

文章编号: 1001-7453(1999)02-0085-04

# 以 H835-50 氨基酸分析仪测定肌氨酸

王树英<sup>1</sup>, 施汉堂<sup>2</sup>, 许虎君<sup>1</sup>

(1. 无锡轻工大学, 江苏无锡 214036; 2. 张家港市技术监督所, 江苏张家港 215601)

摘要: 研究了用氨基酸分析仪测定肌氨酸含量时的最大吸收波长、最佳浓度等, 验证了分析短程序的可靠性并用于实践, 为高转化率合成 N-酰基肌氨酸钠提供准确的测定结果。

关键词: 肌氨酸; 最佳浓度; 短程序

中图分类号: O652.2 文献标识码: A

肌氨酸又名甲基甘氨酸, 其结构式为  $\text{CH}_3\text{NHCH}_2\text{COOH}$ , 是一种合成氨基酸。该氨基酸可合成多种衍生产品。由肌氨酸合成的 N-酰基肌氨酸盐, 是一类具有许多独特性能的阴离子表面活性剂。长期以来, 在肌氨酸及其衍生产品的生产中, 肌氨酸的准确快速定量分析因受合成过程中的诸多因素的影响而一直未能解决。生产中只能采用结晶法大致核算其得率和产品的含量, 造成较多的浪费和生产上的不便。为此, 作者对肌氨酸的准确定量分析进行了较详尽的研究, 得到了较理想的结果, 并对实际生产具有积极的指导意义。

## 1 合成反应

肌氨酸合成反应的正反应<sup>[1, 2]</sup>:



肌氨酸合成反应的副反应<sup>[1, 2]</sup>:



## 2 实验

### 2.1 仪器与试剂

H835-50 氨基酸分析仪。

离子交换柱 2.6 mm × 150 mm, 树脂 2619 号, 柱温 53℃。

缓冲液 流速 0.225 mL/min, 柱压 800~1300 Pa。

茚三酮 流速 0.3 mL/min, 柱压 150~300 Pa。

岛津-240 紫外分光光度计。

收稿日期: 1998-11-27; 修订日期: 1999-03-22

作者简介: 王树英 (1960 年 9 月生), 女, 山东荣城人, 工学学士, 工程师。

SIGMA公司产肌氨酸标样.

## 2.2 最大吸收波长的测定

肌氨酸是亚氨基氨基酸,因此作者将肌氨酸固体加入茚三酮溶液,在 100℃水浴反应后,用紫外分光光度计测定<sup>[3]</sup>其最大吸收波长(见图 1).可见肌氨酸与茚三酮反应生成的紫色化合物的最大吸收波长在 570 nm.

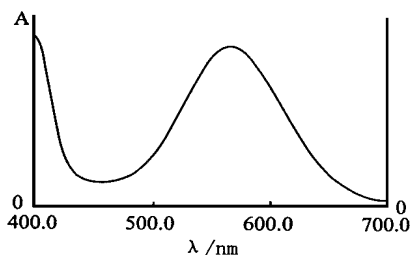


图 1 肌氨酸紫外吸收光谱图

## 2.3 分析短程序及验证

见表 1.

表 1 肌氨酸分析短程序

步骤	文件码	操作码	时间 /min	步骤	文件码	操作码	时间 /min
1	1	0	0	5	1	6	15
2	2	11	0	6	4	2	20
3	3	53	0	7	1	1	25
4	4	1	1	8	6	2	30

注:表号 26-S-3-E-25-S-3-E, I通道 0-1800.

**2.3.1 标样的配制** 肌氨酸标样在 100℃烘箱中烘至恒重后,精确称取 17.8 mg溶解并定容至 50 mL,标样浓度为 4 nmol/L.

**2.3.2 线性范围实验** 用 4 nmol/L的肌氨酸标准溶液,稀释成不同的倍数使其每 50 $\mu$ L的肌氨酸含量分别为 4, 5, 8, 10, 20, 25 nmol后,上机测定.

**2.3.3 回收实验** 将已知浓度的肌氨酸样品溶液和已知浓度的肌氨酸标准溶液等体积混合均匀,每个样品连续上机测定 2次.

**2.3.4 峰面积和峰位相对标准偏差 (RSD)实验<sup>[4]</sup>** 根据仪器说明书的要求<sup>[5]</sup>,用同一浓度的肌氨酸标准溶液,连续上机测定 5次.

## 2.4 样品溶液的分析

用经过验证的分析短程序,测定合成反应液中的肌氨酸含量.测定前,通过加热的方法尽量除去反应液中残留的一甲胺,以减少其对离子交换柱的污染并保证基线稳定.

## 3 结果与讨论

### 3.1 肌氨酸分析浓度范围的确定

为确定肌氨酸的最佳上机分析浓度范围,测定了不同浓度下肌氨酸的峰面积.结果见图 2.从峰面积曲线,回归方程和相关系数可知,用氨基酸分析仪测定肌氨酸具有良好的线性关系,测定值均在置信区间<sup>[5]</sup>,说明了用该分析方法测得的结果的可信度大于 95%以上,符合仪器分析要求.从表 2可以看出当肌氨酸进样量低于 5 nmol时,转换因子 (FACT)不稳定;当肌氨酸浓度在 8~ 15 nmol时,转换因子稳定.从图 3可以看出肌氨酸与其结构相近的甘氨酸在氨基酸分析仪上的灵敏度相差较大,因而转换因子较其它氨基酸高(最大吸收波长在 570 nm的其它氨基酸的转换因子为 1.8~ 2.4),这与其结构中的亚氨基直接有关(脯氨酸的转换因子为 9.8~ 10.5).

