定结果 (µg/L)											
	Cd	Pb	As	Hg	Co	V	Ni	Li	Sb	Mo	Cu	Cr
1#样品	0.40	1.03	3.26	0.60	0.94	2.00	4.04	50.6	17.9	313	56.4	213
2#样品	0.39	1.05	3.37	0.61	0.95	1.94	4.03	51.2	18.0	313	56.3	211
3#样品	0.39	1.05	3.23	0.59	0.96	1.96	4.03	51.4	18.0	311	55.8	211
4#样品	0.39	1.04	3.30	0.59	0.95	1.92	4.04	52.0	18.2	315	55.9	212
5#样品	0.39	1.07	3.35	0.60	0.98	2.00	4.23	52.7	18.5	323	57.8	218
6#样品	0.38	0.99	3.26	0.62	0.97	2.01	4.13	52.4	18.3	318	57.0	215
RSD/%	1.75	2.61	1.68	2.18	1.63	1.88	1.99	1.53	1.24	1.39	1.33	1.28

结果表明，6份样品1倍限量值加标样测定结果的相对标准偏差小于3%，即该方法的精密度(%RSD)值完全符合USP<233>规定的标准，即每种目标元素的RSD值小于20%。

3. 结论

参考 ICH Q3D 元素杂质指南及 USP<233> 对杂质元素的测定方法，利用电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）测定了磺丁基-β-环糊精钠注射剂辅料中杂质元素的含量。元素线性关系及重复性好，定量准确，各元素的相关系数 $r > 0.9998$ ，加标回收率在 91.7~109.9% 之间，6 份样品 1 倍限量值加标结果的相对标准偏差小于 3%，各指标均符合 USP<233> 规定的标准。该方法操作简便、快速，样品前处理简单，可以满足 ICH Q3D 中对注射剂辅料中杂质元素限量值的测定要求。



ICPMS 测定中链甘油三酸脂中杂质元素含量

摘要：本文参考 2020 版《中国药典》，建立了采用微波消解处理样品，使用岛津 ICPMS-2030 系列电感耦合等离子体质谱仪测定中链甘油三酸脂中 Cr、Cu、Pb、Ni、Sn 杂质元素含量的方法。实验结果表明，该方法各元素标准曲线线性良好 ($r > 0.9997$)，限值浓度加标回收率在 98.0%~103.0%之间，测定结果准确，满足测试需求，适用于中链甘油三酸脂中杂质元素含量的测定。

关键词：ICP-MS 中链甘油三酸酯 杂质元素

中链甘油三酸酯是由椰子胚乳的坚硬干燥部分或油棕胚乳的干燥部分提取的脂肪油分离出的辛酸 (C₈H₁₆O₂)、癸酸 (C₁₀H₂₀O₂) 等饱和脂肪酸，与甘油酯化而得的甘油三酯混合物。在食品行业已有广泛应用，2020版《中国药典》将其收录到辅料中，并规定其在注射剂中使用时，杂质元素中铬不超过0.000005%，铜、铅、镍、锡均不超过0.00001%，电感耦合

等离子体质谱 (ICP-MS) 法为第一测试方法也是仲裁方法。

本文参考2020版《中国药典》，采用微波消解处理样品，使用岛津ICPMS-2030系列电感耦合等离子体质谱仪测定了中链甘油三酸脂中Cr、Cu、Pb、Ni、Sn杂质元素含量。该方法测定快速、准确，灵敏度高，满足中注射用链甘油三酸脂元素杂质含量测试要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 ICPMS-2030 系列电感耦合等离子体质谱仪。

1.2 实验器皿及试剂

实验所用器皿均用硝酸溶液 (1+1) 浸泡24小时后，用去离子水冲洗，干燥备用；实验所用HNO₃为优级纯试剂，实验用水为超纯去离子水。

1.3 样品前处理

称取样品100 mg，置5 mL聚四氟乙烯试管中，加入0.75 mLHNO₃ 后旋紧试管盖（有开孔）。将聚四氟乙烯试管放入装有20 mL水的微波消解罐中，进行微波消解程序。待微波消解程序结束，取出聚四氟乙烯试管，将试管内液体转移并纯水定容至10 mL，即为待测样品。同法制备样品空白并进行限值浓度加标实验。

1.4 仪器参数

等离子体参数：

高频功率：1.2 kW

辅助气流速：1.1 L/min

炬管类型：Mini

雾化室：旋流

采样深度：5.0 mm

碰撞池参数：

池气体类型：He

池气体流量：6 mL/min

等离子体气流速：9.0 L/min

载气流速：0.7 L/min

雾化器类型：同心

雾室温度：5°C

高频频率：27.12 MHz

池电压：-21 V

能量过滤器：7 V

2. 结果与讨论

2.1 校准曲线溶液配制

使用 2%硝酸配制系列混合标准溶液，标准溶液浓度见表 1。配制 Bi、Ge、In、Sc 混合内标溶液，采用在线内标组件加入。

表 1. 标准溶液浓度

元素	浓度 ($\mu\text{g/L}$)			
	STD1	STD2	STD3	STD4
Cr	0.00	0.25	0.50	1.00
Cu	0.00	0.50	1.00	2.00
Pb	0.00	0.50	1.00	2.00
Ni	0.00	0.50	1.00	2.00
Sn	0.00	0.50	1.00	2.00

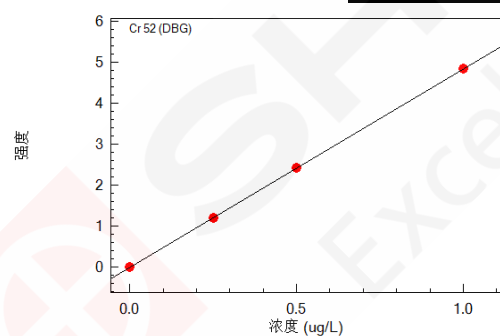


图 1. Cr 元素的标准曲线 $r=0.99999$

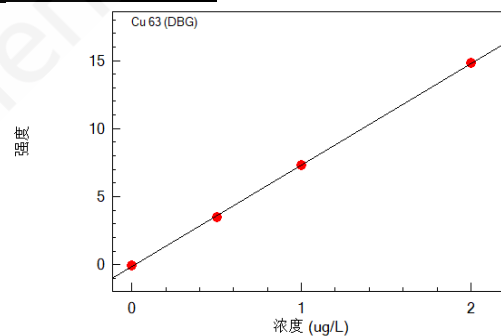


图 2. Cu 元素的标准曲线 $r=0.99993$

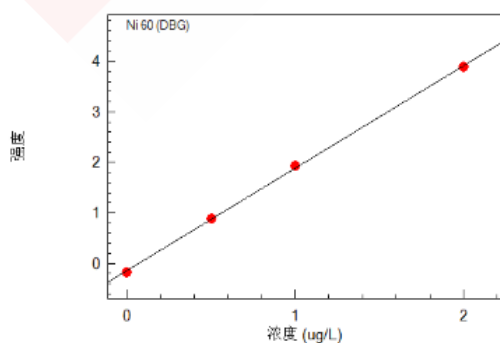


图 3. Ni 元素的标准曲线 $r=0.99977$

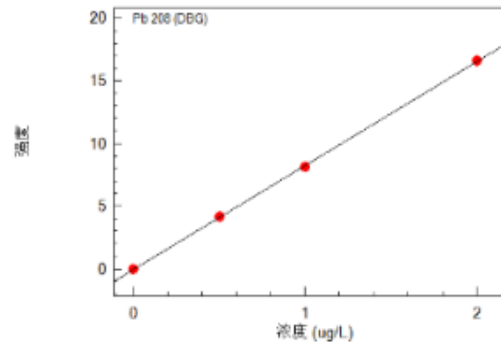


图 4. Pb 元素的标准曲线 $r=0.99994$

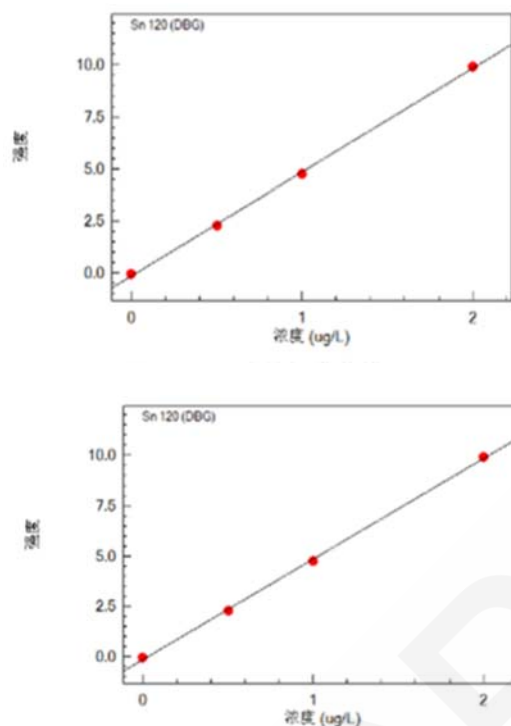


图 5. Sn 素的标准曲线 $r=0.99993$

2.2 检出限

按照实验方法对样品空白进行11次测定, 计算各元素的仪器检出限, 按照称样量100 mg, 定容体积10 mL计算, 得到方法检出限及定量限, 结果见表 1。结果显示, 各元素定量限均小于《中国药典》规定的元素限值。

表 2. 检出限结果

元素	内标	仪器检出限 ($\mu\text{g/L}$)	方法检出限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)	元素限值 (mg/kg)
^{52}Cr	^{45}Sc	0.004	0.0004	0.0012	0.05
^{63}Cu	^{72}Ge	0.05	0.005	0.015	0.10
^{60}Ni	^{45}Sc	0.07	0.007	0.021	0.10
^{208}Pb	^{209}Bi	0.001	0.0001	0.0003	0.10
^{120}Sn	^{115}In	0.005	0.0005	0.0015	0.10

2.3 样品分析及加标回收率

样品及限值浓度加标样品测定结果见表 3, 各元素加标回收率在 98.0~103.0 之间。

表 3. 样品测定结果及加标回收结果

元素	分析结果 ($\mu\text{g/L}$)	样品含量 (mg/kg)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加标后测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	RSD(n=3) (%)	加标回收率 (%)
^{52}Cr	0.11	0.010	0.5	0.62	0.25	102.0
^{63}Cu	N.D.	<0.015	1.0	1.03	0.47	103.0
^{60}Ni	N.D.	<0.021	1.0	1.03	1.65	103.0
^{208}Pb	0.01	0.001	1.0	0.99	0.17	98.0
^{120}Sn	0.03	0.003	1.0	1.03	0.96	100.0

注: N.D.表示未检出。

3. 结论

本文参考 2020 版《中国药典》四部辅料中链甘油三酸酯的相关内容，建立了采用微波消解处理样品，使用岛津 ICPMS-2030 系列电感耦合等离子体质谱仪测定中链甘油三酸酯中 Cr、Cu、Pb、Ni、Sn 杂质元素含量的方法。实验结果表明，该方法各元素标准曲线线性良好 ($r > 0.9997$)，方法检出限均明显低于《中国药典》规定的元素限值，限值浓度加标回收率在 98.0%~103.0% 之间，测定结果准确，满足测试需求，适用于中链甘油三酸酯中杂质元素含量的测定。



ICPMS 测定明胶空心胶囊中的多种重金属元素

摘要：本文采用微波消解明胶空心胶囊，使用岛津 ICPMS-2030 型电感耦合等离子体质谱仪测定了明胶空心胶囊样品中的 As、Cd、Co、Cr、Cu、Hg、Mn、Ni、Pb 和 V 10 种重金属元素。结果表明，各元素线性关系良好，相关系数均大于 0.9996，样品测定精密度（RSD，n=6）小于 7%，样品回收率为 92.6~104%，该方法各元素检出限为 0.04~0.0002 mg/kg。该方法操作简单快速，精密度好，准确度高，可用于明胶空心胶囊中多种痕量元素的测定。

关键词：胶囊 铬 重金属 ICPMS-2030

2012年4月发生的胶囊壳铬超标事件，令民众对明胶空心胶囊的质量产生了很大的质疑。明胶空心胶囊中重金属元素(主要包括铬、铜、砷、镉、铅等有毒有害元素)的含量不仅影响所承载药品的质量，还直接危及和影响患者的用药安全性和疗效。《中国药典》2020年版四部规定采用AAS或ICPMS

对明胶空心胶囊中的铬含量进行检测。为了能快速、准确、全面地反映明胶空心胶囊的质量，本文参考《中国药典》，采用微波消解对样品进行处理，建立了微波消解-电感耦合等离子体质谱法同时测定明胶空心胶囊中Cr、As、Cd、Co、Cu、Hg、Mn、Ni、Pb和V等10种重金属元素含量的分析方法。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪

1.2 实验器皿及试剂

实验所用器皿分别为塑料或玻璃材质，使用硝酸溶液（1+1）浸泡24小时后，用去离子水冲洗，干燥备用；实验用硝酸为优级纯硝酸；实验用水为超纯去离子水。

1.3 样品前处理

称取0.2 g（精确至0.0001g）试样于聚四氟乙烯微波消解罐中，加入4 mL HNO₃ 和1 mL H₂O₂，盖上消解罐盖，放入微波消解仪消解。消解结束后冷却至室温，打开密闭消解罐，将消解液转移至 50 mL容量瓶中，用超纯水定容至刻线，摇匀，待测。同法制取空白。（为保持Hg元素的稳定性，样品中添加有浓度为1 mg/L的Au元素）。

1.4 仪器参数

等离子体参数：

高频功率：1.2 kW

辅助气流速：1.1 L/min

矩管类型：Mini

雾化室：旋流

采样深度：5.0 mm

等离子体气流速：8.0 L/min

载气流速：0.7 L/min

雾化器类型：同心

雾室温度：5°C

高频频率：27.12 MHz

碰撞池参数：

碰撞气种类：He

池电压：-21 V

碰撞气流速：6.0 mL/min

能量过滤器电压：7.0 V

2. 结果与讨论

2.1 标准曲线溶液配制

使用1%硝酸配制As、Cd、Co、Cr、Cu、Hg、Mn、Ni、Pb和V的混合标准溶液，标准溶液浓度见表1。为保持Hg元素的稳定性，标准溶液中添加有浓度为1 mg/L的Au元素。使用在线内标组件，内标元素为Ge、Y、Sc、Bi、Ho，浓度均为500 µg/L。

表 2. 元素限值及标准曲线溶液浓度系列

分析元素	标准曲线浓度(µg/L)				
	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5
⁷⁵ As	0	1	3	5	20
¹¹¹ Cd	0	1	3	5	20
⁵⁹ Co	0	1	3	5	20
⁵² Cr	0	1	3	5	20
⁶³ Cu	0	1	3	5	20
²⁰² Hg	0	3	5	10	20
⁵⁵ Mn	0	1	3	5	20
⁵⁸ Ni	0	1	3	5	20
²⁰⁸ Pb	0	1	3	5	20
⁵¹ V	0	1	3	5	20

