

离子色谱-直接电导法同时测定常见氨基酸和无机阳离子

焦扬^{1,2}, 杨鹏波², 李春^{1,3}, 丛威²

(1. 石河子大学食品学院, 新疆 石河子 832000; 2. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100190;
3. 北京理工大学生命科学与技术学院, 北京 100081)

摘要: 采用阳离子交换色谱-直接电导法测定部分常见氨基酸和无机阳离子, 以酒石酸和吡啶二羧酸溶液为淋洗液, 利用阳离子色谱系统等度洗脱, 通过对色谱分析条件的优化, 无需衍生化即可同时测定谷氨酸、丙氨酸、甲硫氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸及 Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} 和 Mg^{2+} . 选择 12 min 内出峰的 5 种氨基酸和 3 种无机阳离子进行定量分析, 结果表明, 其相对标准偏差 $\text{RSD}_{n=5} \leq 4.690\%$, 标准曲线的线性相关系数不低于 0.9984, 检出限在 0.27~10.34 mg/L 之间. 以建立的方法测定味精等电母液中的氨基酸, 结果显示, 氨基酸的回收率为 88.7%~107.2%.

关键词: 离子色谱; 直接电导检测器; 氨基酸; 无机阳离子

中图分类号: O658; TS20 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2009)06-1153-06

1 前言

氨基酸是一种重要的生命物质, 是生物体内许多重要生化反应的参与者, 并且是组成蛋白质的基础物质, 是生命延续过程必须摄取的成分, 也是生物化学、生化制药、生物工程中的重要研究对象^[1], 其分离、分析问题也日益受到人们的关注, 开发简便易行的氨基酸分析方法显得尤为重要.

早期的氨基酸分析方法一般采用经典的氨基酸分析仪, 混合氨基酸经阳离子交换色谱柱分离后, 使用柱后衍生法衍生, 然后采用可见光检测器测定. 但氨基酸分析仪只能用于分析氨基酸, 且价格昂贵, 分析时间相对较长, 限制了该技术的广泛应用. 目前较常用的方法是高效液相色谱法 (High-performance Liquid Chromatography, HPLC), 但大多数氨基酸缺乏天然的紫外或荧光吸收, 所以需要进行化学衍生使其具有相应波长的光吸收. HPLC 测定氨基酸过程中的衍生化分为柱前衍生化和柱后衍生化, 常用的柱前衍生剂有 2,4-二硝基氟苯 (Dinitrofluorobenzene, DNFB)、邻苯二甲醛 (O-phthalaldehyde, OPA)、二甲氨基萘磺酰氯 (Dansyl-Cl) 和异硫氰酸苯酯 (Phenyl Isothiocyanate, PITC) 等, 衍生化后可使用反相色谱柱进行分离, 采用紫外或荧光检测器即可定量测定^[2-5]. 柱后衍生法需要首先利用离子交换色谱柱将氨基酸分离, 然后采用衍生剂邻苯二甲醛 (OPA) 或茚三酮衍生后, 即可采用相应的检测器测定^[6]. 衍生化方法也有一定的不足之处, 如衍生产物的稳定性不够, 易受其他物质的干扰, 且衍生剂一般是剧毒物质,

衍生过程也延长了样品的测定时间^[7].

近年来, 出现了氨基酸的直接分析技术, 其原理是先利用离子交换把待测样品中的混合氨基酸分离, 然后使用电化学检测器或电导检测器进行测定^[8]. 电化学检测器有安培检测器、积分脉冲安培检测器等, 具有灵敏、准确、线性范围宽等优点, 但使用过程中氧化产物易吸附在电极表面, 使其钝化; 另外, 一些还原性物质 (如样品中葡萄糖等) 也可能对氨基酸的测定产生干扰^[9-11]. 此外, 蒸发光散射检测器 (Evaporative Light-scattering Detector, ELSD)、电导检测器 (Conductivity Detector, CD) 和核磁共振等用于氨基酸的检测也有相关的研究^[12]. Zhang 等^[13-15] 研究了低压离子色谱-电导检测器测定常见氨基酸中 10 种氨基酸的技术, 其最大的优点是简单、快速.

虽然采用电导检测器直接测定氨基酸已有研究, 但氨基酸与无机阳离子同时分析尚未见报道. 本工作采用阳离子交换色谱系统, 利用直接电导检测器同时测定样品中的部分常见氨基酸和无机阳离子, 并对其进行了定量分析.

