

# 离子色谱在2010版中国药典中的应用

- 肝素钠
- 帕米磷酸二钠
- 氯膦酸二钠及其制剂
- 盐酸头孢吡肟中的N-甲基吡咯烷



关注药物安全 关爱您的健康



戴安中国有限公司

2010年7月1日开始执行的中华人民共和国药典2010版与以往药典最大的不同之一是新增了离子色谱检测法，同时在附录中增加了离子色谱检测方法及其说明。

戴安公司作为世界上先进的离子色谱技术的研发及制造者，为满足用户各种分析需求，提供完整的离子色谱解决方案以及多型号的离子色谱仪，本资料汇集了2010版药典有关离子色谱的检测项目，并附录了药典中对离子色谱技术的描述，用以方便广大用户参考。

## 目 录

1、 离子色谱法针对肝素钠的测定 .....	2
a) 肝素钠的离子色谱法鉴别 .....	2
b) 肝素钠中有机杂质分析—半乳糖胺限度测定 .....	3
2、 帕米磷酸二钠离子色谱法测定 .....	4
3、 氯膦酸二钠及其制剂的含量与有关物质离子色谱法测定.....	5
4、 离子色谱电导检测法检测盐酸头孢吡肟中的N-甲基吡咯烷.....	6
5、 附录 .....	7
a) 2010版中国药典附录VJ离子色谱法.....	7
b) 美国药典有关肝素钠检测 .....	9

## 离子色谱针对肝素钠的测定

肝素钠的离子色谱法鉴别（本方法符合2010版中国药典<sup>1</sup>以及美国药典方法<sup>2</sup>）

肝素钠中多硫酸软骨素的测定是这次2010年中国药典中新增的肝素钠测定的内容，主要针对肝素钠以及肝素钠注射液中多硫酸软骨素的鉴别以及含量确定，同时该方法也与美国药典方法相似：

色谱条件：

- IonPac AS11戴安阴离子分析柱，250×2 mm  
IonPac AG11戴安阴离子保护柱，50×2 mm
- 淋洗液A：0.04% NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>，pH3.0
- 淋洗液B：0.04% NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/14% NaClO<sub>4</sub>，pH3.0
- 二元梯度0 min，80%A；60 min，10%A；61-75 min，80%A；
- 流速：0.22 mL/min
- 进样体积：10 μL

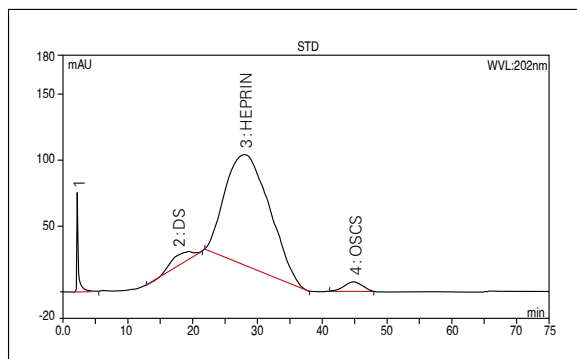


图1. 系统适用性实验谱图：溶液组成：0.2 mg/mL硫酸皮肤素（DS）；0.2 mg/mL多硫酸软骨素（OSCS）；20 mg/mL 肝素钠（Heparin）

