

《特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定 高效液相色谱法》

团体标准编制说明

(征求意见稿)

一、工作简况

1 任务来源

本项目是根据中国生产力促进中心协会标准化工作委员会《关于〈特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定〉团体标准立项的通知》，项目名称“特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定”（中生协标委函〔2022〕07号），项目编制单位为安捷伦科技(中国)有限公司等。

2 标准制定的必要性

氨基酸是构成蛋白质的基本单位，对于生物体的正常生长和发育至关重要。通过测定蛋白质中的氨基酸组成，可以深入了解食物或蛋白质来源的营养价值，为膳食推荐和营养补充提供科学依据。同时，测定蛋白质中的氨基酸含量也可以用于评估产品的质量、新鲜度或加工过程对蛋白质的影响。例如，在乳制品或肉类产品的质量控制在，氨基酸含量的测定可以提供关于产品品质和保质期的信息。

使用柱前衍生反向液相色谱法分析氨基酸是目前比较主流的一种氨基酸分析检测方案，比较其他分析方法例如电泳法，氨基酸分析仪等手段，此方法具有低成本，通用性强，易于自动化等优势，结合超高效液相色谱技术，还可以显著提升分析检测的通量和效率。目前比较常用的衍生试剂为一级氨基酸用邻苯二甲醛（OPA）、二级氨基酸用 9-芴甲基氯甲酸酯（FMOC）进行衍生，

这类衍生试剂具有衍生速度快，实验操作简单等优势，可以实现自动化高效率衍生。

但氨基酸的检测在食品相关领域已经有了比较成熟的标准，但是目前仍没有针对特医食品中的氨基酸检测标准，来指导特医食品中氨基酸检测所涉及的样品前处理及分析检测过程。本标准项目鉴于特医食品蛋白质组件所涉及的基质情况主要为蛋白质类成分，结合不同氨基酸所事宜的处理因素及水解条件，对其中 16 种氨基酸（天冬氨酸，丝氨酸，谷氨酸，脯氨酸，羟脯氨酸，甘氨酸，丙氨酸，缬氨酸，甲硫氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，酪氨酸，苯丙氨酸，赖氨酸，组氨酸，色氨酸）的前处理和测定方法进行了优化。使用碱水解法处理样品后采用柱前衍反相液相色谱方法建立一种高效、灵敏、稳定的方法，适用于特医食品蛋白质组件中氨基酸的检测和分析目前，该方法技术已十分稳定，可作为特医食品蛋白质组件中氨基酸检测标准方法发展的基础。

3 主要工作过程

(1) 起草（草案、论证）阶段：

本标准在 2022 年 6 月中国生产力促进中心协会标准化工作委员会下达了《特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定》团体标准立项计划后，征集了起草成员单位，为组建标准起草工作组做好准备，并进行了标准基本框架和具体技术内容的初步起草研究工作。

2022 年 7 月 7 月 5 日，由中国生产力促进中心协会特医食品与生物活性肽工作委员会主办，食品行业生产力促进中心承办的《特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定》团体标准启动会通过线上方式顺利召开，来自中国生产力促进

中心协会标准化工作委员会、全国食品工业标准化技术委员会、农业农村部农产品营养标准专家委员会、中国农业大学的专家、学者及 2 项标准起草单位代表、工委会秘书长相关人员近 40 人参会，会议确定了总体工作方案并制定了《特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定》团体标准具体的工作方案，初步明确标准修订的框架。

2022 年 7 月-2024 年 1 月，标准起草工作组开始对国内外标准及有关技术资料进行检索整理，并对生产企业征求了修订标准的意见，对标准的框架结构、适用范围、主要技术指标进行了研究，并进行了主要技术指标样品收集和验证工作。标准起草工作组根据多次内部研讨意见，起草形成了《特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定》团体标（工作组讨论稿）和编制说明，之后在征集起草单位意见基础上，决议形成《特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定》团体标（征求意见稿）和编制说明。

4 主要参加单位和工作组成员及其所做的工作等

本标准由 XXX 共同起草。

主要成员：XXX、XXX.....。

二、标准编制原则和主要内容

1 编制原则

1.1 标准文本结构制定原则

按照 GB/T1.1《标准化工作导则第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的相关要求和内容。

