玻璃瓶中可提取元素的测定及其对人血白蛋白中铝残留量的影响分析

周亚菊，张　彬，徐　俊，陆维怡，蔡　荣*
（上海市食品药品包装材料测试所，上海 201210）

摘要：建立了电感耦合等离子体发射光谱（ICP-OES）法测定人血白蛋白（**1**）包装用玻璃瓶中铝、硼、硅元素的提取量，并用 2 种介质（3%枸橼酸钠溶液和 0.9%氯化钾溶液）进行模拟提取考察。对 11 批 **1** 样品进行加速稳定性试验，分别考察放置 0、1、3、6 个月时，样品中铝残留量的变化情况；并考察放置 6 个月后，玻璃瓶中铝、硼、硅可提取元素对 **1** 中铝残留量的影响。结果显示，建立的方法简便可行、准确可靠，2 种模拟溶液均能提取出铝、硼、硅元素，3%枸橼酸钠溶液中的提取量更为显著。**1** 在加速存放期间，铝残留量随时间增加逐步增长；**1** 包装用玻璃瓶中的可提取元素与 **1** 样品中的铝残留量有一定的相关性，为 **1** 用玻璃瓶的质量监管提供了可靠的数据支持。

关键词：人血白蛋白；铝残留量；玻璃瓶；相容性；电感耦合等离子体发射光谱
中图分类号：O657　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2022)06-0896-05
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.06.019

Determination of Extractable Elements in Glass Containers and Analysis of Their Effects on Aluminum Residues in Human Albumin

ZHOU Yaju, ZHANG Bin, XU Jun, LU Weiyi, CAI Rong*
(*Shanghai Food and Drug Packaging Material Control Center, Shanghai 201210*)

ABSTRACT: An inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) method was established to determine the extraction amounts of aluminum, boron and silicon elements in glass containers for human albumin (**1**) packaging, and two media (3% sodium citrate solution and 0.9% potassium chloride solution) were used for simulated extraction. The accelerated stability test was carried out for eleven batches of **1** sample, and the changes of aluminum residues in the samples were investigated when they were placed for 0, 1, 3, and 6 months. And the influences of extractable elements of aluminum, boron and silicon in glass containers on the residual amount of aluminum in **1** were investigated after being placed for six months. The results showed that the established method was simple, feasible, accurate and reliable. The two extraction solutions could extract aluminum, boron and silicon elements, and more extractable amounts were detected in 3% sodium citrate solution. During the accelerated storage of **1**, the residual aluminum content increased gradually with the increased time. And there was a certain correlation between the extractable elements in the glass container for **1** packaging and the aluminum residue in **1** sample, which provided reliable data support for the quality supervision of the glass containers for **1** packaging.

Key Words: human albumin; aluminum residue; glass container; compatibility; inductively coupled plasma-optical emission spectrometry

人血白蛋白（human albumin，**1**）是最早从人血浆中提取并大规模生产应用的血液制品，系由健康人血浆经分离纯化、巴氏灭活病毒后制成[1]，主要用于调节血浆胶体渗透压，扩充血容量，治疗创伤

收稿日期：2021-07-05
作者简介：周亚菊(1981—)，女，高级工程师，从事药包材质量控制及相容性研究。
通信作者：蔡　荣(1962—)，男，正高级工程师，从事药包材质量控制及相容性研究。
E-mail：cairong@shpmcc.com

出血性休克、严重烧伤及低蛋白血症，在中风、肝硬化和肾病等常见疾病中均有广泛应用[2]。在我国，**1** 的生产始于 20 世纪 70 年代初期，《中国生物制品规程》1979 年版开始收载 **1**，历经《中国生物制品规程》1990 年版、2000 年版。《中华人民共和国药典》（ChP）从 2005 年版（ChP 2005）开始收载 **1**，历经 ChP 2010、ChP 2015、ChP 2020。

铝为地壳中最常见的元素之一，很多数据表明其对中枢神经系统有很大损害[2]。长期、高剂量铝离子的存在可能引起骨软化病、阿尔茨海默病、低色素性贫血、慢性肾功能损害等潜在风险[3]，且也有研究发现铝离子可通过共价键的形式与 **1** 结合[4—5]，因此铝的残留量是 **1** 质量控制的重要项目之一。国内外药典对控制 **1** 中的铝离子含量均十分重视。自 ChP 2005 开始，**1** 的各论中就增加了铝残留量的检验项目，ChP 2015 和 ChP 2020 中也均规定铝残留量不得超过 200 μg/L，欧洲药典（EP 10.0）同样在 **1** 各论中规定铝离子含量限度指标为不得超过 200 μg/L。