实际样品测定谱图

肝素钠产品中多硫酸软骨素的测定（按照2010年中国药典以及美国药典方法）

样品前处理：取样品，制成20 mg/mL的水溶液。

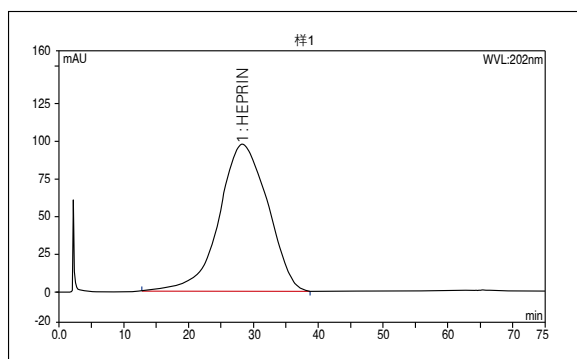


图2. 肝素钠产品谱图

肝素钠粗产品中多硫酸软骨素的测定（参考2010版中国药典以及美国药典方法）

样品前处理：称取样品0.1g，加水2.5 mL，混匀溶解后加2.5 mL乙腈，混匀后，于冰箱中沉降10 min，取出后用10000 rpm高速离心机离心10 min，取上层清液4 mL，用氮气吹干后，用水定容至8 mL，定容后的液体过0.22 μm尼龙滤膜，之后过OnGuard RP柱，滤液上机分析。

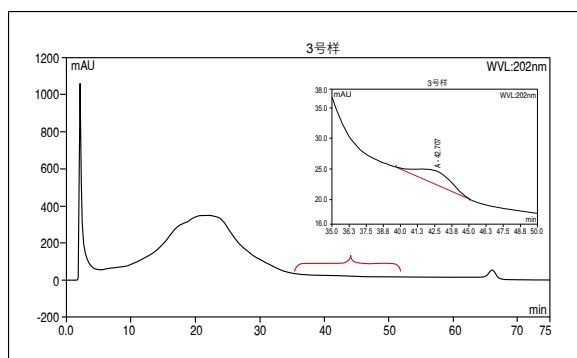


图3. 肝素钠粗产品中的多硫酸软骨素的测定

## 肝素钠中有机杂质分析-半乳糖胺限度测定（符合美国药典方法<sup>2</sup>）

戴安离子色谱符合美国药典针对肝素钠中的葡萄糖胺以及半乳糖胺的杂质进行分析的方法。

色谱条件：

- AminoTrap氨基酸捕获柱，50×4mm  
CarboPac PA20分析柱，150×3mm
- 淋洗液：0-10 min，14mM NaOH；10.1-15 min，200 mM NaOH；15.1-20 min，14 mM NaOH
- 流速：0.5mL/min
- Au工作电极 pH-Ag-AgCl参比电极
- 标准糖四电位波形
- 进样体积：10 $\mu$ L

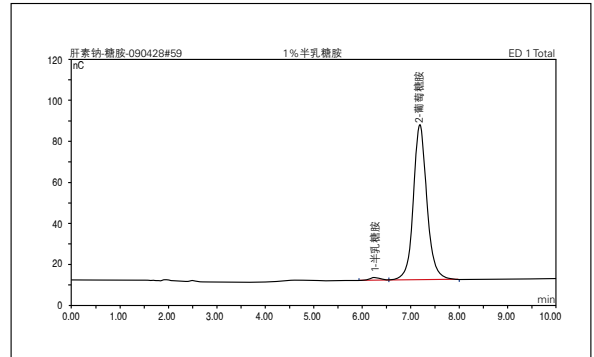


图4. 系统适用性实验谱图

溶液组成：1.6 mg/mL葡萄糖胺；16 $\mu$ g/mL半乳糖胺；均溶于5NHCl。二者等体积混合。

实际样品测定谱图

肝素钠中半乳糖胺限度测定

样品前处理：称取12mg肝素钠，于10mL玻璃管中，加5mL 5N盐酸溶解，密闭。100度加热样品溶液6小时，冷却至室温，转移溶液于500mL容量瓶，用水稀释至刻度，过0.22 $\mu$ m滤膜后进样。

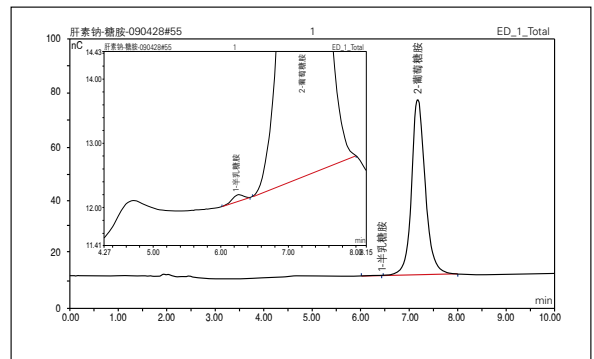


图5. 肝素钠产品中半乳糖胺限度测定谱图

肝素钠粗品中半乳糖胺的测定

样品前处理：精密称取肝素钠适量，于10mL玻璃管中，加5mL 5N盐酸溶解，密闭。100度加热样品溶液6小时，冷却至室温，加水稀释100倍，过0.22 $\mu$ m滤膜后进样。

