

文章编号:1671-6833(2013)04-0073-04

高效液相色谱法同时测定喹啉酸和喹啉

赵建宏, 李亚芳, 王建设, 王留成, 宋成盈

(郑州大学 化工与能源学院, 河南 郑州 450001)

摘 要:建立了用高效液相色谱同时测定电合成反应液中喹啉酸和喹啉含量的方法. 采用 Hypersil C₁₈ (150 mm × 4.6 mm i. d) 型色谱柱; 流动相为甲醇-磷酸盐缓冲溶液; 检测波长 254 nm; 柱温 30 ℃; 流速 0.9 mL · min⁻¹. 结果表明, 喹啉酸和喹啉在上述色谱条件下分离效果较好, 两种物质的质量浓度线性范围分别为 0.09 ~ 0.89 g · L⁻¹ 和 0.10 ~ 0.92 g · L⁻¹, 检出限分别在 0.88 × 10⁻³ g · L⁻¹ 和 1.16 × 10⁻³ g · L⁻¹, 加标回收率分别在 98.4% ~ 102.0% 和 98.80% ~ 99.70%, 测定结果的最大相对标准偏差分别为 0.70% 和 0.56%.

关键词: 高效液相色谱; 电化学合成; 喹啉酸; 喹啉

中图分类号: O657.7

文献标志码: A

doi:10.3969/j.issn.1671-6833.2013.04.017

0 引言

喹啉酸, 又名 2,3-吡啶二羧酸, 属烟酸类化合物, 是一种重要的农药、医药及压敏色素中间体, 主要用于合成含吡啶或喹啉环的咪唑啉酮类除草剂, 也可用于合成抗生素、复合维生素 B 等^[1]. 目前喹啉酸的合成方法分为化学氧化法^[1-3]和电化学氧化法^[4-5]. 根据氧化剂的不同, 化学氧化法又分为高锰酸钾氧化法、双氧水氧化法、臭氧分解氧化法、氯酸钠氧化法等, 这些方法使用了大量的氧化剂和催化剂, 产物复杂难以分离提纯, 且污染严重. 相比之下, 电化学氧化法工艺流程短、产品质量高、三废污染少、生产成本低, 是一种很有发展前景的合成方法, 但是产品收率和电流效率的判断是建立在产物的快速准确分析基础上的. 电合成反应液中除主产物喹啉酸外, 还有未反应的喹啉、副产品草酸及支持电解质硫酸等. 目前的称重法^[6-7]是使喹啉酸以其铜盐形式析出, 或经中和、酸化、结晶出喹啉酸纯品后洗涤, 干燥, 然后称重, 操作繁琐, 准确度差. 其他单独分析喹啉酸或喹啉的方法主要有气相色谱法和液相色谱法^[8-10], 但由于电合成反应液中含有大量无机酸和水, 气相色谱法分析时需经过复杂的预处理, 而目前采用液相色谱法测定喹啉酸和喹啉时

须采用不同的流动相体系, 操作繁琐, 耗时较长, 同时分析反应液中这两种物质的方法未见报道. 本实验采用高效液相色谱, 建立了同时分析喹啉酸和喹啉含量的方法, 该方法快速、准确, 解决了电合成反应液的快速分析问题, 为喹啉酸的生产工艺优化和产品质量控制提供了有效支持.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 型高效液相色谱仪(安捷伦公司); UV22401PC 型紫外-可见分光光度计(岛津公司); AW220 型电子分析天平(岛津公司); KQ-100E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司).

喹啉酸标准品(含量 ≥ 99.5%, 绵阳崑尼达医药科技有限责任公司); 喹啉标准品(含量 ≥ 99.5%, 北京化学试剂公司); 甲醇与乙腈为色谱纯(国药集团化学试剂公司); 磷酸和磷酸氢二钾均为分析纯(国药集团化学试剂公司); 10% 四丁基氢氧化铵(上海华硕精细化学品有限公司), 实验用水为二次蒸馏水.

1.2 色谱条件

Hypersil C₁₈ 型(150 mm × 4.6 mm i. d) 色谱柱; 检测波长 254 nm; 流动相为 V(甲醇): V(含

收稿日期: 2013-03-01; 修订日期: 2013-05-09

基金项目: 郑州市攻关计划资助项目(121PPTGG507/6)

作者简介: 赵建宏(1963-), 男, 河北巨鹿人, 郑州大学教授, 博士, 主要从事精细有机合成及有机电合成方面的研究, E-mail: zhaojh@zzu.edu.com.