1.2 参考国内标准

GB/T 6682 分析实验室用规格验方法

2 标准主要内容

2.1 标准主要内容及适用范围

本文件规定了特殊医学用途配方食品中氨基酸的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于特殊医学用途配方食品蛋白质组件中的 16 种氨基酸（天冬氨酸，丝氨酸，谷氨酸，脯氨酸，羟脯氨酸，甘氨酸，丙氨酸，缬氨酸，甲硫氨酸，亮氨酸，异亮氨酸，酪氨酸，苯丙氨酸，赖氨酸，组氨酸，色氨酸）的测定。

2.2 标准主要内容及依据

本文件适用于特殊医学用途配方食品中氨基酸的高效液相色谱测定，依据原理为：试样经氢氧化锂溶液水解，一级氨基酸用邻苯二甲醛（OPA）、二级氨基酸用 9-芴甲基氯甲酸酯（FMOC）进行衍生，用具有紫外检测器/二极管阵列检测器的高效液相色谱检测。

三、主要试验（或验证）情况

特医食品中 16 种氨基酸测定验证结果

1 标准曲线与线性范围

表 1 线性方程

化合物	线性方程	R	线性范围(nmol/ml)
天冬氨酸	$Y=5.2509X-18.6657$	0.9997	90-900
丝氨酸	$Y=4.4530X-5.4473$	0.9999	90-900
谷氨酸	$Y=5.2170X-11.4332$	0.9999	90-900
脯氨酸	$Y=8.2485X+0.8024$	0.9997	90-900
羟脯氨酸	$Y=4.6051X-20.314$	0.9999	90-900

甘氨酸	$Y=4.1669X+4.2306$	0.9999	90-900
丙氨酸	$Y=4.4065X-2.7248$	0.9999	90-900
缬氨酸	$Y=4.6357X-9.9321$	0.9999	90-900
甲硫氨酸	$Y=4.3234X-2.9802$	1.0000	90-900
亮氨酸	$Y=4.4213X-5.3762$	0.9999	90-900
异亮氨酸	$Y=4.6854X-7.6300$	0.9999	90-900
酪氨酸	$Y=4.7431X-4.2158$	0.9999	90-900
苯丙氨酸	$Y=4.7222X-5.5346$	0.9999	90-900
赖氨酸	$Y=2.4797X+26.8978$	0.9999	90-900
组氨酸	$Y=5.4753X+7.6672$	0.9999	90-900
色氨酸	$Y=0.5101X-0.3411$	0.9999	90-900

2 方法的精密度实验

本方法以特医食品蛋白质组件样品中的氨基酸，平行测定三次，计算相对标准偏差来考察方法的精密度。具体结果如下。

表 2 方法的密度实验

氨基酸名称	测定浓度 1 (pmol/mL)	测定浓度 2 (pmol/mL)	测定浓度 2 (pmol/mL)	相对标准偏 差 (%)
天冬氨酸	232.48	234.17	219.99	3.38
谷氨酸	578.04	592.85	556.49	3.18
甘氨酸	224.99	221.74	215.58	2.17
丙氨酸	264.53	266.20	252.50	2.86
缬氨酸	122.51	128.68	121.91	3.01
苯丙氨酸	94.53	96.80	89.95	3.72
亮氨酸	255.22	261.27	246.55	2.91
脯氨酸	355.16	341.05	352.27	2.13
丝氨酸	260.00	242.81	253.05	3.43
组氨酸	75.07	71.78	76.66	3.34
酪氨酸	849.59	827.87	812.64	2.24
甲硫氨酸	644.19	638.57	632.86	0.89
色氨酸	23.06	21.90	22.35	2.59
异亮氨酸	374.56	352.12	358.86	3.18