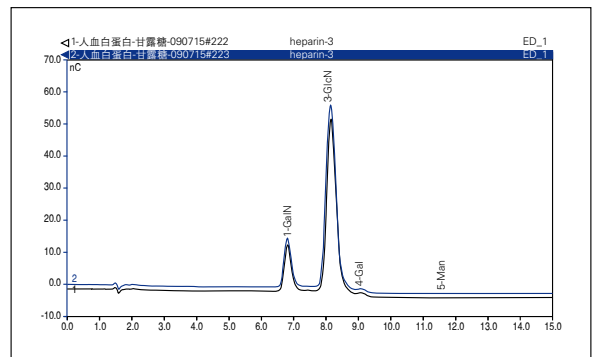


图6. 肝素钠粗品中半乳糖胺限度的测定谱图

# 帕米磷酸二钠离子色谱法测定

(符合2010年中国药典方法<sup>3</sup>)

2010年中国药典方法中针对帕米磷酸二钠注射液以及注射用帕米磷酸二钠中帕米磷酸二钠含量测定有了确定的方法:

- 色谱柱: IonPac AS22戴安阴离子分析柱, 250 × 4 mm  
IonPac AG22戴安阴离子保护柱, 50 × 4 mm
- 检测器: 非抑制型电导检测器
- 淋洗液: 3 mM草酸
- 流速: 1.2 mL/min
- 进样体积: 25 μL

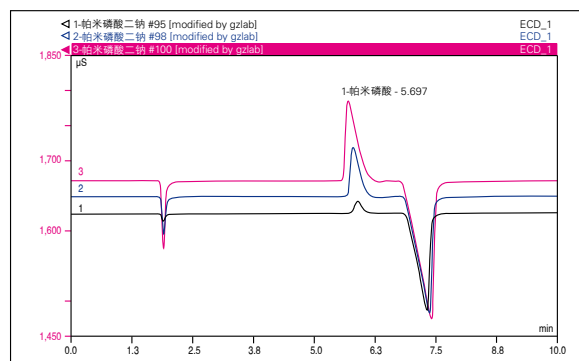


图7. 标准浓度100 ppm, 500 ppm及1000 ppm的帕米磷酸二钠色谱叠加图

# 氯磷酸二钠及其制剂的含量与有关物质测定

(符合2010年中国药典方法<sup>4</sup>)

2010年中国药典中增订了氯磷酸二钠及其胶囊与注射液中的氯磷酸二钠的含量测定，规定的离子色谱条件：

- 色谱柱：IonPac AS 11戴安阴离子分析柱，250×4mm  
IonPac AG 11戴安阴离子保护柱，50×4mm
- 淋洗液：KOH等度淋洗：45 mM
- 柱温：30℃
- 流速：1.2 mL/min
- 检测器：电导检测器
- 抑制器：ASRS 300 4 mm
- 进样体积：25 μL

