

# 835-30 型氨基酸分析仪使用情况初报\*

郑云兰 赵铁男 张钦海 沙立先

(黑龙江省农业科学院综合化验室)

近年来育种工作对种子品质分析除蛋白、脂肪、淀粉、粗纤维、灰分外,并对蛋白质的组成也开展了研究。测定农作物种子中各种氨基酸含量,查明作物体内氨基酸种类和变化规律,已成为培育高产、质佳、育种工作的重要依据。

氨基酸的测定主要有:纸层析、薄板层析、微生物、化学分析和仪器分析等方法。由于现代物理、化学、电子科学技术的发展,氨基酸的分析正向快速、准确自动化方向迈进。氨基酸自动分析仪的研制成功,是生化分析中的重大突破,促进了农业科学研究手段的飞速发展。

835 型氨基酸自动分析仪,是日本日立厂 1978 年产品。它是在综合快速的 633 型高灵敏度的 635 型以及 KLA-5 型氨基酸分析仪优点的基础上而改制的新型自动分析仪,该仪器有三种型号:

835-10 型(手动进样、手动打程序、手动计算);

835-30 型(自动进样、自动进程序、手动计算);

835-50 型(自动进样、自动进程序、积分仪自动显示数据);

特点是操作简单,灵敏度高,精度可达  $10^{-9}$ 。70 分钟可分析 17 种氨基酸含量。

近几年来,我国先后从日本购入此种仪器,我院 1978 年底引进,经向国内兄弟单位学习,于 1979 年 5 月自己动手安装,反复调试排除障碍后,已对小麦、大豆、玉米、高粱、水稻、谷子等作物种子进行了氨基酸的

含量测定,现将分析结果和仪器使用情况汇总如下:

## 一、试验材料和方法

### 1. 试验材料

供试作物有小麦:新 1 号、京红 8 号、鉴 26。大豆:黑农 26 号。玉米:北玉 5 号、华农 1 号、中单 2 号、野鸡红(O<sub>2</sub>)。谷子:龙谷 23 号。高粱:晋杂 4 号、117B。水稻:粳稻初胜、秈稻 IR44。其中除新一号小麦、黑农 26 号大豆、北玉 5 号玉米、龙谷 23 号谷子为本院育种所品种外,其余皆为全国赖氨酸分析方法标准化统一样品。

### 2. 试验方法

准确称取待测样品 10~20 毫克,放入硬质玻璃管中,加 6N 冷冻盐酸 2~4 毫升(盐酸加入量视样品中蛋白质的含量多少而定)然后抽至真空,用酒精喷灯封闭管口,在 110℃ 烘箱中水解 24 小时,此时,90% 以上的氨基酸几乎全部分离出来。将制好的水解液以 0.01 N 盐酸洗入 50 毫升磁蒸发皿中,在 80~90℃ 水浴上浓缩蒸干,然后以柠檬酸缓冲液溶解、稀释、定容 10 毫升,取 0.5 毫升于样品管中进行测定。同时取氨基酸标准液进行测定。

本分析仪,采用专利 2619 混合离子交换树脂,样品水解液自动进入离子柱(不锈钢柱),用流量稳定的 P<sub>1</sub> 泵输送规定的缓冲液,

\* 供试样品的种子水分和脂肪为刘敏学同志分析,谨致谢意。

按事先编好的程序书规定的程序自动淋洗。从离子柱分离出的氨基酸与 P<sub>2</sub> 泵输送的茚三酮显色液在混合器中充分混合, 然后在温度为 100℃ 左右反应槽中进行发色, 生成紫色色素 Diketohydrindlidene Diketohydrindamine (DrDA) 此紫色溶液经分光光度计用 570mμ 和 440mμ 两个波长连续比色测定。光密度值进行信号放大, 记录仪自动绘出各种氨基酸峰谱。然后, 以标准氨基酸峰谱为基准, 用 D、W 法进行样品结果计算。

计算公式:

氨基酸因数

$$= \frac{\text{氨基酸分子量} \times \text{标准氨基酸浓度}}{\text{标准氨基酸峰面积}}$$

氨基酸%

$$= \frac{\text{氨基酸因数} \times \text{样品峰面积}}{\text{样品重 (微克)}} \times 100 \times K \text{ (水分)}$$

