



氨基酸 (amino acid) 溶液配制

前言

SCION Artemis 6000氨基酸分析仪是氨基酸和胺分析的高灵敏分析仪。SCION公开缓冲盐配方，提供配方内所需要的关键化学试剂如茚三酮、柠檬酸等，用户可根据实际情况自行配制缓冲液使用，以节约使用成本。本期我们就来讲一讲在配置过程中需要注意的问题以及配置的一些详细内容。

Abstract

本文主要分享了用户在配制溶液过程中需要注意的一些问题以及配置溶液的具体细则。

Author :

天美仪拓实验室设备(上海)有限公司 色谱市场部

由于SCION Artemis 6000 系统把氨基酸的测定主要分为三类，即Na⁺系统（蛋白水解）、Li⁺系统（生理体液）、K⁺系统（生物胺），本期就从这三个方面阐述溶液配制的一些内容。若要避免分析工作中遇到麻烦，首先必须要求所用的化学试剂有足够的纯度。同样，在准备试剂时必须正确的选择、储藏和处理。所以对于以下几点大家要尤为注意：

- 1、所有的化学试剂必须用分析级（以上）或经过特殊纯化的；
- 2、被储存在塑料容器中的化学试剂决不能靠近氨盐或氨液；
- 3、订购的化学试剂应该只用于氨基酸分析仪，而不能用作其他目的；
- 4、绝不要在处理氨的地方准备试剂；
- 5、只使用小心清洗过的玻璃器具，绝不要碰到玻璃器具内部(因为皮肤上有大量游离态氨基酸)；
- 6、要过滤试剂，只能使用薄膜过滤器(0.45 μm 孔径)或仔细清理过的玻璃过滤器。



钠盐缓冲液一般用于蛋白质和缩氨酸（组合态的氨基酸）水解产物的分析。

下图是Na⁺系统常见溶液的配置表

	分子量	缓冲A1	缓冲B1	再生液	样品稀释液
pH值		3.45	10.85		2.2
当量浓度		0.12	0.2	0.5	0.12
柠檬酸三钠(二水)	294.07	11.8 g	19.6 g		11.8 g
NaOH	40.01	*pH	3.1g *pH	20.0 g	*pH
柠檬酸	192.12	6.0 g			6.0 g
硼酸	61.83		5.0 g		
无水乙醇(或甲醇)		70 ml			
HCl 37%		5.6 ml *pH	*pH		10.4 ml *pH
EDTA				0.2	
辛酸 (装瓶后加)		0.1 ml	0.1 ml		0.1 ml
总体积		1L	1L	1L	1L
密封保质期		12个月	12个月	6个月	12个月

注：1、“*pH”表示可用此成份调解pH值

- 2、如果有闲置的试剂瓶（例如标准方法下的“C”瓶），只需要装一点5%-10%甲醇水。为避免生菌，建议两三个月更换一次。
- 3、EDTA用于络合重金属，不加不影响试剂使用
- 4、辛酸是抑菌剂，过滤装瓶后加入，延长试剂存放期

水解产物测定需要两种缓冲液(A和B)和再生液

①缓冲液A: 用于从天门冬氨酸（Asp）到胱氨酸（Cys）的分离。分析胱氨酸，缓冲液A保持正确的pH值十分重要。与其他所有的氨基酸不同，胱氨酸对pH 值的变化非常的敏感。因此，当提高pH值时分离会加快。反之当降低pH值时则分离会减慢。柱温箱的温度会严重地影响谷氨酸的位置。 增加温度会使谷氨酸较早被分离，而较低的温度则会延缓分离时间。醇（乙醇或甲醇）的含量适当增加，可以改善苏氨酸-丝氨酸的分离，但同时甘氨酸-丙氨酸的分离则可能变差。

② 缓冲液 A/缓冲液 B： 混合缓冲液A和B用于从缬氨酸（Val） 到苯丙氨酸（Phe）的分离

③ 缓冲液 B： 用于从组氨酸（His） 到精氨酸（Arg） 的分离这个区域的分离相对来说不太灵敏。 pH值的有限变化产生不同的峰停留时间；不过，通常它不会引起氨基酸分离的恶化。

