

柱前衍生 RP-HPLC 法测定肽藻营养粉中游离氨基酸的含量

欧阳道福, 杨泽锐, 郁晓艺, 吴晓春

(完美(广东)日用品有限公司, 完美(中国)有限公司, 广东中山 528402)

摘要: 本研究建立了柱前衍生化反向高效液相色谱法(RP-HPLC)测定肽藻营养粉中游离氨基酸的方法, 并确认了肽藻营养粉中的氨基酸种类以及含量。通过研究确定了高效液相色谱法的最佳条件: 流动相 A: 醋酸钠-三乙胺缓冲液(pH 7.20±0.05), 加入 0.5% 四氢呋喃调节峰型; 流动相 B: 醋酸钠缓冲液(pH 7.20±0.05)-乙腈-甲醇(20:40:40), 以邻苯二甲醛(OPA)和氯甲酸苄甲脂(FOMC-Cl)为衍生剂, 使用 Agilent Hypersil ODS 色谱柱(5 μm, 4.0×250 mm), 柱温 40 °C, 自动在线衍生, 检测波长为 338 nm/262 nm。利用该方法检测出 17 种氨基酸, 其中包含 8 种必需氨基酸, 另外结果显示 17 种氨基酸均呈现良好的线性关系($r > 0.9990$), 平均回收率为 85%~115% (RSD 为 1.15%~5.23%, $n=6$)。10 个批次样品中分别检测到至少 15 种游离氨基酸。表明该方法简便、准确且重复性好, 适用于肽藻营养粉游离氨基酸含量测定。

关键词: 肽藻营养粉; 游离氨基酸; 反向高效液相色谱法(RP-HPLC); 柱前衍生

文章编号: 1673-9078(2018)07-280-285

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.7.041

Determination of Amino Acids in Peptide Nutrition Powder by RP-HPLC with Pre-column Derivatization

OUYANG Dao-fu, YANG Ze-rui, YU Xiao-yi, WU Xiao-chun

(PERFECT(CHINA)CO., Ltd, PERFECT(Guangdong) Commodity CO., Ltd, Zhongshan 528402, China)

Abstract: The method for determining the type and content of free amino acids in the peptide nutrition powder was established by using the column derivatization reverse high performance liquid chromatography (RP-HPLC) for the first time. The optimal mobile phase A were determined as sodium acetate - triethylamine buffer (pH 7.20 ± 0.05) with tetrahydrofuran (0.5%) to adjust the peak type. And the best mobile phase B was sodium acetate buffer (pH 7.20 + 0.05) - acetonitrile-methanol (20:40:40). O-phthalaldehyde (OPA) and Fluorene methyl chloroformate (FOMC-Cl) were used as the pre-column derivatization reagent. Separation was performed on an Agilent Hypersil ODS column (4.0 mm×250 mm, 5μm) with column temperature of 40 °C. The detection wavelength was set at 338 nm /262 nm. 17 kinds of amino acids, including 8 essential amino acids, were determined by using the former method. The results showed that all the 17 amino acids were in good liner relationship. And the average recovery rates of the hydrolyzed amino acids in peptide nutrition powder of Perfect Brand ranged from 85% to 115% (RSD 1.15%~5.23%, $n=6$). At least 15 kinds of amino acids were detected in the powder. The results also indicated that the method was accurate, sensitive and simple, and proved to be suitable for the quantification of each amino acid in peptide nutrition powder of Perfect Brand.

Key words: Peptide Nutrition Powder; amino acids; RP-HPLC; pre-column derivatization

肽藻营养粉由南瓜粉、大豆肽、薏苡仁粉、低聚果糖、乳清蛋白、螺旋藻、玉米粉、植脂末、麦芽、莲子粉、乙基麦芽酚、三氯蔗糖为原料, 经混合、分装制成的具有增强免疫力功能的保健食品, 其含有丰富的多肽类及游离氨基酸类成分。氨基酸是构成人体蛋白质的组成部分, 也是机体合成抗体、激素、酶类以及其他组织的原料。而且作为一种人体可直接吸收

