

LUMO 能量增加,  $k_w$  减小。因为  $k_w$  是溶质以水做流动时溶质的保留因子, 水具有一对孤对电子, 易与溶质的 LUMO 作用, 使溶质保留时间变小。但随溶质 HOMO 能量增大, 溶质与色谱柱作用增强, 使其保留时间延长。

综合分析〔2〕式和〔3〕式可知: 当以甲醇/水作流动相时, 随溶质  $E_{HOMO}$  增大, 其保留因子有增加趋势, 随溶质  $E_{LUMO}$  增加, 其保留因子有减小趋势。

分析我们所做过的工作认为, 若将溶质按其结构进行分类, 对同一类物质建立的定量关系与实验结果会更吻合。

### 参 考 文 献

〔1〕徐广通、候镜德, 色谱, 8(2), 77(1990).  
 〔2〕P. J. Schoenmakers, H. A. H. Billiet, L. De. Galan, J. Chromatogr., 205, 13(1981).  
 〔3〕福井谦一著, 李荣森译, 《化学反应与电子轨道》, 科学出版社, 北京, 57—61 页, 12—13 页, 1985.  
 〔4〕J. A. Pople, D. I. Beveridge 著, 江元生译, 《分子轨道近似

方法理论》, 科学出版社, 北京, 116—119 页, 1978.

(收稿日期: 1990 年 5 月 22 日)

**Study on the Parameters of Capacity Factor Model of Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography with Quantum Chemistry** Li Qingming, Xu Guangtong, Applied Chemistry Department, Shandong Building Material Institute, Jinan, 250022; Hou Jingde, The Center of Analysis and Measurement, Zhejiang University, Hangzhou, 310027

In this paper, the parameters of the capacity factor model of benzene and its derivatives were determined with reversed-phase HPLC. Their front orbital energies were calculated with CNDO/2 semi-empirical method. By factor analysis, quantitative equations were established with multivariate regression analysis method. The results can be used in the selection of optimal operating condition of liquid chromatography.

## 对酞内酰胺苯甲酰氯柱前衍生化高效液相 色谱法检测痕量仲胺

郑明辉 傅承光 徐宏达

(河北大学理化分析中心, 保定, 071002)

仲胺在适宜的条件下, 很容易形成强致癌的 N-亚硝基化合物。由于仲胺存在的广泛性及其潜在的毒性和致癌性, 近年来仲胺的检测方法引起了分析工作者的关注〔1〕。

丹酰氯〔1〕和苯甲酰氯〔2〕目前普遍用作胺的液相色谱柱前衍生试剂, 但其衍生反应所需时间长, 灵敏度也不够高。

Tsuruta 等人提出合成对酞内酰胺苯甲酰氯(以下简称 PIB-Cl)的方法, 并将此试剂用于几种氨基酸的薄层色谱及液相色谱研究〔3〕。PIB-Cl 用于仲胺的液相色谱柱前衍生反应目前尚未见有报道。

### 实 验 部 分

(一) 仪器与试剂 液相色谱仪由恒流泵(上海化工专科学校), 岛津 RF-535 荧光分光检测器, 7105 注射进样阀, ODS 柱(12.5 × 0.46cm), PE56 型记录器组成。PE MPF-44B 荧光光度计。

33% 二甲胺水溶液为化学纯。二乙胺、二正丙胺、二正丁胺、吡咯烷、哌啶和乙腈等为分析纯。PIB-Cl 为作者按文献〔3〕方法合成。PIB-Cl 溶于丙酮中制成  $5 \times 10^{-3}$  mol/L 溶液。仲胺溶于 0.01 mol/L HCl 中。NaHCO<sub>3</sub> 配制成 0.25 mol/L 水溶液。

(二) 色谱条件 流动相: 乙腈/水(48/52, V/V), 流量: 0.8 ml/min; 记录纸速: 5 mm/min; 进样体积: 1 μl; 发射波长: 426 nm, 激发波长: 299 nm。

(三) 衍生反应 在 250 μl PIB-Cl 中加入 50 μl 仲胺标准混合液(每种仲胺 0.08—2 mmol/L) 和 100 μl NaHCO<sub>3</sub> 溶液, 室温下振摇 1 分钟, 取 1 μl 进样分析。

