



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105021721 B

(45)授权公告日 2017.08.01

(21)申请号 201510263885.9

审查员 谷雨

(22)申请日 2015.05.22

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105021721 A

(43)申请公布日 2015.11.04

(73)专利权人 青岛科技大学

地址 266000 山东省青岛市市北区郑州路
53号青岛科技大学

(72)发明人 范志先 赵文英 孙素莉 武智强

(74)专利代理机构 青岛中天汇智知识产权代理
有限公司 37241

代理人 万桂斌

(51)Int.Cl.

G01N 30/02(2006.01)

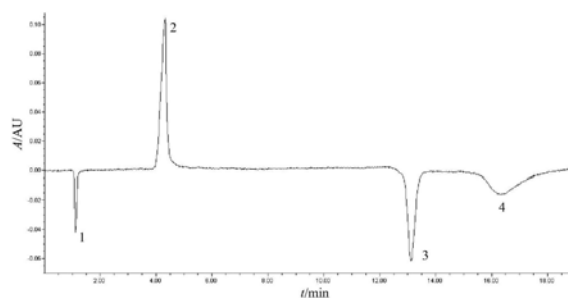
权利要求书1页 说明书4页 附图4页

(54)发明名称

一种乙酸的反相间接光度色谱分析方法

(57)摘要

本发明公开了一种以二苯胍为离子对探针试剂测定乙酸的间接光度色谱定量分析方法,属于液相色谱分析领域。以镶嵌酰胺极性基团固定液的反相色谱柱流动相进口端为离子对化合物生成的场所,以超纯水中加入二苯胍/丁酸为流动相,进样后,乙酸根与二苯胍鎓阳离子形成离子对化合物,产生紫外信号。该方法离子对探针和改性剂稳定、安全,普通易得。采用液相色谱仪配紫外检测器实施,普及率和可行性高,操作简便。该方法有特征流出曲线,通过调整改性剂种类或浓度,对其他分析样品亦具有适用性。外标法或标准加入法定量,分析结果准确可靠,重复性好,分析快速,工效高。



1 - 水系统峰 2 - 乙酸-二苯胍离子对化合物 3 - 二苯胍系统峰 4 - 改性剂丁酸系统峰

1. 一种通过离子对探针实现的测定乙酸含量的反相间接光度色谱分析方法;其步骤为:

(1) 100mg/L二苯胍离子对探针试剂母液的配制;

(2) 流动相的配制:向稀释4倍的二苯胍母液中加入丁酸改性剂,丁酸浓度为0.5mmol/L;

(3) 向Waters Symmetry Shield RP8色谱柱泵入流动相,色谱柱规格为3.5 μ m,150mm $\times$ 4.6mm;流速:1.0mL/min;柱温:25 $^{\circ}$ C;进样量:10 μ L;氦气鼓泡脱气30mL/min;检测波长范围:195nm $\sim$ 400nm;定量波长:232nm;采样速率:1.0;分辨率:1.2nm;仪器控制:自动曝光;3D数据采集;

(4) 乙酸标准溶液进样浓度200mg/L;样品溶液的配制:称取含0.1g乙酸样品,精确至0.0002g于100mL容量瓶中,水定容至刻度,摇匀,稀释5倍后进样;

(5) 测定:对色谱柱进口端,乙酸阴离子与二苯胍鎗阳离子形成的乙酸离子对化合物用紫外检测器检测,定量波长232nm,外标法或标准加入法计算乙酸含量。

2. 根据权利要求1所述的测定乙酸含量的反相间接光度色谱分析方法,有其特征色谱流出曲线,出峰先后顺序依次为水系统峰、乙酸离子对化合物峰、二苯胍系统峰、丁酸系统峰。

