

Duvi, Yan Changlai, Chemistry Department of Shandong University, Jinan, 250100; Yang Shulin, Shandong Institute of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica, Jinan, 250024

The identification and quantitative analysis of the constituents of essential oil extracted from

lyychyueh were described in this paper, with an OV-101 (32.5m×0.28mm) fused-silica capillary column on GC and GC/MS systems. Forty-five constituents were identified. The total amount of the identified constituents is 99.33% of the essential oil.

丹酰氯柱前衍生高效液相色谱测定痕量脂肪族仲胺

王志 徐宏达 傅承光*

(河北大学理化分析中心, 保定, 071002)

脂肪族仲胺在适宜条件下很容易形成强致癌物 N-亚硝基化合物, 因此研究 N-亚硝基化合物及其前身物脂肪族仲胺的灵敏和准确的测定方法是研究癌变过程及其机理的前提条件⁽¹⁾。

丹酰氯作为荧光衍生试剂已广泛应用于氨基酸、生物胺和多胺的高效液相色谱分析⁽²⁾, 但应用于测定脂肪族仲胺尚未见报道。本文研究了柱前丹酰氯衍生化高效液相色谱测定脂肪族仲胺的灵敏分析方法。

实验部分

(一) 仪器与试剂

Perkin-Elmer/HS-5 C₁₈ 色谱柱(12.5cm × φ4.6mm), 恒流泵(上海化工专科学校生产), 岛津RF-535型荧光检测器; Perkin-Elmer 56型记录器, 7105 无隔膜注射进样阀。

丹酰氯(Fluka); 二甲胺, 33%水溶液, 化学纯(上海试剂三厂); 二乙胺和二正丁胺, 分析纯(北京化工厂); 二正丙胺和二正戊胺, 分析纯(Fluka); 乙腈, 分析纯(天津试剂厂); 碳酸氢钠, 分析纯(河南焦作市化工三厂)。

(二) 实验方法

1. NaHCO₃溶液: 称取0.84g NaHCO₃ 用二次蒸馏水溶于100ml容量瓶中(pH8.5)。

2. 丹酰氯溶液: 称取 1.8mg 丹酰氯用乙腈溶于10ml容量瓶中(10⁻⁶mol/ml)。

3. 仲胺混合标准溶液: 取二甲胺 11.9μl, 二乙胺 10.4μl, 二丙胺 13.8μl, 二丁胺 17.0μl, 二戊胺 20.3μl, 用二次蒸馏水溶于100ml容量瓶中, 得含每种仲胺 10⁻⁶mol/ml 的混合标准溶液。

4. 仲胺与丹酰氯反应: 向带有刻度试管中加入混合标液 0.50ml, 丹酰氯溶液 1.00ml, NaHCO₃ 溶液 0.30ml, 在40℃水浴中振摇, 反应30分钟, 用乙腈稀释至适当浓度, 直接进样分析。同时做空白实验。

5. 色谱条件: 流动相: 乙腈/水 (73/27 V/V), 流量: 0.8ml/min; 记录纸速: 5mm/min; 进样体积: 20μl; 发射波长: 530nm, 激发波长: 350nm。

结果与讨论

(一) 最佳波长的选择

分别对五种仲胺丹酰氯衍生物色谱峰进行停流扫描。结果见表1。根据结果选用检测波长 Ex: 350nm, Em: 530nm,

(二) 流动相的选取

选取乙腈-水作为流动相。当组成不同时, 对各组分的 k' 值影响进行了实验, 结果见图1, 为兼顾分离度与分析时间选取乙腈: 水 = 73:27(V/V)。

* 通讯联系人

表 1 丹酰氯衍生物最大激发波长和发射波长

丹酰氯衍生物	$E_x(\text{nm})$	$E_m(\text{nm})$
二甲胺衍生物	350	540
二乙胺衍生物	350	530
二丙胺衍生物	350	530
二丁胺衍生物	350	530
二戊胺衍生物	350	530