备注：使用氦气碰撞模式

2.2 部分元素标准曲线

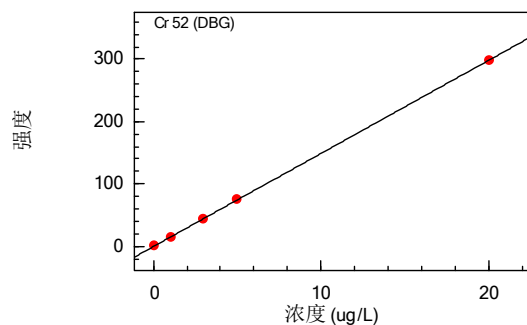


图3 Cr元素的标准曲线 $r=1.00000$

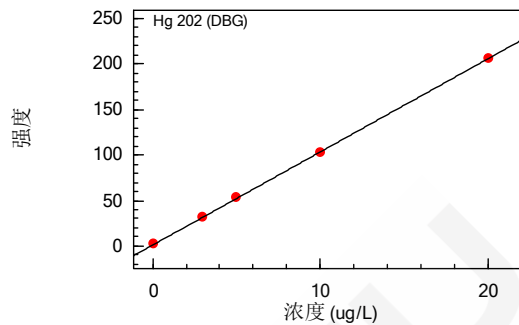


图4 Hg元素的标准曲线 $r=0.99997$

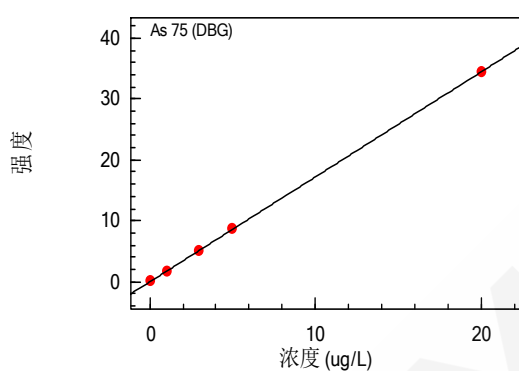


图1 As元素的标准曲线 $r=1.00000$

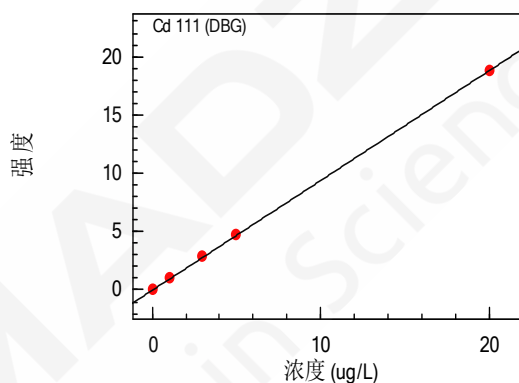


图2 Cd元素的标准曲线 $r=1.00000$

2.3 元素质量轮廓图

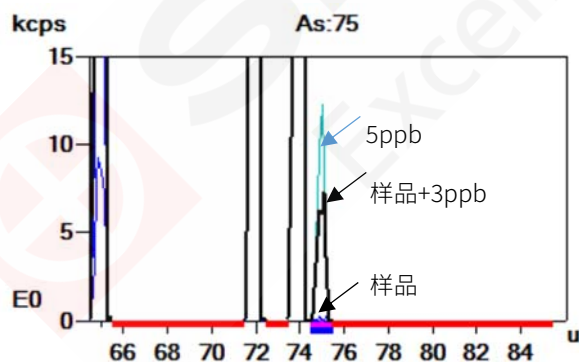


图5 As元素谱峰轮廓

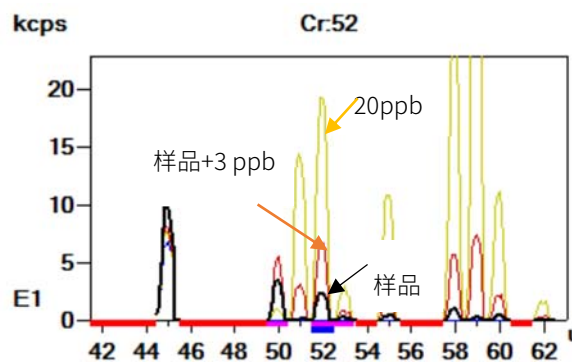


图6 Cr元素谱峰轮廓

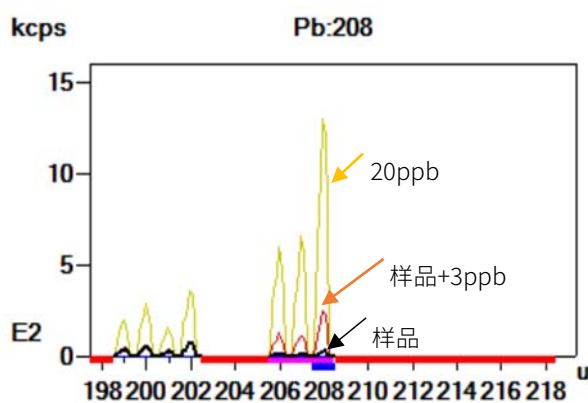


图7 Pb元素谱峰轮廓

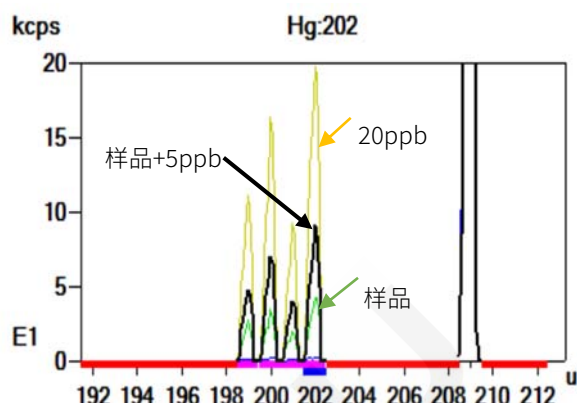


图8 Hg元素谱峰轮廓

2.4 方法检出限

按照实验方法对标准曲线空白的分析元素进行11次测定，以结果的3倍标准偏差所对应的浓度值作为仪器检出限，并根据样品处理方法计算方法检出限，结果列于表2。

表 2 仪器检出限和方法定量限

元素	仪器检出限($\mu\text{g/L}$)	方法检出限(mg/kg)
As	0.007	0.002
Cd	0.0008	0.0002
Co	0.008	0.002
Cr	0.05	0.01
Cu	0.1	0.03
Hg	0.16	0.04
Mn	0.009	0.002
Ni	0.03	0.008
Pb	0.004	0.001
V	0.003	0.0008

2.5 样品分析结果

使用ICPMS-2030测定了市售明胶空心胶囊样品中As、Cd、Co、Cr、Cu、Hg、Mn、Ni、Pb和V的含量，并进行加标回收实验以验证方法的准确性。实验结果表明，该方法精密度RSD小于7%，各元素加标回收率为92.6~104%，分析结果见表4。

表 4 明胶空心胶囊样品分析结果

元素	校正内标	测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	RSD(%) (n=3)	样品含量 (mg/Kg)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)
^{75}As	^{74}Ge	0.03	6.06	0.009	3.0	2.93	96.7
^{111}Cd	^{89}Y	N.D.	--	<0.0006	3.0	2.78	92.6
^{59}Co	^{45}Sc	0.11	3.51	0.03	3.0	3.11	100
^{52}Cr	^{45}Sc	1.51	2.49	0.57	3.0	4.42	97

⁶³ Cu	⁷⁴ Ge	2.14	2.65	0.54	3.0	5.27	104
²⁰² Hg	²⁰⁹ Bi	4.22	0.88	1.05	5.0	9.04	96.4
⁵⁵ Mn	⁴⁵ Sc	0.68	2.93	0.17	3.0	3.72	101.4
⁵⁸ Ni	⁷⁴ Ge	0.46	2.51	0.2	3.0	3.51	101.6
²⁰⁸ Pb	¹⁶⁵ Ho	0.22	3.15	0.05	3.0	3.28	102.1
⁵¹ V	⁴⁵ Sc	0.14	5.43	0.04	3.0	3.19	101.7

注：N.D.表示未检出。

3. 结论

使用岛津公司 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪，测定了明胶空心胶囊中 As、Cd、Co、Cr、Cu、Hg、Mn、Ni、Pb 和 V 的含量。实验结果表明，各种金属元素的方法检出限范围为 0.04~0.0002 mg/kg，线性关系良好($r > 0.9996$)，方法的回收率为 92.6~104%，RSD 值均小于 7%。该方法具有灵敏度高，检出限低，分析速度快，操作简单，准确度高等特点，可满足明胶空心胶囊中痕量元素分析的要求。

2、有机杂质分析

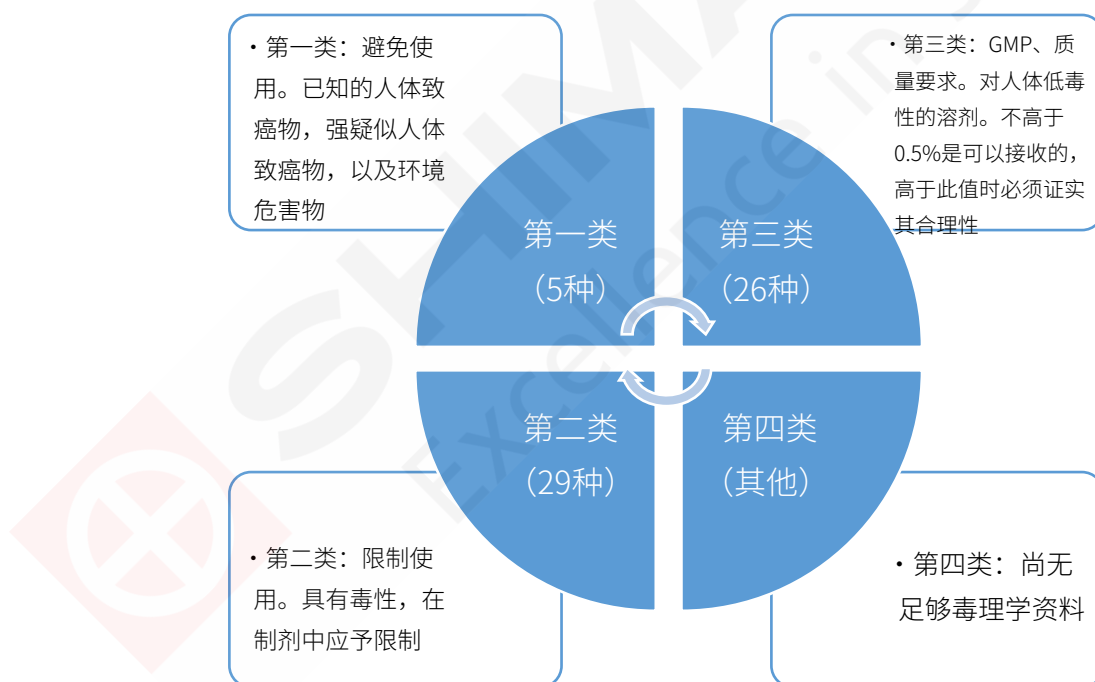
药用辅料中有机杂质可能是已知、未知、挥发或不挥发的化合物，可能来源于药物辅料生产过程中引入的有机溶剂、中间体、分解产物等，这些杂质都有可能

导致不良的生物活性或毒性。药用辅料中有机杂质的理化特性差异大，通常需要结合不同分析手段来进行检测。如使用 GC 及 GCMS 来分析挥发性和半挥发性有机物外，使用 HPLC、GPC、LCMS 等仪器设备来检测不挥发性有机物。

有机杂质分析技术

杂质类型	技术
不挥发性有机杂质	FTIR、LC、LCMS、LC-Q-TOF、SFC、MADIL-TOF
挥发和半挥发性有机杂质	GC 和 GCMS

药用辅料生产过程中可能会使用到有机溶剂，如果在生产工艺中这些溶剂未能被完全去除，则称之为残留溶剂，大部分残留溶剂对人体有害。



残留溶剂的分类及要求

残留溶剂一般使用 GC 或 GCMS 进行检测。岛津 2017 年推出新一代旗舰产品 Nexis GC-2030，进一步革新了电子流路控制系统，同时拥有更具灵敏度的检测器，在维护上真正实现无需工具徒手维护，图形化的操作界面也让气相色谱的使用更加简单。岛津 GCMS 系列都配备了精准电子流量控制器 AFC，保证了更高的精度。GCMS-QP2020 NX 系列，搭载全新大容量超高效真空系统，集成专利高

辉度离子源和屏蔽版（Shield）技术，具有超强抗污染性能，在制药行业挥发性和半挥发性有机物的检测中表现优异。



Nexis-2030



GCMS-QP2020 NX

常见的不挥发性有机杂质如乳糖辅料中的乳清蛋白可能会引起过敏反应但其含量极低，用常规 LCMS 难以检测。岛津 Nexera Mikros 微流量液质联用系统，可对应从微量流速（1 $\mu\text{L}/\text{min}$ ~100 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）到半微量流速（100 $\mu\text{L}/\text{min}$ ~500 $\mu\text{L}/\text{min}$ ）的宽流速范围。相比半微量液相色谱，Nexera Mikros 在与 LCMS 联用检测目标化合物时可以获得更高的灵敏度；与纳升 LCMS 系统相比，可以获得更短的分析时间和更好的稳定性。



Nexera Mikros

岛津自上世纪中叶推出首台 GPC 系统以来，始终不忘初心、努力践行“工匠精神”，同时潜心钻研、治理创新，始终引领液相色谱技术发展的潮流。2019 年岛津推出首套“AI”与“IoT”尖端技术的旗舰级液相色谱仪 Nexera LC-40。



Nexera LC-40

岛津是全球首家将三重四极杆高灵敏度和超快速扫描相结合的公司，岛津三重四极杆家族有 LCMS-8040、8045、8050 及 8060 系列，具备全球最快的扫描速度（30000 u/s）和正负极切换速度（5 ms）。



LCMS-8050

本节收录了使用 GC、GCMS、HPLC、LC-MS/MS 等仪器分析药用辅料中有机杂质应用实例，供相关人员参考。

GC 测定吐温 80 中乙二醇、二甘醇、三甘醇

摘要：本文利用岛津公司的 Nexis GC-2030 气相色谱仪，建立了药用辅料吐温 80 中乙二醇、二甘醇、三甘醇的测定方法。该方法以 1,3-丁二醇为内标，在 4~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好，相关系数 R 均大于 0.999。10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标液连续进样 6 针，峰面积比 RSD% 均小于 3%。500 与 1000 $\mu\text{g}/\text{g}$ 两个浓度加标回收率在 98.9~112.4% 之间。该方法准确、可靠，可以应用于药用辅料吐温 80 中乙二醇、二甘醇、三甘醇的检测。

关键词：气相色谱仪 吐温80 乙二醇 二甘醇 三甘醇

吐温80是一种非离子型表面活性剂，作为一种药用辅料，该物质常作为药物制剂中的乳化剂、增溶剂、稳定剂。曾有研究表明一些药物的不良反应与其中的辅料吐温80的质量有关，因此有必要严格控制作为药用辅料的吐温80的质量。

吐温80常用的合成工艺中均需要用到一种名为环氧乙烷的化合物，该化合物可能会产生一些副产物，这其中就包括乙二醇、二甘醇与三甘醇。根据相关资料，这三种物

质均具有一定的毒性，会对人体健康造成损害。按照《中国药典》2020版四部的规定，药用辅料吐温80中这三种物质均不得超过 0.01%。

本文使用岛津Nexis GC-2030建立了吐温80中乙二醇、二甘醇、三甘醇的检测方法。该方法具有良好的线性、重复性和回收率，适用于药用辅料吐温80中这三种物质残留量的测定。

1. 实验部分

1.1 仪器

Nexis GC-2030 气相色谱仪

1.2 分析条件

色谱柱:SH-Stabilwax (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

柱温程序:80 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _150 $^{\circ}\text{C}$ _5 $^{\circ}\text{C}$

/min_210 $^{\circ}\text{C}$ _30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _250(30min)

进样口温度: 260 $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式: 恒线速度方式

线速度: 37.7 mL/min

进样方式: 分流进样

分流比: 10:1

FID 温度: 300 $^{\circ}\text{C}$

2. 样品前处理

2.1 内标溶液配制

称取1,3-丁二醇适量，用无水乙醇溶解并稀释，制成每1 mL含1 mg 1,3-丁二醇的溶液。

2.2 对照品溶液配制

配制浓度分别为4、10、20、40、60、100、140、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的乙二醇、二甘醇、三甘醇混合标准溶液。取每个浓度的标液1 mL分别加入到8个进样小瓶中，每个进样小瓶中加入40 μL 内标溶液，混匀，待测。

2.3 供试品溶液配制

准确称量吐温80样品4 g，加入无水乙醇溶解并稀释，制成每1 mL含40 mg吐温80的溶液，取此溶液1 mL至进样小瓶，再加入40 μL 内标溶液，混匀，待测。

