

SH-AP-2 型阴离子交换柱分析应用研究I

—离子色谱法测定微量硫代巴比妥酸

黄选忠, 邹绍仙

(湖北省兴山县疾病预防控制中心, 湖北 兴山 443700)

摘要: 【目的】建立以 SH-AP-2 型阴离子交换柱为分离柱, 离子色谱-抑制电导检测法测定硫代巴比妥酸的新方法。【方法】试验研究了测定硫代巴比妥酸的色谱条件和可行性, 优化确定色谱条件。【结果】以 SH-AP-2 型阴离子交换柱为分离柱, 以 20%丙酮-25.0mmol/LNa₂CO₃ 溶液为淋洗液, 流量为 0.80mL/min, 采用等度洗脱的方式可将硫代巴比妥酸与硫酸盐等常见阴离子和巴比妥酸完全分离, 通过抑制电导检测, 硫代巴比妥酸的峰面积及峰高与其质量浓度均在 0.05~40.0mg/L 范围内呈良好的线性关系, 相关系数均为 0.9999, 方法应用于自来水、实验室废水和巴比妥酸样品中微量硫代巴比妥酸的测定, 加标回收率为 95.2%~100.6%, 5 次平行测定的相对标准偏差 (RSD) 小于 4%, 方法可在 22min 以内完成硫代巴比妥酸的测定, 简便快速。【结论】本方法可用于自来水、实验室废水和巴比妥酸中微量硫代巴比妥酸的定量分析。

关键词: 离子色谱法;水;硫代巴比妥酸;巴比妥酸

硫代巴比妥酸 (TBA) 又称为 4,6-二羟基-2-巯基嘧啶或丙二酰缩硫脲, 在实验室和制药企业应用广泛。曾作为嘧啶类^[1-3]等化合物合成的中间体, 作为化学分析或生化试剂用于氰化物^[4]、山梨酸^[5]、丙二醛、糠醛、香草醛及戊二醛等醛类物质^[6-10]、热老化物质^[11]、血清脂质过氧化物^[12-13]、唾液酸^[14]和铁^[15]的测定, 也用于修饰金纳米探针高灵敏检测三聚氰胺^[16]。TBA 具有特殊气味, 对眼睛、呼吸系统及皮肤有刺激作用, 对环境可能有危害, 尤其是对水体的影响。由于 TBA 与巴比妥酸 (BA) 制备的原理相同, 分别用硫脲、尿素与丙二酸二乙酯反应制备, 所以在 BA 产品中可能存在微量 TBA 而影响品质, 因此, 监测实验室及工厂废水、BA 等样品中微量 TBA 具有重要意义。目前, 似未见有测定微量 TBA 的方法报道。本试验研究用离子色谱法测定微量 TBA。通过试验优化确立了相关色谱条件, 建立了以 SH-AP-2 型阴离子交换柱为分离柱, 以 20.0%丙酮-25.0mmol/LNa₂CO₃ 溶液为淋洗液, 流量为 0.80mL/min 等度洗脱, 抑制电导检测-离子色谱法测定微量 TBA 的新方法, TBA 的峰面积及峰高与其质量浓度均在 0.05~40.0mg/L 范围内呈良好的线性关系, 相关系数均为

0.9999, 方法应用于自来水、实验室废水和 BA 样品中微量 TBA 的测定, 加标回收率为 95.2%~100.6%, 5 次平行测定的 RSD 为 1.20%~3.43%, 方法的检出限为 0.025mg/L。

1 试验部分

1.1 主要仪器

CIC-100 型离子色谱仪 (青岛盛瀚色谱公司, 编号 15601), 抑制器: 自再生抑制器, 检测器: 电导检测器, 定量环体积为 25 μ L; SHA—15 自动进样器 (青岛盛瀚色谱公司, 编号 AS1518050); SH-AP-2 型阴离子交换柱 (250 \times 4.0mm i.d, 青岛盛瀚色谱公司, 批号: 2004005); SH-AP-2 型保护柱 (50 \times 4.0mm i.d, 青岛盛瀚色谱公司, 批号: G200023)。

