

原子吸收光谱法测定聚古罗糖醛酸丙酯硫酸酯钠中的钠含量

李建杰^{1,2,3}, 胡婷^{1,2,3*}, 王箴言³, 辛萌^{1,2,3}, 郑梦梦³,
刘晓坤³, 于广利^{1,2,3}

(1. 中国海洋大学 山东省糖科学与糖工程重点实验室, 医药学院, 山东 青岛 266003;

2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋药物与生物制品功能实验室, 山东 青岛 266237;

3. 青岛海洋生物医药研究院股份有限公司, 山东 青岛 266100)

摘要: 目的 建立聚古罗糖醛酸丙酯硫酸酯钠 (PGGS) 中钠元素的含量测定方法。方法 采用火焰原子吸收分光光度法, 以氯化铯为电离抑制剂, 分别在 589、330 nm 2 个吸收波长下进行了 PGGS 钠含量测定, 并进行方法学的比较和验证。结果 在 589 nm 吸收波长下, Na 元素在 0.4~2.8 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈良好的线性关系 ($r = 0.9991$); 定量限为 0.4 $\mu\text{g/mL}$; 平均回收率为 99.15% ($n = 9$), 相对标准偏差 (RSD) 为 1.34%。在 330 nm 吸收波长下, Na 元素在 20~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈良好的线性关系 ($r = 0.9980$); 定量限为 20 $\mu\text{g/mL}$; 平均回收率为 99.65% ($n = 9$), RSD 为 2.07%。结论 采用原子吸收光谱法测定 PGGS 中钠元素含量, 可根据供试品中 Na 元素含量高低选择不同的分析波长。该方法结果准确、操作简单快捷, 适用于 PGGS 等褐藻胶硫酸酯衍生物中钠含量的质量控制。

关键词: 火焰原子吸收法; 褐藻胶硫酸酯衍生物; 钠

中图分类号: R917

文献标志码: A

文章编号: 1002-3461(2021)06-049-06

Determination of sodium content in Propylene glycol polyguluronate sulfate sodium by atomic absorption spectrometry

LI Jian-jie^{1,2,3}, HU Ting^{1,2,3*}, WANG Zhen-yan³, XIN Meng^{1,2,3}, ZHENG Meng-meng³,
LIU Xiao-kun³, YU Guang-Li^{1,2,3}

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Glycoscience and Glycoengineering, School of Medicine and Pharmacy, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Laboratory for Marine Drugs and

Bioproducts of Qingdao Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266237, China;

3. Marine Biomedical Research Institute of Qingdao Co., Ltd., Qingdao 266100, China)

Abstract: Objective To establish a quantitative determination method for sodium ions in Propylene glycol polyguluronate sulfate sodium (PGGS). **Methods** The sodium content of PGGS was measured by atomic absorption spectroscopy (AAS), caesium chloride was applied as a deionization agent. The wavelengths of 330 nm and 589 nm were compared, and the method was validated. **Results** The calibration curve was found to be linear between the range of 0.4~2.8 $\mu\text{g/mL}$ for sodium ion ($r = 0.9991$) at 589 nm, and the quantitation limit was 0.4 $\mu\text{g/mL}$. The average recovery was 99.15%, with RSD of 1.34% ($n = 9$). The calibration curve

基金项目: 山东省重大科技创新工程专项 (2018SDKJ0404-3); 山东省泰山产业领军人才工程蓝色人才专项资助

作者简介: 李建杰 (1986-), 女, 工程师。

* 通讯作者: 胡婷, 女, 博士, 工程师。Tel: 0532-85906831; E-mail: huting72@sina.com

收稿日期: 2021-10-04

was found to be linear between the range of 20~200 $\mu\text{g/mL}$ for sodium ion ($r = 0.998 0$) at 330 nm, and the quantitation limit was 20 $\mu\text{g/mL}$. The average recovery was 99.65%, with RSD of 2.07% ($n = 9$). **Conclusion** The content of sodium in PGGS was determined by atomic absorption spectrometry. The different analysis wavelengths could be selected according to the content of sodium in the test sample. This method was accurate, simple and rapid, and it was suitable for the determination and quality control of the sodium ion in Alginate sulfate derivatives such as PGGS.