1 中的铝离子来源较多，其包装通常也是来源之一[6]。其常用的包装形式为玻璃瓶、胶塞以及铝塑组合盖的包装系统，直接接触 **1** 药液的包材则主要为玻璃瓶和胶塞。常用的包装用玻璃瓶材料主要有Ⅰ类玻璃（硼硅玻璃）和Ⅱ类玻璃（经中性化处理的钠钙玻璃）[1]。

本研究通过测定 **1** 包装用玻璃瓶中铝、硼、硅元素的提取量，分析其对经加速试验后 **1** 样品中铝残留量变化的影响，为 **1** 用玻璃瓶的质量监管提供可靠的数据支持，以期为有效控制 **1** 中铝离子残留量、提升产品质量提供参考。

1 仪器与试药

8900 型电感耦合等离子体质谱仪和 5110 型等离子体发射光谱仪均购于美国 Agilent 公司。

水中铝分析标准物质（上海计量测试技术研究院，0.1 g/L，批号 200708）；电感耦合等离子体质谱（ICP-MS）内标混合液（美国 Agilent 公司，100 μg/ml，批号 52-229CRY2）；65 % 硝酸（德国 Merck 公司，批号 K48901343715）；硅标准溶液（国家钢铁材料测试中心，500 mg/L，批号 20021935）；铝、硼混合标准溶液（国家有色金属及电子材料分析测试中心，100 μg/ml，批号 20D8615）；枸橼酸钠和氯化钾均为分析纯。

1 样品 11 批，来源于 4 家生产企业（A、B、C 和 D），均为每瓶 10 g(20%，50 ml) 的常用规格，11 批 **1** 样品的包装用玻璃瓶均为Ⅰ类玻璃（硼硅玻璃）瓶。

2 方法与结果

2.1 1 中铝残留量的测定

2.1.1 加速稳定性考察试验

取 11 批 **1** 样品，于 (25±2) ℃、相对湿度 (60±5) % 的条件下放置，分别考察放置 0、1、3、6 个月后 **1** 样品中的铝离子含量。

2.1.2 1 中铝残留量的测定方法

1 中铝残留量的测定主要参考 ChP 2020 四部通则 3208“**1** 铝残留量测定法”中的第二法“电感耦合等离子体质谱法”测定。

2.1.3 1 中铝残留量的考察结果

本次研究的 11 批 **1** 样品在规定温度贮存的条件下均未超过药典规定的 200 μg/L 标准限度，铝残留量结果为 9 ～ 33 μg/L，在加速试验期间，铝离子的含量随时间增加而逐步增长，结果见表 1。

表 1 1 样品中铝残留量的测定结果

Tab.1 Determination Results of Aluminum Content in **1** Samples

样品编号	铝残留量/μg·L^{-1}			
	0个月	1个月	3个月	6个月
A1	20.07	27.26	22.78	39.39
A2	10.74	21.75	21.26	41.12
A3	11.62	30.00	18.12	36.38
A4	19.49	16.86	24.16	40.29
A5	9.22	15.01	19.85	31.19
A6	9.88	14.36	14.56	30.87
B1	27.63	33.60	38.75	84.07
B2	29.26	33.52	30.15	62.49
B3	16.85	28.14	27.36	56.24
C1	13.91	23.67	24.57	73.02
D1	33.05	32.79	46.08	66.02

2.2 玻璃瓶中铝、硼、硅元素提取量的测定

考虑到 **1** 的 pH 值为 6.4 ～ 7.4，参照《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》[7]，选用 3%枸橼酸钠溶液（pH 8.0，提取条件：80 ℃，24 h）和 0.9%氯化钾溶液（pH 8.0，提

取条件：121 ℃，2 h）作为模拟溶剂对 **1** 样品包装用玻璃瓶进行提取研究，并用经验证的电感耦合等离子体发射光谱（ICP-OES）法测定提取液中铝、硼、硅元素的含量，考察可提取元素对铝残留量的影响作用。

