



氨基酸 (amino acid) 样品前处理攻略

GB/T 18246 & GB 5009.124

前言

“氨基酸(amino acids)是组成蛋白质的基本单位”，在人的生命活动中不可或缺。

氨基酸分析仪，是指用于测定蛋白质、肽及其他药物制剂的氨基酸组成或含量的仪器。进行氨基酸分析前，必须将蛋白质及肽水解成单个氨基酸。它是基于阳离子交换柱分离、柱后茚三酮衍生、光度法测定的离子交换色谱仪。有的样品中氨基酸以游离态存在，而有的样品中氨基酸以蛋白或多肽形式存在。要得到满意的氨基酸分析结果，不仅仅要注意样品的制备，更重要的是样品的处理。

Abstract

本文介绍了分析不同种类样品氨基酸的前处理过程，方法已经过实践验证，并符合GB/T 18246 & GB 5009.124等相关标准。

Author :

天美仪拓实验室设备(上海)有限公司 色谱市场部

有的样品中氨基酸以游离态存在，而有的样品中氨基酸以蛋白或多肽形式存在，当然，大多数样品氨基酸以两种形式同时存在。根据关注点不同，我们常常把样品分为水解样品和游离样品。

水解样品（蛋白质及多肽）

水解样品一般关注的是氨基酸以蛋白或多肽形式存在的样品，氨基酸主要是以肽键结合，需要设法将肽键打开，水解成单个游离氨基酸，而当前还没有哪一种水解剂能将所有的氨基酸毫无破坏的水解出来，这就决定了氨基酸总量测定前处理方法的复杂性和多样性。

①15种常规氨基酸（常规酸水解）

酸水解法通常我们使用（常规）酸水解法测定天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸等15种氨基酸。

②含硫氨基酸氨基酸（氧化水解）

氧化水解含硫氨基酸需先用过甲酸将胱氨酸、半胱氨酸氧化为磺基丙氨酸，将蛋氨酸氧化为蛋氨酸砒，此两种物质在酸水解过程中稳定且与其它氨基酸易分离，然后再将蛋白进行酸水解，进行测定。在氧化水解处理过程中，除色氨酸不能测定外，某些芳香氨基酸也可以部分氧化、破坏，而不能测准，因为在HBr作为氧化中止剂时，酪氨酸、苯丙氨酸和组氨酸均会被部分氧化而不能测定，如果用偏重亚硫酸钠为中止剂时，酪氨酸不能测定。

③色氨酸（碱水解）

碱水解相对于酸水解而言，碱水解时破坏的氨基酸要多很多，但酸水解会被破坏的色氨酸在碱水解时却能保持稳定，因此碱水解就是用以分离色氨酸。通常会使用氢氧化钡，这样水解之后就必須用CO₃2-或SO₄2-来沉淀钡离子。而且氨基酸可能会因为沉淀盐的吸附而损失。亮氨酸在碱水解和酸水解过程中都很稳定，它可以用来检查这种吸附产生的损失。

游离样品（游离氨基酸）

游离氨基酸游离样品关注的是样品中的以游离态存在的氨基酸，需要考虑的是提取和除杂质。

①提取

提取主要针对的是动物组织，植物组织，以及其他含游离氨基酸的固体样品，这类样品需要把氨基酸从固体中提取出来；如果样品中含有牛磺酸，而且用钠系统分析，则应采用A液作为稀释液，用样品稀释液或者水稀释会有轻微干扰，对牛磺酸含量较小的分析会有影响。

②去除杂质

去除杂质主要是去除样品中可能含有的蛋白质，重金属以及其他干扰物质。金属离子用EDTA去除，蛋白沉淀剂应用较多的有苦味酸、磺基水杨酸（SAA）、三氯乙酸、乙醇等。当样品中含有较多3-6肽（分子量500-1000）时，可用约0.5%磷钼酸进行沉淀，但最终上机时的磷钼酸浓度应小于0.1%（1mg/mL），脂肪含量高的样品需脱脂（索氏提取）。

结论

本文介绍了经过Scion Artemis 6000实验验证过的含氨基酸样品前处理方法，符合GB/T 18246 & GB 5009.124等相关标准



附录

附录介绍了相关的一些标准

JJG 1064	氨基酸分析仪检定规程
GB/T 18246	饲料中氨基酸的测定
GB/T 15399	饲料中含硫氨基酸测定方法
GB 5009.124	食品中氨基酸的测定
GB/T 30987	植物中游离氨基酸的测定
GB/T 22492	大豆肽粉
GB/T 22729	海洋鱼低聚肽粉
GB/T 17419	含氨基酸叶面肥料
GB/T 18654.11	养殖鱼类种质检验
GB/T 14965	食物中氨基酸的测定方法
NY/T 1975	水溶肥料 游离氨基酸含量的测定
NY/T 1618	鹿茸中氨基酸的测定
NY 1429	含氨基酸水溶肥料
YY 0954	无源外科植入物-I型胶原蛋白植入剂
YC/T 282	烟叶 游离氨基酸的测定
EN-L257	欧洲饲料中氨基酸检测标准