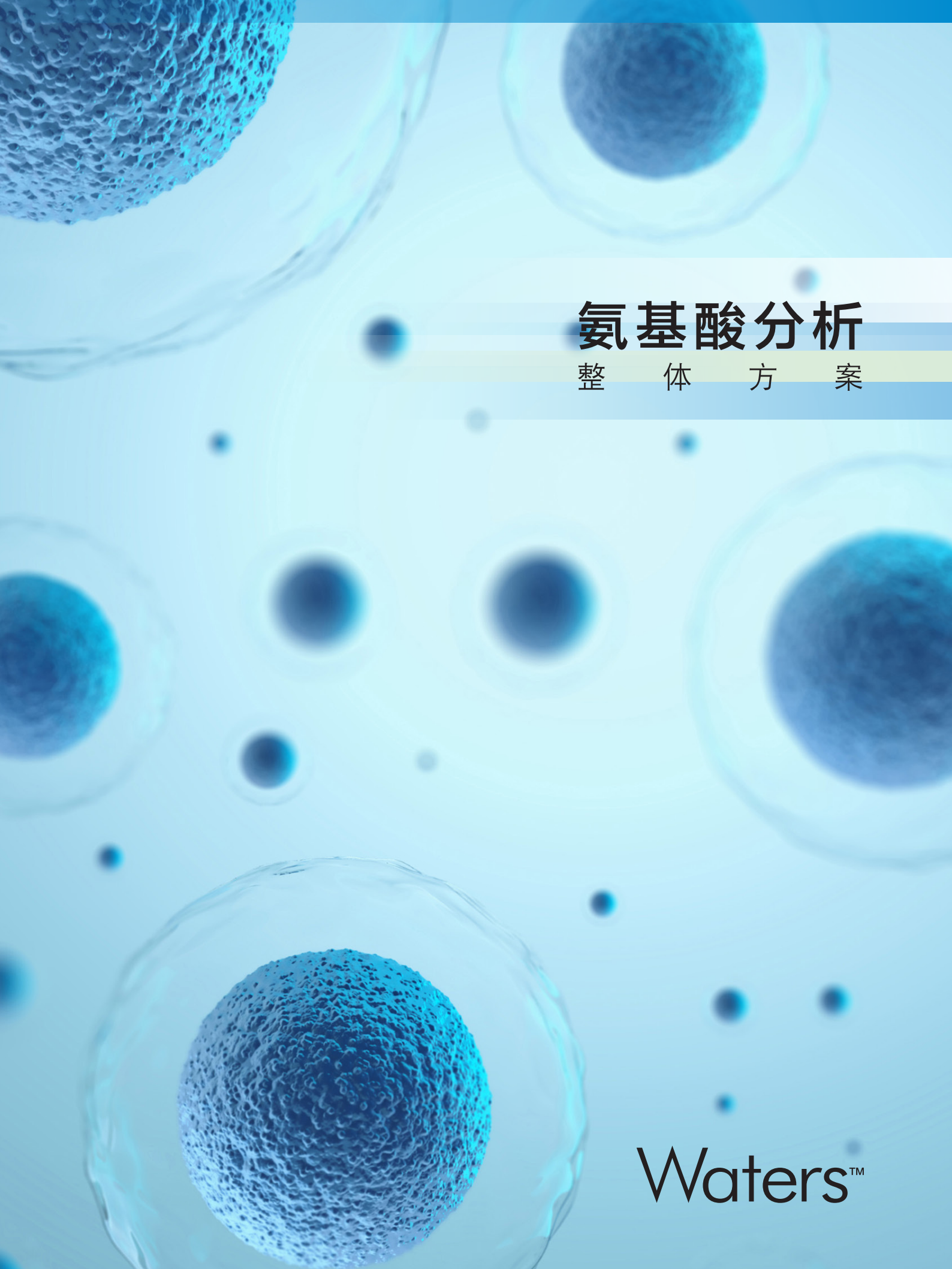




氨基酸分析

整 体 方 案

Waters™

目录

简介	03
----	----

方法原理	04
------	----

- 衍生
- 分离

试剂及标准品	07
--------	----

- 试剂及标准品
- 试剂配制

AccQ•Tag UPLC 氨基酸分析应用领域	08
-------------------------	----

- 蛋白
- 培养基
- 制药工业
- 临床
- 食品饮料及饲料

故障诊断	12
------	----

- 背景污染
- 衍生化条件优化
- 色谱分离

订货指南	16
------	----

附录	17
----	----

- AccQ•Tag UHPLC 新方案
- AccQ•Tag HPLC 方案
- Kairos 氨基酸分析方案

简介

氨基酸是蛋白质的组成部分，是许多代谢途径的中间体。定性和定量氨基酸用于确定蛋白质浓度、鉴定蛋白质和检测结构变异。氨基酸组成是食品和饲料营养价值的重要组成部分。相同的分析也用于监测细胞培养和发酵过程。同时氨基酸是一种临床诊断工具，用于评估先天性代谢和营养状况错误。

氨基酸分析是一个具有挑战性的分析问题，因为这些化合物涵盖了广泛的化学性质但又具有非常相似的组分。氨基酸也缺乏用于方便检测的共同化学特征。

反相色谱为分离氨基酸提供了良好的选择性。反相氨基酸分析最常见的通用方法是柱前衍生。衍生后的氨基酸在反相柱上保留得更好，更容易分离。除了改进色谱保留之外，衍生还可以使氨基酸易于检测。检测器可以是紫外吸收、荧光及 PDA。

AccQ•Tag™ Ultra 衍生试剂盒 (P/N:186003836) 与 AccQ•Tag 衍生试剂盒 (P/N:WAT052880) 是氨基酸分析应用方案的组成部分。该应用解决方案整合了仪器、衍生试剂、分离柱和洗脱溶液、方法，以及软件，构成一套完整的解决方案，能够保证分析人员准确、精密地分析氨基酸。AccQ•Tag 衍生试剂盒不得与应用解决方案中的其他组件分开，若单独用于氨基酸分析，其定性和定量分析结果不准确的风险相当高。

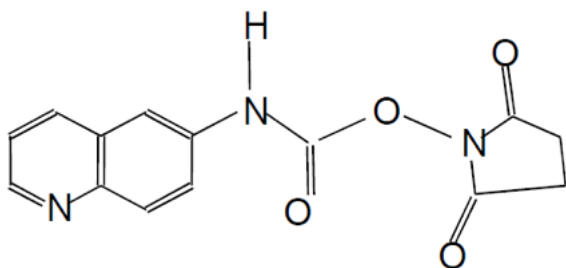
AccQ•Tag Ultra 衍生试剂盒 (P/N:186003836) 与 AccQ•Tag 衍生试剂盒 (P/N: WAT052880) 不同。尽管这两款试剂盒的规定化学成分相同，但 AccQ•Tag Ultra 衍生试剂盒质量控制测试采用的是 UV 检测法。与之相比，AccQ•Tag 衍生试剂盒质量控制测试采用荧光检测法。两款试剂盒互换使用可能导致预期外的干扰，进而可能影响灵敏度或导致峰难以鉴别。