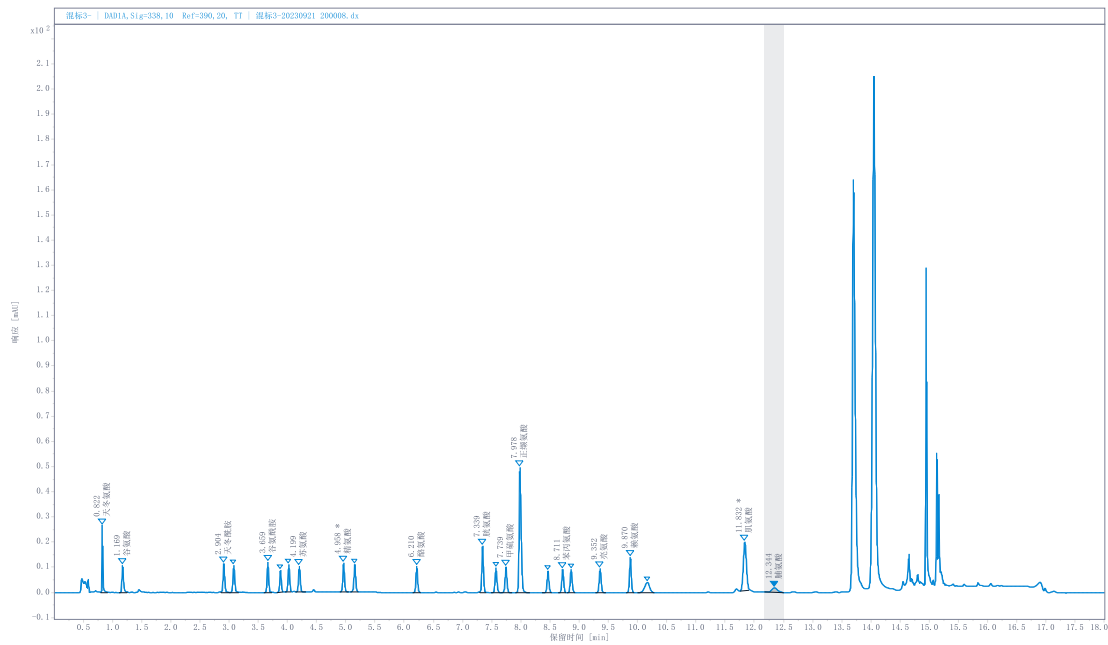
赖氨酸	886.96	895.31	830.15	4.07
羟脯氨酸	850.92	741.88	867.83	8.33