一种乙酸的反相间接光度色谱分析方法

技术领域

[0001] 本发明属于乙酸的定量分析方法,特别是涉及一种以二苯胍为离子对探针试剂的反相间接光度液相色谱分析方法。

背景技术

[0002] 乙酸,俗称醋酸、冰乙酸,市场上出现的乙酸产品主要分为工业乙酸和食品添加剂乙酸,世界范围内年需求量大约为650万吨。随着国内食醋供需关系极度不平衡(市场上酿造食醋的份额只占到5%)促使配制食醋标准的出台,工业乙酸违规代替食品添加剂乙酸的使用对人身安全影响重大。作为基础化工原料乙酸产品,其纯度影响着深加工产品的质量。建立简单、快速、准确、安全的乙酸含量检测方法,对于监测产品在生产和使用时的质量极其重要。目前,乙酸的检测方法主要以滴定法为主(GB 1903-2008食品添加剂冰乙酸),另有生物方法(乙酸测定试剂盒及乙酸浓度测定方法,中国,101334511,2008-12-27)、气相色谱法、离子色谱法等。在滴定分析中,弱有机酸在水中溶解度小,需要特殊处理,且无法进行分级滴定,影响溶液中有机酸种类和含量的确定。气相色谱测定乙酸制品时存在极性较大,色谱柱分离效果差、柱效低,易受有机溶剂干扰,色谱柱使用寿命短等问题。而离子色谱技术目前更长于无机离子分析,虽可用于一些小分子有机酸的分离分析,但与其他饱和一元羧酸分离需要用专用柱,而且极易受到样品中杂质污染,无法获得满意分离。分析成本相对较高(仅离子色谱分离柱的售价高出RP8柱3倍以上)。

发明内容

[0003] 本发明要解决的技术问题是提供一种针对无紫外或末端吸收的阴离子型化合物乙酸的液相色谱-紫外检测的分析方法。

[0004] 本发明技术方案实验原理如下:此反相间接光度色谱分析过程包括三大机理,平衡机理、反应机理和分离机理。(1) 平衡机理:在嵌有酰胺极性基团的RP8柱上,流动相中的离子对探针试剂和改性剂分子富集在固定相分子上,此平衡过程(图1)分为四个阶段:富集阶段:离子对试剂在整个色谱柱固定相上富集,未流经紫外检测器,无紫外响应信号;饱和阶段:固定相上二苯胍吸附近于饱和,不再吸附,流动相中二苯胍流出过检测器,色谱峰上出现明显的突越;扰动阶段:改性剂丁酸逐渐解离出的 H^+ 会与流动相中质子化的二苯胍在固定相中竞争有限的位点,部分质子化二苯胍脱离位点进入流动相,其含量增加,呈现出高于平衡态的色谱图;平衡阶段:固定相表面镶嵌了一层“电中性膜”。宏观上,各离子呈现出静态电层带;微观上,离子间有条不紊的进行着动态平衡。平衡后固定相表面示意图见图2。(2) 反应机理:选定内嵌极性酰胺基团的RP8色谱柱,此酰胺基主要以共轭态状态存在,部分以离子态存在;酸性体系的流动相中, H^+ 使得共轭态的酰胺基质子化,或者质子化的二苯胍直接与酰胺基上的 $-O^-$ 结合,而解离的酸根阴离子与酰胺基上的 NH^+ 结合。当乙酸样品溶液进入色谱柱时,柱头处样品溶液中 H^+ 浓度梯度较大,扰乱平衡的固定液,导致带正电的二苯胍离子与样品阴离子形成中性缔合物。样品溶液中 H^+ 浓度大于流动相中 H^+ 浓度是发生离子

反应的先决条件。(3) 分离机理: 离子对化合物分离主要位于色谱柱端之后, 进样浓度的高低影响反应区区间宽窄, 但相对于色谱柱而言, 分离区约占柱长99%以上。平衡后的固定相极性略微增强, 并引入静电力作用, 提高离子对化合物的色谱分离效果。受固定相极性等因素影响, 在色谱柱中进行更佳有效地分离得到间接光度典型色谱图(图3)。空白对照反相间接光度色谱分离色谱图见图4。

[0005] 具体测试步骤为:

[0006] (1) 以离子对试剂二苯胍和改性剂丁酸为流动相, 对RP8, 3.5 μ m (4.6mm $\times$ 150mm) 色谱柱中固定相分子表面进行平衡构建;

[0007] (2) 绘制乙酸标准品的标准曲线(图5), 测定其准确度和精密度;

[0008] (3) 采用液相色谱仪配备紫外检测器测定乙酸标准品;