方法与原理

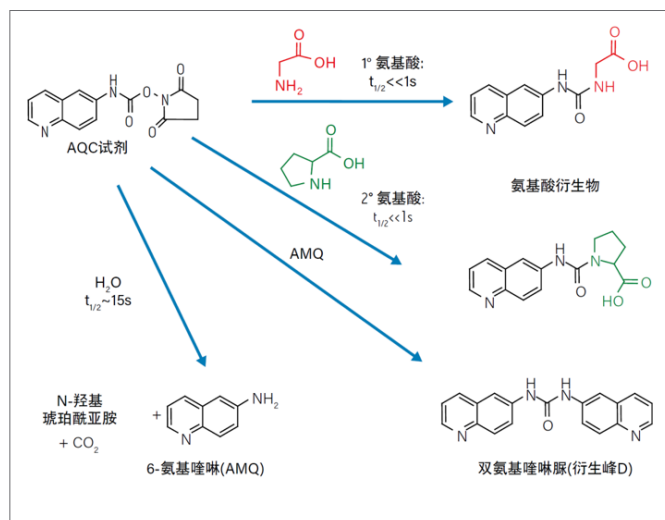
衍生

衍生试剂: AccQ·Tag Ultra



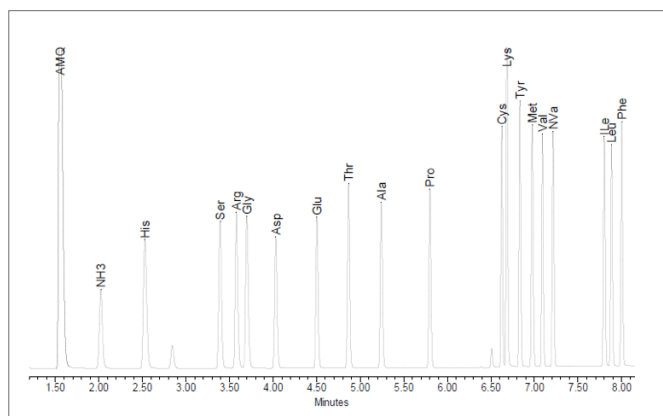
AQC (6-氨基喹啉基-N-羟基琥珀酰亚氨基氨基甲酸酯)

- 采用单一衍生试剂，与伯胺，仲胺都会迅速反应。
- 反应迅速，半衰期 <1s；水解半衰期 ~15s。
- 标记后的产物非常稳定，常温下一周内无降解，4°C时稳定时间可达一个月。
- 通过衍生方法检测氨基酸的先决条件，必须保证衍生反应的彻底，所有氨基酸都被标记成功。经过优化发现，pH 在 8.2-10.0 时（具体数据）反应得率可以达到 100%，当衍生试剂与氨基酸的摩尔比值大于 5 时（具体数据）所有氨基酸都被标记上（具体详见 5.1），所以 pH 值和物料比是影响反应得率最重要的两个因素。



分离

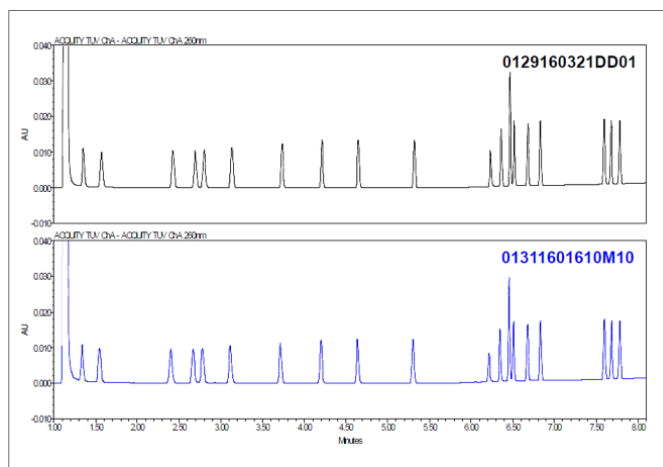
分离是氨基酸分析的核心，AccQ·Tag Ultra 衍生的氨基酸能够实现基线分离，保证了数据的重现性。



衍生产物浓度为 50 pmol/L 6 针进样的重叠图。

色谱柱

氨基酸专用柱均经过氨基酸混标的 QC 测试，保证每根色谱柱都有一致的分离和峰形。

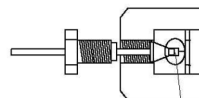


不同批次色谱柱重现性测试。

色谱柱的使用：

a) 色谱柱的连接

- i. Stop-depth 过短造成柱前死体积 — 柱外扩散，造成色谱峰的展宽。



b) 测定柱效

- i. 新柱在启用前，应测定柱效，并做记录。
- ii. 测柱效的色谱条件：根据色谱柱 COA 报告进行测定。

c) 色谱柱的保存

- i. 保存前充分洗净缓冲盐和杂质。
- ii. 若保存时间不超过 3 天（72 小时），用 60: 40 乙腈 / 水充满柱子。
- iii. 若保存时间超过 72 小时，可用纯乙腈充满。
- iv. 注意密封，不可使柱子放干。

d) 色谱柱的清洗

- i. 用 100% 乙腈以 0.5mL/min 流速，冲洗 30 分钟。

● 流动相和梯度条件

流动相经过优化，保证了高效的分离性能，商品化的流动相，使其在不同的实验室，不同的人员之间有完全一致的结果。

由于 UPLC 受系统影响较大，针对不同死体积的 UPLC 我们优化了相应的方法。所有条件都包含在方法包中。通过系统对号入座后，可以发现，每种系统都有独立的梯度和温度，任何系统都能实现完美的分离。

BSM 系统仪器条件

BSM 系统	
LC 系统	ACQUITY UPLC /TUV (FLR)system
色谱柱	AccQ•Tag Ultra 1.7 μ m 2.1 x 100 mm; P/N:186003837
流动相 A	AccQ•Tag Ultra Eluent A1(A2)
流动相 B	AccQ•Tag Ultra Eluent B
流速	0.7 ml/min
进样体积	1 μ L
柱温	55 °C
检测波长	UV:260 nm FLR: 激发 :266 nm，发射 :473 nm

BSM 系统流动相梯度表

时间（分）	A%	B%	曲线
0.00	99.9	0.1	*
0.54	99.9	0.1	6
5.74	90.9	9.1	7
7.74	78.8	21.2	6
8.04	40.4	59.6	6
8.64	40.4	59.6	6
8.73	99.9	0.1	6
9.50	99.9	0.1	6

注：AccQ•Tag Ultra Eluent A1 (AccQ•Tag Ultra 洗脱液 A 浓缩液的 1:20 稀释液) 适用于水解产物、食品和饲料、烷基化半胱氨酸方法。

