

# 两性离子为流动相离子色谱法测定常见有机酸探讨

袁丽霞<sup>1</sup>,郭莹莹<sup>2</sup>,叶明立<sup>2</sup>,朱 岩<sup>2</sup>

(1. 嘉兴学院 医学院,浙江 嘉兴 314001 2. 浙江大学 化学系,浙江 杭州 310028)

**摘 要:**采用 KOH 和不同浓度的两性物质 CAPS 为混合流动相,在 AS17 阴离子交换柱上,抑制电导检测,分离草酸、苯甲酸、水杨酸、柠檬酸、邻苯二甲酸等多种常规的有机酸,以考察两性物质对各有机酸保留时间的影响。从所做实验发现低浓度的两性物质的加入可以缩短各有机酸的保留时间,但是当流动相中的两性物质浓度变大时,有机酸的保留时间反而增加。因此就两性物质对有机酸的保留影响来看,只有当两性离子在一定的浓度范围内,才能缩短保留时间,提高分离效率。

**关键词:**两性离子;离子色谱;有机酸;抑制电导

**中图分类号:** O658

**文献标识号:** A

**文章编号:** 1671-8798(2003)S0-0120-02

对于有机酸<sup>[1-5]</sup>,经典的分析方法为离子交换色谱法,分析效果较好。但是部分有机酸保留时间较长,对于分离分析比较耗时。在淋洗液中加入两性离子则可以起到缩短保留时间的作用。

两性离子可以实现不同 pH 条件下的低背景电导淋洗,一方面可在不进行电导抑制的条件下,使背景电导十分低,另一方面也可用不同等电点的两性离子来控制经抑制器后洗脱液的 pH。利用两性离子可选择种类比较多、选择余地比较大的特点,将两性离子与常规离子色谱淋洗液的混合后产生的流动相在色谱保留性质上有很大的差异,但抑制后背景电导不会有比较大的变化的特点,可用于不同物质的分离,特别是生命科学的研究对象之一——有机酸。本实验结合两性离子的特点,采用两性物质和常规流动相的混合溶液作为淋洗液,利用抑制电导检测,分离多种常规有机酸,探讨两性物质对有机酸保留的影响。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

Dionex500 离子色谱仪(美国戴安公司),AG17 阴离子保护柱,AS17 阴离子分离柱,GP40 梯度泵,EG40 淋洗液发生器,ED40 电化学检测器(美国戴安公司),DZS-1A 电化学自再生抑制器(厦门大学提供)

实验所用的试剂都为分析纯,所需溶液都采用去离子水配制而成。

### 1.2 色谱条件

**淋洗液:**采用淋洗液发生器产生的高纯 KOH 溶液和不同浓度的 CAPS 溶液的混合淋洗液,流速 0.25 mL/min,进样量:25  $\mu$ L

## 2 结果与讨论

### 2.1 KOH 浓度的选择

分别选择 30 mmol/L 和 15 mmol/L 的 KOH 为淋洗液,对各有机酸的标准溶液进行直接进样测定。当淋

收稿日期:2003-10-10

作者简介:袁丽霞(1975—),女,讲师,主要从事基础化学教学。

洗液浓度为 30 mmol/L 时,保留时间最长的水杨酸的保留时间为 12.50 min,但是其他几种有机酸的保留时间接近,尤其是草酸和苯甲酸的色谱峰发生部分重叠,不能达到基线分离。选择淋洗液的浓度为 15 mmol/L 时,各有机酸的保留时间明显变长,但是峰形和分离度都有提高,保留时间最长的柠檬酸的保留时间是 37 min 左右。考虑到可以通过加入两性物质来改变保留时间,因此最后选定 KOH 的浓度为 15 mmol/L。

### 3.2 CAPS 浓度的选择

在选定浓度的 KOH 溶液中加入不同浓度的两性物质 CAPS,以考察两性物质 CAPS 对有机酸保留时间的影响。分别采用 5, 10, 15 mmol/L 三种不同配比的淋洗液,对相同组分的以上五种混合有机酸溶液进行测定分离。结果表明加入低浓度的两性物质 CAPS,可以很好的缩短各有机酸的保留时间,可是当其中的 CAPS 浓度增加时,各有机酸的保留时间反而增加。可见,只有一定浓度范围内,加入两性物质才可以改善有机酸的保留时间。CAPS 浓度和各有机酸保留时间关系曲线见图 1。

从图 1 可以看出,两性物质 CAPS 的加入对各有机酸的保留时间的有较大的影响,尤其是对保留时间相对较长的柠檬酸,当加入的 CAPS 浓度较小时,柠檬酸的保留时间显著降低,其他各有机酸的保留时间也有不同程度的缩短。当 CAPS 的浓度进一步增加时,各有机酸的保留时间都相应增加,尤其是保留时间比较长的柠檬酸和邻苯二甲酸。

