

用高效液相色谱法分析植物中 21 种游离氨基酸浓度的方法研究

徐 宇^{1,2}, 肖化云¹, 郑能健^{1,2}, 张忠义^{1,2}

1.中国科学院地球化学研究所, 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳, 550081

2.中国科学院大学, 北京 100049

本文建立了植物中 21 种游离氨基酸浓度的自动在线柱前衍生反相高效液相色谱测定方法, 测定浓度在 4.5~450 pmol/uL 范围内的混标中 21 种氨基酸的精度、准确度以及线性关系良好, 整个分析过程快速、准确、灵敏且重现性好, 可用于高等植物叶片中游离氨基酸浓度的测定。

以邻苯二甲醛(OPA)和 9-芴甲基氯甲酸酯(FMOC)为衍生剂, 经 Agilent Zorbax Eclipse-AAA 色谱柱分离, 梯度洗脱, 最后用荧光检测器检测。研磨过筛后的植物样品经超纯水超声提取, 用陶氏阳离子树脂纯化, 接着用超纯水淋洗树脂, 淋洗结束后, 用 4mol/L 的氨水进行洗脱, 收集洗脱液并将洗脱液冷冻干燥, 用四苯硼钠溶液定容到 1mL, 过 0.22 μ m 滤头, 置于样品瓶中, 待上 HPLC 测定。

经邻苯二甲醛(OPA)和 9-芴甲基氯甲酸酯(FMOC)化学衍生, 用 Agilent Zorbax Eclipse-AAA 色谱柱和 Agilent 1260 HPLC, 植物中游离氨基酸的分析可以在 19min 内完成。平行测定六次 22.5pmol/uL 标准氨基酸混合液, 保留时间和峰面积平均相对标准偏差分别为 0.14%和 2.99%。空白加标(45 pmol/uL 标准氨基酸混合液)回收率均值为 95.19%, 样品加标(45 pmol/uL 标准氨基酸混合液)回收率均值为 93.98%。浓度在 4.5~450 pmol/uL 范围内, 内标浓度均为 50 pmol/uL 的氨基酸标准溶液, 各氨基酸在所检测浓度范围内具有较好的线性关系, 相关系数在 0.9993~0.9999 之间。经测定, 桂花叶片中含量最高的为谷氨酸(Glu), 占了总氨基酸的 25.5%, 其次是天冬氨酸。

根据本文结果, 我们得出结论: 对于高等植物来说, 叶片中游离氨基酸含量相对较低。前人对植物中氨基酸的研究主要集中在针叶、藻类等植物上, 这是因为阔叶植物中色素、糖类等杂质较多, 不易提纯, 而本纯化方法不仅高效而且大大降低了样品对色谱柱的影响, 延长了色谱柱的使用寿命, 改善了样品色谱图峰型, 增加了样品游离氨基酸测定的精度和可靠性, 为今后研究与氨基酸有关的生态环境问题提供了良好的技术手段。