AccQ•Tag Ultra Eluent A2 (AccQ•Tag Ultra 洗脱液 A 浓缩液的 1:10 稀释液) 适用于细胞培养物方法。

QSM 系统仪器条件

QSM 系统	
LC 系统	ACQUITY UPLC H-Class /TUV (FLR)system
色谱柱	AccQ•Tag Ultra 1.7 μ m 2.1 x 100 mm;P/N: 186003837
流动相 A	Waters AccQ•Tag Ultra Eluent A
流动相 B	10% Waters AccQ•Tag Ultra Eluent B
流动相 C	超纯水
流动相 D	Waters AccQ•Tag Ultra Eluent B
流速	0.7 mL/min
进样体积	1 μ L
柱温	49 °C(或 43 °C)
检测波长	UV: 260 nm FLR: 激发 :266 nm 发射 :473 nm

QSM 系统流动相梯度表

食品和饲料

时间 (分)	流速	A%	B%	C%	D%	曲线
0.00	0.7	2.0	0.0	98.0	0.0	*
0.29	0.7	2.0	0.0	98.0	0.0	11
5.49	0.7	9.0	80.0	11.0	0.0	7
7.10	0.7	8.0	15.6	57.9	18.5	6
7.30	0.7	8.0	15.6	57.9	18.5	6
7.69	0.7	7.8	0.0	70.9	21.3	6
7.99	0.7	4.0	0.0	36.3	59.7	6
8.59	0.7	4.0	0.0	36.3	59.7	6
8.68	0.7	2.0	0.0	98.0	0.0	6
10.20	0.7	2.0	0.0	98.0	0.0	6

细胞培养、水解产物、烷基化半胱氨酸

时间 (分)	A%	B%	C%	D%	曲线
0.00	10.0	0.0	90.0	0.0	*
0.29	9.9	0.0	90.1	0.0	7
5.49	9.0	80.0	11.0	0.0	6
7.10	8.0	15.6	57.9	18.5	6
7.30	8.0	15.6	57.9	18.5	6
7.69	7.8	0.0	70.9	21.3	6
7.99	4.0	0.0	36.3	59.7	6
8.59	4.0	0.0	36.3	59.7	6
8.68	10.0	0.0	90.0	0.0	6
10.20	10.0	0.0	90.0	0.0	6

Tips:

- 此氨基酸分析方案的特色体现在：分离效果好、分析时间短、操作简便、分析结果重现性稳定。
- 新添加的氨基酸，可通过简单调整梯度，实现与其它氨基酸的基线分离。
- 针对不同应用领域，温度和梯度有不同的方案，避免基质对分离的影响。

试剂和标准品

试剂、标准品及保存建议

AccQ•Tag Ultra Derivatization Kit - 含有下述三瓶试剂，各5瓶（P/N：186003836）：

试剂	复溶后的保存建议	初始保存建议
AccQ•Tag Ultra 硼酸缓冲液(1)	/	室温
AccQ•Tag Ultra 衍生试剂粉末(2A)	干燥器中可存放1周	室温、干燥 / 避光
AccQ•Tag Ultra 溶剂(2B)	/	室温



氨基酸标准品：

货号	产品说明	复溶后的保存建议	初始保存建议
WAT088122	水解氨基酸标准品	-20 °C 保存 3 个月	-20 °C 保存，有效期见标签
186009299	食品和饲料标准品试剂盒	-20 °C 保存 2 个月	-20 °C 保存，有效期见 COA 报告
186009300	细胞培养标准品试剂盒	-20 °C 保存 2 个月	-20 °C 保存，有效期见 COA 报告
186009301	氨基酸内标（正缬氨酸）	-20 °C 保存 2 个月	-20 °C 保存，有效期见 COA 报告



试剂配制

衍生试剂配

- 从 2B 瓶中吸取 1 mL 稀释剂并弃掉，以清洗枪头。
- 再次由 2B 瓶中吸取 1 mL 稀释剂，加入装有衍生试剂粉末的 2A 瓶中，涡旋 10 s 钟使其充分溶解。
- 衍生粉末如不溶，可在 55 °C 加热 2A 瓶，直至全部溶解，加热时间不超过 10 min。

氨基酸细胞培养标准品及食品和饲料标准品储备液制备

- 取 1.2 mL 0.1 M HCL，加入 17 种水解氨基酸标准品中，浓度为 1000 μ M（胱氨酸除外，浓度为 500 μ M）。涡旋混合 10s。复溶后冷冻保存。
- 取 250 μ L 0.1 M HCL，细胞培养补充标准品或食品和饲料补充标准品中，浓度为 1000 μ M。涡旋混合 10s。复溶后冷冻保存。
- 将 250 μ L 制备好的水解氨基酸标准品加入细胞培养补充标准品或食品和饲料补充标准品样品瓶中，得到 500 μ L 浓度为 500 μ M 的氨基酸溶液（胱氨酸除外，浓度为 250 μ M）。该溶液为标准品储备液，以建立标准曲线。复溶后冷冻保存。

校准标准品制备（建议标准曲线范围）

从上述氨基酸细胞培养标准品及食品和饲料标准品储备液（校准标准品 7）中取 215 μ L 标准品，加 213 μ L 0.1 M HCL，混合。后面的每一级校准标准品都从上一级校准标准品中取出。分别取 150 μ L、93 μ L、182 μ L、84 μ L、56 μ L 上一级校准标准品，加入 225 μ L、372 μ L、182 μ L、252 μ L、224 μ L 0.1 M HCL，混合。标准曲线浓度分别为：500 μ M（胱氨酸 250 μ M）、250 μ M（胱氨酸 125 μ M）、100 μ M（胱氨酸 50 μ M）、20 μ M（胱氨酸 10 μ M）、10 μ M（胱氨酸 5 μ M）、2.5 μ M（胱氨酸 1.25 μ M）、0.5 μ M（胱氨酸 0.25 μ M）。

Tips:

- 如果发现隔垫上有固态标准品，请在涡旋混合时翻转样品瓶，确保所有粉末均溶解。
- 具体标准品储备液及校准标准品制备操作参考：氨基酸标准品试剂盒维护和使用手册。

AccQ-Tag UPLC 氨基酸分析应用

应用方案 — 水解氨基酸的检测

蛋白和肽的氨基酸比例是其鉴别实验的重要指标，是氨基酸分析的常见应用之一。这一应用需要高温，强酸性条件实现完全的水解，容易导致结果的不稳定，具体表现如下：

- 色氨酸完全破坏，谷氨酰胺和天冬酰胺分别转化为谷氨酸和天冬氨酸，一般只检测 17 种氨基酸。
- 丝氨酸，苏氨酸，胱氨酸和蛋氨酸容易被破坏 / 氧化，造成回收率偏低，及结果重现性差。
- 缬氨酸，异亮氨酸化学键不容易破坏，会造成回收率偏低，重现性差。

样品量推荐：

蛋白：0.1-5.0 μg (蛋白分子量 25 k)