Key words: atomic absorption spectrometry; Alginate sulfate derivatives; sodium

聚古罗糖醛酸丙酯硫酸酯 (PGGS) 是 1 种褐藻胶经降解、分级纯化和多步修饰获得的类肝素化合物。本课题组前期研究表明, PGGS 具有显著的抗凝血和降血脂活性。在成药性研究中发现, PGGS 以钠盐形式存在的稳定性更好, 若转钠不完全 (pH 小于 5), 则有游离的氢型磺酸酯基, 药物易发黄变质; 若转钠过度, 易导致 PGGS 中残留过量的钠盐。因此, 为保证 PGGS 成盐比例的准确性和批间一致性, 建立准确的钠元素含量测定方法十分必要。文献报道的钠含量测定方法主要有离子色谱法 (IC)^[1-2]、原子吸收光谱法 (AAS)^[3-5]、电感耦合等离子体原子发射光谱法 (ICP-AES)^[6]、电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS)^[7-8]、X 射线荧光光谱法^[9-10] 等多种方法, 由于火焰原子吸收光谱法具有快速、准确、干扰少、稳定性好、操作简便等特点^[4], 因而得到广泛应用。

本文采用火焰原子吸收光谱法在不同波长下对 PGGS 中钠元素含量进行测定^[11], 并进行了方法学研究, 为 PGGS 药物以及其他硫酸多糖类药物钠含量分析和质量标准的建立提供方法学参考。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

原子吸收分光光度计 (AA-6880 型, 日本岛津公司); 钠空心阴极灯 (As-1-SR, 有研科技集团有限公司); 电子天平 (MS105DU 型, 梅特勒-托利多公司)。

纯水 (娃哈哈公司); 钠单元素标准溶液 (国家标准物质, 钠离子含量为 1 000 mg/L , GBW (E) 082044, 四川中测标物科技有限公司); 氯化铯 (光谱纯), 盐酸 (优级纯) (国药集团化学试剂有限公司); PGGS 供试品 (青岛海洋生物医药研究院)。

1.2 实验方法^[12]

1.2.1 光谱条件

光源: 钠空心阴极灯; 波长, 589 nm/330 nm; 灯电流: 12 mA; 狭缝宽: 0.2 nm; 空气流量: 18 L/min; 乙炔流量: 2.0 L/min; 燃烧头高度: 0 mm。

1.2.2 方法学验证

(1) 线性范围

参考肝素钠质量标准^[11]及相关文献发现^[3], 589、330 nm 均为钠元素的常用检测波长, 本文对这 2 个波长下测定 PGGS 的钠含量进行了考察, 并根据前期预实验发现, 火焰原子吸收光谱在吸光度为 0.1~0.9 的范围内线性关系良好, 因此确定标准曲线范围如下:

589 nm 波长下的标准曲线绘制: 精密量取钠单元素标准溶液, 用 0.1 mL/L 盐酸溶液 (每 1 mL 中含氯化铯 1.27 mg) 逐级定量稀释, 分别制成每 1 mL 含 0.4、0.8、1.0、1.2、1.4、1.6、2.0、2.4 和 2.8 μg 钠的对照品溶液。

330 nm 波长下的标准曲线绘制: 精密量取钠单元素标准溶液, 用 0.1 mL/L 盐酸溶液 (每 1 mL 中含氯化铯 1.27 mg) 逐级定量稀释, 分别制成每 1 mL 含 20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180 和 200 μg 的对照品溶液。

对上述系列浓度钠的对照品溶液进行吸光度测定, 以钠元素的浓度 ($\mu\text{g/mL}$) 对其吸光度 (A) 进行线性回归, 分别绘制 589、330 nm 2 个特征波长下的钠标准曲线, 考察线性范围。

(2) 检测限和定量限

采用基于响应值标准偏差和标准曲线斜率法, 分别考察 589、330 nm 2 个特征吸收波长下方法的检测限和定量限。平行配制 3 条标准曲线, 绘制线性回归方程。检测限 (LOD) = $3.3\delta/S$, 定量限 (LOD) = $10\delta/S$, 其中 δ 为响应值的偏差, S 为标准曲线的斜率。采用含量相近的样品进行验证。

(3) 重复性考察

精密称取恒重后的供试品适量,稀释制成质量浓度为10、1 000 $\mu\text{g/mL}$ 的供试品溶液。分别作为589、330 nm 2个特征吸收波长下的重复性供试品溶液。每一浓度供试品溶液平行制备6份。按标准曲线的绘制方法进行测定,测定吸光度。并根据对应标准曲线计算含量,分别考察2个特征吸收波长下的重复性。

(4) 准确度考察

分别称取9份已知钠含量的供试品,分成3组,按钠元素标准溶液与供试品溶液中钠含量之比为1.2:1、1:1和0.8:1,各加入一定量的钠单元素标准溶液,按标准曲线的绘制方法进行测定,测定吸光度,并根据标准曲线计算含量,分别考察589、330 nm 2个特征吸收波长下方法的加标回收率。