3. 结果与讨论

3.1 乙二醇、二甘醇、三甘醇混合标准溶液谱图

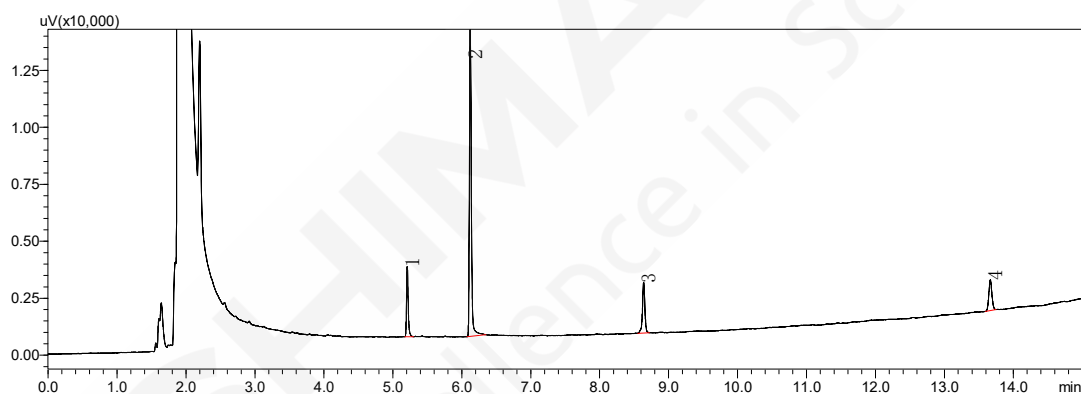


图 1. 乙二醇、二甘醇、三甘醇及 1,3-丁二醇 (内标) 谱图 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

表 1. 化合物信息

No.	化合物	英文名称	CAS 号	保留时间(min)
1	乙二醇	ethylene glycol	107-21-1	5.202
2	1,3-丁二醇 (IS)	1,3-Butandiol	107-88-0	6.113
3	二甘醇	Diethylene glycol	111-46-6	8.625
4	三甘醇	Triethylen glycol	112-27-6	13.648

3.2 标准曲线和检出限

对各浓度对照品溶液进行检测，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标做标准曲线，标准曲线如图2所示，以3倍信噪比计算3种化合物检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表2所示。

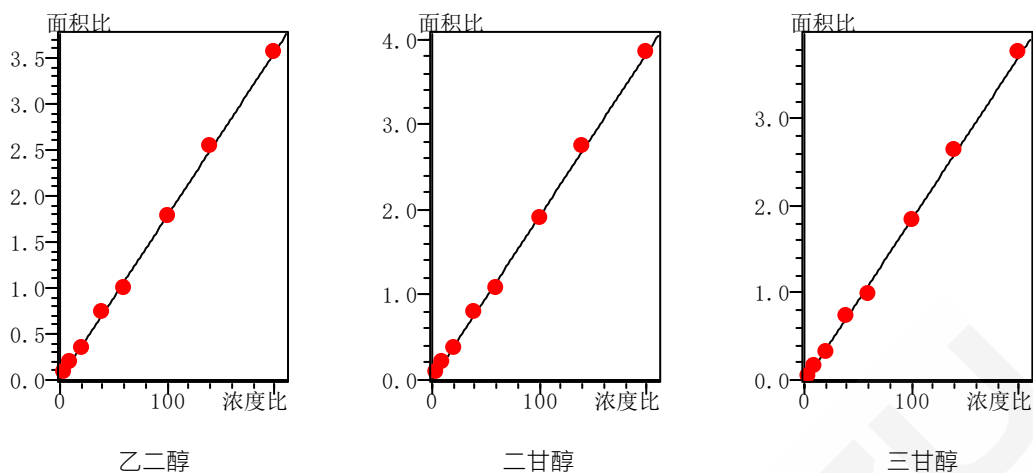


图 2. 三种化合物标准曲线

表 2. 各组分相关系数及检出限

No.	组分名称	相关系数 (R)	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	乙二醇	0.9995	0.25
2	二甘醇	0.9996	0.27
3	三甘醇	0.9992	0.89

3.3 重复性实验

取10 $\mu\text{g/mL}$ 标准品溶液，连续进样6次，考察仪器的重复性，测定结果见表3。

表 3.3 种化合物重复性结果

No.	化合物名	峰面积比 1	峰面积比 2	峰面积比 3	峰面积比 4	峰面积比 5	峰面积比 6	RSD%
1	乙二醇	0.1871	0.1910	0.1935	0.1934	0.1939	0.1999	2.17
2	二甘醇	0.1941	0.2003	0.1988	0.1996	0.2078	0.2014	2.21
3	三甘醇	0.1743	0.1800	0.1758	0.1764	0.1730	0.1648	2.94

3.4 加标回收率

检测吐温80，样品谱图如图3所示，三种化合物均有检出。将此样品进行加标实验，加标浓度分别为500与1000 $\mu\text{g/g}$ ，回收率结果如表5所示。

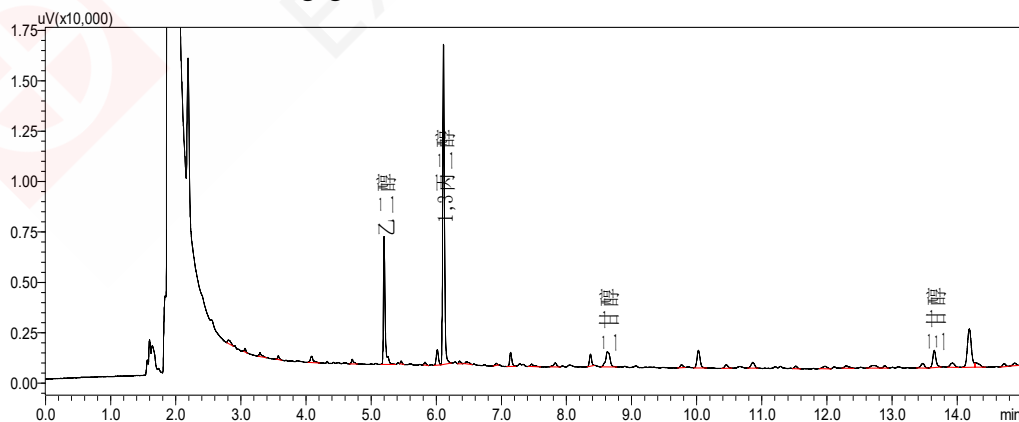


图3. 吐温样品检测谱图

表 4 样品加标实验结果 ($\mu\text{g/g}$)

No.	名称	样品本底值	加标 ($50 \mu\text{g/g}$)		加标 ($100 \mu\text{g/g}$)	
			测试值	回收率%	测试值	回收率%
1	乙二醇	54.77	109.15	108.8	167.16	112.4
2	二甘醇	14.59	64.06	98.9	115.57	101.0
3	三甘醇	16.77	66.78	100.0	121.43	104.7

4. 结论

本文利用岛津公司的 Nexis GC-2030 气相色谱仪,建立了药用辅料吐温 80 中乙二醇、二甘醇、三甘醇的测定方法。该方法以 1,3-丁二醇为内标,在 $4\sim 200 \mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好,相关系数 R 均大于 0.999。10 $\mu\text{g/mL}$ 标液连续进样 6 针,峰面积比 RSD%均小于 3%。500 与 1000 $\mu\text{g/g}$ 两个浓度加标回收率在 98.9~112.4% 之间。该方法具有良好的线性、重复性和回收率,适用于药用辅料吐温 80 中乙二醇、二甘醇、三甘醇的检测。

GC 测定药用辅料聚山梨酯 80 中 6 种杂质含量

摘要：本文利用岛津 Nexis GC-2030 气相色谱仪，建立了药用辅料聚山梨酯 80 中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇 6 种杂质的测定方法。在 5~100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好，相关系数均大于 0.999。5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标液连续进样 6 针，峰面积 RSD%均小于 3%。加标回收率在 88.1~110.8%之间。该方法准确、可靠，可以应用于药用辅料聚山梨酯 80 中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇的检测。

关键词：气相色谱 药用辅料 聚山梨酯80 杂质

聚山梨酯80是中药注射剂种常用的增溶辅料，目前用于药品生产中的聚山梨酯80品种繁多、质量良莠不齐，缺乏完善的质量标准对其进行监管。因此，有必要重视对辅料聚山梨酯80的质量评价，从而进一步从源头上确保药品的安全性和有效性。

环氧乙烷是聚山梨酯80生产中所使用的原料，可在产品中存在残留；在合成过程中环氧乙烷还可产生二氧六环、氯乙醇、乙

二醇、二甘醇及三甘醇等副产物，该类物质均会对人体产生一定的毒性。因此通过建立气相色谱法对这六种杂质同时进行测定。

本文使用岛津Nexis GC-2030建立了聚山梨酯80中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇的检测方法。该方法具有良好的线性、重复性和回收率，适用于药用辅料聚山梨酯80中这六种杂质残留量的测定。

1. 实验部分

1.1 仪器

Nexis GC-2030 气相色谱仪

1.2 分析条件

色谱柱:SH-Stabilwax (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

柱温程序: 35 $^{\circ}\text{C}$ (3 min)_30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _125 $^{\circ}\text{C}$

10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _160 $^{\circ}\text{C}$ _50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _240(20min)

进样口温度: 230 $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式: 恒线速度方式

线速度: 40.8 mL/min

进样方式: 分流进样

分流比: 10:1

FID 温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

2. 样品前处理

准确称量聚山梨酯80样品4 g，加入甲醇溶解定容，制成每1 mL含40 mg聚山梨酯80的溶液，取此溶液1 mL至进样小瓶待测。

3. 结果与讨论

3.1 标准溶液谱图

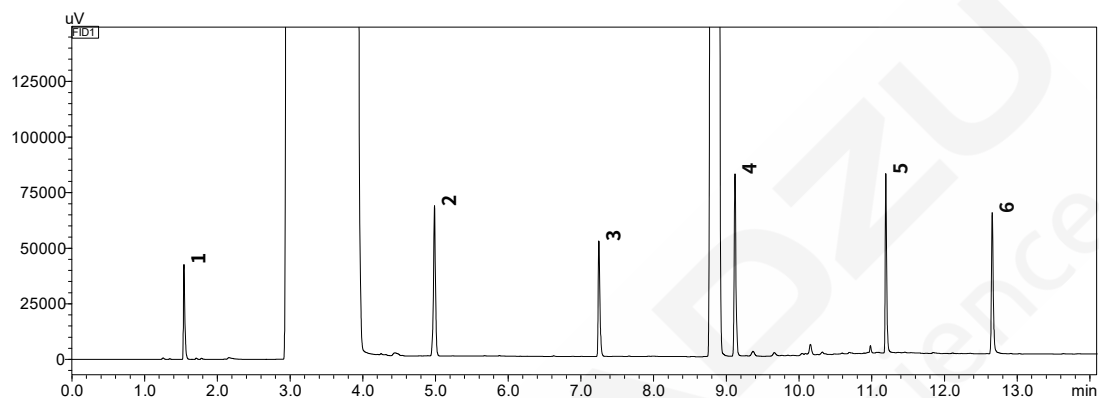


图 1. 聚山梨酯 80 中 6 种杂质色谱图 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

表 1. 化合物信息

No.	化合物	英文名称	CAS 号	保留时间(min)
1	环氧乙烷	Ethylene oxide	75-21-8	1.540
2	二氧六环	1,4-Dioxane	123-91-1	4.986
3	氯乙醇	2-Chloroethanol	107-07-3	7.247
4	乙二醇	Ethylene glycol	107-21-1	9.119
5	二甘醇	Diethylene glycol	111-46-6	11.193
6	三甘醇	Triethylen glycol	112-27-6	12.656

3.2 标准曲线和检出限

以甲醇为溶剂配制浓度为5、10、20、40、60、80、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液序列，对各浓度对照品溶液进行检测，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制标准曲线，标准曲线如图2所示，以3倍信噪比计算六种化合物检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表2所示。

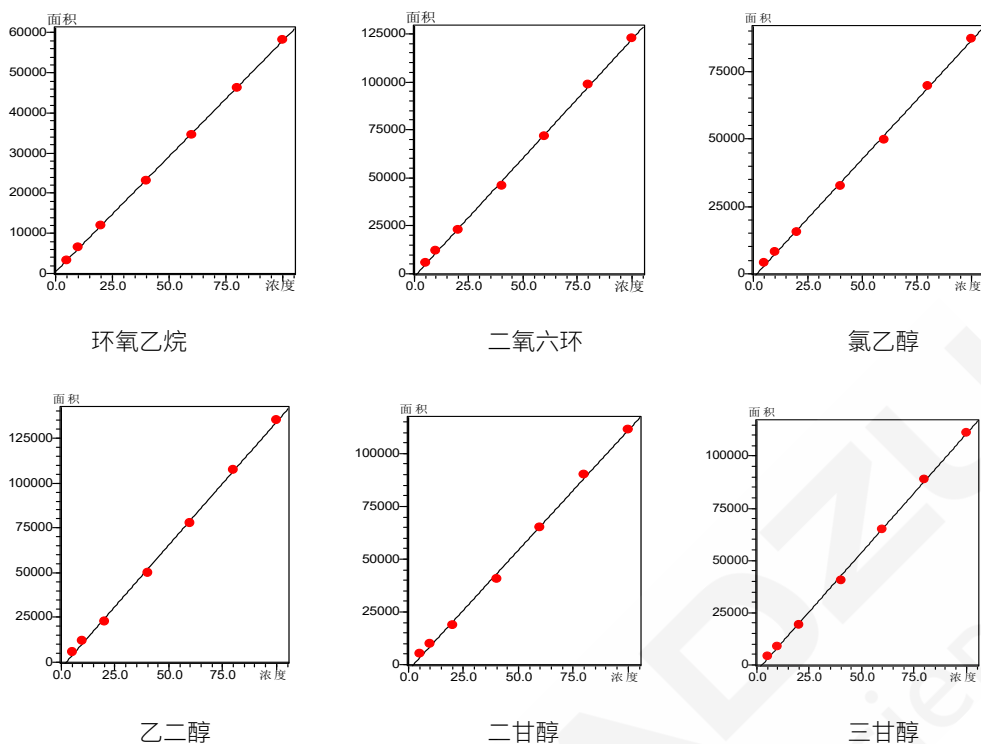


图 2.6 种化合物标准曲线

表 2. 各组分相关系数及检出限

No.	组分名称	相关系数 (R)	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	环氧乙烷	0.9999	0.55
2	二氧六环	0.9996	0.42
3	氯乙醇	0.9994	0.48
4	乙二醇	0.9995	0.40
5	二甘醇	0.9992	0.39
6	三甘醇	0.9995	0.50

3.3 重复性实验

取5 $\mu\text{g/mL}$ 标准品溶液，连续进样6次，考察仪器的重复性，测定结果见表3。

表 3. 3 种化合物重复性结果

No.	化合物名	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD%
1	环氧乙烷	3220	3115	3220	3185	3186	3114	1.52
2	二氧六环	5850	5823	6059	6053	5865	5689	2.43
3	氯乙醇	3971	4001	4067	4036	4028	3940	1.15
4	乙二醇	5694	5724	5690	5701	5719	5807	0.76
5	二甘醇	4965	4912	4882	4830	4858	4957	1.10
6	三甘醇	4394	4329	4283	4323	4334	4411	1.10

3.4 加标回收率

样品测试色谱图如图3所示，4种化合物有检出。将此样品进行加标实验，加标浓度为250 $\mu\text{g/g}$ ，回收率结果如表4所示。

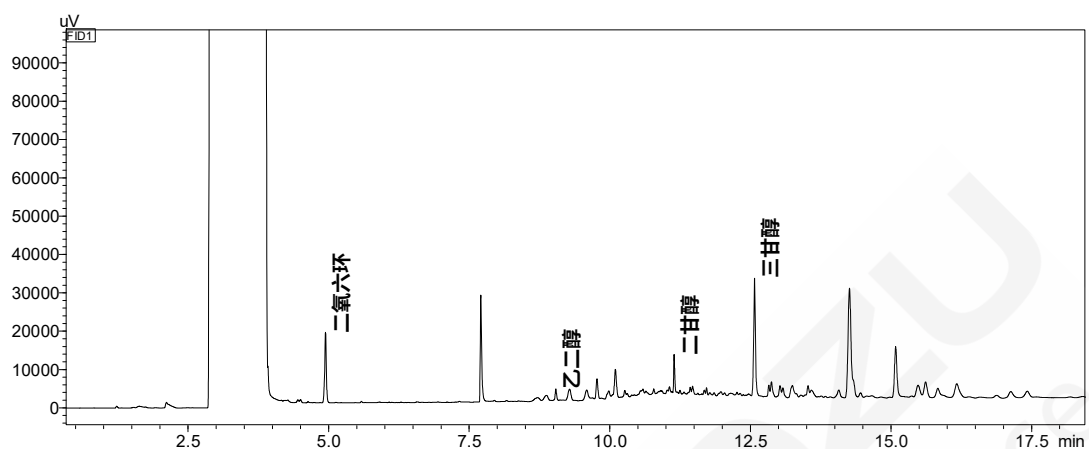


图3. 样品测试谱图

表4 样品加标实验结果 ($\mu\text{g/g}$)

