

0513 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离子色谱交换固定性填充剂的色谱柱对可解离物质进行分离测定的色谱方法。在洗脱液的驱动下，注入的供试品由洗脱液带入经色谱柱内进行分离后，进入检测器（必要时经过抑制器或衍生系统），由积分仪或数据处理系统记录并处理色谱信号。为提高检测的灵敏度，可在进入检测器前，经过抑制器或衍生系统。

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，即基于在离子交换色谱固定相上的离子与流动相洗脱液中具有相同电荷的溶质离子之间进行的可逆交换；离子色谱法的其他分离机理还有形成离子对、离子排斥阻等。

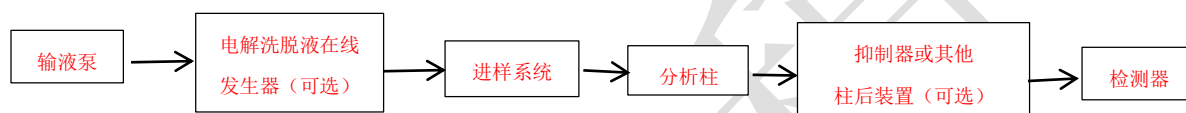


图 离子色谱仪主要组成

一、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、器件均应使用聚醚醚酮(PEEK)等惰性材料，如聚醚醚酮(PEEK)等。也可使用一般的高效液相色谱仪，只要其部件能与洗脱液和供试品溶液相适应。仪器应建立SOP进行日常维护，定期进行仪器确证检定并符合有关规定。

1. 色谱柱 离子交换色谱法所用的色谱柱固定性填充剂有两种，分别是可分为有机聚合物载体填充剂和无机载体填充剂两类。离子色谱对复杂样品的分离主要依赖于色谱柱中的固定性。

有机聚合物载体固定性填充剂最为常用，其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醇聚合物等有机聚合物。这类载体的表面通过化学反应键合了烷基季铵、烷醇季铵等大基团阴离子交换功能基（如烷基季铵、烷醇季铵等）或磺酸、羧酸、羧酸-膦酸和羧酸-膦酸冠醚等阳离子交换功能基（如磺酸、羧酸、羧酸-膦酸和羧酸-膦酸冠醚等），可分别用于阴离子或阳离子的交换分离。有机聚合物载体固定性填充剂在较宽的酸碱范围（pH 0~14）内具有较高的稳定性，且有一定的有机溶剂耐受性。

无机载体固定相填充剂一般主要以硅胶为载体。在硅胶表面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。硅胶载体固定相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pH2~8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中的填充剂，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酸稀甲烷磺酸溶液等作为洗脱液。通过调节洗脱液pH值或离子强度可提高或降低洗脱液对待测组分的洗脱能力；为改善色谱峰峰形及提高洗脱液的洗脱能力，可在洗脱液内加入不超过20%的甲醇、乙腈等适当比例的有机改性剂，如甲醇、乙腈等可改善色谱峰峰形。但应关注有机溶剂的加入会降低洗脱液的极性与介电常数，可能导致电导检测灵敏度降低。制备洗脱液的水应经过纯化处理，电阻率大于等于18M Ω ·cm。使用的洗脱液需经脱气处理。常采用在线脱气方法，如配合氮气等惰性气体保护、脱气及超声、减压过滤、冷冻的方式进行离线脱气，效果会更好。常采用氮气等惰性气体在线脱气的方法，也可采用超声、减压过滤或冷冻的方式进行离线脱气。离线脱气时应注意避免洗脱液污染。当使用如氢氧化钾等强碱性溶液作为洗脱液时，洗脱液容易吸收空气中的CO₂易导致基线不稳或重现性差等问题。电解洗脱液在线发生器可在线、自动生成洗脱液，有效避免洗脱液污染，提高方法的重现性。

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

电导检测器 主要利用离子化合物溶液具有导电性，且其电导率与离子的性质和浓度具有相关性而进行检测，用于测定大多数无机阴离子、无机阳离子和部分极性有机物（如有机胺、羧酸等），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，从而显著降低背景噪音，提高电导检测的灵敏度。

