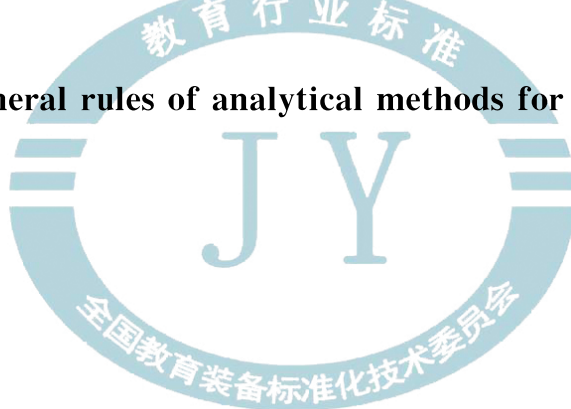


中华人民共和国教育行业标准

JY/T 0576—2020
代替 JY/T 019—1996

氨基酸分析方法通则

General rules of analytical methods for amino acid



2020-09-29 发布

2020-12-01 实施

中华人民共和国教育部 发布



目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 方法原理	1
5 分析环境要求	2
6 试剂和材料	2
7 仪器	2
8 样品	3
9 定量分析	5
10 结果报告	5
11 安全注意事项	6
附录 A (资料性附录) 氨基酸分析-高效液相色谱法	7
参考文献	8





前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 JY/T 019—1996《氨基酸分析方法通则》，与 JY/T 019—1996 相比，除编辑性修改外主要技术变化如下：

- 修改了标准的适用范围(见第 1 章)；
- 增加了规范性引用文件(见第 2 章)；
- 删除了术语和定义(见 1996 年版第 2 章,2.1,2.3~2.9)；
- 增加了术语和定义(见第 3.2)；
- 修改了原理(见第 4 章)；
- 修改了分析环境要求(见第 5 章)；
- 删除了样品(见 1996 年版第 6 章)；
- 修改了仪器(见第 7 章)；
- 增加了样品(见第 8 章)；
- 修改了实施步骤(见第 9 章)；
- 增加了结果报告(见第 10 章)；
- 修改了安全注意事项(见第 11 章)；
- 增加了氨基酸分析-高效液相色谱法(见附录 A)。

本标准由中华人民共和国教育部提出。

本标准由全国教育装备标准化技术委员会化学分技术委员会(SAC/TC 125/SC 5)归口。

本标准起草单位：上海交通大学、华南农业大学、海南大学。

本标准主要起草人：张莉、朱娜、吕雪娟、周雪晴。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- JY/T 019—1996。



氨基酸分析方法通则

1 范围

本标准规定了样品中氨基酸分析方法的方法原理、分析环境要求、试剂和材料、仪器、样品、分析步骤、结果报告和安全注意事项。

本标准适用于用氨基酸分析仪和高效液相色谱仪对样品中水解氨基酸、游离氨基酸以及不常见的氨基酸进行定性定量分析的一般方法。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 15000.8—2003 标准样品工作导则(8):有证标准样品的使用

JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

柱前衍生 pre-column derivatization

样品在用分析柱分离前进行衍生化反应,然后经色谱柱对衍生物进行分离。

3.2

柱后衍生 post-column derivatization

样品组分在色谱柱分离之后,洗脱液与衍生剂进行衍生化的过程。

4 方法原理

氨基酸分析原理是根据朗伯-比尔(Lambert-Beer)定律,在其他条件相同的情况下,吸光度与吸光物质的浓度成正比,通过比色可测定吸光物质的含量。氨基酸与衍生试剂反应生成氨基酸衍生物。氨基酸衍生物在紫外或可见光分光光度检测器中被检测,形成高斯分布的洗脱峰,峰面积与氨基酸含量成正比。在一定的条件下,氨基酸标准液中各种氨基酸被洗脱的时间、峰面积是确定的,通过比较样品和氨基酸标准品中各氨基酸的出峰时间,可定性鉴定未知样品中氨基酸组分;通过分析不同浓度的氨基酸标准品绘制峰面积-氨基酸含量标准曲线,可由未知样品中各氨基酸峰面积计算得到其含量。