2.2.1 仪器工作参数

ICP-OES 射频功率 1.2 kW；等离子气流量 12.0 L/min；辅助气流量 1.0 L/min；雾化气流量 0.7 L/min；分析谱线 396.152 nm（铝元素）、249.772 nm（硼元素）、251.611 nm（硅元素）。

2.2.2 供试品溶液的配制

分别取 11 批 **1** 样品，将瓶中药液倒出，将玻璃瓶用纯化水清洗 3 遍后，再用乙醇清洗 3 遍，随后用纯化水冲洗干净，晾干。每个玻璃瓶中分别加入模拟提取溶剂至满口容量的 90%，分别按条件提取，取出放冷，提取液混匀后按“**2.2.1**”项下方法直接测定。

2.2.3 方法学考察

2.2.3.1 线性试验

分别取铝、硼混合标准溶液 5.0 ml 和硅标准溶液 1.0 ml 置同一 100 ml 量瓶中，用水定容，即得铝、硼、硅质量浓度均为 5.0 μg/ml 的混合标准溶液。精密量取该溶液适量，用水逐步稀释，得质量浓度分别为 0.01、0.02、0.05、0.1、0.5、1.0、2.0 和 5.0 μg/ml 的系列混合标准溶液，按“**2.2.1**”项下条件进样分析，以标准溶液质量浓度（c）为横坐标，其相应元素的响应值（Y）为纵坐标进行线性回归，得铝、硼、硅元素的线性方程（见表 2）。结果表明，铝、硼、硅元素在相应质量浓度范围内线性关系良好，满足测试要求。

2.2.3.2 检测限和定量限

取纯化水，按“**2.2.1**”项下条件直接进样测定 10 次，分别计算铝、硼、硅元素响应值的标准偏差（SD），根据“**2.2.3.1**”项下线性回归方程的斜率，计算得方法的检测限和定量限。结果见表 2，可见测试方法的灵敏度较高，能够满足测试要求。

2.2.3.3 回收率和精密度试验

分别精密量取铝、硼混合标准溶液 4.0 ml 和硅标准溶液 0.8 ml 置同一 100 ml 量瓶中；分别精密量取铝、硼混合标准溶液 1.0 ml 和硅标准溶液 0.2 ml 置同一 100 ml 量瓶中；精密量取“**2.2.3.1**”项下 5.0 μg/ml 的铝、硼、硅混合标准溶液 2.0 ml，置 50 ml 量瓶中；分别用 3%枸橼酸钠溶液（pH 8.0）定容，每个浓度平行制备 3 份，按“**2.2.1**”项下条件分别进样测定。计算得铝元素的平均回收率（n=9）为 85.7%，RSD 为 0.7%；硼元素的平均回收率（n=9）为 85.0%，RSD 为 0.5%；硅元素的平均回收率（n=9）为 85.4%，RSD 为 1.1%。

同法测得 0.9%氯化钾溶液（pH 8.0）中铝元素的平均回收率（n=9）为 94.8%，RSD 为 0.6%；硼元素的平均回收率（n=9）为 93.7%，RSD 为 1.1%；硅元素的平均回收率（n=9）为 94.1%，RSD 为 1.4%。

2.2.4 **1** 包装用玻璃瓶的提取研究结果

用 3%枸橼酸钠溶液（pH 8.0）作为模拟溶剂对 11 批 **1** 样品玻璃瓶进行提取后，铝元素的提取量为 1.3 ～ 1.8 μg/ml，硼元素的提取量为 2.2 ～ 4.0 μg/ml，硅元素的提取量为 22 ～ 35 μg/ml，结果见图 1A。用 0.9%氯化钾溶液（pH 8.0）作为模拟溶剂对 11 批 **1** 样品玻璃瓶进行提取后，铝元素的提取量约为 0.1 μg/ml，硼元素的提取量为 0.2 ～ 0.4 μg/ml，硅元素的提取量为 1.9 ～ 3.2 μg/ml，结果见图 1B。

