

使用亲水作用色谱法（HILIC）分析食品中的氨基酸

Analysis of amino acids in food using hydrophilic interaction chromatography

氨基酸的 HPLC 分析通常主要采用三种方法进行分析：（1）柱后标识：使用离子交换色谱柱分离样品后，使样品与 OPA 或茚三酮等衍生剂反应，然后用 UV 或荧光法进行检测；（2）柱前标识：用色谱柱分离预先与衍生剂反应的分析物，然后用 UV、荧光或 MS 方法检测；（3）直接分析：用色谱柱分离后，无需衍生化就使用 MS 检测样品。

通过直接法分离利用了反相色谱法或使用离子对试剂的亲水作用色谱法（HILIC），本报告介绍的是使用 HILIC 法进行直接分析的应用。

除了 17 种蛋白氨基酸外，还选择牛磺酸（贝壳中含有）、茶氨酸、 γ -氨基丁酸（GABA）（包括

α 和 β 异构体，茶叶中含有）进行分析，总共 22 种物质。使用 TSKgel NH₂-100 3 μ m 氨基柱和甲酸/甲酸铵水溶液和乙腈进行梯度洗脱分离。使用 ESI 电离法处理各氨基酸的质子化分子 $[M+H]^+$ ，用作检测离子。图 1 为标准样品的色谱图。在该分析条件下，亮氨酸、异亮氨酸和 GABA（ α 、 β 和 γ 异构体）的分离效果令人满意。另外，在该分析条件下制备的各氨基酸校准曲线在 5 到 500 μ mol/L 的浓度范围内都呈现出良好线性。

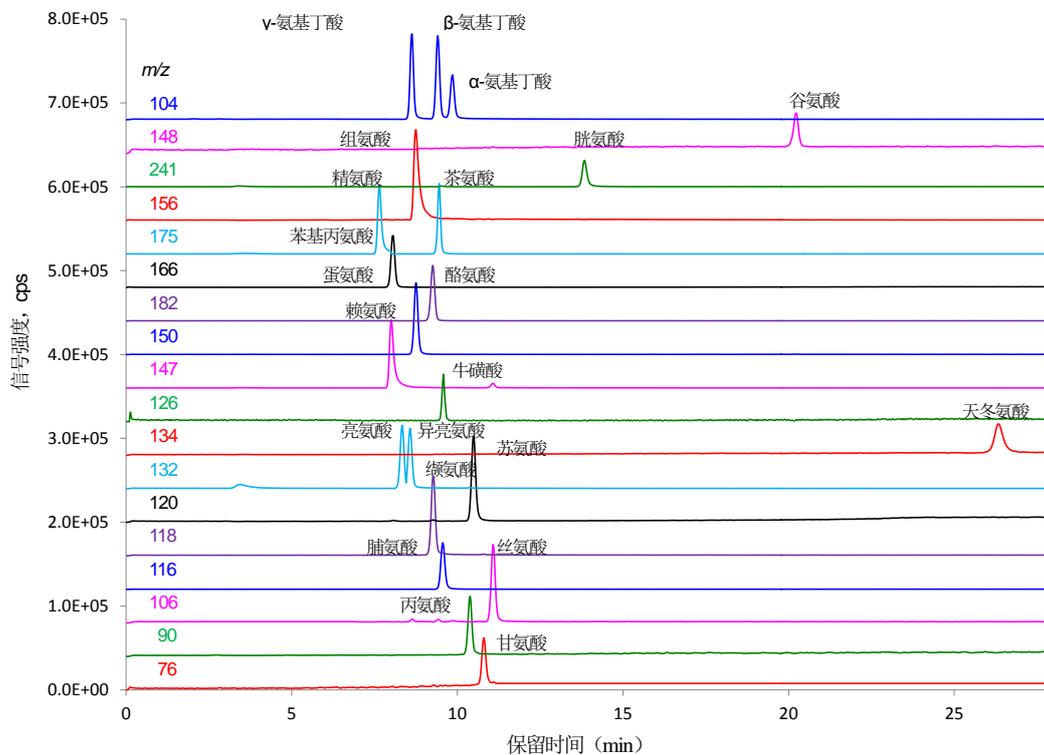


图 1. 标准氨基酸的 SIM 色谱图（各 10~500 μ mol/L）

图 2 所示为酱油中的氨基酸的分析示例。用水将酱油稀释 10 倍后，使用流动相 A/流动相 B (2/8[v/v]) 继续稀释，然后过滤 (醋酸纤维素膜、0.5 μm 孔径)，将滤液用作检测样品。