1.2 仪器工作条件及参数设置

色谱仪: 柱箱温度 35 $^{\circ}$ C, 电流: 75mA, 量程: 1 档。

自动进样器: 全定量环取样, 取样后清洗 (每针之间), 置换量 70 μ L, 取样量 25 μ L, 扎针深度 4mm。

1.3 主要试剂

NO₃⁻、F⁻、Cl⁻、SO₄²⁻标准溶液: 质量浓度均为 1000 mg/L, 编号分别为 GBW(E)080264、GBW(E)080549、GBW(E)080268、GBW(E)080266, 北京中国计量科学研究院。

TBA, 分析纯 (含量 \geq 98.5%), 国药集团化学试剂有限公司。

TBA 标准溶液: 1000 mg/L, 称取硫代巴比妥酸 (硅胶干燥器中干燥 24h) 0.1016g 用高纯水溶解后, 定容至 100ml 容量瓶, 混匀避光保存。

临用前将 TBA 标准溶液用纯水逐级稀释成 5.0mg/L (A 液) 和 100.0mg/L (B 液) 标准应用液。

无水碳酸钠、碳酸氢钠、丙酮、甲醇、甘氨酸 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

试验所用试剂均为 AR 及以上级, 试验用水为超纯水 (18.2M Ω ·cm)。

1.4 试验方法

(1) 标准曲线的绘制

取 TBA 标准应用液 (A 液) 0.10、0.50、1.00、2.00mL 及 B 液 0.50、1.00、2.00、3.00、4.00mL 于 9 只 10mL 容量瓶中加入纯水至刻度, 混匀, 配制成 TBA 质量浓度为 0.05、0.25、0.50、1.00、5.00、10.0、20.0、30.0 和 40.0mg/L 的系列, 各管取 1.5mL 于样品瓶中, 启动自动进样器进样测定 TBA 的峰面积 (S) 及峰高 (H), 以 S、H 对质量浓度绘制工作曲线。

(2) 样品测定

取自来水、实验室废水经 0.45 μ m 滤膜过滤后供测试。称取 BA 样品 1.00g 溶解后定容至 100ml 取样液经 0.45 μ m 滤膜过滤后供测试（该测试液中 BA 的质量浓度为 10.0g/L）。各取 1.5mL 过滤后的样液于样品瓶中，启动自动进样器进样测定 TBA 的峰面积（S）及峰高（H），以标准曲线法定量，同时进行加标回收试验。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

（1）淋洗液的选择

试验结果表明，在 SH-AP-2 型分离柱上 TBA 是强保留组分，因此选用洗脱能力较强的 Na₂CO₃ 溶液进行淋洗试验，结果显示当 Na₂CO₃ 溶液浓度分别为 15.0、20.0、25.0 和 30.0 mmol/L 时，TBA 的保留时间（T）分别为 49、39、31 和 28min 多钟，峰面积及半峰宽逐渐降低，峰高基本保持不变，见表 1。Na₂CO₃ 溶液浓度太高，不利于抑制器的使用^[7]，为了有较短的保留时间和较低的抑制电流，本试验以 25.0mmol/L 的 Na₂CO₃ 溶液为淋洗液，齐剑英等^[18]曾以 25.0mmol/L 的 Na₂CO₃ 溶液为淋洗液成功测定了二氯乙酸和三氯乙酸。

表 1 Na₂CO₃ 溶液浓度选试验结果（流量 0.80 ml/min，柱温 35 $^{\circ}$ C）

Na ₂ CO ₃ 溶液浓度 (mmol/L)	T/min	S	H	半峰宽
15.0	49.633	907129	8175	104.207
20.0	39.179	570446	8085	73.155
25.0	31.414	531245	8074	61.719
30.0	28.207	479141	8070	55.758

（2）淋洗液流量的选择

分别对 0.70mL/min、0.80mL/min 和 0.90mL/min 淋洗液流量进行了考察，结果见表 2，从表 2 可知，随着淋洗液流量的升高 TBA 的 T 逐渐缩短，S 和 H 逐渐降低，系统压力逐渐升高，分别达 11.1、12.5 和 14.0MPa，为使 TBA 有适宜的保留时间、较高的检测灵敏度、系统有较低的压力，本试验淋洗液流量选定为 0.80mL/min。