收稿日期: 2018-03-07

作者简介: 欧阳道福(1967-), 男, 学士, 制药工程师, 从事健康食品研究

通讯作者: 杨泽锐(1991-), 男, 硕士, 主要从事中药保健品质量标准研究

的营养成分, 它的含量和成分能够部分地反映出食品的营养价值, 游离氨基酸不仅可以维护新陈代谢、生长、免疫, 还可以呈现出酸、甜、苦、涩及鲜等味道, 赋予了食品丰富的味觉层次^[1]。然而对于肽藻营养粉中游离氨基酸的种类及其含量的研究目前并未见文献报道。

目前文献资料及国标中主要采用氨基酸分析仪法和高效液相色谱法^[2-6]测定氨基酸的含量。氨基酸分析仪法具有操作简便, 无需单独进行柱前衍生等优点, 但在运用过程中有硬件配置复杂、用途专一、灵活性

差、购买及维护成本高、分析时间很长、破坏氨基酸的固有结构等缺点；近年来高效液相色谱已广泛用于氨基酸的测定，其无需特殊反应装置，具有高效、简便、快速、准确和价格低廉等优点，已成为检测氨基酸的首选方法。

本研究参考 GB/T 22729-2008 海洋鱼低聚肽粉^[7]中游离氨基酸高效液相色谱仪测定法建立了柱前自动衍生化 RP-HPLC 法同时测定肽藻营养粉多种游离氨基酸的方法，以期为肽藻营养粉及其同类产品游离氨基酸种类的确定及其质量控制提供参考，同时确定肽藻营养粉中游离氨基酸的种类及其具体含量，为其增强免疫力保健功能的物质基础提供数据支撑。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

游离氨基酸混合对照品 (1 nmol/ μ L)，(批号：BCBT8196)：美国安捷伦科技有限公司；完美餐牌肽藻营养粉 (批号为 164227-1、164227-2、164227-3、164227-4、164227-5、164227-6)：完美 (中国) 有限公司；纯化水、超纯水：超纯水系统制备；三氯乙酸、冰醋酸、三水合乙酸钠、三乙胺、3-巯基丙酸、硼酸、四氢呋喃：分析纯，广州化学试剂厂；甲醇、乙腈：色谱纯，美国默克公司。

1.2 仪器与设备

Sartorius CPA225D 电子天平：德国赛多利思公司；Agilent 1260 高效液相色谱仪：美国安捷伦公司；Elma P180H 型超声波清洗器：德国艾尔玛公司；AnkeLXJ-IIB 离心机：上海安亭科学仪器厂；MILLI-Q 超纯水系统：德国默克公司。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent Hypersil ODS；柱温 40 $^{\circ}$ C；检测器为二极管阵列检测器，检测波长为 0~24 min 为 338 nm，24 min 以后切换为 262 nm；流动相 A：醋酸钠-三乙胺缓冲液 (pH 7.20 \pm 0.05)，加入 0.5% 四氢呋喃调节峰型；流动相 B：醋酸钠缓冲液 (pH 7.20 \pm 0.05)-乙腈-甲醇 (20:40:40)，梯度洗脱，洗脱程序为 0~27 min，92%~40% A；27~31.5 min，40%~0% A；31.5~32 min，0% A；32~34 min，0%~100% A；34~35.5 min，100%~92% A；流速为 1.0 mL/min。

1.3.2 溶液的配制

1.3.2.1 硼酸缓冲液的配制

称取 2.44 g 硼酸至 100 mL 烧杯中，加水溶解，加 200 g/L 氢氧化钠调节 pH 至 10.2 \pm 0.1，转移至 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，即得。

1.3.2.2 OPA 衍生剂的配制

称取 100 mg OPA 到 10 mL 容量瓶中，加 1 mL 乙腈，130 μ L 3-巯基丙酸，以 0.4 mol/L 硼酸缓冲液定容至刻度，摇匀。

1.3.2.3 FOMC-Cl 衍生剂的配制

称取 50 mg FOMC-Cl 到 10 mL 容量瓶中，用乙腈定容至刻度，摇匀。

1.3.2.4 对照品溶液的配制

取游离氨基酸混合对照品 (1 nmol/ μ L) 直接过 0.45 μ m 水相滤膜，即得。

1.3.2.5 供试品溶液的制备

精密称取肽藻营养粉样品 1 g 于 25 mL 容量瓶中，加入 20 mL 5% 三氯乙酸溶液，超声 20 min，定容至 25 mL，静置 2 h，4000 r/min 离心 30 min，取上清液过 0.45 μ m 水相滤膜，即为供试品溶液。

