

# 离子色谱法同时测定葡萄糖酸钙及其杂质 (Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)的含量

刘文英 周炜\* 盛龙生 安登魁

(中国药科大学, 南京)

**提要** 本文采用 Waters ILC-1 离子液相色谱仪, IC-PAK A 50×4.6 mm 色谱柱, pH 6.6 1×10<sup>-3</sup>mol/L 邻苯二甲酸溶液为流动相, 430 型电导检测器检测, 由外标法和外标单点校正法同时测定了葡萄糖酸钙及其杂质 (Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) 的含量。方法简便、快速, 测定结果与中国药典法一致。外标法和外标单点校正法测定 Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 的平均回收率为 100.8% 和 100.2%, 相关系数分别为 0.9951 (n=8) 和 0.9961 (n=8)。

**关键词** 葡萄糖酸钙; 氯化物; 硫酸盐; 离子色谱法

近年来, 离子色谱法进展很快<sup>(1)</sup>, 在环境监测、食品分析等方面应用较多, 在药物分析中的应用报道较少。中国药典 1985 年版测定葡萄糖酸钙采用络合滴定法<sup>(2)</sup>, 杂质检查均为限度检查。本文采用离子色谱法研究了药物及其杂质 (Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) 的同时分离、分析, 10 min 内完成了葡萄糖酸根离子及其杂质 (Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) 的分离 (见图 1), 并用外标法 (简称 I 法) 和外标单点校正法 (II 法) 测定了葡萄糖酸钙, 氯化物和硫酸盐的含量。

## 实 验 部 分

### 一. 仪器与药品

ILC-1 离子色谱仪 (Waters Associates, USA), 包括: 590 型平流往复泵, 430 型电导检测器, 740 型数据处理机, 100 μl ILCI 六通进样阀; BYT-120 A 型石英亚沸提纯器 (宜兴县和桥玻璃仪器二厂); 25 型酸度计 (上海冰箱厂); TI-59 可编程序计算器 (Texas Instruments, USA)。葡萄糖酸钙标准品及供试品 (南通第一制药厂和常州市第二制药厂提供); 氯化钠, 硫酸盐 (基准试剂, 沈阳试剂厂), 氢氧化锂 (AR, 北京化工厂); 邻苯二甲酸 (AR, 上海试剂三厂)。ACCELL™ CM SEP-PAK (Waters Associates, USA)。

### 二. 色谱条件

色谱柱 IC-PAK A 50×4.6 mm ID。流动相 pH 6.6 1×10<sup>-3</sup>mol/L 邻苯二甲酸溶液,

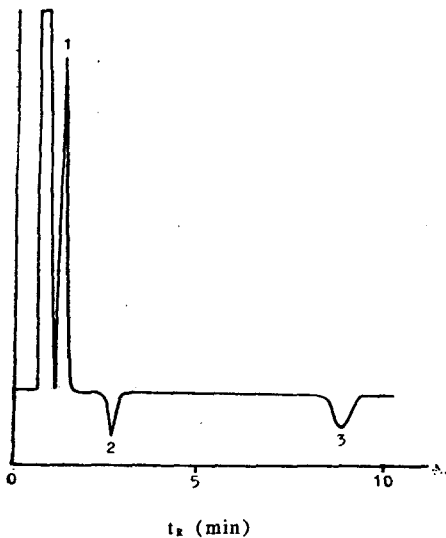


Fig 1. A typical chromatogram of gluconate (1), chloride (2) and sulfate (3).

流速 1.2 ml/min, 检测器灵敏度  $5 \mu\text{S FS}$ 。

### 三. 实验方法

#### (一) 葡萄糖酸钙的含量测定

##### 1. 标准曲线的制备

精密吸取 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 ml 葡萄糖酸钙标准溶液 (500 ppm 葡萄糖酸根离子的水溶液) 于 50 ml 量瓶中, 分别加水至刻度, 混匀, 得五种不同浓度的标准系列。在以上色谱条件下, 分别进样 100  $\mu\text{l}$ , 每一浓度进样 5 次。以标准葡萄糖酸根浓度  $C(\text{ppm})$  为横座标, 数据处理机得出的相应峰面积  $A(\mu\text{V}\cdot\text{s})$  为纵座标, 计算所得曲线的回归方程为  $A = 7.519 \times 10^3 C - 2.448 \times 10^4$ ,  $r = 0.9954 (n = 5)$ 。实验结果表明, 葡萄糖酸根浓度在 20~100 ppm 与其峰面积呈良好的线性关系。