2 实验

2.1 试剂与溶液

L-(+)-酒石酸 (优级纯)、吡啶-2,6-二羧酸 (GR) 和谷氨酸 (Glutamin Acid, Glu) 生化试剂 (BR) 购于国药集团化学试剂有限公司, 丝氨酸 (Serine, Ser)、半胱氨酸 (Cysteine, Cys)、苏氨酸 (Threonine, Thr)、甘氨酸 (Glycine, Gly)、丙氨酸 (Alanine, Ala)、酪氨酸 (Tyrosine, Tyr)、缬氨酸

(Valine, Val)、甲硫氨酸(Metionine, Met)、亮氨酸(Leucine, Leu)、异亮氨酸(Isoleucine, Ile)、苯丙氨酸(Phenylalanine, Phe)、赖氨酸(Lysine, Lys)和组氨酸(Histidine, His)购于北京欣经科生物技术有限公司, 氯化钠等无机盐(分析纯, AR)购于北京化工厂。

氨基酸和无机阳离子储备液的配制: 用电子天平准确称取各种氨基酸和无机阳离子的相应硫酸盐或盐酸盐(以氨基酸或相应的无机阳离子为准), 配制成浓度 1000 mg/L 的测定用储备液待用。实验所用各浓度标准液均由储备液稀释而成, 味精等电母液由梅花味精集团有限公司提供。实验中所用超纯水(电阻大于 18 MΩ)由厦门锐思捷科学仪器有限公司的纯水系统生产。

2.2 仪器与设备

761 型离子色谱仪(瑞士 Metrohm 公司), 配置有单元泵、电导检测器、自动进样阀、20 μL 定量环、Metrosep C2 150/4.0 阳离子色谱分析柱, 使用万通色谱软件 IC Net 控制仪器进行数据采集。AB104-N 电子天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司), 一次性 0.22 μm 针式过滤器(美瑞泰克科技有限公司)。

2.3 色谱条件

Metrosep C2 150/4.0 阳离子色谱分析柱, Metrosep RP Guard 保护柱, 电导检测器, 双钢环电极, 电导池体积为 1.5 μL。酒石酸和吡啶二羧酸的混合溶液为淋洗液, 流量 0.5 或 1.0 mL/min, 自动阀切换进样, 进样体积 20 μL, 测定温度为室温。

3 结果与讨论

3.1 常规淋洗液条件下各离子的保留时间

在色谱柱推荐的条件下, 使用 4.0 mmol/L 酒石酸+1.0 mmol/L 吡啶二羧酸溶液为淋洗液, 流速为 1.0 mL/min, 分别考察常见多种氨基酸和无机阳离子的保留时间, 结果见表 1。

表 1 常规淋洗液下各氨基酸和无机阳离子的保留时间

Table 1 Retention time of amino acids and inorganic cations

Ion	Retention time (min)	Ion	Retention time (min)
Glu	2.41	Ile	4.73
Ser	2.46	Na ⁺	5.22
Cys	2.55	Phe	5.84
Thr	2.59	NH ₄ ⁺	5.86
Gly	2.87	K ⁺	8.02
Ala	2.99	Ca ²⁺	11.61
Tyr	3.66	Lys	13.15
Val	3.66	His	13.43
Met	3.96	Mg ²⁺	17.76
Leu	4.68		

由表 1 可见, (1) Glu, Cys, Thr, Ser; (2) Ala, Gly; (3) Met, Tyr, Val; (4) Leu, Ile, Na⁺; (5) Phe, NH₄⁺; (6) Lys, His

六组氨基酸和无机阳离子的保留时间各自较为接近, 采用常规色谱分离条件难以分离, 需进行色谱条件优化。

3.2 淋洗液优化及氨基酸和无机阳离子同时分析探索

3.2.1 流速的影响

选择第(3)组中的 Tyr 和 Met 为考察对象, 在淋洗液为 3.0 mmol/L 酒石酸+2%(φ)乙腈条件下, 分别考察了淋洗液流量为 0.5 和 1.0 mL/min 对这 2 种氨基酸分离度的影响。

