

氨基酸分析仪操作规程

一、仪器名称

L-8900 高速氨基酸分析仪，日本 Hitachi 公司

二、仪器功能

可用于检测样品中蛋白水解氨基酸、游离氨基酸的种类及含量，广泛应用于食品、纺织等领域检测。

三、操作规程

(一) 样品前处理

1.1 蛋白质样品

A 酸水解法：

- 1) 称取蛋白质样品100mg，置于水解管中，加入10ml 6N的HCL。通入N₂ 2~3min，排净液面上方空气后，迅速封口。
- 2) 110° C恒温干燥箱内水解24h，取出，待完全冷却后开管、定容、过滤。
- 3) 取适量的滤液置于浓缩器中60° C抽真空蒸发至干。
- 4) 加入0.02N HCL稀释液将样品稀释到200ug/ml、摇匀、0.22μm的水相滤膜过滤待用。

提示：盐酸中的重金属，作为接触剂可使氨基酸遭受破坏，故要求用优级纯的盐酸水解样品。

B 碱水解法：

- 1) 称取蛋白质样品100mg，置于聚氟乙烯衬管中，加入1.5ml 4mol /L的LiOH。通入N₂ 2~3 min，排净液面上方空气后，迅速封口
- 2) 110° C恒温干燥箱内水解24h，取出，待完全冷却后开管、定容、过滤。
- 3) 取出样品冷却至室温、开管，加入1ml 6mol/L的HCL中和。
- 4) 加入0.02N HCL稀释液将样品稀释到200ug/ml、摇匀、0.22μm的水相滤膜过滤待用。

提示：只是为了测定蛋白质中色氨酸含量才会采用此水解方法

1.2 游离氨基酸样品

- 1) 用4%~10%的磺基水杨酸，按1:3的比例与样品混合。
- 2) 4° C，10000rpm/min，离心10~15 min，去除蛋白及油脂类物质。
- 3) 加入0.02N HCL稀释液将样品稀释到200μg/ml、摇匀、c18预处理过滤柱脱色，0.22μm的水相滤膜过滤待用。

(二) 测试

1. 打开电脑、主机电源，双击桌面EZChrom Elite图标，进入程序。

2. 依次点击control, instrument status键进入程序, 单击connect联机, 大约两分钟后初始化完成。
3. 建立本次实验Sequence表, 依次点击File, Sequence键, 建立样品表, 输入未知样品顺序、样品号、数据路径、文件名称、样品个数、重复次数。
4. 点击Next, 输入样品瓶号、标准瓶号、进样体积、样品间隔数。
5. 点击Next, 标准品号、路径、文件名、标准品个数、重复次数。
6. 点击Finish, 仪器自动跳出本次实验的Sequence表。
7. 选中Sequence表中最后一行, 右击Copy后在表格第一行进行 Insert paste, 并将次行的 Method 改为 RG, Volume 改为 0, Run Type 改为Unknown。
8. 保存Sequence, 将Sequence另存为Test。
9. 依次点击 Control, Single Run, 运行Stand By方法, 进样体积为0。
10. 依次点击 Control, Sequence Run, 运行Sequence Test。
11. 数据采集完后, 机器自动进入清洗程序, 清洗一个小时, 自动关泵, 关灯, 关柱温箱。
12. 点击Disconnect, 断开连接, 关闭程序, 关闭主机电源。
13. 关闭电源, 关闭门窗, 打扫卫生, 登记仪器使用记录, 经实验室管理人员确认后离开。

四、注意事项

1. 氮气压力: 仪器需要的压力为0.05~0.1Mpa, 压力过高会损坏仪器。
2. 电脑严禁更改设置, 严禁安装其他程序, 严禁上网。注意避免染上病毒。
3. 进样浓度范围: 0.4~10 nmol, 过高的浓度会影响分析结果, 且容易堵塞反应柱。