## 二、试验结果

### 1. 对六种作物种子中氨基酸含量的分析

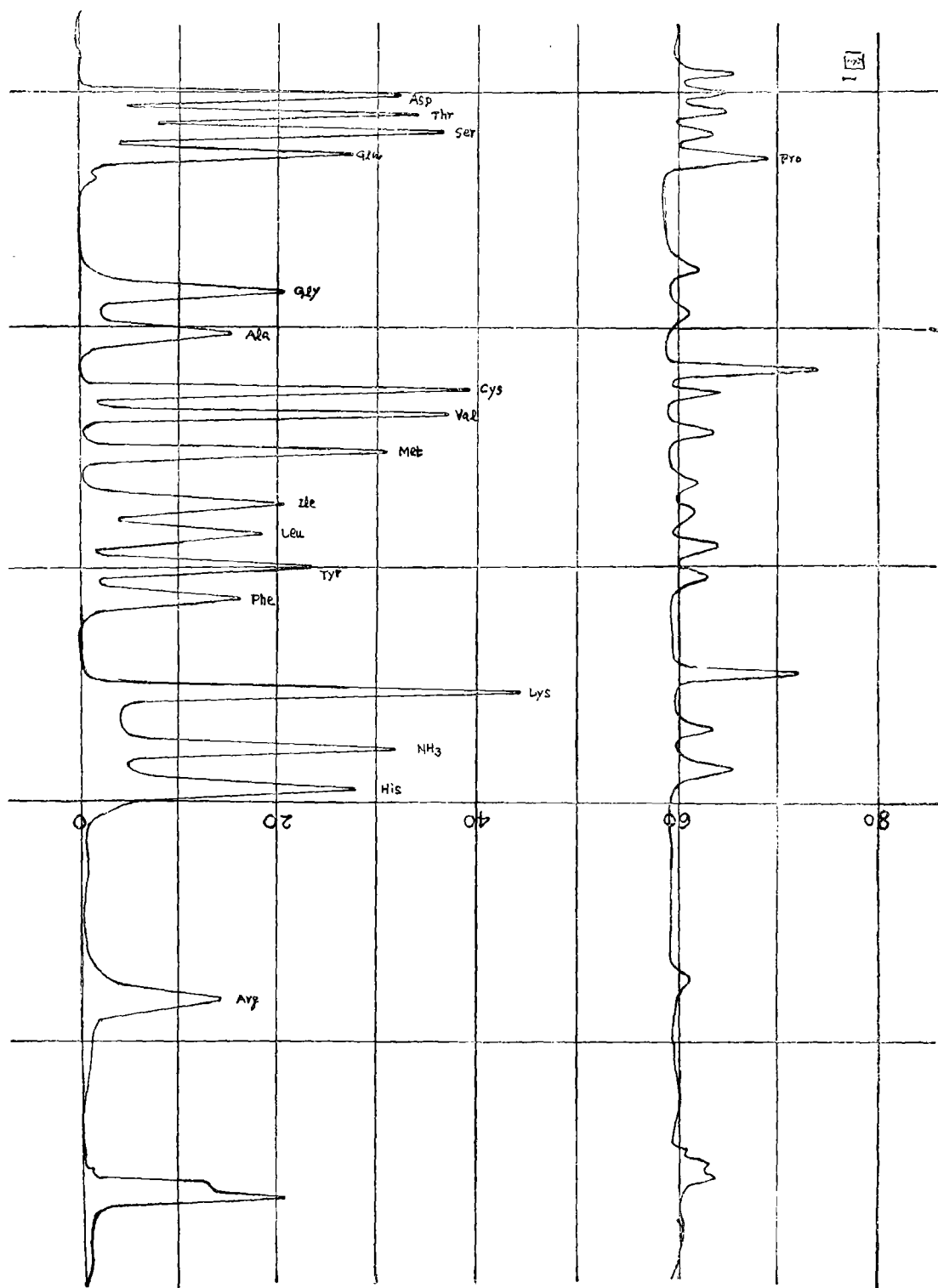
1979 年我们选用小麦、大豆、玉米、高粱、谷子、水稻六种作物作为供试样品进行 17 种氨基酸含量的测定 (不包括氨峰), 分析结果如表 1。