[0009] (4) 对乙酸样品进行测定(图6), 并采用外标法或标准加入法定量。

[0010] 本发明具有以下有益效果: 本发明以二苯胍为离子对探针试剂使用液相色谱仪紫外检测器实现了仅有末端吸收或无紫外吸收的有机阴离子型化合物乙酸的检测, 扩展了紫外检测器通用性。流动相选用的介质纯水普通易得, 安全环保, 可行性高; 操作过程如同普通高效液相色谱分析一样简便, 适用性好; 分析准确快速、工效高, 对产品质量评价科学可靠。对于乙酸及相应化合物的分析实现了从经典化学分析向仪器分析的革新性进步, 克服了传统容量分析方法存在杂质干扰的问题, 对各行业领域的饱和羧酸类化合物产品的质量监控具有重要意义。离子对探针试剂二苯胍的应用促进了反相间接光度色谱法的普及和应用, 从而使其进入了有实用价值的发展阶段。

附图说明

[0011] 图1 RP8色谱柱平衡过程流出曲线。

[0012] 图2平衡后固定相表面示意图。

[0013] 图3乙酸反相间接光度典型色谱分离图。

[0014] 图4为空白对照反相间接光度色谱分离色谱图。

[0015] 图5为乙酸标准曲线图。

[0016] 图6为乙酸样品反相间接光度色谱分离图。

具体实施方式

[0017] 下面结合具体实例对本发明进一步描述, 但本发明的实施方式, 包含仪器设备、离子对探针(苯胍类)、改性剂种类和浓度、分析的样品不限于此。

[0018] 实施例1本实施例检测乙酸的方法, 包括以下步骤:

[0019] 1标样溶液的配制: 称取0.1g (精确至0.000 2g) 乙酸标准品(已知含量)于100mL容量瓶中, 水定容至刻度线, 摇匀, 稀释5倍进样待测。

[0020] 2试样溶液的配制: 称取约含0.1g (精确至0.000 2g) 乙酸样品于100mL容量瓶中, 水定容至刻度, 摇匀, 稀释5倍进样待测。

[0021] 3分析条件: 采用高效液相色谱仪: Waters 600高压泵, 配Waters 2996紫外可见光二极管阵列检测器; Rheodyne 7725i六通阀进样器; Empower Pro中文版色谱工作站; 色谱柱: Waters Symmetry Shield RP8, 3.5 μ m (4.6mm $\times$ 150mm); 流动相: 0.12mmol/L二苯胍-

0.5mmol/L丁酸混合水溶液;流速:1.0mL/min;柱温:25℃;进样量:10μL;氦气鼓泡脱气 30mL·min⁻¹;检测波长范围:195nm~400nm;定量波长:232nm;采样速率:1.0;分辨率:1.2nm;仪器控制:自动曝光;3D数据采集。

[0022] 4测定:待仪器在规定的条件下稳定后,连续注入数针标样溶液,直至相邻两针乙酸离子对化合物峰面积相对变化小于1.5%后,按照标样溶液、试样溶液、试样溶液、标样溶液顺序进行测定。

[0023] 5结果计算:将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液乙酸离子对化合物峰面积分别进行平均,手工或利用色谱工作站峰面积-含量线性拟合,外标法(200mg/L)计算样品中乙酸的含量。

[0024] 6实验结果:3次测定乙酸样品1#含量为98.01%,RSD为0.20%;乙酸样品2#含量为99.63%,RSD为0.75%;乙酸样品3#含量为91.22%,RSD为0.52%;

[0025] 实施例2本实施例对本发明方法的的方法学数据测定步骤如下:

[0026] 标准曲线:将实施例1中标样溶液稀释成100~1 800mg/L范围内10个不同水平的标准工作溶液,在规定条件下进样分析,以进样质量m值与对应的峰面积A绘制乙酸常量分析标准曲线。

[0027] 准确度:采用倍量加入法在乙酸样品中添加乙酸标样进行添加回收率试验,添加浓度为200mg/L,2000mg/L 2个水平,每个添加水平5次重复测定,检测方法同实施例1。根据测定结果计算本发明的方法乙酸的加标回收率,如表1所示。

