

University, Shanghai

A method of separation and quantitative determination of cerium sub-group elements and ytterbium sub-group elements has been developed by thin-layer chromatography on silicagel plates with mixtures of mono-2-ethyl hexyl phosphate iso-propyl ether: diethyl ether: nitric acid with

ratios 1:10:6:0.10(V/V) and 1:10:6:105(V/V). The elements were determined quantitatively by densitometry after forming colored complexes with uranite agent III. The linear range of the calibration curve for each element was 0.2µg/µl ~3.5µg/µl. The limits of detection for the elements were  $7.4 \times 10^{-8}$ g and the recoveries were 96.0—104%.

## 薄层色谱法分离镧系元素P<sub>204</sub>—P<sub>507</sub>体系的研究

程圭芳 胡昭圣 贾锡平 郑介恒

(华东师范大学化学系, 上海)

(上海试剂一厂)

近年来, 由于薄层色谱在分离稀土上所具有的优点, 不断受到人们的重视。有关薄层色谱法分离稀土元素的论文也有不少报道, 其中Specker等人的工作最有成效, 在核裂变产物中分离了镧系元素<sup>(1)</sup>, 国内有罗焕光等人利用 P<sub>638</sub>体系对分离镧系元素作了研究<sup>(2)</sup>, 宗巍等人用 P<sub>204</sub>体系分离测定了独居石中的轻稀土元素<sup>(3)</sup>。我们利用二-(2-乙基己基)磷酸酯(P<sub>204</sub>)—2-乙基己基(2-乙基己基)磷酸酯(P<sub>507</sub>)体系对分离镧系元素作了研究。在硅胶H-羧甲基纤维素一硝酸铵为固定相的薄层板上, 以 P<sub>204</sub>/P<sub>507</sub>/四氢呋喃/硝酸/异丙醚为流动相, 完全分离了镧系元素。由于镧系元素在性质上的差异, 从La到Nd(以下简称La组)的分离和从Sm到Lu(以下简称Lu组)的分离所需展开剂的体积比有所不同。将所得的实验数据输入计算机计算后很快便可得到分离La组和Lu组的最佳展开剂条件, 结果是令人满意的。

### 实验部分

#### (一) 仪器与试验

1. P<sub>204</sub>(C.P.), P<sub>507</sub>(C.P.), 四氢呋喃(A.R.), 硝酸(A.R.), 异丙醚(A.R.)。
2. 标准稀土溶液(光谱纯), 配法见文献[4]。
3. 硅胶H 上海试剂制一厂制, 粒度

10~20µm。

4. 色谱装置 层析缸(定制) 5 × 25 × 25cm<sup>3</sup>。

5. APPLE—II 微型计算机, 日本。

(二) 薄层板的制备 见文献[4]。

(三) 测定方法和步骤

在点好样的薄层板上按上行法展开约16cm。然后取出烘干, 用间硝基偶氮氯磷—乙醇溶液显色, 而后量取色点中心到起始线和起始线到展开剂前沿的距离, 量取二个相邻色点的平均长度和二色点中心之间的距离, 由此计算出R<sub>s</sub>和R<sub>f</sub>值, 作为定性、定量分离的依据。

### 结果和讨论

#### (一) 展开剂各组分比例的确定

1. La组元素分离时展开剂组分比例的确定

根据 T.Strecko和T.Milica 数值计算方法<sup>(5)</sup>我们设计了以下的实验。

首先确定四氢呋喃用量(X<sub>1</sub>)6.00ml, 变化量(ΔX<sub>1</sub>)1.00ml; P<sub>204</sub>用量(Y<sub>1</sub>)0.90ml, 变化量(ΔY<sub>1</sub>)0.05ml; P<sub>507</sub>用量(Z<sub>1</sub>)0.10ml, 变化量(ΔZ<sub>1</sub>)0.05ml; 硝酸用量(W<sub>1</sub>)1.00ml, 变化量(ΔW<sub>1</sub>)0.20ml, 每次实验中均加入异丙醚10.00ml。实验结果见表1。

2. Lu组元素分离时展开剂组分比例的确定

同样我们也确定四氢呋喃用量( $X_2$ )4.00 ml, 变化量( $\Delta X_2$ )0.50ml;  $P_{204}$  用量( $Y_2$ ) 0.15ml, 变化量( $\Delta Y_2$ ) 0.05ml;  $P_{607}$  用量( $Z_2$ )0.15ml, 变化量( $\Delta Z_2$ )0.05ml 硝酸用量( $W_2$ )1.00ml,变化量( $\Delta W_2$ )0.10ml; 每次实验中均加入异丙醚14.00ml.实验结果见表1.