### 2. 标准氨基酸峰谱及三种作物种子氨基酸峰谱

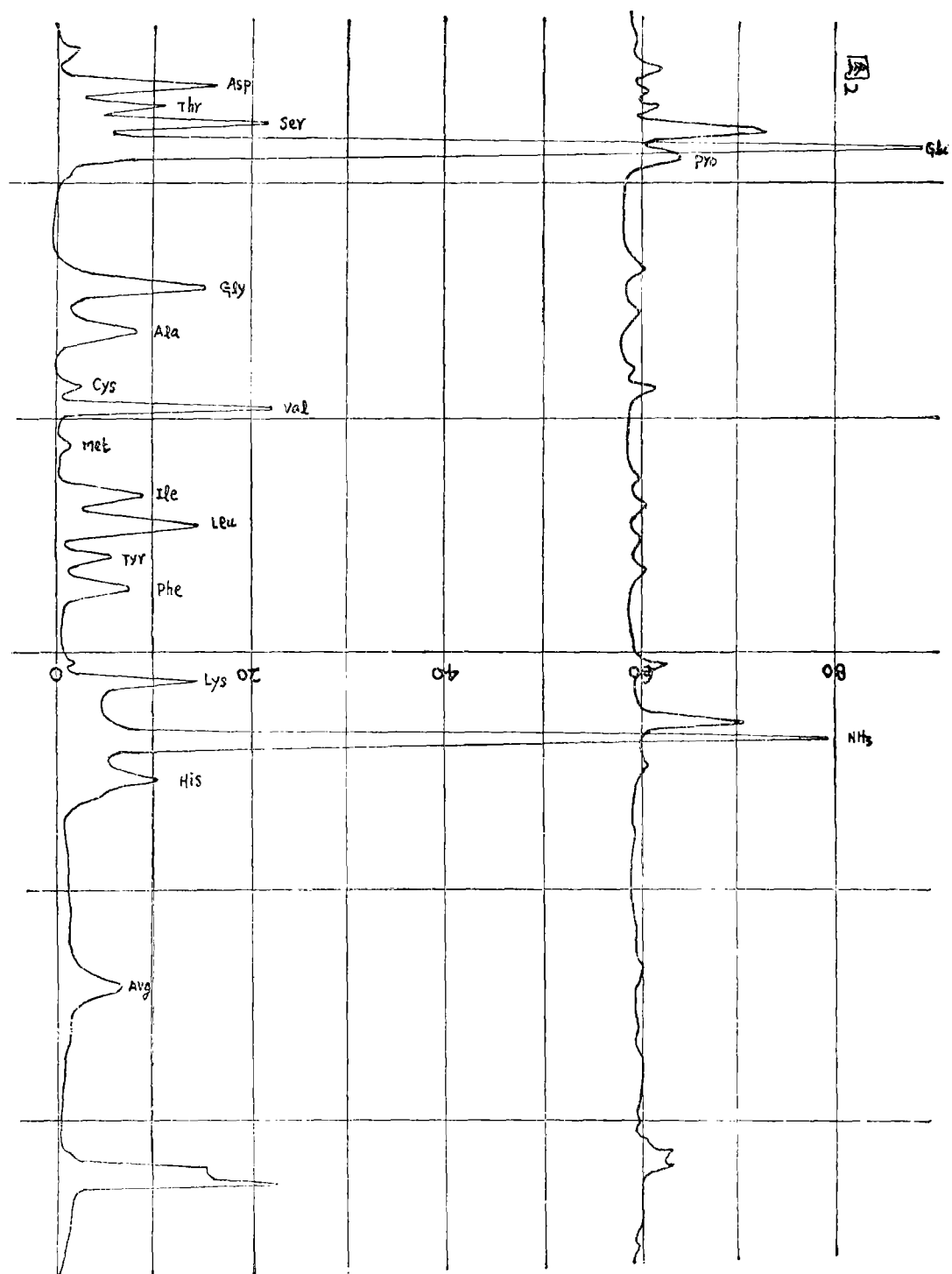
表 1 不同作物种子氨基酸含量 (%)