No.	名称	样品测试结果	加标测试结果			平均回收率 (%)
			1	2	3	
1	环氧乙烷	0.00	292.35	291.75	246.60	110.8
2	二氧六环	771.98	1022.68	1014.20	1020.38	98.8
3	氯乙醇	0.00	275.43	272.50	264.45	108.3
4	乙二醇	155.10	385.28	394.58	402.88	95.7
5	二甘醇	341.78	555.55	557.40	584.25	89.6
6	三甘醇	1537.2	1766.5	1750.0	1756.4	88.2

4. 结论

本文利用岛津 Nexis GC-2030 气相色谱仪，建立了药用辅料聚山梨酯 80 中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇的测定方法。方法显示在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好，相关系数 R 均大于 0.999。5 $\mu\text{g/mL}$ 标液连续进样 6 针，峰面积 RSD% 均小于 3%。250 $\mu\text{g/g}$ 浓度加标回收率在 88.2~110.8% 之间。方法具有良好的线性、重复性和回收率，适用于药用辅料聚山梨酯 80 中 6 种杂质的检测。

GCMS 结合 SPME Arrow 定性分析吐温降解产物

摘要：本文建立了 GCMS 结合 SPME Arrow 定性分析吐温降解产物的分析方法。分析结果表明，冷藏保存数月后的吐温降解产物主要为醛、酮、酸类物质，如：庚醛、2-辛酮、壬酸等，NIST20 商品谱库检索相似度均在 90 以上。冷藏保存数天的吐温未检测到醛、酮、酸等降解物质。

关键词：吐温、降解产物、SPME

吐温 (Tween)，又名聚氧乙烯去水山梨醇脂肪酸酯，是生物药物制剂中使用最广泛的表面活性剂之一，可防止蛋白质在溶解过程中变性、聚集、表面吸附和絮凝。

生物制剂中的吐温可以通过氧化和水解途径降解。由于吐温的降解可能会影响蛋白质制剂的质量、功效、安全性和稳定性，因此，药品监管部门对吐温的控制策略的审查日益严格，以确保在药物产品的保质期内吐温含量保持恒定。

近期也有生物药企业反映吐温保存一段

时间后，通过液相色谱仪（衍生-荧光方法）无法检测到吐温，岛津采用 MALDI-TOF 分析后发现吐温分子量出现减小的趋势，意味着制剂中吐温发生了降解，因此确定吐温降解后的产物，了解其是否对人体有副作用是非常必要的。

本文采用 GCMS 结合 SPME 进样定性分析吐温降解产物，使用三合一萃取填料萃取吐温中小分子组分并使用气相色谱质谱仪进行分析。此方法无需手动前处理，全自动进样分析，操作简便、快速。

1. 实验部分

1.1 仪器

气相色谱-质谱联用仪：GCMS-QP2020 NX

自动进样器：AOC-6000

1.2 分析条件

AOC-6000条件

进样方式：SPME Arrow

萃取填料：DVB/CarbonWR/PDMS

平衡温度：40°C

GCMS条件

进样口温度：250°C

色谱柱：Rxi-5Sil MS, (30 m×0.25 mm×0.25 μm)

萃取时间：30 min

解析温度：250°C

解析时间：2 min

柱温程序：50°C(1 min)_10°C/min_280°C (5 min)

载气控制方式：恒线速度 (36.3 cm/sec)

进样方式：分流进样（分流比10:1）

色谱质谱接口温度：250°C

离子方式：EI

采集方式：Scan（45~500 m/z）

离子源温度：230°C

1.3 样品前处理

准确移取 10 mL 吐温样品至顶空瓶，密封，经 AOC-6000+GCMS 分析。

2. 结果讨论

2.1 空白色谱图

将烘烤后的顶空瓶压盖后上机分析，得到空白的色谱图。

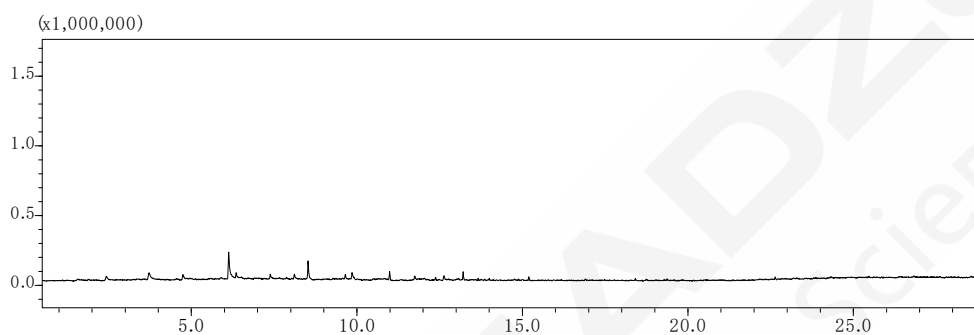


图 1 空白色谱图

2.2 样品 1 色谱图及定性结果

样品1为4°C下保存3个月的吐温样品，按照1.2分析条件分析后色谱图如图2所示。通过 NIST 20商品谱库检索，定性结果如表1所示，主要为醛、酮、酸类化合物。

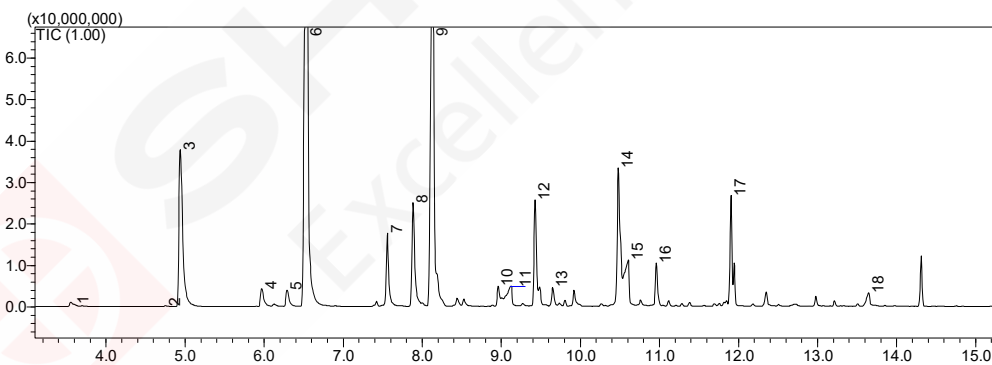


图 2 样品 1 色谱图

表 1 样品 1 定性结果

No.	保留时间 (min)	中文名称	英文名称	CAS 号	峰面积	相似度
1	3.595	正己醛	Hexanal	66 - 25 - 1	4224939	97
2	4.755	2-庚酮	2-Heptanone	110 - 43 - 0	739256	95
3	4.935	庚醛	Heptanal	111-71-7	120962849	98
4	5.965	正庚醇	1-Heptanol	111-70-6	10814852	98
5	6.285	2-辛酮	2-Octanone	111-13-7	9589556	97
6	6.495	正辛醛	Octanal	124 - 13 - 0	355853513	97
7	7.555	辛醇	1-Octanol	111-87-5	35350133	98
8	7.880	2-壬酮	2-Nonanone	821-55-6	59956460	95
9	8.100	壬醛	Nonanal	124 - 19 - 6	294889854	97
10	8.955	反式-2-壬醛	(E)-2-nonenal	18829-56-6	6459699	96
11	9.115	辛酸	Octanoic acid	124 - 07 - 2	13749281	94
12	9.420	甲基正辛酮	2-Decanone	693-54-9	53968868	96
13	9.645	癸醛	Decanal	112-31-2	8663707	94
14	10.475	反式-2-癸烯醛	(E)-2-decenal	3913-81-3	86196422	95
15	10.600	正壬酸	Nonanoic acid	112-5-0	42874139	97
16	10.955	/	3-Methyl-hepta- 1,6-dien-3-ol	34780-69-3	18751787	90
17	11.900	2-十一烯醛	2-Undecenal	2463-77-6	45775000	94
18	13.650	反-2-十二烯酸	Trans-2- undecenoic acid	15790 - 94 - 0	8097914	95

2.3 样品 2 色谱图及定性结果

样品2为4°C下保存20天的吐温样品，按照1.2分析条件分析后色谱图如图3所示。通过NIST20谱库检索，定性结果如表2所示，主要为硅氧烷类化合物，可能来源为存放吐温的塑料瓶。

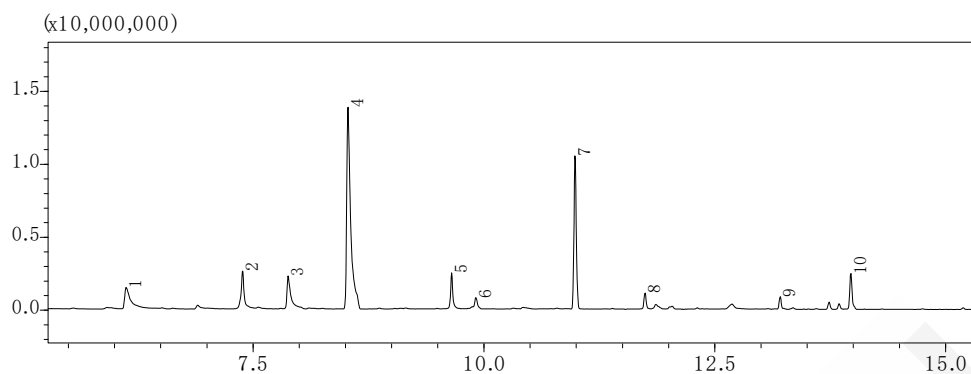


图3 样品2色谱图

表2 样品2定性结果表

No.	保留时间 (min)	中文名称	英文名称	CAS 号	峰面积	相似度
1	6.125	未知				
2	7.387	六甲基环三硅氧烷	Hexamethyl- cyclotrisiloxane	541-5-9	5382493	90
3	7.881	未知				
4	8.528	环五聚二甲基硅氧烷	Decamethyl- cyclopentasiloxane	541-2-6	41422413	87
5	9.650	八甲基环四硅氧烷	Octamethyl- cyclotetrasiloxane	556-67-2	3963202	89
6	9.913	未知				
7	10.987	十二甲基环六硅氧烷	Dodecamethyl- cyclohexasiloxane	540-97-6	18415712	88
8	11.745	未知				
9	13.209	/	Isopropyl pentakis(trimethylsilyl)	71579-69-6	1211903	83
10	13.974	对乙氧基苯甲酸乙酯	4-Ethoxy-ethyl ester benzoic acid-	23676-9-7	4330947	97

备注：未知指 NIST 谱库检索相似度小于 80。

3. 结论

本文建立了 GCMS 结合 SPME Arrow 定性分析吐温降解产物的分析方法。分析结果表明，冷藏保存数月后的吐温降解产物主要为醛、酮、酸，如：庚醛、2-辛酮、壬酸等，NIST20 谱库检索相似度均在 90 以上。冷藏保存数天的吐温中未检测到醛、酮、酸等降解产物。

Nexera Mikros 微流量在线捕集系统检测乳糖辅料中微量 α -乳白蛋白

摘要：本实验使用岛津微流量系统 Nexera Mikros 建立了乳糖辅料中 α -乳白蛋白 (α -La, α -Lactalbumin) 的定量分析方法，考察了 Nexera Mikros 直接进样系统与岛津超高效液相色谱 LC-30A 结合 LCMS-8060 三重四极杆质谱联用仪在 α -乳白蛋白的灵敏度差异。2 μ L 进样体积下，50 nmol/L α -乳白蛋白标准溶液，Mikros 比 LC-30A 灵敏度提升了约 7.4 倍。使用 Nexera Mikros 在线捕集洗脱系统，乳糖在 Trap 柱上不保留，仅对乳清蛋白的特征肽段在线富集并检测，避免高浓度乳糖堵塞微流量系统。实验结果表明：Nexera Mikros 在线捕集系统情况下，以 10 μ L 体积为进样量，捕集效率约为 32%。 α -乳白蛋白特异肽段在 5~200 nmol/L 浓度范围内的标准曲线相关系数良好 ($R=0.9965$)，标线各点的准确度范围在 94.0~115.9%；5 和 50 nmol/L 浓度的标准溶液平行测定 6 次，保留时间的 RSD 不大于 0.06%，峰面积 RSD 不大于 9.92%。多份实际样品均检出 α -乳白蛋白。

关键词：液相色谱-三重四极杆质谱 乳糖 α -乳白蛋白

乳糖做为药用辅料的历史已经超过了 一个世纪，广泛用于口服胶囊剂和片剂的稀 释剂。药用乳糖辅料的生产工艺是以牛乳清 为原料。牛乳清是牛奶经提炼出奶酪和酪蛋 白后的残留液体。因此乳糖辅料的生成过程 中难以避免会残留微量的牛奶过敏原，如乳 清蛋白、乳白蛋白等，其含量极低，用常规 LCMS 难以检测。

岛津 Nexera Mikros 微流量液质联用系 统，可对应从微量流速 (1 μ L/min~100 μ L/min) 到半微量流速 (100 μ L/min~500 μ L/min) 的宽流速范围。相比半微量液相色

谱，Nexera Mikros 在与 LCMS 联用检测目 标化合物时可以获得更高的灵敏度；与纳升 LCMS 系统相比，可以获得更短的分析时间 和更好的稳定性。

岛津微流量液质联用系统 Nexera Mikros，采用了新型微流量送液泵及样品导 入质谱时的角度、位置均优化过的离子化接 口，减少样品基质效应及质谱污染，实现较 高的分析灵敏度。利用捕集洗脱系统的富集 除杂功能，结合 Mikros 高灵敏度特性，实 现乳糖辅料中微量 α -乳白蛋白检测。

1. 实验部分

1.1 Nexera Mikros 在线捕集浓缩系统

仪器：岛津微流量液相色谱仪 Nexera Mikros 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 联用在线捕 集浓缩系统。具体配置为：LC-30AD \times 2(捕集流路)，LC-Mikros 输液泵 (分析流路)，DGU- 20A5R 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器(15 μ L 定量环)，CTO-40M 柱温箱，CBM-20A 系

统控制器, Option Box VP, FCV-32AH, LCMS-8060 三重四极杆质谱仪配 Micro-ESI 8060 离子源, LabSolutions Ver. 5.93 色谱工作站。

分析条件

液相色谱条件:

色 谱 柱 : Shim-pack MC-C18 (0.3 mm I.D. × 50 mm L., 1.9 μm)
 流 动 相 : A 相-0.1%甲酸水溶液; B 相-0.1%甲酸乙腈溶液
 捕 集 柱 : Shim-pack MC-C18 (0.3 mm I.D. × 35 mm L., 1.9 μm)
 流 速 : 5.0 μL/min 捕集流速 : 40 μL/min
 捕集流动相 : C-水; D-乙腈 柱 温 : 40°C
 进样器温度 : 10°C 进 样 量 : 10 μL
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 10%, 时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Option Box vp	Valve A Position	1
2.10	泵	Pump A B.Conc	10
3.10	泵	B.Flow	0.04
3.10	泵	C.Flow	0
3.20	泵	B.Flow	0
3.20	泵	C.Flow	0.04
4.20	泵	Pump A B.Conc	24
4.30	泵	Pump A B.Conc	100
8.00	泵	B.Flow	0
8.00	泵	C.Flow	0.04
8.00	泵	Valve A Position	0
8.10	泵	B.Flow	0.04
8.10	泵	C.Flow	0
10.00	泵	Pump A B.Conc	100
10.10	泵	Pump A B.Conc	10
17.00	控制器	Stop	

质谱条件:

离 子 源 : ESI (+) 接 口 电 压 : 2 kV
 雾化气流速 : 1.5 L/min 加热模块温度 : 400°C
 加热气流速 : OFF 扫 描 模 式 : 多反应监测(MRM)

接口温度 : OFF
D L 温度 : 250°C

干燥气流速 : OFF
M R M 参数 : 见表 2

表 2 MRM 优化参数

选择的肽段	前体离子(m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
α-乳白蛋白特异肽段	600.95	284.10*	-22.0	-31.0	-21.0
		355.20	-22.0	-29.0	-17.0

注: *表示定量离子

1.2 LC-30A+LCMS-8060

液相色谱条件:

色谱柱 : Shim-pack MC-C18 (2.0mm I.D. × 100mm L., 1.9 μm)
流动相 : A 相-0.1%甲酸水液; B 相-0.1%甲酸乙液
流速 : 0.4 mL/min 柱温 : 40°C
进样量 : 2 μL 进样器温度 : 10°C
洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始度为 5%, 时间程序见表 3。

表 3 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.80	泵	B.Conc	5
1.20	泵	B.Conc	10
2.50	泵	B.Conc	17
2.60	泵	B.Conc	22
4.20	泵	B.Conc	24
4.30	泵	B.Conc	100
5.00	泵	B.Conc	100
5.10	泵	B.Conc	5
8.00	控制器	Stop	

质谱条件:

离子源 : ESI (+) 干燥气流速 : 10.0 L/min
雾化气流速 : 3.0 L/min 加热模块温度 : 400°C
加热气流速 : 10.0 L/min 扫描模式 : 多反应监测(MRM)

接口温度：300°C

驻留时间：47 ms

D L 温度：250°C

接口电压：+4.5 kV

1.3 标准品与试剂

牛 α -乳白蛋白特异肽段标准品(序列:VGINYWLAHK, 分子量 1200.4 Da, 纯度 \geq 99%); 乙腈购自 Merck 公司; 实验用水由 Milli-Q Plus 水净化系统 (Millipore, Ltd.) 经去离子与二次净化制得; 甲酸 (纯度 99%, Wako, Japan); 其余试剂均为分析纯; 碱性胰蛋白酶: 活力大于 10000 BAEE 每毫克蛋白质。

碳酸氢铵溶液 (500 mmol/L): 称取碳酸氢铵 3.95 g, 用水溶解后定容至 100 mL; 二

硫苏糖醇溶液 (500 mmol/L): 二硫苏糖醇 0.771 g 用碳酸氢铵溶液定容至 10 mL;

碘代乙酰胺溶液 (500 mmol/L): 碘代乙酰胺 0.925 g 碳酸氢铵溶液定容至 10 mL;

氯化钙溶液 (100 mmol/L): 称取氯化钙 0.111 g, 用水溶解后定容至 10 mL;

乙酸溶液 (1%, V/V): 移取乙酸 0.1 mL, 用水稀释并定容至 10 mL;

胰蛋白酶溶液 (500 μ g/mL): 称取胰蛋白酶 5 mg, 用乙酸溶液溶解后定容至 10 mL。

1.4 对照品溶液及内标溶液的配制

牛 α -乳白蛋白特异肽段标准储备溶液 (500 μ mol/L): 准确称取牛 α -乳白蛋白特异肽段固体 6.00 mg (准确至 0.01 mg), 用水溶解并定容至 10 mL, 混匀。将配制的溶液转移到塑料瓶中, 置于冰箱内冷冻保存。

标准系列工作溶液: 分别吸取特异肽段标准中间混合溶液, 用 0.1%甲酸水溶液稀释, 得 α -乳白蛋白特异肽段浓度为 5、10、25、50、200 nmol/L 的标准系列工作溶液。临用前配制。

1.5 样品制备

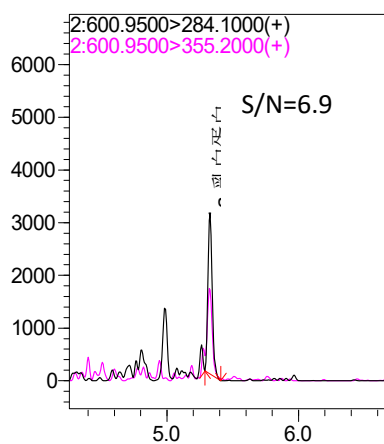
精确称取乳糖试样约 0.2 g 于 2 mL 离心管中, 溶解后用水定容至 1 mL, 离心取上清液, 备用。准确移取 200 μ L 试样溶液, 于 2 mL 离心管中, 加入 10 μ L 二硫苏糖醇溶液, 混匀, 置于 50°C 下恒温反应 30 min; 冷却至室温, 加入 30 μ L 碘代乙酰胺溶液, 暗处静置 30 min; 完成后加入 630 μ L 碳酸氢铵溶液和 10 μ L 氯化钙溶液和 50 μ L 胰蛋白酶溶液, 混匀, 置于 37°C 下恒温酶解 5 小时及以上。加入 20 μ L 甲酸, 混匀, 室温下静置 15 min, 混匀, 用 0.22 μ m 滤膜过滤, 供液相色谱串联质谱仪检测。

2. 结果与讨论

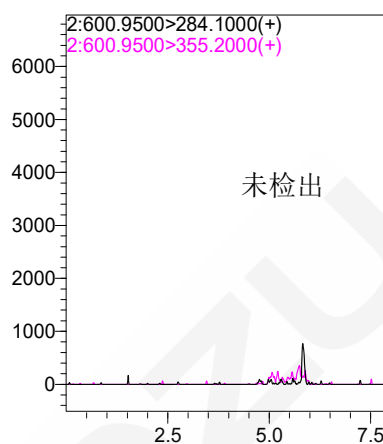
2.1 灵敏度比较

为了客观的比较 Mikros 系统与常规液相的灵敏度, 两个系统均采用直接进样方式, 噪音计算方法选择 ASTM 法, 噪音选择范围设置为各峰前后 3 区, 间隔 0.5 min。2 μ L 进样体积下, 5 nmol/L α -乳白蛋白标准溶液 Mikros 信噪比 6.9, 常规 LCMS 未检出; 50 nmol/L α

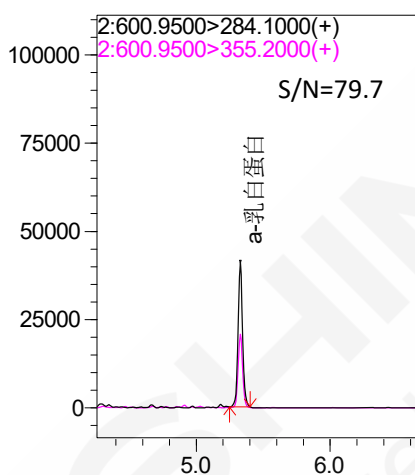
-乳白蛋白标准溶液 Mikros 信噪比 79.7，常规 LCMS 信噪比 10.7，Mikros 比常规液相灵敏度提升了约 7.4 倍。



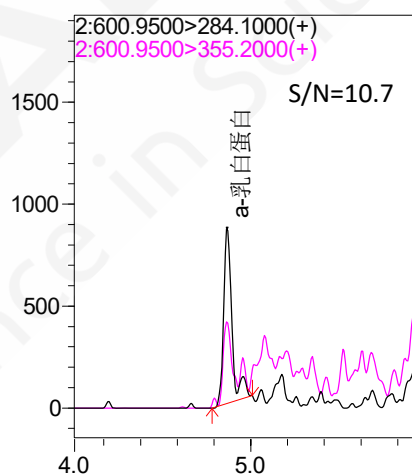
2 µL 5 nmol/L Mikros 谱图



2 µL 5 nmol/L LC-30A 谱图



2 µL 50 nmol/L Mikros 谱图

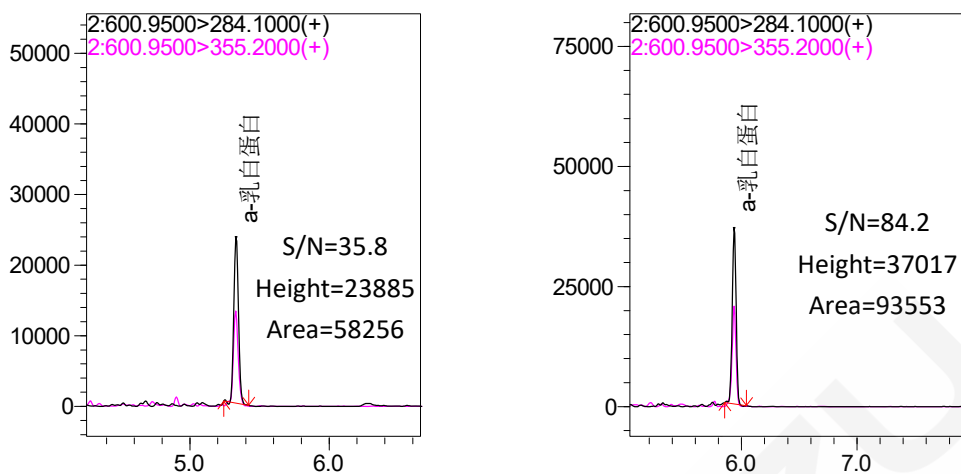


2 µL 50 nmol/L LC-30A 谱图

图 1. Nexera Mikros 与 LC-30A 系统与质谱联用分析灵敏度对比

2.2 捕集效率考察

由于实际样品中含有 200 g/L 乳糖，直接进样易堵塞系统。本实验使用捕集洗脱系统进行检测。样品中残留的乳糖在 Trap 柱上不保留，仅对 α -乳白蛋白的特征肽段在线富集并浓缩。捕集系统的进样体积为 10 μ L, 25 nmol/L α -乳白蛋白标准溶液 Mikros 直接进样和 Mikros 捕集洗脱系统色谱图见图 3。样品经捕集系统浓缩，信噪比提升 2.4 倍，峰高提升约 1.5 倍。考虑到进样体积的差异，用峰面积之比折算出捕集效率约为 32%。



2 μL 25 nmol/L Mikros 直接进样谱图 10 μL 25 nmol/L Mikros 捕集洗脱谱图

图 2. Mikros 直接和捕集洗脱系统对比色谱图

2.3 线性范围

采用 Mikros 捕集洗脱系统建立 α-乳白蛋白工作曲线，按 1.1 中的分析条件进行分析检测，5、10、25、50、200 nmol/L 外标法制作校准曲线，各级别线性回归的准确度、信噪比、定量限如表 4 所示。线性良好，线性方程、相关系数见图 4。

表 4 α-乳白蛋白校准曲线准确度和定量限

Data#	数据文件名	浓度 (nmol)	标准浓度	精确度%	高度	S/N	定量限
1	mikros-trap-2 min 上样_a 5nmol b	4.714	5	94.3	5,087	10.51	4.49
2	mikros-trap-2 min 上样_a 10nmol	9.403	10	94.0	11,355	37.25	2.52
3	mikros-trap-2 min 上样_a 25nmol	28.975	25	115.9	37,017	84.23	3.44
4	mikros-trap-2 min 上样_a 50nmol	48.217	50	96.4	62,955	72.26	6.67
5	mikros-trap-2 min 上样_a 200nmol	198.690	200	99.3	275,886	390.78	5.08

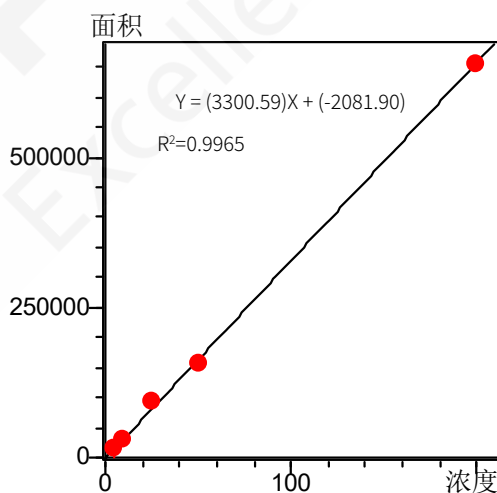


图 3 α-乳白蛋白的线性方程及相关系数

2.4 重复性考察

5 nmol/L 和 50 nmol/L 标准溶液连续进样分析 6 次，计算保留时间及峰面积的相对标准偏差 (%RSD)。结果如表 5 所示，α-乳白蛋白特异肽段的保留时间及峰面积 RSD 均处于合理范围。

表 5 重复性考察结果 (n=6)

化合物	保留时间 RSD (%)		峰面积 RSD (%)	
	5 nmol	50 nmol	5 nmol	50 nmol
α -乳白蛋白	0.06	0.05	6.64	9.92

2.5 实际样品检测

多份乳糖辅料样品, 按照 1.5 所述步骤提取, 1.1 中的分析条件进行分析检测。所有样品中均检出 α -乳白蛋白特异肽段。实际样品的典型色谱图见图 5, 检测结果见表 6。

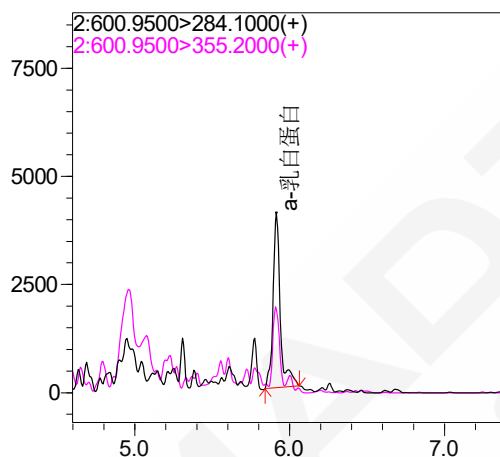


图 4 实际样品检测典型谱图

表 6 乳糖辅料实际样品检测结果

样品编号	含量 (mg/kg)	样品编号	含量 (mg/kg)
1-1	52.59	4-2	24.86
1-2	49.01	5-1	24.77
2-1	43.13	5-2	26.19
2-2	43.86	6-1	27.74
3-1	43.59	6-2	32.36
3-2	37.23	7-1	37.83
4-1	33.26	7-2	47.81

3. 结论

本实验使用岛津微流量捕集洗脱系统建立了乳糖辅料中 α -乳白蛋白的定量分析方法, 10 μ L 进样量下, α -乳白蛋白定量肽段在 5~200 nmol/L 浓度范围内的标准曲线相关系数良好 ($R=0.9965$), 标线各点的准确度范围在 94.0~115.9%; 5 和 50 nmol/L 浓度的标准曲线点平行测定 6 次, 保留时间的 RSD 不大于 0.06%, 峰面积不大于 RSD9.92%。实际样品均检出 α -乳白蛋白, 含量在 24.86-52.59 mg/kg。由于实际样品中 α -乳白蛋白含量极低, 采用 Mikros 捕集系统能有效提升仪器的灵敏度。

LC 测定淀粉中马来酸与马来酸酐总量及富马酸含量

摘要：本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 测定淀粉中马来酸与马来酸酐总量和富马酸含量的方法。样品前处理采用 50% 甲醇水溶液提取，氢氧化钾皂化，方法简单快速，回收率高，重复性好。使用二元高压梯度系统在 15 min 内实现快速分析。实验结果表明：线性范围 0.01 mg/L~0.5 mg/L，相关系数大于 0.9999；方法的定量检出限为 10 mg/kg。0.02 mg/L、0.2 mg/L 两个浓度标样连续 6 次进样的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.06~0.12% 和 0.19~1.41% 之间，仪器精密度良好。10 mg/kg、20 mg/kg 和 60 mg/kg 三水平加标实验考察方法的回收率及重复性（n=5），回收率在 98.7%-110.4%，RSD% 在 1.9%-8.4% 之间。空白淀粉中未检出马来酸和富马酸。

关键词：马来酸 马来酸酐 富马酸 毒淀粉

药用淀粉的作用在医疗用途中已经受到了广泛的重视，可以制作成片剂，也可以制作成冲剂或者胶囊制剂。药用淀粉一般是白色或者淡黄色的粉末，无臭无味，也不溶于冷水，在热水中可以变成透明状的溶液，冷却后不会结冰，一般采用小米或者大米以及玉米等淀粉制作而成，药用淀粉一般是用作药品的外包膜，比如胶囊、糖衣包膜等等，是用途非常广泛的制药辅助用料。顺丁烯二酸（英文名 Maleic acid）又名马来酸，合法的变性淀粉添加剂为醋酸酯变性淀粉。而马来酸酐变性淀粉广泛用于工业制革及建材

等行业，其制备工艺简单，成本低廉，具有黏度高，糊化温度高，其透明度及柔软度也好于天然淀粉。不法分子将马来酸酐变性淀粉替代醋酸酯变性淀粉，谋取暴利。长期食用毒淀粉，将损害肾脏。

反丁烯二酸（英文名 Fumaric acid）又名富马酸，是马来酸的顺反异构体，在植物体内天然存在，目前没有国标检测方法可以参考。亟需开发淀粉中马来酸的检测方法。

