

# 液相色谱测定H-酸中的变色酸和T-酸的含量

No.LC-016

**摘要：**通过分析柱与流动相pH值的选择，对国标方法H-酸中的变色酸和T-酸的含量测定进行了剖析。并在最佳条件下，进行了分析。配制了5个不同浓度的标样，得到的校准曲线相关系数分别为0.9998、0.9999，检测限为5.43ug/L，5.16 μg/L。定量限为16.47 μg/L，15.63 μg/L。用2.4mg/L样品做重现性，连续6针保留时间重现性RSD分别为0.083%、0.116%，峰面积重现性RSD分别为0.483%、0.456%。取两个工业级样品进样，测得终浓度分别为T-酸0.96，1.72mg/L，变色酸5.75，2.10mg/L。

**关键词：**HPLC 变色酸 T-酸

变色酸和T-酸是工业生产H-酸的杂质，为保证产品质量，需要控制它们的含量。

变色酸和T-酸都呈酸性，所以当使用ODS柱对它们进行反相分析时，需要在流动相中加入缓冲液。国标方法中对分析柱和流动相的规定为：普通ODS柱，甲醇：水=1:49,内含7.1g/L的硫酸钠，用磷酸调pH值为3.1-3.4之间。但在实际使用中发现，不同的ODS柱对两者的分离是不同的，不同的pH值（指pH值在3.1-3.4之间的微小变化）对两者的分离也是有影响的。

本文通过试验，对柱子和pH值对分离的影响进行了探索，并选择了最佳条件对两个实际样品进行了定量。

## 仪器配置

LC-20ADvp × 1(流动相输液泵)，SIL-HTC(自动进样器)，CTO-10Avp(柱温箱)，SPD-20AV(紫外可见检测器)，SCL-10Avp(系统控制器)，LCsolution(色谱工作站)。

## 分析条件

流动相：甲醇：水=1:49, 内含7.1g/L的硫酸钠，  
用磷酸调pH值为3.1-3.4之间  
流速：1.0ml/min

进样体积：10 μL  
色谱柱：ODS柱 4.6 × 250mm 5 μm  
柱温：30℃

## 标品前处理

(1) 称取已知含量的变色酸双钠盐标样0.03g，置于50mL烧杯中，用水溶解，并转移至250mL容量瓶中，用水稀释至刻度，混均，用覆盖，此溶液为A液。

(2) 称取已知含量的变色酸双钠盐标样0.05g，置于50mL烧杯中，用水溶解，并转移至250mL容量瓶中，用水稀释至刻度，混均，用覆盖，此溶液为B液。

(3) 在5个50mL容量瓶中，按下表配制，得1、2、3、4、5号标准混合溶液。

单一标准溶液	加入标准溶液				
	1	2	3	4	5
A液	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0
B液	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0
稀释后总体积	50	50	50	50	50

## 样品前处理

称取H-酸粉末状试样0.03g，用少量水溶解于50mL烧杯中，置于100mL的容量瓶中，用水定容。

## 分析结果

### 1. 3号标准品色谱图:

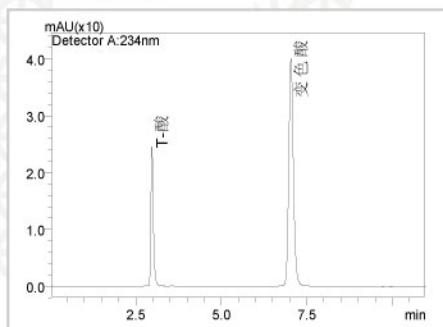


图1 标准品色谱图

### 2. 各组分的校准曲线:

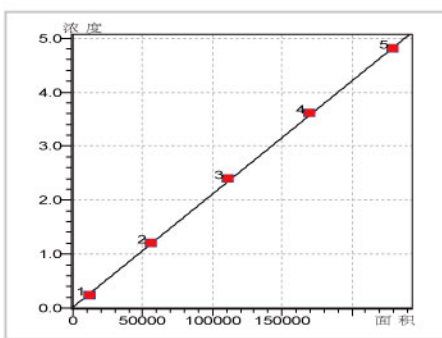


图2.T-酸校准曲线

校准曲线如图3所示, 得到校准曲线方程 $Y=aX+b$ ,  $a=2.094092e-005$ ,  $b=1.624499e-002$ 相关系数 $R=0.9998$ 。

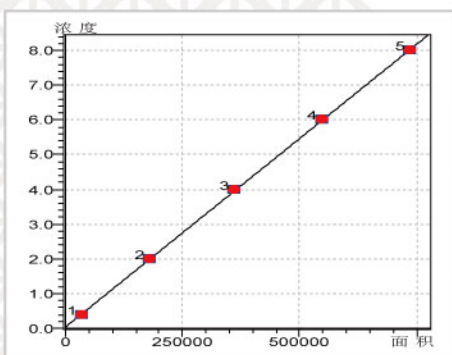


图3.变色酸校准曲线

校准曲线如图3所示, 得到校准曲线方程 $Y = aX + b$ ,  $a = 1.084725e-005$ ,  $b = 3.900668e-002$ 相关系数 $R = 0.9998054$ 。