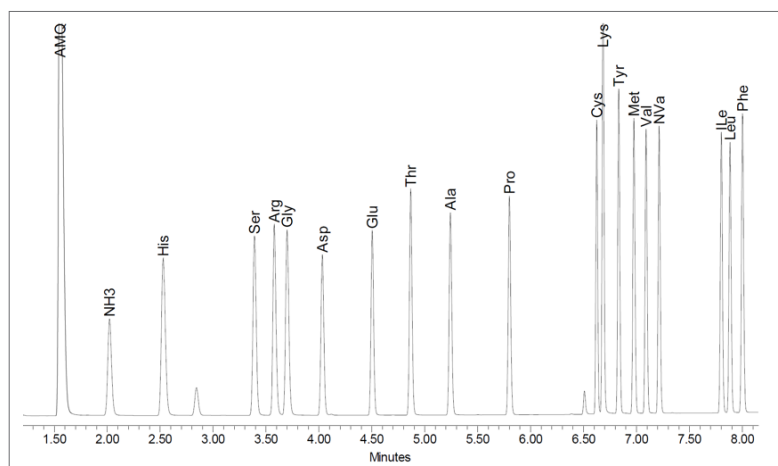
肽：0.02-1.0 μg (肽分子量 1.0 k)

水解条件推荐：

水解溶液：6MHCl 溶液，含苯酚 (0.1-0.5%)

温度：115 $^{\circ}\text{C}$

时间：24h



17 种水解氨基酸标准品分析。

Tips:

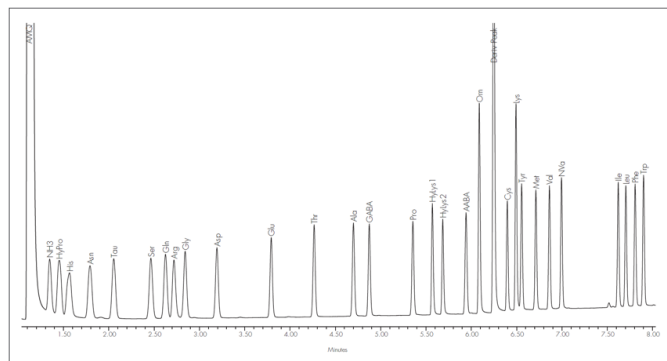
- 取样量还需考虑含量最低氨基酸 (LAAA) 的实际值。
- 水解后样品可以用等量等浓度的氢氧化钠中和，或旋干后复溶。
- 具体信息请参考应用文献：720002404EN。

应用方案一 培养基中氨基酸的检测

细胞生长周期中的及时补料是培养工艺中的重要步骤，作为生长必须的氨基酸，及时的监测对于补料的判断非常重要。培养基中成分较多，但不会影响氨基酸衍生产品的分析和检测。这一应用要求分离的种类更多，特别是有些项目中加入的特殊氨基酸。AccQ•Tag Ultra 的方法通过简单调整梯度即可实现 28 种氨基酸的基线分离。

培养基的样品处理：

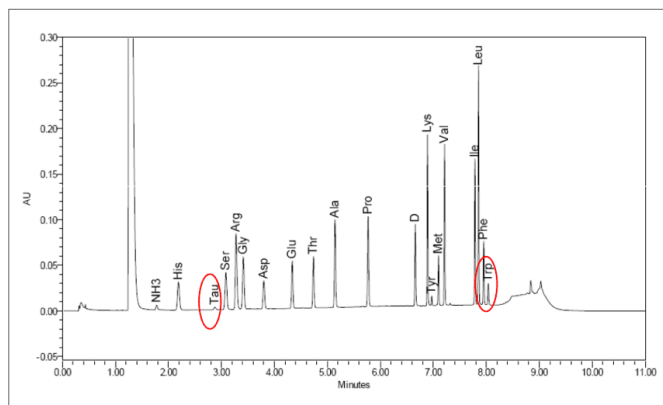
培养基中的氨基酸检测，不需要复杂的样品处理，样品经过滤或离心（10000rpm）后即可检测。加保护柱可以防止色谱柱被污染，延长使用寿命。



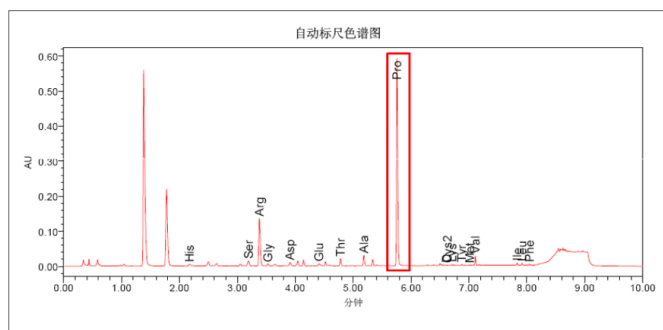
细胞培养基中常见氨基酸分析。

应用方案一 制药工业中氨基酸的检测

对于疾病引起的蛋白质缺乏症，或特殊状况需要增加蛋白质消耗者，一般进行注射液治疗。此类注射液中氨基酸的分析方法与前两者类似，对于固体制剂中的氨基酸检测，也有较为成熟的前处理方法。



19 种氨基酸注射液分析图。



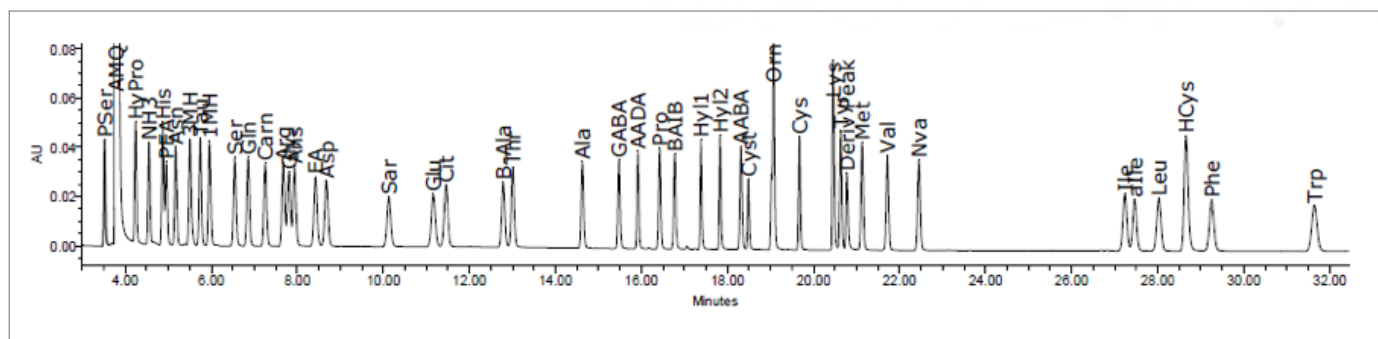
板蓝根颗粒中的氨基酸分析。

Tips:

- 具体信息请参考应用文献：
720002381EN。

应用方案一 临床中的氨基酸检测

随着临床诊断的热潮，生理氨基酸的检测成为新的热点。生理氨基酸检测种类更多，结果梯度优化，已经可以对 40 多种氨基酸进行基线分离和检测。



生理氨基酸 (250 μ mol/L) 与 MassTrak AAA 溶液的色谱图。氨基酸包括谷氨酰胺 (Gln)、异亮氨酸 (Ile)，以及在酸性和中性和碱性氨基酸溶液中发现的那些。正缬氨酸 (Nva) 正作内标。