2.3 结果分析

用 R-Studio 软件将 11 批在加速条件放置 6 个月的 **1** 样品中的铝离子含量分别与提取液中的各元

表 2　线性试验、检测限和定量限结果

Tab.2　Results of Linearity, Limits of Detection and Quantitation

元素	线性范围/μg·ml^{-1}	线性方程	r	检测限/μg·ml^{-1}	定量限/μg·ml^{-1}
铝	0.01～5.0	Y=37 950c+25.48	0.999 9	0.001	0.003
硼	0.01～5.0	Y=8 982c+38.44	0.999 9	0.002	0.006
硅	0.1～5.0	Y=652c+10.03	0.999 9	0.02	0.07

素含量进行 Pearson 相关系数分析：当 $|r|$ 在 0 ～ 0.19 内为极低相关；$|r|$ 在 0.20 ～ 0.39 内为低度相关；$|r|$ 在 0.40 ～ 0.69 内为中度相关；$|r|$ 在 0.70 ～ 0.89 内为高度相关；$|r|$ 在 0.90 ～ 1.00 内为极高相关[2]。分析结果见表 3，**1** 样品中铝离子含量与提取液中各元素含量均有一定的相关性，与硼和硅元素提取量均达到中度相关，其中与硅元素提取量的相关性尤为明显。

3 讨论

本研究结果表明，考察的 11 批 **1** 样品中的铝残留量均未超标，但随着放置时间的延长，铝离子含量有增长趋势，玻璃瓶作为直接接触的包装可能会导致铝离子的含量增加[6]。内表面耐受情况是玻璃包装安全性关注的主要方面，玻璃瓶内表面结构受到破坏后，作为玻璃成分之一的氧化铝，在溶剂等多重因素的作用下，向药品中释放铝离子的可能性也在增加[8]。通过对玻璃瓶进行模拟提取研究，分析提取液中相关元素的浓度增加量可以预测玻璃瓶内表面腐蚀的倾向[7]。在 2 种提取液中的铝、硼、硅元素均有明显增加，特别是在 3% 枸橼酸钠提取液中更为显著，这也直观反映了枸橼酸钠溶液对玻璃瓶的侵蚀作用更强，更能促使玻璃中铝的释放，这也与之前有文献报道枸橼酸钠是造成 **1** 中铝离子含量升高的直接因素的结论一致[8]。

有研究显示，玻璃瓶类型、不同生产工艺、枸橼酸残留及贮存温度与 **1** 中铝离子含量变化有一定的相关性[1]。考虑到本次研究收集的样品生产时间、来源均不一致，为避免其他因素影响的干扰，因此主要选择加速条件下放置 6 个月的 **1** 样品中的铝残留量与玻璃瓶中铝、硼、硅等与玻璃结构相关的配方元素的提取量进行相关性分析。结果显示，这些元素的提取量均与 **1** 中的铝残留量有一定的相关性。就这 3 种可提取元素而言，硅的提取量尤其显著，与铝残留量的相关性也更高。玻璃的主要成分为二