0.1% 四丁基氢氧化铵的磷酸盐缓冲溶液, $\text{pH} = 7.0$) = 50:50, 超声 15 min, 经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤; 柱温 $30\ ^\circ\text{C}$; 流速 $0.9\ \text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样量 $20\ \mu\text{L}$ 。

1.3 实验方法

标准溶液的配制: 分别准确称取一定量的喹啉酸和喹啉于 50 mL 的容量瓶中, 用流动相溶解并定容, 经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤后备用。

样品溶液的配制: 准确称取 $2.0 \sim 2.5\ \text{g}$ 电合成反应液样品于 50 mL 的容量瓶中, 用水稀释并定容, 再从中移取 5 mL 溶液于 10 mL 的容量瓶中, 用 20% 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 7.0, 然后用流动相稀释并定容, 经滤膜过滤后进样, 以峰面积外标标准曲线法定量^[11]。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化

2.1.1 检测波长的确定

分别配制一定浓度的喹啉酸和喹啉标准溶液, 在紫外分光光度计上进行全波长扫描, 扫描范围 $190 \sim 400\ \text{nm}$ 。结果显示, 喹啉酸和喹啉的最大吸收波长分别在 $242\ \text{nm}$ 和 $313\ \text{nm}$ 。实验选取 $254\ \text{nm}$ 作为检测波长, 虽然在该波长下喹啉酸和喹啉的吸收强度略有下降, 但是其他杂质吸收峰的干扰较少, 基线稳定, 因此可以选为最佳检测波长。

2.1.2 流动相组成及 pH 的确定

实验选用 C_{18} ($150\ \text{mm} \times 4.6\ \text{mm i.d}$) 色谱柱对流动相组成和比例进行了优化。结果发现, 用乙腈-水体系做流动相时, 洗脱能力太强, 出峰过早且分离效果不好。采用甲醇-水体系时样品峰形和分离度均较好, 且因甲醇对样品溶解性好, 样品在柱内残留量少。综合考虑, 该实验采用甲醇-水体系。

对于反应液中待分析的喹啉酸和喹啉, 喹啉酸为水溶性两性化合物 ($\text{pK}_a = 2.43$), 在反相色谱柱上几乎无保留, 而喹啉为醇溶性弱碱 ($\text{pK}_a = 4.95$), 两样品的酸碱性和极性差异较大。为保证喹啉酸和喹啉均以一种形式(离子或中性化合物形式)存在, 分别在强酸性 ($\text{pH} = 2.5$ 左右) 和中性 ($\text{pH} = 7.0$ 左右) 磷酸盐缓冲溶液中进行实验。结果显示, 在酸性条件下, 喹啉酸峰形尖锐, 但喹啉峰拖尾严重, 几乎不成峰; 在中性条件下, 喹啉出峰对称, 但喹啉酸出现明显的峰前沿现象, 且峰展较宽。因此, 考虑向流动相中加入离子对试剂以改善峰形, 因喹啉酸样品中含羧基, 宜选用有

机铵盐做离子对试剂。本实验分别选用四丁基硫酸氢铵、四丁基氢氧化铵、四丁基溴化铵和四丁基氯化铵为离子对试剂。结果表明, 在流动相中加入适量的四丁基氢氧化铵时, 喹啉酸峰形明显改善, 喹啉峰形亦不受其干扰。

进一步实验表明, 甲醇体积分数小于 40% 时, 各组分完全分离但喹啉保留时间延长, 峰展较宽, 峰对称性下降; 甲醇体积分数大于 70% 时, 峰形对称, 但出峰太早, 分离效果不好。总体考虑, 甲醇体积分数为 50% 时, 喹啉酸和喹啉均有合适的保留时间, 且分离较好。

2.1.3 流速及柱温的确定

流动相的流速对喹啉酸和喹啉的分离度及峰形有一定的影响。随着流速的增大, 色谱峰峰形变得尖锐, 保留时间缩短, 但同时分离度变小, 柱压升高。流速减小, 峰形变宽, 保留时间延长, 分离度变大, 柱压降低。综合考虑, 宜采用流速 $0.9\ \text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

在此流速下, 又分别在柱温 $25, 30, 35, 40\ ^\circ\text{C}$ 进行了实验。结果表明, 柱温对峰形及分离度影响不大。考虑到柱温升高降低流动相黏度, 提高其流动性, 降低柱压, 但同时加热对色谱柱有一定损伤。综合考虑, 宜采用柱温 $30\ ^\circ\text{C}$ 。图 1 为优化的色谱条件下标准样品和反应液样品的色谱图, 其中喹啉酸、喹啉的保留时间分别为 $1.699\ \text{min}$ 、 $6.022\ \text{min}$ 。显然, 待测物喹啉酸、喹啉与反应副产品草酸及杂质的分离良好, 峰型对称, 基线平稳。