1.3.3 衍生方法

利用自动进样器进行在线自动衍生：衍生程序如表 1 所示：

表 1 柱前衍生化步骤

Table 1 The steps of precolumn derivatization

步骤	命令	目的
1	从样品瓶 4 速率 200 μ L/min 抽取 5.0 μ L	吸缓冲液
2	从样品瓶 3 速率 200 μ L/min 抽取 0.0 μ L	洗针
3	从样品速率 200 μ L/min 抽取 1.0 μ L	吸样品
4	从样品瓶 3 速率 200 μ L/min 抽取 0.0 μ L	洗针
5	将 6.0 μ L 混合到空气，最大速度中，3 次	混合三次
6	从样品瓶 1 速率 200 μ L/min 抽取 1.0 μ L	吸 OPA
7	从样品瓶 3 速率 200 μ L/min 抽取 0.0 μ L	洗针
8	将 7.0 μ L 混合到空气，最大速度中，15 次	混合十五次

转下页

接上页

9	从样品瓶2 速率 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ 抽取 1.0 μL	吸 FOMC-Cl
10	从样品瓶3 速率 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ 抽取 0.0 μL	洗针
11	将 8.0 μL 混合到空气, 速率 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ 中, 15 次	混合 15 次
12	从样品瓶 11 速率 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ 抽取 32.0 μL	吸水
13	将 20.0 μL 混合到空气, 速率 300 $\mu\text{L}/\text{min}$ 中, 3 次	混合 3 次
14	进样	进样

注: 样品瓶 1 放置 OPA 衍生剂; 样品瓶 2 放置 FOMC-Cl 衍生剂; 样品瓶 3 放置水 (瓶盖不加垫片); 样品瓶 4 放置 0.4 mol/L 硼酸。

2 结果与讨论

2.1 仪器条件的优化

2.1.1 流动相的选择

比较了以下两种流动相: 流动相 1: 流动相 A: 醋酸钠-三乙胺缓冲液 (pH 7.20 \pm 0.05), 加入 0.3% 四氢呋喃调节峰型; 流动相 B: 醋酸钠缓冲液 (pH 7.20 \pm 0.05) - 乙腈 - 甲醇 (20:40:40) (国标 GB/T 22729-2008 中使用的流动相); 流动相 2: 流动相 A: 醋酸钠-三乙胺缓冲液 (pH 7.20 \pm 0.05), 加入 0.5% 四氢呋喃调节峰型; 流动相 B: 醋酸钠缓冲液 (pH 7.20 \pm 0.05) - 乙腈 - 甲醇 (20:40:40)。

两种流动相条件均梯度洗脱, 洗脱程序为 0~27 min, 92%~40% A; 27~31.5 min, 40%~0% A; 31.5~32 min, 0% A; 32~34 min, 0%~100% A; 34~35.5 min, 100%~92% A; 流速为 1.0 mL/min; 色谱柱为 Agilent Hypersil ODS; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 检测器为二极管阵列检测器, 检测波长为 0~24 min 为 338 nm, 24 min 以后切换为 262 nm。

在此条件下, 由图 1 可知, 两种流动相条件下均能使 17 种氨基酸进行有效分离, 但是流动相 1 中峰 2 的峰型较差, 且各成分保留时间相对偏后, 分析时间较长, 因此选择流动相 2 作为最终流动相。

