

大于排除面积阈值10倍的色谱峰计算(数据处理机输入该阈值参数为200u), AA, AM和AN的最低检出量分别为 2×10^{-9} , 2×10^{-10} 和 2×10^{-9} g。

(四) 进样体积对响应值的影响

进样体积在2.0—8.0 μ l之间变化, AA, AM和AN的响应面积无明显改变, 其相对误差分别为2.2%, 2.5%和6.4%。这为定量分析提供了方便。

综上所述, 用HPLC可成功地完成AN及其微生物转化产物的快速定性定量测定, 周期短, 重现性好, 操作简便, 自动记录分析数据, 适用于批量样品的连续测定。

参 考 文 献

(1) H.Yamada, 日本农艺化学会志, 60(8), 609 (1986).

(2) 杨惠芳, 微生物学报, 24(3), 256(1984).
(3) Y.Asano et al, Agric. Biol. Chem., 46(5), 1183(1982).

(收稿日期: 1987年11月14日)

Analysis for Microbial Transformed Products of Acrylonitrile by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography Li Wenzhong and Zhang Hongyi, Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing

The conditions for the analysis of transformed products of acrylonitrile via micro-organism by HPLC have been studied. Under these conditions, the transformed products, acrylic acid (AA), acrylamide (AM) and acrylonitrile (AN) were separated completely. The analytical conditions are μ -Bondapak C₁₈ column and CH₃OH-H₂O(15:85) eluent. The analytical reproducibility was very good. When AUFS was 0.1, the minimum detectable amounts of AA, AM and AN were 2×10^{-9} g, 2×10^{-10} g and 2×10^{-9} g respectively.

高压液相色谱分析DNS-[⁷⁵Se]蛋氨酸

吴叔筠 于洁 赖运琅

(中国原子能科学研究院22室, 北京)

蛋氨酸属氨基酸类, 无紫外吸收。⁷⁵Se]蛋氨酸为其硒标记化合物, 被广泛用作胰腺扫描、甲状腺扫描, 某些肝肿瘤、恶性肿瘤的阳性扫描, 恶性淋巴瘤的测定, 胎盘机能的测定和人体内新陈代谢的研究等。

为提高分离效率, 缩短分析时间, 发展了柱前衍生化法⁽¹⁻³⁾。衍生化试剂1-二甲基胺萘-5-磺酰氯(DNS—Cl)是示踪量测定氨基酸的最佳衍生化试剂, 反应灵敏度比茚三酮高几个数量级。其衍生物制备迅速, 重现性好, 有紫外吸收, 可利用高压液相色谱进行分离分析。

本工作采用DNC—Cl柱前衍生化法, 在通用的高压液相色谱仪上, 用紫外检测器及流通型 γ 探测器对DNS—蛋氨酸(硒)及DNS—[⁷⁵Se]蛋氨酸的化学纯和放化纯进行了检测。

仪 器 和 试 剂

(一) 仪器 PE-3B型高压液相色谱仪, 带有LC-65T型可变波长紫外检测器及可变量程056型双笔台式记录仪, Waters-M710B型自动进样器, 流通型 γ 探测器(262厂), 色谱柱 μ Bondapak C₁₈(ϕ 0.46 \times 30cm), Waters公司产品。

(二) 试剂 乙腈, 磷酸均为A.R.级, 北京化工厂产品。使用前均经0.5 μ m滤片过滤, 并减压脱气。衍生化试剂DNS—Cl为Sigma公司产品。

(三) 衍生化步骤 10 μ l蛋氨酸(5mg硒蛋氨酸溶于1ml 0.01mol/L盐酸中)溶液放入容量瓶中, 加入250 μ l碳酸氢钠溶液(8.4mg/ml水, pH=10.5), 再加入250 μ l DNS—Cl衍生化试剂(1.4mg/ml丙酮), 并