表 2 不同浓度的肌氨酸标样测定结果

肌氨酸进样量 /nmol	峰面积	转换因子	保留时间
4	689	5.807	12.69
5	870	5.747	12.68
8	1252	6.389	12.68
10	1542	6.486	12.72
15	2317	6.473	12.70
20	3018	6.626	12.69

回归方程式  $y = 149.59x + 53.238, R^2 = 0.9991$ .

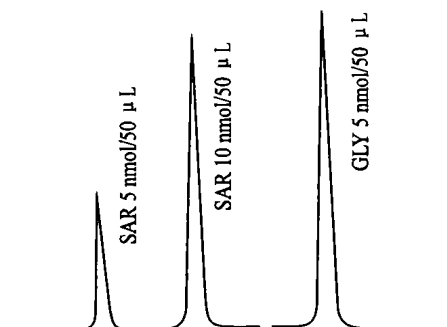


图 2 肌氨酸峰面积曲线

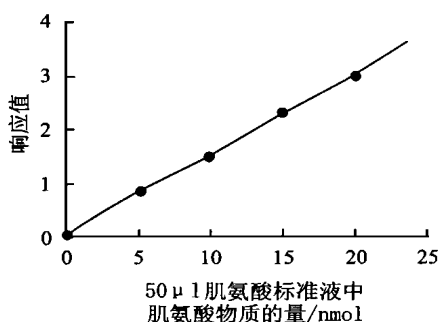


图 3 肌氨酸 (SAR) 甘氨酸 (GLY) 分析图谱

### 3.2 肌氨酸的回收

从肌氨酸的回收实验结果 (表 3) 中可以看出, 用肌氨酸分析短程序测定肌氨酸含量的回收率达到仪器分析所要求的 95% 以上, 证明了该程序的可靠性。

### 3.3 峰面积和峰位相对标准偏差

峰面积和峰位相对标准偏差实验测定结果见表 4。根据测定结果计算得出峰保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.24% 及 1.12%, 均符合仪器的规定值 1% 和 2.5%。说明用氨基酸分析仪并采用短程序进行肌氨酸分析, 仪器本身的系统误差很小, 不影响测定的精确度。

3.4 反应副产物对肌氨酸定量分析的影响

从合成反应的副反应可以看出, 反应产物不能与茚三酮反应, 因而对肌氨酸的定量无干扰<sup>[6]</sup>。

### 3.5 合成反应液的分析

用已经验证的分析短程序测定 5 批合成反应液中的肌氨酸含量, 结果见表 5。

表 4 用 0.2 nmol/L 的标样重复进样 5 次测定结果

编号	峰面积	峰保留时间
1	1546	12.68
2	1555	12.69
3	1539	12.71
4	1548	12.68
5	1552	12.66

表 3 肌氨酸回收实验结果

编号	标样加入量 <sup>1)</sup>	样品加入量 <sup>2)</sup>	混合样测定值 / nmol	回收率 / %
1	2 mL	2 mL	11.288	97.12
2	2 mL	2 mL	11.479	98.76
3	2 mL	2 mL	12.645	98.54
4	2 mL	2 mL	12.593	98.14
5	2 mL	2 mL	15.980	100.1
6	2 mL	2 mL	15.800	98.96

注: 1) 浓度为 0.3 nmol/L;  
2) ①、② 浓度为 0.1649 nmol/L; ③、④ 浓度为 0.2133 nmol/L; ⑤、⑥ 浓度为 0.3386 nmol/L。

表 5 合成反应液的分析结果

编号	峰面积	肌氨酸质量浓度 / (g/dL)
1	2153	15.53
2	1641	11.84
3	1999	14.42
4	2133	13.56
5	2185	15.77

## 4 结 语

通过以上实验, 证明了用 H835-50 氨基酸分析仪并采用短程序测定反应体系中的肌氨酸含量时, 各项指标均达到仪器分析要求, 说明了该分析方法的可靠性, 从而解决了合成反应中肌氨酸的快速准确定量这一难题。

## 参考文献:

- [1] HART J R. N-Acyl Sarcosine Surfactants [J]. *Cosm Toil*, 1979, 94( 5): 74- 76
- [2] 泉美治著. 氨基酸工业合成与利用 [M]. 王思达, 蔡英杰译. 台南: 正言出版社, 1977. 226- 230
- [3] 徐秀璋. 蛋白质顺序分析技术 [M]. 北京: 科学出版社, 1988 28- 32
- [4] 王令生. 化学分析计算手册 [M]. 北京: 水利电力出版社, 1992. 445~ 450
- [5] 王叔淳. 食品分析数理统计与质量控制 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 50~ 60
- [6] 邢其毅, 徐瑞秋, 周政等. 基础有机化学下册 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1994. 1106- 1107

## Studies on the Method in Analysis of Sarcosine by H835-50 Amino Acid Analyzer

WANG Shu-ying<sup>1</sup>, SHI Han-tang<sup>2</sup>, XU Hu-jun<sup>1</sup>

( 1. Wuxi University of Light Industry, Jiangsu Wuxi 214036; 2. Zhangjiagang Technical Superior Institute, Jiangsu Zhangjiagang 215601)

**Abstract** The maximum absorbing wavelength, the short analyzing program and the optimal analyzing concentration for analyzing sarcosine by H835-50 Amino Acid Analyzer were studied. The reliability of the short analyzing program for analyzing sarcosine was verified. Using the short analyzing program can provide the accurate result promptly for the synthesis of N-acetylsarcosine .

**Key words** sarcosine ; optimal concentration ; short program