

ICP-OES 法测定新型冠状病毒疫苗中 32 种元素杂质的含量

丁豪(上海市食品药品包装材料测试所,上海 201203)

摘要:目的 建立检测新型冠状病毒疫苗中 32 种元素杂质含量的方法。方法 采用电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES),通过半定量筛查和定量检测的方式,测定疫苗中的元素杂质含量,并考察该方法的专属性、线性、定量限、检测限、加标回收率等情况,评估该方法用于疫苗中微量元素含量检测的可行性。结果 各元素在各自的检测质量浓度范围内线性关系良好,元素加标回收率在 94.06%~115.50%,应用于各加速放置点样品的检测时,除硼(B)、硅(Si)元素测得微量含量,且长期放置后含量增长不明显,其余元素含量均远小于规定限度。结论 建立 ICP-OES 法,该方法专属性好,结果可靠,简便快捷,适用于新型冠状病毒疫苗中 32 种元素杂质的检测。

关键词:电感耦合等离子体发射光谱法;新型冠状病毒疫苗;32 种元素

doi:10.11669/cpj.2024.03.011 中图分类号:O657.31;R917 文献标志码:A 文章编号:1001-2494(2024)03-0270-05

Determination of 32 Elemental Impurities in COVID-19 Vaccine by ICP-OES

DING Hao(Shanghai Food and Drug Packaging Material Control Center, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a method for the determination of 32 elements in COVID-19 vaccine. **METHODS** The 32 elements were determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometer(ICP-OES) through semi-quantitative screening and quantitative detection, and the specificity, linearity, limit of quantification, detection limit and recovery rate of the ICP-OES method were investigated to evaluate the feasibility of the method for the detection of trace elements in vaccines. **RESULTS** The linear relationship of each element was good within the detection mass concentration range, and the recoveries of element added were 94.06% - 115.50%. When applied to the detection of the samples at each accelerated placement point, except for the trace contents of B and Si elements, which did not increase significantly after long-term placement, the contents of other elements were far less than the prescribed limits. **CONCLUSION** The ICP-OES method is established. And the method has good specificity, reliable results, simple and rapid, and is suitable for the determination of 32 elements in COVID-19 vaccine.

KEY WORDS: ICP-OES; COVID-19 vaccine; 32 element

随着 2019 年新型冠状病毒感染(corona virus disease 2019, COVID-19)肆虐,全球都积极研发针对该病毒的疫苗^[1-3]。目前,我国针对 COVID-19 的疫苗已供公众使用^[4-5]。我国是世界上为数不多的可以独立研发疫苗的大国,我国疫苗行业发展至今,已有疫苗生产企业 46 家,可生产 60 多种疫苗,可预防 34 种疾病。年生产能力已超过了 10 亿剂^[6-7]。目前,已经有多种 COVID-19 疫苗上市,国内外关于 COVID-19 疫苗的研究越来越多,对其作用机制、效果评价也越来越深入^[8-10]。截至 2022 年 7 月,我国 COVID-19 疫苗在国内累计接种超过 34 亿剂次。但是,面对短时间内疫苗产量急剧增加,国内高质量的中硼硅玻璃一度陷入紧缺,导致疫苗注射过程中会出现一瓶供多人使用的情况,疫苗质量的安全可靠性备受关注。

《药品包装材料与药物相容性试验指导原则》

(YBB00142002-2015)也要求生产企业作为药品质量安全的主体责任人,必须严格进行药品与包装材料的相容性研究,确保药品的质量和安全^[11]。《化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则》中明确要考察硅(Si)、硼(B)和铝(Al)等元素的迁移量及变化趋势,以此来预测玻璃容器受到侵蚀产生脱片或玻璃屑的可能性^[12]。同时,人用药品注册技术要求国际协调会议(ICH)元素杂质指导原则 Q3D 也对玻璃容器中常用金属元素的每日允许摄入量(注射途径)有所规定,包括铅(Pb)、钴(Co)、镉(Cd)、砷(As)、锑(Sb)等金属元素^[13]。

为了进一步保障疫苗的安全,考虑到元素杂质引入的可能性多样,建立一套完整、快速、简便的元素杂质测定方法十分必要。本研究采用电感耦合等离子体发射光谱法(ICP-OES)法筛查 ICH-Q3D 涉

