

# 使用 Nexera™ 柱后氨基酸分析系统对食品进行分析

氨基酸是组成人体蛋白质的基本营养素。氨基酸分析应用历史悠久，最初应用于结构分析、疾病诊断等研究目的，随后应用于食品药品质量控制等领域。为了应对近些年来日益增长的更快速分析的需求，岛津公司开发了一种在线柱前分析方法。以实现更快速的分析。另一方面，柱后法虽然耗时较长，但由于其广泛的适用性，至今仍被频繁使用。

岛津柱后法采用自动分析系统，该系统在使用离子交换柱梯度洗脱分离氨基酸后，在检测中利用邻苯二甲醛（OPA）进行荧光衍生化。OPA 衍生氨基酸具有极好的灵敏度和线性，也可能对脯氨酸和其他二级氨基酸进行高灵敏度的检测。由于衍生化是在分离后进行的，反应效率不易受样品基质的影响。因此，该柱后法对氨基酸的检测具有较高的灵敏度和选择性。作为分离技术，有两种模式可供选择，钠型用于分析蛋白原性氨基酸，锂型用于分析游离氨基酸。虽然氨基酸的同步分析是使用这些各自分离模式的最佳时间程序进行的，但是不需要使用专用氨基酸流动相试剂盒和反应试剂盒进行劳动密集型制备，就可以进行高精度的氨基酸分析。本文介绍了利用市场上新近推出的 Nexera 柱后氨基酸分析系统对各种食品进行氨基酸分析的情况。

\*：请参阅第 L529B 号应用消息。

A. Tanabe, H. Yamamoto

## 蛋白原性氨基酸的分析（钠型） 【标准样品】

蛋白原性氨基酸（钠型）的分析方法可以分离和定量约 20 种经蛋白质水解而得的氨基酸。钠型方法提供了三种分离条件：用于常规分析的高分离度条件、快速分析条件以及包含色氨酸的条件。图 1 至图 3 显示了在这三种条件下对标准氨基酸进行分析的结果，表 1 显示了钠型方法的分析条件。

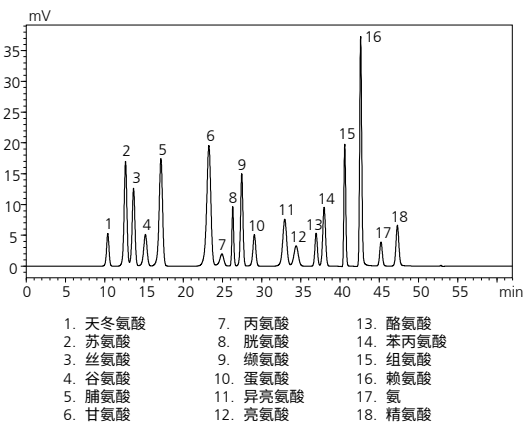


图 1 18 种标准氨基酸的分析  
(0.1 μmol/L, 钠型高分离度条件)

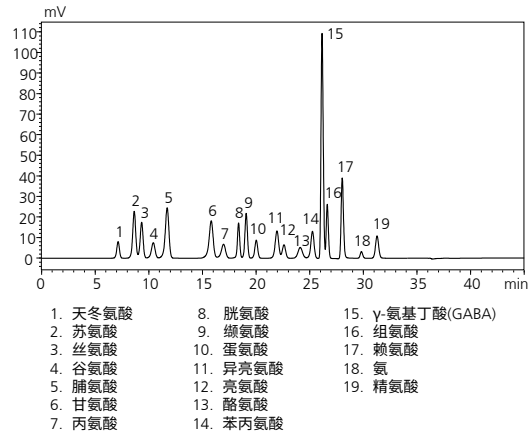


图 2 19 种标准氨基酸的分析  
(0.1 μmol/L, 钠型快速条件)

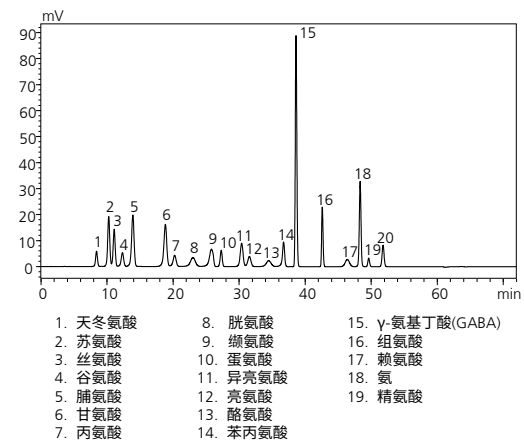


图 3 20 种标准氨基酸的分析  
(0.1 μmol/L, 钠型含色氨酸的条件)

表 1 钠型方法（常规）的分析条件

色谱柱	: Shim-pack™ Amino-Na (100 mm × 6.0 mm I.D., 5 μm) <sup>*1</sup>
氨捕集柱	: Shim-pack ISC-30/S0504Na (50 mm × 4.0 mm I.D.) <sup>*2</sup>
流动相	: 氨基酸流动相试剂盒（钠型） <sup>*3</sup> 梯度洗脱
流速	: 0.4-0.6 mL/min
柱温	: 60 °C
进样量	: 10 μL
样品瓶	: 岛津样品瓶, LC, 1.5mL, 玻璃材质 <sup>*4</sup>
反应试剂	: 氨基酸试剂盒 <sup>*5</sup>
试剂流速	: 每个 0.2 mL/min
反应温度	: 60 °C
检测	: Ex. 350 nm Em. 450 nm

\*1 : P/N S228-18837-91, \*2 : P/N S228-14206-91, \*3 : P/N S228-21195-94, \*4 : P/N S228-15652-92, \*5 : P/N S228-21195-93

