

过氧乙酸消毒剂中多组分的快速反相液相色谱测定

郭治安* 赵景婵 张小辉 曲波

(西北大学化学系, 西安 710069)

摘要 用反相 C_{18} 色谱柱, 采用离子抑制色谱法, 在不经衍生化的情况下, 同时测定了过氧乙酸消毒剂中过氧乙酸(PAA)、 $H_2O_2(H_2O_2)$ 、乙酸(HAc)的含量。本方法以酸性磷酸盐为缓冲溶液, 抑制 PAA 和 HAc 在流动相中的水解, 提高其容量因子, 使组分间能达到很好的分离; 利用磷酸盐缓冲溶液在紫外 210 nm 以下吸收强度较水低的特性, 降低了基线噪音, 提高了过氧化物和羧酸测定的灵敏度。各组分的检出限分别为 2.3 ng (PAA), 2.1 ng (H_2O_2) 和 30 ng (HAc)。

关键词 离子抑制色谱, 消毒剂, 过氧乙酸, 乙酸, 过氧化氢

1 引言

过氧化物是一种广泛使用的消毒杀菌剂, 其分解产物无毒副作用, 在室内外环境、医疗器械的消毒、病菌传播的抑制、织物的漂白等方面有广泛用途。过氧乙酸易分解^[1], 其含量对消毒效果的影响很大。浓度过高, 会刺激和伤害鼻子、眼睛、皮肤、肺脏及喉咙, 长期慢性伤害还可致癌; 浓度过低, 则收不到较好的消毒杀菌效果, 因而使用前对其含量进行快速、准确的测定非常必要。

工业上, 由 H_2O_2 和乙酸在无机酸催化下合成过氧乙酸(PAA)^[2], 因为反应不完全, 实际使用的 PAA 消毒液总是 H_2O_2 、PAA 和乙酸的混合物, 准确测定取决于方法的选择性。使用两步滴定法, 用高锰酸钾滴定 H_2O_2 , 再用硫代硫酸钠滴定 PAA, 不能测定微量组分。Furia 等^[3]于酸性介质中甲基对甲基苯基硫醚被 PAA 氧化为亚砷后, 用气相色谱和液相色谱测定。Effkemann 等^[1]应用相同官能团的其它衍生剂提高了分析灵敏度, 对分析大气中微量和痕量 PAA 比较适用。上述方法存在衍生反应不完全、过量衍生剂和 H_2O_2 也会带来干扰的缺点。本实验采用离子抑制色谱法, 不经过衍生, 一次进样同时测定了 PAA 消毒剂中 PAA、 H_2O_2 、HAc 的含量。利用磷酸盐缓冲溶液可以降低基线噪音, 提高了过氧化物和羧酸测定的灵敏度。本方法既适于 PAA 的生产过程分析, 又能满足 PAA 产品及实际消毒剂稀释液中各组分的测定, 与滴定法相比测定结果无明显差异, 还可用于微量测定, 在几分钟内可完成测试。

2 实验部分

2.1 仪器和试剂

HP1100 液相色谱仪、DAD 二极管阵列检测器、HP Chemstation 化学工作站、G1322A 在线脱气机、G1311A 四元梯度泵、G1316A 柱温箱(美国安捷伦公司); PHS-3C 酸度计(上海雷磁厂); TCQ-250 超声波清洗机(北京医疗设备二厂)。甲醇、乙腈为色谱纯(邯郸市四友生物医学技术有限公司), 磷酸二氢钾、磷酸、冰醋酸、 H_2O_2 为分析纯(西安试剂厂), 水为二次蒸馏水。

2.2 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS 色谱柱, 250 mm × 4.0 mm。流动相: 乙腈 15 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH 2.2) = 1882 (V/V)。检测波长: 205 nm; 流速: 0.8 mL/min; 柱温: 20 °C。

2.3 溶液制备

流动相: 配制一定浓度的磷酸二氢钾溶液用 11 磷酸调至需要 pH 值, 用 0.45 μ m 的滤膜过滤后和有机溶剂按需要比例配制后备用。标准溶液制备: 用容量法确定一种能代表市售 PAA 平均含量的产品作标准对照品。取此样品 2.0 mL 于 200 mL 容量瓶中, 用流动相稀释至刻度。样品制备: 分取 4 种

PAA 杀菌剂各 5.00 mL, 分别于 50 mL 容量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 取此稀释过的溶液 5.00 mL 于 100 mL 容量瓶中, 用流动相稀释至刻度。标准及样品溶液现配现用。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件确定

