

混合氨基酸中甘氨酸的高效液相色谱分析方法

智月洁 邵广林 王 笑 韦广丰 刘亚龙 (安道麦辉丰(江苏)有限公司, 江苏 盐城 224000)

摘要: 建立高效液相色谱分析法测定混合氨基酸中甘氨酸的分析方法。使用 Zorbax XDB-C₁₈ 色谱柱 (4.6×150mm, 5micron) 和 DAD 检测器 (360nm), 以 0.04M KH₂PO₄ (pH=7.2) 缓冲液-55% 乙腈水为流动相, 流速 1.0mL/min 的情况下, 筛选了流动相梯度、2,4-二硝基氟苯用量、衍生温度和时间、柱温, 测定了线性关系和回收率。实验结果表明利用 FDBN 衍生法分析检测甘氨酸含量时最适的条件为: 1%FDBN 用量为 3.0g, 衍生温度 60℃, 衍生时间 60min, 柱温 40℃, 该分析方法的精密度和准确度令人满意, 可应用于甘氨酸含量的分析检测。

关键词: 高效液相色谱; 2,4-二硝基氟苯; 甘氨酸

1 引言

在高效液相色谱法分析游离氨基酸方便, 2,4-二硝基氟苯 (FDBN) 衍生法是一种常用的实验室分析方法^[1]。甘氨酸又名氨基乙酸, 是一种非必须氨基酸, 用于制药工业、生化试验及有机合成, 是氨基酸系列中结构最为简单, 人体非必需的一种氨基酸, 在分子中同时具有酸性和碱性官能团, 在水中可电离, 具有很强的亲水性, 通过水溶液酸碱性的调节可以使甘氨酸呈现不同的分子形态。

实验人员在 2,4-二硝基氟苯柱前衍生, HPLC 测定甘氨酸 (GLY) 方面已做了一些的工作^[2]。流动相梯度、衍生剂用量、柱温等条件对 GLY 的分离度和相应关系有一定影响^[3]。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Agilent LC 1260 高效液相色谱仪 (DAD 检测器)。

FDBN 为大连物化所生产, 乙腈 (色谱级), KH₂PO₄ (分析纯), NaHCO₃ (分析纯), K₂HPO₄ (分析纯), 纯水 (屈臣氏纯净水)。

2.2 实验条件

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Zorbax XDB-C₁₈ (4.6×150mm, 5micron)。

流动相: A: 0.04M KH₂PO₄ (pH=7.2) 缓冲液 (分别称取 5.44g KH₂PO₄ 和 7.13g K₂HPO₄ 加入 1L 水中, 搅拌, 使其充分溶解); B: 55% 乙腈水。

流速: 1.0mL/min; 检测波长 360nm; 进样量 10ul。(其他条件见试验条件)。

2.2.2 试验条件

试验样品: 160ug/mL GLY (纯度 99%)。

变化不同衍生试剂用量、加热时间、加热温度, 筛选最佳条件。

衍生温度分别为: 50℃、60℃、70℃、80℃。

衍生加热时间: 30min、60min、90min。

流动相梯度分别见表 1。

表 1 流动相梯度

时间	①		②		③		④	
	A	B	A	B	A	B	A	B
0.0	100	0	84	16	88	12	86	14
2.0			88	12	88	12	88	12
4.0	86	14	86	14	86	14	86	14
10.0	60	40	70	30	70	30	70	30

20.0	20	80	30	70	30	70	30	70
21.0							10	90
24.0	0	100	0	100	0	100	0	100

3 结果与分析

3.1 检测波长的选择

通过对 GLY 标准溶液在 190~400nm 波长范围内做 DAD 全波长扫描, 发现此溶液在 360nm 处有最大吸收, 且杂质及其空白试剂在此波长处吸收很小, 所以选定 360nm 为检测波长。

3.2 流动相的选择

在 Zorbax XDB-C₁₈ 柱色谱柱上比较用 KH₂PO₄ 缓冲液 (pH=7.0)、乙腈-水做流动相, 在筛选最佳流动相时, 柱温为 40℃, 试剂用量为 10ul, 按不同流动相梯度对 GLY 和衍生剂做分离度比较, 发现分离度最好的是④流动相梯度, ①次之; ②一般; ③最差; 所以总体分析, ④流动相梯度较好 (见图 1)。