分离度 R_s 是表示 2 种洗脱曲线相邻的溶质相互分离的程度, 是 2 个相邻洗脱峰之间的距离与 2 个峰宽的代数平均值之比, 可用下式^[16]计算:

$$R_s = \frac{1.18(t_2 - t_1)}{W_{(1/2)1} + W_{(1/2)2}}, \quad (1)$$

式中, t_1 和 t_2 分别表示 2 个洗脱峰的保留时间, $W_{(1/2)1}$ 和 $W_{(1/2)2}$ 分别表示 2 个洗脱峰的半峰宽。

由实验可得, 在淋洗液流量为 0.5 mL/min 的条件下, Tyr 和 Met 的 R_s 为 0.430, 而在 1.0 mL/min 流量下 R_s 为 0.415。由此可知, 小流量有助于分离度的提高, 但仍然不能实现较好的分离。

3.2.2 有机溶剂的影响

同样选择 Tyr 和 Met 为分离对象, 分别考察了淋洗液 I(3.0 mmol/L 酒石酸溶液)和淋洗液 II[3.0 mmol/L 酒石酸+2%(φ)乙腈]在流速为 0.5 mL/min 条件下对这 2 种氨基酸分离度的影响。结果表明, 加入乙腈后各氨基酸的保留时间均有所缩短, Tyr 和 Met 的保留时间分别由 7.46 和 7.85 min 变为 7.27 和 7.01 min。淋洗液 I 的 R_s 为 0.536, 而淋洗液 II 的 R_s 为 0.430。由此可见, 有机溶剂乙腈的加入对 Tyr 和 Met 的分离没有明显的作用。

3.2.3 淋洗液中酒石酸和吡啶二羧酸浓度的影响

根据表 1 的数据, 选择 Phe 和 NH₄⁺, Leu 和 Na⁺ 及 Met 和 Tyr 三组在常规色谱条件下难以分离的离子为考察对象, 采用常规淋洗液 a(4.0 mmol/L 酒石酸+1.0 mmol/L 吡啶二羧酸溶液)和淋洗液 I(3.0 mmol/L 酒石酸溶液), 设置流量为 1.0 mL/min, 研究了淋洗液浓度对氨基酸和无机阳离子分离度的影响, 根据测定结果计算所得各组离子的分离度见表 2。

表 2 淋洗液浓度对各组离子分离度的影响

Table 2 Effect of concentration of eluent on the separation of amino acids and inorganic cations

Ion	Eluent a	Eluent I
Phe and NH ₄ ⁺	0.05	4.58
Leu and Na ⁺	0.87	5.65
Met and Tyr	0.78	0.63

由表 2 可知, 改变淋洗液的浓度, 采用淋洗液 I, 氨基酸和无机阳离子的分离度明显增大, 两者可达到有

效分离, 如 Phe 和 NH_4^+ 的分离, 但对 2 种氨基酸的分离没有较明显的作用, 如 Met 和 Tyr.

3.2.4 同时测定部分常见氨基酸和无机阳离子条件确定

根据上述实验结果, 选择能通过改变淋洗液浓度进行分离的几种物质进行同时测定实验, 所选氨基酸分别是 Glu, Ala, Met, Leu, Phe 和 Lys 六种, 选择的无机阳离子分别是 Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 五种. 实验共选择了 7 个浓度的淋洗液对这 11 种物质进行分离. 淋洗液的配比和结果的简单说明见表 3.

表 3 不同浓度淋洗液条件下部分氨基酸和无机阳离子的分离结果

Table 3 Brief description of results under different eluent concentrations

Eluent	Concentration (mmol/L)		Description of result
	L-(+)-Tartaric acid	Pyridine-2,6-dicarboxylic acid	
1	3.5	1.0	The peak of Phe immersed in the peaks of Na^+ and NH_4^+
2	3.0	0.5	The peaks of Phe and Na^+ largely overlapped
3	2.5	1.0	The peaks of Phe and Na^+ completely overlapped
4	2.0	1.0	The peaks of Phe and Na^+ , Ca^{2+} and Lys largely overlapped
5	1.5	1.1	The peaks of Phe and Na^+ partly overlapped
6	1.3	1.1	Completely separated
7	1.4	1.1	The peaks of Phe and Na^+ partly overlapped

由表 3 可知, 淋洗液的最佳浓度为 1.3 mmol/L 酒石酸+1.1 mmol/L 吡啶二羧酸, 基本可以实现 11 种离子的分离, 该条件下的色谱图如图 1 所示. 由此, 以下的定量分析均选择该浓度的淋洗液.