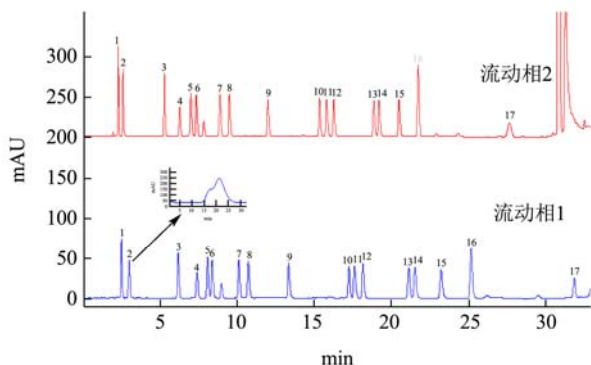


图 1 不同流动相考察结果图

Fig.1 HPLC chromatograms with different mobile phase

2.1.2 色谱柱的选择

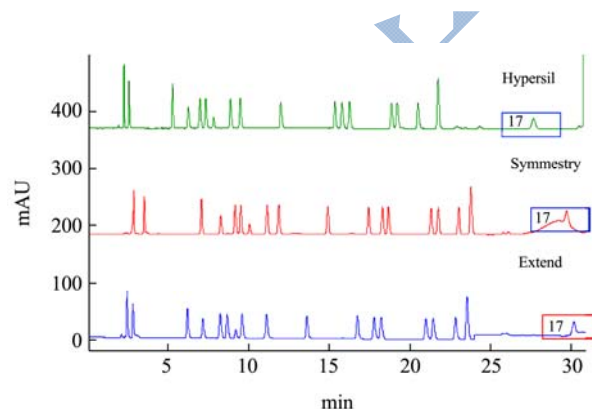


图 2 不同色谱柱考察结果图

Fig.2 HPLC chromatograms with different type of column

本研究系统考察了三种不同型号 (Agilent Hypersil ODS, 5 μm , 4.0 \times 250 mm; Agilent Extend ODS, 5 μm , 4.6 \times 250 mm; Waters Symmetry ODS, 5 μm , 4.6 \times 250 mm) 色谱柱的效果, 结果如图 2 所示, Symmetry 和 Extend 的柱子分离度和脯氨酸(17号峰)的峰型均不理想, 综合分析 Hypersil 柱子的分离度和峰型均达到最佳状态。

2.1.3 柱温的选择

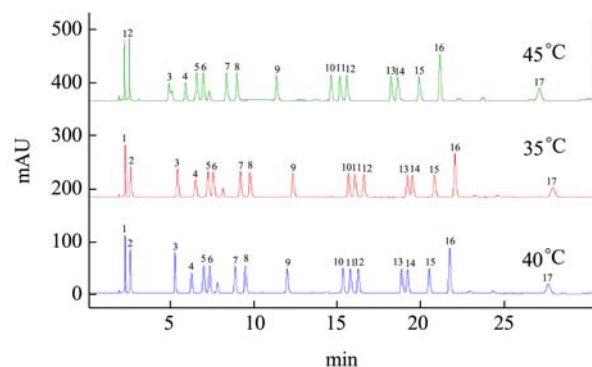


图 3 不同柱温考察结果图

Fig.3 Figures of HPLC chromatograms with different column temperature

温度的微小变化能引起流动相密度改变, 进而改变对分析物的溶解能力, 所以调节柱温可以调节目标化合物的分离效果。本研究考察了三种不同柱温条件下色谱的分离情况, 结果如图 3 所示, 35 $^{\circ}\text{C}$ 下 13 和 14 号峰分离度为 1.37, 45 $^{\circ}\text{C}$ 下 3 号峰出现裂峰, 峰型

不好,综合分析 40 °C 条件下分离度和峰型均达到最佳状态,因此最终选择柱温为 40 °C。

2.1.4 衍生方式的选择

氨基酸极性较强,为提高其在反相液相色谱柱上的保留,常常需要将氨基酸进行柱前衍生。柱前自动衍生-HPLC 法测定氨基酸的含量时,由于衍生试剂或衍生产物不稳定,导致手工操作很难保证衍生过程的快速、及时、均一。本方法采用带全自动衍生功能的自动进样器按预先设定的程序,以 OPA 和 FOMC-Cl 为衍生试剂进行在线衍生,衍生后直接进样分析,有效消除了离线衍生由于进样时间不同和手工操作速度慢、不均一造成的误差,不仅提高了准确性,而且简化了操作过程并降低了工作强度^[8-10]。

2.1.5 色谱条件确认

根据“2.1.1~2.1.4”考察所得结果,精密吸取混合对照品溶液、空白溶剂试液以及供试品试液各 1 μL,按照“1.3.3”项在线衍生处理后,以“1.3.1”项色谱条件进行分析,结果见图 4。结果表明,在此色谱条件下,各氨基酸成分可以有效分离,空白溶剂在与混合对照品溶液色谱图相同保留时间处不出现相同色谱峰,而供试品在与混合对照品溶液色谱图相同保留时间处出现相同色谱峰。说明该方法专属性性好,阴性无干扰。氨基酸 17 个衍生物色谱峰的分离度及理论塔板数见表 2。由表 2 可知,各氨基酸衍生物的分离度均大于 1.5,理论塔板数均大于 10000。(注:在空白溶剂色谱