## 在钠型高分离度条件下进行的分析 [ 盐酸水解：大豆、配方奶粉、蛋白粉 ]

以下介绍使用钠型高分离度条件进行的分析。图 4 至图 9 显示了对通过盐酸水解获得的 18 种蛋白原性氨基酸的分析。其中，9 种必需氨基酸（苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、色氨酸、赖氨酸）必须从食物中获得，因为它们不能在人体内合成。

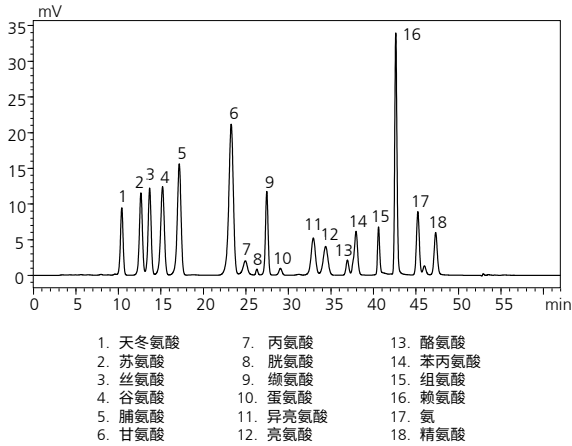


图 4 碎黄豆分析（盐酸水解）（钠型高分离度条件）

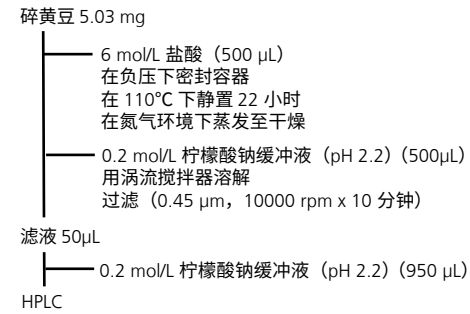


图 5 碎黄豆的预处理方案  
(盐酸水解)

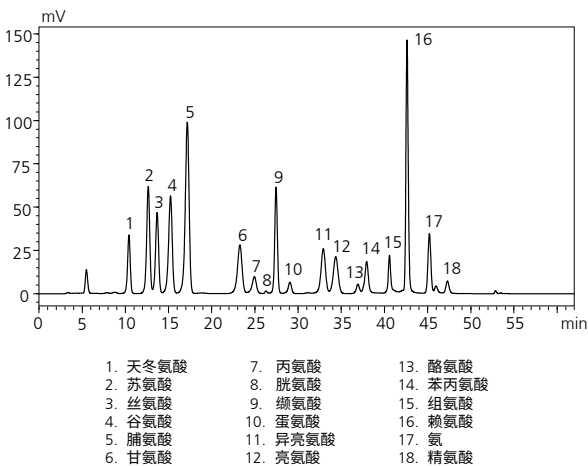


图 6 婴儿配方奶粉的分析（盐酸水解）（钠型高分离度条件）

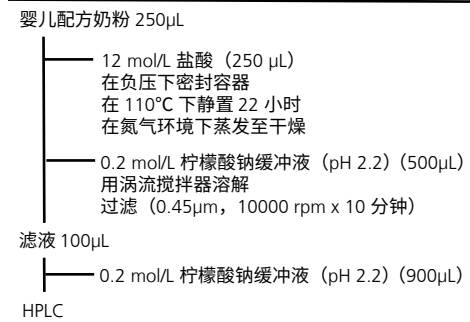


图 7 婴儿配方奶粉的预处理方案  
(盐酸水解)

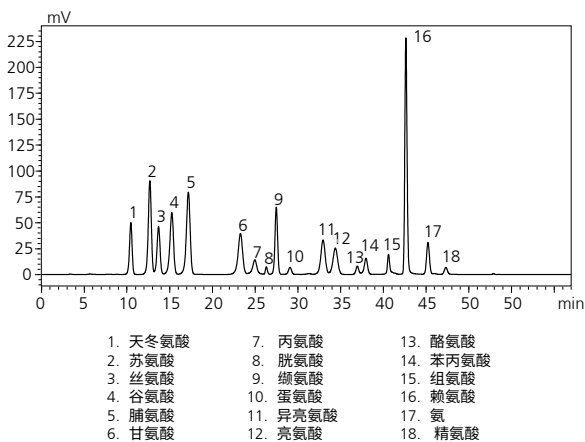


图 8 蛋白粉的分析（盐酸水解）（钠型高分离度条件）

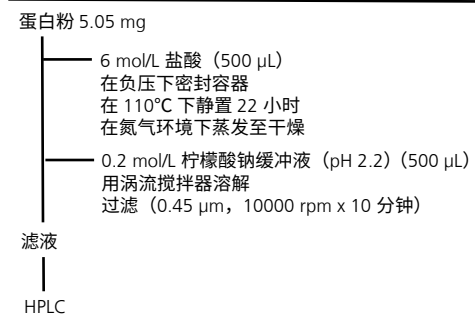


图 9 蛋白粉的预处理方案  
(盐酸水解)