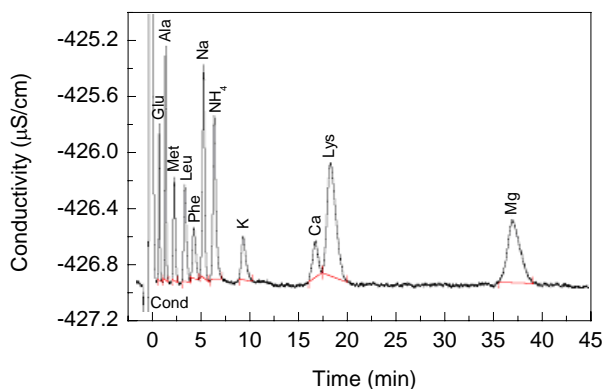


图 1 部分常见氨基酸和无机阳离子的色谱图

Fig.1 Chromatogram of amino acids and inorganic cations

3.3 分离机理的简单分析

离子色谱的选择性与被测离子与色谱柱固定相的

功能基团之间的相互作用力密切相关, 这些作用力主要有静电作用、疏水作用和氢键等^[17]. 由此认为, 在氨基酸与无机阳离子采用阳离子色谱系统同时测定的过程中, 静电作用是影响各离子出峰顺序的主要因素, 分析如下:

首先, 氨基酸所处的溶液的 pH 与其等电点相差越大, 其所带的电荷量越多. 用于分离部分常见氨基酸和无机阳离子的淋洗液的 pH 约为 3.10, 因此在该条件下氨基酸的保留时间顺序应为: 酸性氨基酸<中性氨基酸<碱性氨基酸; 其次, 中性氨基酸(Ala, Met, Leu 和 Phe)可视为一元弱碱, 同理碱性氨基酸 Lys 可看作二元弱碱, 它们在溶液中是不完全解离的, 因此在同等条件下, 与一元、二元无机强碱相比, 其带电量较少^[1], 与色谱柱固定相之间的静电作用力较弱; 碱性氨基酸 Lys 由于其弱碱性, 在淋洗液条件下不完全解离, 因此分子平均带电荷量应在 1~2 之间. 综合以上原因, 氨基酸和无机阳离子总体的保留时间顺序应为: 酸性氨基酸 Glu<中性氨基酸(Ala, Met, Leu 和 Phe)<单价无机阳离子(Na^+ , NH_4^+ 和 K^+)<碱性氨基酸 Lys<二价无机阳离子(Ca^{2+} 和 Mg^{2+}).

另外, 无机阳离子电荷数相同时, 离子半径越小, 则水合半径越大, 与色谱柱固定相上带负电基团的作用力越小, 其保留时间就会越短, 因此单价无机阳离子的出峰顺序为 Na^+ , NH_4^+ 和 K^+ ; 再者, 由于淋洗液中含有吡啶二羧酸, 能与 Ca^{2+} 形成螯合物, 其半径比游离的 Ca^{2+} 大, 所以 Ca^{2+} 先于 Lys 和 Mg^{2+} 出峰. 同样可以把这一规律用于 4 种中性氨基酸(Ala, Met, Leu 和 Phe)出峰顺序的分析. 从结构上来说, 实验的 4 种中性氨基酸 R 侧链不同, Ala, Met, Leu 和 Phe 的 R 侧链的大小分别是甲基<甲硫基乙基<异丁基<苯甲基^[18], 由此可以推断其保留时间的顺序应为 Ala<Met<Leu<Phe.

综合以上分析, 可以简单解释在部分常见氨基酸和无机阳离子同时分析中, 其出峰顺序是 Glu, Ala, Met, Leu, Phe, Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} , Lys, Mg^{2+} 的原因.

3.4 标准曲线、检出限及相对标准偏差

采用表 3 中淋洗液 6, 选取前 12 min 出峰的 8 种物质作混合标准曲线, 其中含有 5 种氨基酸 Glu, Ala, Met, Leu 和 Phe, 5 个水平分别为 20, 40, 60, 80, 100 mg/L, 还有 3 种无机阳离子 Na^+ , NH_4^+ 和 K^+ , 5 个水平分别为 1.0, 2.0, 5.0, 10.0, 20.0 mg/L. 图 2 是标准曲线中第 5 个水平的色谱图(图中峰上数字为浓度, mg/L). 图 3 是标准曲线测定中得到的被测物浓度与其对应的峰面积关系图, 对其浓度和峰面积回归得到的线性方程及其相关系数见表 4.

