

高效液相色谱内标法测定 15-羟基十五烷酸的含量

刘源源, 韩丽丽, 江菲菲, 彭阳峰*

(华东理工大学化工学院, 上海 200237)

摘 要: 用液相色谱内标法定量分析 15-羟基十五烷酸。样品以 C_{18} (4.6×250 mm) 为色谱柱, 以十四酸为内标物, 流动相为甲醇: 乙腈: 水= 80: 5: 15 (0.1% 三氟乙酸), 流速: 1.2 mL/min, 检测波长为 210 nm。结果表明在实验范围内, 方法的相关性好 ($r > 0.9990$), 样品测定的相对标准偏差 $RSD < 1\%$, 加标回收率为 100.36%, 检出限为 $7.29 \times 10^{-4} \text{ g/(s} \cdot \text{L)}$ 。

关键词: 15-羟基十五烷酸; 十四酸; 高效液相色谱; 内标法

中图分类号: O 657.7⁺ 2 **文献标志码:** A

文章编号: 0367-6358(2011)11-0654-03

Determination of 15-Hydroxypentadecanoic Acid by HPLC Method

LIU Yuan-yuan, HAN Li-li, JIANG Fei-fei, PENG Yang-feng*

(East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: The method of high performance liquid chromatography (HPLC) with internal standard was applied to the quantitative analysis of 15-hydroxypentadecanoic acid. C_{18} (4.6×250 mm) was used and myristic acid was the internal standard. The mobile phase was a mixture of methanol, acetonitrile and water (80: 5: 15, 0.1% trifluoroacetic acid), the flow rate was 1.2 mL/min and UV detection was performed at 210 nm. Using this method, the desired relativity ($r > 0.999$) and repeatability ($RSD < 1\%$) were obtained, the average recovery rate was 100.36% and the sensitivity was $7.29 \times 10^{-4} \text{ g/(s} \cdot \text{L)}$.

Key words: 15-hydroxypentadecanoic acid; myristic acid; HPLC; internal standard

麝香芳香宜人, 香味持久, 是一种名贵的动物香料。由于天然麝香来源有限, 因此合成麝香的研究与应用一直受到重视。环十五内酯是其中最重要的人工合成的巨环麝香, 其香气优雅, 接近于天然麝香, 目前没发现有安全和环保问题, 因而近来受到特别重视^[1]。

环十五内酯 (Cyclopentadecanolide) 又名黄蜀葵素, 天然的环十五内酯存在于当归根精油中, 自然界中的含量极微, 提取很困难。已经报道过的合成环十五内酯方法有很多^[2~4], 但随着发酵法生产 1, 15-十五碳二元酸技术的工业化^[5], 以 1, 15-十五碳二元酸为起始原料合成环十五内酯, 最具有工业应用前景。在该路线中, 中间产物 15-羟基十五烷酸

(其中含有部分 1, 15-十五碳二元酸) 是最关键的中间体, 为寻找最佳的工艺条件, 必须解决 15-羟基十五烷酸的含量分析。

虽然文献报道了以月桂酸为内标物的 1, 15-十五碳二元酸的分析方法^[6], 但实践表明由于实验和工业制备的 15-羟基十五烷酸中存在着未知物对内标物月桂酸有一定干扰, 因而限制了月桂酸为内标物在 15-羟基十五烷酸分析中的应用。本文以十四酸为内标物, 采用反相液相色谱内标法建立 15-羟基十五烷酸的定量分析方法, 可以满足小试或生产中对 15-羟基十五烷酸的分析要求。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

收稿日期: 2011-04-13; 修回日期: 2011-08-26

作者简介: 刘源源 (1984~), 男, 安徽宿州人, 硕士生, 主要从事精细化学品开发研究。* E-mail: yfpeng@yeah.net

STI 液相色谱仪(含 STI P5000 高压恒流泵和 STI UV5000 可变波长紫外检测器)(上海禾工)。

1.2 试剂

甲醇, 色谱纯(上海凌峰化学试剂有限公司); 乙腈, 色谱纯(上海凌峰化学试剂有限公司); 三氟乙酸, 十四酸, 分析纯(上海晶纯试剂有限公司), 15-羟基十五烷酸供试品(自制); 本实验所用水均为娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈纯净水厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱: KromstarTM C₁₈ (4.6 × 250 mm); 流动相: 甲醇: 乙腈: 水 = 80: 5: 15 (0.1% 三氟乙酸); 流速: 1.2 mL/min; 柱温: 室温; 检测波长: 210 nm。

2.2 样品的制备

内标溶液的配制: 精确称取十四酸 2.0124 g, 于 100 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 备用。