##### 2. 样品测定

(1) I 法 每一批号葡萄糖酸钙样品测定液 (精密配制浓度约为 30 ppm) 进样三次, 每次 100  $\mu\text{l}$ , 将数据处理机所得的峰面积  $A$  代入回归方程, 计算样品中葡萄糖酸钙的百分含量。

(2) II 法 取 I 法中样品测定液及相近浓度的葡萄糖酸钙标准液按“标—样—标—样—标—样”顺序进样, 每次进样 100  $\mu\text{l}$ , 由数据处理机打印出样品中葡萄糖酸根的测得浓度, 依照 I 法求得样品百分含量。两法及药典法测得结果比较见表 1。

Tab 1. Comparison of results from the proposed methods and the pharmacopoeia method

No.	Method I		Method II		Method III		CV%	CV*%	I-III	I-II	I-II	$t_{4,0.05}$
	C%	SD	C%	SD	C%	SD						
1	99.74	2.0	99.17	2.60	99.20	0.21	0.31	0.26	0.396	0.020	0.227	2.776
2	96.65	3.7	97.26	2.80	98.19	0.22	0.44	0.80	0.720	0.574	0.228	
3	98.89	0.81	98.71	2.10	99.64	0.30	0.13	0.50	1.504	0.759	0.139	
4	100.65	0.11	99.88	1.45	101.48	0.80	0.54	0.83	1.781	1.674	0.918	

I: External standard method; II: External standard single-point calibration method; III: Pharmacopoeia method.

C%: Average of three determinations

CV%: Variation coefficients of methods I and II

\*CV%: Variation coefficients of the proposed methods and the Chinese Pharmacopoeia method

#### (二) 葡萄糖酸钙中杂质 $\text{Cl}^-$ 和 $\text{SO}_4^{2-}$ 的定量测定

##### 1. 标准曲线的制备

精密吸取含有 100 ppm  $\text{Cl}^-$  和 200 ppm  $\text{SO}_4^{2-}$  的标准储备水溶液 10.0 ml, 用水准确稀释至 100.0 ml, 混匀, 得 10 ppm  $\text{Cl}^-$  和 20 ppm  $\text{SO}_4^{2-}$  的标准溶液。精密吸取此标准溶液 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 ml 置于 100 ml 量瓶中, 加入 1 ml 0.05% 标准葡萄糖酸钙 (不含  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$ ) 水溶液, 加水稀释至刻度, 混匀, 每份样品进样 5 次, 以标准  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的浓度 (ppm) 为  $x$ , 数据处理机得出的相应峰面积的平均值 ( $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ ) 为  $y$ , 求回归方程, 则  $\text{Cl}^-$  的标准曲线为  $y = 3.3001 \times 10^4 x - 3.746 \times 10^2$ ,  $r = 0.9998 (n = 7)$ 。  $\text{SO}_4^{2-}$  的标准曲线为  $y = 2.4643 \times 10^4 x + 2.104 \times 10^3$ ,  $r = 0.9992 (n = 7)$ 。

实验结果表明,  $\text{Cl}^-$  浓度在 0.1~1.2 ppm,  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度在 0.2~2.4 ppm 范围内与其峰面积呈良好的线性关系。

##### 2. 回收率的测定<sup>(3)</sup>

## (1) I 法

精密称取葡萄糖酸钙样品 400 mg 置于 500 ml 烧杯中, 加水适量使样品全部溶解, 转入 500 ml 量瓶中, 用水稀释至刻度, 混匀。

精密吸取上述溶液 25.0 ml 4 份, 置于 4 个 100 ml 量瓶中, 分别加入  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的标准溶液 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 ml, 加水至刻度, 混匀。此溶液经 ACCELL™ CM SEP-PAK 小柱(以下简称 CM SEP-PAK 小柱)过滤, 弃去初滤液, 取续滤液供以下色谱分析用。

在前述色谱条件下, 每份样品进样 100  $\mu\text{l}$ , 共 3 次, 将色谱数据处理机得出的峰面积代入相应的标准曲线回归方程中, 求得  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的测得浓度(ppm)(三次测定值的变异系数小于 4.7%), 以加入标准品浓度为  $x$ , 测得样品浓度为  $y$ , 求回归方程, 此回归方程的斜率乘以 100 即为回收率, 截距即为样品中所含杂质的浓度。本法测定结果见表 2。

Tab 2. Recovery of  $\text{Cl}^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  by proposed methods