氨基酸样品经适当的样品前处理后,经氨基酸分析仪的离子交换柱分离,被洗脱下来的氨基酸与水合茚三酮混合后在高温反应器中进行柱后衍生反应,生成可在 570 nm 波长下检测到的蓝紫色衍生物(脯氨酸、羟脯氨酸等亚氨基酸生成黄色衍生物在 440 nm 波长处检测),再通过可见光分光光度检测器测定氨基酸含量。

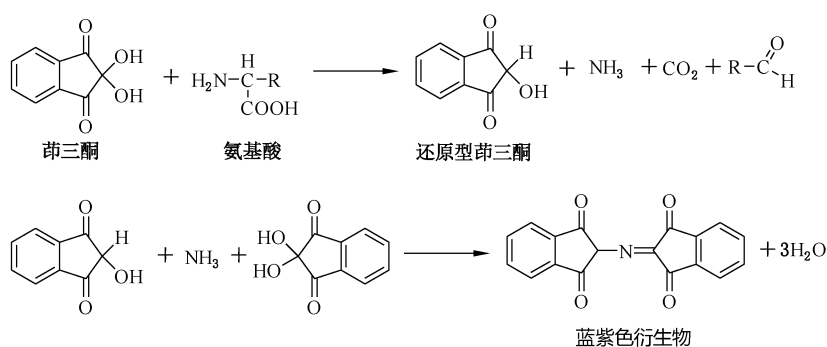


图 1 氨基酸与茚三酮的衍生化反应

5 分析环境要求

温度与湿度应符合仪器规定要求,温度控制 $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$,湿度 $\leq 75\%$ 。避免震动和阳光直射。工作环境通风良好,避免高浓度有机溶剂蒸气或腐蚀性气体。没有强磁场和电场。电源符合规定,供电电源的电压及频率应稳定。

6 试剂和材料

6.1 水

本标准使用的水应符合 GB/T 6682—2008 的规定。

6.2 试剂

除非另有规定,试剂应是分析纯试剂或质量更好的试剂。试剂不应干扰分析。

6.3 溶剂

溶剂应是色谱级或质量相当或更好的产品。溶剂不应干扰分析。

6.4 标准样品

应是符合 GB/T 15000.8—2003 要求的有证标准样品。

7 仪器

7.1 氨基酸分析仪组成

- 泵:应满足材料耐化学腐蚀,在高压下连续工作,输出流量范围宽,输出流量稳定、重复性高等特点。
- 进样器:自动进样器。
- 色谱柱:蛋白质水解试样选用 Na⁺型交换树脂的色谱柱,生理体液试样选用 Li⁺型交换树脂的色谱柱。
- 在线茚三酮衍生化反应单元:样品中的分析物经色谱柱分离后与茚三酮衍生试剂在高温反应单元中发生快速显色反应。
- 检测器:可见光分光光度计。

f) 数据处理系统:主要由计算机及色谱工作站组成,用于记录和处理色谱分析的数据。

7.2 校准

设备在投入使用前,应采用校准方式,对检测分析结果的准确性或有效性有显著影响的设备,包括用于测量环境条件等辅助测量设备有计划地实施检定或校准,以确认其是否满足检测分析的要求。按照 JJG 1064—2011 氨基酸分析仪检定规程进行校准,并符合相应检测要求。仪器性能的计量指标包括泵流量设定值误差 S_s 、泵流量稳定性 S_R 、色谱柱分离度、检测器基线噪音、检测器基线漂移、检测器检测限、定性测量重复性、定量测量重复性以及仪器线性。

