

通则 0806 氰化物检查法

第四法

本法系采用连续流动注射技术和直流安培检测器测定氰离子(CN^-)含量(见附)。此法适用于还原胺化工艺制备的多糖蛋白结合疫苗中氰化物的含量测定。

实验条件 氰化物连续流动注射分析仪；进样体积为 200 μl ；样品周期时间为 160 秒；紫外波长为 312 nm；直流安培检测器。

试液 (1) 次磷酸硫酸溶液 取硫酸 55 ml，缓缓注入 500ml 水中，放冷，加次磷酸 20 ml，用水稀释至 1000 ml，摇匀，得含 2%次磷酸的 1 mol/L 硫酸溶液。

(2) 氢氧化钠溶液 取澄清的氢氧化钠饱和溶液 5.6 ml，加水使成 1000 ml，摇匀，即得 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液。

对照品溶液 精密量取氰化物对照品(水中氰成分分析标准物质或其他适宜的国家标准物质)适量，用水定量稀释制成每 1ml 约含氰离子(以 CN^- 计) 500 ng 的对照品贮备液。分别精密量取对照品贮备液适量，用水定量稀释并分别制成每 1ml 中约含氰离子(以 CN^- 计) 1.25、2.5、5、10、40、80 ng 的溶液。

灵敏度溶液 每 1ml 中约含氰离子(以 CN^- 计) 1.25ng 的对照品溶液。

供试品溶液 除另有规定外，取 3kD 超滤离心管，加水 1ml，以每分钟 4000g 离心 10 分钟(采用水平转头)或每分钟 7500g 离心 10 分钟(采用固定转头)，弃去水。精密量取供试品 2ml，置预先处理好的超滤离心管中，精密加氢氧化钠溶液 1ml，以每分钟 4000g 离心 45 分钟(采用水平转头)或每分钟 7500g 离心 45 分钟(采用固定转头)，再精密加水 1 ml，自“以每分钟 4000g 离心 45 分钟……”起，重复操作两次，合并下层液体，用水定容至 5ml，摇匀。

适用性要求 灵敏度溶液图谱中，主成分峰高的信噪比应不小于 10；以对照品溶液峰高对其相应的氰离子浓度计算线性回归方程，决定系数不低于 0.99。对照品溶液(5 ng/ml)连续进样 5 次，所得峰高的相对标准偏差(RSD)应不大于 5%。

测定法 将酸性试剂管路插入次磷酸硫酸溶液中，将碱性试剂管路插入氢氧化钠溶液中，将载液管路插入水中。开启蠕动泵，让溶液流经整个系统，待基线

平稳后，分别取灵敏度溶液、对照品溶液、供试品溶液注入分析仪，记录图谱并测定氰离子峰高。

结果计算 以对照品溶液峰高对其相应的氰离子浓度计算线性回归方程，根据回归方程计算供试品溶液中氰离子（以 CN^- 计）浓度 c (ng/ml)，乘以 2.5，即为供试品中氰离子（以 CN^- 计）的浓度 (ng/ml)。再除以多糖含量 (mg/ml) 即为供试品中氰化物残留量 (ng/mg)。

注意事项：（1）本法仅适合测定 CN^- ，不适合 CN^+ 和 OCN^- 。

（2）可根据供试品中氰化物含量调整对照品溶液浓度。

（3）供试品超滤完成后，膜上液体应不大于 100 μL ，若剩余较多，可延长超滤时间。

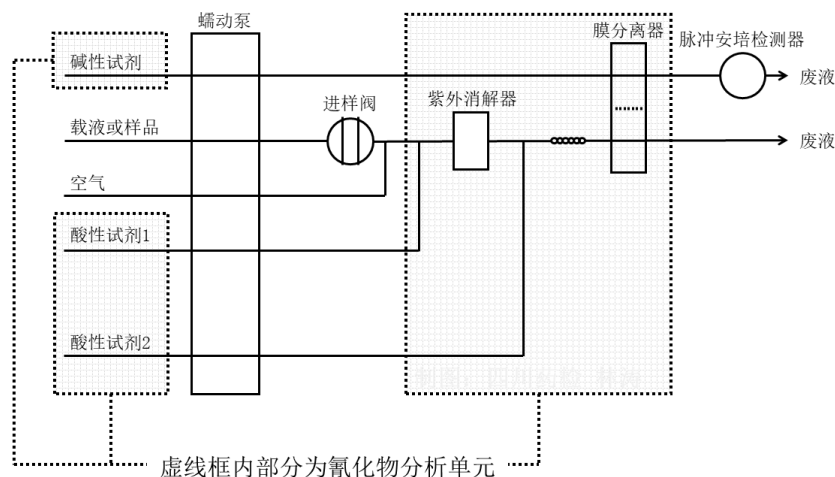
（4）必要时可先采用适宜溶剂稀释供试品至适宜浓度，应注意稀释用溶剂中氰化物对测定结果的影响，必要时应采用空白试验的方法对测定结果进行校正。

附氰化物连续流动注射分析法

本法系通过对供试品进行前处理（如超滤等），再使用连续流动注射技术添加酸性试剂 1，在酸性条件下，样品经过紫外消解（312nm）把供试品中的氰化物转化为氰离子（ CN^- ），再添加酸性试剂 2，将氰离子转换为氰化氢气体，该气体通过气体扩散膜扩散至碱液后又转化为氰离子（ CN^- ），用直流安培检测器进行检测。其中，氰离子（ CN^- ）与银/氯化银的参考电极发生配位交换，产生的电流（即峰高）与氰离子浓度成正比，最后通过标准曲线法得到供试品中氰基的量。本法适用于供试品经前处理可定量转化为氰离子（ CN^- ）的含量测定。

1.对仪器的一般要求

连续流动注射分析仪由蠕动泵、紫外消解器、膜分离器、直流安培检测器、数据处理系统等组成。仪器示意图如下：



(1) 蠕动泵：一种通过旋转滚轮周期性挤压弹性泵管，推动管内液体定向流动的流体传输装置。

(2) 紫外消解器：内置紫外灯（波长 312nm）的在线消解装置，通过紫外光解作用破坏氰化物络合物的化学键，释放游离氰离子。

(3) 膜分离器：基于气体扩散原理的分离模块，含疏水性微孔膜（如 PTFE 膜），允许气态氢氰酸透过，阻止液态干扰物进入检测系统。

(4) 直流安培检测器：基于电化学原理的检测装置，在恒定电位下测量氰离子在工作电极表面氧化/还原产生的电流信号。

(5) 数据处理系统：集成软件和硬件的自动化平台，用于信号采集、标准曲线拟合、浓度计算及结果输出。

2.适用性要求 满足品种项下规定的适用性要求。

3.数据处理

以测得的对照品溶液峰高对其相应的氰离子浓度计算线性回归方程，将供试品溶液峰高带入线性回归方程，求得供试品溶液中氰离子 浓度。

4.注意事项

(1) 不同品牌仪器试剂配制有所不同，可根据试剂情况进行调整，按照 ICH 《Q2（R2）：分析方法验证》指导原则的要求开展研究后使用。

(2) 不同品牌仪器泵速有所不同，可适当调整样品周期时间（需满足适用性要求）。