本文使用岛津液相色谱仪同时检测了淀粉中马来酸与马来酸酐总量和富马酸含量，供相关检测人员参考。

1. 实验部分

2.1 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 二元高压梯度系统。具体配置为 LC-20AD 输液泵，DGU-20A3R 在线脱气机，SIL-20AC 自动进样器，CTO-20AC 柱温箱，SPD-M20A 二极管阵列检测器，CBM-20A 系统控制器，LabSolutions Ver. 5.54 色谱工作站。

1.1 分析条件

液相色谱条件:

色谱柱: GL Inertsil ODS-4 4.6 mm I.D. × 150 mm L., 5 μm	进样体积: 20 μL
流动相: A—0.1%磷酸水溶液 B—甲醇	柱温: 30°C
流速: 1.0 mL/min	检测波长: 214 nm (波长范围: 190-370 nm)
	洗脱方式: 2% B 相等度洗脱

1.3 样品制备

标准溶液配制: 分别用去离子水配制 500 mg/L 的马来酸和富马酸标准储备液。用去离子水配制 100 mg/L 的马来酸和富马酸的混合标准储备液。用水稀释成 0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L 和 0.5 mg/L 的混合标准工作液。

样品前处理方法: 准确称取 1.0 g 淀粉 (精确至 0.001 g), 加入 25 mL 50% 甲醇水溶液, 漩涡混合 2 min, 振荡混合 30 min 后, 加入 20 mL 0.5 N 氢氧化钾溶液, 混匀, 振荡皂化 2 小时。加入约 2 mL 的 5 N 盐酸溶液至 pH 中性, 去离子水定容至 50 mL。4000 rpm 离心 10 min。取 100 μL 上清液, 去离子水稀释 10 倍后经 0.45 μm 针式滤器过滤后进样。

3. 结果与讨论

3.1 标准样品色谱图

混合标准样品的色谱如图 1 所示, 马来酸的保留时间为 4.48 min, 富马酸的保留时间为 6.62 min。马来酸和富马酸的最大吸收波长均为 214 nm。

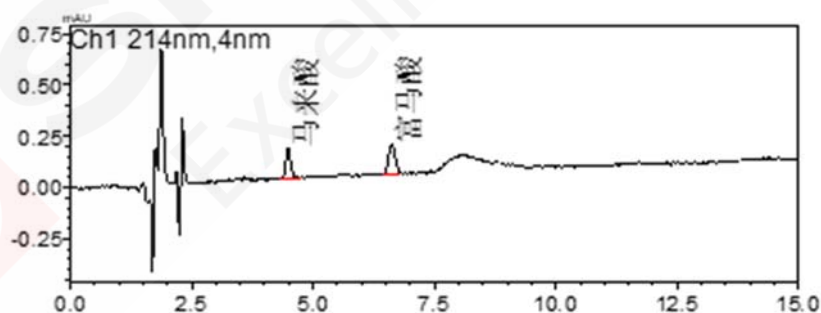


图 1. 0.01 mg/L 标准溶液的色谱图

3.2 线性关系

将 6 个不同浓度的标准工作液，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 2~3 所示。马来酸线性方程为 $Y = 98698.2X + 70.2594$ ，线性范围 0.01~0.5 mg/L，相关系数大于 0.9999，线性关系良好。富马酸线性方程为 $Y = 144832X - 96.3210$ ，线性范围 0.01~0.5 mg/L，相关系数大于 0.9999，线性关系良好。

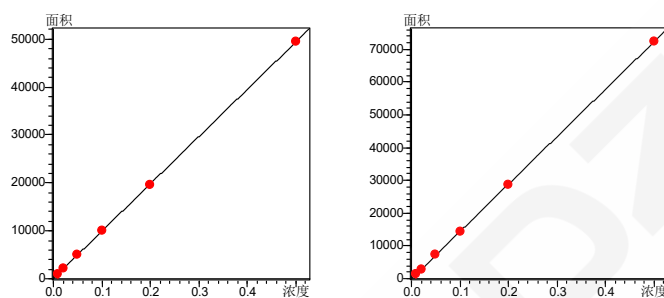


图 2. 马来酸和富马酸的标准工作曲线

3.3 定量限

10 mg/kg 的淀粉加标色谱图如下所示，本方法的定量限为 10 mg/kg。

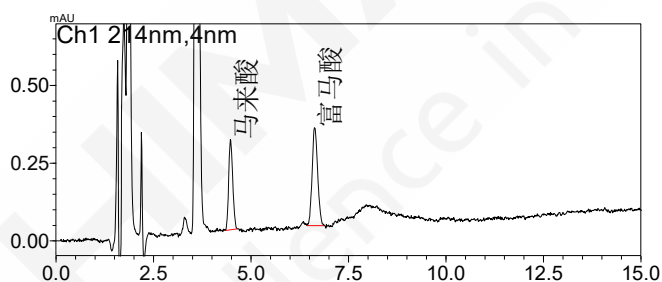


图 3 10 mg/kg 的淀粉加标色谱图重复性考察

3.4 精密度实验

取标准工作液中 0.02 mg/L、0.2 mg/L 两个浓度，分别平行进样 6 次，目标化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06~0.12%和 0.19~1.41%之间，仪器精密度良好。

表 1 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

浓度 mg/L	马来酸		富马酸	
	RT RSD%	Area RSD%	RT RSD%	Area RSD%
0.02	0.06	1.31	0.08	1.41
0.2	0.12	0.19	0.09	0.22

3.5 基质加标实验

按照样品制备方法,在样品中添加标样,加标量分别为 10 mg/kg、20 mg/kg 和 60 mg/kg,平行 5 次。空白淀粉中未检出马来酸和富马酸。三水平加标实验的回收率和重现性数据见表 2。

表 2 回收率和方法重现性结果 (n=5)

加标量 mg/kg	马来酸		富马酸	
	回收率%	RSD%	回收率%	RSD%
10	98.7	1.9	108.1	7.0
20	101.0	4.8	105.8	3.6
60	108.9	8.4	110.4	6.7

4. 结论

本方法前处理简单,分析快速。马来酸和富马酸是顺反异构体,富马酸会干扰马来酸的检测,需将两者分离。两者的极性较强,在 C18 柱上的保留较弱,使用 GL Inertsil ODS-4 4.6 mm I.D.×150 mm L 色谱柱,2%甲醇洗脱,马来酸和富马酸的分离度达 9。淀粉经过皂化反应,可以同时检测马来酸酐和马来酸的总量。三水平加标实验,方法具有良好的回收率和稳定的重现性。本方法的定量限为 10 mg/kg。

3、其它

除了以上主要的研究方向外，在药用辅料中还存在有一些特殊种类的有毒有害物质。药典或相关法规同样对其含量等进行了控制和要求。对于这些特殊物质，可以根据其结构和性质，参考相关法规，选择相应的检测设备和手段进行控制，使其能满足用药安全的要求。如制药用水中的总有机碳的测定，使用总有机碳分析仪可以得到准确度较高的数据结果；X射线衍射法用于测定药用滑石粉中的石棉，该方法简单有效，可准确判断样品中石棉的含有情况；对于药用和药用辅料的脂类物质中反式脂肪酸含量测定采用了气相色谱法，所得测定结果稳定可靠，可用于控制相关样品的质量。



SHIMADZU
Excellence in Science

制药行业纯净水中总有机碳分析干湿法对比

摘要：本文通过对比总有机碳分析中干法（催化燃烧法）和湿法（湿化学法）的不同，验证了同一样品氧化方法不同对分析结果的影响。并对方法中的线性关系、回收率、精密度和检测限进行了考察。

关键词：总有机碳 TOC-VCPH TOC-VWP 药典 纯净水 催化燃烧法 湿化学法

总有机碳(Total Organic Carbon, 简称 TOC), 是水中有机物污染程度的重要指标。在制药用水、饮用水, 环境监测, 工业排放方面都有非常重要的意义。

1992 年, 日本首先对制药注射用水中总有机碳的含量做出强制规定。通过检测制药用水中总有机碳的含量, 监控制水过程是否处于正常状态, 对活性炭的更换、半透膜的劣化和离子交换柱的效能都有重要的意义。1996 年和 1998 年, 美国和欧盟也先后发布了关于制药中注射用水 TOC 强制检测的规定。中国药典借鉴了美国药典的相关规定, 对制药用水中的注射用水强制规定检测 TOC, 纯化水可以检测 TOC 或者用易氧

化性试验代替。

总有机碳测量中, 根据氧化方法的不同, 有催化燃烧法和湿化学法两种方法。催化燃烧法就是在碳化合物在高温的状态 (680°C) 催化燃烧, 产生二氧化碳, 经检测器检测的得到碳的绝对值, 计算出浓度的方法。湿化学法是在加热的状态下, 通过紫外灯照射和过硫酸盐氧化, 把碳化合物氧化成二氧化碳, 进入检测器检测, 计算出浓度的方法。一般的催化燃烧法检测灵敏度不够, 不能检测 TOC 含量太低的样品。岛津公司开发的高灵敏度型 TOC 分析仪, 能够大幅提高燃烧法的检测限, 使燃烧法也能用来分析制药用水这样 TOC 含量极低的样品。

1. 材料和方法

1.1 仪器及试剂

shimadzu TOC-V_{C_{PH}} 型和 TOC-V_{WP} 型总有机碳分析仪

shimadzu 十万分之一电子天平

邻苯二甲酸氢钾, 优级纯

纯水: 经过超纯水机纯化的超纯水

1.2 分析条件

催 化 剂 : 高灵敏度催化剂 (TOC-V_{C_{PH}} 型)

气 体 : 高纯氧气 (TOC-V_{C_{PH}} 型)

载气流速 : 150ml/min (TOC-V_{C_{PH}} 型)

气 体 : 高纯氮气 (TOC-V_{WP} 型)

载气流速 : 200ml/min (TOC-V_{WP} 型)

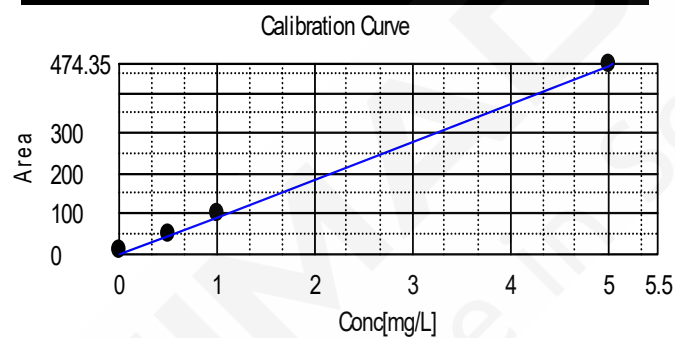
2. 结果与讨论

2.1 标准曲线

使用TOC-V_{CPH}型和TOC-V_{WP}型总有机碳分析仪分析配制好的同一套标准溶液，经仪器分析得到标准曲线，如下。燃烧法和湿化学法的标准曲线线性关系均达到0.9999以上。

表 1 燃烧法 NPOC 标准曲线

序列号	TC 浓度 (mg/L)	响应面积
1	0.00	5.811
2	0.50	48.22
3	1.00	97.86
4	5.00	474.4

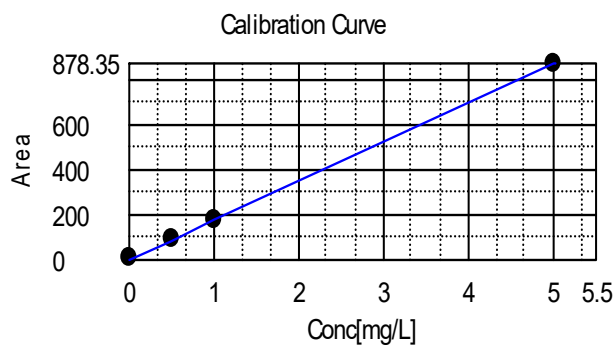


$R^2=0.9999$ 斜率 $k = 94.09$

图 1 燃/烧法 NPOC 标准曲线

表 2 湿化学法 NPOC 标准曲线

序列号	IC 浓度 (mg/L)	响应面积
1	0.00	6.040
2	0.50	88.01
3	1.00	176.6
4	5.00	878.4



$R^2 > 0.99995$ 斜率 $k = 175.0$

图 2 湿化学法 NPOC 标准曲线(仪器自动按线性回归计算标准曲线)

2.2 回收率试验

以某药厂提供的两个检测样品（1号样品和2号样品）为空白，使用标准加入法分别添加标样浓度0.1 C mg/L和0.09 Cmg/L，得到3号样品和4号样品。

使用催化燃烧法对两个样品进行分析,三次测量取变异系数较小的两个，得回收率数据：

表 3 回收率

样品	3号样品 (%)	4号样品(%)
燃烧法	109.5	103.4
湿化学法	100.9	98.3

2.3 精密度及检出限

取某药厂的两两种制药用水（1号样品和2号样品）为样品，分别考察燃烧法和湿化学法在本方法中的精密度和检出限，得如下数据：

表 4 精密度及检出限

样品	重复次数	响应面积	平均面积	浓度 (mg/L)	平均浓度 (mg/L)	变异系数 CV (%)	浓度标准偏差 (mg/L)
燃烧法空白水 1号样品	1	4.933	5.217	0.02752	0.02910	3.9	0.0011
	2	5.320		0.02968			
	3	5.019		0.02800			
	4	5.259		0.02934			
	5	5.292		0.02952			
	6	5.479		0.03057			
湿化学法空白水 2号样品	1	8.708	8.765	0.04976	0.05009	0.59	0.0003
	2	8.782		0.05018			

3	8.755	0.05003
4	8.802	0.05030
5	8.836	0.05049
6	8.707	0.04976

燃烧法空白水6次进样的精密度CV=3.9%，湿化学法空白水6次进样的精密度CV=0.59%。

因为，检测限=3×面积标准偏差/k=3×浓度标准偏差

经计算，在本方法中，燃烧法检出限为0.0033 mg/L，湿化学法检出限为0.0009 mg/L。

2.4 不同样品的分析对比

用两种方法分别测量不同样品，得到数据如下：

表 5 样品分析结果

样品	1 号样品 (mg/L)	2 号样品 (mg/L)	某纯化水 (mg/L)	蔗糖溶液 (mg/L)	对苯醌溶液 (mg/L)	5 号样品 (mg/L)
燃烧法	0.02904	0.05422	0.2251	0.5482	0.4949	0.6713
湿化学法	0.02020	0.05149	0.2221	0.5456	0.4821	0.4953

注：5 号样品为 1 号样品在烧杯中经空气中露置 3 天后，得到的样品。

根据上面的数据对比可以看出，对于制药用水、蔗糖标准溶液、对苯醌标准溶液和纯化水来说，两种氧化方法得到的结果相差不大。对于5号样品，由于经过露置，灰尘的引入和细菌的滋生导致燃烧法的结果比湿化学法高很多，这说明湿化学法对灰尘颗粒和细菌等外来物质的氧化能力不够。

3. 结论

本试验对比了不同氧化方式（催化燃烧法和湿化学法）对制药用水总有机碳分析结果的影响。经检测，本方法两种氧化方法的回收率均在90—110%之间，标准曲线相关系数 r^2 达到0.9999以上，完全符合一般化学检测方法的要求，能够提供可靠的数据结果。湿化学法的精密度CV 0.59%，检测限达到0.0009 mg/L，一般的制药用水、蔗糖标准溶液、对苯醌标准溶液和纯化水都能够充分氧化，非常适合制药用水的检测。催化燃烧法的精密度CV 3.9%，检测限达到0.0033 mg/L，精密度不及湿化学法，但氧化能力更强，能够氧化灰尘等外来物质引入的有机碳，适用范围更广。

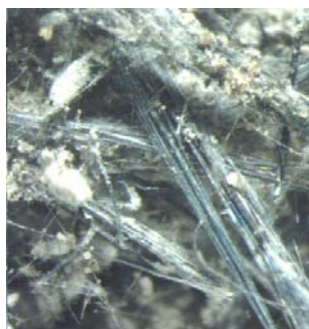
X 射线衍射法测定药用滑石粉中的石棉

摘要：中国药典明确规定，药用滑石粉中“不得检出石棉”。本文使用岛津 X 射线衍射仪，按照中国药典要求，测定药用滑石粉中石棉含有情况，并对绿泥石对温石棉的干扰做了说明。