表 4 所示的 8 种离子线性相关系数均在 0.998 以上,

线性关系较好. 由 5 个水平标线的测定结果计算得到相对标准偏差(RSD)及以 3 倍信噪比(S/N)计算得出的各被测物质的检出限如表 4 所示. 由表中数据可见, 8 种被

测物的相对标准偏差均在 5% 以下. 氨基酸的检测限相对较高, 在 2~10 mg/L 左右, 而无机阳离子的检测限均在 1.0 mg/L 以下.

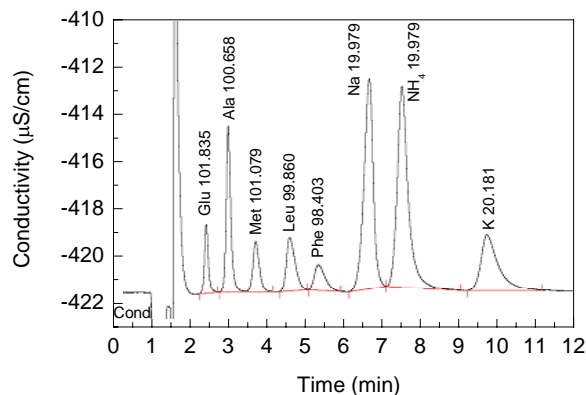


图 2 部分常见氨基酸和无机阳离子混合标液第 5 个水平的色谱图

Fig.2 Chromatogram of the fifth level of blended standard solution

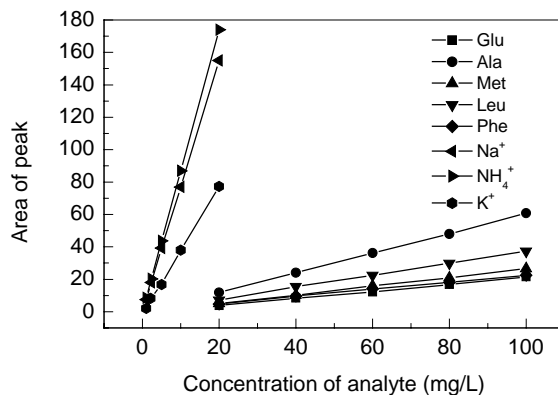


图 3 标准曲线测定中浓度与峰面积的关系

Fig.3 Relationship between concentration and corresponding area of peaks

表 4 回归分析、检出限和相对标准偏差

Table 4 The results of standard curves, detection limits and relative standard deviation (RSD)

Analyte	Regression equation	Correlation coefficient, R^2	Detection limit (mg/L)	RSD _{n=5} (%)
Glu	$C=4.5685A+2.7447$	0.9990	4.21	1.941
Ala	$C=1.6412A+0.657$	0.9998	1.63	0.805
Met	$C=3.7095A+1.8442$	0.9996	5.55	1.219
Leu	$C=2.6645A+0.0939$	0.9992	5.14	1.768
Phe	$C=4.5536A-2.6014$	0.9989	10.34	2.020
Na^+	$C=0.1303A-0.1288$	0.9996	0.27	2.285
NH_4^+	$C=0.1157A-0.1118$	0.9997	0.29	2.106
K^+	$C=0.2547A+0.3557$	0.9984	0.86	4.690

Note: A is the area of peaks, and C concentration (mg/L) in regression equation.