(5) 溶液稳定性考察

将供试品溶液放置24 h,按标准曲线的绘制方法进行测定,分别于0、2、4、6、8、24 h对供试品进行测定,并根据标准曲线计算供试品中钠元素含量,考察330 nm特征波长下供试品溶液的稳定性。

(6) 盐酸浓度耐用性考察

精密量取钠单元素标准溶液,分别用0.09 mL/L盐酸溶液(每1 mL中含氯化铯1.270 mg)、0.10 mL/L盐酸溶液(每1 mL中含氯化铯1.270 mg)、0.11 mL/L盐酸溶液(每1 mL中含氯化铯1.270 mg)定量稀释,同步配制样品,分别在330 nm谱线下进行检测,考察330 nm特征波长下盐酸浓度的耐用性。

(7) 氯化铯浓度耐用性考察

精密量取钠单元素标准溶液,分别用0.10 mL/L盐酸溶液(每1 mL中含氯化铯1.270 mg)、0.10 mL/L盐酸溶液(每1 mL中含氯化铯1.397 mg)、0.10 mL/L盐酸溶液(每1 mL中含氯化铯1.143 mg)定量稀释,同步配制样品,分别在330 nm谱线下进行检测,考察330 nm特征波长下氯化铯溶液浓度的耐用性。

2 实验结果

2.1 线性范围检测结果

对系列浓度钠的对照品溶液进行吸光度测定,

以钠元素的浓度($\mu\text{g/mL}$)对其吸光度(A)进行线性回归,得到589、330 nm 2个特征波长下的钠标准曲线分别为: $A = 0.26C + 0.0714$, $r = 0.9991$; $A = 0.0042C + 0.0045$, $r = 0.9980$ 。线性结果显示,在589 nm特征波长下钠的线性浓度范围为0.4~2.8 $\mu\text{g/mL}$,在330 nm特征波长下钠的线性浓度范围为20~200 $\mu\text{g/mL}$,2个特征波长下的浓度范围相差约70倍。

2.2 检测限和定量限检测结果

采用基于响应值标准偏差和标准曲线斜率法,计算火焰原子吸收法测定钠含量LOD、LOQ,其中 δ 以测定空白值的标准偏差来代替时,计算得到589 nm波长下钠的LOD浓度为0.15 $\mu\text{g/mL}$,LOQ浓度为0.38 $\mu\text{g/mL}$ 。经验证显示:以0.4 $\mu\text{g/mL}$ 的钠单元素标准溶液作为定量限,6份平行的回收率在93.5%~102.2%之间,平均值为97.0%,RSD为2.96%。因此可将0.4 $\mu\text{g/mL}$ 作为589 nm波长的定量限。同法得到330 nm波长下钠的LOD浓度为3.7 $\mu\text{g/mL}$,LOQ浓度为11.1 $\mu\text{g/mL}$ 。经验证显示:以20 $\mu\text{g/mL}$ 的钠单元素标准溶液作为定量限,6份平行回收率在95.5%~103.4%之间,平均值为99.2%,RSD为3.24%。可见2个特征波长下的定量限相差50倍。

2.3 重复性考察结果

根据PGGS结构特点,其钠含量应该在10%~15%。参照2020版《中国药典》要求,对于含量在10%~100%之间的试样,重复性要求RSD<1.5%。采用火焰原子吸收法,对589和330 nm 2个特征波长测定钠含量进行重复性验证。从表1结果可知,589 nm特征波长下6份供试品中钠的平均值为13.49%,RSD为1.32%(<1.5%),在330 nm特征波长下6份供试品中钠的平均值为13.08%,RSD为0.86%(<1.5%),均符合药典要求。且数据统计显示,同一批次供试品,在2个波长下的钠检测结果的总RSD为1.93%(<2%)。表明2个特征波长对于PGGS钠含量检测均具有较好的重复性,且钠含量检测结果一致。

2.4 准确度考察结果

参照2020版《中国药典》要求,对于含量在10%~100%之间的试样,回收率限度95%~102%。采用火焰原子吸收法,对589、330 nm 2个特征波长测定钠含量进行准确度加标回收实验(见

表2), 2个波长下分别以1.3、130 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度的钠标准溶液为100%浓度溶液, 分别配制80%、100%、120%浓度溶液适量。将上述溶液分别与对应供试品溶液体积比1:1混合, 配制成80%、100%、120%回收率溶液。结果显示, 在589 nm