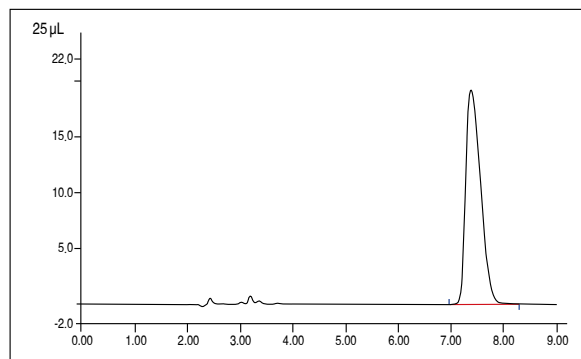


图8. 氯磷酸二钠标准溶液色谱图

有关物质测定规定的色谱条件：

- 色谱柱：IonPac AS 11戴安阴离子分析柱，250×4mm  
IonPac AG 11戴安阴离子保护柱，50×4mm
- 淋洗液：KOH梯度淋洗（0-20 min，20-50 mM；  
24-25 min，50-20 mM；25-30 min，20 mM）
- 柱温：30℃
- 流速：1.2 mL/min
- 检测器：电导检测器
- 抑制器：ASRS 300 4 mm
- 进样体积：25 μL

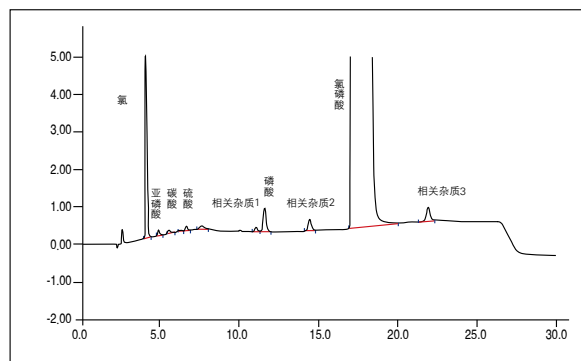


图9. 系统适用性测试谱图

供试品溶液（1.2 mg/mL无水氯磷酸二钠）

对照溶液（12 μg/mL无水氯磷酸二钠）

取氯化钠、亚磷酸与磷酸对照品，精密称定，分别加水溶解并定量稀释制成每1ml中含氯离子0.6 μg、亚磷酸6 μg与磷酸6 μg的溶液，作为对照品溶液(1)、(2)和(3)。

# 离子色谱电导检测法检测盐酸头孢吡肟中的N-甲基吡咯烷

(符合2010版中国药典方法<sup>5</sup>)

2010版药典中对盐酸头孢吡肟中的N-甲基吡咯烷的检测方法为电导检测法

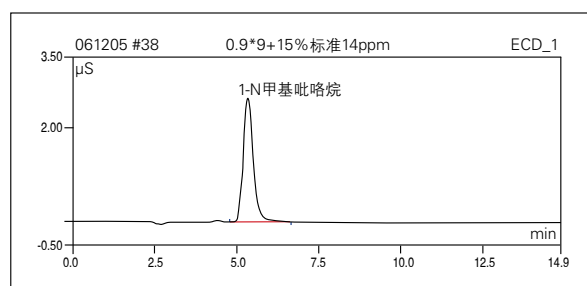
样品处理： N-甲基吡咯烷标准溶液，称取一定量标准品，用10mM硝酸稀释到所需浓度。样品称取0.088 g溶解在10 mL淋洗液中。直接进样。

进样速度： 0.9 mL/min

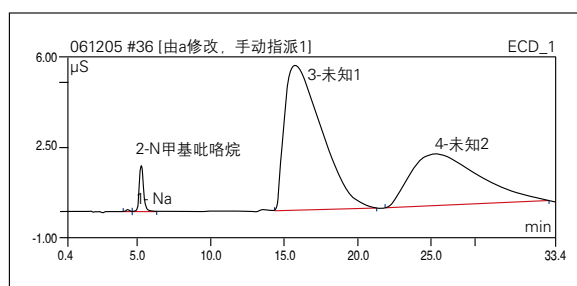
色谱柱类型： 阳离子柱 IonPac CS15， 25  $\mu$ L定量环

检测方式： CSRS抑制型电导检测，外加水模式

淋洗液组成： 9mM HNO<sub>3</sub>+15% 乙腈



标准溶液色谱图



样品溶液色谱图

峰名	浓度 (ppm)	样品中百分比含量
4- N-甲基吡咯烷	9.17	0.10%

样品中百分比含量=测得样品溶液浓度 × 溶液体积/样品称取量

- 注释： 1、 参见2010版药典366页  
 2、 参加本资料附录二  
 3、 参见2010版药典457-459页  
 4、 参见2010版药典1034-1035页  
 5、 参见2010版中国药典671页