表 2 淋洗液流量选择试验结果（25.0mmol/LNa₂CO₃，柱温 35 $^{\circ}$ C）

组分	0.70ml/min			0.80ml/min			0.90ml/min		
	T/min	S	H	T/min	S	H	T/min	S	H

TBA 36.855 633439 9963 32.307 539407 9458 28.959 470623 9071

(3) 柱箱温度的确定

考察了 30°C、35°C 和 40°C 时 TBA 的分离效果，结果见表 3，从表 3 可见，在 30°C~40°C 范围内，TBA 随着柱温的升高 T 逐渐缩短，峰面积基本保持不变，峰高明显上升，半峰宽逐渐降低，峰型明显改善，这也从 TBA 的峰面积基本保持不变，而峰高明显上升得以体现。在保证 TBA 有适宜的 T 和良好的峰型的前提下尽量使用较低的柱温，故本试验确定柱箱温度为 35°C。

表 3 柱箱温度选择试验结果 (25.0mmol/LNa₂CO₃, 流量 0.80 ml/min)

柱箱温度	T/min	S	H	半峰宽
30°C	34.233	542225	8749	58.202
35°C	32.224	544711	9534	53.661
40°C	30.398	544542	10137	50.077

2.2 有机改性剂的影响及使用浓度

试验考察了甲醇、丙酮和甘氨酸等有机改性剂对 TBA 分离情况的影响，结果表明，甘氨酸对 TBA 的分离效果基本无影响，甲醇和丙酮的试验结果见表 4，从表 4 可知，甲醇和丙酮可以使 TBA 的保留时间明显缩短，TBA 的峰高及峰面积分别增加 7.65%、17.9% 和 12.0%、63.4%，检测灵敏度也有所提高，半峰宽显著降低，峰型明显改善，这也从峰高增加率显著高于峰面积的增加率得到印证。且丙酮在缩短保留时间、改善峰型及提高检测灵敏度等方面的效果明显优于甲醇，本试验选用丙酮为有机改性剂。丙酮浓度配比试验结果见表 5，从表 5 可见，当淋洗液中丙酮的体积份数 (V/V, %) (下同) 在 18.0%~22.0% 时，TBA 的峰面积和峰高均达稳定最大值，分别增加了 94.4%~97.4% 和 206.6%~215.5% (相对于不加有机改性剂)，本试验丙酮的体积份数选定为 20.0%。通过试验发现，若将 25.0mmol/LNa₂CO₃ 溶液 (A) 的电平值调节到 0，则在其中分别添加 5.0% (B)、10.0% (C)、15.0% (D)、18.0% (E)、20.0% (F)、22.0% (G) 和 25.0% (H) 的丙酮时的电平值分别为 -36、-101、-140、-171、-203、-217 和 -228mv，可见丙酮可显著降低淋洗液背景电导，所以大大提高了 TBA 检测灵敏度，见图 1。

表 4 有机改性剂对 TBA 色谱峰参数的影响 (流量 0.80 ml/min, 柱温 35°C)

淋洗液组成	T/min	峰面积 比	峰高比	半峰宽
25.0mmol/LNa ₂ CO ₃ 溶液	31.414	1.000	1.000	61.791
10.0%甲醇-25.0mmol/LNa ₂ CO ₃ 溶液	27.727	61.076	1.120	59.631
10.0%丙酮-25.0mmol/LNa ₂ CO ₃ 溶液	23.691	1.179	1.634	44.561

表 5 丙酮浓度配比试验结果 (柱温 35°C, 流量 0.80 ml/min)

25.0mmol/LNa ₂ CO ₃ 溶 液中丙酮浓度 (V/V)	T/min	峰面积 比	峰高比	半峰宽
0	31.414	1.000	1.000	61.791
5.0	26.313	1.120	1.488	46.516
10.0	23.678	1.175	1.632	44.474
15.0	21.080	1.480	2.198	41.623
18.0	19.728	1.974	3.066	39.793
20.0	18.762	1.968	3.135	38.799
22.0	18.326	1.944	3.155	38.080
25.0	17.446	1.853	3.032	37.763

