

离子色谱-羧甲淀粉钠中氯乙酸的测定

龚婷婷

(安徽皖仪科技股份有限公司, 安徽 合肥 230088)

摘要: 本文使用离子色谱测定羧甲淀粉钠中的氯乙酸, 样品为羧甲淀粉钠, 测试目标物为氯乙酸, 本次测试依据为 2020 版中国药典第四部羧甲淀粉钠中氯乙酸的测定及该方法公示稿相关内容。

关键词: 离子色谱;羧甲淀粉钠;氯乙酸

Determination of chloroacetic acid in sodium carboxymethyl starch by ion chromatography

Abstract: This paper uses ion chromatography to determine chloroacetic acid in sodium carboxymethyl starch. The sample is sodium carboxymethyl starch, and the test target is chloroacetic acid. This test is based on the determination of chloroacetic acid in sodium carboxymethyl starch, Part IV of the Chinese Pharmacopoeia 2020, and the relevant contents of the publicity draft of this method.

Keywords: Ion chromatography; Sodium carboxymethyl starch; Chloroacetic acid

1 前处理

1.1 试剂配制

1.1.1 氯乙酸标准品使用液 ($\rho = 40\text{mg/L}$)。

1.1.2 系统适用性溶液 (氯乙酸 2 mg/L , 氯离子 2 mg/L)。

1.1.3 淋洗液配置: 10mmol/L KOH 和 20mmol/L KOH 。

1.2 样品前处理

取本品约 0.5g , 精密称定, 置 50ml 离心管中, 加水适量, 振摇约 1 分钟, 10000r/min 离心 10min , 将上清液定量转移至 25ml 容量瓶中, 残渣再用水同法提取两次, 合并上清液至同一 25ml 容量瓶中, 用纯水稀释至刻度, 摇匀, 过滤膜, 取滤液作为供试品溶液。

2 仪器设备

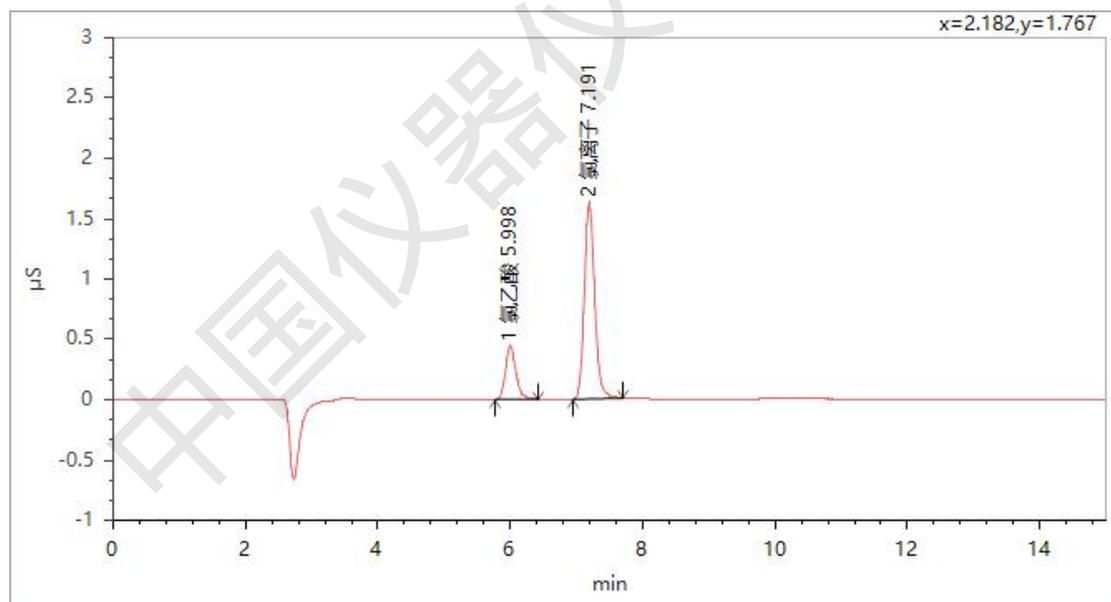
- 2.1 离子色谱仪（配有抑制型电导检测器）：IC6200；
- 2.2 淋洗液发生器：EG6100（OH-型）；
- 2.3 自动进样器：AS3100；
- 2.4 超声波清洗器；
- 2.5 离心机；
- 2.6 电子天平；

3 测试过程及结果分析

3.1 样品测试结果数据：

编号	称样量(g)	定容体积(mL)	测定浓(mg/L)	含量(%)	平均值(%)	限值(%)
样品-1	0.5035	25	20.8	0.103	0.103	0.2
样品-2	0.5070		20.8	0.103		
样品-3	0.5070		20.6	0.102		

