

离子色谱法测定复方氨基酸注射液（20AA）中醋酸根

白海娇

天津市药品检验所, 天津 300070

摘要: **目的** 建立以氢氧化根作为淋洗液的离子色谱法测定复方氨基酸注射液（20AA）中醋酸根的方法。**方法** 使用 Dionex ICS 3000 离子谱仪, Dionex As19-Ag19 阴离子交换色谱柱（250 mm×4 mm）, 水 - 30 mmol/L 氢氧化钠溶液为淋洗液, 梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 20 μL, 抑制型电导检测器, 检测池温度 35 °C。**结果** 醋酸根与相邻杂质的分离度为 1.8, 最低检出浓度 0.75 μmol/L, 线性范围 0.75~2.24 mmol/L ($r=0.999\ 5$), 平均回收率为 100.7%, RSD 值为 1.7%。**结论** 该方法操作简单, 分离度好, 背景低, 是控制复方氨基酸注射液（20AA）中醋酸根的可靠方法。

关键词: 复方氨基酸注射液（20AA）; 醋酸根; 离子色谱

中图分类号: R927.2

文献标志码: A

文章编号: 1674 - 5515(2014)05 - 0494 - 03

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2014.05.010

Determination of acetate ion in Compound Amino Acid Injection (20AA) by ion chromatography

BAI Hai-jiao

Tianjin Institute for Drug Control, Tianjin 300070, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of acetate ion in Compound Amino Acid Injection (20AA) by ion chromatography with hydroxide as mobile phase. **Methods** Determination was carried out on Dionex As19-Ag19 anion-exchange chromatography column (250 mm × 4 mm) with Dionex ICS 3000 Ion Spectrometer. The elutnant consisted of water-30 mmol/L sodium hydroxide with gradient elution at a flow rate of 1.0 mL/min. The temperature of column was set at 30 °C with injection volume of 10 μL. Inhibitory electrical conductivity detector was used with detecting pool temperature of 35 °C. **Results** The resolution between acetate ion peak and adjacent peak was 1.8, and LOD was 0.75 μmol/L. The calibration curve was linear in the range of 0.75 — 2.24 mmol/L ($r = 0.999\ 5$). The recovery was 100.7% with RSD value of 1.7% ($n = 9$). **Conclusion** The method is simple with good resolution and low background, and can be used for quality control of acetate ion in Compound Amino Acid Injection (20AA).

Key words: Compound Amino Acid Injection (20AA); acetate ion; ion chromatography

复方氨基酸注射液是含有多种氨基酸的输液, 根据所含氨基酸的差异分为复方氨基酸注射液（18AA）、（3AA）、（15AA）等种类。为使研究的对象更具有代表性和通用性, 本实验选取了氨基酸种类比较复杂的复方氨基酸注射液（20AA）作为研究对象。复方氨基酸注射液（20AA）是由 20 种氨基酸和依地酸二钠配制成灭菌水溶液, 规格为 500 mL : 50 g, 预防和治疗肝性脑, 肝病或肝性脑病急性期的静脉营养。本品中的醋酸根主要来自部分氨基酸原料的醋酸盐, 同时制剂过程中调节 pH 值

时也可能引入部分醋酸根, 因此控制醋酸盐对于本品的质量有积极意义。已经有一些研究者对药品中的醋酸盐检测方法给予探讨^[1-3], 其中多数是采用 HPLC-UV 法。离子色谱法是 20 世纪 70 年代发展起来的液相分析技术, 方法操作简单, 灵敏, 操作性和选择性均较好, 适合于分析阴离子、阳离子、有机酸、碱, 特别是适合分析各种离子, 成为 HPLC-UV 法的有效补充^[4]。随着离子色谱法写入《中国药典》2010 年版二部附录^[5], 离子色谱法在药品质量控制方面的研究逐渐增多。由于醋酸根的

收稿日期: 2014-03-12

作者简介: 白海娇 (1976—), 女, 沈阳药科大学药物制剂专业硕士, 研究方向为生化药品检验。Tel: (022) 23374073 E-mail: bhjdx@163.com

紫外响应值较低,同时本品中的总离子强度较强,为减少解离,建立以氢氧根作为淋洗液的离子色谱法测定复方氨基酸注射液 20AA 中醋酸根。

1 仪器与试剂

Dionex ICS 3000 离子谱仪; ASRS-4mm 抑制器; 对无水醋酸钠对照品由 Dionex 提供, 质量分数为 100%; 高纯氢氧化钠由 Dionex 提供, 试验用水为超纯水, MiliperQ 制备 ($18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-3}$, 25°C), 复方氨基酸注射液 (20AA) 分别由德国贝朗医疗有限公司 (批号 0113A163、9044A164) 和山东鲁抗辰欣药业有限公司 (批号 1107285103、1107285104) 提供, 规格均为 500 mL : 50 g。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Dionex As19-Ag19 阴离子交换色谱柱 (250 mm×4 mm); 水 (A) - 30 mmol/L 氢氧化钠溶液 (B) 为淋洗液, 梯度洗脱, 0~3 min, 50%B; 3~6 min, 50%B→100%B; 6~15 min, 100%B; 15~17 min, 100%B→50%B; 17~25 min 50%B; 体积流量 1.0 mL/min; 柱温 30°C ; 检测池温度 35°C ; 进样量 20 μL ; 以抑制型电导检测器进行测定, 抑制器电压 99 mA, 外接水模式, 氮气压力 27.6 kPa。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取醋酸钠对照品适量, 加水溶解并稀释制备 1.5 mmol/mL 醋酸盐溶液, 即得。