8 样品

8.1 样品预处理

试样经匀浆(或将试样尽量粉碎,全部通过孔径为 0.25 mm 的分样筛,充分混匀)装入磨口瓶中备用。对于粗脂肪含量大于或等于 5% 的样品,在细磨前应先用乙醚或石油醚(60 °C~90 °C)提取脱脂。根据具体实验需要进行预处理,预处理后的样品准确加入上机液,使氨基酸浓度处于仪器最佳检测范围内,0.22 μm 滤膜过滤后取清液供氨基酸分析仪检测用。预处理后的样品也可以用衍生化试剂衍生,使样品浓度处于仪器最佳检测范围内,0.22 μm 滤膜过滤后取清液供高效液相色谱仪检测用。参考条件如下。

8.1.1 测定水解氨基酸样品预处理方法

8.1.1.1 常规酸水解法

常规酸水解法使试样中的蛋白经盐酸水解成为游离氨基酸,适用于测定非含硫氨基酸:天门冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸和精氨酸的含量。水解中,色氨酸全部破坏,不能测量。含硫氨基酸部分氧化,不能测准。处理方法如下:

称取一定量试样(精确到 0.000 1 g),使试样蛋白质含量在 10 mg~20 mg 范围内。将称好的试样置于水解管中。在水解管中加入 6 mol/L 盐酸 10 mL~15 mL(视试样蛋白质含量而定),加入新蒸馏的苯酚 3 滴~4 滴,将水解管置于液氮或干冰-丙酮中冷冻 3 min~5 min,将水解管抽真空,然后充入高纯氮气,反复置换三次后,在充氮气状态下封口或拧紧螺丝盖。将水解管置于 110 °C \pm 1 °C 的电热鼓风恒温箱或水解炉内,水解 22 h。取出水解管,冷却至室温,用去离子水多次冲洗水解管,将水解液全部转移至容量瓶中,用去离子水定容,振荡混匀。过滤,准确吸取滤液于瓶中,在 40 °C~50 °C 真空干燥器中干燥,干燥后的残留物用去离子水溶解,再干燥,反复进行 2 次,最后蒸干。

8.1.1.2 氧化酸水解法

氧化酸水解法将试样蛋白中的含硫氨基酸(胱氨酸、半胱氨酸和蛋氨酸)用过甲酸氧化并经盐酸水解生成磺基丙氨酸和蛋氨酸磺进行测定。处理方法如下:

称取一定量试样(精确到 0.000 1 g),使试样蛋白质含量在 7.5 mg~25.0 mg 范围内。将称好的试样置于浓缩瓶中,于冰水浴中冷却 30 min 后加入冷却的过甲酸溶液 2 mL,在 0 °C 反应 16 h。然后加入 48% 氢溴酸 0.3 mL,充分摇匀后,在 0 °C 静置 30 min,60 °C 浓缩至干。用 6 mol/L 盐酸将残渣定量转移至水解管中,封管,将水解管置于 110 °C \pm 1 °C 的恒温干燥箱中,水解 22 h~24 h。取出水解管,冷却至室温,用去离子水多次冲洗水解管,将水解液全部转移至容量瓶中,用去离子水定容。过滤,准确吸取滤液于瓶中,在 40 °C~50 °C 真空干燥器中干燥,干燥后的残留物用去离子水溶解,再干燥,反复进行 2 次,最

后蒸干。

8.1.1.3 碱水解法

碱水解法将试样蛋白经碱水解,水解出的色氨酸供测定。处理方法如下:

称取一定量试样(精确到 0.000 1 g),使试样蛋白质含量在 7.5 mg~25.0 mg 范围内。将称好的试样置于聚四氟乙烯衬管中,加入碱解剂(4 mol/L 氢氧化锂溶液)1.5 mL,于液氮或干冰丙酮中冷冻,然后将衬管插入水解玻管,充入高纯氮气,封管。将水解管置于 110 °C ± 1 °C 恒温干燥箱中,水解 22 h~24 h。取出水解管,冷却至室温,用 pH_{4.3} 的柠檬酸钠缓冲液将水解液转移至 25 mL 容量瓶中,加入盐酸溶液中和,并用上述缓冲液定容。离心或用 0.22 μm 滤膜过滤后取清液供检测用。经碱水解出的色氨酸可用氨基酸分析仪或高效液相色谱仪直接测定。