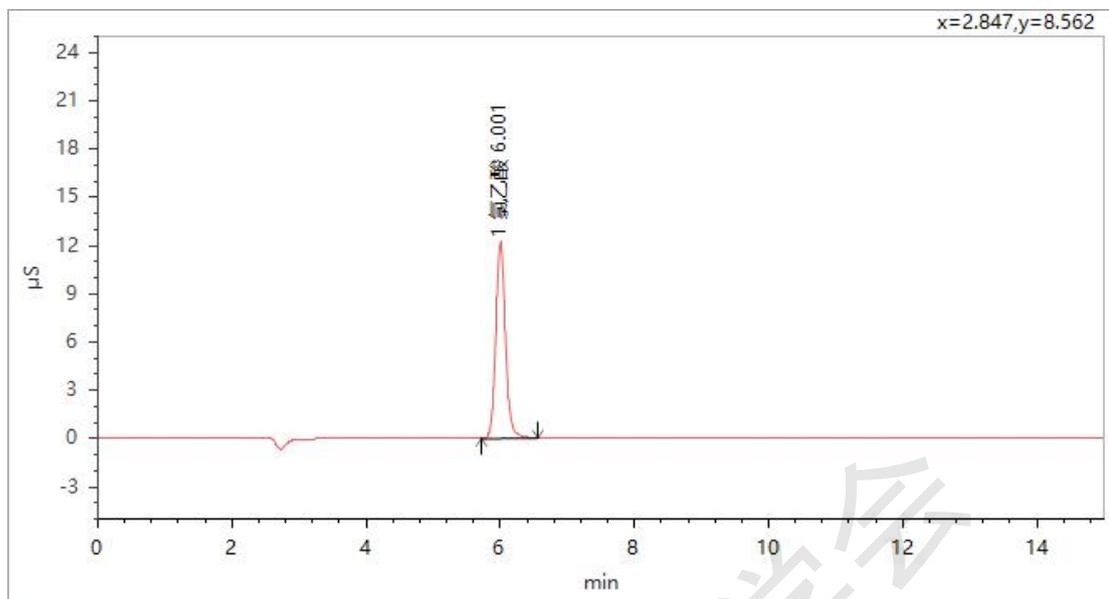
3.2 测试图谱



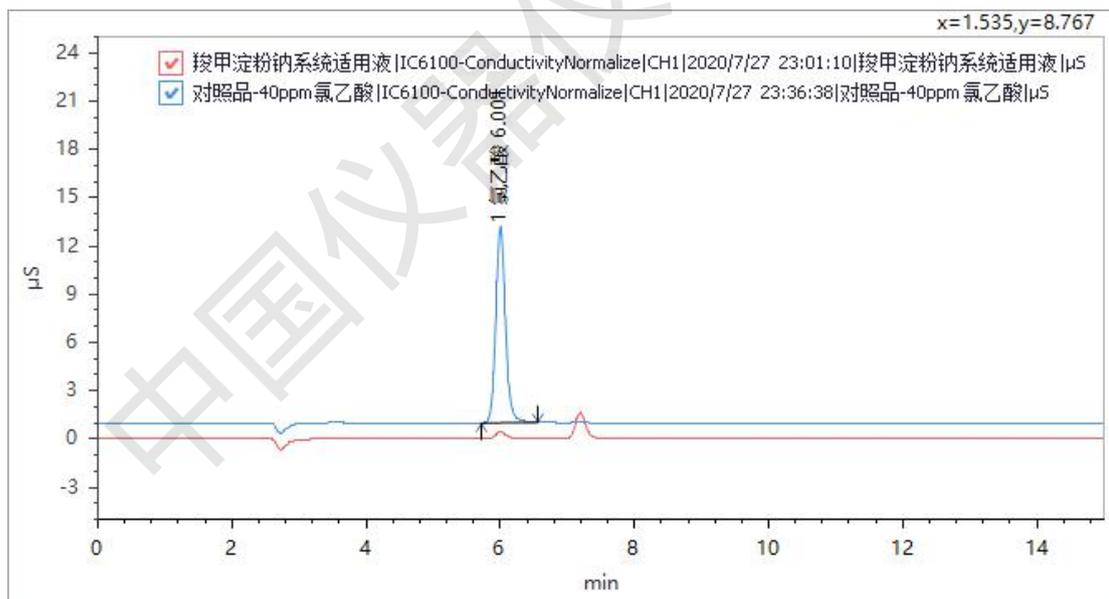
系统适用性测试谱图（氯乙酸 2mg/L，氯离子 2mg/L）

化合物名	保留时间	峰面积	峰高	峰宽	半峰宽	对称度	分离度	拖尾因子	信噪比
氯乙酸	5.995	4.764	0.444	0.278	0.164	0.818	4.28	1.153	266.497
氯离子	7.185	17.66	1.633	0.277	0.163	0.816	--	1.166	981.285