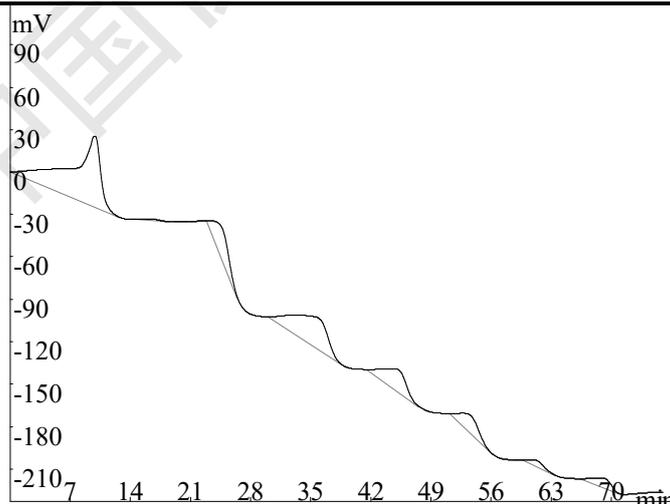


图 1 丙酮降低淋洗液背景电导试验结果 (图中平台从上到下依次为 A-H)

2.3 线性方程、线性范围与检出限

按照 1.4.1 配制标准系列, 测定 TBA 的峰面积 (S) 和峰高 (H), 以 S、H 为纵坐标,

以其质量浓度(C)为横坐标绘制标准曲线,进行线性回归。测定仪器 30min 的基线噪声,以 3 倍基线噪声除以标准曲线的斜率 ($3N/b$) 计算 TBA 的最低检出限。其标准曲线的线性范围、回归方程、相关系数 r (回归方程的截距、斜率和 r 均由仪器软件自动生成)、检出限列于表 6。从表 6 可见, TBA 的峰面积及峰高与其质量浓度均在 0.05~40.0mg/L 范围内呈良好的线性关系,相关系数 r 均为 0.9999, TBA 的检出限(以峰面积计)为 0.025mg/L。其中, 20.0mg/L 的 TBA 标准溶液色谱图见图 2。

表 6 标准曲线试验结果

组分	线性范围/mg/L	回归方程	相关系数/ r	检出限/mg/L
TBA	0.05~40.0	$S=58660C-2647$	0.9999	0.025
		$H=1410C+51.16$	0.9999	

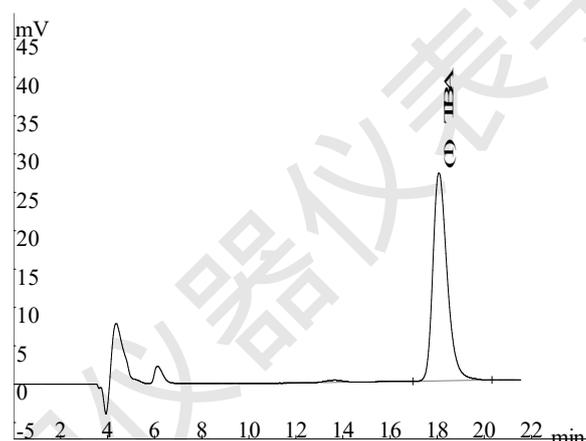


图 2 TBA 标准色谱图

2.4 共存物质的影响

考察了 F^- 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 $H_2PO_4^-$ 、 SO_4^{2-} 等 5 种常见阴离子及 BA 对 TBA 测定结果的影响,结果见图 3,从图 3 可知,在本试验条件下,5 种阴离子及 BA 均在 TBA 前出峰,保留时间远小于 TBA,且 NO_3^- 、 $H_2PO_4^-$ 、 SO_4^{2-} 和 BA 四者合并为一个峰,可见 F^- 、 Cl^- 、 NO_3^- 、 $H_2PO_4^-$ 、 SO_4^{2-} 和 BA 均不干扰 TBA 的测定。