3.1.1 色谱柱和流动相的选择 反相色谱应用广泛, 操作条件简单, 实验选用反相色谱分离测定 PAA 消毒液的 3 组分, 实验发现, 用 Zorbax C8 150 mm × 4.6 mm 5 μm 柱分离时, 样品各组分峰形虽对称, 但不能达到完全分离, 改换用 Hypersil ODS 125 mm × 4.0 mm 5 μm 柱, 仍不能使 HAc 和 PAA 分离。选用 Hypersil ODS 250 mm × 4.0 mm 5 μm 色谱柱, HAc 和 PAA 能完全分离。PAA 消毒剂中存在有 H₂O₂、HAc、PAA 及少量无紫外吸收的无机酸和水, H₂O₂、HAc、PAA 均系极性物质, 可以预期, 需选用洗脱能力很弱的流动相。消毒剂样品中 PAA, HAc 的结构最接近, 分离了此两者, PAA 样品便可得到满意测定。PAA 和 HAc 均为弱酸性物质, 酸性流动相可抑制其离解。本实验于酸性条件下, 分别在 (1) 水-甲醇 (甲醇体积比 0~25%), (2) 水-乙腈 (乙腈体积比 0~25%) 考察了 HAc 和 PAA 分离情况。实验表明: 在条件 (1) 下, 当甲醇为 25% 时, 样品色谱图上有两个峰, 后者峰形较宽, 并有拐点, 纯品保留时间对照和光谱扫描确定前者为 H₂O₂, 后者为 PAA 和 HAc。甲醇浓度降低, PAA (在前) 和 HAc (在后) 逐渐分开, 但至甲醇为 5% 时分度已无变化, 甲醇量的减小只加长了分析时间, 不能达到完全分离。在条件 (2) 下, 乙腈浓度为零时, PAA 保留时间约为 7 min, 加入乙腈后, HAc 的保留时间快速递减, PAA 的保留时间则减小得较慢。当乙腈为 5% 时, HAc 出峰已较 PAA 早, 随着乙腈量的增加两峰逐渐分离。当乙腈量为 18% 时两峰已完全分离, 二极管光谱纯度检验均为纯物质。再增加乙腈量, 分离度增加并不明显, 相反基线噪音增加。从其结构看, PAA 分子形成氢键的程度较 HAc 分子大, 即 HAc 的极性弱, 用甲醇/水作流动相时保留时间长; 另一方面, 甲醇在水中有氢键存在, 洗脱氢键程度大的 PAA 的能力较 HAc 强。待分析样品各组分的极性大, 疏水作用力已接近范德华力^[4], PAA 和 HAc 相比, PAA 的分子量大, 范德华力大; 流动相由乙腈代替甲醇后, 乙腈的极性小, 使 HAc 在其中的分配比相对提高, 而固定相对它们的范德华力, 导致 HAc 在 PAA 的前面出峰。乙腈的粘度比甲醇小, 减小了范氏方程中的传质阻力项, 提高了柱效, 最终使 PAA 和 HAc 得以分离。图 1 中, H₂O₂、HAc 和 PAA 的保留时间分别为 2.9、3.38 和 3.59 min。

3.1.2 流动相 pH 值及缓冲溶液浓度的选择 PAA 消毒剂中的 PAA 和 HAc 在水系流动相中易离解, 在色谱分离中, 即使纯物质也常出现多峰现象^[5], 而且每进行一级塔板的分离, 离解平衡被破坏, 若流动相中不加入抑制剂, 色谱峰拖尾严重, 不能准确测定。作者曾研究了弱酸类有机化合物的分离条件, 总结出流动相选择的通用式^[4]: $2 < \text{pH} < \text{p}K_{\text{a}} - 2$ (以分子态为分析对象); $\text{p}K_{\text{a}} + 2 < \text{pH} < 9$ ^[6] (以组分的共轭碱为分析对象)。由于 H₂O₂、HAc、PAA 分子量小, 范德华力相对较小, 仅靠范德华力各组分的容量因子太小, 因此应将分析对象全部转化为分子形态, 以提高其疏水力。在疏水力和范德华力的共同作用下, 达到适当的容量因子。此时流动相的 pH 应采用式 $2 < \text{pH} < \text{p}K_{\text{a}} - 2$ 确定。HAc 的 $\text{p}K_{\text{a}}$ 为 4.74, PAA 的 $\text{p}K_{\text{a}}$ 值未见报道, 但由结构可推知其与 HAc 酸性相当。若估算它的 $\text{p}K_{\text{a}} < 4.5$, 实验中应选择 pH 为 2~2.5, 在此范围常用的缓冲溶液为磷酸盐和氨基乙酸, 浓度为 15 mmol/L^[6]。