说明：氯乙酸和氯离子分离度为 4.28，满足分离度 (>1.5) 要求。

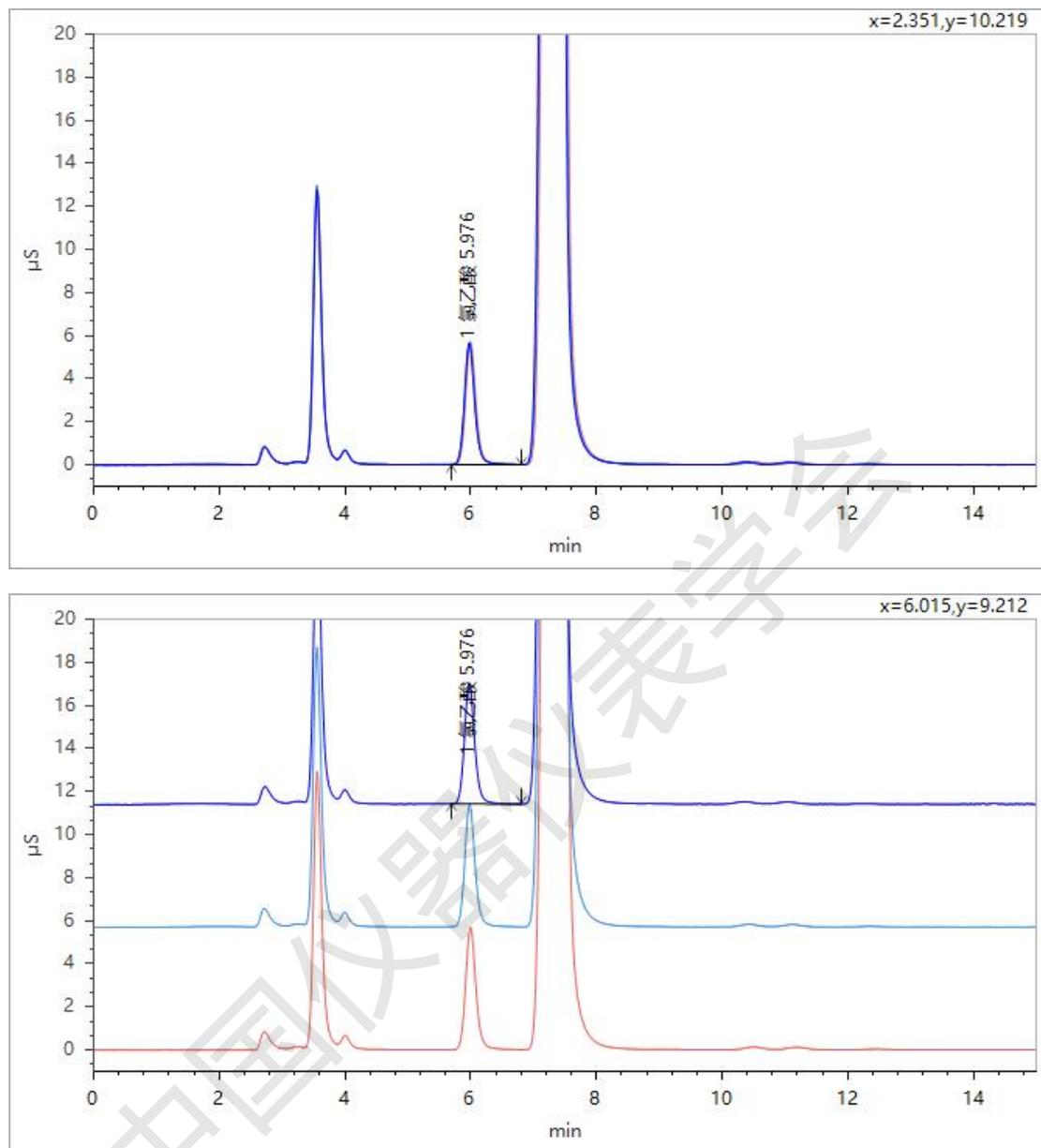


对照品测试谱图（氯乙酸 40mg/L）



系统适用性与对照品重叠图

样品-1, 样品-2, 样品-3 重叠谱图:



供试品测试谱图

4 讨论

4.1 说明: 羧甲淀粉钠中氯乙酸的测定在 2020 版中国药典定稿中淋洗液条件为 10mmol/L KOH, 而关于羧甲淀粉钠中氯乙酸测定公示稿中, 推荐淋洗液浓度为 20mmol/L KOH, 因此, 本次实验分别采用 10mmol/L KOH 淋洗液和 20mmol/L KOH 淋洗液测试, 对比结果。

<p style="text-align: right;">2019 年 7 月</p> <p>天内使用) 20ml, 密塞, 摇匀, 置水浴中加热 20 分钟, 冷却。供试品溶液与对照溶液比较, 不得更深。必要时, 取上述两种溶液, 照紫外-可见分光光度法(通则 0401), 10 分钟内, 在 540nm 波长处测定吸光度, 计算, 含乙醇酸钠不得超过 2.0%。</p> <p>氯乙酸 取本品约 0.5g, 精密称定, 置 50ml 离心管中, 加水适量, 振摇约 1 分钟, 离心, 将上清液定量转移至 25ml 量瓶中, 残渣再用水同法提取两次, 合并上清液至同一 25ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 取氯乙酸对照品约 50mg, 精密称定, 置 50ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 精密量取适量, 用水稀释制成每 1ml 中含氯乙酸 40μg 的溶液, 作为对照品溶液。取氯乙酸和氯化钠适量, 用水溶解并稀释制成每 1ml 中含各含 2μg 的混合溶液, 作为系统适用性溶液。照离子色谱法(通则 0513) 试验, 以阴离子交换色谱柱(Dionex AS11-HC 或效能相当的色谱柱), 柱温 30$^{\circ}$C; 淋洗液为 20mmol/L 氢氧化钾溶液, 流速为每分钟 1.0ml; 抑制型电导检测器, 检测池温度为 35$^{\circ}$C。精密量取系统适用性溶液 25μl, 注入离子色谱仪, 记录色谱图。氯乙酸峰与氯离子峰的分离度应符合要求, 精密量取供试品溶液与对照品溶液各 25μl, 分别注入离子色谱仪, 按外标法以峰面积计算, 含氯乙酸不得超过 0.2%。</p>	<p>氯乙酸 取本品约 0.5g, 精密称定, 置 50ml 离心管中, 加水适量, 振摇约 1 分钟, 离心, 将上清液定量转移至 25ml 量瓶中, 残渣再用水同法提取两次, 合并上清液至同一 25ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 取续滤液作为供试品溶液; 取氯乙酸对照品约 50mg, 精密称定, 置 50ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 精密量取适量, 用水稀释制成每 1ml 中含氯乙酸 40μg 的溶液, 作为对照品溶液。取氯乙酸和氯化钠适量, 用水溶解并稀释制成每 1ml 中含各含 2μg 的混合溶液, 作为系统适用性溶液。照离子色谱法(通则 0513) 试验, 以烷醇季铵为功能基的乙基乙烯基苯-二乙烯基苯聚合物树脂作为填料的阴离子交换色谱柱(或效能相当的色谱柱); 柱温 30$^{\circ}$C; 淋洗液为 10mmol/L 氢氧化钾溶液, 流速为每分钟 1.0ml; 抑制型电导检测器, 检测池温度为 35$^{\circ}$C。精密量取系统适用性溶液 25μl, 注入离子色谱仪, 记录色谱图, 氯乙酸峰与氯离子峰的分离度应符合要求。</p> <p style="text-align: center;">• 792 •</p>
--	--