[0028] 表1乙酸加标回收率统计表

[0029]

低水平添加(200 mg · L ⁻¹)					高水平添加(2 000 mg · L ⁻¹)				
添加量 /g	测定值 /g	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD/ %	添加量 /g	测定值 /g	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
0.0197	0.0198	100.39	99.87	0.65	0.2020	0.2037	100.86	100.28	0.62
0.0204	0.0203	99.72			0.2000	0.1987	99.36		
0.0203	0.0202	99.44			0.1995	0.2011	100.82		
0.0205	0.0203	99.13			0.1935	0.1935	100.02		
0.0203	0.0204	100.69			0.1999	0.2006	100.35		

[0030] 精密度:分别称取8份乙酸样品约0.2g(精确至0.000 1g)于100mL容量瓶,用水定容至刻度。在实施例1的条件下稀释10倍进样,计算其相对标准偏差(RSD)。结果见表2。

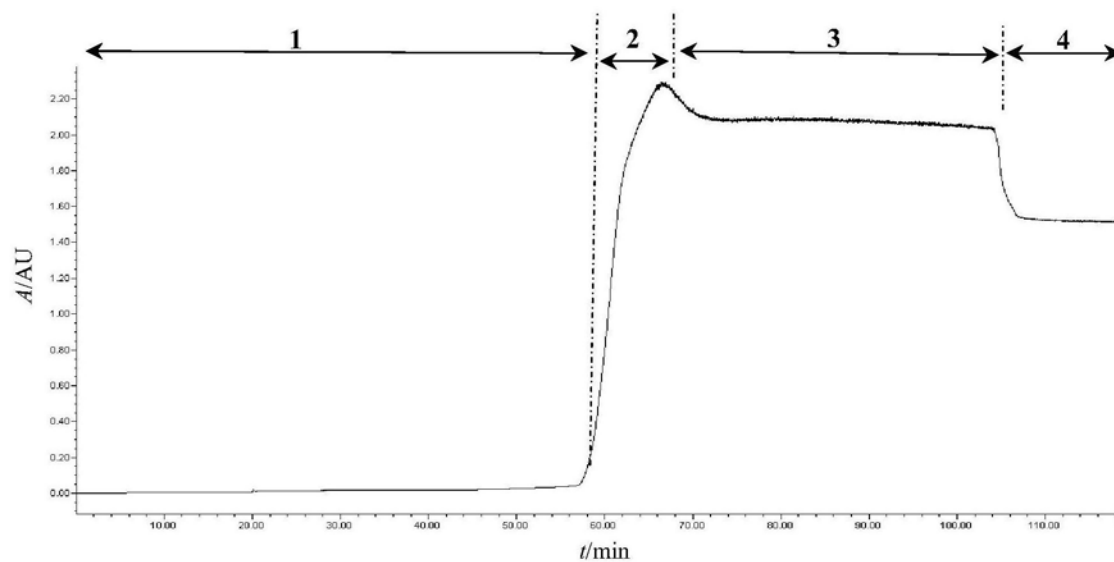
[0031] 表2乙酸样品精密度测定结果统计表

[0032]

序号	称样量/g	测定值/%	平均值/%	S _x	RSD/%
1 [#]	0.1938	98.53	98.16	0.42	0.43
2 [#]	0.1970	98.22			
3 [#]	0.1975	98.00			
4 [#]	0.1972	97.82			
5 [#]	0.1949	98.92			
6 [#]	0.1973	98.33			
7 [#]	0.1948	97.75			
8 [#]	0.1946	97.74			

