

固相萃取结合离子色谱法测定滴眼液中的硼酸及硼砂含量

倪亚萍¹, 牛水蛟², 于海英², 李启艳², 林钰喆^{1,2}, 黄桂华^{1*}

(1. 山东大学药学院, 山东 济南 250012; 2. 山东省食品药品检验研究院, 山东 济南 250101)

摘要:建立了固相萃取结合离子色谱测定滴眼液中硼酸及硼砂含量的方法。以甲烷磺酸+甘露醇溶液为淋洗液、四甲基氢氧化铵+甘露醇溶液为再生液,用离子排斥分析柱分离、抑制型电导检测器检测,在浓度范围 1~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内硼酸线性关系良好,相关系数 $r=0.999\ 6$,检出限为 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。精密性及稳定性良好,低、中、高 3 种水平回收率分别为 102.5%、99.1%、98.5%,RSD 分别为 1.6%、1.3%、0.8%。该方法快速、准确,为滴眼液中硼酸及硼砂的测定提供了技术支持。

关键词:滴眼液;固相萃取;离子色谱法;硼酸;硼砂

中图分类号:O657.7+5

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2022)S2-0416-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn0253-4320.2022.S2.085

Determination of boric acid and borax contents in eye drops by solid phase extraction combined with ion chromatography

NI Ya-ping¹, NIU Shui-jiao², YU Hai-ying², LI Qi-yan², LIN Yu-jie^{1,2}, HUANG Gui-hua^{1*}

(1.School of Pharmaceutical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China;

2.Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China)

Abstract: A method is established for determining the contents of boric acid and borax in eye drops by solid phase extraction combined with ion chromatography. Methanesulfonic acid-mannitol solution is used as eluent, while tetramethylammonium hydroxide-mannitol solution is used as regeneration solution, samples are separated by ion exclusion column and detected by suppressed conductivity detector. It is shown from results that boric acid concentration exhibits good linearity in the range of 1–200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, with a correlation coefficient of 0.999 6, and a LOD of 0.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Detection for the contents of boric acid and borax has good precision and stability, the low, medium, high spiked recoveries are 102.5%, 99.1%, 98.5%, respectively, and RSDs equal to 1.6%, 1.3%, 0.8%, respectively. This method is rapid and accurate, which can provide technical supports for the determination of boric acid and borax in eye drops.

Key words: eye drops; solid phase extraction; ion chromatography; boric acid; borax

硼酸及硼砂在滴眼液中常被用作 pH 调节剂、缓冲剂、抗菌剂等,是滴眼液中的重要组成部分^[1-2]。硼元素是重要的化工医药原料^[3],也是人体必需的微量元素,在人体骨骼生长发育、注意力及记忆力等方面起到至关重要的作用。过量的硼元素进入体内可因蓄积而导致神经及消化系统毒性,如消化不良、呕吐、休克等^[4-6]。2020 年国家药品监督管理局颁布的《国家药监局关于修订含硼酸及硼酸盐药品说明书的公告》(2020 年第 50 号)对含硼酸及硼酸盐药品说明书不良反应、禁忌、注意事项等进行了修订^[7],充分说明含硼药物已引起了人们的广泛重视,全国药品评价抽验中也对眼用制剂中硼酸及硼砂等成分进行了持续性关注及研究^[8]。

作为眼部用药的一种常见剂型,有关滴眼液中

硼酸及硼砂的检测方法研究较少,《中国药典》(2020 年版)所收录的方法为酸碱滴定法^[9]。而食品及化妆品领域中相关研究也不多,主要有电位滴定法^[10]、亚甲胺-H 分光光度法^[11]、ICP-MS 法^[12]、离子色谱法^[13]。酸碱滴定法即以酚酞为指示剂,用 0.1 或 0.5 mol/L 的氢氧化钠滴定液滴定硼酸,然后以所消耗的滴定液体积折算试样中硼酸的含量。滴定法测定滴眼液样品时,样品中既含有硼酸原料所带来的游离 H^+ ,也可能含有非硼酸原料引入的 H^+ ,更有可能含有可以与 OH^- 产生络合或沉淀的金属离子等,而氢氧化钠滴定液中 OH^- 的实际消耗量取决于以上多种消耗方式的总和,所以使测定值比硼酸实际值偏大,从而引起方法误差。其他系统误差和偶然误差可能性也均较大,如滴定终点的判断、滴