3.1.3 检测器及 UV 检测器波长的选择 PAA 和 H₂O₂ 在 200 nm 有一较宽的吸收带, HAc 在 208 nm 有弱吸收带, 要提高它们的分析灵敏度, 流动相本身在 200 nm 附近的吸收应尽量弱。本实验流动相是水 and 色谱纯乙腈或甲醇, 基本满足此要求。光谱实验及弱酸盐的 $\text{p}K_{\text{a}}$ 表明, 磷酸盐在 200~210 nm、pH

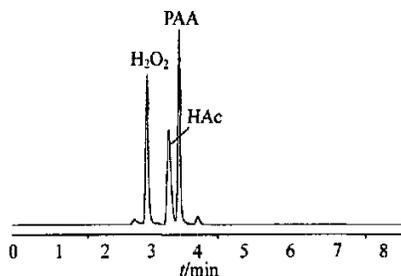


图 1 PAA 分析色谱图

Fig. 1 Chromatograms of peroxyacetic acid HAc. 乙酸 (acetic acid); PAA. 过氧乙酸 (peroxyacetic acid)。

为 2.2 最为合适, 其紫外吸收比 H_2O 小, 则大大降低了样品各组分的检测下限。

3.2 分析方法评价

3.2.1 检出限 在选定色谱条件下, 取已知浓度的测定物, 用逐步稀释法测得信噪比为 3 时, 各组分的检出限分别是: 2.3 ng (PAA), 2.1 ng (H_2O_2), 30 ng (HAc)。

3.2.2 线性范围、精密度和标准加入回收率 取 2.3 中的标准溶液两份, 一份用流动相稀释 10 倍, 吸取稀释过和未稀释的溶液各 2.0、4.0、6.0、8.0 和 10.0 μ L, 浓溶液增加至 20.0 μ L 分别进样分析, 用色谱工作站软件对加入量 (X) 和峰面积 (A) 进行线性回归, 外标法计算, 采用包括零点模式, 得到回归方程分别为 H_2O_2 : $A = 427.40x - 10.99$, $r = 0.9996$; HAc: $A = 49.47x - 17.49$, $r = 0.9998$; PAA: $A = 293.35x - 33.38$, $r = 0.9997$ 。因曲线包括零点, 按测定限为检出限 10 倍估算其线性范围 H_2O_2 为 21 ng ~ 10 μ g, HAc 为 300 ng ~ 25 μ g, PAA 为 23 ng ~ 12 μ g。吸取西安试剂厂的标准溶液 10 μ L 重复分析, 相对标准偏差分别为 0.39% ($n = 6$) H_2O_2 、0.52% ($n = 6$) HAc 和 0.34% ($n = 6$) PAA。表明分析方法精密度良好。

PAA 消毒剂中 H_2O_2 和 PAA 有对应的滴定分析方法, 可与此法比较检验其准确性; HAc 分析的准确性可用加标回收率检验。分别准确移取 104.9 ~ 524.5 mg/L 的 HAc 标准样品, 加入到已测样品中, 测得回收率为 99.4% ~ 100.1%。

3.3 样品测定

在 2.2 的色谱条件下, 分别吸取 10.0 μ L 样品溶液进样分析, 利用 HP Chemstation 工作站软件计算, 西安试剂厂等 4 家化工厂生产的 PAA 消毒剂的测试结果于表 1。由表中可见, 各样品分析结果的相对标准偏差均小于 0.6%。可见本实验方法既适用于 PAA 生产中的投料控制、质量检验分析, 又适用于微量 PAA 的测定。

表 1 样品测定结果 ($n = 3$)

Table 1 The analytical results of the samples ($n = 3$)