作者简介:丁豪,男,硕士,工程师 研究方向:药品与药包材相容性研究 Tel:(021)38839700

及的 24 种元素的含量,同时精确测定 B、钙(Ca)、铁(Fe)、镁(Mg)、锰(Mn)、Si、钛(Ti)、锌(Zn)含量,并对该方法进行验证。该方法操作简便,准确可靠,专属性强,可对新型冠状病毒疫苗中重金属元素残留进行监控,为相关药品风险监控提供技术参数。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent5110 型等离子体发射光谱仪(美国安捷伦科技有限公司);BinderFD240 型恒温干燥箱(德国宾得公司);MLS-3781L 型高压蒸汽灭菌锅(日本普和株式会社);COXEMEM-30 型高分辨多功能台式扫描电镜(上海欧波同仪器有限公司)。

1.2 试剂

Al、As、金(Au)、钡(Ba)、Cd、Co、铬(Cr)、铜(Cu)、汞(Hg)、铱(Ir)、锂(Li)、钼(Mo)、镍(Ni)、铅(Pb)、钯(Pd)、铂(Pt)、铑(Rh)、钌(Ru)、Sb、硒(Se)、锡(Sn)、铊(Tl)、钒(V)等 23 种元素的混合标准溶液(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,批号:21DC302)、B、Ca、Fe、Mg、Mn、Ti、Zn 元素的标准溶液(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,批号:21D71208)、Si 标准溶液(500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,批号:21030935)(国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院);银(Ag)标准溶液(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,中国计量测试技术研究院,批号:18071);钌(Os)标准溶液(1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,国家有色金属及电子材料分析测试中心,批号:22D70126);硝酸(65%,德国 Merck 公司,批号:Z235341122);实验用水为高纯水(电阻率为 18 $\text{m}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$)。

1.3 样品

样品为厂家提供的新型冠状病毒疫苗注射剂样品 3 批,规格为每瓶 0.7 mL,批号分别为 20210901A、20211003A、20211005A,样品放置时间点为 0 个月、长期放置 6 个月、12 个月,每日最大摄入量 0.5 mL。

2 方法与结果

2.1 仪器工作条件

ICP-OES 射频 RF 功率 1.2 kW,等离子气流量 12.0 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,辅助气流量 1.0 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,雾化器流量 0.7 $\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$,所有元素均采用轴向观测模式。重复次数 3 次,读取时间 5 s,稳定时间 15 s。为使仪器温度稳定,测定之前,至少运转 30 min。

2.2 溶液配制

2.2.1 对照品溶液的制备

分别取 23 元素混合标样(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)1.0 mL、B、Ca、Fe、Mg、Mn、Si、Ti、Zn 元素的标准溶液(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)1.0 mL、Ag 元素的标准溶液(100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)1.0 mL、Si 元素的标准溶液(500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)0.20 mL 和 Os 元素的标准溶液(1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)0.10 mL,至 100 mL 量瓶中,用纯化水稀释至刻度,得到 1 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的混合标准溶液。取混合标准溶液 0.1、0.5、1.0、2.0、2.5、5.0、10.0 mL 到 100 mL 量瓶中,用纯化水稀释至刻度,得到浓度分别为 1、5、10、20、25、50、100 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 对照溶液。

2.2.2 样品溶液的配制 取样品 1 mL,加硝酸 1 mL,于 120 $^{\circ}\text{C}$ 消解 1 h,冷却后用纯化水转移至 10 mL 量瓶中,用水定容至刻度,同法制备 2 份,待测。

2.3 方法学验证

2.3.1 专属性

选择所测元素的波长数,见表 1。

表 1 新型冠状病毒疫苗中各待测元素的波长

Tab. 1 The wavelength of elements be tested in COVID-19 vaccine

Element	λ/nm	Element	λ/nm	Element	λ/nm
Ag	328.068	Ni	231.604	B	249.772
As	188.980	Os	225.585	Ca	396.847
Au	242.794	Pb	220.353	Fe	238.204
Ba	455.403	Pd	340.458	Mg	279.553
Cd	214.439	Pt	214.424	Mn	257.61
Co	238.892	Rh	343.488	Si	251.611
Cr	267.716	Ru	267.876	Ti	336.122
Cu	327.395	Sb	206.834	Zn	213.857
Hg	184.887	Se	196.026		
Ir	224.268	Sn	189.925		
Li	670.783	Tl	190.794		
Mo	202.032	V	292.401		