15-羟基十五烷酸标准溶液配制: 精确称取 15-羟基十五烷酸(含量 71.15%) 0.5358 g, 于 50 mL 容量瓶中, 加甲醇至刻度, 摇匀, 备用。

2.3 标准曲线的绘制

分别精确量取标准样品溶液 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mL 置于 10 mL 容量瓶中, 各加入内标溶液 2.0 mL, 加甲醇至刻度, 摇匀。每次进样 10 μL, 每个浓度进样 3 次。得线性关系如下:

$$y = 0.00272x + 0.90803x \quad \text{相关系数: } 0.99988$$

(y 为 15-羟基十五烷酸与十四酸峰面积之比, x 为质量比率)

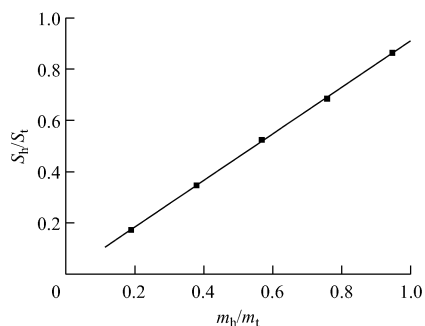


图 1 15-羟基十五烷酸标准曲线(内标法)

h: 15-羟基十五烷酸; t: 十四酸

2.4 检出限

假设色谱仪最低响应值为 $S = 3N$ (N 为仪器噪音水平), 按检测限计算公式^[7] 得本方法 15-羟基十五烷酸检出限为 $7.29 \times 10^{-4} \text{ g/(s} \cdot \text{L)}$ 。

2.5 精密度试验

精确量取标准 15-羟基十五烷酸溶液 2.0 mL

置于 10 mL 容量瓶中, 精确加入内标溶液 2.0 mL, 加甲醇至刻度, 摇匀。每次进样 10 μL, 重复 6 次, 计算 15-羟基十五烷酸与十四酸峰面积比, 计算 RSD 为 0.22%。

2.6 方法重现性实验

取已知含量的 15-羟基十五烷酸(含少量 1, 15-十五碳二元酸) 0.1453 g, 又加入未知含量的 15-羟基十五酸 0.1011 g, 用甲醇稀释到 25 mL, 配成试样溶液备用。分别精确量取上述溶液 3, 4, 5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 各加内标溶液 2 mL, 加甲醇至刻度, 摇匀, 按 2.1 色谱条件测定, 每次进样 10 μL, 重复 3 次, 结果见表 1。结果显示, RSD < 1%, 重现性较好。

表 1 方法重现性实验结果($n = 3$)

样品名称	平均面积比	样品中 15-羟基十五烷酸 计算浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	试样中 15-羟基十五烷酸 计算浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	三样品平均 计算浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	RSD/ %
A	0.448	1.960	6.533		0.41
B	0.5955	2.627	6.658	6.560	0.12
C	0.7447	3.289	6.578		0.27

2.7 标样的回收率测定

精确称量 0.0984 g 实验室经 2 次精制 15-羟基十五烷酸, 内含少量的 1, 15-十五碳二元酸, 用甲醇稀释到 25 mL 备用。精确量取两份 2 mL 上述溶液, 分别置于 10 mL 容量瓶, 再分别加入内标溶液 2 mL, 在其中一容量瓶中加入已知含量 15-羟基十五烷酸, 加甲醇至刻度, 摇匀, 按 2.1 色谱条件测定, 每次进样 10 μL, 重复 3 次, 结果见表 2。

表 2 标样的回收率($n = 3$)

组分	加入量/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	平均实测值/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率/%
15-羟基十五烷酸	3.050	3.061	100.36

结果显示, 方法回收率为 100.36%, 准确度较高。

3 结果和讨论

3.1 内标物及流动相条件的确定

小试或生产中合成得到的 15-羟基十五烷酸往往含有某种杂质, 因此所选的内标物在色谱上的出峰位置要避免杂质的干扰。以月桂酸^[6] 为内标物容易受杂质干扰, 影响分析精度。研究发现选择十四酸作为内标物时, 其出峰时间较晚, 可以避开 15-羟基十五烷酸中可能的杂质的干扰。当选择十六酸作为内标物时, 其出峰时间太晚, 延长了不必要分析时

间,因而放异。参照文献^[6],本文以甲醇、乙腈与水的混合溶剂作为流动相,甲醇、乙腈、水的配比为 80:5:15,三氟乙酸含量为 0.1%,此时 1,15-十五碳二元酸,15-羟基十五烷酸和十四酸均有较好的分离度、峰形。色谱图中,1,15-十五碳二元酸的出峰时间约为 5.5 min,15-羟基十五烷酸出峰时间约为 6.1 min,十四酸出峰时间约为 23.2 min,而杂质的出峰时间在 20 min 之前,对十四酸出峰没有影响。

