

离子色谱法

离子色谱法系采用高压输液泵系统将规定的洗脱液泵入装有填充剂的色谱柱进行分离测定的色谱分析方法。注入的供试品由洗脱液带入色谱柱内进行分离后，经过抑制器或衍生系统进入检测器，由记录仪、积分仪或数据处理系统记录色谱信号。离子色谱法常用于无机阴离子、无机阳离子、有机酸、糖醇类、氨基糖类、氨基酸、蛋白质、糖蛋白等物质的定性和定量分析。它的分离机理主要为离子交换，即基于离子交换树脂上可解离的离子与流动相中具有相同电荷的溶质离子之间进行的可逆交换；离子色谱的其他分离机理还有离子对色谱、离子排阻色谱等。

1. 对仪器的一般要求

离子色谱仪器中所有与洗脱液或供试品接触的管道、器件均应使用惰性材料，如聚醚醚酮(PEEK)等。仪器应定期检定并符合有关规定。

(1) 色谱柱 离子交换色谱的色谱柱填充剂有两种，分别是有机聚合物载体填充剂和无机载体填充剂。

有机聚合物载体填充剂最为常用，填充剂的载体一般为苯乙烯-二乙烯基苯共聚物、乙基乙烯基苯-二乙烯基苯共聚物、聚甲基丙烯酸酯或聚乙烯聚合物等有机聚合物。这类载体的表面通过离子键附聚了大量具有阴离子交换功能基(如烷基季铵基、烷醇季铵基等)或阳离子交换功能基(如磺酸、羧酸、羧酸-磷酸和羧酸-磷酸冠醚等)的乳胶微粒，可分别用于阴离子或阳离子的交换分离。有机聚合物载体填充剂在较宽的酸碱范围($\text{pH}=0\sim 14$)内可有较高的稳定性，且有一定的耐有机溶剂腐蚀性。

无机载体填充剂一般以硅胶为载体。在硅胶表面的硅醇基通过化学键合季铵基等阴离子交换功能基或磺酸基、羧酸基等阳离子交换功能基，可分别用于阴离子或阳离子的交换分离。硅胶载体填充剂机械稳定性好、在有机溶剂中不会溶胀或收缩。硅胶载体填充剂在 $\text{pH}2\sim 8$ 的洗脱液中稳定，一般适用于阳离子样品的分离。

(2) 洗脱液 离子色谱对复杂样品的分离主要依赖于色谱柱的填充剂，而洗脱液相对较为简单。分离阴离子常采用稀碱溶液、碳酸盐缓冲液等作为洗脱液；

分离阳离子常采用稀甲烷磺酸溶液等作为洗脱液。通过增加或减少洗脱液中酸碱溶液的浓度可提高或降低洗脱液的洗脱能力；在洗脱液内加入适当比例的有机改性剂，如甲醇、乙腈等可改善色谱峰峰形。制备洗脱液的去离子水应经过纯化处理，电阻率一般大于 $18.2\text{M}\Omega$ 。使用的洗脱液需经脱气处理，常采用氦气在线脱气的方法，也可采用超声、减压过滤或冷冻的方式进行离线脱气。

(3) 检测器 电导检测器是离子色谱常用的检测器，其他检测器有紫外检测器、安培检测器、蒸发光散射检测器等。

电导检测器主要用于测定无机阴离子、无机阳离子和部分极性有机物，如羧酸等。离子色谱法中常采用抑制型电导检测器，即使用抑制器将具有较高电导率的洗脱液在进入检测器之前中和成具有极低电导率的水或其他较低电导率的溶液，从而显著提高电导检测的灵敏度。

安培检测器也用于分析解离度低、用电导检测器难于检测的离子。直流安培检测器可以测定碘离子(I^-)、硫氰酸根离子(SCN^-)和各种酚类化合物等。积分安培和脉冲安培检测器则常用于测定糖类和氨基酸类化合物。

紫外检测器适用于在高浓度氯离子等存在下痕量的溴离子(Br^-)、亚硝酸根离子(NO_2^-)、硝酸根离子(NO_3^-)以及其它具有强紫外吸收成分的测定。柱后衍生-紫外检测法常用于分离分析过渡金属离子和镧系金属等。

蒸发光散射检测器、原子吸收、原子发射光谱、电感耦合等离子体原子发射光谱、质谱（包括电感耦合等离子体质谱）也可作为离子色谱的检测器。离子色谱在与蒸发光散射检测器或/和质谱检测器等联用时，一般采用带有抑制器的离子色谱系统。

2. 样品处理

离子色谱的色谱柱填充剂大多数不兼容有机溶剂，一旦污染后不能用有机溶剂清洗，所以离子色谱法对样品处理的要求较高。对于澄清的，基质简单的水溶液一般通过稀释和 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜过滤后直接进样分析。对于基质复杂的样品，可通过微波消解、紫外光降解，固相萃取等方法去除干扰物后进样分析。

3. 系统适用性试验

参照“高效液相色谱法”项下相应的规定。

4. 测定法

- (1) 内标法加校正因子测定供试品中的主成分含量
- (2) 外标法测定供试品中某杂质或主成分含量
- (3) 面积归一化法

上述(1)~(3)法的具体内容均同“高效液相色谱法”(附录 V D)项下相应的规定。

(4) 标准曲线法

按各品种项下的规定,精密称(量)取对照品适量配制成储备溶液。分别量取储备溶液配制成一系列不同浓度的对照品溶液。量取一定量上述一系列不同浓度的对照品溶液注入仪器,记录色谱图,测量对照品溶液中待测组分的峰面积或峰高。以对照品溶液的峰面积或峰高为纵坐标,以相应的浓度为横坐标,回归计算标准曲线,其公式为:

$$A_R = a \cdot C_R + b$$

式中:

A_R 为对照品溶液的峰面积或峰高

C_R 为对照品溶液的浓度

a 为标准曲线的斜率

b 为标准曲线的截距

再取各品种项下供试品溶液,注入色谱仪,记录色谱图,测量供试品溶液中待测成分(或其杂质)的峰面积或峰高。按下式计算其浓度:

$$C_S = \frac{A_S - b}{a}$$

A_S 为供试品溶液的峰面积或峰高

C_S 为供试品溶液的浓度

a 、 b 符号的意义同上

因为离子色谱在药学方面的主要应用是药物的含量测定和有关物质检查,所以常用的测定法是外标法和标准曲线法。