

表 4 不同填料的保护柱对柱效的影响

序号	保护柱填料(分析柱均为 YWG C ₁₈ φ5×150mm)	柱效(三次平均值)			
		苯	萘	联苯	菲
1	不带保护柱	7800	10200	10100	12000
2	保护柱长12mm 内填薄壳玻璃珠键合 C ₁₈ 25~37μ	8500	10000	11000	10500
3	保护柱长 10mm 内填 Lichrosorb C ₁₈ 40μ	7500	8900	9300	9300
4	保护柱长10mm 内填薄壳硅珠40~63μ	9400	8000	11000	12000

离柱柱效损失为5~6%，分开的连接型式柱效损失可达10%左右。

参 考 文 献

- (1) BIO-RAD Catalogue K 1985.
- (2) HPLC Macherey-Nagel 1984.
- (3) The Chrompack Guide to Chromatography 1984.

(收稿日期: 1987年4月29日)

A Novel Guard Column for High Performance Liquid Chromatography Yu Yinian, Li Yushan, Wu Lihua and Lu Peichang, Dalian Institute of Chemical Physics, Academia Sinica, Dalian Chromatographic R. & D. Centre of China

The novel guard column can help to extend the lifetime of an HPLC column without significant loss in plate count. HPLC column with the guard column is suitable for the analysis of biochemical samples, medicines, dyes and other macromolecular compounds.

高效液相色谱荧光检测法分析氨基酸

常建华 宋正华 郭治安

(西北大学化学系, 西安)

氨基酸的分析方法应用最普遍的是离子交换色谱法(1)。在-SH存在下, 邻苯二甲醛(OPA)与伯氨基在柱后反应产生荧光物质进行氨基酸的检测是一种有效的微量分析法(2)。而亚氨酸则须先用次氯酸钠氧化再与OPA反应。整个系统如图1所示。我们应用此法分析了谷物的总氨基酸和茶叶中的游离氨基酸含量。

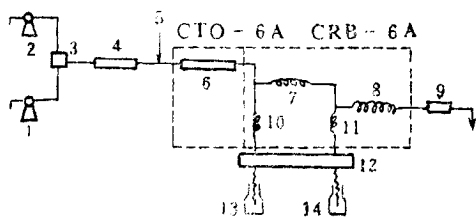


图 1 HPLC荧光检测氨基酸分析系统

- 1. A泵, 2. B泵, 3. 混合器, 4. 氨捕获柱, 5. 进样器,
- 6. 分析柱, 7. 反应管1, 8. 反应管2, 9. 荧光检测器,
- 10, 11. 阻尼管, 12. 蠕动泵, 13. 反应液A, 14. 反应液B.

实 验 部 分

(一) 仪器及试剂

1. 仪器 岛津 LC-6A HPLC仪; RF-535 荧光检测器; SCL-6A 主机控制器; CR-3A数据处理系统, 手动进样。

2. 柱子 分析柱是 Shim-pack ISC-07/S1504Li柱, 150×4mm i.d., 7μm 10%交联度的苯乙烯-二乙烯基苯聚合物的阳离子交换树脂。

3. 试剂 (1)流动相 A: 42.3g 二水柠檬酸锂, 210ml 甲基纤维素, 40ml 60% HClO, 蒸馏水稀释到3000ml, pH=2.65。(2)流动相 B: 28.2g 二水柠檬酸锂, 12.4g 硼酸, 用4mol/LiOH调pH=10.0, 稀释到 1000ml。(3)流动相 C: 4.2g LiOH 配成 500ml 水溶液, 清洗柱子用。(4)反应液 A: 先配缓冲液——无水 Na₂CO₃ 122.3g、硼酸 40.7g、硫酸钾 56.4g, 溶后稀释到3000ml, pH=10.3。在1000ml 缓冲液中加入7% NaClO 0.4ml 即是反应液 A。(5)反应液 B: 在450ml 缓冲液中加入400mg OPA, 7ml 乙醇、10% CH₃(CH₂)₁₁O(CH₂CH₂O)_nH 溶液 2ml、巯基乙醇 1ml。以上用日本片山化学工业株式会社的试剂。(6) 37 种氨基酸的标样, 出自日本和光纯药工业株式会社。

(二) 色谱条件 总流速 0.4ml/min; 梯度洗脱190分钟; 荧光检测器 λ_{ex}350nm, λ_{em}450nm; 柱温 38~58℃, 反应温度 55℃。梯度曲线见图 2。

(三) 样品的准备

1. 谷物水解样 在6mol/L HCl 中110℃封管水解24小时, 用流动相 A 稀释样品。

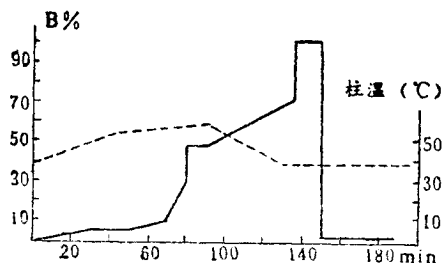


图2 溶剂及柱温梯度曲线
溶剂—— 柱温……

2. 茶叶样品 沸水泡三次, 滤液合并, 调 pH=2.65.

