DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.03.014

Sep-Pak C_{18}柱对氨基酸含量的影响

孙 玮 周成贵 崔应瑞 （中心实验室）

随着医学、营养学发展需要，分析蛋白质氨基酸含量已被广泛应用作为反映体内蛋白质分解代谢和评价食品营养价值的指标[1~3]。因此大量的动物或植物样品需测定其氨基酸含量，但大多数样品水解液含有大量色素，从而影响氨基酸的正常分离，使分析结果的准确度受到影响。国内目前多采用活性炭或草酸脱色，但它们对氨基酸有较强的吸附性，对氨基酸的定性定量分析均有较大影响。为此，我们采用 Sep-Pak C_{18}柱对样品进行脱色处理。为了解 C_{18} 对氨基酸吸附情况，本实验着重研究用 Sep-PakC_{18} 柱对标准氨基酸液进行过柱处理后氨基酸含量的变化，通过分析取得了令人满意的结果。

材料和方法

一、实验分组

1．实验分为两组：即实验组和对照组。

2．实验组系经Sep-Pak C_{18}柱过滤后的氨基酸标准溶液。对照组系未经过滤的氨基酸标准溶液。

二、材料

Sep-Pak C_{18}柱系日本 Waters 公司生产的用于高效液相色谱仪作为样品的预处理柱。

三、标准液配制

1．采用国产：天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、瓜氨酸、缬氨酸，按250nmol/ml 浓度配制成氨基酸标准液。

2．标准过滤处理方法：

用甲醇（AR）活化 Sep-Pak C_{18}柱，用空注射器反复推多次，除去柱内甲醇，将氨基酸标准液过柱，过柱标准液前 3～4 滴不要，以消除甲醇影响，最后再用甲醇活化C_{18}柱，以备下次再用。

四、试剂

1．茚三酮：按Beckman配制方法进行配制。

2．缓冲液：采用pH2.83缓冲液，作为洗脱剂。

3．再生液：采用0.2N LiOH溶液。

五、方法

系采用美国Beckman公司生产的 121MB 型氨基酸分析仪，按单柱柠檬酸锂缓冲系统对氨基酸进行分析测定。

六、分析条件

树脂型号AA-10型，柱床高度200mm，缓冲液流速10ml/h，茚三酮流速 5 ml/h，波长范围 440～570nm，数据处理用126数据处理机。

结果和讨论

实验结果如附表。

表中示实验组和对照组 t 检验结果和回收率。

从结果中看，对照组与实验组结果相差均不显著（$P>0.05$）。除天门冬氨酸回收率为 94.2%外，其余 9 种氨基酸回收率均在97%以上。

目前有人采用活性炭和草酸脱去样品中色素。而对于活性炭吸附氨基酸的现象，Ito[4]和Wuederly[5]等人先后研究并确证了炭对氨基酸的吸附性。邹学满对活性炭吸附氨基酸作了进一步的研究，结果：CH-15活性炭对芳香族氨基酸的吸附性很强，对其它氨基酸也有不同程度的影响[6]。吴祖道等人对活性炭和草酸对氨基酸的吸附性也作了研究，结果：活性炭和草酸对氨基酸定量分析均有影响[7]。

本实验采用 Sep-Pak C_{18} 柱对无色氨基酸标准液进行过柱处理，结果：实验组与对照组相差不显著 $P>0.05$，即C_{18} 对氨基酸含量影响不大，同时操作简便，减少了操作

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

附表　过滤前后氨基酸分析测定含量比较（n＝10）

氨基酸名称	实验组 ($\bar{X}\pm SD$ nmol/ml)	对照组 ($\bar{X}\pm SD$ nmol/ml)	回收率 (%)	P值
天门冬氨酸	131.61±14.34	139.71±6.02	94.2	>0.05
苏氨酸	259.42±5.15	263.07±5.55	98.6	>0.05
丝氨酸	264.44±5.14	270.24±6.39	97.9	>0.05
谷氨酸	310.59±6.31	315.15±10.43	98.6	>0.05
谷氨酰胺	267.19±9.60	272.30±9.61	98.1	>0.05
脯氨酸	756.87±29.10	767.07±21.03	98.7	>0.05
甘氨酸	382.07±6.86	390.19±10.24	97.9	>0.05
丙氨酸	215.46±5.96	219.68±6.17	98.1	>0.05
胱氨酸	245.85±8.35	248.12±8.68	99.1	>0.05
缬氨酸	195.46±5.39	198.59±6.15	98.4	>0.05

P>0.05

误差，且经甲醇活化后可反复使用，故此法可推广。至于有色素样品和其余氨基酸经C_{18}处理后含量变化情况，有待进一步探讨和研究。

参考文献

1. Munro HN and Young VR. Am J Clin Nutr 1978; 31:1608
2. Bollard FJ and Tomas FM. Clin Sci 1983; 65:290
3. Omsteel PT, et al. J Nutr 1978; 108:1877
4. Ito T, et al. Bull Agr Chem Soc Japan 1936; 12:204
5. Wuederly K. Helv Chin Acta 1934; 17: 523
6. 邹学满。关于活性炭吸附氨酸的研究。氨基酸杂志 1985；2：21～25
7. 吴祖道，等。常用的两种脱色剂对氨基酸定量分析的影响。氨基酸杂志 1986；1：28～30

（收稿：1988.3.26；修回：1989.2.25）

（上接205页）

5. 木村寿成。经口的膵外分泌机能检查法の临床的检讨。日本消化器病学会杂志 1979；76（2）：259
6. Myoen K. The usefulness of serum PABA measurement after BT-PABA administration in the diagnosis of chronic pancreatitis. Gastroenterologia Jap 1985; 20(5):457

（收稿：1988.3.23；修回：1989.1.23）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net