

检测分析

高效液相色谱和离子色谱测定水中短链脂肪酸的方法比较

孟令璐, 李 徐, 郭 伟, 薛晓凡, 张 帆, 唐天培, 刘睿杰

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要:从分离谱图、分析时间、线性范围、检出限、精密度和加标回收率角度,对离子色谱和高效液相色谱(HPLC)测定水中的短链脂肪酸的方法进行比较。HPLC使用SunFire™ C18色谱柱,流动相为磷酸二氢钾溶液和甲醇,梯度洗脱,流速1.0 mL/min。离子色谱法使用Dionex™ ATC-3色谱柱,流动相为不同浓度氢氧化钠溶液梯度洗脱,流速1.5 mL/min。结果表明:HPLC的分析时间、线性范围、检出限、保留时间精密度、峰面积精密度和加标回收率分别为14.5 min、0~1 200 mg/L、15.57~23.23 mg/L、0.079%~0.597%、1.12%~3.50%和96.1%~112.0%,离子色谱法的相应指标分别为13.0 min、0~20 mg/L、0.03~0.10 mg/L、0.000%~0.053%、1.18%~2.69%和98.2%~122.0%。HPLC线性检测范围宽,但检出限相对高。离子色谱法检出限低,但线性检测范围窄,过高的进样质量浓度使得分离效果不佳。应根据样品实际质量浓度,选择合适检测方法。

关键词:离子色谱法;高效液相色谱法;短链脂肪酸;方法比较

中图分类号:O657.7;Q547

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)10-0147-03

Comparison of ion chromatography and high-performance liquid chromatography for short-chain fatty acids determination

MENG Linglu, LI Xu, GUO Wei, XUE Xiaofan, ZHANG Fan,
TANG Tianpei, LIU Ruijie

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: The determination of short-chain fatty acid by ion chromatography and high-performance liquid chromatography (HPLC) was compared from the aspects of separation chromatography, analysis time, linearity range, limit of detection, precision and recovery. HPLC method used SunFire™ C18 chromatography column, mobile phase was KH_2PO_4 solution and methanol, and flow rate was 1.0 mL/min. Ion chromatography method used Dionex™ ATC-3 chromatography column, mobile phase was sodium hydrate solution with different concentrations, and flow rate was 1.5 mL/min. The results showed that analysis time, linearity range, limit of detection, precisions of retention time and peak area, and recovery of HPLC method were 14.5 min, 0-1 200 mg/L, 15.57-23.23 mg/L, 0.079%-0.597%, 1.12%-3.50% and 96.1%-112.0% respectively. For ion chromatography method, they were 13.0 min, 0-20 mg/L, 0.03-0.10 mg/L, 0.000%-0.053%, 1.18%-2.69% and 98.2%-122.0%, respectively. HPLC method had wide detection range, but higher limit of detection. Ion chromatography method had lower limit of detection, but narrow detection range, and higher sampling mass concentration

led to poor separation effect. So, the proper detection method should be chosen according to the actual mass concentration of sample.

Key words: ion chromatography; high-performance liquid chromatography; short-chain fatty acid; method comparison

收稿日期:2018-03-09;修回日期:2018-03-12

基金项目:江苏高校品牌专业建设工程资助项目(PPZY 2015A052);江南大学大学生创新训练计划资助(2017177Y)
作者简介:孟令璐(1997),女,在读本科,专业为脂质营养与安全(E-mail)1084457155@qq.com。

通信作者:刘睿杰,副教授(E-mail)liuruijie163@163.com。

依据 GB/T 21121—2007《动植物油脂 氧化稳定性的测定(加速氧化测试)》, Rancimat 是一种测定油脂氧化稳定性的标准方法。氧化诱导时间由电导率变化所得,电导率变化由水溶液中短链脂肪酸的种类和含量所决定,其中甲酸、醋酸、丙酸和丁酸为主要成分,占 74.52% ~ 100%^[1-2]。