收稿日期:2022-03-24;修回日期:2022-04-25

作者简介:倪亚萍(1987-),女,硕士生,研究方向为药物制剂及分析,854726191@qq.com;黄桂华(1963-),女,博士,教授,研究方向为生物药剂学与药动学,通讯联系人,hgh2003@126.com。

定温度、滴定管数值的读取等,均会引起测量数值的偏差。因此亟需建立一种操作快捷方便、灵敏度高、具有良好的精密度和可靠准确度的仪器测定方法用于测定滴眼液中的硼酸及硼砂含量,同时也可有效推动法定新方法或补充检验方法的建立。

本文旨在建立一种快速、高效、精确的固相萃取结合离子色谱法用以测定滴眼液中的硼酸及硼砂含量。近年来固相萃取技术应用广泛,其操作简单,可有效去除供试品中的干扰成分^[14],如本研究中的疏水性化合物及部分干扰离子,避免非目标成分对色谱柱的污染和对分离的影响。采用酸性淋洗体系甲磺酸溶液,可抑制硼酸($pK_a = 9.24$,弱酸)解离,使硼酸以分子形式(H_3BO_3)存在,同时也可使硼砂($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)在此酸性条件下转化为硼酸,反应过程如下: $B_4O_7^{2-} + 5H_2O + 2H^+ \longrightarrow 4H_3BO_3$,故在酸性体系下测定滴眼液中硼酸及硼砂含量时,均可采用硼酸作为对照品,从而实现用离子色谱法测定滴眼液中硼酸及硼砂含量。

1 试剂、试药与仪器

1.1 试剂与试药

硼酸溶液标准物质(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$,批号 20181026),北京北方伟业计量技术研究院;甘露醇(分析纯,批号 20190322)、四甲基氢氧化铵(TBAOH,25%水溶液,批号 20190910),国药集团化学试剂有限公司;甲烷磺酸(MSA, $\geq 99\%$,分析纯,批号 J19180009),Fluka公司;甲醇(色谱纯,批号 195912),德国 Merck 公司;艾杰尔 Cleanert IC 离子色谱前处理小柱(Cleanert IC-RP/H/Ag,粒度均为 40 μm),Agela 公司; N_2 (批号 20191227,纯度 99.99%),济南德洋特种气体有限公司;所用水均为超纯水(电阻率为 18.2 $M\Omega \cdot \text{cm}$)。滴眼液样品 7 批,均为市售产品。

1.2 仪器

Dionex ICS-5000 离子色谱仪[配 Dionex AS 自动进样器、四元梯度分析泵、检测器/色谱单元、电导检测器、排斥型阴离子微膜抑制器(ACRS-ICE 500 9 mm)、Chromleon 6.80 SR9 色谱工作站],Thermo Fisher 公司;IonPac ICE Borate 离子排斥分析柱(9 mm \times 250 mm),Thermo 公司;Milli-Q 超纯水机,密理博公司;Mettler Toledo MS105DU 分析天平(10^{-5}),梅特勒-托利多公司;KQ-500DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:离子排斥分析柱。淋洗液:3 mmol/L MSA+60 mmol/L 甘露醇。再生液:外接 25 mmol/L TBAOH+15 mmol/L 甘露醇。流速:1.0 mL/min。进样量:25 μL 。柱温:30 $^\circ\text{C}$ 。检测方式:抑制型电导检测,排斥型阴离子微膜抑制器。

2.2 系列标准溶液配制

准确移取硼酸溶液标准物质(1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 0.01、0.05、0.20、0.50、1.00、2.00 mL 于 10 mL 聚乙烯容量瓶中,用水定容至刻度,配制成浓度为 1.0、5.0、20.0、50.0、100.0、200.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列溶液。

2.3 供试品溶液的制备

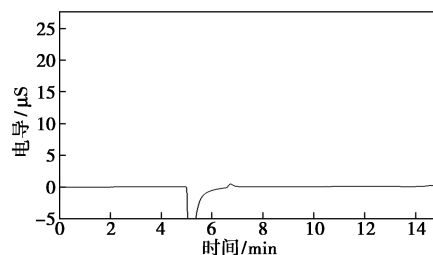
称取混合均匀滴眼液样品 0.5 g(精确到 0.000 1 g)于 50 mL 聚乙烯容量瓶中,加水 30 mL 并涡旋 1 min,然后再用水直接定容至刻度,混匀后作为待净化供试品溶液进行净化。