作 物 基 种 酸	小 麦	大 豆	玉 米	高 粱	谷 子	水 稻
	新 1 号	黑农 26 号	北玉 5 号	晋杂 1 号	龙谷 23 号	梗稻初选
天 冬 氨 酸	0.69	5.12	0.35	0.34	0.35	0.44
苏 氨 酸	0.29	1.44	0.19	0.13	0.15	0.10
丝 氨 酸	0.52	2.26	0.21	0.36	0.17	0.23
谷 氨 酸	3.76	7.36	1.11	1.01	0.94	1.01
甘 氨 酸	0.49	1.82	0.19	0.16	0.15	0.28
丙 氨 酸	0.42	1.88	0.46	0.41	0.12	0.29
胱 氨 酸	0.19	0.34	0.05	0.07	0.04	0.04
缬 氨 酸	0.71	2.26	0.27	0.27	0.32	0.32
蛋 氨 酸	0.93	0.38	0.02	0.08	0.14	0.04
异 亮 氨 酸	0.17	2.04	0.19	0.16	0.19	0.23
亮 氨 酸	1.06	0.96	0.99	0.74	0.72	0.53
酪 氨 酸	0.32	0.86	0.19	0.17	0.15	0.21
苯 丙 氨 酸	0.63	2.04	0.35	0.25	0.29	0.28
赖 氨 酸	0.37	2.80	0.25	0.19	0.20	0.16
组 氨 酸	0.37	1.34	0.20	0.18	0.19	0.26
精 氨 酸	0.62	3.16	0.22	0.24	0.26	0.43
脯 氨 酸	1.08	0.88	0.21	0.17	0.28	0.11