Standard $\text{Cl}^-$ added (ppm)	$\text{Cl}^-$ found (ppm)		Standard $\text{SO}_4^{2-}$ added (ppm)	$\text{SO}_4^{2-}$ found (ppm)	
	I	II		I	II
0.40	0.4041	0.4142	0.80	0.9240	0.8713
0.60	0.6134	0.6376	1.20	1.2848	1.3248
0.80	0.7807	0.7802	1.60	1.7993	1.7238
1.00	1.0496	1.0087	2.00	2.0695	2.0941
Regression equations:					
Method I	$Y = 1.0519X - 0.02438$ $r = 0.9957$ (n=4)			$Y = 0.9878X + 0.1366$ $r = 0.9968$ (n=4)	
Method II	$Y = 0.9640X + 0.03586$ $r = 0.9965$ (n=4)			$Y = 1.01685X + 0.07991$ $r = 0.9989$ (n=4)	
I and II	$Y = 1.0079X + 0.0057$ $r = 0.9951$ (n=8)			$Y = 1.0023X + 0.1082$ $r = 0.9961$ (n=8)	

I and II see table 1.

## (2) II 法

采用“标准曲线制备”项下配制的 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ppm 的标准溶液和上述回收率项下的样品溶液, 以相应浓度作为一组, 按“标一样一标一样一标一样”进样, 每次 100  $\mu\text{l}$ , 直接由数据处理机得出样品中  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的测得浓度(3 次测定值的变异系数小于 4.5%), 仍按加入标准品浓度为  $x$ , 测得样品浓度为  $y$ , 求回归方程。测定结果见表 2。

实验结果表明, 葡萄糖酸钙中  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  采用 I 法和 II 法进行回收率测定时, 二法平均回收率分别为 100.8% 和 100.2%, 相关系数<sup>(4)</sup>分别为 0.9951 和 0.9961 (n=8)。

3. 样品中  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的测定

## (1) I 法

精密称取不同批号葡萄糖酸钙样品 200 mg, 分别置于 250 ml 量瓶中, 用水溶解并稀释至刻度。精密吸取此溶液 25.0 ml 置于 100 ml 量瓶中, 精密加入 6.0 ml 标准  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  溶液, 加水至刻度, 混匀。用 CM SEP-PAK 小柱过滤, 弃去初滤液, 取续滤液供分析用。每一样品进样 100  $\mu\text{l}$  共 3 次, 将色谱数据处理机得出的峰面积代入相应的标准曲线回归方程中, 求得  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的测得浓度  $y_i$ (ppm)。

## (2) II 法

样品溶液配制同上述 I 法项下; 标准对照液取“标准曲线的制备”项下浓度为 0.6 ppm

$\text{Cl}^-$ 和 1.2 ppm  $\text{SO}_4^{2-}$ 者。按“标一样—标一样—标一样”进行各样品液的分析，每次进样量为 100  $\mu\text{l}$ ，由数据处理机得出  $\text{Cl}^-$ ， $\text{SO}_4^{2-}$  的测得浓度  $y_i(\text{ppm})$ 。

I 法和 II 法中测得浓度  $y_i(\text{ppm})$  减去相应的标准加入浓度 ( $\text{Cl}^-$  为 0.60 ppm,  $\text{SO}_4^{2-}$  为 1.20 ppm) 即得实际含有杂质的浓度。结果见表 3。

Tab 3. Results of the determination of  $\text{Cl}^-$  and  $\text{SO}_4^{2-}$  in drug

No.	$\text{Cl}^-$ (ppm)		Average (ppm)	CV%	$\text{SO}_4^{2-}$ (ppm)		Average (ppm)	CV%
	Method I	Method II			Method I	Method II		
1	0.0011	0.0428	0.0220	4.7	0.1056	0.1804	0.1430	3.9
2	0.0149	0.0380	0.0265	2.6	0.1135	0.1102	0.1119	0.2
3	0.0148	0.0668	0.0408	5.2	0.0105	0.0631	0.0368	3.0
4	0.0096	0.0325	0.0211	2.6	0.1163	0.0865	0.1014	4.2

Each concentration is the average of three determinations (CV% $\leq$ 5.5).