盖帽，混和15s，在100℃下加热 2min 后冷却，或在室温（暗处）下放置1h，以备高压液相色谱进样用。

结果及讨论

在 μ /Bondapak C₁₈柱上，流动相为乙腈:0.01mol/L磷酸(35:65, V/V)，流量为1.5ml/min，紫外波长 254nm，衍生化试剂 DNS—Cl 与蛋氨酸用量之比为 10:1(mol/mol)，对不同批号的 DNS—蛋氨酸(硒)进行了分析，见图 1 及表 1。DNS—蛋氨酸(硒)与其杂质分离完全，分析时间不到

表 1 DNS—蛋氨酸(硒)的分析

No.	平均峰面积 (cm ²)	标准误差 S _m	精度 (%)
1	0.905	0.005	0.55
2	2.200	0.040	1.80
3	1.775	0.020	1.14
4	2.520	0.029	1.15
5	0.781	0.010	1.20
6	1.112	0.004	0.37
7	8.140	0.032	0.40

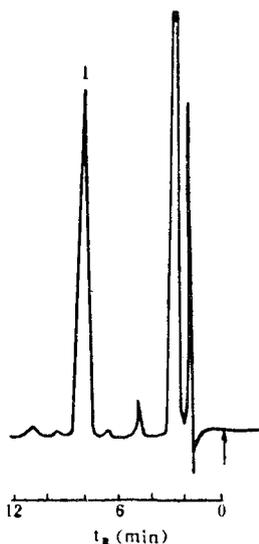


图 1 DNS—蛋氨酸(硒)谱图
峰号1.DNS—(⁷⁵Se)蛋氨酸。

10min，测量精度为 0.4—1.8%，最小检出量达 10⁻⁸g。此外，对蛋氨酸(硒)生产过程中的中间体 γ -甲硒基- α -氨基丁酸甲酯盐酸盐进行了分析，见图 3。

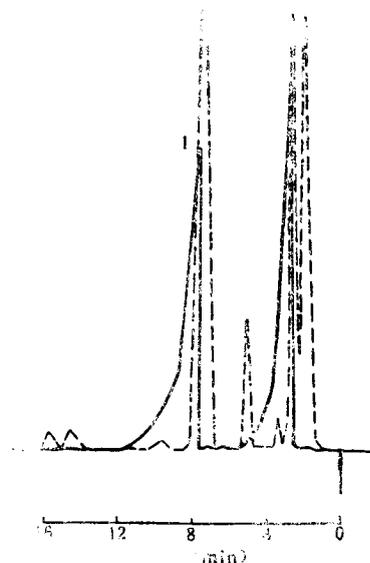


图 2 DNS—(⁷⁵Se)蛋氨酸谱图
虚线：色谱谱图；实线： γ 放射性分析谱图
峰号1.DNS—(⁷⁵Se)蛋氨酸。

在上述色谱条件下，DNS—[⁷⁵Se]蛋氨酸样品经色谱柱分离后，柱流出液先通过 UV 检测器，再流过流通型 γ 探测器（高压为 1100V，道宽为 3.6，阈值为 0.6，量程为 1 × 10³脉冲/秒），可同时获得色谱分析谱图（虚线）和 γ 放射性分布谱图（实线），见图 2 及表 2。放射性测量时间为 11min，测量精度为 0.4—1.1%，最小检出量为 10²Bq (10⁻⁸Ci)。

表 2 DNS—(⁷⁵Se)蛋氨酸的分析

No.	纯化纯 (%)	标准误差 S _m	精度 (%)
1	15.4	0.100	0.60
2	20.7	0.194	0.93
3	30.3	0.343	1.10
4	59.2	0.400	0.40

测定了衍生物 DNS—蛋氨酸(硒)的稳定性。衍生化时，反应时间超过 0.5min（加热法）或 1h（常温法）后，测得结果不变。

测定了衍生化试剂用量与峰面积关系曲线。当衍生化试剂与蛋氨酸的克分子比等于或大于 10:1 时，峰面积基本不变，这是衍生化试剂最佳用量。 (下转 173 页)