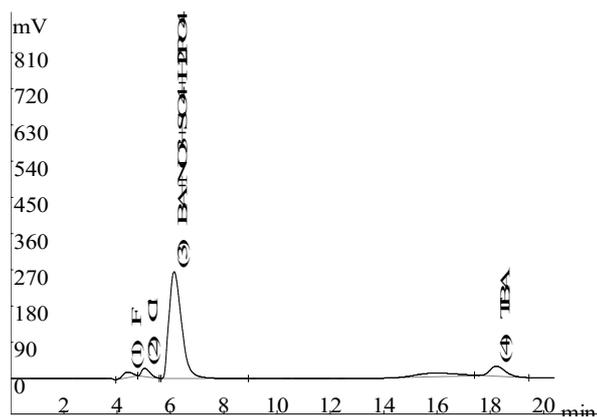


图3 TBA与常见阴离子及BA分离色谱图

2.5 样品测定及回收率试验结果

按照 1.4.2 的方法测定自来水、实验室废水和 BA 样品中 TBA 的含量，同时分别添加 50.0mg/L 的 TBA 标准溶液 0.10、0.20、1.60、0.10 和 0.40mL 配制成 10.0mL 加标样品，各平行测定 5 次，计算平均加标回收率及测定结果的相对标准偏差（RSD），结果见表 7。由表 7 可知，TBA 的加标回收率为：95.2%~100.6%，5 次平行测定结果的 RSD 为 1.20%~3.43%。其中，实验室废水加 1.0mg/L (A) 和 BA 加 0.50mg/L TBA 标准液(B)加标样品色谱图见图 4，从图 4 可知，TBA 与 F⁻、Cl⁻、NO₃⁻、H₂PO₄⁻、SO₄²⁻（图 4-A）和 10.0g/L 的 BA（20000 倍，图 4-B）等组分均能完全分离。

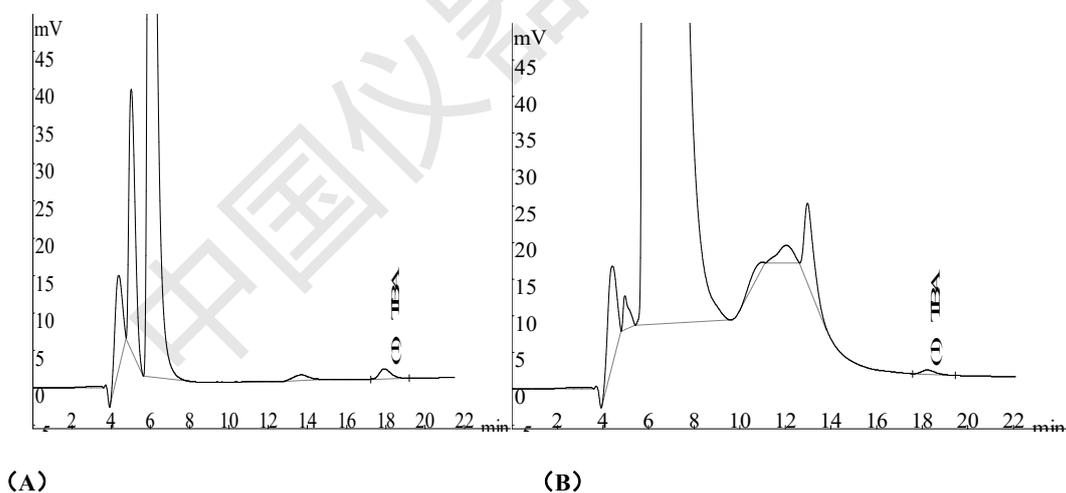


图4 废水 (A) 及 BA (B) 加标样品色谱图

样品名称	本底值 /mg/L	加入量 /mg/L	测得量/mg/L	回收率/%	RSD/%
自来水	<0.025	0.50	0.477, 0.481, 0.498, 0.499, 0.515	98.8	3.10