## 在钠型高分离度条件下进行的分析 [鸡胸肉、酱肉、Nampler (鱼露)、氨基酸补充剂]

图 10 至图 17 显示了从样品中提取所得的 18 种游离氨基酸的分析。在这里，脱蛋白操作中使用了一个超滤筒。

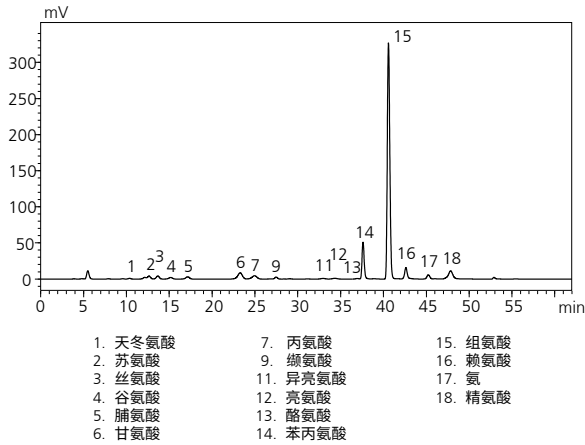


图 10 碎鸡胸肉的分析  
(钠型高分离度条件)

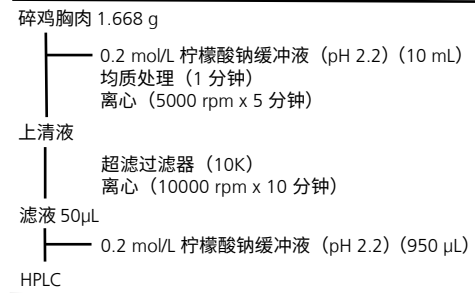


图 11 碎黄豆的预处理方案  
(盐酸水解)

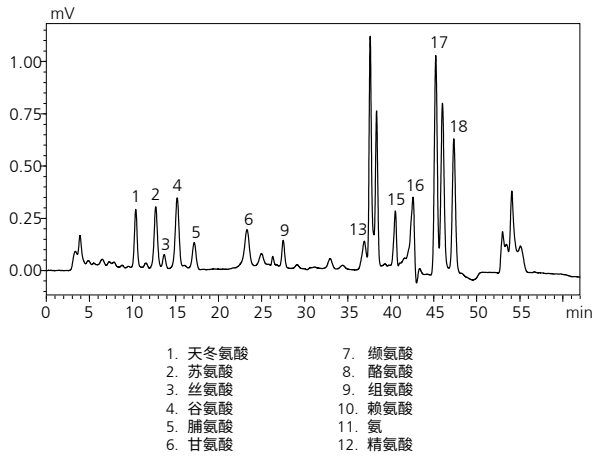


图 12 干豆肉的分析  
(钠型高分离度条件)

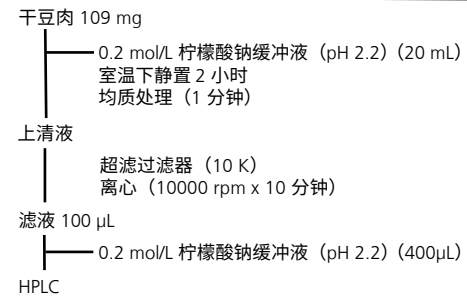


图 13 干豆肉的预处理方案

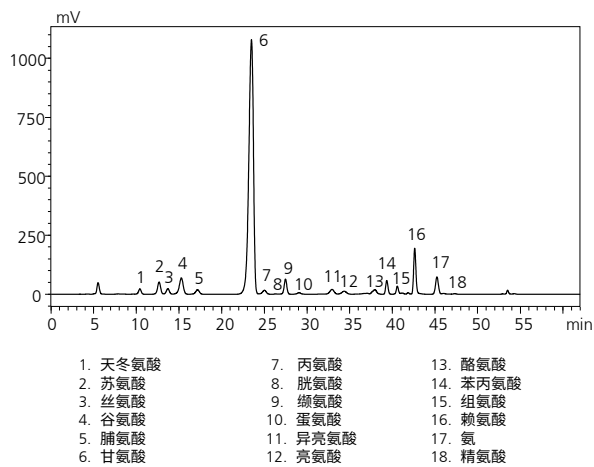


图 14 Nampler (鱼露) 的分析  
(钠型高分离度条件)

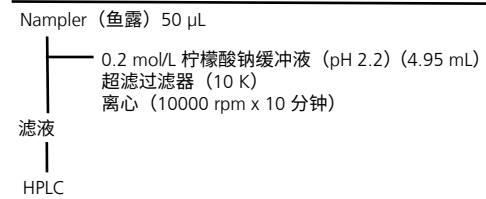


图 15 Nampler (鱼露) 的预处理方案

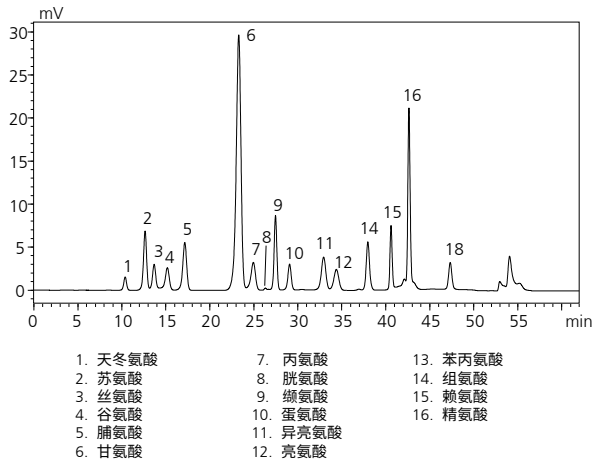


图 16 氨基酸补充剂的分析  
(钠型高分离度条件)