2.3.2 线性关系考察 取“2.2.1”项下系列对照溶液,进行测定,以元素响应作为纵坐标 y ,以元素浓度为横坐标 x ,进行线性回归绘制工作曲线。结果表明,各元素在各线性范围内精密度与稳定性较好。

2.3.3 仪器检测限与定量限 取纯化水平行测定 10 次。以测定值的 3 倍标准偏差对应的浓度作为各元素的检测限,测定值的 10 倍标准偏差对应的浓度作为各元素的定量限,结果见表 2。

2.3.4 回收率实验 吸取 1 mL 的供试品,按高、中、低浓度各 3 份,分别加入对照品按“2.2.2”同法操作,进样测定,计算测得量。低、中、高 3 种量分别计算加样回收率(公式 1)和相对标准偏差(RSD),结果见表 3。Ag、As、Au、Ba、Cd、Co、Cr、Cu、Hg、Ir、

Li、Mo、Ni、Os、Pb、Pd、Pt、Rh、Ru、Sb、Se、Sn、Tl、V 等 24 个元素通过前期半定量筛查后远小于 ICH-Q3D 日摄入量控制阈值,故不做回收率、重复性及定量迁

移研究。

$$\text{加样回收率}(\%) = (\text{测得量} - \text{原有量}) / \text{加入量} \times 100\% \quad \text{公式(1)}$$

表 2 新型冠状病毒疫苗中 32 种元素测定的线性关系、检测限、定量限和药液控制阈值结果

Tab. 2 The results of linear relation, LOD, LOQ and liquid control threshold of 32 elements to be tested in COVID-19 vaccine

Element	Linear range / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	LOD / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	LOQ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Liquid control threshold / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Element	Linear range / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	LOD / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	LOQ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Liquid control threshold / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
Ag	0-0.5	0.019 3	0.064 3	9	Pt	0-0.5	0.008 8	0.029 2	6
As	0-0.5	0.014 8	0.049 4	9	Rh	0-0.5	0.003 3	0.011 1	6
Au	0-0.5	0.265 0	0.883 5	180	Ru	0-0.5	0.001 5	0.005 0	6
Ba	0-0.5	0.000 1	0.000 4	420	Sb	0-0.5	0.011 6	0.038 6	54
Cd	0-0.5	0.000 5	0.001 7	1.2	Se	0-0.5	0.009 8	0.032 8	48
Co	0-0.5	0.002 3	0.007 6	3	Sn	0-0.5	0.027 3	0.091 1	360
Cr	0-0.5	0.000 7	0.002 2	660	Tl	0-0.5	0.010 9	0.036 2	4.8
Cu	0-0.5	0.001 2	0.003 9	180	V	0-0.5	0.000 7	0.002 4	6
Hg	0-0.5	0.004 5	0.015 0	1.8	B	0-1.0	0.000 8	0.002 7	/
Ir	0-0.5	0.003 9	0.012 9	6	Ca	0-1.0	0.003 3	0.010 9	/
Li	0-0.5	0.000 4	0.001 3	150	Fe	0-1.0	0.001	0.003 5	780
Mo	0-0.5	0.000 8	0.002 7	900	Mg	0-1.0	0.000 4	0.001 4	/
Ni	0-0.5	0.003 5	0.011 6	12	Mn	0-1.0	0.000 2	0.000 7	/
Os	0-0.5	0.008 6	0.028 6	6	Si	0-5.0	0.005 8	0.019 3	/
Pb	0-0.5	0.008 0	0.026 6	3	Ti	0-1.0	0.000 8	0.002 6	/
Pd	0-0.5	0.003 4	0.011 3	6	Zn	0-1.0	0.000 6	0.001 9	780

表 3 新型冠状病毒疫苗中 8 种元素测定的回收率及稳定性结果. $n = 3$

Tab. 3 The results of recovery and repeatability of 8 elements to be tested in COVID-19 vaccine. $n = 3$