实验室废水	0.198	1.00	1.10, 1.12, 1.15, 1.18, 1.18	95.2	3.12
		8.00	8.06, 8.10, 8.11, 8.26, 8.27	99.9	1.20
巴比妥酸	0.030	0.50	0.491, 0.502, 0.516, 0.517, 0.524	96.1	2.60
		2.00	1.97, 1.99, 2.01, 2.11, 2.12	100.6	3.43

表 7 样品测定及回收率试验结果

3 小结

本工作建立了以 SH-AP-2 型阴离子交换柱为分离柱，以 20.0%丙酮-25.0mmol/LNa₂CO₃ 溶液为淋洗液，流量为 0.80mL/min 等度洗脱，抑制电导检测-离子色谱法测定 TBA 的新方法。方法重现性良好，操作简便快速，测定结果准确可靠，适用于自来水、实验室废水、巴比妥酸等样品中微量 TBA 的测定。

参考文献:

- [1] 郭峰, 吉民, 华维一. 2-甲磺酰基-4,6-二甲氧基嘧啶的简便合成[J]. 化学通报 (印刷版), 2005, 62(11):876-877
- [2] 方永勤, 郭丽婷. 4,6-二氯-2-甲硫基嘧啶的合成[J]. 常州大学学报 (自然科学版), 2011, 23(1):15-18.
- [3] 顾利斌, 李泽平, 杨涛, 姜深伟. 一种 4,6-二甲氧基-2-甲磺酰基嘧啶的生产工艺. 中国: CN202011524908.4[P].20210326
- [4] 张娅, 李春江, 王茜. 异烟酸-硫代巴比妥酸显色反应测定酒中氰化物的研究[J]. 中国酿造, 2013, 32(12): 138-140.
- [5] 李竹云, 王丽华, 王鲁敏, 等. 光度法测定食品添加剂山梨酸的研究[J]. 食品科学, 2008, 15(3):429-432.
- [6] GB5009.181-2016. 食品安全国家标准 食品中丙二醛的测定[S].
- [7] 周琦. 梁运祥. 动物肝组织中丙二醛含量测定方法的改进[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(1): 224-225.
- [8] 欧郁强, 李胜利, 吴垂明, 等. 2-硫代巴比妥酸显色法检测变压器油中糠醛的研究[J]. 绝缘材料, 2015, 50(10):67-71.
- [9] 何新亚, 刘金霞, 曹晓红, 等. 硫代巴比妥酸光度法测定香草醛[J]. 分析实验室, 1999, 18(5): 58-60.

- [10] 何新亚, 叶英植. 硫代巴比妥酸分光光度法测定消毒液中戊二醛[J]. 分析化学, 1998, 26(11): 1358-1361.
- [11] 张文会. 利用 2-硫代巴比妥酸 TBA 方法测定啤酒和饮料中的热老化物质[J]. 啤酒科技, 2012, 17(7): 58-62,57.
- [12] 杨李, 唐瑛, 左娟, 等. 硫代巴比妥酸法测定血清脂质过氧化物方法的改进[J]. 华南国防医学杂志 2004, 18(1): 30-32.
- [13] 赖泽仁. TBARS 显色法测定血清过氧化脂质及其实验研究[J]. 医药论坛杂志, 2006, 27(22): 38-39.
- [14] 何岳文, 黄覆成, 张爱宏. 硫代巴比妥酸比色法测定尿液中唾液酸[J]. 铁道医学, 1994, 22(6): 357-358.
- [15] 黄选忠. 铁(II)-硫代巴比妥酸-NO₂-显色反应[J]. 光谱学与光谱分析, 1998, 18(6): 759-761.
- [16] 费瑶, 郭涵, 奚焕祥, 等. 2-硫代巴比妥酸修饰金纳米探针高灵敏比色检测三聚氰胺[J]. 应用化学, 2014, 31(4): 496-501.
- [17] 杭义萍, 卢祝靓子, 杨春英. 抗坏血酸存在下离子色谱法直接测定尿液中草酸含量的研究[J]. 分析测试学报, 2014, 33(11): 1307-1311.
- [18] 齐剑英, 吴颖娟, 张平, 等. 离子色谱法测定饮用水中二氯乙酸和三氯乙酸[J]. 理化检验-化学分册, 2007, 43(11): 947-949.