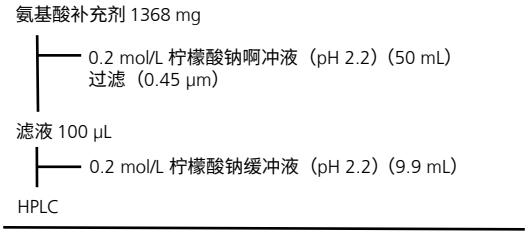


图 17 氨基酸补充剂的预处理方案

## ■ 钠型快速条件下的分析 [运动饮料、啤酒、酸奶]

图 18 至图 23 显示了在钠型快速条件下的分析。这种分离条件下的分析时间最短（45 分钟），可用于含有相对较少污染物的样品。

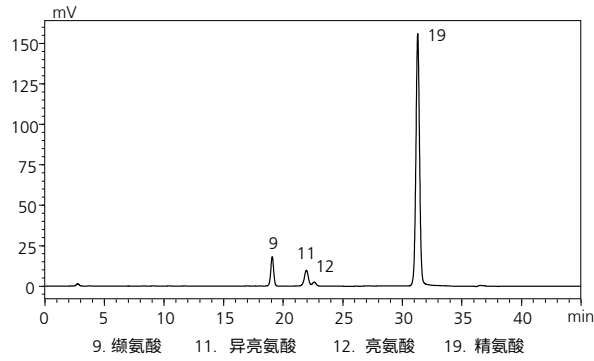


图 18 运动饮料的分析  
(钠型快速条件)

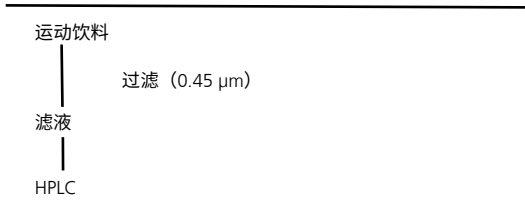


图 19 运动饮料的预处理方案

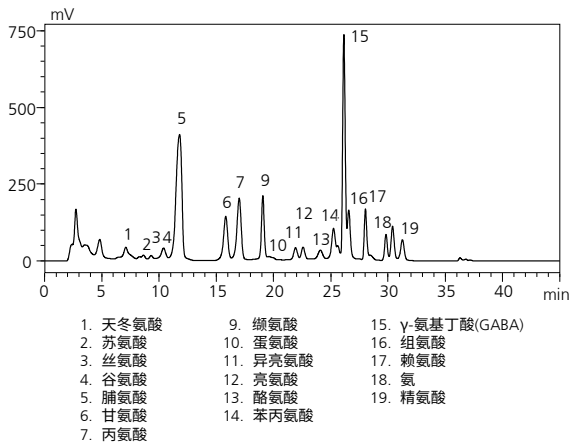


图 20 啤酒分析 (钠型快速条件)

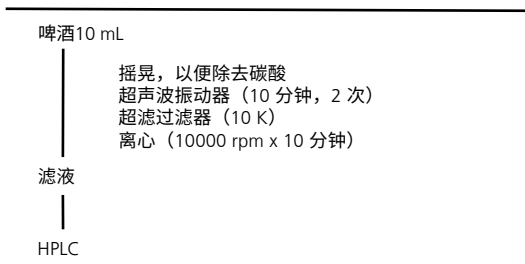


图 21 啤酒的预处理方案

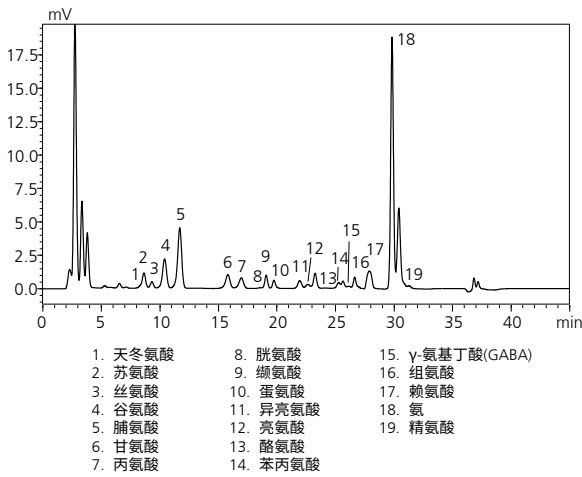


图 22 酸奶分析 (钠型快速条件)

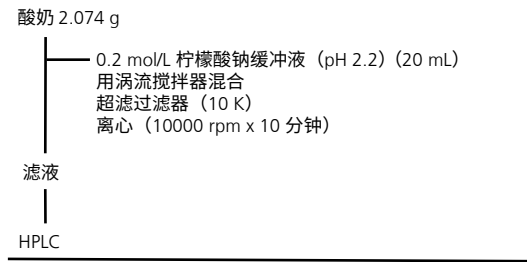


图 23 酸奶的预处理方案

## 在钠型含色氨酸的条件下进行的分析 [ 鸡胸肉 (碱水解)、蔬菜汁、味噌 (豆瓣酱) ]

图 24 至图 29 显示了在钠型含色氨酸条件下的分析。由于色氨酸会在酸水解过程被分解，因此，在分析含有色氨酸的蛋白原性氨基酸时使用碱水解。

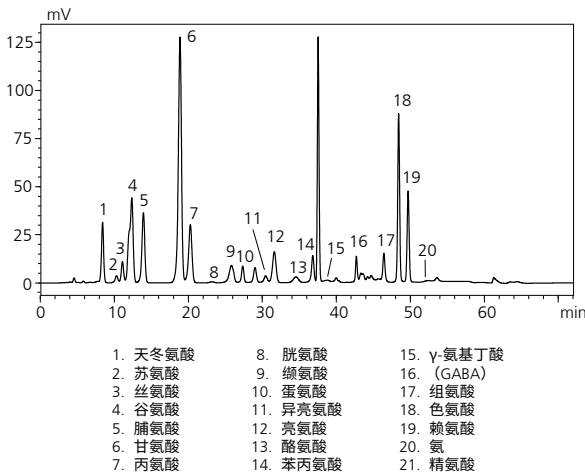


图 24 碎鸡胸肉的分析  
(碱水解)  
(钠型含色氨酸的条件)