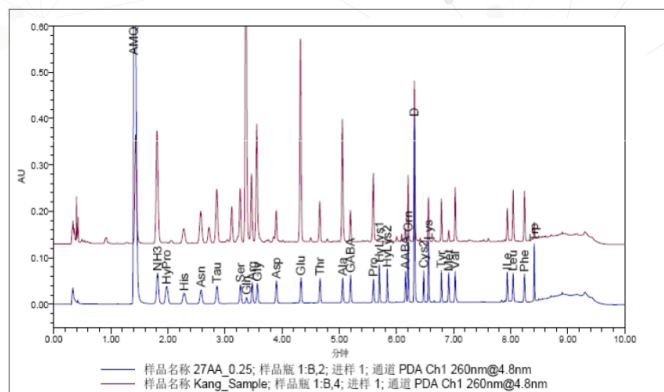
Tips:

- 辛敏通等，柱前衍生化 UPLC 测定板蓝根颗粒中主要游离氨基酸的含量，中国中药杂志，2011，23，3306-09。
- 具体内容请联系各区域客户顾问。
- 临床中氨基酸检测具体信息请参考应用文献：720002763EN。

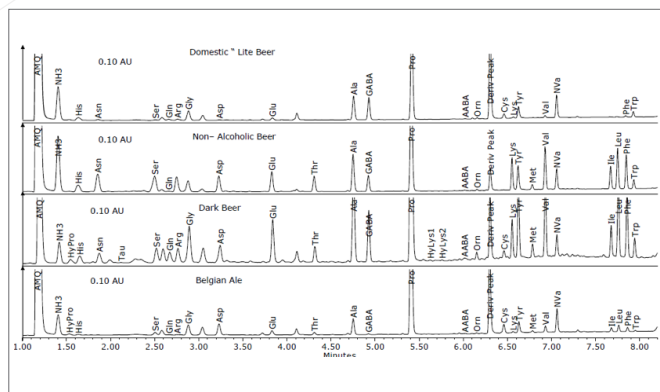
应用方案一 食品饮料及饲料中的氨基酸检测

食品饮料中氨基酸的检测主要是控制营养成分，常规方法即可满足要求，有些产品中氨基酸种类较少，可以通过简化梯度，达到更快的分析效率。

固态食品，如方便面，茶叶中会有明显基质效应，需要进行适当的样品前处理，或者配备保护柱，以增强方法的稳定性，延长色谱柱寿命。

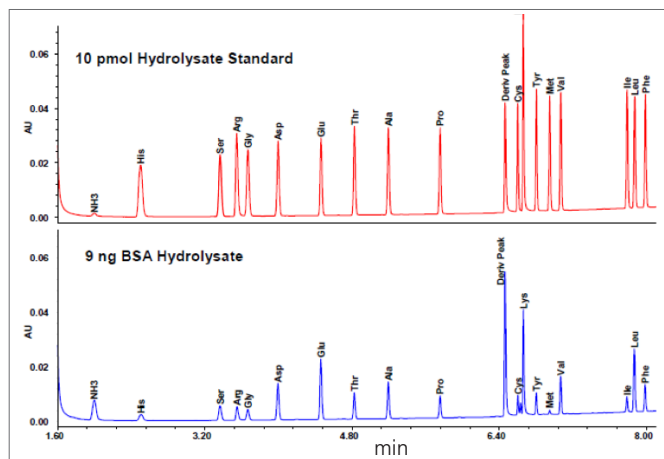


用 ACQUITY UPLC H-Class 分析方便面调料中的氨基酸。



各类啤酒的氨基酸含量色谱图。

氨基酸是饲料中的重要营养成分，游离氨基酸的检测方法基本与食品相同。有些饲料中会通过添加蛋白的方法以供应氨基酸，因此分析前，需要先对饲料进行水解，方法同蛋白中氨基酸检测。需要注意的是，固体的取样量需符合相应标准的要求，如 AOAC 推荐固体量为 8 mg。



氨基酸标准品与水解 BSA 的比较。标准品和样品中的保留时间相同，实现可靠的峰识别，水解样品中也没有明显。

Tips:

- 具体信息请参考应用文献：
720003226EN。
AOAC 994.12

故障诊断

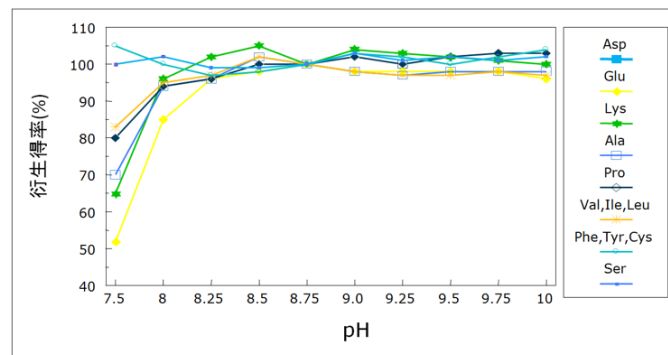
背景污染

- AccQ Tag氨基酸分析的AQC衍生剂是极灵敏的酰化试剂，对水中的污染物很敏感，甚至对空气中的氨也能衍生检出。
- 为确保定量分析的准确与重现，在做衍生操作时，应注意控制环境的清洁，包括试验用水和一切器具，例如移液枪及枪头、衍生管等，操作者应戴无粉手套操作。
- 在做AccQ Tag氨基酸分析时要做几个空白实验：流动相空白、衍生剂空白（用水和只用Buffer1），既可以借此判断系统是否被污染，同时也做了平衡系统和色谱柱平衡。
- 使用Empower软件的进直接样品功能，可记录流动相空白图谱。

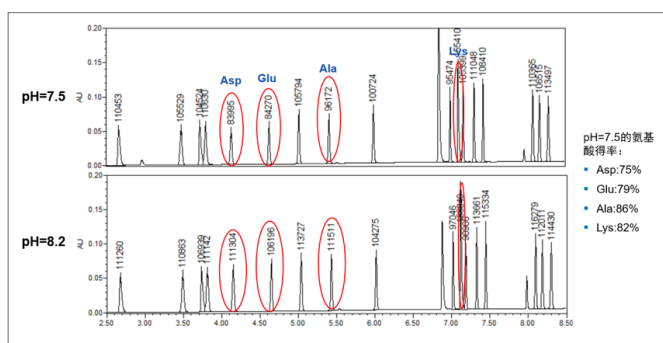
衍生化条件优化

稳定的 pH 值

pH 在 8.2-10.0 时，反应得率可以达到 100%。因此，实验室收到的衍生试剂包（186003836）中，会发现随带一瓶缓冲液，即是为此目的。



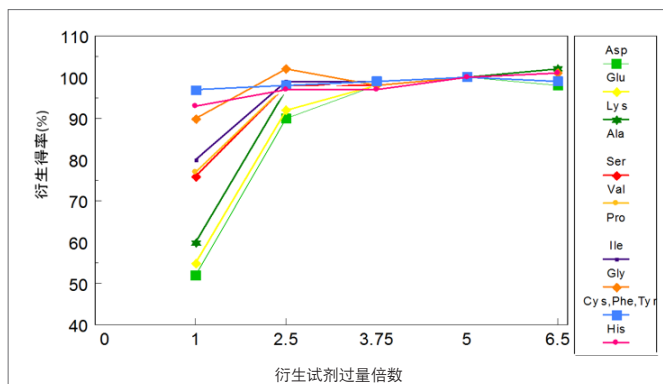
通常必须调整样品的 pH 值以确保所有氨基酸完全衍生，酸性氨基酸对 pH 影响最敏感。可以根据对样品的特性预测 pH 值和所需的试剂量。