目前,测定水溶液中短链脂肪酸常用高效液相色谱法^[3-4]、离子色谱法^[5-6]、气相色谱法^[1]、气质联用法^[7]等,其中高效液相色谱法操作简单、准确率高、成本低,在酸雨、废水评价领域被广泛应用;而离子色谱法近年来快速兴起,高效、灵敏等优点使得其在纯净水、化妆品领域的分析中被广泛应用。本研究对测定水中短链脂肪酸的高效液相色谱法和离子色谱法进行比较分析,从分析时间、线性范围、加标回收率、精密度、检测限的角度详细比较。

1 材料与方法

1.1 试验材料

甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、邻苯二甲酸氢钾、磷酸:分析纯;磷酸二氢钾、甲醇、NaOH 水溶液:色谱纯;超纯水,由 Millipore 纯化系统制得;25 μ L 微量注射器、0.22 μ m 微孔滤膜:美国沃特世有限公司。

525 型高效液相色谱仪(配备紫外可见检测器)、SunFire™ C18 色谱柱(4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m):美国沃特世有限公司;Dionex™ ICS-5000 型离子色谱仪(配备 Dionex™ ASRS 300 型抑制器)、NaOH 淋洗液发生器、Dionex™ ATC-3 色谱柱:美国赛默飞有限公司;台式 pH 计。

1.2 试验方法

1.2.1 色谱条件

高效液相色谱法,测定条件见文献[8],流动相为磷酸二氢钾溶液和甲醇,梯度洗脱,流速 1.0 mL/min,进样量 10 μ L。

离子色谱法:淋洗液为 NaOH 溶液,设定梯度洗脱程序(见表 1),流速 1.5 mL/min,进样量 10 μ L。

表 1 离子色谱梯度洗脱程序

| 项目 | 时间/min | E1/% | E2/% | E3/% | |
|------|--------|------|------|------|----------|
| 平衡阶段 | 0 | 80 | 20 | 0 | 平衡 7 min |
| | 7 | 80 | 20 | 0 | |
| 分析阶段 | 7.1 | 80 | 20 | 0 | 进样 |
| | 7.5 | 80 | 20 | 0 | 开始等度洗脱 |
| | 15.0 | 80 | 20 | 0 | |
| | 25.0 | 85 | 0 | 15 | 开始梯度洗脱 |
| | 35.0 | 70 | 0 | 30 | |
| | 45.0 | 40 | 0 | 60 | |

注: E1 为超纯水, E2 为 5.0 mmol/L NaOH 溶液, E3 为 100 mmol/L NaOH 溶液。

1.2.2 标准曲线的绘制

高效液相色谱法:准确称取甲酸、乙酸、丙酸、丁酸各 0.2 g,用超纯水定容至 50 mL 后,分别量取 0.5、1、2、4、8、16 mL 混合溶液定容至 50 mL,制得短链脂肪酸标准溶液,过膜后进样,以峰面积(y)为纵坐标、短链脂肪酸质量浓度(x)为横坐标绘制标准曲线。

离子色谱法:准确称取甲酸、乙酸、丙酸、丁酸各 1.0 g,用超纯水定容至 1 000 mL 后,分别量取 25、12.5、2、1 mL 混合溶液至 2~6 号容量瓶定容至 50 mL,从 6 号容量瓶中量取 2.5、1、0.5 mL 混合溶液至 7~9 号容量瓶定容至 50 mL,从 9 号容量瓶中量取 25 mL 混合溶液至 10 号容量瓶定容至 50 mL,制得标准溶液,过膜后进样,以峰面积(y)为纵坐标、短链脂肪酸质量浓度(x)为横坐标绘制标准曲线。

1.2.3 精密度和加标回收率的测定

取 Rancimat 测量池水样品(大豆油, 120 $^{\circ}$ C, 20 L/h 空气, 4 h)过滤后进样分析,在相同操作条件下重复 6 次,计算各短链脂肪酸的保留时间精密度和峰面积精密度。对样品进行加标回收率试验,控制加标物体积不超过试样溶液体积的 1%,混匀后膜过滤进样,计算回收率。