2.3 供试品溶液的制备

取复方氨基酸注射液 (20AA) 3.0 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 即得。

2.4 线性关系考察

取醋酸钠对照品 306 mg, 置 100 mL 量瓶, 加水稀释至刻度, 作为对照品储备液。分别取对照品储备液 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加流动相稀释至刻度。按上述色谱条件进样测定。以质量浓度为横坐标, 相应峰面积为纵坐标进行线性回归, 得回归方程 $A=1.620 C+0.026 9$, $r=0.999 5$, 结果表明醋酸根在 0.746~2.238 mmol/L 与峰面积呈良好的线性关系。

2.5 系统适用性

醋酸根的保留时间约为 4.8 min, 醋酸根的理论板数为 9 802, 醋酸根与相邻杂质的分离度为 1.8。醋酸盐最低检出浓度 0.75 $\mu\text{mol/L}$, 取溶剂 20 μL 进样分析, 色谱图的基线在 8~12 min 有所波动, 但不影响检测。见图 1。

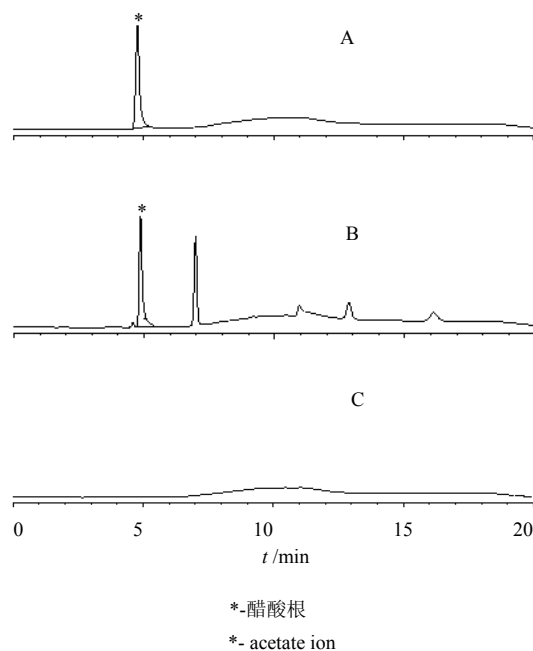


图1 醋酸钠对照品 (A)、复方氨基酸注射液 (20AA) (B) 和空白溶剂 (C) 的离子色谱图谱

Fig. 1 Ion chromatograms of natrium aceticum reference substance (A), Compound Amino Acid Injection (20AA) (B), and blank solvent (C)

2.6 精密度试验

精密吸取批号 1107285104 复方氨基酸注射液 (20AA) 样品溶液 10 mL, 连续进样 6 次, 测定醋酸根峰面积, 计算得 RSD 值为 1.92%。

2.7 重复性试验

取批号 1107285104 复方氨基酸注射液 (20AA) 样品溶液, 平行 6 份, 制备供试品溶液, 照以上色谱条件分别进样 20 μL , 测定醋酸根峰面积, 计算得醋酸根的平均浓度为 51.7 mmol/L, RSD 值为 2.4%。

2.8 回收率试验

取批号 1107285104 复方氨基酸注射液 (20AA) 样品溶液 1.5 mL, 分别精密量取 50.3 mmol/L 醋酸钠对照品溶液储备液 1.2、1.5、1.8 mL, 制备供试品溶液, 按上述色谱条件分别进样 20 μL , 进样测定, 计算回收率。结果平均加样回收率为 100.7%, RSD 值为 1.7% ($n=9$)。

2.9 样品测定

每批复方氨基酸注射液 (20AA) 取样品 3 瓶, 合并溶液, 采用上述色谱条件测定 2 个生产厂家 4 批复方氨基酸注射液 20AA, 分别进样 20 μL , 按

外标法以峰面积计算醋酸根的浓度, 每批样品重复测定 2 次, 计算平均值。结果见表 1。

表 1 复方氨基酸注射液(20AA)中醋酸根的测定结果 ($n=2$)

Table1 Determination of acetate ion in Compound Amino Acid Injection (20AA) ($n=2$)

批 号	醋酸根/(mmol·L ⁻¹)
1107285103	48.5
1107285104	46.7
0113A163	51.4
9044A164	52.0

3 讨论

离子交换色谱柱的载药量有限, 高浓度时醋酸根反而无法检出, 因此需要控制供试品溶液的浓度。本方法的供试品浓度与采用 Boehringer Mannheim/R-Biopharm 检测试剂盒的方法一致, 但专用试剂盒

需要进口, 检测费用高, 方法较为繁琐, 离子色谱方法的操作简单, 专属性强, 更具优越性。

本品中的总离子强度较强, 为减少解离, 也可以考虑使用碳酸盐系统作为流动相。本研究中考虑到碳酸盐系统的本底响应值较高以及该类离子交换色谱柱的特点, 选择了氢氧根系统作为流动相。

参考文献

- [1] 宁洪鑫, 王 伟, 杨 颖, 等. HPLC 法测定注射液 A 中枸橼酸根和醋酸根的含量 [J]. 天津药学, 2006, 18(5): 8-9.
- [2] 王丽兰, 廖淑君. 高效液相色谱法测定血液透析液中醋酸根离子含量 [J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(5): 589-591.
- [3] 廖淑君. 一阶导数光谱法测定血液透析用浓缩物中醋酸根含量 [J]. 生命科学仪器, 2012, 10(1): 32-34.
- [4] 周 萌. 浅析食品检测中应用离子色谱法 [J]. 医学信息: 下旬刊, 2010, 23(3): 246.
- [5] 中国药典 [S]. 二部. 2010: V J.