对于图 1 所反应出来的情况,可以做如下的解释:当加入的两性离子 CAPS 浓度较低时,溶液的 pH 比较小,使得各有机酸的电离度增加,从而导致它们在色谱柱中的保留降低,能够较快被淋洗液带出,所以它们的保留时间和没有加两性离子时相比有较大的缩短。随着加入两性离子 CAPS 浓度的增加,溶液的 pH 值也相应增加,最终可以接近中性,在这样的 pH 条件下,各有机酸的电离度又开始降低,它们在色谱柱中的保留开始增强,表现在保留时间上,就是保留时间变长。当两性离子浓度进一步增加时,由于这时候的 pH 值变化不是很大,因此表现在保留时间上是各有机酸的保留时间的改变比较小,表现在曲线上则是曲线趋于缓和。这就是图 1 所表现出的 CAPS 浓度对于各有机酸保留时间影响的原因。

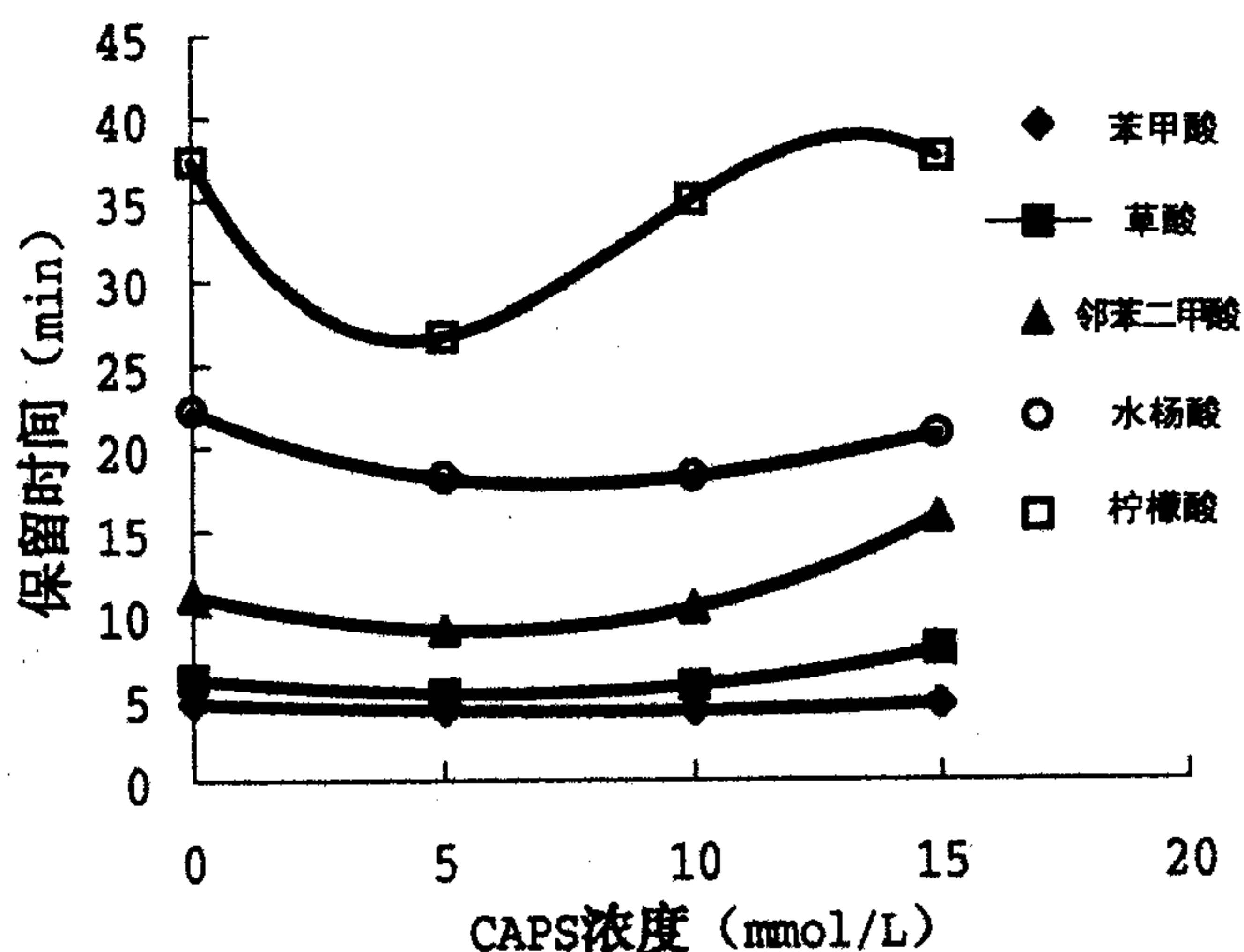


图 1 不同浓度 CAPS 对各有机酸保留时间关系

图 2 为各有机酸在所采用色谱条件下的标准色谱图。

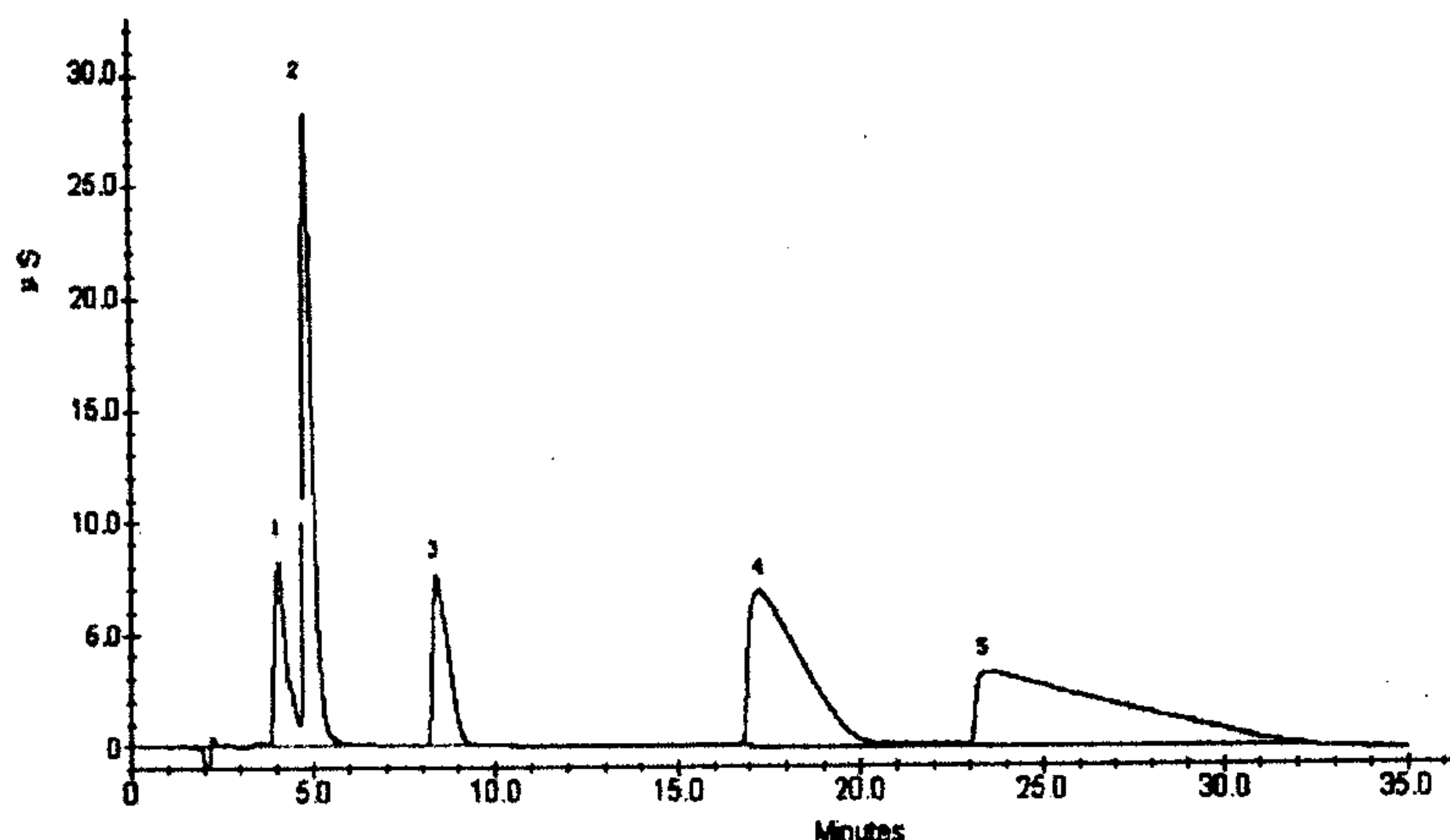


图 2 采用淋洗条件为 15mmol/LKOH + 5mmol/LCAPS 时五种有机酸的标准色谱图

1—苯甲酸(20 mg/L)、2—草酸(10 mg/L)、3—邻苯二甲酸(20 mg/L)、4—水杨酸(50 mg/L)、5—柠檬酸(60 mg/L)

(下转第 119 页)