图上,与 5 号对照品相同位置处出现一个色谱峰,但其信噪比仅为 6.1,低于定量限,故可忽略不计)。

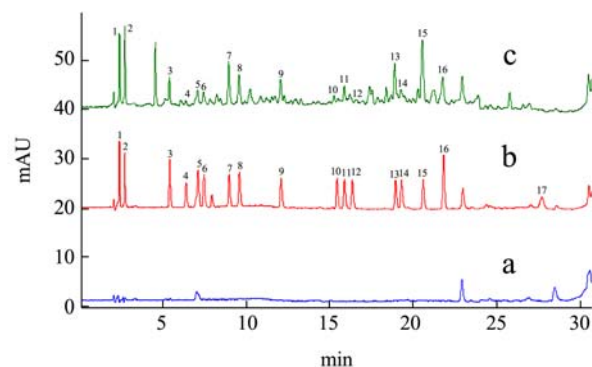


图 4 各溶液高效液相色谱图

Fig.4 HPLC chromatograms of different solutions

注: a 自衍生化溶液色谱图; b 混合对照品衍生化溶液色谱图; c 供试品衍生化溶液色谱图。

2.2 线性关系与定量限考察

分别将“1.3.2.4”项下的混合氨基酸标准品稀释为 0.025、0.063、0.125、0.200、0.500、1.000 nmol/μL,在线衍生之后进行色谱分析,以各氨基酸的峰面积为纵坐标,相应的氨基酸含量为横坐标绘制工作曲线,并求出回归方程、线性相关系数以及线性范围,并以信噪比 S/N=10 时的质量浓度作为定量限,测得各氨基酸的定量限。结果见表 3。结果表明,在下述浓度范围内,各氨基酸与各自峰面积呈良好的线性关系。

表 2 氨基酸对照品各衍生物分离度及理论塔板数

Table 2 Resolution and theoretical plate number for peaks of reference substances derivatives

峰号	化合物	保留时间/min	分离度	理论塔板数
1	天门冬氨酸	2.301	-	1.11×10 ⁴
2	谷氨酸	2.607	3.2	1.02×10 ⁴
3	丝氨酸	5.295	23.05	2.68×10 ⁴
4	组氨酸	6.29	6.39	1.93×10 ⁴
5	甘氨酸	7.013	3.82	2.04×10 ⁴
6	苏氨酸	7.374	1.86	2.39×10 ⁴
7	精氨酸	8.889	7.64	3.49×10 ⁴
8	丙氨酸	9.515	3.25	3.81×10 ⁴
9	酪氨酸	12.041	12.78	5.81×10 ⁴
10	胱氨酸	15.411	17.23	1.04×10 ⁵
11	缬氨酸	15.853	2019	8.98×10 ⁴
12	甲硫氨酸	16.323	2.24	1.00×10 ⁵
13	苯丙氨酸	18.915	12.61	1.37×10 ⁵
14	异亮氨酸	19.255	1.63	1.31×10 ⁵
15	亮氨酸	20.55	6.06	1.48×10 ⁵
16	赖氨酸	21.766	5.93	1.98×10 ⁵
17	脯氨酸	27.708	18.95	6.63×10 ⁴

表3 线性关系及定量限考察结果

Table 3 The result of linearity and the limit of quantitation

氨基酸	线性方程	r	线性范围/(nmol/ μ L)	定量限/(nmol/ μ L)
天门冬氨酸	$y=2684.2x+4.9878$	0.999	0.025~1	0.025
谷氨酸	$y=2297x+3.9989$	0.9999	0.025~1	0.025
丝氨酸	$y=3625x+2.646$	0.9998	0.025~1	0.025
组氨酸	$y=1266.4x+1.9974$	0.9998	0.063~1	0.06
甘氨酸	$y=5098.5x+19.259$	0.9999	0.031~1	0.03
苏氨酸	$y=3157.6x+0.8414$	0.9999	0.063~1	0.06
精氨酸	$y=2188.3x+0.6385$	0.9998	0.063~1	0.06
丙氨酸	$y=4358.9x+2.6296$	0.9999	0.063~1	0.06
酪氨酸	$y=1986.3x+0.033$	0.9999	0.063~1	0.06
胱氨酸	$y=1450x-0.892$	0.9997	0.063~1	0.06
缬氨酸	$y=3259.5x+0.7401$	0.9998	0.063~1	0.06
甲硫氨酸	$y=2581.2x+0.565$	0.9999	0.063~1	0.06
苯丙氨酸	$y=2244.6x-0.0489$	0.9998	0.063~1	0.06
异亮氨酸	$y=2909.7x+1.0669$	0.9998	0.063~1	0.06
亮氨酸	$y=2942.5x+0.0637$	0.9998	0.063~1	0.06
赖氨酸	$y=3800.3x-4.0517$	0.9998	0.031~1	0.03
脯氨酸	$y=2526.9x-0.1995$	0.9998	0.2~1	0.20