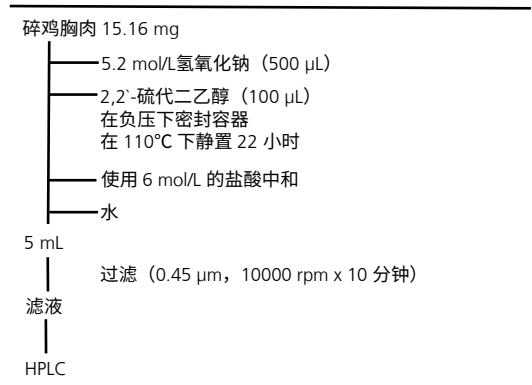


图 25 碎鸡胸肉的预处理方案 (碱水解)

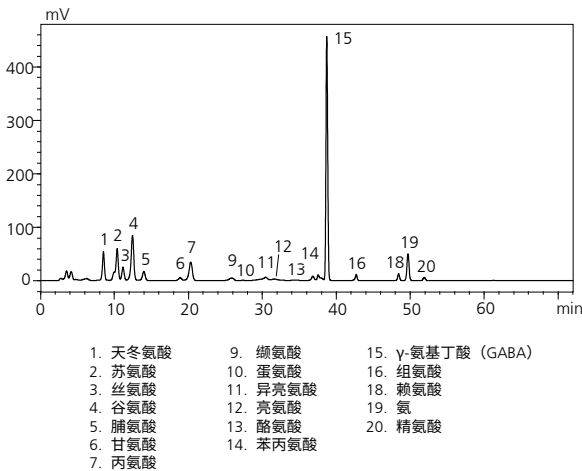


图 26 蔬菜汁的分析  
(钠型含色氨酸的条件)

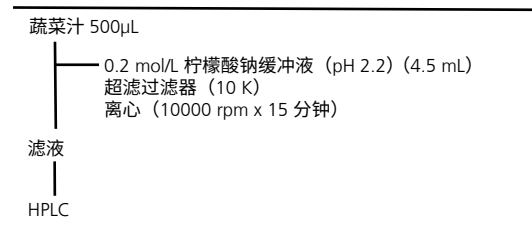


图 27 蔬菜汁的预处理方案

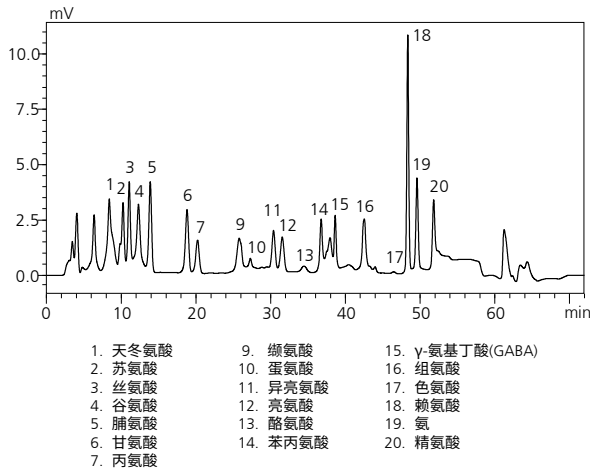


图 28 味噌 (日本豆瓣酱) 的分析  
(钠型含色氨酸的条件)

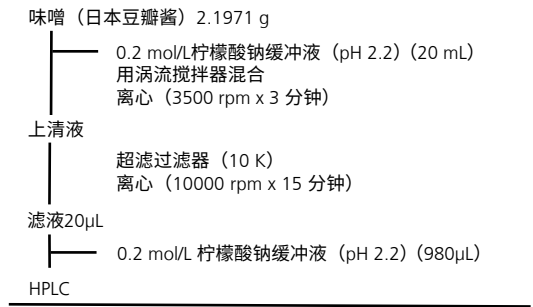


图 29 味噌的预处理方案  
(日本豆瓣酱)

## ■ 钠型条件下磺基丙氨酸和蛋氨酸的分析 [标准样品, 鸡胸肉 (过甲酸氧化-水解)]

半胱氨酸、胱氨酸和蛋氨酸会在盐酸水解过程中分解。因此, 为了测定这些化合物, 可进行过甲酸氧化水解, 将半胱氨酸和胱氨酸转化为磺基丙氨酸, 将蛋氨酸转化为蛋氨酸砒, 以便在分析中进行测定。

图 30 显示了对磺基丙氨酸和蛋氨酸砒的标准分析, 图 31 显示了通过过甲酸氧化水解对碎鸡胸肉的分析, 表 2 显示了分析条件。

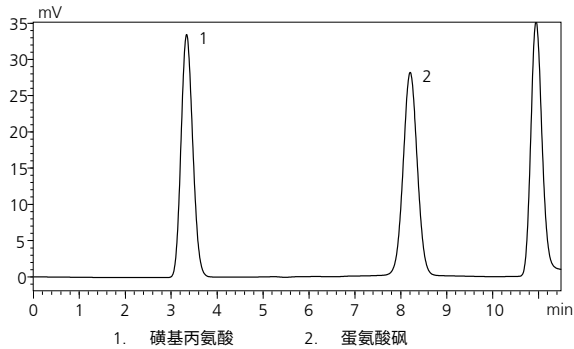


图 30 标准样品的分析  
(磺基丙氨酸、蛋氨酸砒, 各 0.1 mmol/L)