Element	$\rho(\text{Content})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho(\text{Add})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho(\text{Test})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Recovery /%	Average recovery/%	Repeatability/%	Element	$\rho(\text{Content})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho(\text{Add})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	$\rho(\text{Test})$ / $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	Recovery /%	Average recovery/%	Repeatability/%		
B	0.000 5	0.2	0.195	97.25	96.75	0.52	Mn	0	0.2	0.196	98.00	97.50	0.51		
		0.2	0.194	96.75					0.2	0.195	97.50				
		0.2	0.193	96.25					0.2	0.194	97.00				
		0.4	0.386	96.38					0.4	0.389	97.25			97.00	0.26
		0.4	0.386	96.38					0.4	0.387	96.75			97.00	0.00
		0.4	0.386	96.38					0.4	0.388	97.00			97.33	0.00
		0.6	0.58	96.58					0.6	0.584	97.33			97.33	0.00
		0.6	0.584	97.25					0.6	0.584	97.33			97.33	0.00
		0.6	0.583	97.08					0.6	0.584	97.33			97.33	0.00
		Ca	0.103	0.2					0.338	117.50	115.50			1.08	Si
0.2	0.333			115.00	1.0	0.994	94.55								
0.2	0.331			114.00	1.0	0.989	94.05	94.06	0.48						
0.4	0.502			99.75	0.4	0.989	94.33	94.06	0.48						
0.4	0.5			99.25	0.4	0.989	94.33	94.06	0.48						
0.4	0.502			99.75	0.4	0.989	94.33	94.06	0.48						
0.6	0.734			105.17	0.6	0.989	94.33	94.06	0.48						
0.6	0.735			105.33	0.6	0.989	94.33	94.06	0.48						
0.6	0.736			105.50	0.6	0.989	94.33	94.06	0.48						
Fe	0.021 5			0.2	0.223	100.75	100.58	0.26	Ti	0.000 1		0.2	0.199		
		0.2	0.223	100.75	0.2	0.199					99.00				
		0.2	0.222	100.25	0.2	0.197					98.00	99.08	0.38		
		0.4	0.406	96.13	0.4	0.397					99.00	99.08	0.38		
		0.4	0.406	96.13	0.4	0.396					98.75	99.08	0.38		
		0.4	0.408	96.63	0.4	0.399					99.50	99.08	0.38		
		0.6	0.638	102.75	0.6	0.6					99.83	99.78	0.10		
		0.6	0.638	102.75	0.6	0.599					99.67	99.78	0.10		

3 讨论

3.1 元素选择

在药品的生产、运输和长期放置过程中,玻璃包装与药物直接接触有可能发生相互作用,导致玻璃中的元素杂质迁移进入到药物中,对药物的质量安全产生影响^[14]。本研究考察的 32 种元素中,有 24 种元素为 ICH-Q3D 所涉及的金属元素。B、Ca、Fe、Mg、Mn、Si、Ti、Zn 元素则是硼硅玻璃的主要成分,玻璃生产企业在生产硼硅玻璃时,除了使用二氧化硅、三氧化二硼、三氧化二铝等主要原料,而且还会根据产品需要添加其他化学物质,以保证玻璃的质量和颜色等要求,例如 Ca、Mn、Fe、Ti、Zn 等元素的氧化物,而且这些物质添加量也不是固定的^[15]。Al 元素本身也是玻璃的主要成分,但由于新型冠状病毒疫苗中有辅料铝佐剂的添加,Al 元素的含量较大,故玻璃中迁出的 Al 含量相比而言可以忽略不计,所以对于 Al 元素不做测定。因此,这 32 种元素的选择,可以充分考察疫苗中的元素杂质迁移量,以及与玻璃包装的相容性。从表 5 可以看出,所有元素远小于日允许暴露量,B 元素和 Si 元素在长期放置后均未有很大的增长,因此可以说明新型冠状病毒疫苗与其包装相容性良好。

3.2 测试方法的选择

ICP-OES 法是一种无机元素分析测试技术,它以独特的接口技术结合了四级杆质谱仪的灵敏快速扫描的优点和电离特性,具有检测限低,准确性好,精密度高,线性范围宽,易于进行多元素同时分析等优点,近年在医学、药学和食品科学等分析领域的痕量、微量元素测定中得到广泛应用^[16]。多数研究均采用 ICP-OES 法测定 Al、B、Si 等元素^[17-18]。本研究考虑到 ICH-Q3D 的 24 种元素控制阈值均大于 $1.2 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,同时其他 B、Ca、Fe、Mg、Mn、Si、Ti、Zn 等元素本身含量比其他金属元素高,且在用 ICP-OES 测定时相对稳定,故采用 CP-OES 法同时对 32 种元素的含量进行测定,相比采用 ICP-MS 测定 B、Ca、Si 等元素时稳定性、重现性更好,可操作性强,且准确可靠,可以作为新型冠状病毒疫苗中元素杂质考察的通用方法。