2.3 精密度、重复性以及加样回收率实验

表4 精密度、重复性以及加样回收率考察结果

Table 4 The result of precision/repeatability and recovery(n=6)

化合物	精密度 (RSD%)	回收率		重复性 (RSD%)
		R%	RSD%	
天门冬氨酸	0.74	89.83	4.17	3.15
谷氨酸	0.89	92.57	3.25	0.88
丝氨酸	0.84	99.11	1.83	1.85
组氨酸	0.97	90.16	4.03	7.17
甘氨酸	1.02	97.22	4.75	8.75
苏氨酸	1.03	101.36	3.4	3.76
精氨酸	0.75	97.45	2.06	2.77
丙氨酸	0.90	95.17	2.31	3.03
酪氨酸	0.85	98.17	2.54	8.46
胱氨酸	1.23	112.73	3.38	5.18
缬氨酸	0.71	97.31	1.15	6.16
甲硫氨酸	0.74	99.34	1.8	6.48
苯丙氨酸	0.64	96.06	1.81	5.27
异亮氨酸	0.99	98.95	2.68	10.20
亮氨酸	1.18	98.72	1.97	2.36
赖氨酸	0.87	97.35	2.07	3.85
脯氨酸	1.86	97.10	5.23	ND

取“1.3.2.4”项下的混合氨基酸标准品，在线衍生

之后进行色谱分析，连续进样6次，测定17种氨基酸衍生物进样精密度；精密称取样品(164227-1)6份，每份约1g，按照“1.3.2.5”项下制备供试品溶液，在线衍生之后进行色谱分析，计算各种氨基酸含量及RSD，作为重复性实验结果；精密称取已知含量的样品(164227-1)6份，精密加入“1.3.2.4”项下的混合氨基酸标准品各1mL，按照“1.3.2.5”项下制备供试品溶液，在线衍生之后进行色谱分析，计算回收率和RSD。结果见表4。结果表明，17种氨基酸的精密度均小于2%，说明仪器精密度良好；重复性实验中，除了异亮氨酸外(RSD值为10.20%)，其余各种氨基酸的RSD均小于10%，结果表明该方法重复性好；各氨基酸回收率在85%~115%之间(除胱氨酸略高外)，RSD基本均小于5%。

2.4 样品含量测定

取6个批次肽藻营养粉样品各1g，按“1.3.2(5)”项下的方法操作制备供试品溶液，每个样品平行2份，按照“1.3.3”项在线衍生处理后，以“1.3.1”项色谱条件进行分析，计算各供试品中17个游离氨基酸的含量以及总量，由测定结果(表5)可知，样品中至少含有14种氨基酸，其中6种为人体必需氨基酸。氨基酸总量均在500mg/100g以上，亮氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、精氨酸、天门冬氨酸、谷氨酸的含量均达到50mg/100g以上，可见该营养粉中的氨基酸资源非常丰

富, 为其增强免疫力保健功能的物质基础提供了数据支撑。

表 5 6 批次肽藻营养粉中 17 种游离氨基酸含量

Table 5 Contents of 17 kinds of free amino acids in peptide nutrition powder (n=2)

化合物	批号					
	164227-1	164227-2	164227-3	164227-4	164227-5	164227-6
天门冬氨酸/%	0.048	0.053	0.057	0.055	0.046	0.053
谷氨酸/%	0.068	0.073	0.075	0.059	0.053	0.062
丝氨酸/%	0.018	0.026	0.026	0.025	0.025	0.028
组氨酸/%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
甘氨酸/%	0.006	0.010	0.010	0.011	0.011	0.017
苏氨酸/%	0.015	0.014	0.014	0.012	0.012	0.013
精氨酸/%	0.073	0.065	0.064	0.074	0.073	0.078
丙氨酸/%	0.026	0.022	0.022	0.020	0.020	0.018
酪氨酸/%	0.050	0.043	0.042	0.041	0.040	0.035
胱氨酸/%	0.023	0.006	0.006	0.012	0.012	0.013
缬氨酸/%	0.020	0.014	0.013	0.011	0.011	0.011
甲硫氨酸/%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
苯丙氨酸/%	0.079	0.078	0.076	0.077	0.075	0.070
异亮氨酸/%	0.019	0.027	0.027	0.024	0.023	0.013
亮氨酸/%	0.100	0.095	0.092	0.070	0.056	0.063
赖氨酸/%	0.041	0.032	0.031	0.034	0.034	0.038
脯氨酸/%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Sum/%	0.586	0.558	0.553	0.527	0.490	0.512