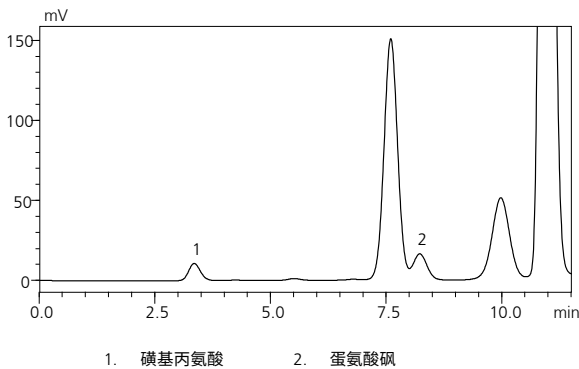


图 31 碎鸡胸肉的分析  
(过甲酸氧化水解)

表 2 磺基丙氨酸和蛋氨酸砒的分析条件

色谱柱	: Shim-pack Amino-Na (100 mm × 6.0 mm I.D., 5 μm) <sup>*7</sup> A*6) 67 mmol/L 柠檬酸钠, 含 7% 乙醇和 0.15 mol/L 高氯酸
流动相	: B) 0.2 mol/L 氢氧化钠 梯度洗脱
流速	: 0.4 mL/min
柱温	: 60 °C
进样量	: 10 μL
反应试剂	: 氨基酸试剂盒 不要向试剂 A 中加入次氯酸钠
试剂流速	: 每个 0.2 mL/min
反应温度	: 60 °C
检测	: Ex. 350 nm Em. 450 nm

\*6: 往 1 L 水中加入 2-水合柠檬酸钠 19.6 g, 乙醇 70 mL, 高氯酸 (60%) 14 mL

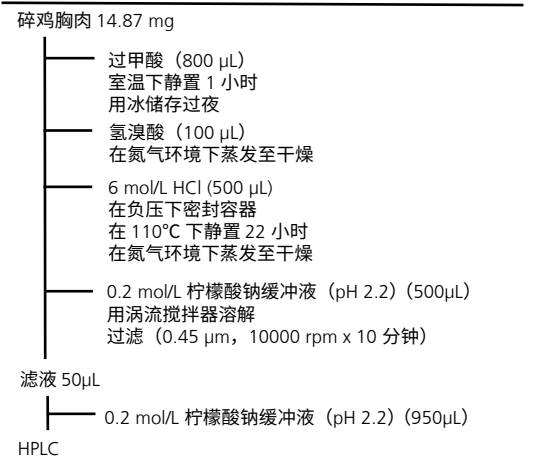
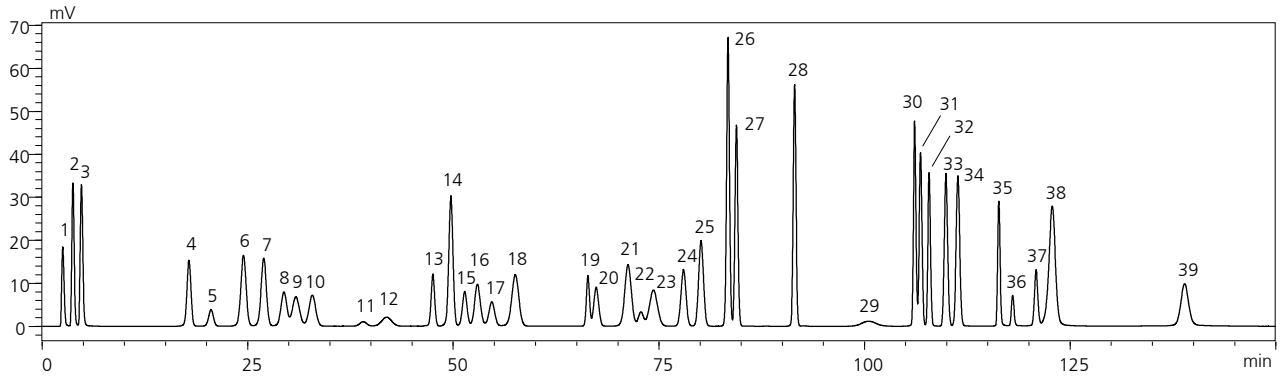


图 32 碎鸡胸肉的预处理方案 (过甲酸氧化-水解)

## ■ 游离氨基酸分析 (锂型) [ 标准样品、火腿、黑米醋、花椰菜苗 ]

在游离氨基酸分析 (锂型) 中, 可对约 40 种氨基酸进行分离和定量。如果使用试剂盒, 可以轻松进行 150 分钟的分析, 且具有较好的重复性。

图 33 显示了锂型方法的标准分析结果, 表 3 显示了锂型分析条件。图 34 至 39 是通过锂型方法对游离氨基酸进行的分析的结果。锂型方法具有较高的分辨率, 即便对含有许多污染物的食品样品也是如此。



- |             |             |                  |
|-------------|-------------|------------------|
| 1. o-磷酸丝氨酸  | 15. 丙氨酸     | 28. γ-氨基丁酸(GABA) |
| 2. 牛磺酸      | 16. 瓜氨酸     | 29. 色氨酸          |
| 3. o-磷酸乙醇胺  | 17. α-氨基正丁酸 | 30. 组氨酸          |
| 4. 天冬氨酸     | 18. 缬氨酸     | 31. 3-甲基组氨酸      |
| 5. 羟基脯氨酸    | 19. 胱氨酸     | 32. 1-甲基组氨酸      |
| 6. 苏氨酸      | 20. 蛋氨酸     | 33. 肌肽           |
| 7. 丝氨酸      | 21. 异亮氨酸    | 34. 鹅肌肽          |
| 8. 天冬酰胺     | 22. 胱硫醚     | 35. 羟赖氨酸         |
| 9. 谷氨酸      | 23. 亮氨酸     | 36. 鸟氨酸          |
| 10. 谷氨酰胺    | 24. 酪氨酸     | 37. 赖氨酸          |
| 11. 肌氨酸     | 25. 苯丙氨酸    | 38. 氨            |
| 12. α-氨基己二酸 | 26. β-丙氨酸   | 39. 精氨酸          |
| 13. 脯氨酸     | 27. β-氨基异丁酸 |                  |
| 14. 甘氨酸     |             |                  |