REFERENCES

[1] ZHENG Y L, GE Z, ZHANG L, *et al.* A review of COVID-19 vaccine hesitancy in China and influencing factors [J]. *Chin J Soc Med* (中国社会医学杂志), 2023, 40(1): 27-30.
[2] ESCOBAR L E, MOLINA-CRUZ A, BARILLAS-MURY C. BCG vaccine protection from severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117

(30): 17720-17726.

[3] PROMPETCHARA E, KETLOY C, PALAGA T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic [J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2020, 38(1): 1-9.
[4] FINNEY R L, ZHU X, LEPPIN A L, *et al.* Evidence-based strategies for clinical organizations to address COVID-19 vaccine hesitancy [J]. *Mayo Clin Proc*, 2021, 96(3): 699-707.
[5] HUANG W M, LIU T, FENG G D, *et al.* Progress in possible effects of BCG vaccine on the prevention of SARS-CoV-2 infection: an update [J]. *Chin J Cell Mol Immunol* (细胞与分子免疫学杂志), 2020, 36(11): 1044-1048.
[6] LIU Y D, XIANG X H, HUANG W J, *et al.* Results and discussion on national vaccine proficiency testing schemes in 2020 [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2021, 56(13): 1099-1103.
[7] QUE L Y, JIN L, TANG T T. SARS-CoV-2 vaccination status and its influencing factors among different occupational populations in Hainan province [J]. *Pract Prev Med* (实用预防医学), 2023, 30(3): 310-313.
[8] YU Y, QIU X Y, ZHONG M K. An update on research progress of therapeutic agents for COVID-19 [J]. *Chin J Pharm* (中国工业医药杂志), 2022, 53(6): 775-784.
[9] WANG X X, WU X Y, LIANG H, *et al.* Progress in drug development for treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19) [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志) 2021, 35(8): 561-574.
[10] JIN X J, WANG F, MAO J J, *et al.* Exploration of material basis and molecular mechanism for preventing SARS-CoV-2 infection by Fuzheng Biwen Prescription based on computer aided drug design [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med* (中国中医药信息杂志), 2021, 28(3): 19-26.
[11] YBB00142002-2015 Guidelines of evaluating compatibility Between pharmaceutical packaging and pharmaceuticals [S]. 2015: 1-2.
[12] China Food and Drug Administration. *Technical Guidelines for the Research on the Compatibility of Chemical Medicine Injection and Glass Packing Container* (化学药品注射剂与药用玻璃包装容器相容性研究技术指导原则) [S]. 2015: 7-9.
[13] International conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. ICH Q3D: guideline for elemental impurities [EB/OL]. https://database.ich.org/sites/default/files/Q3D-R2_Guideline_Step4_2022_0308.pdf.
[14] LI Y, ZHANG Y L. Delamination propensity of pharmaceutical glass containers treated with different extraction media by accelerated testing [J]. *Chin J Pharm* (中国医药工业杂志), 2015, 46(3): 293.
[15] PAN X E, ZHANG Y F, ZHANG C H, *et al.* Evaluating compatibility between Propofol injection and neutral borosilicate glass ampoule [J]. *China Meas Test* (中国测试), 2017, 43(5): 45-48.
[16] WEI Y S, HOU Y H, LI J X, *et al.* Qualitative and quantitative analysis of mineral elements in wild termitomyces albuminosus (Berk) heim by ICP-OES [J]. *Food Ind* (食品工业), 2019, 40(2): 294-298.
[17] YI T F, XIANG Y, JIANG J J, *et al.* Determination of total boron in soil and deposit by inductively coupled plasma optical emission spectroscopy with four acids-microwave digestion [J/OL]. *Chin J Inorg Anal Chem* (中国无机分析化学). 2023 [20230321] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.6005.06.20230309.1421.002.html>.
[18] CHEN L, KANG X B, SONG Z H, *et al.* Standard system of the pharmaceutical excipients and packaging materials in the Chinese pharmacopoeia 2020 [J]. *Drug Stand China* (中国药品标准), 2020, 21(4): 307-312.

(收稿日期:2023-03-28)