取固相萃取柱,用 10 mL 甲醇和 10 mL 水先后进行淋洗,平放 20 min。将待净化溶液倒入活化后的 Cleanert IC-RP 小柱,弃去初滤液 3 mL,取续滤液,经串联并已活化的 Cleanert IC-Ag 柱和 Cleanert IC-H 柱净化。弃去初滤液 3 mL,接取续滤液,作为待测溶液。

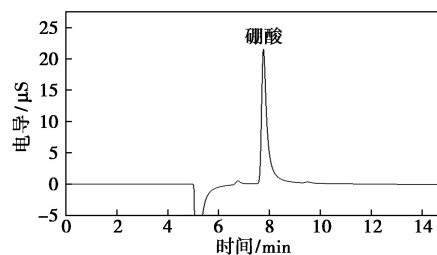
2.4 方法学考察

2.4.1 系统适应性

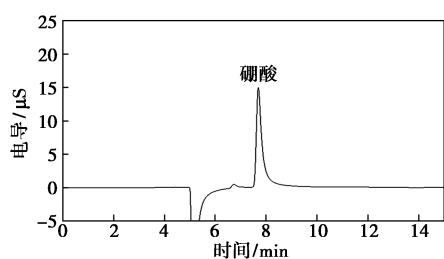
按 2.2 方法制备对照品溶液,按 2.3 方法制备供试品溶液及空白溶液,在 2.1 条件下进行测定。图 1 结果显示,硼酸在此测定条件下保留时间为



(a) 空白溶液



(b) 硼酸对照品



(c) 样品溶液

图 1 硼酸离子色谱图

7.767 min, 空白溶液无干扰, 未发现供试品溶液中其他组分在 7.767 min 处有干扰, 且与临近色谱峰分离度大于 1.5, 理论塔板数不低于 8 000, 系统适应性良好。

2.4.2 线性关系考察及检出限测定

取所配制的系列硼酸标准溶液, 按色谱条件依次进样分析, 以硼酸的质量浓度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) 为横坐标, 所测峰面积为纵坐标, 绘制线性回归曲线。以空白加标样品按 2.2 方法处理后进样, 用信噪比 (S/N) 为 3:1 时的溶液浓度计算硼酸的检出限 (LOD), 用信噪比 (S/N) 为 10:1 时的溶液浓度计算硼酸的定量限 (LOQ), 结果见表 1。

表 1 硼酸回归方程、相关系数、检出限、定量限

化合物	线性范围/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	线性方程	相关 系数 r	检出限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
硼酸	1~200	$Y=0.0285X-0.0351$	0.9996	0.5	1.0

2.4.3 精密度及稳定性

取 2.2 项下低、高两种浓度的标准溶液, 分别连续测定 6 次, 计算硼酸峰面积的相对标准偏差 (RSD, %), 分别为 1.63%、1.11%, 表明仪器精密度良好。

取 2.2 项下低、高两种浓度的标准溶液, 在室温下分别放置 0、5、10、15、20、24、36、48、60、72 h 后进行测定, 记录峰面积并计算其 RSD, 为 1.93%、2.58%, 结果表明硼酸在 72 h 内稳定。

2.4.4 重复性

按 2.3 方法制备滴眼液供试品溶液 (某氯霉素滴眼液) 6 份进行测定, 记录峰面积, 以外标法计算其硼酸含量为 $(148.023\ 5\pm 2.6)\ \mu\text{g}/\text{mL}$, 表明该方法的重复性良好。

2.4.5 准确性

称取约 0.25 g 滴眼液样品共 9 份, 分别加入硼酸标准溶液 ($1\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$) 3.0、3.7、4.5 mL, 制成

低、中、高 3 种浓度水平的加标回收样品各 3 份, 按 2.3 方法处理后进样, 计算加标回收率及其 RSD, 结果如表 2 所示。

表 2 滴眼液中硼酸回收率

加标水平	取样量/ g	测得量/ mg	原含量/ mg	加入量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
低水平	0.2823	7.0110	3.9866	3.0	100.81	102.5	1.6
	0.2766	6.9874	3.9061	3.0	102.71		
	0.2759	7.0158	3.8962	3.0	103.99		
中水平	0.2713	7.5111	3.8312	3.7	99.46	99.1	1.3
	0.2689	7.5008	3.7973	3.7	100.09		
	0.2753	7.5000	3.8877	3.7	97.63		
高水平	0.2693	8.2256	3.8030	4.5	98.28	98.5	0.8
	0.2727	8.2500	3.8510	4.5	97.76		
	0.2668	8.2400	3.7677	4.5	99.38		