3 结论

本研究通过综合考察建立了一种利用高效液相色谱测定肽藻营养粉中游离氨基酸含量的方法, 同时也确认了肽藻营养粉中的游离氨基酸种类及其含量, 该方法专属性强, 准确性高, 重复性好, 适用于肽藻营养粉中游离氨基酸的质量控制, 对于其他同类型产品也有一定借鉴参考意义。

参考文献

- [1] 黄艳. 常见果蔬中游离氨基酸含量的测定[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(9): 4088-4089
HUANG Yan. Determination of free amino acids in common fruits and vegetables [J]. Journal of Anhui Agri. Sci., 2013, 41(9): 4088-4089
- [2] 祝洪艳, 张荻, 张力娜, 等. 柱前衍生化 HPLC 法检测紫苏子和紫苏叶中氨基酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(10): 1858-1864
ZHU Hong-yan, ZHANG Di, ZHANG Li-na, et al. Determination of the amino acids in Perillae Fructus and Perillae Folium by HPLC with pre-column derivatization [J]. Chin J Pharm Anal, 2017, 37(10): 1858-1864
- [3] 陈莉, 路娟, 房碧晗, 等. HPLC 法测定多产地松露中游离氨基酸的含量[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(2): 106-109
CHEN Li, LU Juan, FANG Bi-han, et al. Determination of free amino acids in multi-origin truffles by HPLC [J]. Food Research and Development, 2015, 36(2): 106-109
- [4] 陈再洁, 殷金龙, 李坤, 等. 柱前衍生 RP-HPLC 法测定人参中 17 种氨基酸的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(35): 3334-3337
CHEN Zai-jie, YIN Jin-long, LI Kun, et al. Content Determination of 17 Kinds of Amino Acids in Panax ginseng by pre-column derivation and RPHPLC method [J]. China Pharmacy, 2012, 23(35): 3334-3337
- [5] GB 5009.124-2016, 食品安全国家标准食品中氨基酸的测定[S]
GB 5009.124-2016, Determination of amino acids in food safety national standard foods [S]
- [6] QB/T 4356-2012, 黄酒中游离氨基酸的测定高效液相色谱法[S]
QB/T 4356-2012, Determination of free amino acids in yellow rice wine by HPLC [S]
- [7] GB/T 22729-2008, 海洋鱼低聚肽粉[S]
GB/T 22729-2008, Marine fish hypopolypeptide powder [S]
- [8] 高肖飞, 肖化云, 张忠义, 等. 高效液相色谱法测定桂花叶片

- 中游离氨基酸浓度[J].地球与环境,2016,44(1):103-109
- GAO Xiao-fei, XIAO Hua-yun, ZHANG Zhong-yi, et al. Determination of free amino acids in fragrans leaves by using high performance liquid chromatography [J]. Earth and Environment, 2016, 44(1): 103-109
- [9] 山广志,左利民,余立,等.柱前衍生 HPLC 法测定脾氨肽口服液中 17 种游离氨基酸[J].中国新药杂志,2013,22(11): 1255-1258,1268
- SHAN Guang-zhi, ZUO Li-min, YU Li, et al. Determination of 17 kinds of free amino acids in oral solution of spleen amino peptide by HPLC with precolumn derivatization [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2013, 22(11): 1255-1258, 1268
- [10] 杨利,李晓东,刘树英,等.RP-HPLC 法分析萱草属植物花蕾中游离氨基酸组成[J].食品科学,2014,35(16):143-147
- YANG Li, LI Xiao-dong, LIU Shu-ying, et al. Analysis of free amino acids in flower buds of hemerocallis genus plants by RP-HPLC [J]. Food Science, 2014, 35(16): 143-147