2 结果与讨论

2.1 分离谱图和分析时间比较(见图 1)

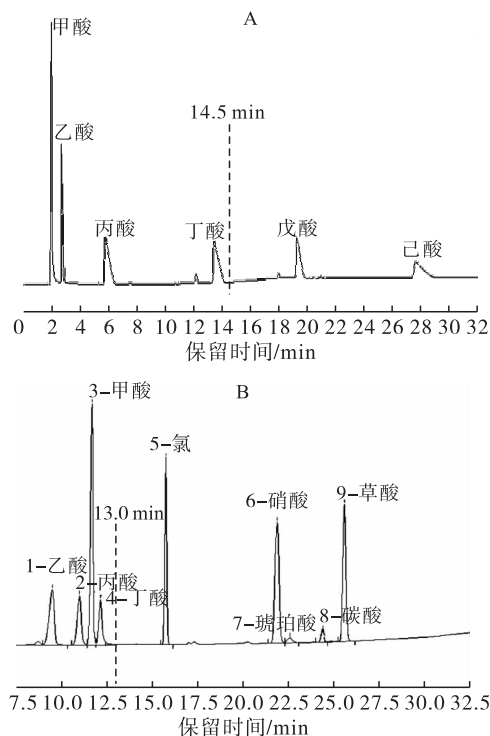


图 1 水中短链脂肪酸的高效液相色谱图(A)和离子色谱图(B)比较

如图1所示,两种方法都可实现对水中短链脂肪酸的良好分离。对于离子色谱法,随着氢氧化钠淋洗液浓度的增加,总体按照单电荷离子、双电荷离子、三电荷离子的顺序洗脱出峰。以检测常见的甲

酸、乙酸、丙酸和丁酸为例,高效液相色谱分析时间为14.5 min,离子色谱分析时间为13.0 min,分析时间总体相差不大。

2.2 线性范围和检出限(见表2)

表2 高效液相色谱法和离子色谱法的线性范围和检出限比较

| 色谱方法 | 组分 | 线性范围/(mg/L) | 线性方程 | 相关系数 | 检出限/(mg/L) |
|--------|----|-------------|----------------------------|---------|------------|
| 高效液相色谱 | 甲酸 | 0~1 200 | $y = 364.04x + 10\ 134.00$ | 0.999 1 | 17.79 |
| | 乙酸 | 0~1 300 | $y = 243.30x + 1\ 181.30$ | 0.999 9 | 15.57 |
| | 丙酸 | 0~1 300 | $y = 252.02x + 410.22$ | 0.999 8 | 23.23 |
| | 丁酸 | 0~1 300 | $y = 262.09x - 373.10$ | 0.999 4 | 19.28 |
| 离子色谱 | 甲酸 | 0~21 | $y = 0.113\ 3x + 0.022\ 3$ | 0.999 7 | 0.03 |
| | 乙酸 | 0~20 | $y = 0.066\ 3x + 0.006\ 8$ | 0.999 9 | 0.10 |
| | 丙酸 | 0~20 | $y = 0.048\ 8x + 0.006\ 6$ | 0.999 8 | 0.10 |
| | 丁酸 | 0~20 | $y = 0.045\ 1x + 0.004\ 6$ | 0.999 0 | 0.08 |

如表2所示,高效液相色谱法测得甲酸、乙酸、丙酸和丁酸的线性范围为0~1 200 mg/L,线性方程相关系数均大于0.999,检出限范围为15.57~23.23 mg/L。离子色谱法测得甲酸、乙酸、丙酸和丁酸的线性范围为0~20 mg/L,线性方程相关系数均大于0.999,检出限范围为0.03~0.10 mg/L。离子色谱法的检测限低,但是值得强调的是,若离子色谱的样品进样质量浓度过高,会导致短链脂肪酸的分离状况不佳,出现峰重叠的现象。