在这二组元素中其中第一组的Pr—Nd, 第二组的Eu—Gd 为最难分离, 计算时选用上述二对元素间的 $R_s$ 值.

表 1 不同展开剂条件下元素对的 $R_s$ 值

La—Nd (La组)		Sm—Lu (Lu组)	
展开剂组成	(Pr—Nd) $R_s$	展开剂组成	(Eu—Gd) $R_s$
$X_1+Y_1+Z_1+W_1$	2.13	$X_2+Y_2+Z_2+W_2$	1.08
$X_1-\Delta X_1+Y_1+Z_1+W_1$	2.10	$X_2-\Delta X_2+Y_2+Z_2+W_2$	0.90
$X_1+\Delta X_1+Y_1+Z_1+W_1$	1.40	$X_2+\Delta X_2+Y_2+Z_2+W_2$	1.14
$X_1+Y_1-\Delta Y_1+Z_1+W_1$	2.21	$X_2+Y_2-\Delta Y_2+Z_2+W_2$	1.30
$X_1+Y_1+\Delta Y_1+Z_1+W_1$	1.86	$X_2+Y_2+\Delta Y_2+Z_2+W_2$	1.09
$X_1+Y_1+Z_1-\Delta Z_1+W_1$	2.05	$X_2+Y_2+Z_2-\Delta Z_2+W_2$	1.14
$X_1+Y_1+Z_1+\Delta Z_1+W_1$	1.98	$X_2+Y_2+Z_2+\Delta Z_2+W_2$	0.90
$X_1+Y_1+Z_1+W_1-\Delta W_1$	2.10	$X_2+Y_2+Z_2+W_2-\Delta W_2$	1.08
$X_1+Y_1+Z_1+W_1+\Delta W_1$	1.81	$X_2+Y_2+Z_2+W_2+\Delta W_2$	1.04

计算后得到: 当展开剂各组分的用量为  $P_{204}$ 0.85ml,  $P_{607}$ 0.10ml, 四氢呋喃6.00ml, 硝酸0.90ml, 异丙醚10.00ml 时, La组元素能完全分离, 此时Lu 组元素的  $R_f$  值都大于Nd, 且干扰La 组的测定. 当展开剂各组分用量为  $P_{204}$ 0.15ml,  $P_{607}$ 0.10ml, 四氢呋喃4.50ml, 硝酸 0.95ml, 异丙醚 14.00ml时, Lu组元素能完全分离, 此时 La 组元素基本上都在原点不动, 不干扰测定.

(二) 混合稀土样品试验

将镧到钆这五个标准溶液按等体积混合, 每个元素的浓度约为 1.0mg/ml, 将钆到镨这十个元素标准溶液等体积混合, 每个元素的浓度约为 0.5mg/ml. 按照测定步骤, La 组和 Lu组分别按最佳比例的展开剂展开后结果见表 2 和图1,2.

表 2 镧系元素展开后的 $R_f$ 和 $R_s$ 值

元素	$R_f$	元素对	$R_s$	元素	$R_f$	元素对	$R_s$
La	0.08	La—Ce	2.29	Tb	0.30	Tb—Dy	2.60
Ce	0.13	Ce—Pr	3.08	Dy	0.38	Dy—Ho	1.64
Pr	0.25	Pr—Nd	4.43	Ho	0.43	Ho—Er	1.23
Nd	0.34	Nd—Sm	5.41	Er	0.51	Er—Tm	2.31
Sm	0.62/0.09	Sm—Eu	2.00	Tm	0.60	Tm—Yb	2.71
Eu	0.15	Eu—Gd	1.27	Yb	0.68	Yb—Lu	1.64
Gd	0.20	Gd—Tb	3.27	Lu	0.73		

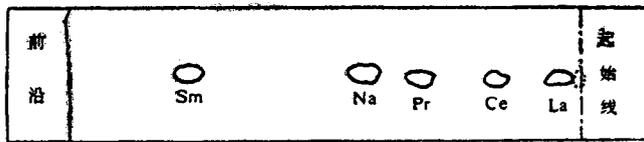


图 1 La组元素展开后示意图

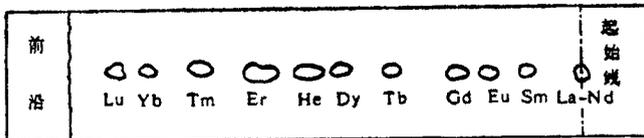


图 2 Lu组元素展开后示意图

从上述实验中可得, 以不同配比的  $P_{204}$   $P_{607}$ /四氢呋喃/硝酸/异丙醚作为展开剂, 能较好地分离镧系元素, 分离因素均大于 1.2.