### 结果和讨论

(一) 流动相的选取 本实验选取乙腈/水作为流动相, 研究了流动相对仲胺衍生物保留行为的影响(见图 1 和图 2)。

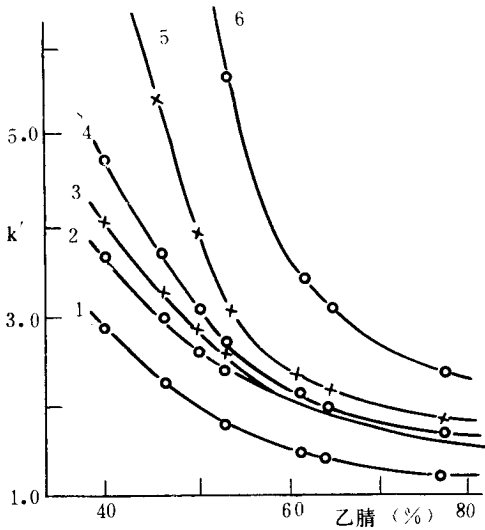


图1 流动相中乙腈浓度对衍生物保留行为的影响

1. 二甲胺, 2. 吡咯烷, 3. 二乙胺, 4. 哌啶, 5. 二正丙胺, 6. 二正丁胺, 色谱条件见正文。

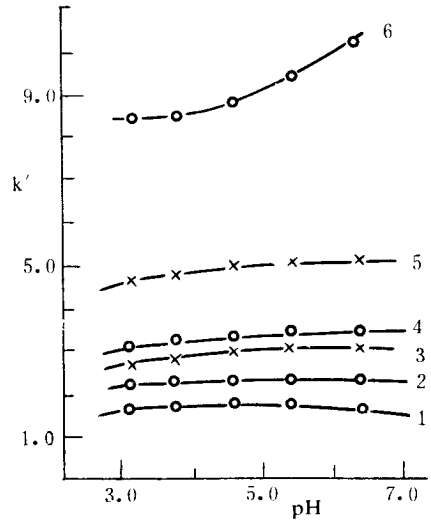


图2 流动相 pH 值对衍生物保留行为的影响

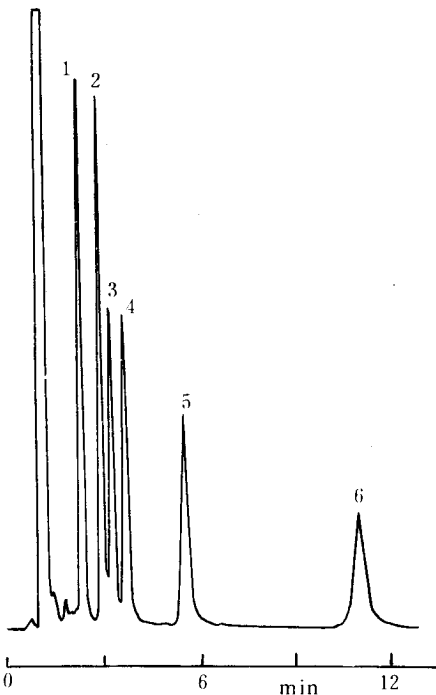


图3 仲胺衍生物色谱图

色谱条件及图中符号见图1

甲醇-水作为流动相, 衍生物分离效果不佳。兼顾分离度与分析时间, 选取乙腈/水配比为 48/52 (V/V), 色谱图见图 3。

(二) 衍生反应条件 仲胺与 PIB-Cl 反应非常迅速, 而且不受温度的影响。甚至在 0°C 1 分钟反应即可完成。反应过程中有时产生混浊, 振摇 1 分钟混浊即

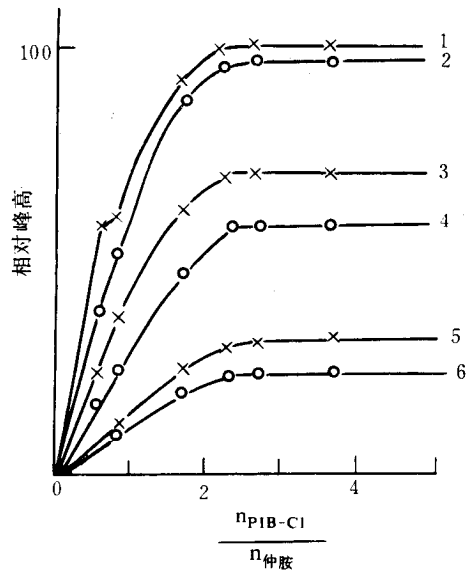


图4 PIB-Cl 的量对衍生反应的影响

可消失。

PIB-Cl 与仲胺摩尔比达到 3 : 1, 仲胺衍生物峰高恒定(见图 4)。NaHCO<sub>3</sub> 与仲胺摩尔比超过 120 : 1 仲胺衍生物色谱峰高恒定(见图 5)。本实验还观察到 0.1 mol/L NaOH 溶液, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 固体、三乙胺均能对衍生反应起催化作用, 表明衍生反应适用范围广。

在本实验条件下, 醇难与 PIB-Cl 反应, 伯胺存在时可用邻苯二甲酰-巯基乙醇加以掩蔽。

(三) 精密性、工作曲线和检出限 取含每种仲胺 2 × 10<sup>-4</sup> mol/L 仲胺标准混合溶液按选定的条件平行操作 7 次, 测得六种仲胺相对标准偏差 (%) 分别为

