

聚焦食品酰胺氨基酸检测，解析天冬酰胺与谷氨酰胺含量测定

天冬酰胺和谷氨酰胺是两种重要的非必需氨基酸，参与蛋白质的合成。天冬酰胺主要存在于动植物组织中，在新陈代谢方面发挥着重要作用，而谷氨酰胺是氨基酸中比较丰富的一种，在肌肉组织中含量较高，有利于促进免疫功能。在食品领域，天冬酰胺和谷氨酰胺的含量测定具有重要意义，这是因为两种氨基酸不仅对食品的营养价值存在影响，还可以用于评估食品的品质。本方案参考《GB 5009.309-2025 食品安全国家标准 食品中天冬酰胺和谷氨酰胺的测定》，天冬酰胺和谷氨酰胺与丹磺酰氯进行衍生反应，衍生物经 C18 柱分离，紫外检测器检测，建立了天冬酰胺和谷氨酰胺的检验方法。

1、实验部分

1.1 仪器

Leaps 超高效液相色谱仪：P40 四元梯度泵，A10C 自动进样器，C10 柱温箱，D10 紫外可见光检测器

1.2 色谱条件

色谱柱：Lotus C18 (4.6*250 mm, 5 μm)

流动相 A：10 mmol/L 磷酸氢二钠溶液，流动相 B：甲醇

时间 (min)	A%	B%
0.01	67	33
17	67	33
17.1	20	80
19	20	80
19.1	67	33
24	67	33



流速：1 mL/min

检测波长：247 nm

柱温：35°C

进样量：10 μ L

1.3 溶液配制

天冬酰胺标准储备液(2.00mg/mL)：准确称取 100mg(精确至 0.0001g)天冬酰胺标准品，用 20%甲醇溶液溶解并定容至 50mL。

谷氨酰胺标准储备液(2.00mg/mL)：准确称取 100mg(精确至 0.0001g)谷氨酰胺标准品，用 20%甲醇溶液溶解并定容至 50mL。

混合标准中间液(20.0 μ g/mL)：分别准确吸取天冬酰胺和谷氨酰胺标准储备液各 1.00mL 于 100mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀。现配现用。

标准曲线配制：分别准确吸取适量混合标准中间液(20.0 μ g/mL)于 10mL 容量瓶中，用水定容至刻度，获得质量浓度分别为 0.500 μ g/mL、1.00 μ g/mL、2.00 μ g/mL、5.00 μ g/mL、10.0 μ g/mL、20.0 μ g/mL 的曲线溶液。现配现用。

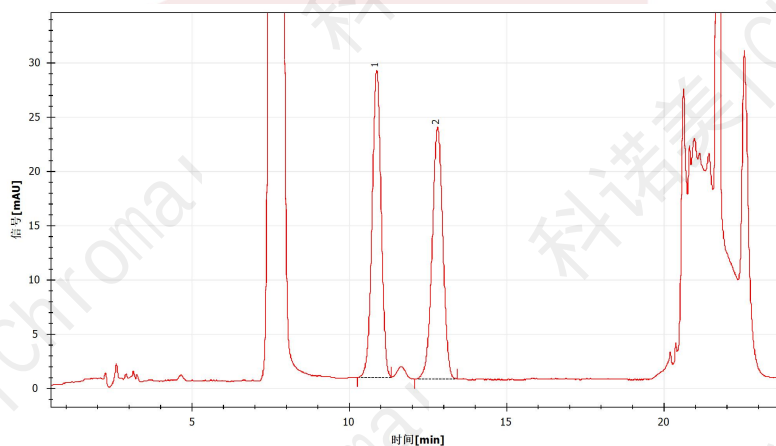


图 1 天冬酰胺和谷氨酰胺衍生物的典型色谱图



(1-天冬酰胺衍生物；2-谷氨酰胺衍生物)

2、结果与分析

2.1 线性关系及检出限

依次将标准曲线溶液 0.500µg/mL、1.00µg/mL、2.00µg/mL、5.00µg/mL、10.0µg/mL、20.0µg/mL 按浓度从低到高进样，以浓度-峰面积绘制标准曲线。天冬酰胺和谷氨酰胺衍生物在线性范围内相关性好，相关系数大于 0.999。

表 1 标准曲线结果表

化合物	线性范围 (µg/mL)	线性方程	相关系数	检出限 (mg/g)
天冬酰胺衍生物	0.5~20.0	$y = 16.825x - 1.2404$	0.9998	0.130
谷氨酰胺衍生物	0.5~20.0	$y = 17.018x + 0.0903$	0.9998	0.160

2.2 重复性

将 2.0µg/mL 浓度的溶液重复进样 6 次，重复性结果如表 2 所示

表 2 重复性结果表

化合物	定性重复性	定量重复性
天冬酰胺衍生物	0.25%	1.86%
谷氨酰胺衍生物	0.22%	2.15%

2.3 样品及回收率测试

按照 GB 5009.309-2025 第一法中的直接提取法和酶解提取法分别对婴幼儿配方奶粉及加标样品（加标浓度为 1mg/g）进行前处理，前者用于测定奶粉样品中游离态天冬酰胺和游离态谷氨酰胺的含量，后者用于测定奶粉样品中天冬酰胺和谷氨酰胺的总量。