羧甲淀粉钠氯乙酸测定公示稿

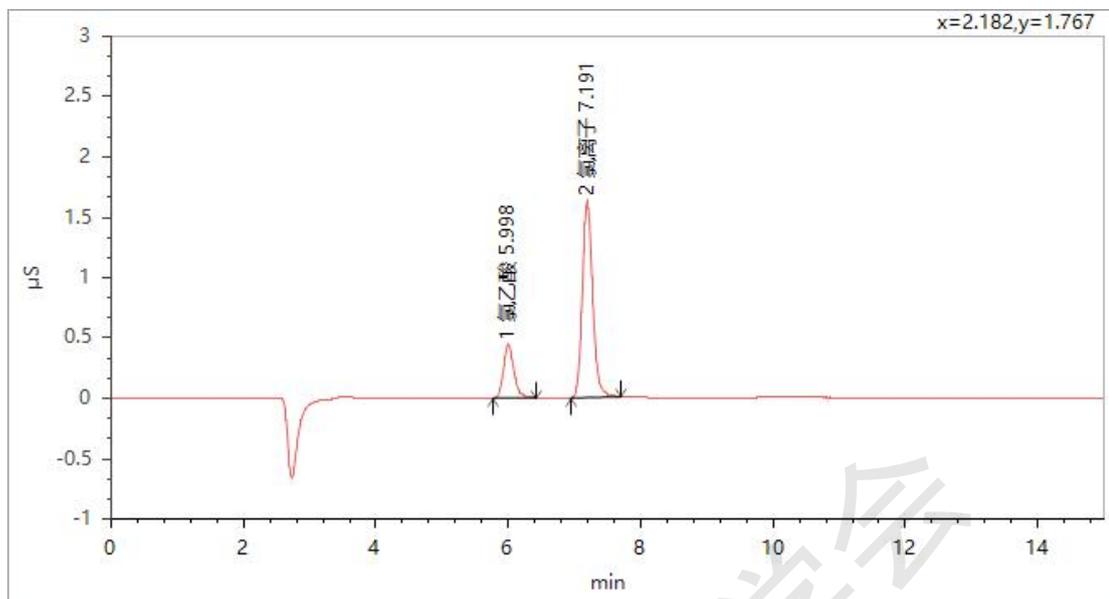
2020 版中国药典第四部第 792 页

4.2 KOH (10mmol/L) 等度测试

4.2.1 色谱条件

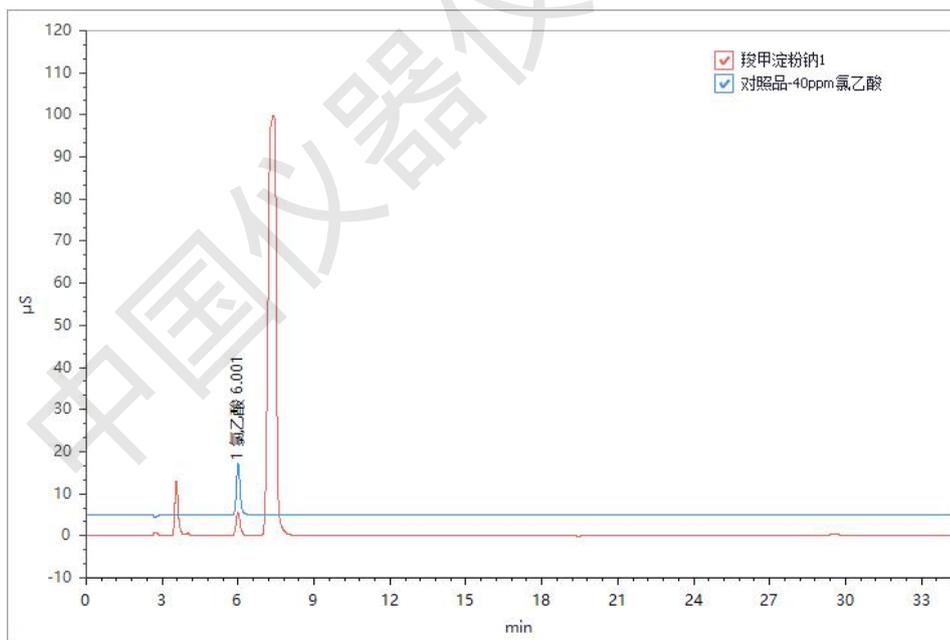
色谱柱	Dionex AS11-HC 4 \times 250mm		
淋洗液	10mM KOH		
流速	1.0mL/min		
柱温	30 $^{\circ}$ C	池温	35 $^{\circ}$ C
电流	35mA	进样量	25 μ l