## 讨 论

一. 将电阻率为 2  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$  以上的去离子水 (本校制药厂获得) 经石英亚沸提纯器蒸馏, 可得到纯度满足本实验要求的纯水。

二. 离子色谱法中, 流动相及样品溶液的 pH 值对组分分离度影响较大。当流动相 pH 值一定时, 分离度亦随样品浓度不同而异。实验表明, 当采用 pH 6.6  $1\times 10^{-3}\text{mol/L}$  邻苯二甲酸水溶液为流动相, 葡萄糖酸根浓度为 20~100 ppm 时, 可使葡萄糖酸根的色谱峰与溶剂峰和杂质峰达到满意的分离。

三. 实验中曾用 1 mol/L NaOH 溶液代替 1 mol/L LiOH 调节流动相的 pH 值, 结果色谱峰基线漂移, 影响测定。

四. 杂质标准曲线制备中, 加入少量标准葡萄糖酸钙 (不含  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ), 能改善溶剂峰拖尾现象, 从而提高了  $\text{Cl}^-$  的最低检出灵敏度, 线性范围低限由 0.2 ppm 提高至 0.1 ppm, 致使应取药物的量减少了一半, 简化了样品预处理步骤, 提高了回收率及精密度。

五. 回收率测定中, 采用 5 $\times$ 1 cm ID 弱酸型离子交换树脂床代替 CM SEP-PAK 小柱, 可得同样的回收率和结果。

六. 中国药典 1985 年版规定葡萄糖酸钙中含  $\text{Cl}^-$  量不得超过 0.05%, 含  $\text{SO}_4^{2-}$  量不得超过 0.1%, 按本文称取样品量计, 样品中允许含  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的量分别为 0.01 mg 和 0.02 mg 故按本法最终测定液浓度计, 不得超过 0.1 ppm  $\text{Cl}^-$  和 0.2 ppm  $\text{SO}_4^{2-}$ 。

七. 本法测定  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的灵敏度虽已达到 0.1 ppm 和 0.2 ppm, 但多数情况样品中所含杂质符合药典规定, 即测得  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  的量低于规定限度 (0.1 ppm  $\text{Cl}^-$  和 0.2 ppm  $\text{SO}_4^{2-}$ ), 为了使测定总量在线性范围内进行, 因此, 本文采用了添加定量标准品测定样品中  $\text{Cl}^-$  和  $\text{SO}_4^{2-}$  含量的方法, 保证了定量结果的准确、可靠。

八. 本法简便, 结果满意, 又能同时进行葡萄糖酸钙及其杂质的分离测定。除进行杂质测定时需将原负峰倒为正峰后方可得准确的定量结果外, 离子色谱法可推广用于其它离子性药物及其杂质的同时分离分析。

致谢 本实验所用 ILC-1 仪器及附件由 Waters 公司提供, 实验过程中, 承 Waters 公司应用化学师张伟基先生、林奕爱女士热情帮助。

## 参 考 文 献

1. 武藤义一、川纪久雄著. 菊凡等译. 离子色谱法. 北京: 北京大学出版社, 1986:7~8.
2. 中华人民共和国药典. 一九八五年版. 二部. 北京: 人民卫生出版社, 1985:512~513.
3. Sane RT, et al. High-performance liquid chromatographic determination of xipamide and clopamide in pharmaceuticals. *J Chromatogr* 1986; **356**:468.
4. Classen A, Hesse A. Comparison of ion chromatography and enzymic assay for determining oxalic acid in urine. *Fortschr Urol Nephrol* 1985; **23**:230; *CA* 1987; **106**:29670m.

## SIMULTANEOUS QUANTITATIVE DETERMINATION OF CALCIUM GLUCONATE AND ITS IMPURITIES ( $\text{Cl}^-$ , $\text{SO}_4^{2-}$ ) BY ION CHROMATOGRAPHY

WY Liu, W Zhou, LS Sheng and DK An

(China Pharmaceutical University, Nanjing)

**ABSTRACT** Ion chromatographic separation and determination of calcium gluconate and its impurities ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ) were studied. Waters ILC-1 Ion/Liquid chromatograph,  $50 \times 4.6$  mm ID stainless steel IC-PAK A column were used, pH 6.6,  $1 \times 10^{-3}$  mol/L phthalic acid as mobile phase at a flow rate of 1.2 ml/min, 430 conductivity detector with  $5 \mu\text{S}$  FS. The results obtained by external standard method, external standard single-point calibration method and Chinese Pharmacopoeia method were in good agreement. The average recoveries of the two proposed methods were 100.8% ( $\text{Cl}^-$ ) and 100.2% ( $\text{SO}_4^{2-}$ ), the correlation coefficients were 0.9951 ( $\text{Cl}^-$ ) and 0.9961 ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) ( $n=8$ ) respectively. This method is simple, relatively fast and can be used for simultaneous quantitative determination of this drug and its impurities.

**Key words** Calcium gluconate; Chloride; Sulfate; Ion chromatography