安培检测器 包括工作电极、对电极和参比电极，是利用电活性物质在工作电极表面发生氧化或还原反应，测量反应时产生电流变化的检测技术。其主要优点是灵敏度高、选择性好、响应范围宽，可以用于电导率响应不灵敏或者紫外响应较弱的有机物和无机物的检测，主要包括直流安培检测、积分安培检测和脉冲安培检测三种模式。用于分析解离度低、但具有氧化或还原性质的化合物。

直流安培检测器是在电极间施加稳定的电压使待测成分在电极表面发生氧化或还原反应产生电流信号，可用于测定碘离子(I⁻)、硫氰酸根离子(SCN⁻)、氰根离子(CN⁻)和各种酚类化合物等。积分安培检测和脉冲安培检测是在工作电极上施加一个周期性变化的电压，在检测电压下待测成分发生电化学反应产生电流信号，而后续变化的电压用于电极表面的清洁，避免钝化，可用于糖类、氨基酸类、硫醇类等易污染工作电极表面，导致信号不稳定和响应降低的化合物的检测。

通过施加电压可有效清洁工作电极表面，但当背景电流增大且灵敏度降低时，打磨工作电极并擦拭对电极，以去除沉积物。清洁电极时，应避免产生凹坑或划痕。清洁完毕待安培池稳定后，再启动检测器。

在碱性条件下(pH ≥12)，安培检测器对氨基糖苷类等待测化合物的响应较好。可通过在柱后加入氢氧化钠溶液，使洗脱液的碱性达到要求。洗脱液和柱后注入的氢氧化钠溶液在与安培检测器连接的管线中混合，应综合考虑使溶液混合均匀和管线引起的峰展宽，确定管线的长度。为避免基线干扰，氢氧化钠溶液使用前应脱气，其与洗脱液混合后要稳定、恒速地注入安培检测器。积分安培检测器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^-)以及其他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离子等。

质谱检测器 通常用于未知离子的定性及低浓度离子的定量检测。在离子色谱与质谱检测器联用时,一般使用抑制器对洗脱液进行脱盐处理,并使用电导检测器对脱盐效果进行监测。必要时,在洗脱液注入质谱前,可使用三通连接头加入有机溶剂,提高质谱响应。

其他 原子吸收光谱、原子发射光谱(包括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。~~

二、样品处理

通过多种前处理技术可减少和去除对色谱系统有污染的物质、降低基体浓度、浓缩和富集待测成分,使样品符合离子色谱进样要求。

对于基质简单的澄清水溶液一般通过稀释和经适宜孔径的($\leq 0.45\mu\text{m}$)滤膜过滤后直接进样分析。对于基质复杂的样品,可通过~~阀切换在线基体消除~~、微波消解、紫外光降解、固相萃取、~~燃烧法~~等方法去除干扰物后进样分析。

三、系统适用性试验

照高效液相色谱法(附录0512)项下相应的规定。

四、测定法

- (1) 内标法
- (2) 外标法
- (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0512)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贮备溶液。分别量取贮备溶液配制成一系列梯度浓度的标准溶液。量取上述梯度浓度的对照品溶液各适量注入色谱仪,记录色谱图,测量标准溶液中待测组分的峰面积或峰高。以标准溶液的峰面积或峰高为纵坐标,以标准溶液的浓度为横坐标,回归计算标准曲线,其公式为:~~

$$\text{AR} = a \times cR + b$$

~~式中 AR 为标准溶液中待测组分的峰面积或峰高;~~

~~cR 为标准溶液的浓度;~~

~~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适量,注入色谱仪,记录色谱图,测量供试品溶液中待测组分的峰面积或峰高。按下式计算其浓度:~~

$$c_s = \frac{A_s - b}{a}$$

~~式中—— A_S 为供试品溶液中待测组分的峰面积或峰高；~~

~~—— c_s 为供试品溶液的浓度；~~

~~—— a 、 b 符号的意义同上。~~

上述测定法中，的具体内容均同高效液相色谱法（附录0512）项下相应的规定。~~以外标法和标准曲线法最为常用。~~

国家药典