3 检出限和定量限的测定

提供标准曲线最低浓度点混标样品溶液的信噪比图谱,按响应最低的脯氨酸峰信噪比 $S/N=73.73$,折算检出限信噪比 ≥ 3 ,定量限信噪比 ≥ 10 。

表 3 检出限、定量限信噪比

检出限浓度	3.66 nmol/mL	信噪比	3
定量限浓度	12.2 nmol/mL	信噪比	10



进样结果

峰	名称	RT (min)	峰面积 (mAU-s)	峰高 (mAU)	开始时间 (min)	结束时间 (min)	USP 峰数	USP 分离度	噪声	S/N	拖尾
1	天冬氨酸	0.822	19.525	26.526	0.801	0.920	40739.69297		0.0494	1073.42291	1.72226
2	谷氨酸	1.169	18.536	10.690	1.119	1.258	12492.33823	11.93209	0.0494	432.59070	1.43079
3	天冬酰胺	2.904	20.973	11.555	2.855	2.995	60028.49277	38.86757	0.0494	467.60254	1.07261
4	丝氨酸	3.076	20.964	10.652	2.996	3.166	57508.58566	3.46104	0.0494	431.05975	1.09157
5	谷氨酰胺	3.659	20.953	12.082	3.603	3.734	104059.56337	12.06906	0.0494	488.92117	1.04998
6	组氨酸	3.876	15.367	8.986	3.812	3.935	119691.84783	4.82343	0.0494	363.62136	1.02273
7	甘氨酸	4.019	20.889	11.055	3.951	4.070	104272.24415	3.01275	0.0494	447.37987	1.05129
8	苏氨酸	4.199	19.810	10.411	4.140	4.310	113539.26613	3.61356	0.0494	421.30547	1.04733
9	精氨酸	4.958	20.761	11.592	4.901	5.046	177242.42937	15.66112	0.0494	469.09128	1.01684
10	丙氨酸	5.148	20.744	10.901	5.078	5.218	168804.58721	3.90848	0.0494	441.13007	1.04773
11	酪氨酸	6.210	19.526	10.521	6.140	6.278	262859.52627	21.54248	0.0494	425.74923	1.07465
12	胱氨酸	7.339	34.066	18.491	7.293	7.413	366363.13619	23.29510	0.0494	748.27761	1.06967
13	缬氨酸	7.567	20.810	9.864	7.494	7.663	306291.54719	4.42550	0.0494	399.18469	1.07915
14	甲硫氨酸	7.739	21.290	10.216	7.663	7.854	324429.70405	3.14875	0.0494	413.40456	1.07510
15	正缬氨酸	7.978	114.539	49.654	7.900	8.160	271654.41216	4.13879	0.0494	2009.36865	1.35352
16	色氨酸	8.459	18.059	8.779	8.365	8.534	400485.08310	8.38476	0.0494	355.26085	1.06362
17	半胱氨酸	8.711	19.731	9.423	8.643	8.785	402393.66925	4.65884	0.0494	381.30555	1.06944
18	异亮氨酸	8.856	20.132	9.366	8.786	8.934	394013.98278	2.38918	0.0494	379.02596	1.07229
19	亮氨酸	9.352	21.039	9.633	9.283	9.463	435140.85026	8.77971	0.0494	389.83986	1.07701
20	苯丙氨酸	9.870	28.022	14.063	9.803	9.946	575322.95187	9.53156	0.0494	569.07381	1.05736
21	赖氨酸	10.163	23.968	4.104	10.005	10.293	71001.58188	2.85905	0.0494	166.09637	0.91977
22	肌氨酸	11.832	70.563	19.547	11.755	11.916	238308.92689	13.37945	0.0494	791.02123	1.07518
23	脯氨酸	12.344	11.898	1.822	12.170	12.511	81371.64300	3.79557	0.0494	73.73372	0.97990

4 结论

按该标准方法处理后所得方法学参数：线性范围、准确度、精密度、检出限和定量限均符合标准要求。

四、标准中涉及专利的情况

本标准不涉及专利问题。

五、预期达到的社会效益、对产业发展的作用等情况

标准起草团队在对特医食品蛋白质组件现状大范围调研的基础上，摸清了目前存在的主要检测问题难点，同时结合专家经验及前期试验结果，研究明确了特医食品蛋白质组件中氨基酸含量检测的方向，为特医食品蛋白质组件中氨基酸含量的检测技术提供理论依据。本标准的实施，有效解决了目前特医食品蛋白质组件中氨基酸含量定性、定量检测技术，迄今在国内外还是空白这一现状，有重大的技术必要性。

六、与国际、国外对比情况

本标准没有采用国际标准。

本标准制定过程中未查到同类国际、国外标准。

本标准制定过程中未测试国外的样品、样机。

本标准水平为国内先进水平。

七、在标准体系中的位置，与现行相关法律、法规、规章及相关标准，特别是强制性标准的协调性

本标准与现行相关法律、法规、规章及相关标准协调一致。

八、重大分歧意见的处理经过和依据

无。

九、标准性质的建议说明

本标准可以作为推荐性团体标准。

十、贯彻标准的要求和措施建议

建议本标准批准发布后立刻实施。

为使标准能更好的发挥技术指导作用，更好地服务经济建设，推动产业可持续发展健康，要求：一是做好《特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定 高效液相色谱法》标准的宣贯工作。二是对标准执行情况进行跟踪调查，及时发现标准执行中的问题，不断修改完善，提高标准的科学性、合理性和实用性。

十一、废止现行相关标准的建议

本标准不涉及对现行标准的废止。

十二、其他应予说明的事项

本项目是根据中国生产力促进中心协会标准化工作委员会《关于〈特殊医学

用途配方食品中氨基酸的测定》团体标准立项的通知》，项目名称“特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定”。在编制研制过重，为了更加准确表述标准名称，采用两段式，将标准名称改为“特殊医学用途配方食品中氨基酸的测定 高效液相色谱法”。