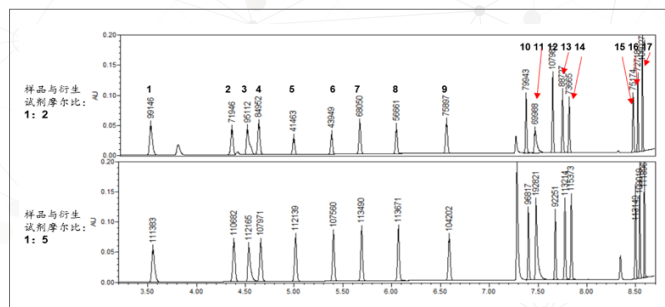


经实验验证，当 pH=7.5 时，天门冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸和赖氨酸的得率都低于 90%，其中 pH 值对天门冬氨酸的影响最大。

最优物料比

当衍生试剂与氨基酸的摩尔比值大于 5 时，所有氨基酸都被标记上。这一比例可以通过空白中的 AMQ 峰来控制，当样品检测的 AMQ 峰面积大于空白衍生中 AMQ 峰面积的 80% 时，物料比即是大约 5 的。





氨基酸名称	物料比1: 2得率 (%)	氨基酸名称	物料比1: 2得率 (%)
组氨酸	89.0	脯氨酸	72.8
丝氨酸	65.0	胱氨酸	82.6
精氨酸	84.8	赖氨酸	36.3
甘氨酸	78.7	酪氨酸	117.1
天门冬氨酸	37.0	蛋氨酸	78.4
谷氨酸	40.9	缬氨酸	63.8
苏氨酸	60.0	异亮氨酸	62.4
丙氨酸	49.8	亮氨酸	62.8
		苯丙氨酸	86.3

经实验验证，天门冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸和赖氨酸的得率都很低，不到 50%。

从以上 2 个验证实验结果发现：pH 值和物料比会对天门冬氨酸、谷氨酸、丙氨酸和赖氨酸的衍生结果带来很大影响，所以在衍生过程中一定注意这 2 个关键点。

使用 AccQ•Tag Ultra 方法，水解液和分析物的样品定量范围：

样品	样品量	范围
蛋白	0.1-10.0 µg	10-200 pmol
肽	0.01-1.0 µg	10-1000 pmol

衍生化问题及解决方法

	可能原因	解决方法
色谱图中不显示 AMQ 峰，也不显示氨基酸峰	未添加衍生试剂	添加衍生试剂后重新进样。
	未进样	检查进样器，根据需要进行维修；检查样品瓶，底部是否有气泡。
	检测器故障	检查检测器，根据需要进行维修。
色谱图中不显示 AMQ 峰，显示氨基酸峰	样品过多	额外添加等份衍生试剂或减少样品使用量。
	衍生试剂不足	额外添加衍生试剂。
	衍生试剂严重降解	重新复溶新衍生试剂。
样品中 Asp 和 / 或 Glu 的数值低，AMQ 峰低于衍生化空白中 AMQ 峰的 80%	样品过多	额外添加等份衍生试剂或减少样品使用量。
	衍生试剂不足	额外添加衍生试剂。
	衍生试剂降解	重新复溶新衍生试剂。
显示单衍生 Lys 峰，Lys 值低，AMQ 峰低于衍生空白中 AMQ 峰的 80%	样品过多	额外添加等份衍生试剂或减少样品使用量。
	衍生试剂不足	额外添加衍生试剂。
	衍生试剂降解	重新复溶新衍生试剂。
显示单衍生 Lys 峰，Lys 值低，AMQ 峰高于衍生化空白中 AMQ 峰的 80%	混合不充分	确保衍生试剂与样品充分混合，加入衍生试剂后立即涡旋混合。
	样品复溶不当	使用 20 mM HCl 溶解样品并充分涡旋混合。
	因含有盐类导致样品缓冲不充分	对样品脱盐或限制所含样品量。
样品中 Arg、His 和 / 或 Lys 数值低，AMQ 峰大小正常 样品中 Asp 和 / 或 Glu 数值低，AMQ 峰大小正常	水解步骤的 HCl 过量	在衍生化之前去除 HCl，或用 NaOH 中和。
	因含有盐类导致样品缓冲不充分，pH 值呈酸性	对样品脱盐或限制所含样品量；添加更多的 buffer 缓冲液和衍生试剂。
	水解步骤的 HCl 过量	在衍生化之前去除 HCl，或用 NaOH 中和。

分离度问题及解决方法

故障现象	可能原因	解决方法
所有峰形均较宽	柱效欠佳	检查色谱柱，根据需要更换。
	系统谱带展宽体积过大	诊断并减少由进样器、管路连接和 / 或检测器流通池引起的谱带展宽。
色谱图前半部分峰形较宽，后半部分正常	柱效欠佳	检查色谱柱，根据需要更换。
	系统谱带展宽体积过大	诊断并减少由进样器、管路连接和 / 或检测器流通池引起的谱带展宽。
	进样体积过量	将进样量限制在 1 μ L。
保留时间漂移	色谱柱平衡不足	增加运行时间以提供额外的平衡。
	柱温未加热，流动相温度太低	检查柱温，确认已使用色谱柱固定卡件并激活预加热器

Tips:

- 酪氨酸衍生时需要加热 10 分钟，以保证其充分溶解并反应完全。
- 可以通过丙氨酸 / 苯丙氨酸的比例是否稳定，判断氨基酸是否完全被标记；也可以根据赖氨酸单衍生产物（ $t_R=2.8\text{min}$ ）是否稳定确认。

订货指南

UPLC AAA (氨基酸分析) 应用包, 配用于 ACQUITY UPLC 系统

产品描述	数量	部件编号
氨基酸标准品, 1 mL×10	1	WAT088122
样品衍生管, 72/pK	4**	WAT007571
全回收样品瓶, 带盖, 100/pK	3**	186000384C
配件包, 柱稳定器, 150 mm	1	205000494
AccQ•Tag Ultra 衍生试剂包	1	186003836
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ 1.7 µm, 2.1 x 100 mm 柱	1	186003837
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 A (浓缩), 950mL	1	186003838
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 B, 950mL	1	186003839
Assy•Tube Inlet.0025 ID Peek Nut PDA(柱后连接检测器所用管路, 体积最小化)	1	430001783
2 µL Sample Loop	1	430001264
柱在线过滤器	1	205000343
信息包, UPLC AAA 解决方案	1	716002024
初始测试, UPLC AAA 应用解决方案	1	741000299

注: 此应用产品用于 ACQUITY UPLC 系统氨基酸分析。初次进行氨基酸分析时, 需购买所有应用产品包含应用所需的管路配件以及知道手册等。之后常规消耗所需, 可购买“氨基酸分析化学品补充包”。