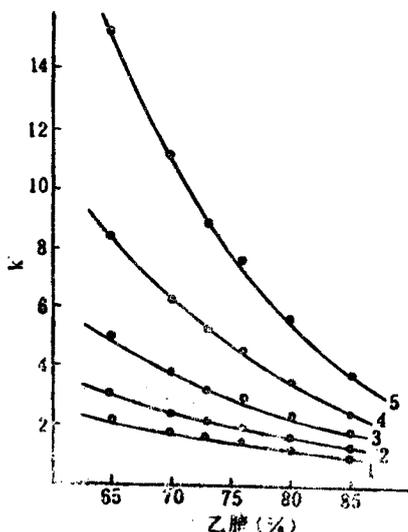


图 1 流动相组成与仲胺丹酰氯衍生物容量因子 k' 的关系

1. 二甲胺, 2. 二乙胺, 3. 二丙胺, 4. 二丁胺, 5. 二戊胺。

(三) 衍生反应条件的选择

1. 反应温度和反应时间 张任恩⁽³⁾在测定生物多胺时指出反应放置过夜或适当加热在较短时间内均能反应完全, 本文固定其它条件, 测定在40℃时不同反应时间的峰高, 图 2 表明20分钟后各仲胺峰高稳定。本实验选取40℃时反应30分钟。

2. 丹酰氯用量选择 取一仲胺标准试液和 NaHCO_3 溶液定量, 改变丹酰氯用量对其最适用量作了检验, 结果见图 3, 摩尔比超过1:2时峰高基本恒定, 本实验选取1:4。

3. NaHCO_3 用量的选择 G. Mellbin⁽⁴⁾指出通常用弱碱性缓冲液控制 pH, 进行丹酰化衍生反应时, 采用了 NaHCO_3 缓冲液进行烷基胺的测定, 本实验也选用 NaHCO_3

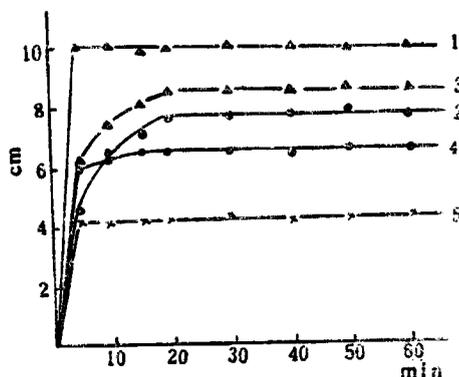


图 2 40℃时反应时间与仲胺丹酰氯衍生物峰高的关系
1. 二甲胺, 2. 二乙胺, 3. 二丙胺, 4. 二丁胺, 5. 二戊胺。

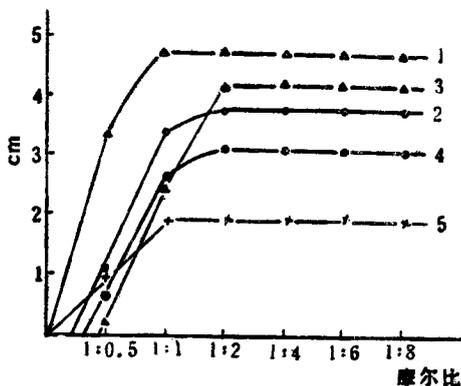


图 3 仲胺与丹酰氯摩尔比与信号的关系
1. 二甲胺, 2. 二乙胺, 3. 二丙胺, 4. 二丁胺, 5. 二戊胺。

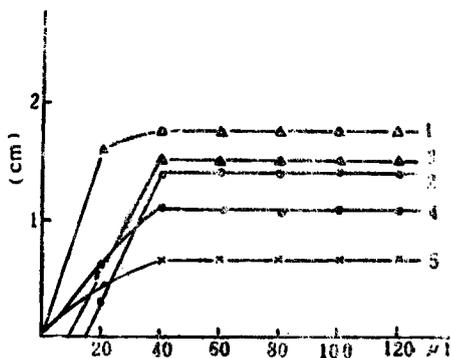


图 4 NaHCO_3 用量与仲胺丹酰氯衍生物信号的关系
1. 二甲胺, 2. 二乙胺, 3. 二丙胺, 4. 二丁胺, 5. 二戊胺

作为缓冲液并在固定仲胺试液量 (100 μl) 和丹酰氯溶液量 (200 μl) 条件下, 改变 NaHCO_3 用量进行实验, 结果见图 4, 从结果看超过

40μl时峰高基本恒定,本实验取60μl即0.017 molNaHCO₃/L反应液。

(四) 定量分析及最小检出量

按实验方法将反应混合物稀释至不同浓度进样,以物质相对峰高的对数值 log[cm]对物质含量的对数值 log[ng]求得标准曲线的线性回归方程,以二倍信噪比计算最小检出量。各取50μl仲胺标准液按实验条件平行实验7次,以相对峰高算得标准偏差和变异系数,所得结果见表2,色谱图见图4。结果表明具有较高的灵敏度和较好的重现性。此外,强致癌物亚硝胺可用光解或用 HBr-冰醋酸溶液脱亚硝基化生成仲胺,因此本文为其高灵敏测定提供了一新的途径。