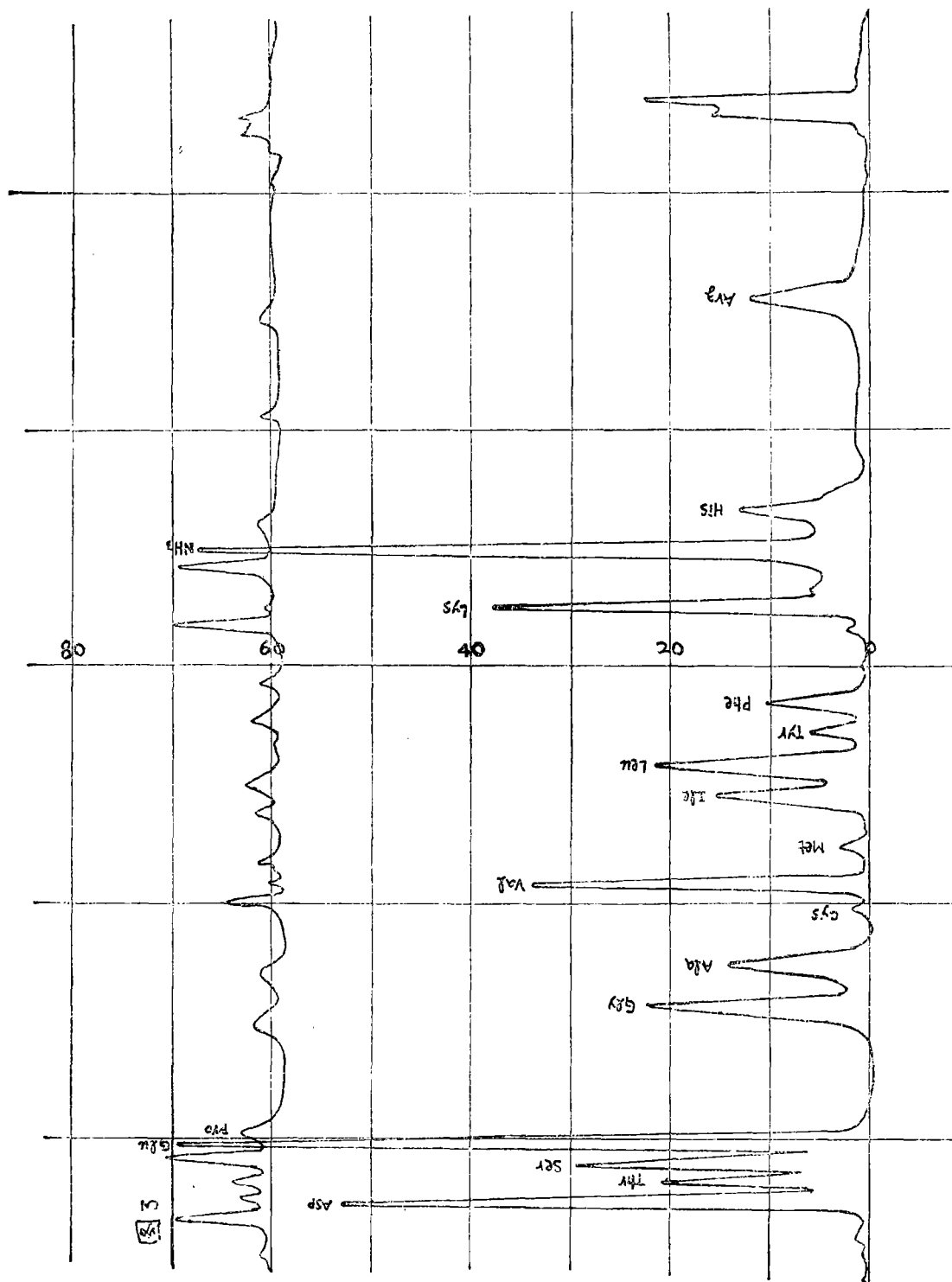
(1) 标准氨基酸峰谱图 1



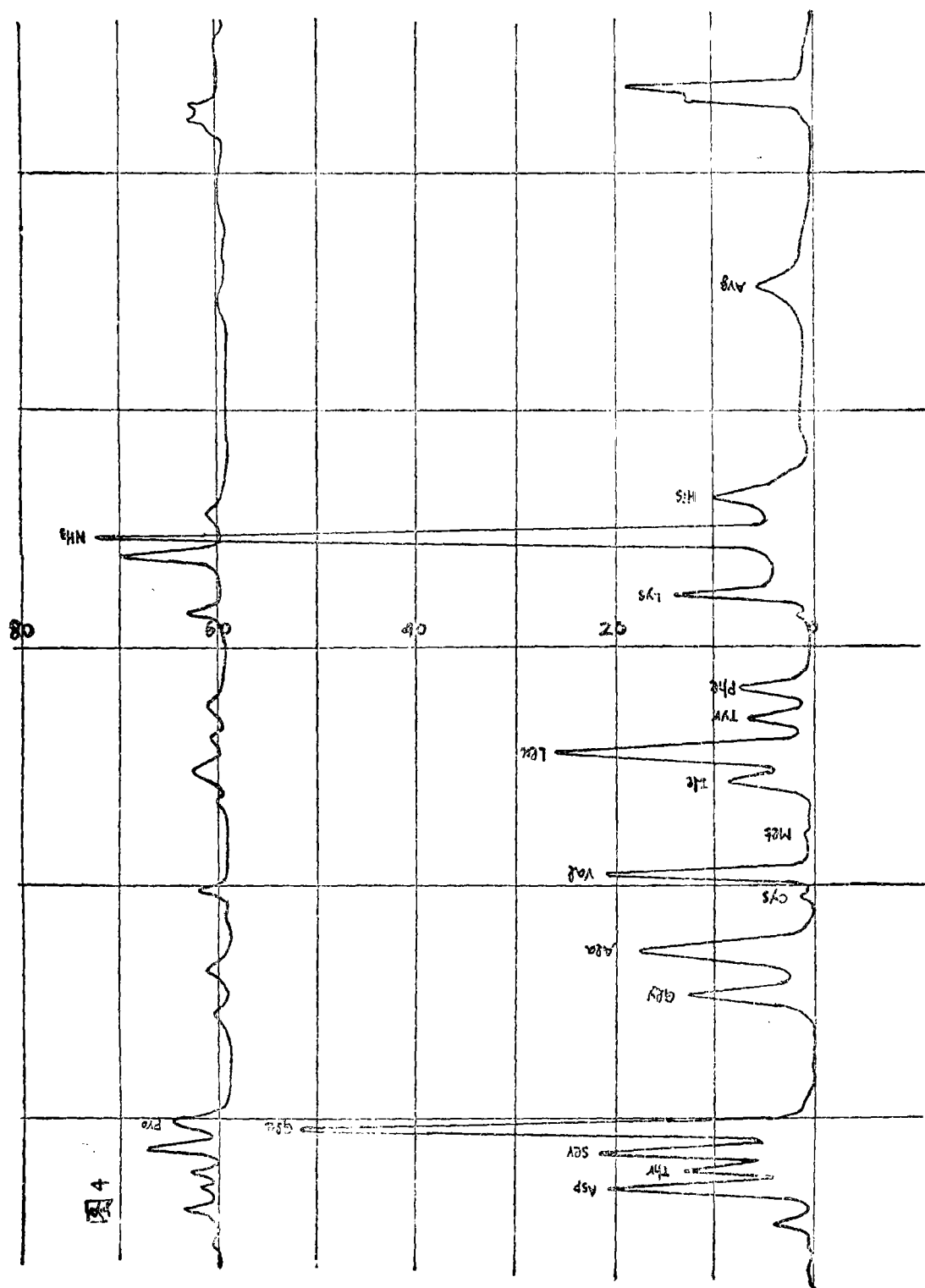
(2) 小麦种子新 1 号氨基酸峰谱图 2



(3) 大豆种子黑农 26 号氨基酸峰谱图 3



(4) 玉米种子北玉 5 号氨基酸峰谱图 4



### 3. 不同作物种子样品脱脂与不脱脂分析结果的对比试验。

为查明作物种子中脂肪含量对分析结果

的影响, 我们进行了大豆和玉米两品种脱脂与不脱脂的对比试验, 测定结果见表 2。

表 2

脱脂和不脱脂对结果的影响

作物 氨基酸	大豆 黑农 23 号			玉米 北玉 5 号		
	脱 脂	不 脱 脂	偏 差	脱 脂	不 脱 脂	偏 差
天 冬 氨 酸	5.12	4.60	0.52	0.35	0.33	0.02
苏 氨 酸	1.44	1.30	0.14	0.19	0.18	0.01
丝 氨 酸	2.26	2.03	0.23	0.21	0.19	0.02
谷 氨 酸	7.56	6.63	0.73	1.11	1.06	0.05
甘 氨 酸	1.82	1.65	0.17	0.19	0.18	0.01
丙 氨 酸	1.88	1.69	0.19	0.46	0.44	0.02
胱 氨 酸	0.34	0.30	0.04	0.05	0.05	0.00
缬 氨 酸	2.26	2.03	0.23	0.27	0.26	0.01
蛋 氨 酸	0.33	0.34	0.04	0.02	0.02	0.00
异 亮 氨	2.04	1.85	0.19	0.19	0.18	0.02
亮 氨 酸	0.96	0.87	0.09	0.99	0.94	0.05
酪 氨 酸	0.83	0.78	0.08	0.19	0.18	0.01
苯 丙 氨 酸	2.04	1.84	0.20	0.35	0.34	0.01
赖 氨 酸	2.80	1.53	0.27	0.25	0.23	0.02
组 氨 酸	1.34	1.21	0.13	0.20	0.18	0.02
精 氨 酸	3.18	2.86	0.32	0.22	0.20	0.02
脯 氨 酸	0.88	0.79	0.09	0.21	0.19	0.02

从表 3 看出大豆脂肪含量较高, 脱脂与不脱脂对氨基酸分析结果偏差较大, 不脱脂样品结果偏低, 而玉米偏差很小, 所以, 在进行玉米氨基酸结果计算时, 脂肪含量可以忽略不计。