8.1.2 测定游离氨基酸样品预处理方法

游离氨基酸试样不需要进行样品的水解,在分析前根据样品的具体情况需进行提取、脱脂、除蛋白、脱色等处理。

8.1.2.1 液体样品

8.1.2.1.1 酱油、果汁及含植物材料的液体样品、生理体液样品(包括血液、脊髓液、眼内液、尿液等)

a) 磺基水杨酸法

量取新鲜样品液与等体积 1%~10% 的磺基水杨酸溶液混合,磺基水杨酸的浓度和用量根据样品中游离氨基酸的含量而定。脊髓液中几乎所有的氨基酸含量都相对较低,直接把磺基水杨酸晶体加入到样品液中,使溶液中磺基水杨酸浓度达 1%~3%。充分摇匀,置于 4 °C 冰箱 1 h,取出,14 000 r/min 高速离心 15 min,取上清液。

b) 三氯乙酸法

量取新鲜样品液 0.5 mL,加入 1%~5% 三氯乙酸溶液 3.0 mL,混匀,14 000 r/min 高速离心 15 min,取上清液,减压蒸干,残留物用去离子水溶解,再干燥,反复进行 3 次,最后蒸干。

8.1.2.1.2 含氨基酸的叶面肥

称取试样 1 g~5 g(精确到 0.000 1 g),置于容量瓶中,用去离子水定容,摇匀,取上清液 2 mL,加入 5% 磺基水杨酸溶液 2 mL,混匀,放置 1 h,加入 1% 乙二胺四乙酸(EDTA)溶液 1 mL 和 0.06 mol/L 盐酸 1 mL,14 000 r/min 高速离心 15 min,取上清液。

8.1.2.2 固体样品,包括动植物组织、粪便等

a) 磺基水杨酸法

称取匀浆后的动物组织 2 g(精确到 0.000 1 g)加入 5 倍体积的 3% 磺基水杨酸溶液,混匀,放置 1 h,14 000 r/min 高速离心 15 min,取上清液。

b) 乙醇提取法

称取新鲜样品 5 g(精确到 0.000 1 g),加入 70%~80% 乙醇 200 mL,回流提取 20 min,过滤,残渣用乙醇提取 2 次,过滤,合并滤液,减压蒸除乙醇,将残留物倒入分液漏斗内,加 10 mL 乙醚萃取,除去脂类和部分色素,水层转移至圆底烧瓶中减压蒸干。

8.2 样品浓度范围

根据具体实验需要进行方法优化,参考浓度范围:0.02 mmol/L~1 mmol/L。

9 定量分析

9.1 实验前准备工作

开机,打开仪器控制软件,清洗泵,进样器流路和进样针,平衡仪器。

9.2 实施步骤

9.2.1 预实验或验证试验

编辑方法文件、分析程序、积分参数以及样品表等工作参数。仪器参数通过优化实验确定。选择应用程序和分析方法。实验室需要使用新的分析方法时,需要经过验证方能保证数据质量,同时应保留验证记录。

9.2.2 分析

按样品表顺序放置标样(相应的混合氨基酸标准工作液)和制备好的样品。日常分析时,20个样品应包含一个质量控制(quality control, QC)样品和一个空白样品,并且应进行平行分析来控制数据的质量。空白试验所制备的样品除不加试样外,与测试样品制备方法相同。分析结束后,调出测试结果,进行定性定量分析,输出数据。

10 结果报告

10.1 基本信息

结果报告中可包括:委托单位信息、样品信息、仪器设备信息、环境条件、制样方法、检测方法(依据标准)、检测结果、检测人、校核人、批准人、检测日期等。必要和可行时可给出定量分析方法和结果的评价信息。