# 附录一：2010版中国药典附录VJ离子色谱法

## 2010版中国药典附录VJ离子色谱法

离子色谱法系采用高压输液泵系统将规定的洗脱液泵入装有填充剂的色谱柱进行分离测定的色谱分析方法。注入的供试品由洗脱液带入色谱柱内进行分离后，经过抑制器或衍生系统进入检测器，由积分仪或数据处理系统记录色谱信号。离子色谱法常用与无机阴离子、无机阳离子、有机酸、醇糖类、氨基糖类、氨基酸、蛋白质、糖蛋白等物质的定性和定量分析。它的分离机理主要为离子交换，即基于离子交换树脂上可解离的离子与流动相中具有相同电荷的溶质离子之间进行的可逆交换；离子色谱法其他分离机理还有形成离子对、离子排阻等。

### 1、对仪器的一般要求

离子色谱仪器中所有与洗脱液或供试品接触的管道、器件、均应使用惰性材料，如聚醚醚酮（PEEK）等。仪器应定期检定并符合有关规定。

(1) **色谱柱** 离子交换色谱的色谱柱填充剂有两种，分别是有机聚合物载体和无机载体填充剂。

有机聚合物载体填充剂最为常用。填充剂的载体一般为苯乙烯-二乙烯基苯共聚物、乙基乙烯基苯-二乙烯基苯共聚物、聚甲基丙烯酸酯等有机聚合物。这类载体的表面通过离子键附聚了大量具有阴离子交换功能基（如烷基季铵基、烷醇季铵基等）或阳离子交换功能基（如磺酸、羧酸、羧酸-磷酸和羧酸-磷酸冠醚等）的乳胶微粒，可分别用于阴离子或阳离子的交换分离。有机聚合物载体填充剂在较宽的酸碱范围（pH 0-14）内具有较高的稳定性，具有一定的耐有机溶剂腐蚀性。

无机载体填充剂一般以硅胶为载体。在硅胶表面的硅醇基通过化学键合季铵基等阴离子交换功能基或磺酸基、羧酸基等阳离子交换功能基，可分别用于阴离子或阳离子的交换分离。硅胶载体填充剂机械稳定性好、在有有机溶剂中不会溶胀或收缩。硅胶载体填充剂在pH 2-8的洗脱液中稳定，一般适用于阳离子样品的分离。

(2) **洗脱液** 离子色谱对负载样品的分离主要依赖于色谱柱的填充剂，而洗脱液相对较为简单。分离阴离子场常采用稀碱溶液、碳酸盐缓冲液等作为洗脱液；分离阳离子常采用稀甲烷磺酸溶液等作为洗脱液。通过增加或减少洗脱液中酸碱溶液的浓度可提高或降低洗脱液的洗脱能力；在洗脱液内加入适当比例的有机改性剂，如甲醇、乙腈等可改善色谱峰峰形。制备洗脱液的去离子水应经过纯化处理，电导率一般小于 $0.056\mu\text{S}/\text{cm}$ 。使用的洗脱液需经脱气处理，常采用氮气在线脱气的方法，也可以采用超声、减压过滤或冷冻的方式进行离线脱气。

(3) **检测器** 电导检测器是离子色谱常用的检测器，其他检测器有紫外检测器、安培检测器、蒸发光散射检测器等。

电导检测器主要用于测定无机阴离子、无机阳离子和部分极性有机物，如羧酸等。离子色谱法中常采用抑制型电导检测器，即使用抑制器将具有较高电导率的洗脱液在进入检测器之前中和成具有极低电导率的水或其他较低电导率的溶液，从而显著提高电导检测的灵敏度。

安培检测器用于分析解离度低、但具有氧化或还原性质的化合物。直流安培检测器可以测定碘离子（ $\text{I}^-$ ）、硫氰酸根离子（ $\text{SCN}^-$ ）和各种酚类化合物等。积分安培检测器和脉冲安培检测器则常用于测定糖类和氨基酸类化合物。