#### 4. 835-30 型仪器测定结果的重现性试验。

为检定仪器性能和重现性程度, 我们分别取小麦新 1 号、玉米北玉 5 号和大豆黑河 3 号, 在 1979 年 9 月 14 日和 10 月 25 日, 9 月 28 日和 11 月 1 日, 11 月 1 日和 11 月 9 日分两次水解、两次测定, 结果见表 3。

从表 3 看出小麦、玉米、大豆种子不同时间分批水解, 氨基酸含量测定结果基本一致。偏差范围仅在 0~0.02% 之间。

#### 5. 835-30 型和 KLA-5 型氨基酸分析仪测定结果对比试验。

为查明 835-30 型氨基酸分析仪分析结果的准确程度, 我们特请辽宁省农科院综合分析室用 KLA-5 型氨基酸分析仪对春麦京红 8 号 (0.34%)、冬麦鉴 26 (0.28%)、玉米华农 1 号 (0.23%)、中单 2 号 (0.23%) 及野鸡红 (0.32%)、高粱 117B (0.19%) 和晋杂 4 号 (0.17%)、粳稻初胜 (0.23%)、秈稻

表 3

小麦、玉米、大豆种子必需氨基酸测定结果 (%)

品 种 氨 水 解 时 间 基 酸	小 麦 新 1 号		玉 米 北 玉 5 号		大 豆 黑 河 3 号	
	9 月 14 日	10 月 25 日	9 月 28 日	11 月 1 日	11 月 1 日	11 月 9 日
赖 氨 酸	0.37	0.36	0.25	0.24	2.82	2.80
缬 氨 酸	0.71	0.70	0.27	0.27	1.64	1.64
蛋 氨 酸	0.08	0.08	0.01	0.02	0.34	0.33
异 亮 氨 酸	0.47	0.46	0.19	0.18	1.46	1.47
亮 氨 酸	1.06	1.04	0.99	0.99	2.66	2.66
苯 丙 氨 酸	0.63	0.63	0.35	0.34	1.92	1.90
组 氨 酸	0.37	0.37	0.20	0.20	1.22	1.20
精 氨 酸	0.62	0.62	0.22	0.21	2.32	2.30
苏 氨 酸	0.29	0.27	0.19	0.18	1.06	1.05

1R44 (0.23%) 样品进行赖氨酸含量的测定,从括号中分析数据来看,两仪器测定结果基本一致。835-30 型氨基酸分析仪分析结果略偏高,两仪器测定结果偏差仅仅在 0.01~0.02% 幅度之内。

## 小 结

我们在使用 835~30 型氨基酸分析仪过程中有如下初浅体会:

1. 835~30 型氨基酸自动分析仪是七十年代新型产品,价格昂贵,结构复杂,管道繁多,容易发生故障,操作时一定要严格遵守操作程序,切不可马虎大意。

为了使记录仪基线稳定,安装时要用铜板地线,分析时必需采用 99.99% 以上高纯氮以保证分析质量。

2. 室内要安装空调器,最好使室温恒定在 20℃ 左右,室温过低时也可用加热器升温,保证分析正常进行。

3. 仪器长期停运时,必需定期冲洗管道,

以免管道堵塞。

4. 本仪器所需蒸馏水为无离子水,分析应在无氨条件下进行。为了节省药品,样品最好集中成批分析。

5. 为保证分析质量和防止离子柱污染,对大豆、玉米、谷子样品水解前必需进行脱脂处理。

6. 由于不同蛋白质结构内肽键的不同,水解时间也不同。在酸水解条件下,色氨酸几乎全部破坏,因此对色氨酸分析时,应采用硷解或酶解进行测定。半胱氨酸酸解过程中也有破坏,胱氨酸有 85~90% 氧化成半胱氨酸,蛋氨酸则几乎全部氧化成蛋氨酸砒。缬氨酸和异亮氨酸的肽键不易水解,需要延长水解时间。但苏氨酸、丝氨酸及酪氨酸在水解过程中易遭破坏,随着水解时间的延长,破坏也愈严重。为了获得良好效果,最好在水解装置中抽真空后充满氮气,或测定不同水解时间氨基酸的回收率,用以校正在标准水解条件下所得到的结果。