### 3. 重现性

将3号标样连续进样6次, 分别计算保留时间和峰面积的重复性, 结果见表1。

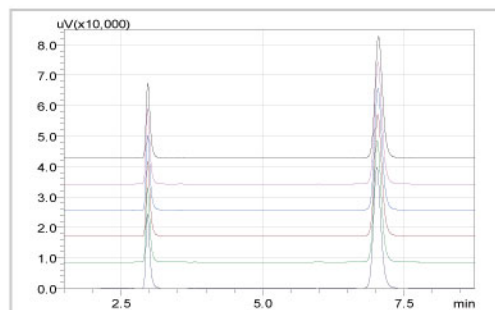


图4.重现性结果图

表1.重现性结果

RSD%	保留时间	峰面积
T-酸	0.083	0.483
变色酸	0.116	0.456

### 4. 检测限 (S/N=3) 和定量限 (S/N=)

	检测限 ( $\mu\text{g/L}$ )	定量限 ( $\mu\text{g/L}$ )
T-酸	5.43	16.47
变色酸	5.16	15.63

### 5. 未知样品谱图和定量结果

配制10mg/L标样进样10  $\mu\text{L}$ , 结果如图5和表2所示。

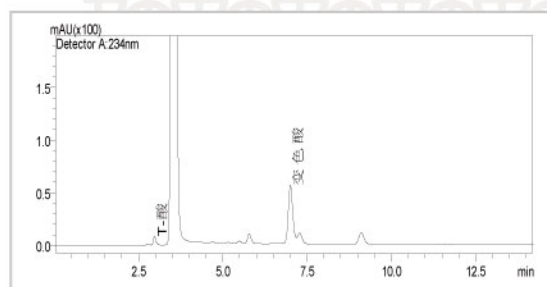


图5.样品一色谱图

表2. 样品一定量结果

组分名	保留时间 (min)	定量结果 (mg/L)
T-酸	3.01	0.96
变色酸	7.43	5.75

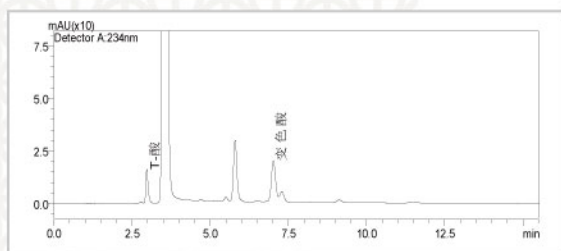


图6. 样品二色谱图

组分名	保留时间 (min)	定量结果 (mg/L)
T-酸	3.03	1.72
变色酸	7.41	2.10

表2. 样品二定量结果

## 讨论

### 1. 分析柱的影响

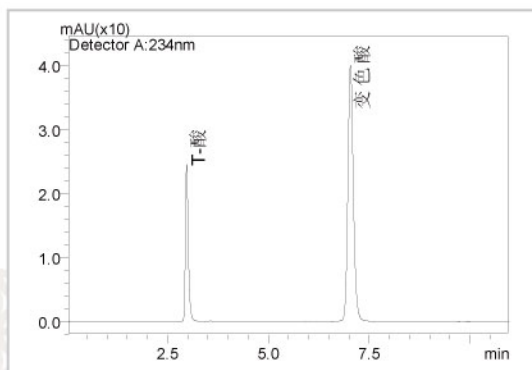


图7. Shim-pack VP-ODS柱分离结果

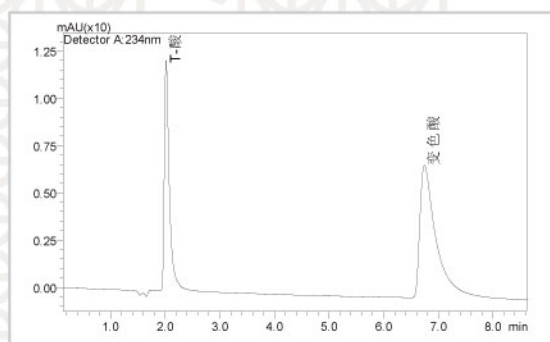


图8. 另外一种柱的分离结果

根据谱图比较, VP柱对变色酸的分离结果更好, 可能是VP对酸性物质吸附点更少的原因, 所以选择VP柱进行分析。

### 2. pH值的影响

国标中规定的pH值可在3.1–3.4的范围内变动, 但在实际样品分析中, 由于T-酸和H-酸以及变色酸和另一杂峰非常接近, 在此范围内的微小pH值变化, 仍会影响它们的分离结果。

笔者曾使用15cm的VP柱对样品进行分离, 并使用实验室内pH计分别配置pH为3.1和3.4的流动相, 分离色谱图如下:

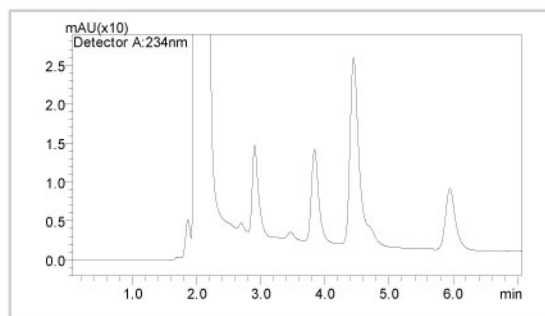


图9. pH3.1流动相的分离结果

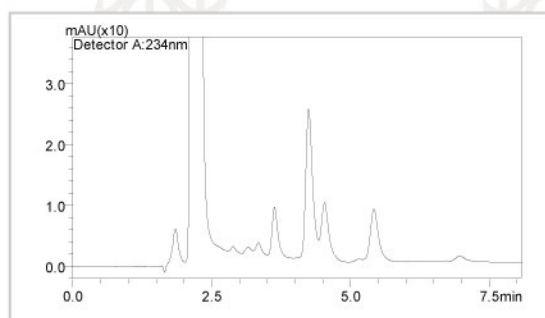


图10. pH3.4流动相的分离结果

从色谱图比较来看, pH值降低, 变色酸所在的难分峰组更易分开。pH值升高, T-酸和H-酸更易分开。

为提高分离度, 本实验最终选择了25cm的VP柱, pH值为3.3的流动相作为分离条件, 得到以上结果。