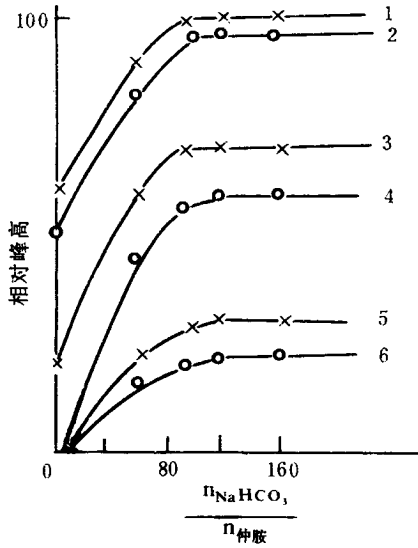


图5 NaHCO<sub>3</sub> 的量对衍生反应的影响  
色谱条件及图中符号见图1。

2.1(二甲胺), 2.0(吡咯烷), 1.6(二乙胺), 2.4(哌啶), 1.8(二正丙胺), 1.6(二正丁胺)。配制系列仲胺标准混合溶液, 按选定的条件实验。以衍生物峰高(cm)对化合物含量(pmol)求得回归方程, 以二倍信噪比计算检出限, 见表1。

本文建立了一快速、灵敏检测痕量仲胺的方法。所得到的仲胺衍生物能存放至少一个星期。衍生反应条件要求不高, 而且在室温下能迅速完成。利用 PIB-Cl 检测多胺的工作正在本实验室开展。

参 考 文 献

[1] M. C. Gennaro et al. , Chromatographia, 25 (2), 117 (1988).  
[2] E. S. Barreira et al. , J. Chromatogr. , 398, 381(1987).  
[3] Y. Tsuruta et al. , Anal. Chim. Acta, 192(2), 309 (1987).

(收稿日期:1990年6月1日)

表1 仲胺标准曲线回归方程及检出限

仲 胺	线性范围 (ng)	回归方程 $y=a+bx$	相关系数	检出限 (pg)
二甲胺	0.028—11.0	$y=1.12+1.15x$	0.998	8.5
吡咯烷	0.045—17.8	$y=-0.30+1.10x$	0.999	13.5
二乙胺	0.12—18.3	$y=-0.33+0.59x$	0.999	28.4
哌啶	0.13—21.3	$y=-0.20+0.62x$	0.999	33.1
二正丙胺	0.16—25.3	$y=-0.21+0.46x$	0.999	70.7
二正丁胺	0.20—32.3	$y=-0.14+0.25x$	0.999	128.0

**High Performance Liquid Chromatographic Detection of Trace Secondary Amines by Pre-Column Derivatisation with 4-(2-Phthalimidyl)benzoyl Chloride** Zheng Mingtai, Fu Chengguang and Xu Hongda, Centre of Physical and Chemical Analysis, Hebei University, Baoding, 071002

A rapid and sensitive method for the fluorescence derivatisation of secondary amines based on the reaction of amines with PIB-Cl is described. Dimethylamine,

diethylamine, dipropylamine, dibutylamine, piperidine and pyrrolidine were used as model compounds to optimize the derivatisation condition. In the presence of alkali the reagent reacts very rapidly with the amines to give fluorescence amides which can be separated on ODS column with aqueous acetonitrile as eluent. The detection limits were 8.5 (DMA), 13.5 (PYR), 28.4 (DEA), 33.1 (PIP), 70.7 (DPA) and 128.0pg (DBA).

(上接第180页)

参 考 文 献

[1] W. H. Coleman et al. , J. Bacteriol. , 96, 1137(1968).  
[2] R. A. Finkelstein et al. , J. Exp. Med. , 130, 185(1969).  
[3] J. P. Craig, "Microbial Toxins, Vol 2, A. Bacterial Protein Toxins", pp. 189—254, 1971.  
[4] C. Y. Lai et al. , J. Infect. Dis. , 133(suppl), S23(1976).  
[5] 陈正道等, 中华微生物学和免疫学杂志, 7(3), 186 (1987).  
[6] 童竞亚等, 赣南医学院学报, 10(1), 1(1990).  
[7] 童竞亚等, 赣南医学院学报, 9(1—2), 1(1989).  
[8] Hartree, Anal. Biochem 41, 422(1972).

(收稿日期:1990年6月21日)

**An Improved Gel Chromatographic Technique for the isolation and Purification of Cholera Enterotoxin** Liu Huhu, Yan Yiming and Tong Jingya, Department of Immunology, Gannan Medical College, Ganzhou, 341000

A simple and reliable method for the isolation and purification of cholera enterotoxin (CT) is described. DEAE-Sephadex A50 was used to remove first the large parts of the pigments and other mixed proteins from the Vibrio cholera culture filtrate, and then the CT was purified through the Sephacryl S-200 column. In addition, the HPLC method for CT isolation on the column of TSK-2000SW was also tested.