紫外检测器适用于在高浓度氯离子等存在下痕量的溴离子（ $\text{Br}^-$ ）、亚硝酸根离子（ $\text{NO}_2^-$ ）、硝酸根离子（ $\text{NO}_3^-$ ）以及其他具有强紫外吸收成分的测定。柱后衍生-紫外检测法常用于分离分析过渡金属离子和镧系金属等。

蒸发光散射、原子吸收、原子发射光谱、电感耦合等离子体原子发射光谱、质谱（包括电感耦合等离子体质谱）也可作为离子色谱的检测器。离子色谱在与蒸发光散射检测器和（或）质谱检测器等联用时，一般采用带有抑制器的离子色谱系统。

### 2、样品处理

离子色谱法的色谱柱填充剂大多数不兼容有机溶剂，一旦污染后不能用有机溶剂清洗，所以离子色谱法对样品处理的要求较高。对于基质简单的澄清水溶液一般通过稀释和 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜过滤后直接进样分析。对于基质复杂的样品，可通过微波消解、紫外光降解、固相萃取等方法去除干扰物后进样分析。



### 3、系统适用性试验

照高效液相色谱法（附录V D）项下相应的规定。

### 4、测定法

- (1) 内标法
- (2) 外标法
- (3) 面积归一化法

上述（1）-（3）法的具体内容均同高效液相色谱法（附录V D）项下相应的规定。

(4) 标准曲线法 按各品种项下的规定，精密称（量）取对照品适量配制成贮备液。分别量取贮备溶液配制成一系列梯度浓度的对照溶液。量取上述梯度浓度的对照品溶液各适量注入仪器，记录色谱图。测量对照品溶液中待测组分的峰面积或峰高。以标准溶液的峰面积或峰高为纵坐标，以标准溶液的浓度为横坐标，回归计算标准曲线，其公式为： $A_R = a \cdot C_R + b$

式中  $A_R$  为对照溶液的峰面积或峰高

$C_R$  为对照溶液的浓度

$a$  为标准曲线的斜率

$b$  为标准曲线的截距

再取各品种项下供试品溶液，注入色谱仪，记录色谱，测量供试品溶液中待测成分（或其杂质）的峰面积或峰高。按下式计算其浓度：

$$C_S = (A_S - b) / a$$

式中  $A_S$  为供试品溶液的峰面积或峰高；

$C_S$  为供试品溶液的浓度；

$a$ ， $b$  符号的意义同上。

上述测定法中，以外标法和标准曲线法最为常用

(以上参见中国药典2010版附录38-39页)

## 附录二：美国药典有关肝素钠检测

摘自：Pharmacopeial Forum, Vol. 35(2) [Mar.–Apr. 2009], 1-10

### 肝素钠

#### B. 肝素钠的色析法鉴别

溶液 A：溶解 0.8 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  于 2 L 水，用磷酸调节 pH 值到 3.0。用 0.45  $\mu\text{m}$  膜过滤溶液，临用前脱气。

溶液 B：溶解 0.8 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  和 280 g  $\text{NaClO}_4$  于 2 L 水中，用磷酸调节 pH 到 3.0。用 0.45  $\mu\text{m}$  膜过滤溶液，临用前脱气。

流动相：按照下列梯度：

时间(min)	溶液 A(%)	溶液 B(%)	洗脱
0	80	20	平衡
60	10	90	线性梯度
61	80	20	线性梯度
75	80	20	再平衡

硫酸皮肤素标准溶液：20 mg/mL USP Dermatan Sulfate RS 于水中

多硫酸软骨素标准溶液：20 mg/mL USP Oversulfated Chondroitin sulfate RS 水溶液

标准溶液：不低于 20 mg/mL USP Heparin

系统适用性溶液：系统适用性溶液含有 1% (v/v) 硫酸皮肤素、多硫酸软骨素的标准溶液。

样品溶液：不低于 20 mg/mL 肝素钠水溶液

#### 色谱系统

模式：液相色谱

检测器：UV 202 nm

色谱柱：2 mm × 25 cm；L61 (IonPac AS11 戴安阴离子分析柱)