参 考 文 献

- (1) K.Jung, M.Oberscheidt, H. Specker, Fresenius Z. Anal. Chem., 288, 288 (1977).
- (2) 罗焕光, 谢瑞明, 痕量分析, 1,71(1985).

- (3) 宗巍、贾锡平、郑介恒. 色谱, 4(1,2), 105(1986).
- (4) 郁嘉妹等, 华东师范大学学报(自然科学版), (3), 68(1984).
- (5) T.Sreoko, T.Milica, Anal. Chem., 46(8), 988 (1974).

(收稿日期: 1986年5月22日)

Separation of Lanthanide with Thin-Layer Chromatography—Study on P<sub>204</sub>—P<sub>507</sub> System Cheng Guifang, Hu Zhaosheng and Jia Xiping, East China Normal University Shanghai; Zheng Jieheng, Shanghai 1st. Chemical Reagent Plant

The thin-layer chromatography is a good method for separation of the rare earth elements. Using the different ratio of Di-(2-ethylhexyl)

phosphate (P<sub>204</sub>)/2-ethylhexyl (2-ethylhexyl) phosphonic acid (P<sub>507</sub>)/tetrahydrofuran (THF)/nitric acid/isopropylether as the mobile phase, silica gel H—carboxylmethyl cellulose—ammonium nitrate as the stationary phase, lanthanide can be completely separated. As the ratio of the mobile phase is P<sub>204</sub>/P<sub>507</sub>/THF/HNO<sub>3</sub>/isopropylether (3:2:90:19:280(V/V)), Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb and Lu can be completely separated, and the ratio of developer is P<sub>204</sub>/P<sub>507</sub>/THF/HNO<sub>3</sub>/isopropylether (17:2:110:18:200(V/V)), La, Ce, Pr, and Nd can be completely separated. For the detection, the plate has to be sprayed with 0.02% ethanol chlorophosphonazo-m-NO<sub>2</sub> solution.

## 高效疏水作用色谱分离生物活性蛋白

姚志建 郭燕捷

(军事医学科学院基础医学研究所, 北京)

疏水作用色谱(Hydrophobic Interaction Chromatography, HIC)是Hjerte'n<sup>(1)</sup>首先命名的一类色谱, 它以盐溶液为流动相, 弱疏水性质的材料为固定相, 主要的分离对象是蛋白质。但是, Hjerte'n所记叙的疏水色谱是一种以琼脂糖为支持物的软胶。近年来, 随着高效液相色谱技术在生物学和医学中的应用日益发展, 寻找多种性能的分

离生物活性分子的高效色谱技术的研究十分活跃, 这其中的一个重要的方面就是高效疏水作用色谱(HP-HIC)<sup>(2)</sup>。Kato等将丁基或酚基缩水甘油醚与TSK G3000SW柱偶联<sup>(3)</sup>, Fausnaugh等将弱的疏水性聚氨层共价键合到硅胶上<sup>(4)</sup>, 张仁斌等用Carbowax 400偶联到3-缩水甘油氧丙烷处理后的硅胶上<sup>(5)</sup>, 都制成了高效疏水反应色谱填料。本文报告我们以张仁斌提供的高效疏水作用色谱柱HIC-15, 研究了这类高效液相色谱技术对生物活性蛋白分离的可能性。

### 材料和方 法

HIC-15 色谱柱是中国科学院上海药物

研究所张仁斌教授的赠品。柱长100mm, 内径5mm。

高效液相色谱为Waters系统。由721程序控制器, 730数据处理机, 441紫外检测器, U6K进样器和两台510高压输液泵组成。检测波长为280nm, 流速1.0ml/min。

血清蛋白定量采用280/205nm双波长法<sup>(6)</sup>。

过氧化氢活力的测定<sup>(7)</sup>: 取0.16ml 30%的过氧化氢, 以M/15、pH7.0的磷酸缓冲液稀释到100ml, 此溶液在240nm处的光吸收值约为0.5。取上述底物溶液3ml至石英比色杯中, 25℃恒温, 加入适量的含酶待测样品(约为10~40μl)。记录光密度由0.45降至0.40所需的时间(Δt), 并按下式计算酶活力:

$$\text{酶活力单位} = \frac{17}{\Delta t}$$

核糖核酸酶活力的测定<sup>(8)</sup>: 酵母核糖核酸0.1g溶于100ml 0.1mol/L、pH5.0的醋酸缓冲液中。取上述底物溶液1.5ml置石英比色杯中, 25℃恒温, 然后加入核糖核酸酶标准或待测样品至总体积为3.0ml, 迅速混合。记