2.5 样品测定

按上述所建立的检测方法对 7 批市售常见滴眼液产品中硼酸及硼砂含量进行测定, 以外标曲线法定量, 每份样品平行测定两次, 以平均值计算样品中硼酸及硼砂含量, 结果见表 3。

表 3 滴眼液中硼酸及硼砂的含量 %

编号	样品名称	生产批号	含量/%
样品 1	NF 滴眼液	18060901	0.34
样品 2	NMW 滴眼液	19051301	0.00
样品 3	LHN 滴眼液	19061401	0.11
样品 4	LMS 滴眼液	01190501	1.41
样品 5	YSDYFSX 滴眼液	1904133101	1.26
样品 6	TBMS 滴眼液	17I04EA	1.25
样品 7	FFLSXMS 滴眼液	19060302	0.40

3 讨论

3.1 固相萃取柱的选定

市售滴眼液类别繁多, 如抗菌消炎、抗病毒、抗真菌、降眼压、散瞳、缩瞳、润滑等, 有中药配方也有西药配方。各种辅料或添加剂成分复杂, 如抗氧化剂二叔丁基对甲酚、渗透压调节剂氯化钠、金属离子络合剂 (如依地酸钠等) 以及本文所测定的 pH 调节剂硼酸/硼砂。Cleanert IC-RP 柱可去除待测物中疏水性化合物; Cleanert IC-H 柱可去除碱土金属离子、过渡金属离子; Cleanert IC-Ag 柱可去除氯离子、溴离子等可与银离子生成沉淀的阴离子。Cleanert IC 系列离子色谱前处理柱利用反相吸附及离子交换原理, 可有效去除待测溶液中有机成分和干扰离子, 减少或避免杂质对目标成分的干扰, 延长色谱柱

寿命。

3.2 淋洗液的选定

排斥型离子色谱法(HPIEC)的主要分离原理为唐南排斥作用(Donnan exclusion),完全解离的酸不被固定相保留,死体积即可洗脱,而未解离的化合物不受唐南作用影响,可进入树脂微孔,并基于溶质和固定相间的非离子性相互作用而分离。在HPIEC中,保留时间的长短主要取决于被分析成分的 pK_a 值,酸性越弱,保留时间越长。硼酸的 pK_a 值为9.24,酸性较弱,在水中以 H_3BO_3 和 $B(OH)_4^-$ 的形式存在,酸性淋洗液抑制其解离,进而可采用离子排斥色谱法检测。

经查阅文献[15],本实验选用背景电导值较低的MSA和可与硼酸络合生成电离度较硼酸大的一价阴离子的甘露醇作为淋洗液,可保证硼酸较大程度地保留在离子排斥分离柱上。经固定硼酸浓度等条件,单因素考察MSA浓度对硼酸保留行为的影响发现,当浓度分别为0、1、2、3、4、5 mmol/L时,硼酸的保留时间逐渐延后,峰型拖尾情况也得到改善。当MSA的浓度为3 mmol/L时,保留时间为7.767 min,峰型较好。

硼酸为一种Lewis酸, pK_a 值为9.24,袁佳佳等^[16]研究指出,多羟基化合物可打破硼酸的电离平衡,使反应向电离方向移动,有效提高硼酸溶液的电导率。本研究选用甘露醇作为络合剂,固定MSA浓度为3 mmol/L,以离子色谱中硼酸峰面积作为观察指标,优化甘露醇浓度。分别考察甘露醇浓度为30、40、50、60、70 mmol/L时硼酸的响应值,结果显示不同浓度的甘露醇对硼酸的保留时间影响不大,但当其浓度为60 mmol/L时,响应值达到最大。

3.3 再生液的优化

再生液主要用于降低流动相背景电导值。本实验参照文献[17]方法,选用TBAOH作为再生液,其所电离出的 OH^- 可以与淋洗液中的 H^+ 中和生成 H_2O ,降低背景电导值,提高检测灵敏度。