UPLC AAA (氨基酸分析) 应用包, 配用于 ACQUITY UPLC H-Class 系统

产品描述	数量	部件编号
氨基酸标准品, 1 mL x 10	1	WAT088122
全回收样品瓶, 带盖, 100/pK	3**	186000384C
AccQ•Tag Ultra 衍生试剂包	1	186003836
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ 1.7 µm, 2.1 x 100 mm 柱	1	186003837
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 A (浓缩), 950mL	1	186003838
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 B, 950mL	1	186003839
Assy•Tube Inlet.0025 ID Peek Nut PDA(柱后连接检测器所用管路, 体积最小化)	1	430001783
柱在线过滤器	1	205000343
信息包, UPLC AAA 解决方案	1	716003230
初始测试, UPLC AAAH-Class 应用解决方案	1	741000299

注: 此应用产品用于 ACQUITY UPLC H-Class 系统氨基酸分析。初次进行氨基酸分析时, 需购买所有应用产品包含应用所需的管路配件以及知道手册等。之后常规消耗所需, 可购买“氨基酸分析化学品补充包”。

推荐! 加配衍生管, 72/pK, WAT007571

AccQ•Tag Ultra 化学品补充包

产品描述	数量	部件编号
AccQ•Tag Ultra 化学品套装，包括如下	-	176001235
氨基酸标准品，1 mL x 10	1	WAT088122
样品衍生管，72/pK	4**	WAT007571
全回收样品瓶，带盖，100/pK	3**	186000384C
AccQ•Tag Ultra 衍生试剂包	1	186003836
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ 1.7 μm， 2.1 x 100mm 柱	1	186003837
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 A（浓缩）， 950mL	1	186003838
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 B，950mL	1	186003839

注：该补充包用于 UPLC 氨基酸分析的消耗补充。如属初次应用，应根据仪器种类，购买完整的 UPLC AAA 应用包、或 UPLC AAA H-Class 应用包。

** 部件编号仅指一包时，此处数量仅指大包装 176001235 所含。

氨基酸标准品

产品描述	部件编号
水解氨基酸标准品溶液	WAT088122
食品 & 饲料专用氨基酸标准品粉末	186009299
细胞培养基专用氨基酸标准品粉末	186009300
正缬氨酸标准品粉末	186009301

Tips:

AccQ•Tag Ultra 衍生试剂包：

- 试剂 1，AccQ•Tag Ultra 硼酸缓冲液，5 x 6 mL
- 试剂 2A，AccQ•Tag Ultra 衍生试剂粉末，5 x 3 mg
- 试剂 2B，AccQ•Tag Ultra 溶解液，5 x 4 mL

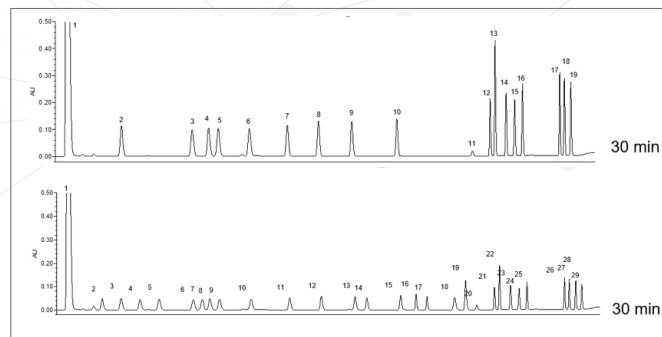
AccQ•Tag UHPLC 新方案

2022 年，沃特世推出新的 AccQ•Tag HPLC 方案，采用 2.5 μm BEH 氨基酸分析专用柱，可以在各种 HPLC，UHPLC 系统上运行，提高了分离性能。新方案采用 AccQ•Tag Ultra 专用流动相，且提供完整的分离梯度条件，氨基酸分析更加稳定。

分析条件：

色谱柱：	AccQ•Tag Ultra 2.5 μm 4.6 x 150 mm (186010407)
柱温：	43 °C
流动相 A：	AccQ•Tag Ultra Eluent A
流动相 B：	90: 10 水: AccQ•Tag Ultra Eluent B
流动相 C：	水
流动相 D：	AccQ•Tag Eluent Ultra B
流速：	1.5mL/min
Purge/Wash：	95: 5 水: 乙腈
进样：	3 μL
检测：	UV@260nm

时间 (min)	A%	B%	C%	D%
0	10	0	90	0
0.36	10	0	90	0
19.67	9	80	11	0
25.07	8	16	60	16
25.74	8	16	58	18
27.05	7.8	0	70.9	21.3
28.20	4	0	36.3	59.7
30.08	4	0	36.3	59.7
30.38	10	0	90	0
35.48	10	0	90	0



AccQ•Tag Ultra 2.5 μm 色谱柱 (186010407) 分析水解氨基酸 (上图) 和培养氨基酸 (下图) 色谱图。

订购信息

氨基酸分析 UHPLC 应用包

产品描述	数量	部件编号
UHPLC 方法化学品包，包括如下	-	176005152
AccQ•Tag Ultra 衍生试剂包	1	186003836
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ , 2.5 μm , 4.6 x 150 mm 色谱柱	1	186010407
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 A (浓缩) , 950mL	1	186003838
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 B, 950 mL	1	186003839
水解氨基酸标准品, 1 mL x 10	1	WAT088122
全回收样品瓶, 带盖, 100/pK	3	186000384C

氨基酸分析 UHPLC 柱及消耗品

产品描述	规格	部件编号
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ , 2.5 μm , 4.6 x 50 mm 色谱柱	-	186010405
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ , 2.5 μm , 4.6 x 100 mm 色谱柱	-	186010406
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ , 2.5 μm , 4.6 x 150 mm 色谱柱	-	186010407
AccQ•Tag Ultra C ₁₈ , 2.5 μm , 4.6 x 5mm VanGuard 保护柱芯 (3 个 / 包) *	-	186010408
AccQ•Tag Ultra 衍生试剂包	-	186003836
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 A (浓缩)	950mL	186003838
AccQ•Tag Ultra 洗脱液 B	950mL	186003839

AccQ • Tag HPLC 方案

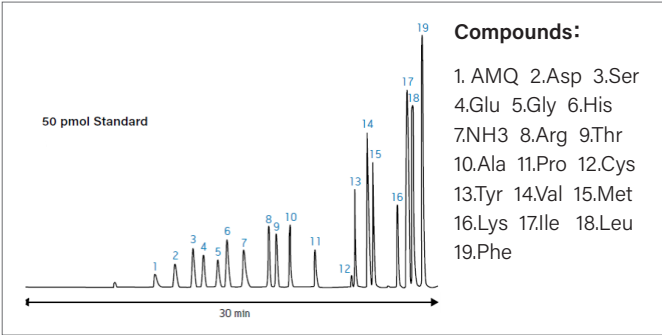
AccQ•Tag 方法是一种用于肽及蛋白水解氨基酸分析的柱前衍生技术。其内容主要包括：