2.3 精密度和加标回收率

采集样品经滤膜过滤后进样分析,在稳定操作条件下重复6次,两种色谱方法的精密度和加标回收率结果如表3所示。

表3 高效液相色谱法和离子色谱法的精密度和回收率比较

| 色谱方法 | 组分 | 保留时间/min | 保留时间精密度/% | 峰面积精密度/% | 回收率/% |
|--------|----|----------|-----------|----------|-------|
| 高效液相色谱 | 甲酸 | 1.963 | 0.597 | 3.50 | 112.0 |
| | 乙酸 | 2.710 | 0.194 | 1.13 | 96.7 |
| | 丙酸 | 5.809 | 0.116 | 1.12 | 96.1 |
| | 丁酸 | 13.474 | 0.079 | 2.19 | 98.2 |
| 离子色谱 | 甲酸 | 11.760 | 0.000 | 2.03 | 121.0 |
| | 乙酸 | 9.687 | 0.053 | 2.13 | 115.0 |
| | 丙酸 | 11.107 | 0.019 | 2.69 | 122.0 |
| | 丁酸 | 12.200 | 0.023 | 1.18 | 98.2 |

由表3可知,高效液相色谱法保留时间精密度为0.079%~0.597%,峰面积精密度为1.12%~3.50%,加标回收率为96.1%~112.0%;离子色谱法保留时间精密度为0.000%~0.053%,峰面积精密度为1.18%~2.69%,加标回收率为98.2%~122.0%。两种色谱法的精密度和加标回收率总体接近。

3 结论

对测定水中短链脂肪酸的高效液相色谱法和离

子色谱法进行比较。结果显示,两者对水中的甲酸、乙酸、丙酸和丁酸均能很好地进行定性和定量分析,方法的分析时间、精密度和加标回收率总体差异不大。高效液相色谱法虽然线性检测范围宽,但是检出限相对高。离子色谱法虽然检出限低,但是线性检测范围窄,过高的进样质量浓度使得分离效果不佳,峰重叠的现象对峰面积定量带来了较大的误差,需对样品稀释后进样。应用过程中,应根据样品实际质量浓度情况,选择合适的检测方法。

参考文献:

- [1] DEMAN J M, TI F, DEMAN L. Formation of short chain volatile organic acids in the automated aom method[J]. J Am Oil Chem Soc, 1987, 64(7): 993-996.
- [2] FLITSCH S, NEU P M, SCHÖBER S, et al. Quantitation of aging products formed in biodiesel during the rancimat accelerated oxidation test[J]. Energy Fuels, 2014, 28(9): 5849-5856.
- [3] 徐泽峰. 反相液相色谱法测定循环水中的微量甲酸与乙酸[J]. 能源化工, 2015(1): 76-79.
- [4] 辛梅华, 李明春, 徐金瑞, 等. 反相高效液相色谱法测定酸雨中的甲酸、乙酸、丙酸等[J]. 环境工程, 2003(1): 57-59.
- [5] SOUZA P T, ANSOLIN M, BATISTA E A C, et al. Kinetic of the formation of short-chain carboxylic acids during the induced oxidation of different lipid samples using ion chromatography[J]. Fuel, 2017, 199: 239-247.
- [6] TIE F. Formation of short chain volatile organic acids in the automated AOM method[J]. J Am Oil Chem Soc, 1987, 64(7): 993-996.
- [7] 贾益群, 叶福媛, 王双, 等. 生物样品中短链脂肪酸的快速提取与分析方法[J]. 实验室研究与探索, 2012(7): 274-276.
- [8] 李咏如, 李徐, 陶胜男, 等. 反相高效液相色谱法测定Rancimat测量池水中的短链脂肪酸[J]. 中国油脂, 2017, 42(9): 126-128.