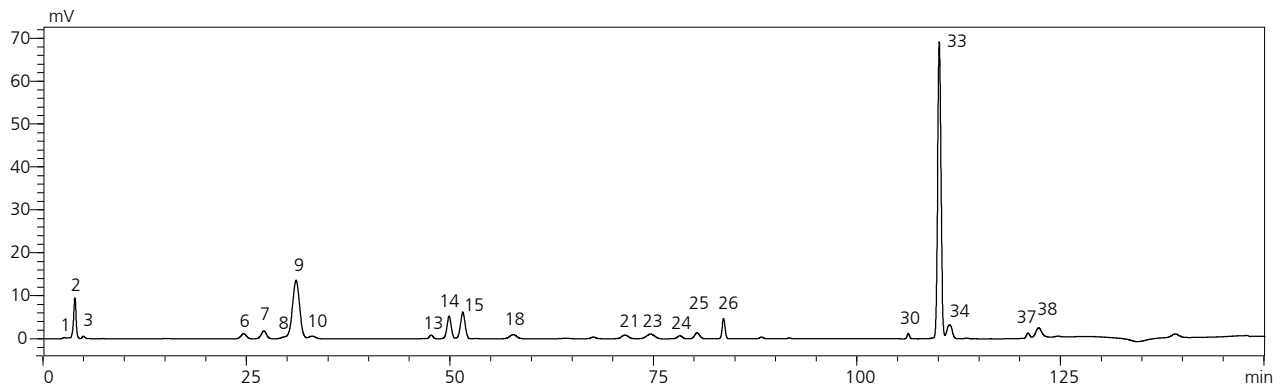
图 33 39 种标准氨基酸的分析  
(每个 0.1 mmol/L\*\*, 锂型条件)

\*\* : 然而, 组分 1-3、12、17 和 22 的浓度为 0.05 mmol/L, 组分 11 的浓度为 0.25 mmol/L, 组分 29 的浓度为 0.026 mmol/L。

表 3 锂型方法的分析条件

色谱柱	: Shim-pack Amino-Li (100 mm × 6.0 mm I.D., 5 μm) *7
氨捕集柱	: Shim-pack ISC-30/S0504Li (50 mm × 4.0 mm I.D.) *8
流动相	: 氨基酸流动相试剂盒 (锂型) *9 梯度洗脱
流速	: 0.6 mL/min
柱温	: 39 °C
进样量	: 10 μL
样品瓶	: 岛津瓶, LC, 1.5 mL, 玻璃材质 *4
反应试剂	: 氨基酸试剂盒
试剂流速	: 每个 0.2 mL/min
反应温度	: 39 °C
检测	: Ex. 350 nm Em. 450 nm

\*7 : P/N S228-18837-92, \*8 : P/N S228-00821-91,  
\*9 : P/N S228-21195-95



- |            |          |           |
|------------|----------|-----------|
| 1. o-磷酸丝氨酸 | 10. 谷氨酰胺 | 24. 酪氨酸   |
| 2. 牛磺酸     | 13. 脯氨酸  | 25. 苯丙氨酸  |
| 3. o-磷酸乙醇胺 | 14. 甘氨酸  | 26. β-丙氨酸 |
| 6. 苏氨酸     | 15. 丙氨酸  | 30. 组氨酸   |
| 7. 丝氨酸     | 18. 缬氨酸  | 33. 肌肽    |
| 8. 天冬酰胺    | 21. 异亮氨酸 | 34. 鹅肌肽   |
| 9. 谷氨酸     | 23. 亮氨酸  | 37. 赖氨酸   |
|            |          | 38. 氨     |

图 34 火腿分析 (锂型条件)

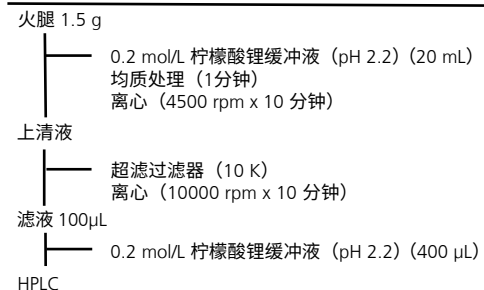
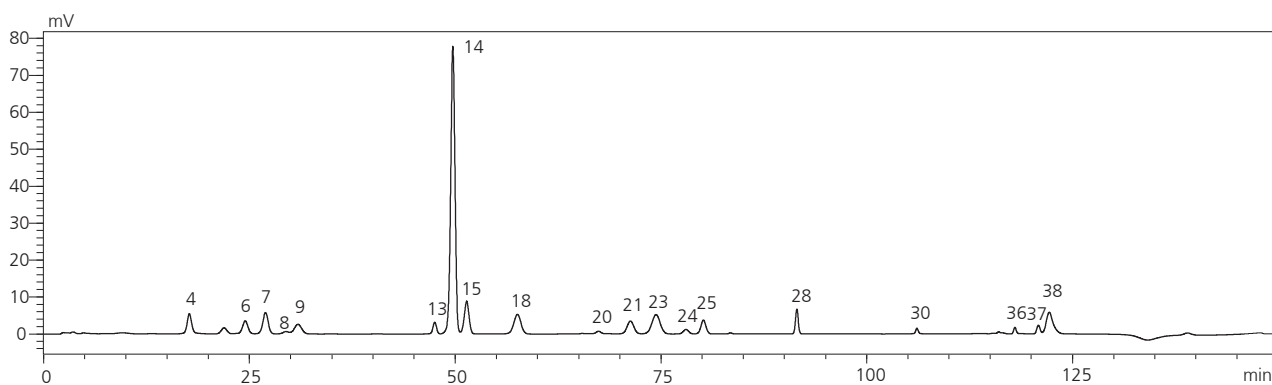