3.2 检测波长的选择

甲醇作为流动相允许的最小波长为 210 nm,而升高检测波长则 15-羟基十五烷酸,十四酸的吸收度下降,因而本研究将检测波长定为 210 nm。

4 结论

以十四酸为内标物,本文建立了反相高效液相色谱法测定 15-羟基十五烷酸的方法,确定的流动相为甲醇:乙腈:水=80:5:15(0.1% 三氟乙酸),流速:1.2 mL/min,检测波长为 210 nm。该方

法的重现性好,准确度高,可以满足实验室研究或生产中 15-羟基十五烷酸的测定要求,已在实际中应用。

参考文献:

- [1] 赖 芳,刘雄民,李伟光,等. 食品科学[J],2009,30(10):159-161.
- [2] 熊正根,蔡珪. 南昌大学学报[J],1993,17(2):75-78.
- [3] 黄宏妙,沈 芳,刘雄民,等. 化学世界[J],2006,47(8):497-499.
- [4] 张莎莎,冯亚青. 环十五内酯的制备工艺[D]. 天津:天津大学,2008.
- [5] 陈远童,郝秀珍. 微生物学报[J],1995,35(6):433-437.
- [6] 江菲菲,彭阳峰,童天中,等. 香料香精化妆品[J],2010,(5):27-29.
- [7] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.1-2003[S].

(上接第 653 页)

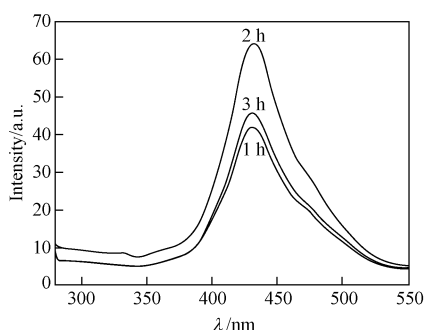


图 6 复合发光材料的光致发光光谱

3 结 论

利用超声法,以 7-羟基香豆素和 γ - Al_2O_3 纳米粉为原料,制得了荧光效率较高的复合发光材料。红外分析结果表明, γ - Al_2O_3 表面原子和 7-羟基香豆素分子之间产生了复杂的相互作用;荧光分析发现,由于纳米 γ - Al_2O_3 和 7-羟基香豆素形成化学键,复合材料的荧光强度比原料的荧光强度增强了很多,说明复合材料的发光性能和原料相比有了很大提高。另外,复合材料的荧光强度随 7-羟基香豆素溶液浓度的增加呈先增强后减弱的趋势,同时其峰位出现红移;而随超声处理时间的延长,复合材料的荧光强度也出现先增强后减弱的趋势,但峰位并未出现明显变化。

参考文献:

- [1] 江 昕. 纳米氧化锆(ZrO_2) 材料的发光机制及光学

特性研究[D]. 首都师范大学,2005:2-14.

- [2] 叶 辉,姜中宏. 材料研究学报[J],1999,13(1):68-72.
- [3] 杨 阳,李菡滢,陈慧兰,等. 高等学校化学学报[J],2002,23(5):768-771.
- [4] Sanchez C, Ribot F. New J Chem[J],1994,18:1007-1047.
- [5] 符连社,张洪杰. 材料科学与工程[J],1999,17(1):84-88.
- [6] 赵秦生,余忠清,张启修. 无机材料学报[J],1994,9(4):475-479.
- [7] Park Y K, Tadd E H, Zubris M, et al. Mater Res Bull[J],1506-1512.
- [8] Kureti S, Weisweiler W. J Non-cryst Solids[J],2002,303:253-261.
- [9] Kureti S, Weisweiler W. Appl Catalysis A: General[J],2002,225:251-259.
- [10] 常 钢,江祖成,彭天右,等. 化学学报[J],2003,61(1):100-103.
- [11] 王曙光,李廷辉,赵 丹. 高等学校化学学报[J],2003,24(1):95-99.
- [12] 冯青琴,郝存江,元炯亮,等. 离子交换与吸附[J],2005,21(3):277-282.
- [13] 冯青琴,郝存江,元炯亮. 河南师范大学学报[J],2004,32(3):61-64.
- [14] 吴志鸿. 工业催化[J],2004,12(2):35-39.
- [15] 法默 V C. 矿物的红外光谱[M]. 北京:科学出版社,1982. 114-146.