4.2.2 测试谱图及结果



系统适用性谱图

分析：该色谱条件下氯乙酸的保留时间为 5.995min，氯乙酸和氯离子分离度为 4.28。



供试品测试谱图

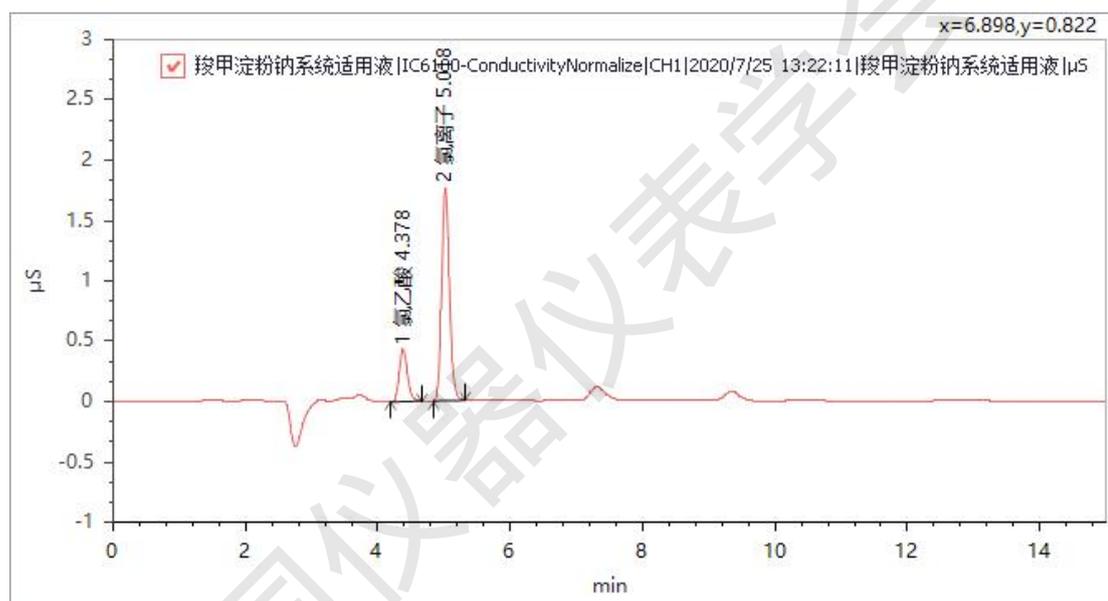
分析：该色谱条件下，样品目标物分析不受干扰。

4.3 KOH (20mmol/L) 等度测试

4.3.1 色谱条件:

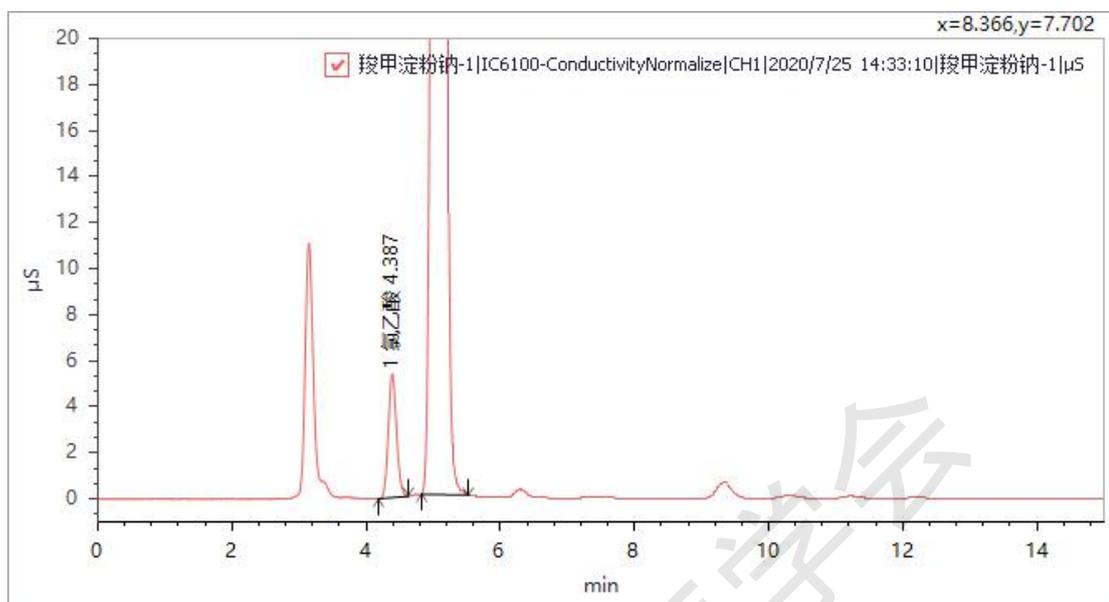
色谱柱	Dionex AS11-HC 4×250mm		
淋洗液	20mM KOH		
流速	1.0mL/min		
柱温	30°C	池温	35°C
电流	70mA	进样量	25μl