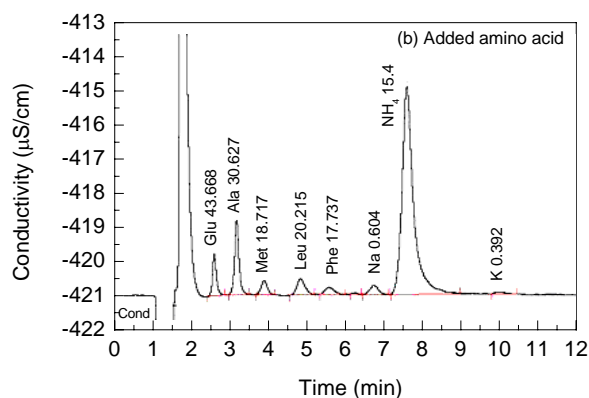
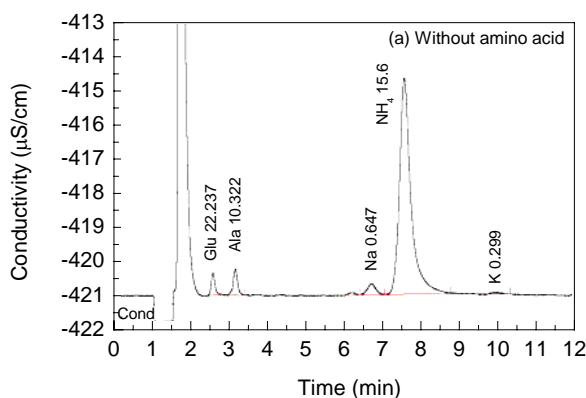


图 4 加与不加氨基酸标品的味精等电母液(稀释 1000 倍)的色谱图

Fig.4 Chromatograms of diluted isoelectric supernant of monosodium glutamate with and without amino acid (1000-fold diluted)

3.5 实际样品的分析结果

采用以上确定的最佳色谱条件, 取一定量味精等电母液, 使用高纯水稀释 1000 倍, 用一次性 0.22 μm 针式过滤器过滤后进行分析, 所得色谱图见图 4(a). 根据色谱图的保留时间和标准曲线, 可以确定味精等电母液

中主要的氨基酸和无机阳离子是 Glu, Ala, Na^+ , NH_4^+ 和 K^+ , 其各自浓度(mg/L, 图中峰上数字)与稀释倍数相乘即为味精等电母液中相应离子的真实浓度.

真实样品中氨基酸回收率的测定方法: 取一定量味精等电母液, 添加一定量 5 种氨基酸的标准样品, 稀释

后用 0.22 μm 针式过滤器过滤后进行分析, 其色谱图见图 4(b), 实验结果见表 5. 由表中数据可见, 添加的 5 种氨基酸的回收率在 88.7%~107.2% 之间.

表 5 味精等电母液中(稀释液)部分氨基酸的回收率

Table 5 Recovery rates of some amino acids in isoelectric supernatant of monosodium glutamate

Amino acid	Concentration of real diluted sample (mg/L)		Actual added value (mg/L)	Added value of calculation (mg/L)	Recovery rate (%)
	Without amino acid	Added amino acid			
Glu	22.237	43.668	21.413	20	107.2
Ala	10.322	30.627	20.305	20	101.5
Met	0	18.717	18.717	20	93.6
Leu	0	20.215	20.215	20	101.1
Phe	0	17.737	17.737	20	88.7

4 结论

使用普通离子色谱分析柱和电导检测器, 不经衍生化, 对 6 种氨基酸和 5 种无机阳离子进行分析. 由研究结果得出以下结论:

(1) 通过淋洗液优化, 确定 1.3 mmol/L 酒石酸和 1.1 mmol/L 吡啶二羧酸的混合溶液为淋洗液, 可使 11 种物质的离子在阳离子色谱柱内进行分离, 并简单分析了其分离机理.

(2) 对 12 min 前出峰的 8 种物质进行了定量分析, 结果表明, 定量测定的相对标准偏差 $RSD_{n=5} \leq 4.690\%$; 标准曲线的线性相关系数 $R^2 > 0.9984$. 这几种氨基酸和无机阳离子的检出限(20 μL 进样, 信噪比 3)在 0.27~10.34 mg/L 之间.

(3) 使用上述确定的色谱条件对味精等电母液及其中的氨基酸的添加回收率进行了测定, 其回收率在 88.7%~107.2% 之间.