(四) 定量方法 用已知浓度的37种氨基酸混合标样作标准, 用绝对标准曲线法定量. 定量结果由CR-3A自动给出.

表1 茶叶中游离氨基酸含量

编号	名称	含量 (mg/g)			
		乌龙茶 (福建)	瓜片 (安徽绿茶)	珍珠茶 (浙江绿茶)	毛尖茶 (绿茶)
1	磷酸丝氨酸	0.231	0.229	0.256	0.336
2	氨基乙磷酸	0.206	0.140	0.139	0.131
3	磷酸乙醇胺	0.116	0.178	0.204	0.199
4	天冬氨酸	0.877	1.778	1.983	2.304
5	苏氨酸	0.163	0.233	0.013	0.597
6	丝氨酸	0.373	0.408	0.327	—
7	天冬酰胺	0.326	0.344	1.750	—
8	谷氨酸	0.877	1.664	1.742	—
9	脯氨酸	0.115	0.215	—	0.220
10	甘氨酸	0.041	0.050	—	0.027
11	丙氨酸	0.352	0.266	0.262	0.460
12	瓜氨酸	—	—	0.294	0.567
13	α-氨基丁酸	0.012	0.042	—	0.049
14	缬氨酸	0.149	0.183	0.025	0.030
15	胱氨酸	0.031	0.038	0.064	0.514
16	异亮氨酸	0.112	0.124	0.378	0.223
17	亮氨酸	0.091	0.168	0.354	0.300
18	酪氨酸	0.222	0.278	0.438	0.655
19	苯丙氨酸	0.307	0.286	0.551	0.321
20	β-丙氨酸	0.021	0.109	0.046	0.048
21	β-氨基异丁酸	—	—	0.010	—
22	γ-氨基丁酸	0.105	0.239	0.237	0.629
23	组氨酸	0.054	0.091	0.116	—
24	3-甲基组氨酸	0.137	—	—	0.919
25	1-甲基组氨酸	0.095	0.003	—	—
26	肌肽	—	0.067	—	0.450
27	羧基赖氨酸	—	—	0.031	0.299
28	赖氨酸	0.184	0.199	0.457	0.320
29	精氨酸	0.233	0.473	0.494	3.167
30	茶氨酸	2.849	7.308	4.407	16.650
	合计	8.279	15.113	14.578	29.415

分析结果

大米和茶叶中的氨基酸成分都有过报道(3-6). 本文应用离子交换色谱荧光检测法分析了黑米等四种谷物中氨基酸的总量和四种中国茶叶中的游离氨基酸, 确定了谷物中二十四种氨基酸和茶叶中三十种氨基酸. 黑米是中国特产, 其氨基酸总量约是一般大米的三倍, 是已有报道的米类中含量最高的.

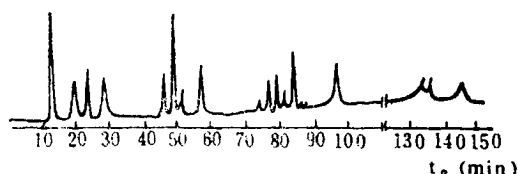


图3 黑米水解样的氨基酸色谱图

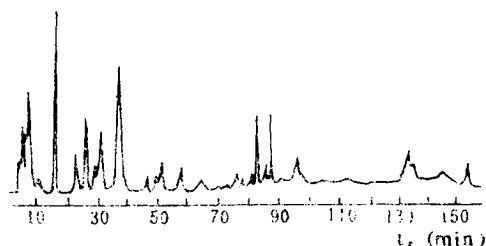


图4 乌龙茶游离氨基酸的色谱图

表2 谷物中氨基酸总含量

编号	名称	含量 (mg/g)			
		黑米 (陕西洋县)	江米 (宁夏)	大米 (桂花球)	小米 (陕北)
1	天冬氨酸	17.00	8.34	6.33	6.60
2	羧基脯氨酸	25.84	10.09	8.21	—
3	苏氨酸	8.22	3.51	3.19	3.60
4	丝氨酸	—	6.52	5.73	4.67
5	天冬酰胺	35.58	—	—	—
6	谷氨酸	—	—	—	19.99
7	脯氨酸	15.27	3.96	3.63	7.73
8	甘氨酸	0.80	4.34	3.81	3.23
9	丙氨酸	41.64	5.28	4.27	8.91
10	瓜氨酸	12.93	—	—	—
11	缬氨酸	11.13	4.93	4.50	4.99
12	蛋氨酸	—	8.97	1.02	2.24
13	胱氨酸	2.00	0.65	0.54	0.57
14	异亮氨酸	7.44	3.21	2.78	4.01
15	亮氨酸	15.93	6.82	5.97	12.45
16	酪氨酸	7.93	3.31	2.73	2.64
17	苯丙氨酸	11.70	5.21	4.50	6.00
18	丙氨酸	0.25	0.15	0.11	0.10
19	γ-氨基	0.31	0.13	0.13	0.14
20	组氨酸	5.82	2.23	1.86	2.36

