

附件：0513 离子色谱法草案公示稿（第一次）

0513 离子色谱法

1 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交换色谱固定相填
2 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
3 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），
4 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，
5 经过抑制器或衍生系统。

6 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、
7 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
8 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
9 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。

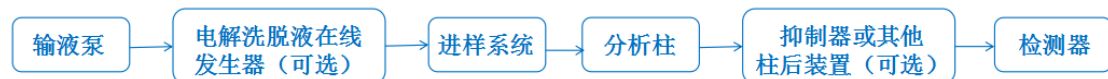


图 离子色谱仪主要组成

1.对仪器的一般要求

14 离子色谱仪的主要组成如图所示。离子色谱仪器中所有与洗脱液或供试品接触的管道、
15 器件均应使用聚醚醚酮（PEEK）等惰性材料，如聚醚醚酮（PEEK）等。当仪器部件与洗
16 脱液和供试品溶液具有良好相容性时，也可使用一般的普通高效液相色谱仪。只要其部
17 件能与洗脱液和供试品溶液相适应。仪器应定期进行仪器确证检定并符合有关规定。

18 （1）色谱柱 离子交换色谱法所用的色谱柱固定相填充剂有两种，分别是可分为有机
19 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
20 中的固定相。

21 有机聚合物载体固定相填充剂最为常用，其填充剂的载体一般为苯乙烯-二乙烯基苯共
22 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。
23 这类载体的表面通过化学反应键合了化学键合了烷基季铵、烷醇季铵等大阴离子交换功
24 能基（如烷基季铵、烷醇季铵等）或磺酸、羧酸、羧酸-磷酸和羧酸-磷酸冠醚等阳离子交换
25 功能基（如磺酸、羧酸、羧酸-磷酸和羧酸-磷酸冠醚等），可分别用于阴离子或阳离子的交
26 换分离。有机聚合物载体固定相填充剂在较宽的酸碱范围（pH0~14）内具有较高的稳定性，
27 且有一定的有机溶剂耐受性。

28 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

29 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
30 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
31 剂在 pH2-8 的洗脱液中稳定，一般适用于阳离子样品的分离。

32 (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
33 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
34 用稀酸溶液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
35 降低洗脱液对待测成分的洗脱能力；为改善色谱峰峰形及提高洗脱液的洗脱能力，可在洗
36 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
37 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
38 灵敏度降低。制备洗脱液的水应经过纯化处理，电阻率大于不小于 $18\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。使用的洗脱
39 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
40 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，
41 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。
42 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 CO_2 易导致基线
43 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
44 液污染，提高方法的重现性。

45 (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
46 检测器，。其他还有安培检测器、紫外检测器、蒸发光散射检测器等。

47 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
48 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（如 NH_4^+ 、 K^+ 、 Na^+ 等）
49 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
50 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
51 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。

52 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
53 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
54 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
55 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、
56 但具有氧化或还原性质的化合物。

57 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
58 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^-)
59 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
红色字体为删除内容，蓝色字体为增订内容

60 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
61 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
62 信号不稳定和响应降低的化合物的检测。

63 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，需机械
64 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
65 完毕待安培池稳定后，再启动检测器。

66 在碱性条件下 ($\text{pH} \geq 12$)，安培检测器对氨基糖苷类等待测化合物的响应较好。可通
67 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
68 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，
69 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
70 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~~
71 ~~酸类化合物。~~

72 **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
73 (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
74 法常用于分离分析过渡金属离子和镧系金属离子等。

75 **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
76 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
77 行监测。必要时，在洗脱液注入质谱前，可使用三通接头加入有机溶剂，提高质谱响应。

78 **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~~
79 ~~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~~
80 ~~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。~~

81 2. 样品处理

82 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
83 富集待测成分，使样品符合离子色谱进样要求。

84 对于基质简单的澄清水溶液，一般通过稀释并经适宜孔径的 ($\leq 0.45 \mu\text{m}$) 滤膜过滤后
85 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
86 解、固相萃取、**燃烧法**等方法去除干扰物后进样分析。

87 3. 系统适用性试验

88 照高效液相色谱法 (通则 0512) 项下相应的规定。

89 4. 测定法

90 (1) 内标法

红色字体为删除内容，蓝色字体为增订内容

91 (2) 外标法

92 (3) 面积归一化法

93 ~~上述(1)~(3)法的具体内容均同高效液相色谱法(通则0512)项下相应的规定。~~

94 (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。~~
95 ~~分别量取贮备溶液配制成一系列梯度浓度的标准溶液。取上述梯度浓度的标准溶液各适量~~
96 ~~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。以标准溶液中待测~~
97 ~~组分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~~
98 ~~为:—~~

$$99 A_R = a \times c_R + b$$

100 ~~式中 A_R 为标准溶液中待测组分的峰面积或峰高;—~~

101 ~~c_R 为标准溶液的浓度;—~~

102 ~~a 为标准曲线的斜率;—~~

103 ~~b 为标准曲线的截距。—~~

104 ~~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~~
105 ~~组分的峰面积或峰高。按下式计算其浓度:—~~

$$106 c_S = \frac{A_S - b}{a}$$

107 ~~式中 A_S 为供试品溶液中待测组分的峰面积或峰高;—~~

108 ~~c_S 供试品溶液的浓度;—~~

109 ~~a 、 b 符号的意义同上。—~~

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

起草单位:中国食品药品检定研究院、安徽省食品药品检验研究院

复核单位:山东省食品药品检验研究院、上海市食品药品检验研究院

参与单位:北京市药品检验研究院、浙江省食品药品检验研究院、广东省药品检验所、成都市药品检验研究院

主要起草人及联系电话:宁保明,010-53851532;田冶,010-53851533

红色字体为删除内容,蓝色字体为增订内容

0513 离子色谱法修订说明

一、修订背景

为了提高《中国药典》0513 离子色谱法的指导性、科学性及先进性，保证药品检验结果准确可靠，此次对其开展修订。参考各国药典，在对企业、行业协会及仪器公司的调研的基础上，确定修订方向并起草该草案，使其更加科学、合理，与国际通用技术要求接轨。

二、主要修订内容

- 增加离子色谱仪主要组成；
- 在洗脱液部分推荐了洗脱液中有机溶剂的参考比例范围，并补充了有机溶剂添加的优缺点；
- 在洗脱液部分增加了洗脱液制备时的注意事项。同时增加了电解洗脱液在线发生器的描述；
- 在检测器中，对离子色谱常用的电导检测器、安培检测器、质谱检测器进行了详述，包括原理、应用、注意事项等内容；
- 样品处理部分，明确样品前处理目的，修订前处理方式，增加阀切换在线基体消除法、燃烧法。