参考文献:

- [1] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学, 第 3 版 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 122, 133-135.
- [2] Lui H, Worthen H G. Measurement of Free Amino Acid Levels in Ultrafiltrates of Blood Plasma by High-performance Liquid Chromatography with Automatic Pre-column Derivatization [J]. J. Chromatogr.: Biomed. Appl., 1992, 579(2): 215-224.
- [3] 王棘, 站祥友, 腾艳坤, 等. DNFB 柱前衍生化 RP-HPLC 法测定氨基酸的氨基酸含量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(6): 428-430.
- [4] Marianne K, Heiner E. Derivatization of Peptides for Their Determination by Chromatographic Methods [J]. Anal. Chim. Acta, 1997, 352(1/3): 31-59.
- [5] Janssen P S L, Van Nispen J W, Melgers P A T A, et al. HPLC Analysis of Phenylthiocarbamyl (PTC) Amino Acids [J]. Chromatographia, 1986, 22(7/12): 345-350.
- [6] Petritis K, De Person M, Elfakir C, et al. Validation of an Ion-interaction Chromatography Analysis of Underivatized Amino Acids in Commercial Preparation Using Evaporative Light Scattering Detection [J]. Chromatographia, 2004, 60(5/6): 293-298.
- [7] Xu J M, Wang Y P, Xian Y Z, et al. Preparation of Multiwall Carbon Nanotubes Film Modified Electrode and Its Application to Simultaneous Determination of Oxidizable Amino Acids in Ion Chromatography [J]. Talanta, 2003, 60: 1123-1130.
- [8] 牟世芬, 丁永盛. 氨基酸直接分析法原理及应用 [J]. 现代科学仪器, 2001, 11(2): 24-27.
- [9] 凌艳艳, 朱岩, 施青红, 等. 离子色谱-积分安培检测法测定气溶胶中的氨基酸 [J]. 分析化学, 2004, 32(9): 1267.
- [10] 徐继明, 宋远志, 金利通. 多壁碳纳米电极用于离子色谱分离点活性氨基酸的安培检测 [J]. 分析实验室, 2004, 23(3): 8-11.
- [11] Ding Y S, Yu H, Mou S F. Off-line Elimination of Carbohydrates for Amino Acid Analysis of Samples with High Carbohydrate Content by Ion-exchange Chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 2003, 997: 155-160.
- [12] Petritis K, Elfakir C, Dreux M. A Comparative Study of Commercial Liquid Chromatographic Detectors for the Analysis of Underivatized Amino Acids [J]. J. Chromatogr. A, 2002, 961: 9-21.
- [13] Zhang X S, Jiang X P. Low Pressure Ion Chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 1994, 671: 23-28.
- [14] Zhang X S, Jiang X P. Study on Separation Mechanism and Elution System of Low Pressure Ion Chromatographic Column [J]. Am. Lab., 1997, 29: 28-29.
- [15] Dai H, Zhang X S, Wang Z L, et al. Amino Acid Analysis by Low Pressure Ion Chromatography with Conductivity Detection [J]. J. Soc. Leather Technol. Chem., 2004, 88: 197-201.
- [16] 孙彦. 生物分离工程 [M]. 北京: 化学工业出版社, 1998. 169-170.
- [17] Fritz J S. Factors Affecting Selectivity in Ion Chromatography [J]. J. Chromatogr. A, 2005, 1085: 8-17.
- [18] 邢其毅, 徐瑞秋, 周政, 等. 基础有机化学, 第 2 版 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 48, 377.

Simultaneous Determination of Amino Acids and Inorganic Cations by Ion Chromatography with Direct Conductivity Detection

JIAO Yang^{1,2}, YANG Peng-bo², LI Chun^{1,3}, CONG Wei²

(1. Food College, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China;

2. State Key Lab. Biochem. Eng., Inst. Process Eng., Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China;

3. College of Life Science and Technology, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China)

Abstract: A simple, rapid and accurate method for simultaneous determination of six amino acids (glutamic acid, alanine, methionine, leucine, phenylalanine and lysine) and five inorganic cations (Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+}) was developed. The quantitative determination of these ions was accomplished by ion chromatography with direct conductivity detection based on their ionization in acidic medium without chemical suppression and derivatization. In a single chromatographic run, the five amino acids (glutamic acid, alanine, methionine, leucine and phenylalanine) and three inorganic cations (Na^+ , NH_4^+ and K^+) were separated and determined within 12 min. The relative standard deviation (RSD, $n=5$) was less than 4.690%. The detection limits calculated were in the range from 0.27 to 10.34 mg/L. All the correlation coefficients (R^2) of these ions were not less than 0.9984. The recovery rates of some amino acids in isoelectric supernatant of monosodium glutamate were in the range from 88.7% to 107.2%.

Key words: ion chromatography; direct conductivity detection; amino acid; inorganic cation