保护柱：2 mm × 50 mm；L61 (IonPac AG11 戴安阴离子保护柱)

流速：0.22 mL/min

进样体积：10  $\mu\text{L}$

#### 系统适用性

样品：系统适用性溶液

注意硫酸皮肤素、肝素和多硫酸软骨素的保留时间约为 20、30 和 50 min。

#### 适用性要求

分离度：硫酸皮肤素和肝素的分离度不低于 1.0，肝素和多硫酸软骨素的分离度不低于 1.5

相对偏差：三次重复进样，肝素峰不大于 2%

#### 测定

样品：标准溶液和样品溶液

按照上述色谱条件，测定主峰的保留时间

验收标准：样品溶液的主峰与标准溶液主峰的保留时间一致

肝素钠中的有机杂质：

总氨基己糖中半乳糖胺的限度 (硫酸皮肤素和其他半乳糖胺杂质的测定)

流动相：14 mM 氢氧化钾

葡萄糖胺标准溶液：1.6 mg/mL USP Glucosamine Hydrochloride RS，溶于5N盐酸中

半乳糖胺标准溶液：16 μg/mL of USP Galactosamine Hydrochloride RS，溶于5N盐酸中

标准溶液：Glucosamine标准溶液和Galactosamine 标准溶液等量混合

水解标准溶液：转移5 mL标准溶液于7 mL带螺帽试管中，盖上盖子，100度加热6小时。冷却至室温，定量转移溶液于500 mL容量瓶中，用水稀释至刻度。

样品溶液：转移 12 mg肝素钠于7 mL带螺帽试管中，溶解5 mL 5N盐酸中，盖上盖子。

水解样品溶液：100度加热样品溶液6小时，冷却至室温，转移溶液于500 mL容量瓶，用水稀释至刻度。

step	Time(S)	Potential(v)	Integration
1	0.01	0.1	
2	0.20	0.1	Begins
3	0.40	0.1	Ends
4	0.41	-2.0	
5	0.42	-2.0	
6	0.43	+0.6	
7	0.44	-0.1	
8	0.50	-0.1	

色谱系统

模式：HPIC

检测器：脉冲安培检测器，波形：该波形为糖检测的四电位波形

色谱柱：3 mm × 30 mm 氨基酸捕获柱，3 × 30 mm 保护柱和3 mm × 15 cm分析柱  
(CarboPac PA20)

柱温：保持在30度

流速：0.5 mL/min

预平衡：流动相至少60 min

进样量：10 μL

洗脱：流动相10 min

色谱柱清洗：100 mM KOH洗至少10 min

平衡：每次进样前，流动相平衡至少10 min

系统适用性

样品：水解标准溶液

适用性要求：

分离度：半乳糖胺和葡萄糖胺峰不低于2

柱效：葡萄糖胺理论塔板数不低于2000

拖尾因子：半乳糖胺和葡萄糖胺峰在0.8和 2.0之间

测定

样品：水解标准溶液 水解样品溶液

记录色谱图，测定与半乳糖胺和葡萄糖胺保留时间相应的峰的响应值

计算半乳糖胺和葡萄糖胺在水解标准溶液中的响应值之比：

$$(\text{GalNB}/\text{GalNW}) \times (\text{GlcNW}/\text{GlcNB})$$

GalNB = 水解标准溶液中半乳糖胺峰面积

GalNW = 标准溶液中半乳糖胺的重量

GlcNB = 水解标准溶液中葡萄糖胺的峰面积

GlcNW = 标准溶液中葡萄糖胺的重量

计算总氨基己糖中半乳糖胺的百分比：

$$[(\text{GalNU}/\text{GalNR})]/[(\text{GalNU}/\text{GalNR}) + \text{GlcNU}] \times 100$$