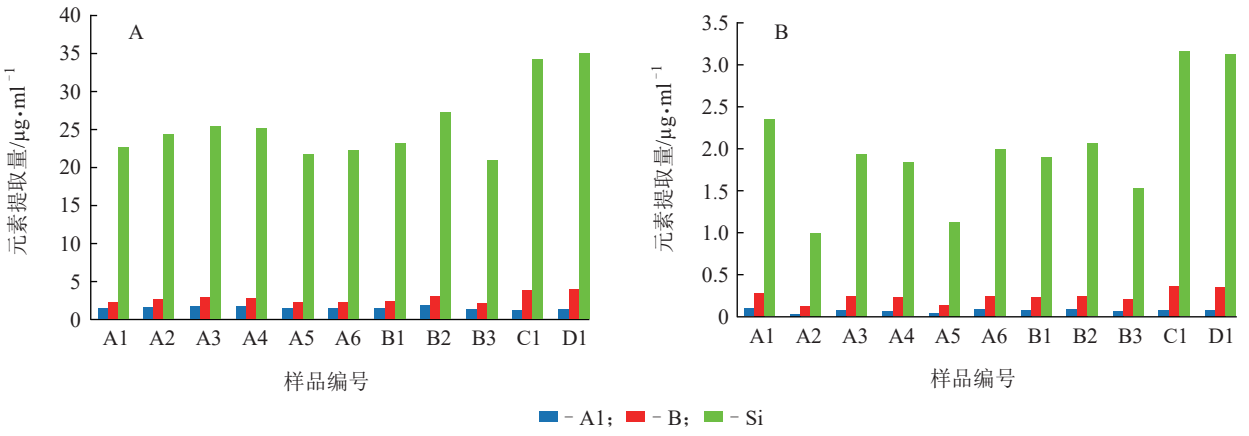


图 1　3% 枸橼酸钠溶液（A）和 0.9% 氯化钾溶液（B）中提取得到的 Al、B、Si 元素含量

Fig.1　Extraction Amounts of Elements Al, B and Si in 3% Sodium Citrate Solution (A) and 0.9% Potassium Chloride Solution (B)

表 3　1 样品中铝离子含量与玻璃瓶中元素提取量的相关性

Tab.3　Correlation between Aluminum Content in **1** Samples and Extraction Amounts of Elements in Glass Containers

铝、硼、硅的提取量	提取介质	$\|r\|$
铝离子含量（加速 6 个月）与玻璃瓶中铝的提取量	0.9% 氯化钾溶液	0.339 7
	3% 枸橼酸钠溶液	0.332 8
铝离子含量（加速 6 个月）与玻璃瓶中硼的提取量	0.9% 氯化钾溶液	0.496 3
	3% 枸橼酸钠溶液	0.478 0
铝离子含量（加速 6 个月）与玻璃瓶中硅的提取量	0.9% 氯化钾溶液	0.505 3
	3% 枸橼酸钠溶液	0.508 6

氧化硅，其骨架是基于硅氧四面体结构形成的不规则连续网络[9]，硅提取量通常最能直观反映结构的变化。而铝元素通常为玻璃结构网络中的中间离子，成分含量有限，其提取量的变化相对不明显，因此就本次研究而言，其与样品中铝残留量的相关性略低。但随着接触时间的延长，玻璃内表面结构逐渐变化，铝作为配方元素浸入到药品中的风险却不容忽视。需要指出的是，本次研究仅选取了上海市生产和销售的部分样品，上述数据分析结果有一定的局限性，另外 **1** 中铝残留量的影响因素来源也较为复杂，还应综合考虑其他因素。但对于生产企业而言，应关注包装用玻璃瓶的质量，必要时应通过玻璃相容性研究、模拟提取测试相关元素等手段来选择合适的玻璃瓶等药包材，切实保证 **1** 产品质量可控。

参考文献：

[1] 郭江红, 谢育媛, 柯兵兵, 等. 人血白蛋白质量评价与研究[J]. 中国药学杂志, 2019, **54**(9): 734-740.

[2] 陈宇堃, 陈倩茹, 邓　锋, 等. 人血白蛋白中铝离子含量稳定性试验结果的探讨[J]. 中国药品标准, 2019, **20**(4): 332-338.

[3] 王敏力, 肖　林, 梁蔚阳, 等. 人血白蛋白批签发留样铝离子含量检验结果讨论与监管思考[J]. 中国药学杂志, 2018, **53**(2): 145-153.

[4] SADLER P J, TUCKER A, VILES J H. Involvement of a lysine residue in the *N*-terminal Ni^{2+} and Cu^{2+} binding site of serum albumins. Comparison with Co^{2+}, Cd^{2+} and Al^{3+} [J]. *Eur J Biochem*, 1994, **220**(1): 193.

[5] ZATTA P, DALLA V, DI N. Binding studies on aluminum (Ⅲ)-albumin interaction [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2003, **417**(1): 59.

[6] 王敏力, 肖　林, 赵　卉, 等. 人血白蛋白中枸橼酸离子测定与铝离子含量影响因素分析[J]. 中国药学杂志, 2018, **53**(5): 379-382.

[7] 原国家食品药品监督管理总局. 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[EB/OL]. [2021-05-03]. https://www. nmpa. gov. cn/xxgk/ggtg/qtggtg/20150728120001551. html.

[8] 程　露, 郑继岱, 曹慧丽, 等. 玻璃瓶装人血白蛋白中铝离子浓度关键影响因素的分析[J]. 中国生物制品学杂志, 2019, **32**(7): 774-776.

[9] 李　烨, 张毅兰. 药用玻璃容器内表面耐受性研究现状[J]. 中国医药工业杂志, 2014, **45**(12): 1186-1191.