2.2 标准曲线及检出限

分别精密吸取上述标准溶液 $1, 3, 5, 7, 9\ \text{mL}$ 于 10 mL 的容量瓶中, 用流动相稀释至刻度, 摇匀, 得到一系列不同浓度的喹啉酸和喹啉混合标准液。所有样品经 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤后进样, 每个样品平行进样 3 次, 以峰面积 y 为纵坐标, 质量浓度 x 为横坐标进行线性回归。喹啉酸和喹啉的标准线性回归方程、线性范围及相关系数均列于表 1 中。以 3 倍基线噪声测得的喹啉酸和喹啉的检测限也列于表 1 中。结果表明, 所优化的色谱条件下测定的喹啉酸和喹啉浓度线性范围均较宽, 线性关系良好。

2.3 方法的精密度

分别取高、中、低 3 个浓度的喹啉酸和喹啉标准溶液, 按同样的方法和色谱条件重复测定, 每份溶液进样 3 次, 结果见表 2。结果显示, 喹啉酸和喹啉的最大相对标准偏差分别为 0.70% 和 0.56% , 说明该测定方法具有较好的重复性。

2.4 回收率实验

取不同反应条件下的反应液样品 3 份,分别加入一定量的喹啉酸和喹啉标准品,然后按同样的方法和色谱条件重复测定,每份溶液进样 3 次,计算回收率.结果列于表 3 中.由表可知,喹啉酸

的回收率为 98.40% ~ 102.0%,喹啉的回收率在 98.80% ~ 99.70%,说明在优化的色谱条件下测定结果的准确度较高,可用于喹啉酸合成工艺优化及其他相关研究.

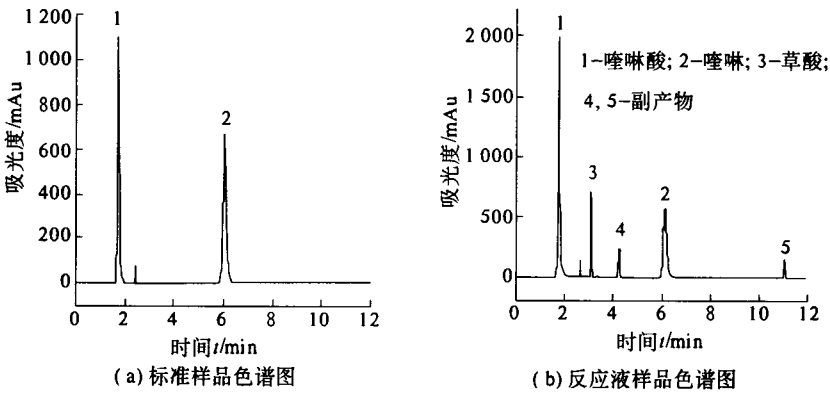


图 1 标准样品及反应液样品色谱图
Fig.1 Chromatograms of standard sample and synthetic sample

表 1 喹啉酸和喹啉的线性回归及检出限

组分	线性回归方程	相关系数	线性范围/(g · L ⁻¹)	检测限/(g · L ⁻¹)
喹啉酸	$y = 18\,827x + 700.71$	0.999 4	0.09 ~ 0.89	0.88×10^{-3}
喹啉	$y = 21\,213x + 530.11$	0.999 2	0.10 ~ 0.92	1.16×10^{-3}

表 2 方法的精密度

样品 编号	喹啉酸			喹啉		
	测定值/ (g · L ⁻¹)	平均值/ (g · L ⁻¹)	RSD/ %	测定值/ (g · L ⁻¹)	平均值/ (g · L ⁻¹)	RSD/ %
1	0.240 1	0.240 3	0.50	0.330 9	0.329 6	0.34
	0.242 2			0.329 3		
	0.242 1			0.328 7		
2	0.548 3	0.554 1	0.70	0.427 2	0.428 3	0.23
	0.551 9			0.429 1		
	0.556 0			0.428 5		
3	0.785 9	0.787 3	0.33	0.741 3	0.742 3	0.56
	0.790 4			0.738 7		
	0.785 7			0.746 9		