结果如表 3 所示，由于奶粉样品中未额外添加天冬酰胺和谷氨酰胺，所以使用直接提取法进行前处理，没有检测到游离态的天冬酰胺和谷氨酰胺，如图 2 所示。通过酶解提取法测奶粉样品



中天冬酰胺和谷氨酰胺的总量，如图 3 所示

表 3 加标回收率数据表

前处理方法	化合物	奶粉样品-本底 (mg/g)	加标样品 (mg/g)	回收率
直接提取法	天冬酰胺	0	0.883	88.3%
	谷氨酰胺	0	0.909	90.9%
酶解提取法	天冬酰胺	3.77	4.65	88.2%
	谷氨酰胺	5.95	6.97	101.8%

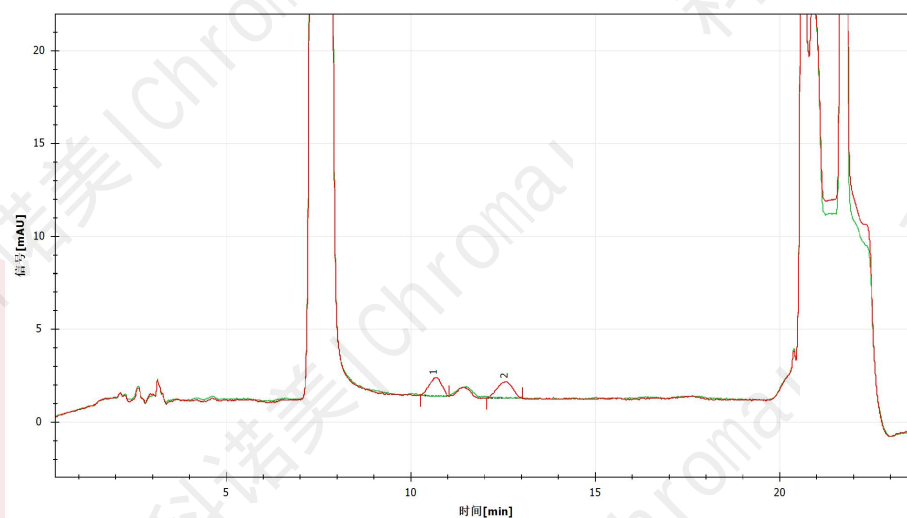


图 2 直接提取法---加标样品（红色）与本底（绿色）叠加色谱图

(1-天冬酰胺衍生物；2-谷氨酰胺衍生物)

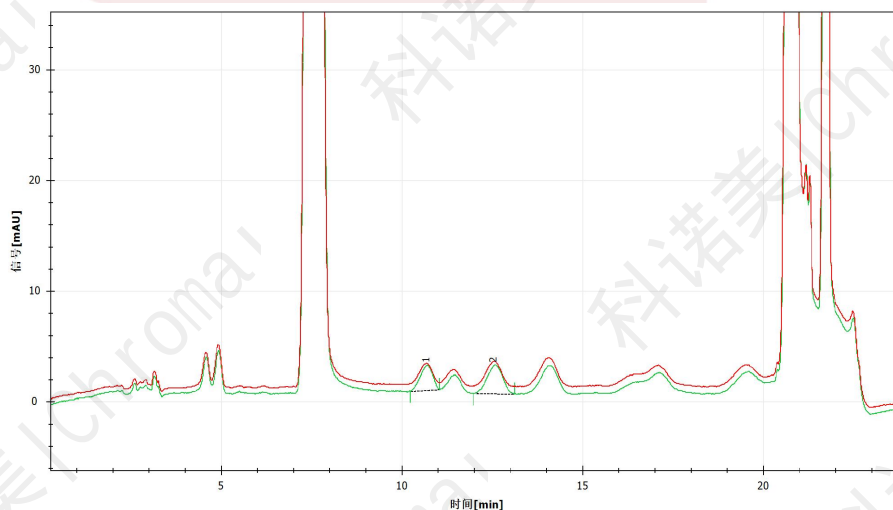


图 3 酶解提取法---加标样品（红色）与本底（绿色）叠加色谱图



(1-天冬酰胺衍生物；2-谷氨酰胺衍生物)

3、结论

本应用使用 Leaps 超高效液相色谱仪，参考《GB 5009.309-2025 食品安全国家标准 食品中天冬酰胺和谷氨酰胺的测定》，建立了分析食品中天冬酰胺和谷氨酰胺含量的检测方法。经测试，两种化合物的标准曲线线性良好，相关系数均大于 0.999；保留时间重复性和峰面积重复性符合要求；用两种前处理方法进行奶粉样品和加标回收率测试，回收率在 85%-105%之间。该方法稳定可靠，灵敏度高，满足食品安全国家标准检测要求。

