

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2890—2016

稻米中 γ -氨基丁酸的测定 高效液相色谱法

Determination of γ -aminobutyric acid in rice—
HPLC

2016-05-23 发布

2016-10-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由农业部种植业管理司提出并归口。

本标准起草单位：云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所、农业部农产品质量监督检验测试中心(昆明)。

本标准主要起草人：汪禄祥、黎其万、邵金良、刘兴勇、王丽、刘宏程、杨东顺、樊建麟。



稻米中 γ -氨基丁酸的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了稻米中 γ -氨基丁酸含量的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于稻米中 γ -氨基丁酸含量的测定。

本方法检出限为 0.10 mg/kg, 定量限为 0.20 mg/kg。

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 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

试样经乙醇—水溶液提取, 经 4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯(DABS-Cl)衍生, 用高效液相色谱法测定, 以保留时间定性, 外标法定量。

4 试剂与材料

除非另有规定, 使用试剂均为分析纯。水为 GB/T 6682 中规定的一级水。

4.1 无水乙醇(C_2H_5OH): 优级纯。

4.2 乙腈(CH_3CN): 色谱纯。

4.3 提取溶液: 无水乙醇+水=4+1(V+V), 取 400 mL 无水乙醇和 100 mL 水混匀。

4.4 碳酸氢钠溶液: 称取 0.40 g 碳酸氢钠, 用水溶解并稀释至 10 mL, 现配现用。

4.5 4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯溶液: 称取 4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯 20.0 mg, 用乙腈溶解并稀释至 10 mL, 现配现用。

4.6 三水合乙酸钠溶液: 称取 3.40 g 三水合乙酸钠, 用水溶解并稀释至 500 mL, 经微孔滤膜(4.10)过滤。

4.7 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA): CAS 号 56-12-2, 纯度 \geq 99.9%。

4.8 标准储备溶液: 精确称取 γ -氨基丁酸标准品 10.0 mg, 用乙腈溶液溶解并定容至 10 mL, 即为 1000 mg/L 的标准储备液, 于 $-18^\circ C$ 下, 贮存于密闭的棕色玻璃瓶中, 保存有效期为 3 个月。

4.9 标准使用液: 在使用中将标准储备溶液逐级稀释成 2.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、50.0 mg/L 和 100.0 mg/L 或其他浓度的 γ -氨基丁酸标准使用液, 现配现用。

4.10 滤膜: 0.45 μm , 水相滤膜。

5 仪器与设备

5.1 高效液相色谱仪带紫外检测器或二极管阵列检测器。

5.2 组织捣碎机: 转速 1000 r/min。

5.3 分析天平: 感量为 0.01 mg, 0.01 g。

5.4 振荡水浴锅。

- 5.5 超声波清洗器。
- 5.6 旋涡混匀器。
- 5.7 离心机:最大转速 10 000 r/min。

6 分析步骤

6.1 试样制备

样品经混匀后,缩分至约 50 g,经研磨至全部通过孔径 0.25 mm(60 目)筛的试样,混匀,装入密闭容器中,室温下保存。

6.2 提取

称取 1.0 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 提取溶液(4.3),超声提取 30 min 后,在旋涡混匀器上振荡 2 min,静置 5 min,于 5 000 r/min 离心 5 min,将上清液转入 25 mL 容量瓶中,样品残渣再用 10 mL 提取溶液(4.3)提取 1 次,合并 2 次提取液,用提取液(4.3)定容至 25 mL,摇匀,待衍生化。

6.3 衍生化

准确吸取 1 mL 试样溶液或标准工作溶液于具塞试管中,加入 0.20 mL 碳酸氢钠溶液(4.4)和 0.40 mL 4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯衍生试剂(4.5),混匀后在 70°C 水浴中衍生反应 20 min,用微孔滤膜(4.10)过滤,待测。

6.4 测定

6.4.1 色谱参考条件

色谱柱: C₁₈ 柱, 250 mm×4.6 mm, 5 μm; 或与之性能相当者;

检测波长: 436 nm;

柱温: 30°C;

进样量: 10 μL;

流动相: 乙腈(4.2)+三水合乙酸钠溶液(4.6)(35+65);

流速: 1.0 mL/min。

6.4.2 色谱分析

分别将标准溶液和试样溶液,注入液相色谱仪中,以保留时间定性,以样品溶液峰面积与标准溶液峰面积比较定量。色谱图参见附录 A。

7 结果计算

试样中 γ-氨基丁酸含量按式(1)计算。

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

ω——试样中 γ-氨基丁酸含量,单位为毫克/千克(mg/kg);

ρ——样液中 γ-氨基丁酸测定质量浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V——定容体积,单位为毫升(mL);

m——试样质量,单位为克(g);

测定结果取两次测定的算术平均值,计算结果保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下,获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 10 %。在再现性条件下,获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20 %。

附录 A
(资料性附录)
 γ -氨基丁酸标准溶液色谱图

10 mg/L γ -氨基丁酸标准溶液色谱图见图 A.1。

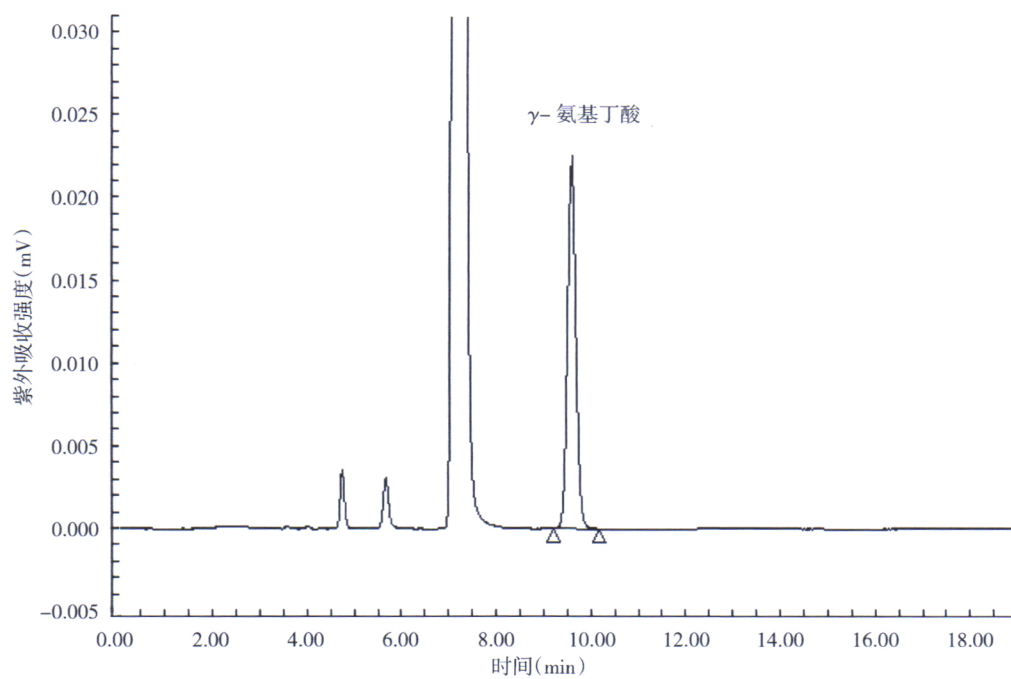


图 A.1 10 mg/L γ -氨基丁酸标准溶液色谱图