波长下, 该方法的平均回收率为99.15%, RSD为1.34%; 在330 nm波长下, 该方法的平均回收率为99.65%, RSD为2.07%, 均符合药典要求。表明589、330 nm 2个特征波长用于PGGS中钠含量检测均具有良好的准确度。

表1 重复性实验结果

Table 1 Experimental results of reproducibility

样品名称	589 nm				330 nm				总 RSD/%
	吸光度	Na 含量 /%	平均值 /%	RSD/%	吸光度	Na 含量 /%	平均值 /%	RSD/%	
重复性 -1	0.416 0	13.55			0.561 1	13.22			
重复性 -2	0.416 8	13.58			0.560 3	13.13			
重复性 -3	0.412 1	13.40			0.555 8	13.02			
重复性 -4	0.406 7	13.19	13.49	1.32	0.552 0	13.17	13.08	0.86	1.93
重复性 -5	0.414 7	13.50			0.543 3	12.95			
重复性 -6	0.420 3	13.71			0.554 5	12.98			

表2 加标回收实验结果

Table 2 Experimental results of marking recovery

编号	589 nm			330 nm		
	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD/%
准确度 80%-1	100.62			101.60		
准确度 80%-2	99.41			100.15		
准确度 80%-3	98.26			99.40		
准确度 100%-1	98.22			99.74		
准确度 100%-2	96.87	99.15	1.34	98.66	99.65	2.07
准确度 100%-3	100.71			99.37		
准确度 120%-1	99.82			102.04		
准确度 120%-2	98.20			95.00		
准确度 120%-3	100.23			100.91		

2.5 溶液稳定性考察结果

溶液稳定性是考察方法耐用性的典型指标, 在同一标准曲线下, 考察供试品溶液室温放置24 h内的溶液稳定性, 结果见表3: 采用330 nm特征波长, 室温放置24 h内供试品钠含量测定结果的RSD为1.89% (<2%), 表明供试品溶液稳定性良好。

2.6 盐酸浓度耐用性考察结果

据研究报道, 采用原子吸收法进行钠原子含量测定时, 溶剂的种类和浓度会对测定结果产

生影响, 常用溶剂为盐酸和硝酸水溶液。本实验采用盐酸水溶液作为溶剂, 并考察了盐酸浓度变化 $\pm 10\%$ 对钠含量测定的影响, 结果见表4。采用330 nm特征波长, 盐酸浓度变化 $\pm 10\%$, 同一供试品的钠含量测定结果的RSD为1.11% (<2%), 表明盐酸溶液浓度在0.09~0.11 mL/L浓度范围内含量测定稳定性良好。

2.7 氯化铯浓度耐用性考察结果

为防止钠在高温火焰中发生电离, 影响钠含量测定结果, 本实验采用1.27 mg/mL氯化铯溶

液作为消电解剂^[13], 并考察了氯化铯溶液浓度变化 $\pm 10\%$ 对钠含量测定的影响, 结果见表 5。在 330 nm 下, 氯化铯浓度变化 $\pm 10\%$, 同一供试品

的钠含量测定结果的 RSD 为 1.29% ($< 2\%$), 表明氯化铯溶液浓度在 1.143~1.397 mg/mL 浓度范围内, 含量测定稳定性良好。

表 3 溶液稳定性实验结果

Table 3 Experimental results of solution stability

样品名称	吸光度	Na 含量 /%	Na 含量平均值 /%	总平均值 /%	RSD/%
溶液稳定性 0 h- 平行 1	0.561 1	13.22	13.18	13.12	1.89
溶液稳定性 0 h- 平行 2	0.560 3	13.13			
溶液稳定性 2 h- 平行 1	0.544 8	12.83	12.81		
溶液稳定性 2 h- 平行 2	0.546 3	12.79			
溶液稳定性 4 h- 平行 1	0.545 4	12.85	12.84		
溶液稳定性 4 h- 平行 2	0.547 6	12.82			
溶液稳定性 6 h- 平行 1	0.561 6	13.24	13.18		
溶液稳定性 6 h- 平行 2	0.559 9	13.12			
溶液稳定性 8 h- 平行 1	0.572 0	13.54	13.38		
溶液稳定性 8 h- 平行 2	0.563 0	13.23			
溶液稳定性 24 h- 平行 1	0.559 7	13.32	13.36		
溶液稳定性 24 h- 平行 2	0.565 9	13.39			