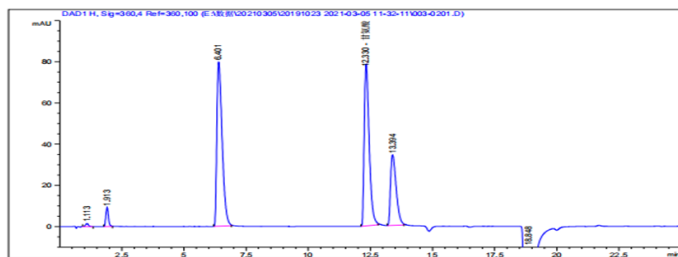


图 1 40℃, ④流动相 GLY 标准样品

3.3 衍生剂用量及其衍生温度和时间选择

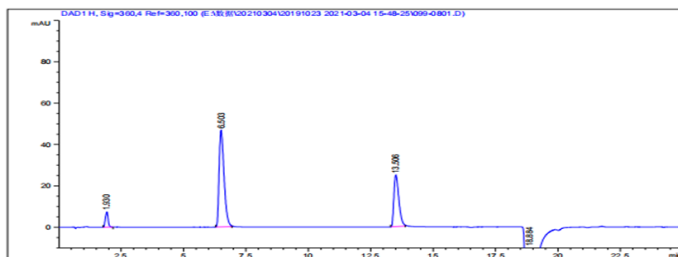


图 2 空白衍生剂

在筛选最佳衍生剂用量时, 流动相为①, 柱温 40℃, 分别在 4 组不同加热条件下, 分别衍生加热不同时间, 确定最佳的衍生剂溶液 (见图 2) 比较加入不同量的衍生剂的量观察比较是否将 GLY 甘氨酸完全衍生。实验表明, 在同一浓度的 GLY 样品中, 分别加入 1.0g、1.5g、2.0g、2.5g、3.0g、3.5g 的 0.1%FDBN, 在衍生温度 60℃, 加热 60min 时, 3.0g 和 3.5g 的峰响应值几乎不变, 由此可得出最佳衍生条件。

(下转第 136 页)

化,对一些常规不动管柱井下作业提供可靠依据。

3 结束语

可视化井下电视设备无论是镜头材质、光源渗透性、视频图像信号传输、井下密闭性、耐高温高压等方面都有成熟可借鉴可实现的技术支持,井下组成部分包含摄像密封防护单元、信号传输单元,井上部分分为供电单元、视频图像采集处理单元,对于井下摄像头,包括大小、材质、角度、分辨率、照明亮度、渗透性等不能技术指标的不断优化,对于油气田的开发成产过程能起到良好效果,对提高采收率,检修井别有很好的参考价值,避免费时费财的大修等作业。同时对于设备本身,材质、技术参数等也有较为严苛的要求,对于产品设计,用材正确也是一种考验,对于更加复杂的油气田,例如:气井、注水井、高含水油井等,可以直观检测吸入流出,观测杂质分布,寻找井下落物准确位置,为打捞提供可视化依据,延伸到不同领域,例如:地质勘探中观测地质特征构造、煤矿观测厚度裂缝倾角煤层开采、地下管道观测断裂长度宽度走向等领域都

可以应用开展。新技术的产生,意味着同样会产生更新换代,针对复杂井况,井下环境恶劣,事故隐患点多问题下,可视化设备在材质和井下成像方面仍有很大的提升空间,如何做到高温高压深井中稳定工作,如何在复杂井况下防爆防磕碰损坏,如何在密闭空间做到 LED 光源及机电工作的有效散热、如何在使用电缆地面直读过程中电缆芯与设备引线连接处散热不良导致电缆芯烧断作业失败等都是需要在今后实际应用中不断发现问题解决问题的地方,综上所述,可视化井下摄像技术无论是在油气田开发还是其他领域都具有广阔的发展空间和市场价值。

参考文献:

- [1] 马京杰,李海亮,马相波.井下摄像系统的研制及应用[J].地震地磁观测与研究,2011,32(2):67-69.
- [2] 刘祥.井下摄像测试技术研究与应用[J].中国石油和化工标准与质量,2016.36(23):113-115.
- [3] 郭嗣杰,孟刚,蔡晓波.井下电视技术的发展和应[J].舰船防化,2010(3):6-9.