- 用 Waters 的 AccQ•Flour 衍生试剂衍生氨基酸
- 用反相 HPLC 分离衍生产物
- 用荧光或紫外检测器定量检测衍生产物

AccQ•Tag 方法具有灵敏度高（低于 pmol 级）、准确和易于操作等特点。是 Waters 公司在氨基酸分析领域内的又一创新。

分析条件：

色谱柱：	AccQ•Tag Amino Acids C ₁₈ Column, 60Å, 4 μm, 3.9 mm x 150 mm (WAT052885)
柱温：	37 °C
流动相 A：	AccQ•Tag Eluent A
流动相 B：	Acetonitrile
流动相 C：	HPLC grade water
流速：	1 mL/min
检测：	荧光，lex = 250 nm, lem = 395 nm



50 pmol 17 种蛋白水解氨基酸标样。

订购信息

氨基酸分析 HPLC 应用包

产品描述	数量	部件编号
HPLC 方法化学品包，包括如下	-	WAT052875
AccQ•Flour 试剂包	1	WAT052880
AccQ•Tag Amino Acids C ₁₈ Column, 60Å, 4 μm, 3.9mm x 150mm	1	WAT052885
AccQ•Tag 洗脱液 A，浓缩液，1 升	2	WAT052890
样品衍生管，72/pk	4**	WAT007571
水解氨基酸标准品，1 mL x 10	1	WAT088122
AccQ•Tag 用户指南	-	WAT052874

氨基酸分析 HPLC 柱及消耗品

产品描述	规格	部件编号
AccQ•Flour 试剂包	-	WAT052880
AccQ•Tag Amino Acids C ₁₈ Column, 60Å, 4 μm	3.9 x 150 mm	WAT052885
AccQ•Tag 洗脱液 A，浓缩液	1 升	WAT052890
AccQ•Tag 洗脱液 B (配用高压梯度泵)	1 升	WAT052895

Kairos 氨基酸分析方案

氨基酸及其类似物广泛参与体内病理和生理过程，具有重要的临床意义，其体内分析在生物医学研究中广泛应用。体内基质干扰较严重，对灵敏度和重现性有更高的要求。

Kairos 氨基酸试剂盒，采用经典的 AccQ.Tag 衍生方法，可在 10 分钟内完成对多达 45 种生物相关氨基酸的分析，满足不同生物医学研究人员需求。

试剂

Kairos 采用与 AccQ.Tag 相同的衍生方式，能同时与伯胺类和仲胺类氨基酸发生反应。与常规氨基酸试剂盒不同，Kairos 中衍生试剂的量更高，是常规试剂盒的 3 倍，保证体内氨基酸能完全反应。

专业氨基酸定量标准品

Kairos 有 3 套标准品。核心标准品包含 45 种氨基酸，这些标准品都均经过精密的称重配制。标准品共有 7 瓶，分别对应不同浓度，可以直接在 5-4000 μM 范围内建立标准曲线，进行体内氨基酸的定量检测。



QC 标准品同样也包含了 45 个氨基酸，不同的包装，对应两种不同的浓度，经上述核心标准品的定量检测后，可以监控分析方法的准确性。



另外还提供氨基酸内标，包含 20 个同位素标记的氨基酸。能有效消除基质干扰，提高检测数据的准确性。



同位素氨基酸推荐 SIR 检测值如下：

Analyte	SIR(m/z)
Alanine ¹³ C ₃ ¹⁵ N	264.2
Glycine ¹³ C ₂ ¹⁵ N	249.2
Isoleucine ¹³ C ₆ ¹⁵ N	309.2
Leucine ¹³ C ₆ ¹⁵ N	309.2
Phenylalanine ¹³ C ₉ ¹⁵ N	346.2
Valine ¹³ C ₅ ¹⁵ N	294.2
Threonine ¹³ C ₄ ¹⁵ N	295.2
Serine ¹³ C ₃ ¹⁵ N	280.2
Tyrosine ¹³ C ₉ ¹⁵ N	362.2
Glutamine ¹³ C ₅ ¹⁵ N	324.2
Arginine ¹³ C ₆ ¹⁵ N ₄	355.2
Lysine ¹³ C ₆ ¹⁵ N ₂	248.1
Proline ¹³ C ₅ ¹⁵ N	292.2
Aspartic acid ¹³ C ₄ ¹⁵ N	309.2
Cystine ¹³ C ₆ ¹⁵ N ₂	295.1
Glutamic acid ¹³ C ₅ ¹⁵ N	324.2
Histidine ¹³ C ₆ ¹⁵ N ³	335.2
Methionine ¹³ C ₅ ¹⁵ N	326.2
Tryptophan ¹³ C ₁₁ ¹⁵ N ₂	388.2
Asparagine ¹³ C ₄ ¹⁵ N ²	309.2

订购信息

Kairos 氨基酸高通量分析试剂盒核心组件

货号	说明
186009048	Kairos 氨基酸高通量分析校准标准品 (500+)
186009049	Kairos 氨基酸高通量分析 QC 标准品 (500+)
186009050	Kairos 氨基酸高通量分析同位素内标 (500+)
186007096	CORTECS UPLC C ₁₈ , 1.6 μm, 2.5 x 150 mm 色谱柱
186004535	AccQTag Ultra “3X” 衍生化试剂盒
186009103	Kairos 氨基酸复溶试剂
186006691	Formic Acid

Kairos 氨基酸分析试剂盒

货号	说明
176004375	Kairos 氨基酸常规分析启动包
176004376	Kairos 氨基酸常规分析补充包
176004377	Kairos 氨基酸高通量自动化启动包
176004378	Kairos 氨基酸高通量自动化补充包
176004379	Kairos 氨基酸高通量手动启动包
176004380	Kairos 氨基酸高通量手动补充包

Kairos 氨基酸标准品

货号	说明
186009193	Kairos 氨基酸常规分析校正标准品
186009194	Kairos 氨基酸常规分析 QC 标准品
186009051	Kairos 氨基酸常规分析同位素内标
186009048	Kairos 氨基酸高通量分析校准标准品
186009049	Kairos 氨基酸高通量分析 QC 标准品
186009050	Kairos 氨基酸高通量分析同位素内标

沃特世科技 (上海) 有限公司

上海办公室

地址: 上海市浦东新区东育路 255 弄 5 号
世贸中心一期 B 栋 23/25 楼

邮编: 200126

电话: 021-6156 2666

北京办公室

地址: 北京市北京经济技术开发区
经海四路 156 号院 1 号楼

邮编: 100176

电话: 010-5769 0500

传真: 010-5769 0550

广州办公室

地址: 广州市荔湾区中山七路 50 号
西门口广场 1707-08 室

邮编: 510170

电话: 020-2829 6555

传真: 020-2829 6556



扫一扫, 关注沃特世微信

Waters China Limited

地址: 香港九龙尖沙咀海港城
港威大厦第五座 16 楼 A128 室

电话: 852-3921 5239

传真: 852-3585 0618

www.waters.com

全国免费售后服务热线:

800(400)820 2676

www.waters.com

Waters™

Waters和The Science of What's Possible是沃特世公司的商标。

©2022 Waters Corporation. 中国印刷 2022年12月 720007823ZH