样品名 Name of sample	组分 Component	色谱法 (% , W/ V) Found by chromatography	RSD (%)	滴定法 (% , W/ V) Found by titrimetry	RSD (%)
嘉图 Jiatu	H_2O_2	5.53	0.26	5.455	0.38
	HAc	50.87	0.42	/	/
	PAA	15.45	0.24	15.32	0.23
试剂厂 Shijichang	H_2O_2	4.22	0.30	4.220	0.18
	HAc	53.93	0.53	/	/
	PAA	15.51	0.19	15.51	0.22
秦岭 Qinling	H_2O_2	6.23	0.28	6.281	0.25
	HAc	47.24	0.25	/	/
	PAA	15.18	0.30	15.25	0.10
北辰 Beichen	H_2O_2	15.31	0.34	15.72	0.11
	HAc	28.02	0.52	/	/
	PAA	14.75	0.14	14.83	0.15

References

- 1 Effkemann S, Bösgaard S, Mortensen P, Linde S A, Karst U. *J. Chromatogr.*, **1999**, 855: 551~ 561
- 2 Boullion G, Lick C, Schank K. *The Chemistry of Functional Groups, Peroxides*, Wiley, London, **1983**: 287
- 3 Furia F D, Prato M, Ouintly U, Salvagno S, Scorrano S. *Analyst*, **1984**, 109: 985
- 4 Open B V, Kordel W, Kleln W. *Chemosphere*, **1991**, 22: 285~ 404
- 5 Ding Mingyu(丁明玉), Chen Peirong(陈培榕). *Chinese Journal of Chromatography(色谱)*, **1998**, 16(2): 111~ 114
- 6 Zhao Jingchan(赵景婵), Guo Zhi'an(郭治安), Chang Jianhua(常建华), Wang Wenjun(王文君). *Chinese Journal of Chromatography(色谱)*, **2001**, 19(3): 260~ 263

Rapid Reversed-Phase Liquid Chromatographic Determination of Components in Peroxyacetic Acid Disinfectant

Guo Zhian*, Zhao Jingchan, Zhang Xiaohui, Qu Bo

(Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069)

Abstract Ion-suppression chromatography was applied in reversed phase chromatography. The peroxyacetic acid (PAA), hydrogen peroxide (H_2O_2) and acetic acid (HAc) were determined in the same injection without any assistance of derivatization. The method based on the dissociation of sample was suppressed in acid medium. The phosphate buffer solution (PBS) was used to control dissociation of PAA and HAc. The capacity factors were improved and the samples were separated respectively. Because of PBS having absorption in ultraviolet 200~210 nm weakly as so as water was, thus the baseline noise was down. The determining sensitivity of peroxides and carboxylic acid was improved. PAA's minimum detectable quantity was 2.3 ng, thus corresponding to PAA concentration of 23 $\mu\text{g/L}$, H_2O_2 's was 2.1 ng corresponding to H_2O_2 concentration of 21 $\mu\text{g/L}$, HAc's was 30 ng corresponding to HAc concentration of 300 $\mu\text{g/L}$. The sample was analysed in five minutes.

Keywords Ion-suppression chromatography, disinfectant, peroxyacetic acid, acetic acid, hydrogen peroxide

(Received 30 August 2003; accepted 27 May 2004)

《分析试验室》征订启事

国内统一刊号: CN11-2017/TF

国际 CODEN 码: FENSE4

国外代号: BM848

国际标准刊号: ISSN1000-0720

邮发代号: 82-431

广告经营许可证: 京西工商广字第 0038 号

《分析试验室》是中文核心期刊, 月刊, 国内外公开发行。1982 年创刊, 目前已成为我国著名的分析化学专业刊物。影响遍及冶金、地质、石油化工、环保、药物、食品、农业、商品检验和海关等社会各行业及各学科领域。《分析试验室》以突出创新性和实用性为办刊宗旨, 作者来自全国各行业的生产、科研第一线; 被“CA”等国内外多家检索数据库、文摘收录, 影响因子连续多年列化学类前列。本刊常设“研究报告”、“研究简报”、“仪器装置与设备”等栏目。“定期评述”栏目系统发布特邀知名专家学者撰写的国内外分析化学领域的综合技术, 连续跟踪学术发展前沿。“国际会议”栏目每期介绍影响广泛的分析化学领域国际学术会议。2004 年新设“特邀专家评论”, 聚焦当前科研重点、难点、热点。

《分析试验室》每期定价 10 元, 全年 12 期, 120 元。

全国各地邮局征订, 邮发代号 82-431。漏订的读者可直接与编辑部联系。

编辑部地址: 北京新街口外大街 2 号, 邮编 100088

电话: 010-82013328, E-mail: analysislab@263.net