4.3.2 测试图谱及结果



系统适用性谱图

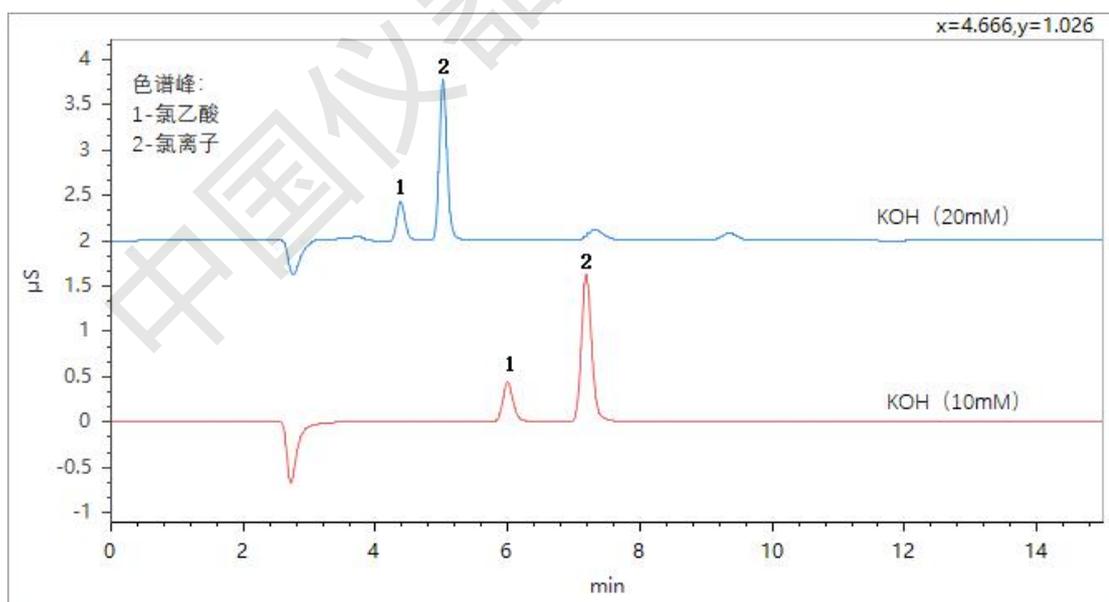
分析：该色谱条件下氯乙酸的保留时间为 4.378min，氯乙酸和氯离子分离度为 2.944。



供试品测试谱图

分析：该色谱条件下，样品目标物分析不受干扰。

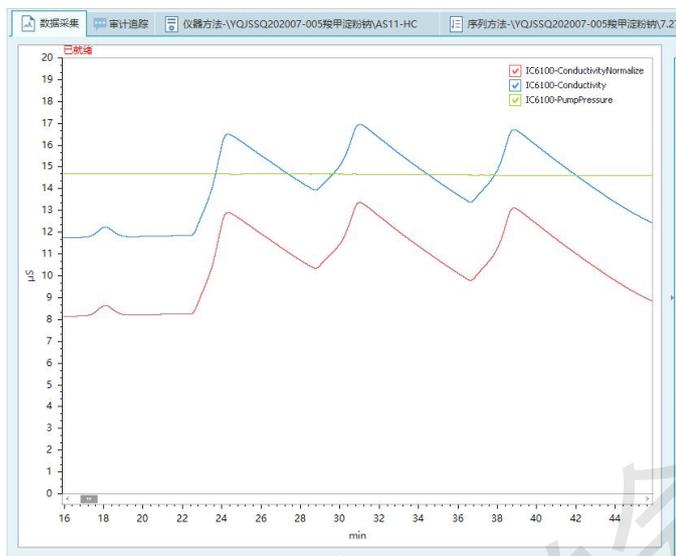
注：对比 KOH（10mmol/L）与 KOH（20mmol/L）淋洗液测试结果