关键词：石棉，中国药典，岛津，X 射线衍射仪

滑石粉是一种天然存在的含水硅酸盐矿物，其主要成分为 $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ ，滑石粉是药物制剂中广泛使用的润滑剂和助流剂，其品质和杂质成分因矿源不同而有较大差异，部分矿源伴生有石棉。石棉是公认的致癌物质，其最大危害来自于它的纤维，一旦被吸入人体，石棉纤维可多年积聚在人体内，附着并沉积在肺部，可能导致肺癌等疾病。

石棉 (Asbestos) 是天然纤维状硅酸盐类矿物的总称，可分为蛇纹石石棉和角闪石石棉两大类。



(a) 青石棉



(b) 透闪石石棉



(c) 直闪石石棉

图 1 几种常见石棉实物照片

由于不同种类石棉晶体结构的差异性，利用 X 射线衍射方法可以对不同石棉进行定性与定量分析。

(1) 蛇纹石石棉又称为温石棉，在 2θ 为 12.1° 和 24.3° 附近有较强的衍射峰。

(2) 角闪石石棉又可分为青石棉、铁石棉、透闪石石棉、阳起石石棉及直闪石石棉等。在 2θ 为 10.5° 附近有较强的衍射峰。

中国药典明确规定，药用滑石粉中“不得检出石棉”。

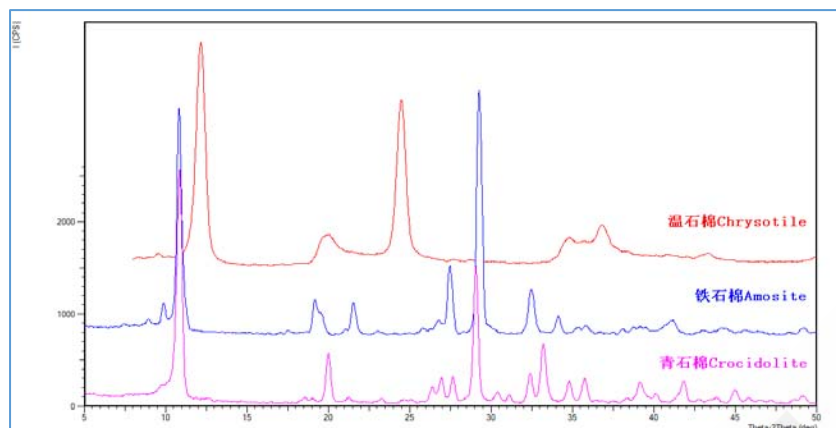


图2 纤蛇纹石石棉和闪石类石棉衍射图对比

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 X 射线衍射仪 XRD6100



1.2 分析·条件

测试参数

X 光管电压 (XG Voltage): 40 kV

X 光管管流 (XG Current): 40mA

扫描模式 Scan mode: 步进扫描 θ - 2θ (fixed time)

角度范围 Scan Range: 10-13°, 24-26°

步长 step: 0.02°

停留时间 Preset time: 60 s

狭缝 (Slit condition): DS -1°, SS -1°, RS -0.3mm

强度单位 (Unit): Counts

样品处理: 取适量滑石粉填入铝制样品池, 刮平, 轻轻压实

2. 结果讨论

滑石粉衍射谱图如图 3 所示，其中 12.5°和 25.1°附近的峰为绿泥石的峰，伴随着产地和伴生情况的不同，滑石粉中常混有少量的绿泥石，这些绿泥石成分与滑石粉成分非常接近，很难用化学手段去除，由于绿泥石特征峰位为 12.5°，与温石棉的特征衍射峰 12.1°非常相近，而且温石棉的衍射峰通常宽而弥散，通常需要根据 24-26°的出峰情况来判断温石棉的含有情况。

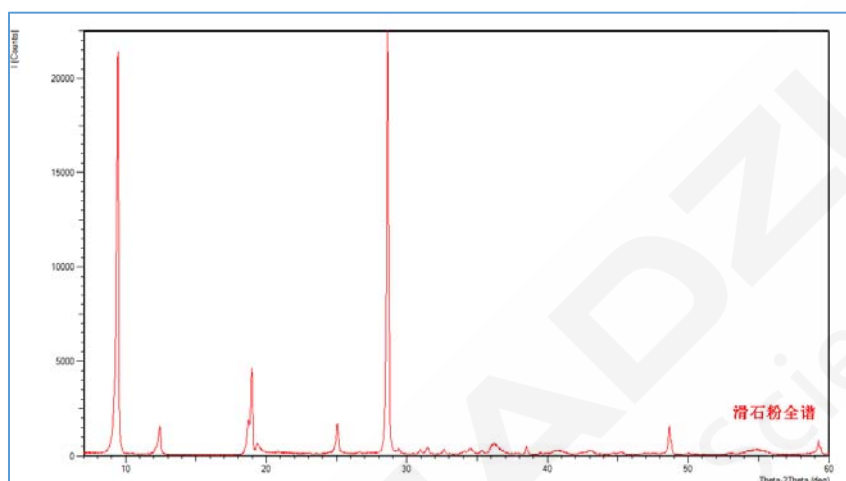
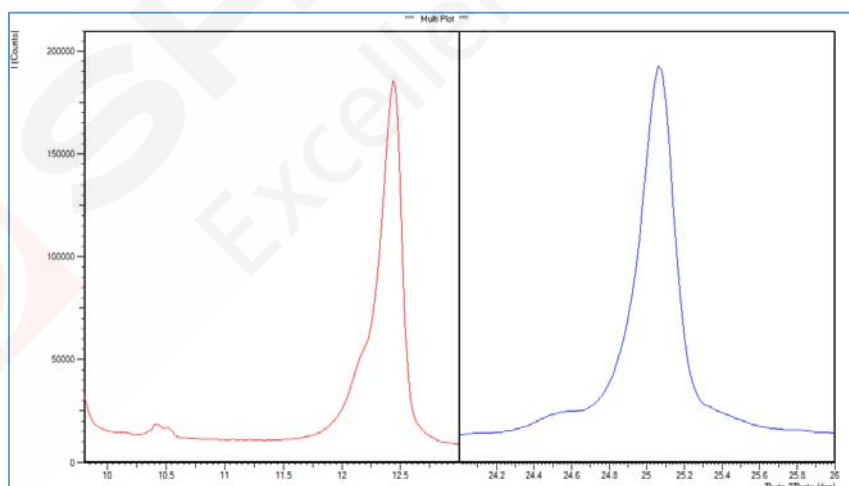


图 3 滑石粉全谱图

按照中国药典给出的参数，对 10-13°、24-26°区域进行精细扫描，得到石棉检测谱图如图 4 所示。

图 4 滑石粉中石棉的检测



根据衍射峰情况判断，24.3°没有衍射峰，说明样品中不含有温石棉，10.5°附近有很弱的衍射峰，说明样品可能含有少量的角闪石类石棉，需要进一步使用显微镜确认是否有纤维状物质。这里判定在 2θ 为 12.5°和 25.1°的峰应为绿泥石的干扰。

3. 结论

本文根据中国药典四部的要求，使用岛津 X 射线衍射仪测试了滑石粉中石棉的含有情况，该方法操作简单，可以准确判定石棉的含有情况。对于国产滑石粉中常见的绿泥石对温石棉的干扰，本文也做了分析。



气相色谱法测定供药用和药用辅料的脂类物质中反式脂肪酸含量

摘要：本文建立了气相色谱仪检测供药用和药用辅料的脂类物质中反式脂肪酸含量的分析方法。分析结果表明：仪器性能良好，顺反异构体分离度等参数可满足 2020 版药典《0713 脂肪与脂肪油测定法》中反式脂肪酸测定部分对于系统适用性的要求。脂肪酸甲酯混合溶液重复进样 6 次，各组分保留时间相对标准偏差小于 0.2%，峰面积相对标准偏差小于 5%，重复性良好，可依据此方法进行反式脂肪酸含量的测定。

关键词：气相色谱仪 药用辅料 反式脂肪酸

脂肪是人体三大营养素之一，具有构建机体组织、提供人体活动所需能量等重要的生理作用。在临床治疗上，以植物油为原料，辅以磷脂乳化剂、等渗剂等制成的脂肪乳剂常被用于无法进食或严重缺乏营养的患者。反式脂肪酸（trans fatty acid, TFAs）是指含有一个或多个反式双键结构的一类不饱和脂肪酸。已有大量的科学研究表明，反式脂肪酸对于人体存在诸多危害。对于食品中的TFAs，已有较成熟的研究及较严格的管控法规，所以用作特殊人群的药物和药用辅料中的TFAs同样需

要严格的控制。在最新发布的2020版药典中，《0713 脂肪与脂肪油测定法》通则则在2015版的基础上，增订了供药用和药用辅料的脂类物质及类似物的脂肪酸组成、反式脂肪酸等测定项目。

本文建立了用气相色谱分析方法测定药用和药用辅料脂类物中反式脂肪酸含量的方法，对供试样进行甲酯化处理后上机分析，根据各脂肪酸甲酯的保留时间定性，使用峰面积归一化法定量。各种顺、反式脂肪酸分离度良好，符合2020版药典要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

气相色谱仪：Nexis GC-2030

1.2 分析条件

色谱柱：Rt-2560, 100 m×0.25 mm×0.2 μm

柱温程序：163°C(85 min)_30°C/min _240°C(13 min)

进样口温度：250°C

载气控制方式：恒压（40 psi）

进样方式：分流进样（分流比为 45:1）

进样量：1 μL

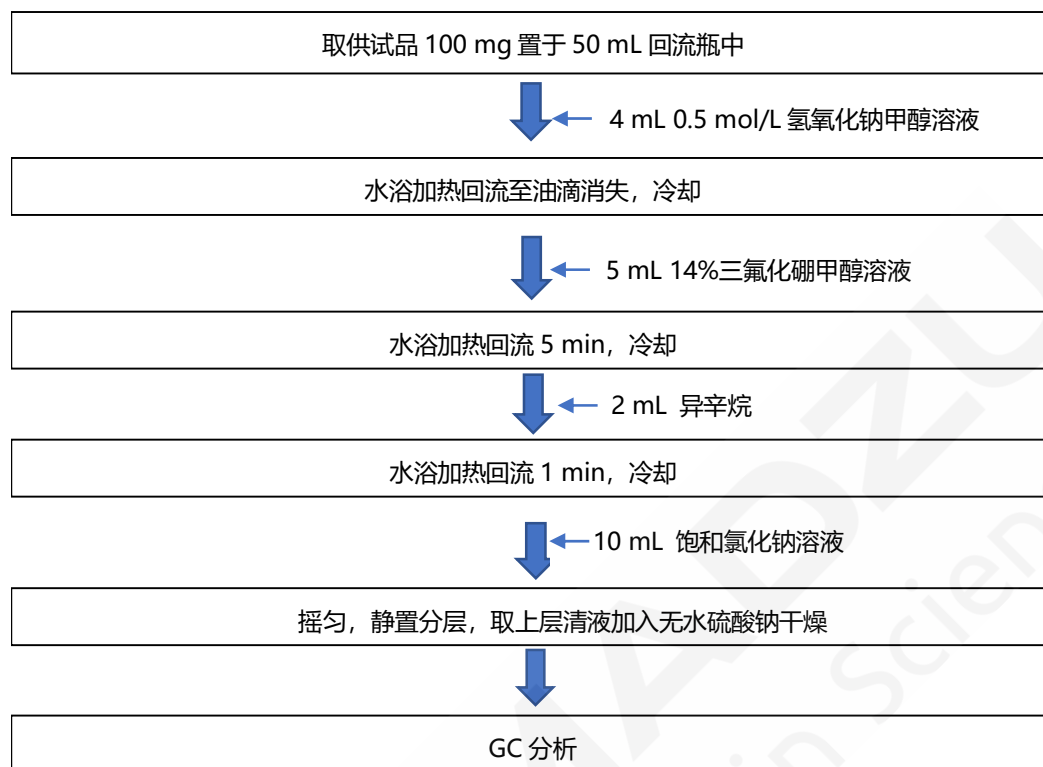
检测器温度：250°C

氢气流量：32 mL/min

空气流量：200 mL/min

尾吹流量：24 mL/min

1.3 样品前处理



2. 结果讨论

2.1 标准溶液色谱图

以异辛烷为溶剂配制总浓度为10 mg/mL 脂肪酸甲酯混合标准溶液，气相色谱图见图1，相关化合物信息见表1。

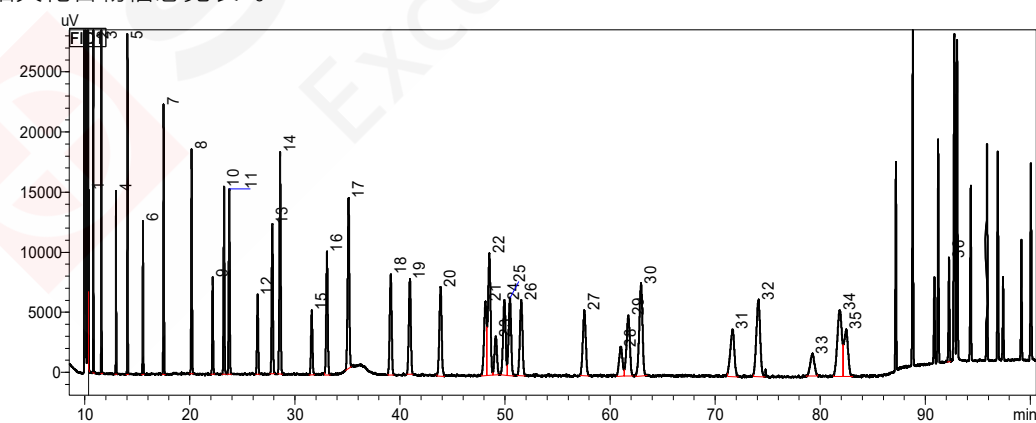


图 1 脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

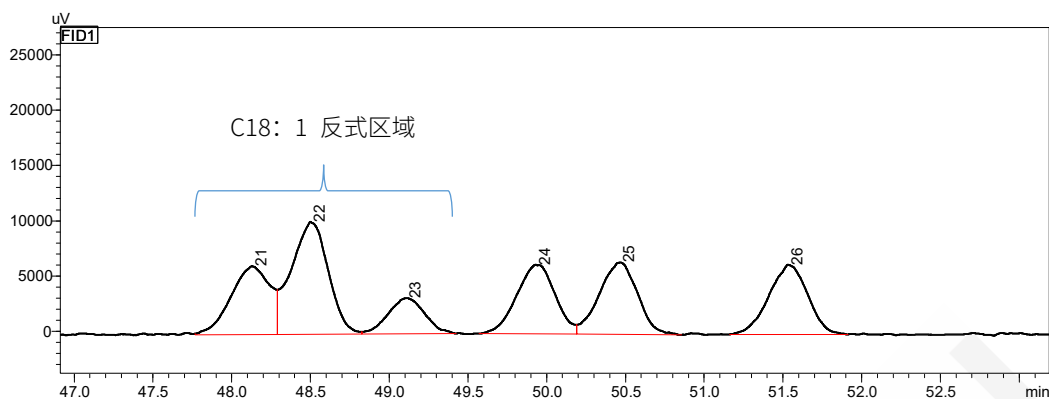


图 2 部分反式脂肪酸甲酯放大图

表 1 36 种脂肪酸甲酯信息

No.	中文名称	简称	CAS#	保留时间 (min)
1	丁酸甲酯	C4:0	623-42-7	10.37
2	己酸甲酯	C6:0	106-70-7	10.80
3	辛酸甲酯	C8:0	111-11-5	11.57
4	癸酸甲酯	C10:0	110-42-9	12.97
5	十一烷酸甲酯	C11:0	1731-86-8	14.06
6	十二烷酸甲酯	C12:0	111-82-0	15.53
7	十三烷酸甲酯	C13:0	1731-88-0	17.50
8	十四烷酸甲酯/肉豆蔻酸甲酯	C14:0	124-10-7	20.16
9	十四碳烯酸甲酯(反-9)/反式肉豆蔻烯酸甲酯	C14:1 t9	72025-18-4	22.17
10	十四碳烯酸甲酯(顺-9)/肉豆蔻烯酸甲酯	C14:1 c9	56219-06-8	23.25
11	十五烷酸甲酯	C15:0	7132-64-1	23.75
12	十五碳烯酸甲酯(反-10)	C15:1 t10	90176-51-5	26.45
13	十五碳烯酸甲酯(顺-10)	C15:1 c10	90176-52-6	27.84
14	十六烷酸甲酯/棕榈酸甲酯	C16:0	112-39-0	28.59
15	十六碳烯酸甲酯(反-9)/反棕榈油酸甲酯	C16:1 t9	10030-74-7	31.59
16	十六碳烯酸甲酯(顺-9)/棕榈油酸甲酯	C16:1 c9	1120-25-8	33.05
17	十七烷酸甲酯/珠光脂酸甲酯	C17:0	1731-92-6	35.10
18	十七碳烯酸甲酯(反-10)	C17:1 t10	369657-02-3	39.12
19	十七碳烯酸甲酯(顺-10)	C17:1 c10	75190-82-8	40.94
20	十八烷酸甲酯/硬脂酸甲酯	C18:0	112-61-8	43.86
21	十八碳烯酸甲酯(反-6)/反式岩芹酸甲酯	C18:1 t6	14620-36-1	48.13
22	十八碳烯酸甲酯(反-9)/反油酸甲酯	C18:1 t9	2462-84-2	48.50
23	十八碳烯酸甲酯(反-11)/反异油酸甲酯	C18:1 t11	6198-58-9	49.11
24	十八碳烯酸甲酯(顺-6)/岩芹酸甲酯	C18:1 c6	2777-58-4	49.93
25	十八碳烯酸甲酯(顺-9)/油酸甲酯	C18:1 c9	112-62-9	50.47
26	十八碳烯酸甲酯(顺-11)/异油酸甲酯	C18:1 c11	6198-58-9	51.53
27	十八碳二烯酸甲酯(反-9, 12)/反亚油酸甲酯	C18:2 t9t12	2566-97-4	57.55