10.2 检测结果

包括前处理方法、谱图、计算结果等必要的信息。

10.3 分析结果的表述

10.3.1 定性分析

在相同的分析条件下,氨基酸标准品中各种氨基酸被洗脱的时间、峰面积是确定的,通过比较样品和氨基酸标准品中各氨基酸的保留时间,可定性鉴定未知样品中氨基酸组分。为了进一步确认组分定性的准确性,可采用改变分析条件再对照的方法。

10.3.2 定量分析

根据具体实验需要采用外标法(标准曲线法或外标单点法)或内标法对所测未知试样进行定量分析。用“正确度”和“精密度”两个术语来描述一种测量方法的准确度。精密度反映了偶然误差的分布,而与真值或规定值无关;正确度反映了与真值的系统误差,用绝对误差或相对误差表示。在实际工作中,可用标准物质或标准方法进行对照试验,计算误差;或加入被测定组分的纯物质进行回收试验,计算回收率。精密度与被测组分浓度有关,必须指明测量精密度时所用的浓度,同时,要标明测量次数(n = 测量次数)。必要时按照 JJF 1059.1—2012 中的评定方法和原则进行分析结果测量不确定度的必要评定与表示。

试样中各氨基酸的含量按下式(1)计算:

$$X_i = \frac{c_i \times V \times F \times M}{m \times 10^9} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

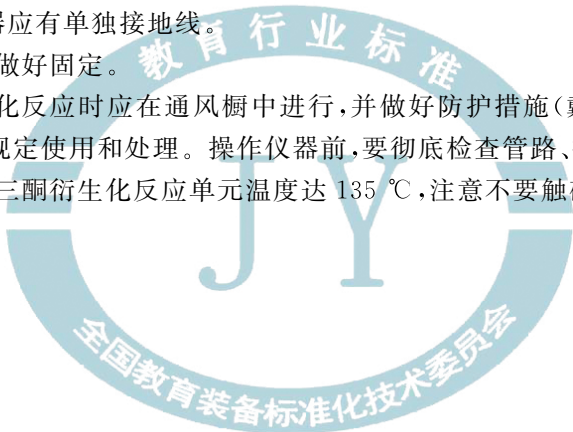
式中：

- X_i ——试样中氨基酸 i 的含量,单位为克每百克(g/100 g)；
- c_i ——试样测定液中氨基酸 i 的含量,单位为纳摩尔每毫升(nmol/mL)；
- V ——水解后试样定容体积,单位为毫升(mL)；
- F ——试样稀释倍数；
- M ——氨基酸 i 的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol)；
- m ——称样量,单位为克(g)；
- 10^9 ——将试样含量由纳克(ng)折算成克(g)的系数；
- 100——换算系数。

以上两个平行试样测定结果的算术平均值报告结果,保留两位小数。在重复性测定条件下,两次独立测定结果的绝对差值不应超过其算数平均值的 12%。

11 安全注意事项

- 11.1 电源应良好接地,仪器应有单独接地线。
- 11.2 正确使用压力容器并做好固定。
- 11.3 配置溶液及进行衍生化反应时应在通风橱中进行,并做好防护措施(戴防护眼镜、戴手套、穿防护服)。溶剂和废液严格按照规定使用和处理。操作仪器前,要彻底检查管路、接头等处是否漏液和漏气。
- 11.4 氨基酸分析仪在线茚三酮衍生化反应单元温度达 135 °C,注意不要触碰,防止烫伤。



附录 A

(资料性附录)

氨基酸分析-高效液相色谱法

A.1 氨基酸分析-高效液相色谱法原理

氨基酸样品经适当的样品前处理后,采用异硫氰酸苯酯(PITC)或其他衍生化试剂作为柱前衍生剂。以 PITC 作为柱前衍生化试剂为例说明。PITC 与氨基酸分子中的氨基(亚氨基)发生定量的衍生化反应,产生苯氨基硫甲酰氨基酸(PTC-AA)。由于在氨基酸的结构上引入了苯环,使氨基酸的极性降低而有利于反相色谱分离。衍生产物 PTC-AA 的混合物在色谱柱中随流动相作相对移动时,混合氨基酸衍生物在两相间进行反复多次的分配。因两相间分配系数不同,使混合组分达到分离。苯环的引入也使紫外检测器能够高灵敏度地定量检测 PTC-AA。以标准混合氨基酸的 PITC 衍生物 PTC-AA 绘制标准工作曲线,即可对待测试样中的 PTC-AA 进行定量分析。