GalNU = 水解样品溶液中半乳糖胺的峰面积

GalNR = 半乳糖胺相应值比

GlcNU = 水解样品溶液葡萄糖胺的峰面积

验收标准：水解样品溶液中的半乳糖胺在总氨基己糖中的含量不超过1%。

## 戴安中国有限公司

### 香港总部

香港新界葵涌兴芳路223号  
新都会广场1座16楼1618-1619室  
电话: (852) 24283282  
传真: (852) 24287898  
E-mail: dionex@dionex.com.hk

### 北京代表处

北京市朝阳区安定路33号  
化信大厦A座606室  
邮编: 100029  
电话: (010) 64436740  
(010) 64436741  
传真: (010) 64432350  
E-mail: beijing@dionex.com.cn

### 上海代表处/维修站

上海淮海中路1号  
柳林大厦2311室  
邮编: 200021  
电话: (021) 63735493  
(021) 63735348  
传真: (021) 63848294  
E-mail: shanghai@dionex.com.cn

### 应用研究中心

北京市海淀区双清路18号  
中科院生态环境中心  
邮编: 100085  
电话: (010) 62849182  
传真: (010) 62849239  
E-mail: Dionex\_App@dionex.com.cn

### 维修服务中心

北京市朝阳区安定路33号  
化信大厦A座606室  
邮编: 100029  
电话: (010) 64436740  
(010) 62936510  
传真: (010) 62923552  
E-mail: service@dionex.com.cn

### 广州联络处/维修站

广州市先烈中路100号大院34号楼203  
邮编: 510770  
电话: (020) 87684181/2  
传真: (020) 87684169  
E-mail: liugangqian@dionex.com.cn  
广州市天河区天府路237号  
华建大厦C座906室  
邮编: 510630  
电话: (020) 88316797/39442165  
传真: (020) 85613258  
E-mail: penghong@dionex.com.cn

### 成都联络处/维修站

四川省成都市顺城大街308号  
冠城广场8楼F座  
邮编: 610017  
电话: (028) 86528208  
传真: (028) 86528204  
E-mail: chengdu@dionex.com.cn

戴安公司客户服务专线:  
400-610-0104

戴安离子色谱可广泛应用于环保、疾控、给排水、公安、烟草、农业、质检、医药、化工、电力能源、电子电镀、食品化工、科研院所等领域中的无机阴阳离子及有机酸碱、糖、氨基酸、抗生素等的分析。



## ICS-1600/ICS-1100/ICS-900离子色谱

由先进的输液泵、恒温电导检测器、柱箱组成。

可选配多种检测器以及多用途的AS系列样品前处理和自动进样系统。

可轻松完成ppm-ppt级分析，广泛应用于环境分析、药品及食品安全、质量控制等领域。

均可升级为免化学试剂离子色谱（RFIC）系统。

## ICS-2100离子色谱

ICS-2100是世界上第一款同时集淋洗液在线发生器（RFIC-EG）和免化学试剂电解样品前处理装置（RFIC-ESP）于一体的离子色谱仪。

具有等度和梯度淋洗功能。2 mm体系色谱柱与4 mm体系色谱柱均可在该仪器上完成工作。

可选配电导、电化学、紫外/可见、荧光、二极管阵列、质谱等各种检测器以及多用途的AS系列样品前处理和自动进样系统。

可用于阴离子、阳离子、过渡金属、有机酸等的分析。

## ICS-3000多功能离子色谱仪

ICS-3000是世界上第一台真正同时进行双系统分析的色谱仪。可一次进样同时完成阴阳离子的分析或其他分析（氨基酸、糖、多肽等），具有双泵、双淋洗液发生装置、双柱、双检测器功能可选。其完美卓越的性能将色谱分析带入一个新的更高境界。

具有离子色谱、生物液相以及氨基酸直接分析功能。可进行阴阳离子、有机酸、过渡金属价态分析、有机化合物的分析。碳水化合物、蛋白质、氨基酸、多肽、核酸、和敏感的生物小分子包括各种广谱抗菌素等药物分子的分析。



ICS-3000