表 4 盐酸浓度耐用性实验结果

Table 4 Experimental results of Hydrochloric acid concentration

盐酸浓度 /mL·L ⁻¹	供试品	吸光度	Na 含量 /%	Na 含量平均值 /%	总平均值 /%	RSD/%
0.09	平行 -1	0.579 9	13.04	13.00	13.02	1.11
	平行 -2	0.579 3	12.97			
0.10	平行 -1	0.561 1	13.22	13.18		
	平行 -2	0.560 3	13.13			
0.11	平行 -1	0.589 7	12.81	12.89		
	平行 -2	0.585 2	12.97			

表 5 氯化铯浓度耐用性实验结果

Table 5 Experimental results of Caesium chloride concentration

氯化铯浓度 / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	供试品	吸光度	Na 含量 /%	Na 含量平均值 /%	总平均值 /%	RSD/%
1.143	平行 -1	0.580 9	13.51	13.45	13.25	1.29
	平行 -2	0.581 8	13.40			
1.270	平行 -1	0.561 1	13.22	13.18		
	平行 -2	0.560 3	13.13			
1.397	平行 -1	0.580 9	13.05	13.12		
	平行 -2	0.589 6	13.19			

3 讨论

本文建立了火焰原子吸收光谱法测定 PGGS

样品中钠元素含量的方法, 根据原子吸收检测钠元素的波长分为灵敏线 589 nm 和次灵敏线

330 nm, 本文对 2 个特征波长下分析方法的线性范围、重复性、准确度、检测限和定量限进行了比较。实验结果表明, 在 2 个特征波长下, 该方法在不同浓度范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.990, 且均具有较好的重复性和准确度, 可以准确测定 PGGs 中的钠元素含量。虽然 589 nm 为文献报道常用波长, 且灵敏度较高, 但常用于微量分析。考虑到被测物 PGGs 中钠元素含量在 10%~15% 之间, 为常量分析, 故优选次灵敏线 330 nm 作为检测波长。此外, 方法学验证发现, 在 330 nm 波长下, 供试品溶液的稳定性及耐用性良好, 能满足定量分析方法的要求。该方法专属性好, 快速准确, 操作简便, 可作为 PGGs 中钠元素的含量测定分析方法, 用以进行 PGGs 原料药的质量分析控制。

参考文献

- [1] 倪承珠, 包先金, 何霞, 等. 离子色谱法测定食盐中的氯离子、钠离子以及杂质阴离子 [J]. 中国卫生检验杂志, 2020, 30(20): 2455-2456, 2459.
- [2] DOORN J, STORTEBOOM T, MULDER A, et al. Ion chromatography for the precise analysis of chloride and sodium in sweat for the diagnosis of cystic fibrosis[J]. Ann Clin Biochem, 2015, 52(Pt 4): 421-427.
- [3] 吕晓利, 任立新, 宋梦薇, 等. 火焰原子吸收光谱法测定那屈肝素钙中的钠 [J]. 食品与药品, 2021(1): 44-47.
- [4] 吴甫琛, 谢演晖. 原子吸收光谱法测定丙戊酸钠缓释片中钠的改进 [J]. 北方药学, 2020(12): 12-13.
- [5] IEGGLI C V, BOHRER D, NASCIMENTO DO P C, et al. Determination of sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc, and iron in emulsified egg samples by flame atomic absorption spectrometry[J]. Talanta, 2010, 80(3): 1282-1286.
- [6] 冯丽娥. 电感耦合等离子体发射光谱法和原子吸收光谱法测定岩石矿物中钾钠含量的比较 [J]. 世界有色金属, 2021(4): 189-190.
- [7] PAULASKAS R, STRIUGAS N, SADECKAS M, et al. Online determination of potassium and sodium release behaviour during single particle biomass combustion by FES and ICP-MS[J]. Sci Total Environ, 2020, 746: 141162.
- [8] 刘建, 于光平, 丁占林. 采用电感耦合等离子体-质谱法测定人体尿液中的微量元素研究 [J]. 中国医疗器械信息, 2021(16): 12-14.
- [9] 李亚, 王英凯, 张旭, 等. X 射线荧光光谱法测定高含量有机碳样品中的钾、钠、钙、镁、硅、铝、铁、钛、锰、磷 [J]. 中国无机分析化学, 2021, 11(2): 57-61.
- [10] STANKEY J, AKBULUT C, ROMERO J, et al. Evaluation of X-ray fluorescence spectroscopy as a method for the rapid and direct determination of sodium in cheese[J]. J Dairy Sci, 2015, 98(8): 5040-5051.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2 部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2020: 518.
- [12] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 4 部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2020: 374-376.
- [13] 高彦敏, 田丽彬. 重金属原子吸收分析中的干扰及消除 [J]. 现代食品, 2018(17): 58-60.