

# 抑制型电导检测离子交换色谱法测定 1,4-丁烷二磺酸盐

樊 慧, 丁明玉

(清华大学化学系 有机磷与化学生物学教育部重点实验室, 北京 100084)

关键词: 离子交换色谱法(ion exchange chromatography, IEC); 抑制型电导检测(suppressed conductivity detection); 1,4-丁烷二磺酸盐(1,4-butanedisulphonate); 思美泰(Transmetil); 腺苷蛋氨酸(S-adenosyl-L-methionine)

中图分类号: O658 文献标识码: B 文章编号: 1000-8713(2006)05-0535-02 栏目类别: 技术与应用

腺苷蛋氨酸(S-adenosyl-L-methionine, 简称 SAME, 商品名: 思美泰)是存在于各种生物体内的一种天然物质, 它主要作为甲基供体参与各种酶促转甲基过程, 并通过转硫基作为合成牛磺酸、半胱氨酸及谷胱甘肽的前体。临床上 SAME 主要应用于防治肝胆疾病、胰腺炎和抑郁症<sup>[1]</sup>。而 1,4-丁烷二磺酸可为稳定的腺苷蛋氨酸盐提供反离子。目前, 对于丁烷二磺酸盐和直链烷基磺酸盐的测定方法很少, 主要原因可能是由于该类物质普遍具有强极性, 在一般的高效液相色谱固定相中保留较弱而导致分离困难; 另外, 其紫外吸收较弱, 一般的紫外检测方法不适合用来分析该类物质。

离子交换色谱法在分析离子型有机化合物方面有其优势<sup>[2]</sup>。Moro 等<sup>[3]</sup>采用离子交换色谱法, 以碳酸钠和碳酸氢钠混合溶液为流动相, 测定了血浆样品中的微量丁烷二磺酸。本文以碳酸盐水溶液为流动相, 研究了用离子交换色谱法分离和测定 1,4-丁烷二磺酸盐的方法。采用抑制型电导检测器, 得到了良好的分离效果和较高的检测灵敏度。将该方法用于意大利产思美泰和国产思美泰中 1,4-丁烷二磺酸根的检测, 取得了满意的结果。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

所使用的瑞士万通(Metrohm)离子色谱仪由 Metrohm 818 高压输液泵、819 电导检测器和 833MSM 化学抑制器构成。色谱工作站为 Metrohm IC-Net 2.3。

1,4-丁烷二磺酸根阴离子由其钠盐配制而成; 1,4-丁烷二磺酸钠由北京华新制药有限公司提供; Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (分析纯) 购自北京益利精细化学品有限公司; NaHCO<sub>3</sub> (分析纯) 购自北京试剂公司; 甲醇和乙腈均为色谱纯, 购自北京化工厂; 抑制器所用的硫酸溶液(分析纯, 50 mmol/L), 购自北京化工厂。所有溶液均用二次蒸馏水配制, 在使用前用 0.45 μm 滤膜过滤。

### 1.2 色谱条件

分离柱: 阴离子交换色谱柱为 Metrosep A supp 5 (250 mm × 40 mm i. d., 粒径 5 μm), 其中填充带有季铵基的离子交换基团的聚乙烯醇树脂; 淋洗液: 8 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 流速 0.7 mL/min; 再生液: 50 mmol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。

### 1.3 标准溶液与样品溶液的配制

精确称取干燥的 1,4-丁烷二磺酸钠 5.0 mg, 用水溶解并定容至 50 mL, 即得 100 mg/L 的标准溶液。

精确称取 5 mg 左右的思美泰样品, 溶于 50 mL 水中, 用 0.45 μm 滤膜过滤后待测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 淋洗液的选择