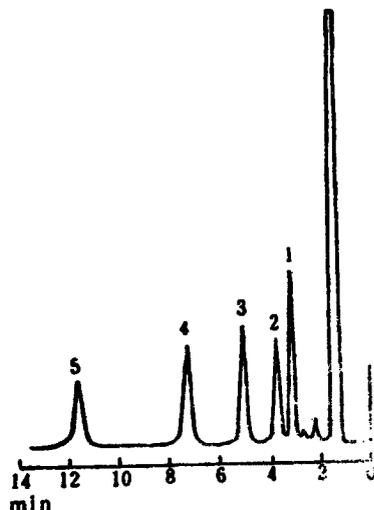


图5 仲胺丹酰氯衍生物色谱图
1.二甲胺, 2.二乙胺, 3.二丙胺, 4.二丁胺, 5.二戊胺。

表2 仲胺标准曲线回归方程、变异系数和最小检出量

丹酰氯衍生物	二甲胺	二乙胺	二丙胺	二丁胺	二戊胺
回归方程 $Y=a+bx$	$Y=1.14+0.94x$	$Y=0.75+0.95x$	$Y=0.71+0.95x$	$Y=0.53+0.94x$	$Y=0.22+0.94x$
相关系数 γ	0.9985	0.9998	0.9996	0.9996	0.9990
定量范围(ng)	0.055—55	0.090—180	0.12—250	0.15—320	0.19—180
最小检出量(μg)	11	30	34	50	95
标准偏差(cm)	0.35	0.22	0.25	0.19	0.13
变异系数(%)	3.24	2.94	2.90	2.72	2.95

参 考 文 献

- (1) 胡荣梅、马立珊, <N-亚硝基化合物分析方法>, 科学出版社, 北京, 第4—6页, 1980.
- (2) K. Imai, T. Toyooka, H. Miyano, Analyst, 109, 1365(1984).
- (3) 张任恩, 刘克里, 分析化学, 11(8), 582(1983).
- (4) G. Mellbin, B. E. F. Smith, J. Chromatogr., 3:2, 203(1984).

(收稿日期: 1989年6月3日)

High Performance Liquid Chromatographic Determination of Ultratrace Aliphatic Secondary Amines by Pre-Column Derivatisation with DNS-Cl; Wang Zhi, Xu Hongda and Fu Chengguang, Centre of Physical and Chemical Analysis, Hebei University, Baoding, 071002

A highly sensitive quantitative method for the determination of ultratrace aliphatic secondary amines has been developed. The optimum experimental conditions have been established. Firstly, the sample reacts with dansyl chloride at about 40°C for 30 minutes and then the reaction mixtures are injected and separated on C₁₈ column with acetonitrile/water(73/27, V/V) as mobile phase, and detected with fluorimetric detection at 530nm as emission wavelength(excitation at 350nm). The calibration curves are linear in the range of 0.055—55 ng for dimethylamine, 0.09—180 ng for diethylamine, 0.12—250 ng for dipropylamine, 0.15—320 ng for dibutylamine and 0.19—180 ng for dipentylamine, and the detection limits are 11, 30, 34, 50 and 95pg, respectively.

(上接 296 页)

寄至北京2709信箱(100030)中国化学会办公室邱希白同志处,过时不能办理。项目为姓名、性别、职称、单位、地址、邮编、电话、电传、传真、专业、参加哪个委员会等。中国化学会美元账号为北京海淀知春里中国银行北京

新技术开发区办事处 14-240024009 中国化学会(请注明本人姓名及 IUPAC 会费)。或直接送交北京中关村中国科学院化学研究所内中国化学会办公室(电话: 2564620, 2568151; 传真: 01-2565854)。