28	十九碳烯酸甲酯(反-7)	C19:1 t7	--	61.03
29	十九碳烯酸甲酯(反-10)	C19:1 t10	84675-68-3	61.74
30	十八碳二烯酸甲酯(顺-9, 12)/亚油酸甲酯	C18:2 c9c12	112-63-0	62.95
31	二十烷酸甲酯/花生酸甲酯	C20	1120-28-1	71.64
32	十八碳三烯酸甲酯(顺-6, 9, 12)/ γ -亚麻酸甲酯	C18:3 c6c9c12	16326-32-2	74.13
33	二十碳烯酸甲酯(反-11)	C20:1 t11	69119-90-0	79.27
34	十八碳三烯酸甲酯(顺-9, 12, 15)/ α -亚麻酸甲酯	C18:3 c9c12c15	301-00-8	81.87
35	二十碳烯酸甲酯(顺-11)	C20:1 c11	2390-09-2	82.47
36	二十二碳烯酸甲酯(反-13)/巴惟酸甲酯	C22:1 t13	7439-44-3	92.26

以异辛烷为溶剂，配制总浓度为2.5 mg/mL亚油酸甲酯和2.5 mg/mL亚麻酸甲酯混合标准溶液，气相色谱图见图3，相关化合物信息见表2。

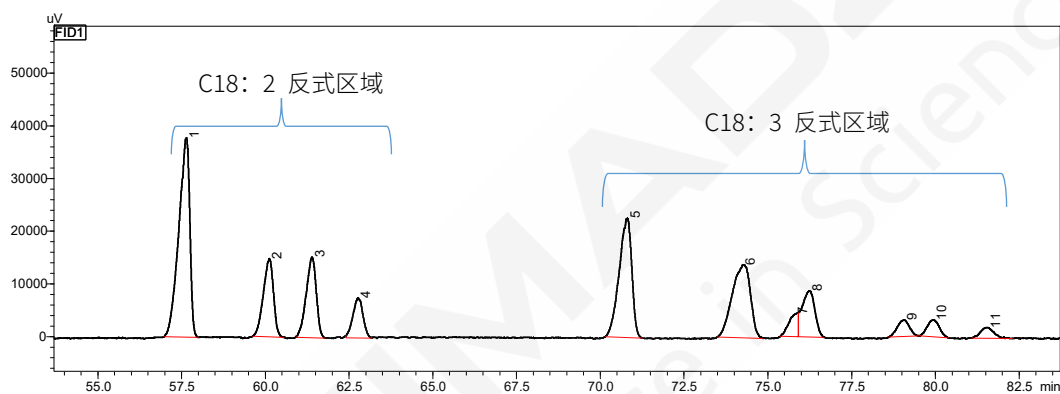


图3 典型反式脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

表2 典型反式脂肪酸甲酯信息

No.	类别	化合物	保留时间(min)
1	亚油酸甲酯	C18:2 t9t12	57.65
2		C18:2 c9t12	60.12
3		C18:2 t9c12	61.39
4		C18:2 c9c12	62.77
5	亚麻酸甲酯	C18:3 t9t12t15	70.81
6		C18:3 t9t12c15/t9c12t15	74.25
7		C18:3 t9c12c15	75.81
8		C18:3 c9t12t15	76.24
9		C18:3 c9t12c15	79.08
10		C18:3 c9c12t15	79.95
11		C18:3 c9c12c15	81.57

2.2 重复性实验

用异辛烷配制总浓度为10 mg/L的脂肪酸甲酯标准溶液，重复测试6次，计算相对标准偏差。6次重复测试的保留时间相对标准偏差小于0.2%，峰面积相对标准偏差小于5%，重复性良好。具体结果见表3：

表 3 重复性实验结果 (n=6)

No.	化合物	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)	No.	化合物	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
1	C4:0	0.01	3.85	19	C17:1 c10	0.06	3.79
2	C6:0	0.01	1.67	20	C18:0	0.07	4.36
3	C8:0	0.01	2.34	21	C18:1 t6	0.05	2.20
4	C10:0	0.02	2.78	22	C18:1 t9	0.06	2.92
5	C11:0	0.02	2.37	23	C18:1 t11	0.06	4.32
6	C12:0	0.02	3.03	24	C18:1 c6	0.06	3.07
7	C13:0	0.02	2.18	25	C18:1 c9	0.06	3.11
8	C14:0	0.02	2.41	26	C18:1 c11	0.05	3.23
9	C14:1 t9	0.03	0.91	27	C18:2 t9t12	0.10	3.70
10	C14:1 c9	0.03	2.34	28	C19:1 t7	0.06	4.21
11	C15:0	0.03	2.04	29	C19:1 t10	0.08	1.76
12	C15:1 t10	0.05	2.48	30	C18:2 c9c12	0.07	4.34
13	C15:1 c10	0.04	2.44	31	C20	0.07	4.51
14	C16:0	0.04	2.48	32	C18:3 c6c9c12	0.08	4.51
15	C16:1 t9	0.03	2.45	33	C20:1 t11	0.11	4.45
16	C16:1 c9	0.05	1.84	34	C18:3 c9c12c15	0.06	3.72
17	C17:0	0.05	3.31	35	C20:1 c11	0.06	4.17
18	C17:1 t10	0.06	2.44	36	C22:1 t13	0.01	2.46

2.3 样品测试结果

应用本方法对两个药用大豆油样品进行了测定，得到样品的色谱图如下：

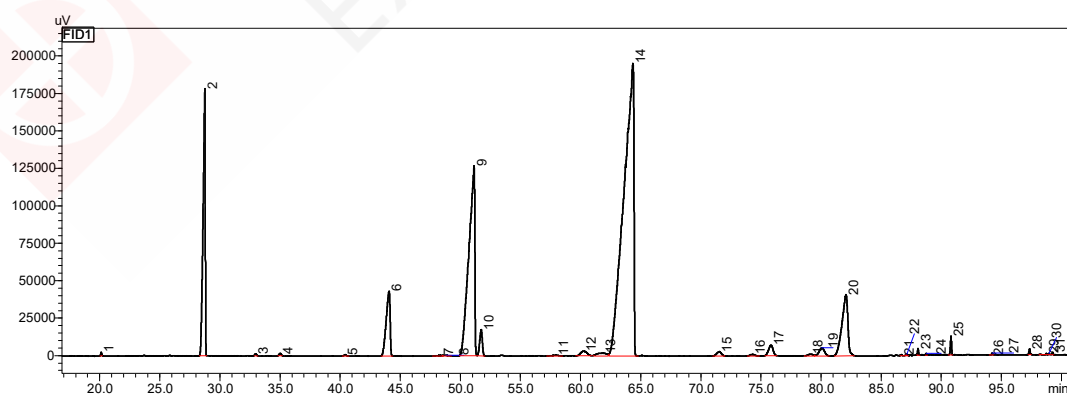


图 4 药用大豆油-1 样品色谱图

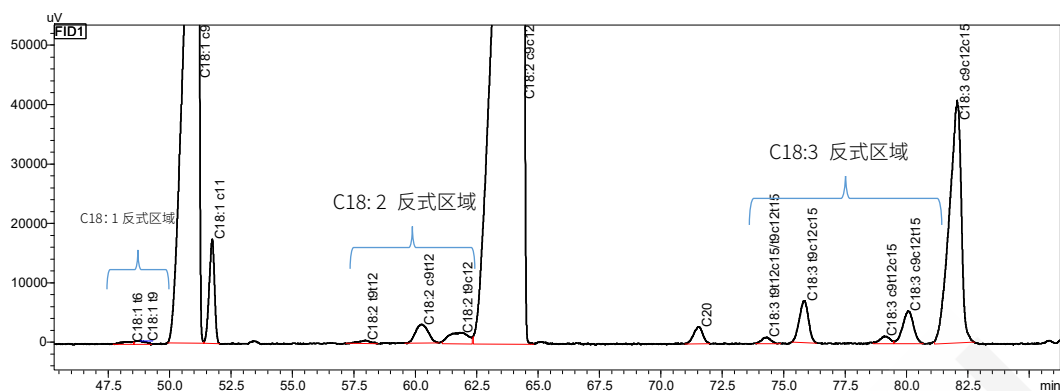


图 5 药用大豆油-1 样品反式脂肪酸区域放大图

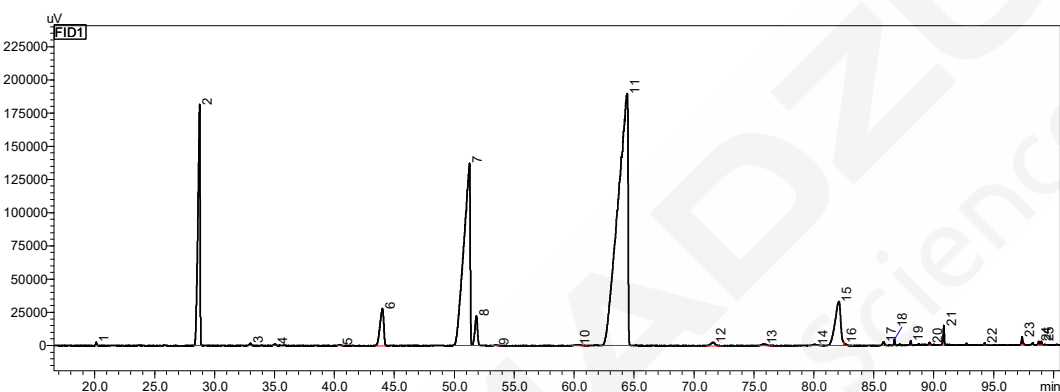


图 6 药用大豆油-2 样品色谱图

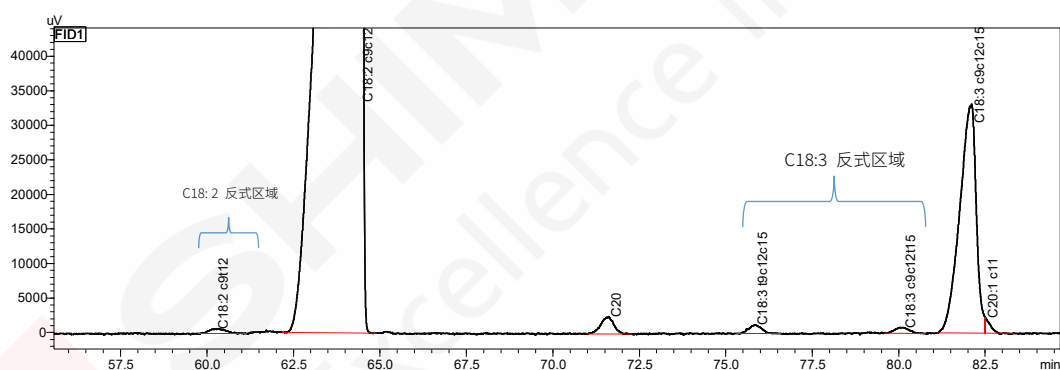


图 7 药用大豆油-2 样品反式脂肪酸区域放大图

根据药典要求，按照峰面积归一化法计算样品中各反式脂肪酸甲酯峰占所有脂肪酸甲酯总峰面积的百分比含量，结果如下：

表 4 药用大豆油-1 样品反式脂肪酸测试结果

No.	化合物	保留时间(min)	峰面积	含量(%)
1	C18:1 t6	48.37	15130	0.070
2	C18:1 t9	48.80	17407	0.080
3	C18:2 t9t12	57.96	17385	0.080
4	C18:2 c9t12	60.26	112861	0.521
5	C18:2 t9c12	61.83	104669	0.483
6	C18:3 t9t12c15/t9c12t15	74.32	27222	0.126

7	C18:3 t9c12c15	75.86	183046	0.845
8	C18:3 c9t12c15	79.10	35613	0.164
9	C18:3 c9c12t15	80.07	168069	0.775

表 5 药用大豆油-2 样品反式脂肪酸测试结果

No.	化合物	保留时间(min)	峰面积	含量(%)
1	C18:2 c9t12	60.25	23345	0.110
2	C18:3 t9c12c15	75.84	32717	0.154
3	C18:3 c9c12t15	80.12	24630	0.116

3. 结论

本文建立了气相色谱仪检测药用和药用辅料脂类物中反式脂肪酸含量的分析方法。分析结果表明：仪器性能良好，顺反异构体分离度等参数可满足 2020 版药典《0713 脂肪与脂肪油测定法》中反式脂肪酸测定部分对于系统适用性的要求。脂肪酸甲酯混合溶液重复进样 6 次，各组分保留时间相对标准偏差小于 0.2%，峰面积相对标准偏差小于 5%，重复性良好，可依据此方法进行反式脂肪酸含量的测定。

附录：本文集收录分析检测项目及对应分析仪器快速索引

#	项目	待测物	分析仪器	页码
1	含量分析	大豆油及中链甘油三酸酯	LC	11
2	含量分析	司盘 85	LCMS	15
3	含量分析	十二烷基硫酸钠	LCMSMS	20
4	含量分析	碳酸钠	AAS	26
5	含量分析	脂肪酸	GC	29、31
6	粒度分析	二氧化钛	SALD	39
7	晶型分析	蒙脱石	XRD	42
8	分子量测定	PEG23000	MALDI-TOF MS	46
9	分子量测定	吐温 80	MALDI-TOF MS	49
11	分子量测定	PLGA	MALDI-TOF MS	57
12	分子量测定	玻璃酸钠	GPC	60
13	元素杂质分析	多种元素杂质	ICPMS	69-86
14	有机杂质分析	乙二醇、二甘醇、三甘醇	GC	90
15	有机杂质分析	环氧乙烷等 6 种杂质	GC	94
16	有机杂质分析	α -乳白蛋白	Micro-LC	102
17	有机杂质分析	马来酸、马来酸酐、富马酸	LC	106
18	污染程度	总有机碳	TOC	109
19	异物检查	石棉	XRD	118
20	限度检查	反式脂肪酸	GC	122



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

⊕ 岛津企业管理 (中国) 有限公司/岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层
邮政编码: 100020
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层
邮政编码: 110016
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501
邮政编码: 710065
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座
邮政编码: 830002
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室
邮政编码: 450007
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋
邮政编码: 200233
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼
B座12层
邮政编码: 610063
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

南京

南京市鼓楼区汉中中路2号亚太商务楼27层B座
邮政编码: 210005
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

重庆

重庆市渝中区青年路38号重庆国贸中心1702座
邮政编码: 400010
电话: (023)6380-6068/6058 传真: (023)6380-6551

武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室
邮政编码: 430060
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦
邮政编码: 510656
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室
邮政编码: 650021
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

深圳

深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼 F2.6-1C
邮政编码: 518040
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室
邮政编码: 410005

香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室
SUITE 1028, OCEAN CENTRE, HARBOUR CITY,
TSIM SHA TSUI, KOW LOON, HONG KONG
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439
400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准
样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知