碳酸盐系列淋洗液是最典型的抑制型阴离子交换色谱的淋洗液。在 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaHCO<sub>3</sub> 混合淋洗液中, 只要改变这两种物质的浓度比, 就可以得到不同淋洗能力和不同 pH 值的流动相, 因而具有广泛的应用范围及良好的选择性。大多数无机和有机阴离子的分析都可以采用此类流动相进行分离<sup>[2]</sup>。本实验中考察了不同浓度的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 NaHCO<sub>3</sub> 混合淋洗液对分离效果的影响。首先选用 Metrosep A supp 5 阴离子交换柱分离无机阴离子时厂家推荐使用的淋洗液, 即 3.2 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 和 1.0 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 混合溶液。从表 1 中可以看出, 此时 1,4-丁烷二磺酸根的保留时间为 28.55 min, 分析时间较长。为了加快 1,4-丁烷二磺酸根的洗脱, 在固定 NaHCO<sub>3</sub> 浓度为 1 mmol/L 的情况下, 增加 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 的浓度, 结果发现随着 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 浓度的提高, 1,4-丁烷二磺酸根的保留时间显著缩短。当 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 与 NaHCO<sub>3</sub> 的浓度比为 8:1 时, 1,4-丁烷二磺酸根的保留时间约为 13 min。若单独使用 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1,4-丁烷二磺酸根的保留时间随着 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 浓度的变化几乎与含 1 mmol/L NaHCO<sub>3</sub> 的混合淋洗液一致, 说明 NaHCO<sub>3</sub> 的存在对淋洗液淋洗能力的影响很小。

表 1 淋洗液的组成与浓度对 1,4-丁烷二磺酸根保留的影响

$\alpha$ (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> ) / (mmol/L)	$\alpha$ (NaHCO <sub>3</sub> ) / (mmol/L)	$t_R$ /min
3.2	1.0	28.55
4.6	1.0	20.24
8.0	1.0	12.66
9.6	1.0	11.17
4.6	0	21.34
8.0	0	12.74
10.0	0	11.00

为了缩短保留时间, 向流动相中加入有机溶剂是常用的方法, 特别是对像 1,4-丁烷二磺酸根这样的有机阴离子, 加入有机溶剂可能会显著加快洗脱。在本实验中, 固定  $\alpha$  (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>):  $\alpha$  (NaHCO<sub>3</sub>) = 3.2: 1.0, 加入一定量的乙腈或甲醇。结果发现, 当加入甲醇时, 不仅不能加快洗脱, 反倒使 1,4-丁烷二磺酸根的保留时间延长(如加入 9% 的甲醇时, 1,4-丁烷二磺酸根的保留时间由 28.55 min 增加到 32.66 min); 而且随着甲醇浓度的提高, 柱压升高。当在淋洗液中加入乙腈时, 1,4-丁烷二磺酸根的保留时间有明显的波动, 但对加

快淋洗的效果不显著,即使增加乙腈的加入量也没有带来明显的效果,因此本方法在淋洗液中不添加有机溶剂。

最终,本实验选择淋洗液为 8.0 mmol/L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>。在选定的条件下,1,4-丁烷二磺酸钠标准品的色谱图见图 1。

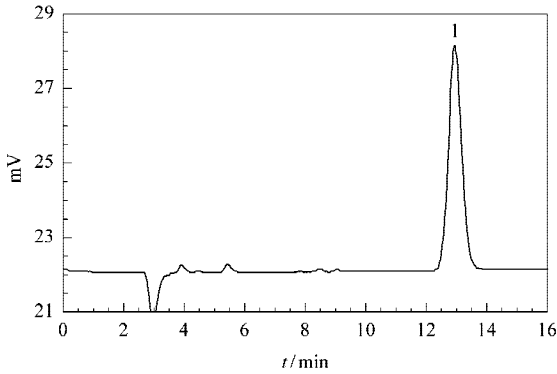


图 1 1,4-丁烷二磺酸钠标准品(50 mg/L)的色谱图  
峰 1: 1,4-丁烷二磺酸根。

### 2.2 标准曲线的绘制与最低检测限的测定

将 100 mg/L 的 1,4-丁烷二磺酸钠标准品溶液用水依次稀释为 50, 25, 5, 1 和 0.2 mg/L 的系列标准溶液。按上述色谱条件进样分析,测定峰面积。以 1,4-丁烷二磺酸根的色谱峰面积( $Y$ )对其质量浓度( $X$ , mg/L)进行线性回归,得到线性回归方程为  $Y = 3.7384X + 0.3233$ ,  $r^2 = 1.000$ ,线性范围为 0.2 ~ 50 mg/L。进一步稀释质量浓度为 0.2 mg/L 的标准溶液测定最低检测限,在信噪比( $S/N$ )等于 3 时得到最低检测限为 0.05 mg/L。