[0033] 本发明的方法准确度和精密度符合常量分析要求,数据准确可靠,分析速度快,操

作简便,易于普及实施。



1 富集阶段；2 饱和阶段；3 扰动阶段；4 平衡阶段

图1

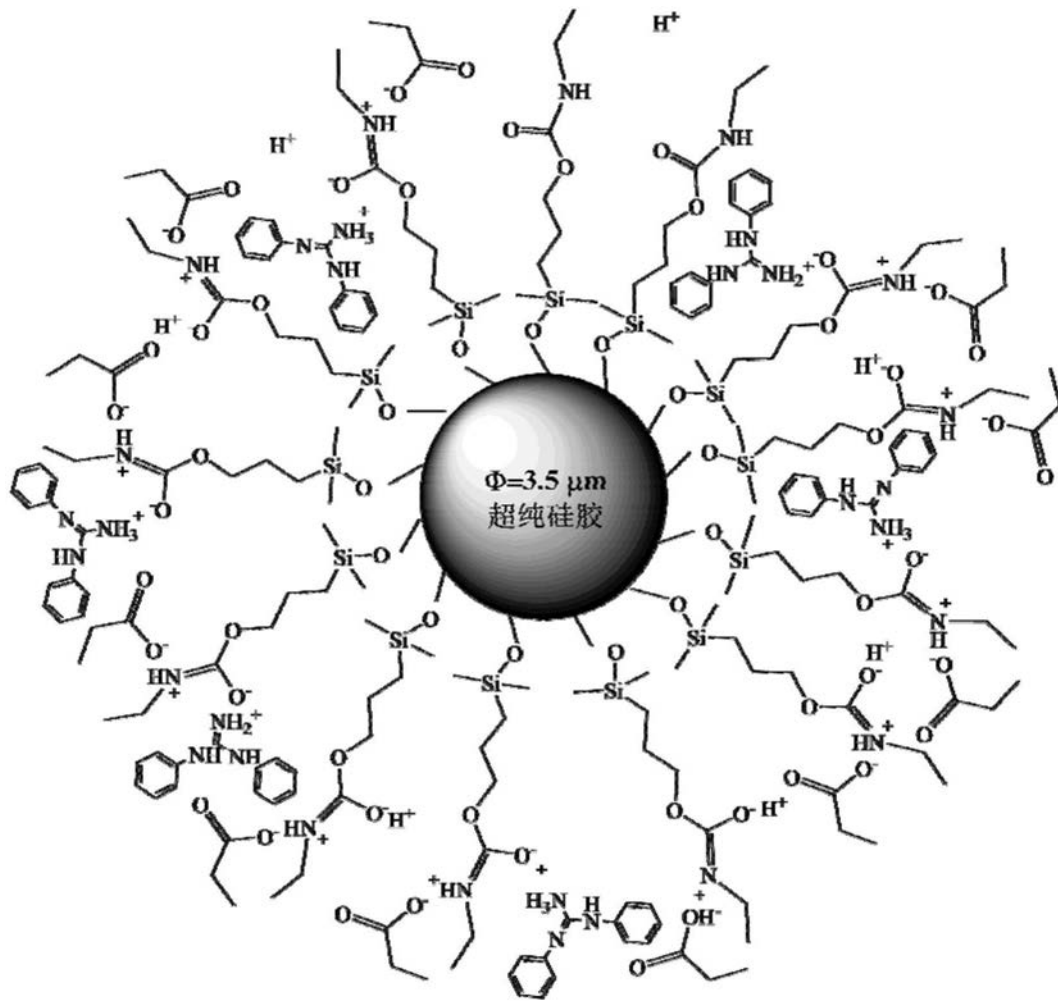
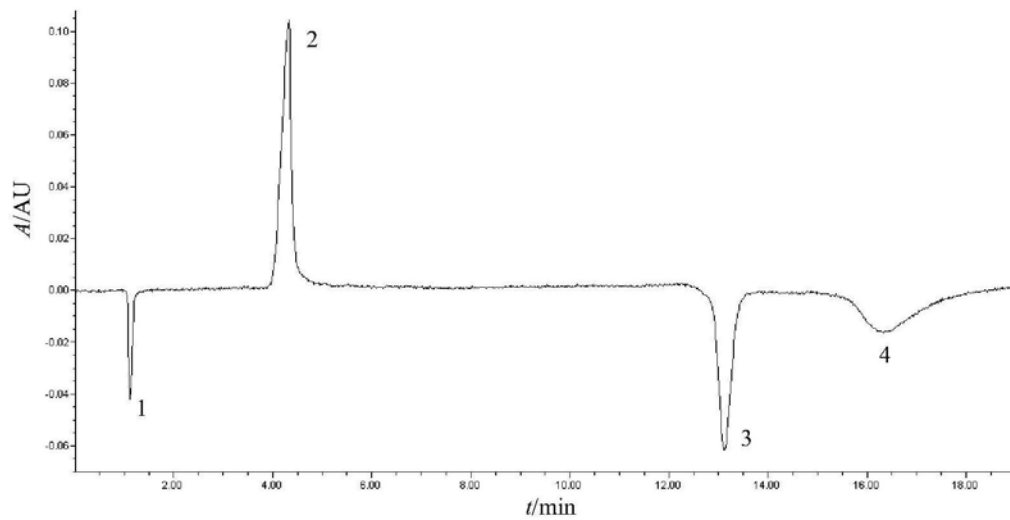
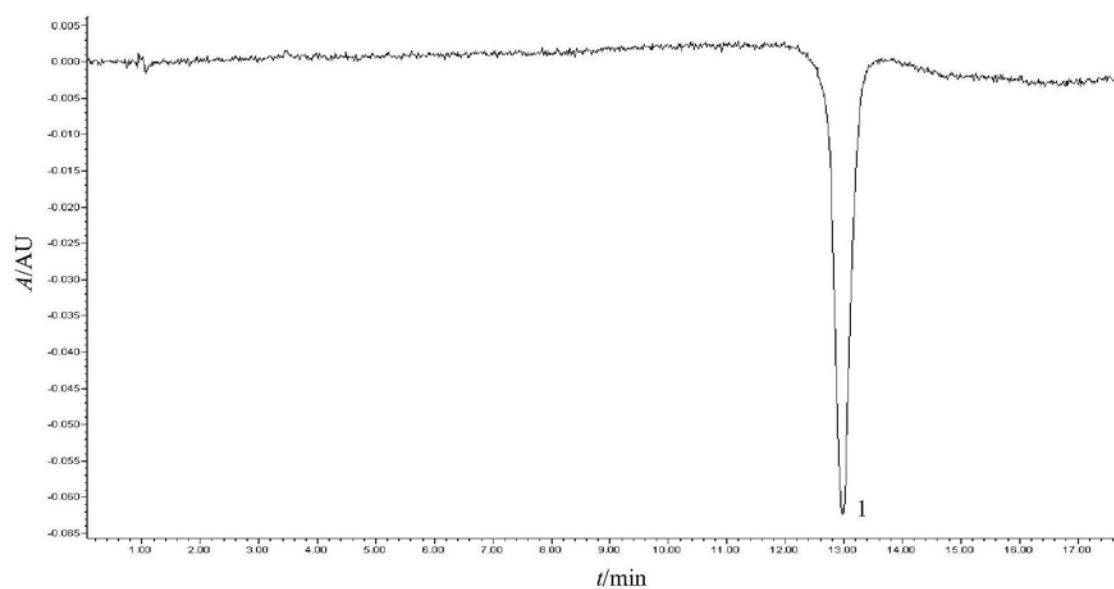