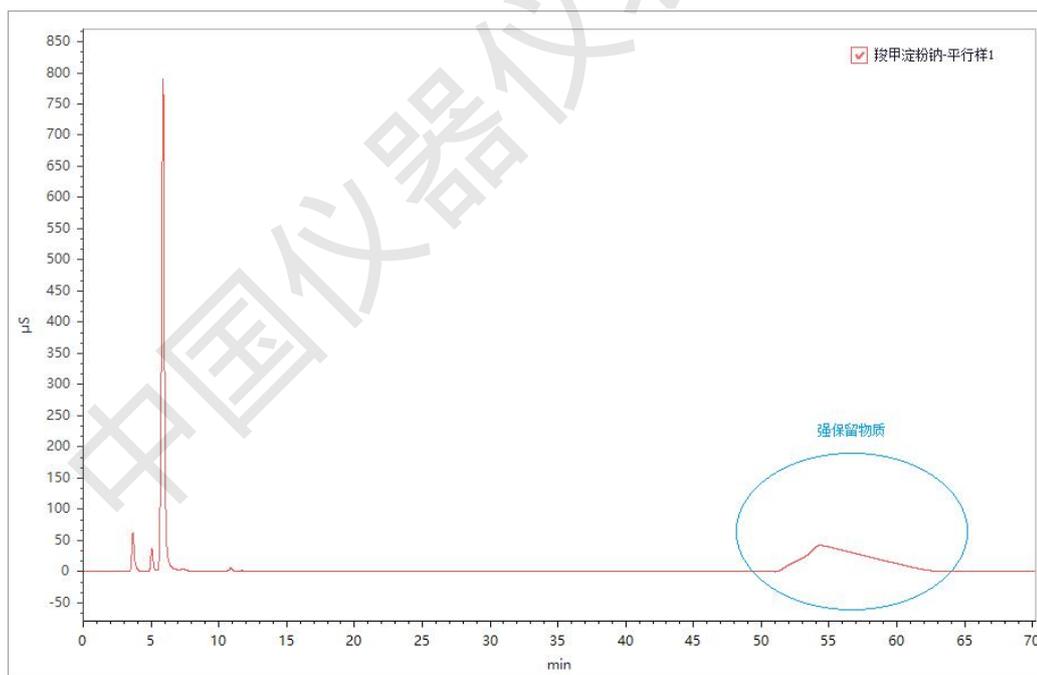
系统适用性对比图

分析：淋洗液浓度由 10mmol/L KOH 改为 20mmol/L KOH 时，氯乙酸保留时间缩短，氯乙酸与氯离子分离度均满足标准要求（分离度 >1.5 ）。

但在淋洗液由 10mmol/L KOH 改为 20mmol/L KOH，仪器基线发现出峰如下：



由图推测，样品中可能含有强保留物质，在 10mmol/L KOH 淋洗液条件下，强保留物质未被洗脱，残存在色谱柱上，在淋洗液浓度升高后，强保留物质被洗脱，因此在 20mmol/L KOH 淋洗液条件下对样品进行测定，观察洗脱情况，谱图如下：



在该条件下时间为 50min~65min 出现强保留物质，且经过多次测定，均出现该情况，由此可确定样品中含有强保留物质，且在 KOH (10mmol/L) 时未被洗脱，残留在色谱柱上，在 KOH (20mmol/L) 时可被洗脱，且被洗脱时间较长。因此，在遵守药典规定淋洗液条件的前提下，本着保护色谱柱、减少分析时间、方便快速的原则，进行梯度尝试。

4.4 梯度条件测试（配有淋洗液发生器）

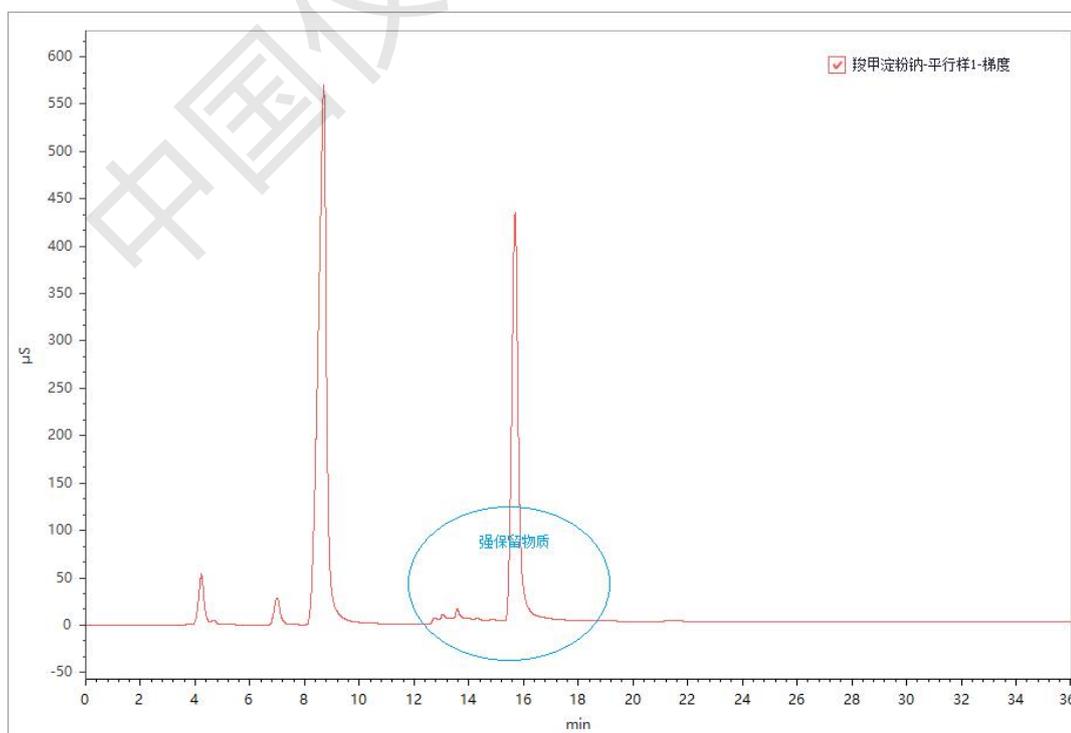
4.4.1 色谱条件:

色谱柱	Dionex AS11-HC 4×250mm		
淋洗液	KOH 梯度淋洗		
流速	1.0mL/min		
柱温	30°C	池温	35°C
电流	150mA	进样量	25μl

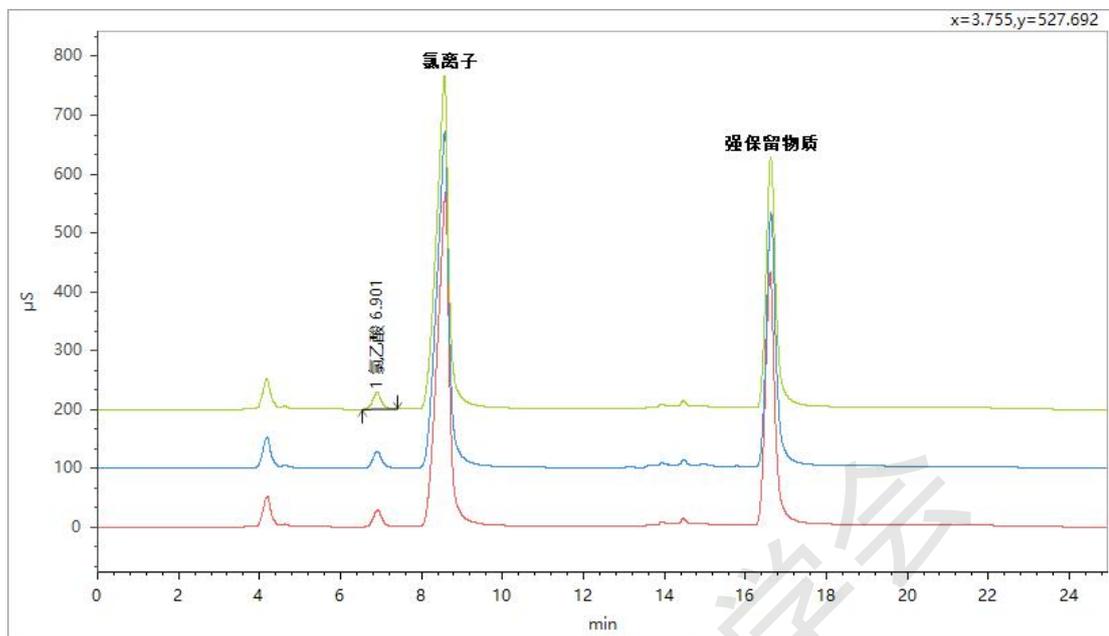
梯度表:

KOH 梯度淋洗程序表			
序号	时间 (min)	线性类型	浓度 (mmol/L)
1	0	线性	10.0
2	10	线性	10.0
3	10.1	线性	50.0
4	18	线性	50.0
5	20	线性	10.0
6	25	线性	10.0

4.4.2 供试品测试图谱



分析：该色谱条件下强保留位置在 16min 处被洗脱，且多次试验现象重现。



综上，该样品中含有强保留物质，淋洗液发生器梯度淋洗满足测定要求。因此，综合考虑，为保证色谱柱使用寿命，本着操作便捷、减少分析时间、保证分析灵敏度等原则，首选推荐氢氧根淋洗液发生器梯度淋洗的方式测试该样品。

5.推荐配置

5.1 (★重点推荐) 推荐配置 1--氢氧根淋洗液发生器梯度淋洗

仪器配置		色谱条件			
离子色谱仪	IC6200	淋洗液	KOH 梯度淋洗	进样量	25 μ L
淋洗液发生器	EG6100	流速	1.0mL/min	抑制电流	35mA
自动进样器	AS3100	柱温	30 $^{\circ}$ C	池温	35 $^{\circ}$ C
色谱柱	IonPac AS11-HC 4 \times 250mm	/	/	/	/

梯度表

KOH 梯度淋洗程序表			
序号	时间 (min)	线性类型	浓度 (mmol/L)
1	0	线性	10.0
2	10	线性	10.0
3	10.1	线性	50.0
4	18	线性	50.0
5	20	线性	10.0
6	25	线性	10.0

5.2 推荐配置 2--等度条件

仪器配置		色谱条件			
离子色谱仪	IC6200	淋洗液	10mM KOH	进样量	25 μ l
自动进样器	AS3100	流速	1.0mL/min	抑制电流	35mA
色谱柱	IonPac AS11-HC 4 \times 250mm	柱温	30 $^{\circ}$ C	池温	35 $^{\circ}$ C

说明:

该配置条件下存在几个弊端，需特别关注

(1) 淋洗液配置使用高纯度 KOH: KOH 淋洗液需人工配制，KOH 试剂要使用电子级或以上级别试剂，且建议现配现用。

(2) 基线偏高: 人工配制 KOH 基线会远远高于淋洗液发生器产生的同浓度 KOH，影响灵敏度。

(3) 杂质干扰: 人工配制 KOH 试剂中存在杂质干扰。

(4) 等度条件下测试时，样品采用 10mM KOH 分析结束后，强保留物质残存于色谱柱中，在样品测定结束后需用高浓度 KOH（建议 30mM~50mM KOH）冲洗色谱柱，否则强保留物质残存色谱柱将对色谱柱造成损坏。

综合等度和梯度测试结果，优先推荐使用淋洗液发生器梯度条件测试。