A.2 氨基酸柱前衍生化方法

A.2.1 异硫氰酸苯酯(PITC)柱前衍生氨基酸分析法

本方法是依据氨基酸与异硫氰酸苯酯(PITC)反应,生成有紫外响应的氨基酸衍生物苯氨基硫甲酰氨基酸(PTC-AA),PTC-AA 经反相高效液相色谱分离后用紫外检测,在一定的范围内其吸光值与氨基酸浓度成正比。根据具体实验需要进行方法优化,参考条件如下:

a) 试剂:

- 1) 流动相 A 液:0.1 mol/L 醋酸钠溶液(取无水醋酸钠 8.2 g,加水 900 mL 溶解,用冰醋酸调 pH 至 6.5,然后加水至 1 000 mL,混匀),用 0.45 μm 的滤膜过滤。取此液 930 mL 与 70 mL 乙腈混合,超声波脱气 5 min 后备用。
- 2) 流动相 B 液:分别量取 800 mL 乙腈和 200 mL 超纯水混合,超声波脱气 5 min 后备用。
- 3) 内标溶液:称取一定量正亮氨酸,溶于 0.1 mol/L 盐酸水溶液,得到 0.02 mol/L 正亮氨酸内标溶液。
- 4) 衍生化试剂:将 250 μL 异硫氰酸苯酯用乙腈定容至 10 mL,得到 0.2 mol/L 异硫氰酸苯酯溶液。
- 5) 氨基酸储备液:称取一定量氨基酸标准品,用 0.1 mol/L 盐酸水溶液溶解,胱氨酸为 0.01 mol/L,酪氨酸为 0.02 mol/L,其他氨基酸为 0.05 mol/L。
- 6) 氨基酸使用液:将储备液用 0.1 mol/L 盐酸水溶液稀释,得到浓度为 0.002 mol/L 的氨基酸单标和混标(胱氨酸浓度为 0.001 mol/L)。

b) 标准溶液衍生:

精密量取 200 μL 氨基酸混合使用液,置于离心管中,准确加入正亮氨酸内标溶液 20 μL ,1 mol/L 三乙胺乙腈溶液 100 μL 和 0.2 mol/L 异硫氰酸苯酯乙腈溶液 100 μL ,混匀,室温反应 1 h,然后加入正己烷 400 μL ,旋紧盖子后剧烈振荡 5 s~10 s,静置分层,取 200 μL 下层溶液与 800 μL 水混合,过滤,供分析检测用;

c) 样品溶液衍生:

精密量取 200 μL 样品溶液(蛋白质水解液或游离氨基酸溶液),置于离心管中,加入正亮氨酸内标溶液 20 μL ,混匀,再加入 1 mol/L 三乙胺乙腈溶液 100 μL 和 0.2 mol/L 异硫氰酸苯酯乙腈

溶液 100 μL , 混匀, 室温反应 1 h, 然后加入正己烷 400 μL , 旋紧盖子后剧烈振荡 5 s~10 s, 静置分层, 取 200 μL 下层溶液与 800 μL 水混合, 过滤, 供分析检测用。

A.2.2 6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯(AQC)柱前衍生氨基酸分析法

本方法是依据氨基酸与 6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯(AQC)反应, 生成有紫外与荧光响应的不对称尿素衍生物(AQC-氨基酸), AQC-氨基酸经反相高效液相色谱分离后用紫外或荧光检测, 在一定的范围内其吸光值与氨基酸浓度成正比。根据具体实验需要进行方法优化, 参考条件如下:

a) 试剂:

- 1) 流动相 A 液: 取醋酸铵 10.8 g 或无水醋酸钠 11.5 g, 加水 900 mL 溶解, 用磷酸调 pH 至 5.0 然后加水至 1 000 mL 定容。
- 2) 流动相 B 液: 分别量取 600 mL 乙腈和 400 mL 超纯水混合, 超声波脱气 5 min 后备用。
- 3) 衍生试剂: 取 AQC 适量, 加乙腈溶解并稀释制成每 1 mL 中含 1 mg AQC 的溶液。

b) 衍生方法:

精密量取 10 μL 样品溶液(蛋白质水解液或游离氨基酸溶液)放入衍生管中, 加入 70 μL 0.4 mol/L 硼酸盐缓冲水溶液(pH8.8), 涡旋混和并加入 20 μL AQC 衍生剂, 涡旋混和 15 s。样品管用石蜡膜封口, 放于 55 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中加热 10 min, 待测。氨基酸标准溶液处理同上。

A.2.3 邻苯二醛(OPA)和 9-芴甲基氯甲酸酯(FMOC)柱前衍生氨基酸分析法

本方法是依据一级氨基酸在巯基试剂存在下, 首先与邻苯二醛(OPA)反应, 生成 OPA-氨基酸。反应完毕后, 加入 9-芴甲基氯甲酸酯(FMOC), 剩余的二级氨基酸与 FMOC 继续反应, 生成 FMOC-氨基酸, 两次反应生成的氨基酸衍生物经反相高效液相色谱分离后用紫外检测, 在一定的范围内其吸光值与氨基酸浓度成正比。根据具体实验需要进行方法优化, 参考条件如下:

a) 试剂:

- 1) 流动相 A 液: 称取醋酸钠 7.5 g, 加水 4 000 mL 溶解, 加三乙胺 800 μL , 四氢呋喃 24 mL, 混匀, 用 2% 醋酸调 pH 至 7.2;
- 2) 流动相 B 液: 称取醋酸钠 10.88 g, 加水 800 mL 溶解, 用 2% 醋酸调 pH 至 7.2, 加乙腈 1 400 mL, 甲醇 1 800 mL, 混匀;
- 3) 缓冲液: 取硼酸 24.73 g, 加水 800 mL 溶解, 用 40% 氢氧化钠溶液调 pH 至 10.4, 然后加水稀释至 1 000 mL, 得 0.4 mol/L 硼酸盐缓冲液(pH10.4);
- 4) 衍生试剂: 称取 OPA 80 mg, 加 0.4 mol/L 硼酸盐缓冲液(pH10.4) 7 mL, 加乙腈 1 mL, 3-巯基丙酸 125 μL , 混匀, 得 OPA 溶液。取 FMOC 40 mg, 加乙腈 8 mL 溶解, 得 FMOC 溶液。

b) 衍生方法:

精密量取氨基酸水解液 50 μL , 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 0.4 mol/L 硼酸盐缓冲液(pH10.2) 250 μL , 混匀, 精密加入 OPA 衍生剂 50 μL , 混匀, 放置 30 s, 精密加入 FMOC 衍生剂 50 μL , 混匀, 待测。氨基酸标准溶液处理同上。

注: 由于 OPA-氨基酸不稳定, 因此衍生后应立即进行分离测定。或者通过液相色谱自动进样器来进行柱前自动衍生。

参 考 文 献

- [1] GB/T 18246—2000 饲料中氨基酸的测定
 - [2] GB/T 5009.124—2016 食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定
 - [3] GB/T 18654.11—2008 养殖鱼类种质检验 第 11 部分:肌肉中主要氨基酸含量的测定
 - [4] NY/T 1618—2008 鹿茸中氨基酸的测定 氨基酸自动分析仪法
 - [5] NY/T 1975—2010 水溶肥料 游离氨基酸含量的测定
 - [6] QB/T 4356—2012 黄酒中游离氨基酸的测定 高效液相色谱法
-