为保证再生液可提供足够的 OH^- ,其理论浓度一般为淋洗液的10倍左右^[18],但实验中发现再生液的浓度会对背景电导值造成一定影响。固定淋洗液与再生液流速为1.0 mL/min,单因素考察TBAOH不同浓度时的电导值,对TBAOH浓度分别为20、23、25、28、30、33、35 mmol/L时系统平衡稳定($\Delta S \leq 0.02 \mu S/30 \text{ min}$)后的电导值进行监测,当再生液中TBAOH的浓度为25 mmol/L时,背景电导值最低。

4 结论

方法学验证及样品测定结果表明,固相萃取结合离子色谱法测定滴眼液中的硼酸及硼砂含量简单、高效,可有效地排除样品基质中其他组分的干扰,结果准确,可有效补充《中国药典》(2020年版)所载酸碱滴定法测定硼酸含量的单一性,避免因滴定终点判断不准确造成的含量误差,为滴眼液中硼酸及硼砂的测定提供新方法,为其质量控制提供检验依据,从而有效推动法定新方法或药品补充检验方法的建立。

参考文献

- [1] 刘福昌,双立飞,刘京芳.普拉洛芬滴眼液制备工艺研究[J].亚太传统医药,2014,10(13):27-28.
- [2] 刘钊,吴静萍,陈茜,等.国产加替沙星滴眼液的质量评价[J].中国抗生素杂志,2018,43(3):313-318.
- [3] 唐尧,陈春琳,熊先孝,等.世界硼资源分布及开发利用现状分析[J].现代化工,2013,33(10):1-4,6.
- [4] 崔杰,刘柏林,孟灿,等.2014—2018年安徽省部分豆类及豆制品中硼含量[J].卫生研究,2020,49(1):145-147.
- [5] 吴凌涛,余欣达,潘灿盛,等.非抑制离子色谱法测定膨化食品中硼砂(硼酸)[J].分析测试学报,2011,30(12):1396-1399.
- [6] 赵清志,安桂华.硼对人体的毒性作用[J].国外医学:医学地理分册,2000,21(1):29-31.
- [7] 国家食品药品监督管理局.国家药监局关于修订含硼酸及硼酸盐药品说明书的公告(2020年第50号)[EB/OL].[2020-04-08].<https://www.nmpa.gov.cn/directory/web/nmpa/xxgk/gggt/yypshmsxsdgg/20200408161301226.html>.
- [8] 肖璜,王似锦,周发友,等.硼类化合物在滴眼剂中抑菌效力的探讨[J].微生物学杂志,2016,36(4):58-61.
- [9] 国家药典委员会.《中国药典》(2020年版)二部[M].北京:中国医药科技出版社,2020:1751.
- [10] 金央,余德芳,赵小燕,等.自动电位滴定法测定硼矿酸解液中的硼酸含量[J].无机盐工业,2015,47(2):60-66.
- [11] 张文德,赵纳鹏.3-甲氧基-甲胺H光度法测定天然矿泉水中硼酸[J].环境与健康杂志,2001,18(3):172-173.
- [12] 郝春慧,冷桃花.微波消解-电感耦合等离子体质谱法测定化妆品中硼及硼酸盐含量[J].香料香精化妆品,2016,(3):44-46.
- [13] 刘甜,郝志伟,张超.离子色谱法测定面粉中的硼酸盐[J].分析化学,2010,38(2):300.
- [14] 孙海红,钱叶苗,宋相丽,等.固相萃取技术的应用与研究新进展[J].现代化工,2011,31(Z2):21-24,26.
- [15] 田文欣,俞浩杰.亚铁氰化钾作掩蔽剂的自动电位滴定法测定复方硫酸锌滴眼液中硼酸含量[J].化学工程师,2018,32(7):17,42-44.
- [16] 袁佳佳,贾铭椿,王晓伟.多羟基化合物对硼酸络合效果的实验研究[J].武汉理工大学学报(交通科学与工程版),2013,37(4):887-890.
- [17] 田鹏,徐焯,宋溪明,等.离子排斥色谱法测定12种有机酸的规律[J].东北大学学报,2003,24(2):198-200.
- [18] 牟世芬,刘克纳,丁晓静.离子色谱方法及应用[M].北京:化学工业出版社,2005:116. ■