图 35 火腿的预处理方案



- |         |          |                   |
|---------|----------|-------------------|
| 4. 天冬氨酸 | 15. 丙氨酸  | 28. γ-氨基丁酸 (GABA) |
| 6. 苏氨酸  | 18. 缬氨酸  | 30. 组氨酸           |
| 7. 丝氨酸  | 20. 蛋氨酸  | 30. 组氨酸           |
| 8. 天冬酰胺 | 21. 异亮氨酸 | 36. 鸟氨酸           |
| 9. 谷氨酸  | 23. 亮氨酸  | 37. 赖氨酸           |
| 13. 脯氨酸 | 24. 酪氨酸  | 38. 氨             |
| 14. 甘氨酸 | 25. 苯丙氨酸 |                   |

图 36 黑米醋的分析 (锂型条件)

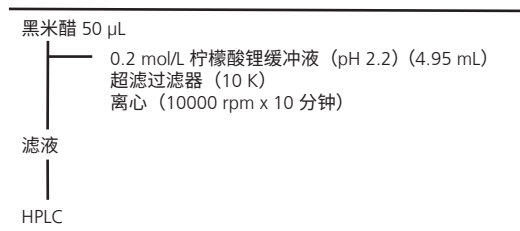
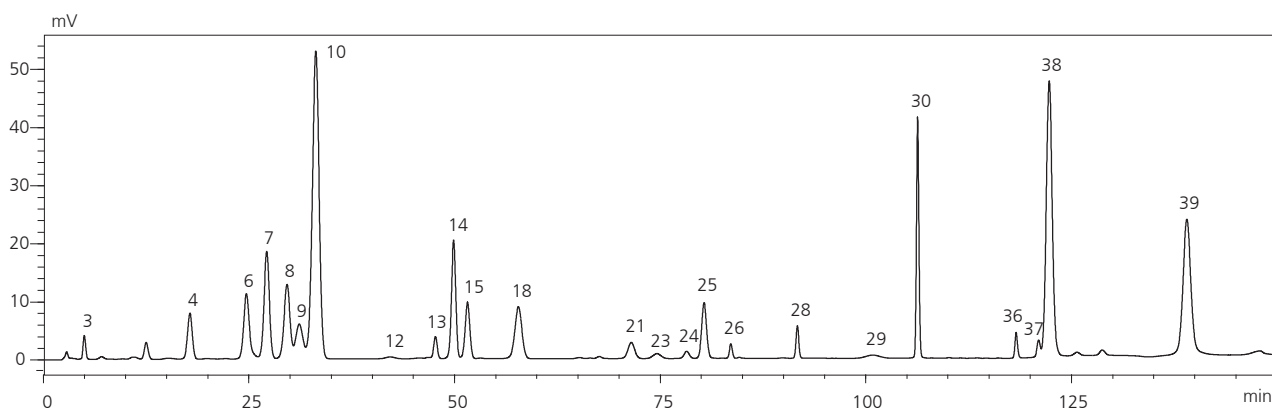


图 37 黑米醋的预处理方案



- |             |          |                   |
|-------------|----------|-------------------|
| 3. o-磷酸乙醇胺  | 12. 脯氨酸  | 26. β-丙氨酸         |
| 4. 天冬氨酸     | 13. 甘氨酸  | 28. γ-氨基丁酸 (GABA) |
| 6. 苏氨酸      | 14. 丙氨酸  | 29. 色氨酸           |
| 7. 丝氨酸      | 18. 缬氨酸  | 30. 组氨酸           |
| 8. 天冬酰胺     | 21. 异亮氨酸 | 36. 鸟氨酸           |
| 9. 谷氨酸      | 23. 亮氨酸  | 37. 赖氨酸           |
| 10. 谷氨酰胺    | 24. 酪氨酸  | 38. 氨             |
| 12. α-氨基己二酸 | 25. 苯丙氨酸 | 39. 精氨酸           |

图 38 花椰菜苗的分析 (锂型条件)

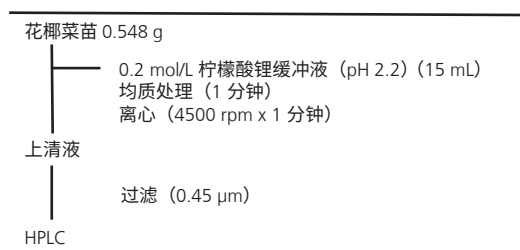


图 39 花椰菜苗预处理方案

## 结论

介绍了采用 Nexera 柱后氨基酸分析系统对各种食品进行的分析。

需要注意的是, 此处使用的预处理方案只是示例。在进行实际定量分析时, 建议在分析之前, 通过回收率试验来确认回收率。

岛津应用云



Nexera 和 Shim-pack 是岛津制作所在日本和 / 或其他国家的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司  
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:

\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2020 年 10 月