④ 再生液(D)：再生液是为了在分析之后对柱子进行再生。再生之后,柱子必须用缓冲液A来平衡。

锂盐缓冲液一般用于生理体液中的游离态氨基酸分析。
谷氨酰胺和天冬酰胺的分离只能用锂盐缓冲液来分离，而不能用钠盐缓冲液。

下图是Li⁺系统常见溶液的配置表

	分子量	缓冲A	缓冲 B	缓冲 C	再生液	样品稀释液
pH值		2.9	4.2	8		2.2
当量浓度		0.12	0.3	0.3	0.45	0.12
硼酸	61.83			10.0 g		
无水LiCl	42.39		4.2 g	4.2 g		
LiOH × H ₂ O	41.96	5.04g*pH	8.4g*pH	8.4g*pH	19.5g	5.04g*pH
无水柠檬酸	192.1	15.0 g	15.0 g	10.0 g		16.0 g
无水乙醇(或甲醇)		50 ml				
HCl 37%		7.8 ml*pH	8.6 ml*pH	3.3 ml*pH		8.6 ml*pH
EDTA					0.2g	
辛酸(装瓶后加)		0.1 ml	0.1 ml	0.1 ml		0.1 ml
总体积		1L	1L	1L	1L	1L
密封保质期		12个月	12个月	12个月	6个月	12个月

生理体液分析程序需要三个缓冲 (A ， B 和 C) 和再生溶液

- 一、游离系统溶液出峰顺序如下
- ①缓冲液A:从磷酸丝氨酸（Phosphoserine）到谷氨酰胺（Glutamine）
 - ②缓冲液 A/缓冲液 B：从α-氨基己二酸（α-Aminoadipic）到α-氨基丁酸(α-Aminobutyrid)
 - ③缓冲液 B/缓冲液 C：从缬氨酸（Valine）到酪氨酸（Tyrosine）
 - ④缓冲液 C：从苯丙氨酸（Phenylalanine）到精氨酸（Arginine）

K⁺

钾盐缓冲液一般用于生物胺中的氨基酸分析，可用于分离常见的尸胺、腐胺、组胺、酪胺、苯乙胺、精胺、亚精胺、鲛精胺、色胺等9种生物胺

下图是K⁺系统常见溶液的配置表

	分子量	缓冲A1	缓冲B1	再生液	样品稀释液
pH值		5.75	8.3		同A1
当量浓度		0.4	2.5	0.6	
KOH（优级）	56.11	11.2 g *pH	16.8g *pH	33.7 g	
柠檬酸	192.12	14.0 g	16.0 g		
硼酸	61.83		10.0 g		
氯化钾(优级)	74.55	14.9 g	164.0 g		
HCl 37%		*pH	*pH		
EDTA				0.2 g	
辛酸(装瓶后加)		0.1 ml	0.1 ml		
定容体积		1L	1L	1L	
密封保质期		1年	1年	6个月	

茚三酮

到目前为止茚三酮仍是最常用的氨基酸柱后衍生分析试剂，它通常包含下列各项化学成分:

- ① 茚三酮固体（晶体）
- ② 用于溶解茚三酮的有机溶剂
- ③ 强烈的钠钾缓冲溶液（以利于得到茚三酮反应最适宜的pH值）
- ④ 还原剂（通常为高纯度抗坏血酸）

下图是茚三酮溶液的配置表

	分子量	Na缓冲液	K缓冲液	茚三酮	清洗液
pH值		5.5~5.6	5.5~5.6		
乙酸钾	98.14	196g			
三水乙酸钠	136.08		272.0g		
茚三酮（优级）	178.14			20g	
抗坏血酸（优级）	176.12			0.2~0.22g	
苯酚	94.11			2g	
甲醇	32.04			600ml	200ml
乙酸	60.05	200ml			
去离子水		定容1L			800ml
钠钾混合缓冲液				400ml	
总体积		1L		1L	
密封保质期		12个月	12个月	3个月	12个月

注：1、1.在配制过程中，剧烈搅拌和长时间暴露在空气中会使钾钠缓冲液和茚三酮试剂试剂质量变差。

2、钾钠缓冲液配制过程中会放热，溶液温度升高，必须等温度降下来（室温或室温以下）再用。

3、应尽量避免蛋白相关有机物、氨、二氧化硫进入到试剂中，否则会导致试剂变差，甚至变质

4、钾钠缓冲液常温下密封一般可放置12个月以上不变质，但配制好的茚三酮溶液则应尽快使用。如果一定要线下放置茚三酮，必须吹上氮气冷藏，即使这样，茚三酮溶液的质量也可能会变差，当看到明显沉淀时，应立即停止使用并清洗容器和管路。

阅读习题

- 1、辛酸在溶液配制过程中主要是起什么作用呢？
- 2、配制溶液的过程中可不可以靠近氨盐或氨液呢？