在本文描述的分析条件下，可以分析从碱性到酸性的各种游离氨基酸。除了含有氨基酸的食品外，该条件还可用于分析茶叶、保健品和其它食品。

表 1. 分析条件

HPLC	MS
色谱柱: TSKgel NH2-100 3 μm (2.0 mm I.D. x 15 cm)	仪器: QTRAP (AB SCIEX)
流动相 A: 0.2% HCOOH + 10 mmol/L HCOONH ₄	电离: ESI
流动相 B: CH ₃ CN	模式: SIM
梯度: B 浓度(0 min)90% → (20-27 min)10% → (27.1 min)90%	
流速: 0.2 mL/min	
进样量: 5 μL	
柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$	

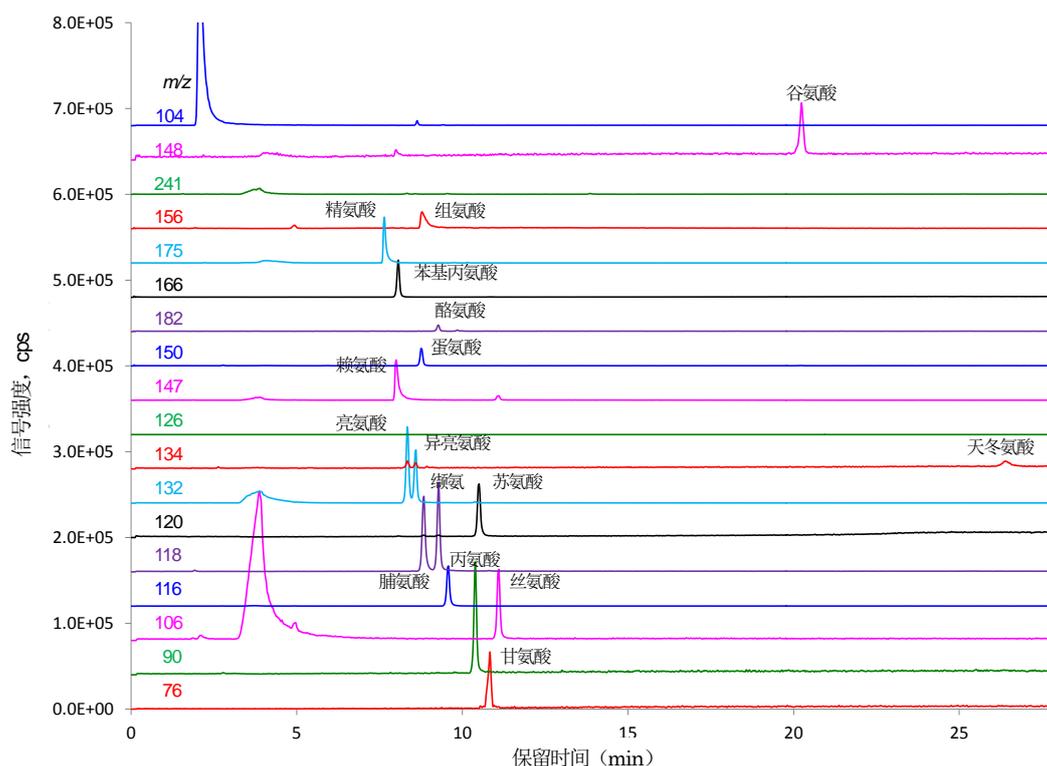


图 2 酱油中的氨基酸 SIM 色谱图