### 2.3 重复性试验

取 50 mg/L 的 1,4-丁烷二磺酸钠标准溶液以及国产思美泰和意大利产思美泰样品溶液适量,按照上述色谱条件分别连续进样测定 5 次,得 1,4-丁烷二磺酸钠峰面积测定值的相对标准偏差(RSD)如下:在标准溶液中为 0.37%;在意大利产思美泰中为 0.29%;在国产思美泰中为 0.38%。1,4-丁烷二磺酸根保留时间的 RSD 如下:在标准溶液中为 0.12%;在意大利产思美泰中为 0.16%;在国产思美泰中为 0.12%。

### 2.4 加标回收率试验

准确称取 2.1 mg 1,4-丁烷二磺酸钠标准品溶解在 50 mL 水中,质量浓度为 42 mg/L。称取思美泰样品约 5 mg,溶解于 50 mL 水中配制成质量浓度约为 100 mg/L 的溶液。再取出该溶液 3 份各 1 mL,分别与 0.5 mL、2 mL 和 9 mL 的上述 1,4-丁烷二磺酸钠标准溶液混合并定容至 10 mL。按照上述色谱条件进行色谱分析,计算加标回收率,结果如表 2 所示。

表 2 回收率的试验结果

样品	本底值/ mg	加入值/ mg	检测值/ mg	回收率/ %
国产思美泰	0.032	0.021	0.052	95.2
	0.032	0.084	0.115	98.8
	0.032	0.378	0.408	99.5
意大利产思美泰	0.035	0.021	0.055	95.2
	0.035	0.084	0.117	97.6
	0.035	0.378	0.411	99.5

### 2.5 样品的测定

将配制好的意大利产思美泰和国产思美泰稀释合适的倍数后按照上述色谱方法进行进样,色谱图如图 2 所示。在标准品的色谱图和实际样品的色谱图中,在 1,4-丁烷二磺酸根出峰前,均有少量杂质峰,这有可能是样品中的一些无机离子如氯离子、硫酸根等,但这些离子与 1,4-丁烷二磺酸根均能很好地分离。测定结果表明,意大利产思美泰中 1,4-丁烷二磺酸根为 54.7 mg/L,国产思美泰中为 41.3 mg/L。换算为意大利产思美泰中含 1,4-丁烷二磺酸根 4.2 mmol/g,国产思美泰中含 1,4-丁烷二磺酸根 3.6 mmol/g。

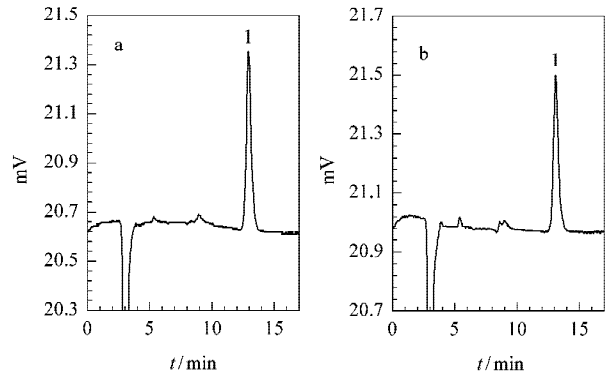


图 2 思美泰样品的色谱图  
a. 意大利产思美泰; b. 国产思美泰。  
峰 1: 1,4-丁烷二磺酸根。

### 3 结论

本研究建立了抑制型电导检测离子交换色谱测定 1,4-丁烷二磺酸根的方法。方法灵敏度高,准确性好,操作简单。将该方法应用于实际样品的测定,实用性强。

#### 参考文献:

- [1] 吴家蓉. 实用医院临床杂志, 2005, 2(2): 86
- [2] 丁明玉, 田松柏. 离子色谱原理与应用. 北京: 清华大学出版社, 2001
- [3] Moro E, De Angelis M, Fugazza B. J Chromatogr A, 1995, 706: 451