表 3 喹啉酸和喹啉的回收率

样品 编号	喹啉酸				喹啉			
	加标量/ (g · L ⁻¹)	测定值/ (g · L ⁻¹)	回收率/ %	RSD/ %	加标量/ (g · L ⁻¹)	测定值/ (g · L ⁻¹)	回收率/ %	RSD/ %
1	0.250 0	0.245 2	98.40	0.42	0.250 0	0.246 9	99.64	0.83
		0.245 7				0.249 3		
		0.247 2				0.251 1		
2	0.420 0	0.412 9	98.90	0.23	0.413 2	0.409 3	99.70	0.25
		0.412 9				0.414 2		
		0.412 9				0.412 2		

续表 3

样品 编号	喹啉酸				喹啉			
	加标量/ (g · L ⁻¹)	测定值/ (g · L ⁻¹)	回收率/ %	RSD/ %	加标量/ (g · L ⁻¹)	测定值/ (g · L ⁻¹)	回收率/ %	RSD/ %
3	0.400 0	0.407 5	102.0	0.27	0.309 5	0.304 6	98.80	0.10
		0.412 7				0.305 8		
		0.408 8				0.306 5		

3 结论

使用 Hypersil C₁₈型反相色谱柱,以 V(甲醇):V(含 0.1% 四丁基氢氧化铵的磷酸盐缓冲溶液, pH 为 7.0) = 50:50 为流动相,建立了同时检测电合成反应液中喹啉酸和喹啉的液相分析方法.该方法具有良好的精密度和准确度,可在 10 min 内完成电合成反应液的全分析,适用于喹啉酸合成工艺优化及其他相关研究中.

参考文献:

[1] GISELBRECHT K, PERNDORFER E, REITER K. Process for preparation of 2,3 - pyridinecarboxylic acids;US,0062025 A1 [P]. 2002 - 05 - 23.

[2] MICHALOWICZ W. Process for preparation of pyridine - 2,3 - dicarboxylic acid;US,4754039 [P]. 1988 - 06 - 28.

[3] REBHAHN W, ROBERT W J, JAMES E K, et al. Process for preparation of quinolinic acid; US, 4537971[P]. 1985 - 08 - 27.

[4] GUPTA P N, RATHER G M. Electrochemical synthesis of quinolinic acid from quinoline [J]. Asia Journal of Chemistry, 1989, 1(1) : 52 - 56.

[5] 苏育志,朱长缨. 喹啉酸的电合成[J]. 广州师院学报, 1998, 19(6) : 69 - 73.

[6] 李健,刘冬杰,王萍,等. 喹啉酸的生产方法:中国, CN 102399182 [P]. 2012 - 04 - 04.

[7] ORTH W, PASTOREK E, FICKER W. Oxidation of quinoline to quinolinic acid;US,549024[P]. 1985 - 10 - 22.

[8] 熊纛,周岐新. 生物样本中喹啉酸含量测定方法的研究进展[J]. 儿科药理学杂志, 2005, 11(4) : 7 - 9.

[9] 朱顺妮,樊丽,倪晋仁. 两株喹啉降解菌代谢途径的分析[J]. 中国环境科学, 2008, 28 (5) : 456 - 460.

[10] 胡益之,王祖侗,童仕唐. 喹啉、异喹啉加氢脱氮反应历程及宏观动力学[J]. 石油炼制, 1983 (7) : 1 - 11.

[11] 曹军艳,葛庆平,李娇娇,等. 高效液相色谱法测定电合成反应液中的 3,6 - DCP 和 3,4,5,6 - TCP [J]. 郑州大学学报:工学版, 2012, 33 (6) : 100 - 103.

Simultaneous Determination of Quinolinic Acid and Quinoline with High Performance Liquid Chromatography

ZHAO Jian-hong, LI Ya-fang, WANG Jian-she, WANG Liu-cheng, SONG Cheng-ying

(School of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: A method was presented for the simultaneous determination of quinolinic acid and quinoline in the electrochemical synthesis reaction liquid by high performance liquid chromatography (HPLC). The analysis was performed on a Hypersil C18 column with a mixture of V(methanol):V(phosphate buffer solution with 0.1% tetrabutyl ammonium hydroxide, pH = 7.0) = 50:50 as the mobile phase at a flow rate of 0.9 mL · min⁻¹. The samples were detected at 254 nm with an UV detector and the column temperature was 30 °C. It was found that quinolinic acid and quinoline could be well separated under the chromatographic conditions. The linear range of the mass concentration were 0.09 ~ 0.89 g · L⁻¹ and 0.10 g · L⁻¹ ~ 0.92 g · L⁻¹ respectively. The recoveries for them were 98.4% ~ 102.0% and 98.80% ~ 99.70%. The maximum relative standard deviations were 0.70% and 0.56% for quinolinic acid and quinoline.

Key words: high performance liquid chromatography; electrochemical synthesis; quinolinic acid; quinoline