图2



1 - 水系峰 2 - 乙酸-二苯胍离子对化合物 3 - 二苯胍系统峰 4 - 改性剂系统峰

图3



1 - 二苯胍系统峰

图4

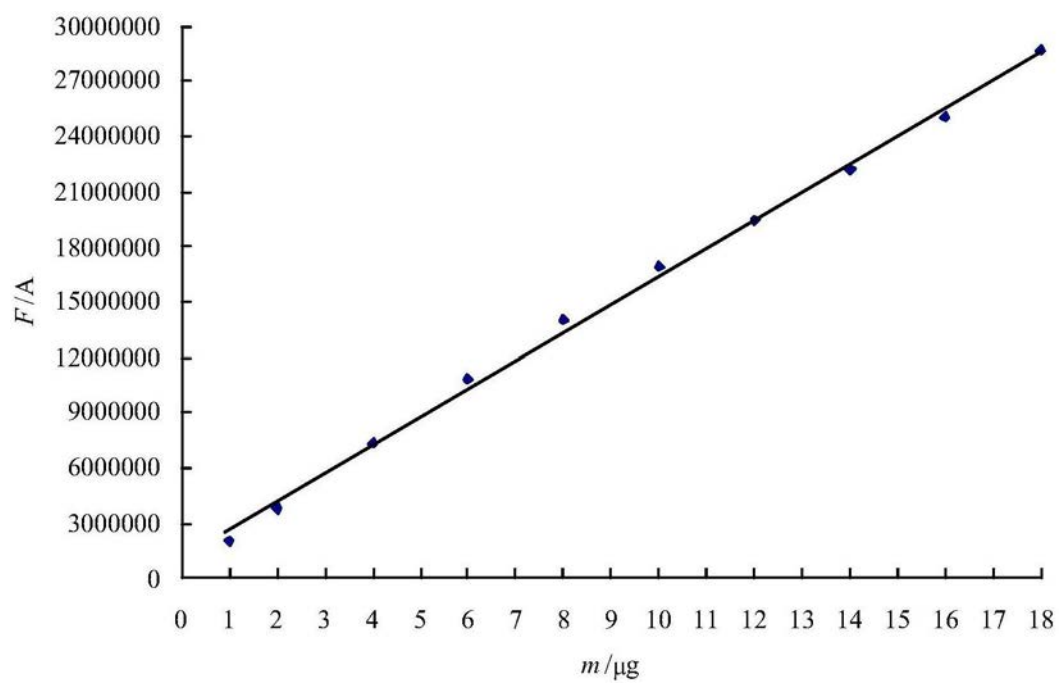
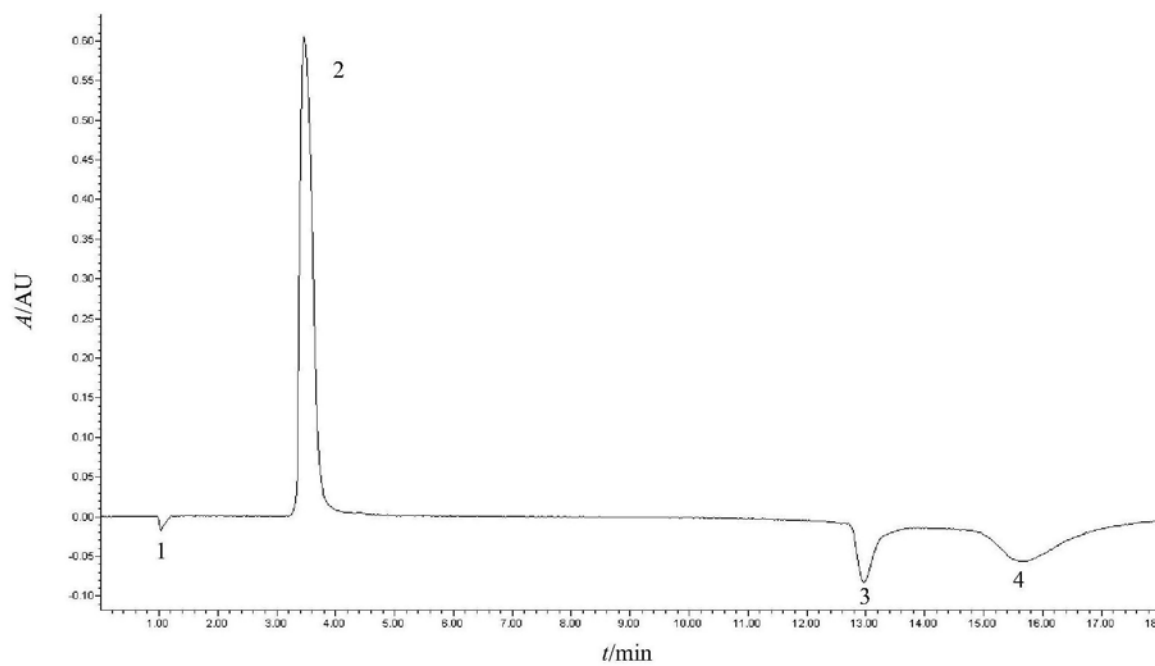


图5



1 - 水系统峰 2 - 乙酸-二苯胍离子对化合物 3 - 二苯胍系统峰 4 - 改性剂系统峰

图6