(续表 2)

编号	名称	含量 (mg/g)			
		黑米(陕西洋县)	江米(宁夏)	大米(桂花球)	小米(陕北)
21	甲基组氨酸	—	0.25	—	—
22	肌肽	—	0.08	—	—
23	赖氨酸	7.87	2.12	3.03	2.60
24	精氨酸	15.88	—	6.08	3.59
	合计	243.54	80.10	68.42	96.42

参 考 文 献

(1) A. P. Willians, J. Chromatogr., 373, 175 (1986).
 (2) Y. Ishida et al., J. Chromatogr., 204, 143 (1981).
 (3) I. R. Hunder et al., J. Agr. Food Chem., 4, 874(1956); ref. CA, 51, 3855.
 (4) Keiichiro Sugimura et al., Shokuryo Kenkyusho Kenkyu Hokoku, 12, 109(1957); ref. CA, 52, 20714.

(5) Michiyo Tsujimura et al., Jissen Joshi Daigaku Kiyo, 4,5(1957); ref. CA, 53, 22605.
 (6) Nakagawa et al., Chagyo Kenkyu Hokoku, 50, 56(1979); ref. CA, 93, 44074.

(收稿日期: 1987年10月5日)

The Analysis of Amino Acids by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection, Chang Jianhua, Song Zhenhua and Guo Zhian, Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an

In the presence of -SH group-containing compounds, OPA (o-phthalaldehyde) reacts with a compound having -NH₂ group to produce a strongly fluorescent substance. If sodium hypochlorite is added, amino acids such as proline also react with OPA. This paper presents the analysis of amino acids in several Chinese grains and teas by HPLC with fluorescence detection. It was found that there are 50 amino acids in Chinese teas and 24 amino acids in grains, but the amino acids content in black rice is the highest in grains disclosed yet.

绿豆芽细胞中游离5'-UMP等的反相液相色谱分析

周春风 谢明高 石慧萍*

(中南民族学院化学系, 武汉)

生物体细胞中的游离核苷酸具有极其重要的生理功能, 若干年来对它们的研究一直相当活跃。近几年, 国外有人用离子交换色谱分离分析植物种子、叶片、块茎等组织中的核苷酸或核苷酸糖, 取得了令人满意的结果[1-3]。本文采用反相色谱, 利用单核苷酸在结构和在不同pH值范围其pK值的差异, 通过控制pH实现它们之间的分离。初步实验表明, 在绿豆芽的细胞中, 可能至少存在5'-UMP等若干种游离核苷酸。

实 验 方 法

(一) 主要仪器 日本岛津 LC-4A 高效液相色谱仪; SPD-2AS 紫外检测器 (日本岛津), C-R2AX 数据处理器 (日本岛津); WMK-02 型培养箱 (武昌实验仪器厂); 离心机, LD-6-4 型 (大连医疗器械厂); 微型玻璃细胞破碎器 (本系); pH计, PHS-2型, 上海产。

色谱柱: Shim pack CLC-ODS, φ6.0(i.d.)

×150mm (日本岛津); Nucleosil-C₁₈, φ4.6(i.d.) ×250mm (中国大连色谱技术研究开发中心)。

(二) 主要试剂 CH₃OH、KH₂PO₄、NH₄H₂PO₄、HClO₄ 皆为分析纯, 5'-UMP、Urd 为美国Sigma公司产品; 5'-AMP, 5'-CMP 为中国科学院上海生化所产; 5'-GMP、5'-IMP、3'(2')-GMP 为上海试剂二厂产。

(三) 样品处理 豆芽组织的处理方法在文献(1)的基础上作了一些改动。将20粒绿豆加适量自来水置于30℃的培养箱中, 48小时后即长成3cm左右长的豆芽。去壳去根须。然后将2g豆芽加2ml冰冷的3.5%的高氯酸后放入-28℃的冰库中, 待冻成冰渣样后取出研磨, 研至冰完全融化前再送入冰库, 再冻再研, 如是者三。之后将少量样品从研钵转移至微型玻璃细胞破碎器中, 在4℃以下充分匀浆, 之后迅速离心5分钟(4000转/min), 上

* 本系1987届毕业生, 现在湖南吉首州化验分析中心工作。