(上接第 134 页)元的智能控制带来的好处和存在的风险,综合判断是否将其纳入信息管理智能控制。

2.3 运营管理平台主要功能

运营管理平台针对农村污水的实际运营需求,应包含针对污水处理站的站点管理,包括站点基本信息、站点位置、站点设计处理量、站点设计水质目标等;针对运营人员的人力管理,包括人员名称、工号、工种、联系方式、负责的站点等;针对站内设备的管理,包括设备名称、设备编号、设备类型、厂家、重点参数等;以及针对站点内日常运营事务的管理,包括工单名称、工单类型、工单流程、工单责任人等。其中,针对站点内日常运营事务的管理是业务运营管理平台的核心流程,是站点在无人化管理的情况下,能够保障事务得到高效执行的重要手段。平台以工单为单位对运营事务进行管理,以工单的流程化处理来约

束事务的有效执行,以工单各环节信息的标准化管理保障事务内容的全面和可追溯。

3 结语

展开化工废水处理工作,不仅能够保护生态环境,还能提高资源的利用效率,促使化工行业与社会经济保持可持续发展。在今后的发展中,需要高度重视化工废水处理研究工作,使用高效的化工废水处理技术,保护生态环境,可以通过物理方法、化学方法、生物法、物理化学法等,降解、去除、净化废水中的有毒有害物质。

参考文献:

- [1] 梁增.探讨设备管理信息化在污水处理厂中的应用[J].计算机产品与流通,2018(1):277.
- [2] 张宇,杜庆昌.基于物联网技术的污水处理厂全过程监管系统[J].建设科技,2014(8):72-73.

(上接第 133 页)

3.4 线性关系的测定

准备称取 GLY50mg 与 50mL 容量瓶中,加纯水定容,摇匀备用,作为标准储备液,分别准确吸取标准储备液 0.10mL、0.20mL、0.30mL、0.40mL、0.50m 与 10mL 容量瓶中,再依次加入 3.0gFDBN(1%),1.0gNaHCO₃(50g/L)和 1.0g KH₂PO₄(0.01M),最后用乙腈定容,摇匀。按上述液相色谱条件分析,根据峰面积 Y 对质量浓度 X 做标准曲线。经检测,GLY 在质量浓度在 0.008mg/mL~0.040mg/mL 呈线性关系,回归方程为 $y=18116x+18.79$ ($R^2=0.998$),由此可见,该方法有较好的准确度。具体数据见表 2。

表 2 GLY 的 PHLC 线性范围实验数据表

浓度 (mg/mL)	0.0082	0.0164	0.0245	0.0327	0.0409
峰面积	162.9	313.0	480.5	600.1	760.3

3.5 精密度实验

准确称取一个浓度的 GLY 标准溶液,平行测定 6 次,

峰面积分别是 600.3、604.0、599.7、601.6、597.9、602.3,平均值是 600.97。测得该峰面积的相对标准偏差 (RSD) 为 0.63%,明显小于 2%,由此可见该方法具有较高的精密度。

参考文献:

- [1] 张宏杰,周建军,李新生,等.2,4-二硝基氟苯衍生法测定游离氨基酸方法的优化[J].氨基酸和生物资源,2000,22(4):59-62.
- [2] 商振华,于亿年.反高效液相色谱紫外吸收法测定灵芝中氨基酸的含量[J].药物分析杂志,1994,14(4):30-32.
- [3] 陈娅东,付宜和.十八种氨基酸注射液的 HPLC 2,4-二硝基氟苯柱前衍生法含量测定[J].药物分析杂志,1990,10(3):149-151.

作者简介:

智月洁(1992-),女,汉族,江苏盐城人,学士,助理工程师,主要从事工艺研发分析和分析方法开发。