

稻米中 γ -氨基丁酸的测定

1. 背景介绍

γ -氨基丁酸 (GABA) 是一种非蛋白质氨基酸, 广泛存在于动、植物体内, 是高等动物神经系统中重要的抑制性传导物质, 在体内其作为神经递质或神经递质的前体直接参与神经活动, 具有促进脂肪消耗、降血压、改善睡眠质量、抑制癌细胞生长、促进脑部新陈代谢、抑制更年期自律失调及预防老年痴呆等功能。基于 GABA 具有上述诸多功效, 富含 GABA 的食品越来越受到广大消费者的喜爱, 而其中 GABA 含量的快速有效测定对于合理评价食物膳食功能和人体摄入量具有重要意义。目前 γ -氨基丁酸的测定方法有多种, 其中应用较多的是柱前衍生高效液相色谱-紫外法, 此法具有样品前处理简单、无杂峰干扰、检测灵敏度高等诸多优点, 中华人民共和国农业行业标准 NY/T 2890-2016 规定采用高效液相色谱法检测稻米中 γ -氨基丁酸。因此本实验参照 NY/T 2890-2016 实现了稻米中 γ -氨基丁酸含量的测定, 方法准确、灵敏度高, 可以满足日常分析要求。

2. 样品制备

提取液配制: 无水乙醇+水=4+1 (V+V), 取 400 mL 无水乙醇和 100 mL 水混匀。

碳酸氢钠溶液配制: 称取 0.40 g 碳酸氢钠, 用水溶解并稀释至 10 mL。

4-二甲氨基偶氮苯-4-磺酰氯衍生试剂溶液配制: 称取 4-二甲氨基偶氮苯-4-磺酰氯 20.0 mg, 用乙腈溶解并稀释至 10 mL

标准储备溶液: 精确称取 γ -氨基丁酸标准品 10.0 mg, 用提取液溶解并定容至 10 mL, 即为 1000 mg/L 的标准溶液。

标准使用液: 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、100.0 mg/L 不同浓度的标准使用液。

试样提取: 分别称取一定量的样品 (约 1 g) 于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 提取液, 超声 30 min 后, 摇匀, 静置 5 min, 于 5000 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 提取液提取一次, 合并 2 次提取液, 用提取液定容至 25 mL, 摇匀, 待衍生化。

衍生化: 准确吸取 1 mL 试样或标准工作溶液于具塞试管中加入 0.2 mL 碳酸氢钠溶液和 0.4 mL 4-二甲氨基偶氮苯-4-磺酰氯衍生试剂, 混匀后在 70°C 水浴中衍生反应 20 min, 用微孔滤膜过滤, 待测。

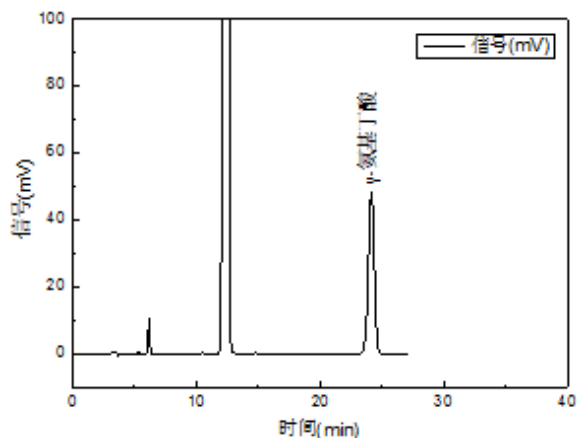
3. 测试条件

仪器	EasySep®-1020 液相色谱系统, 配备 UV 检测器		
色谱柱	Global Chromatography C18-AP, 250×4.6 mm, 5 μ m		
流速	1.0 mL/min	柱温	30°C
流动相	乙腈: 三水合乙酸钠溶液 = 30 : 70		
检测波长	436 nm		

注: 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, 经微孔滤膜过滤。

4. 测试结果

1) 色谱图



序号	保留时间	名称	浓度	峰面积	理论塔板数	峰拖尾因子
1	24.154	γ -氨基丁酸	100	1642086	11786	0.93
总计			100	1642086		

图 1 标准溶液色谱图

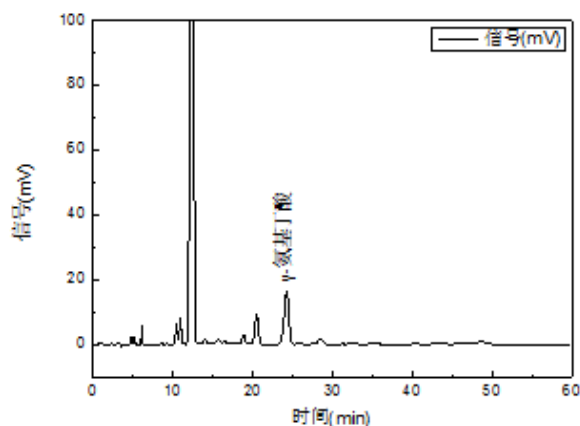


图 2 稻米试样溶液色谱图

序号	保留时间	名称	浓度	峰面积	理论塔板数	峰拖尾因子
1	24.308	γ-氨基丁酸	100	687612	7862	0.86
总计			100	687612		

2) 线性关系考察

将 10μL 标准系列工作液分别注入高效液相色谱仪中，在所述色谱条件下测定标准溶液的响应值（峰面积），以标准工作液的浓度为横坐标，以响应值（峰面积）为纵坐标，绘制标准曲线：

表 1 γ-氨基丁酸标准曲线

组份名称	标准曲线	R ²
γ-氨基丁酸	$y = 1.64875x + 18596$	0.9997

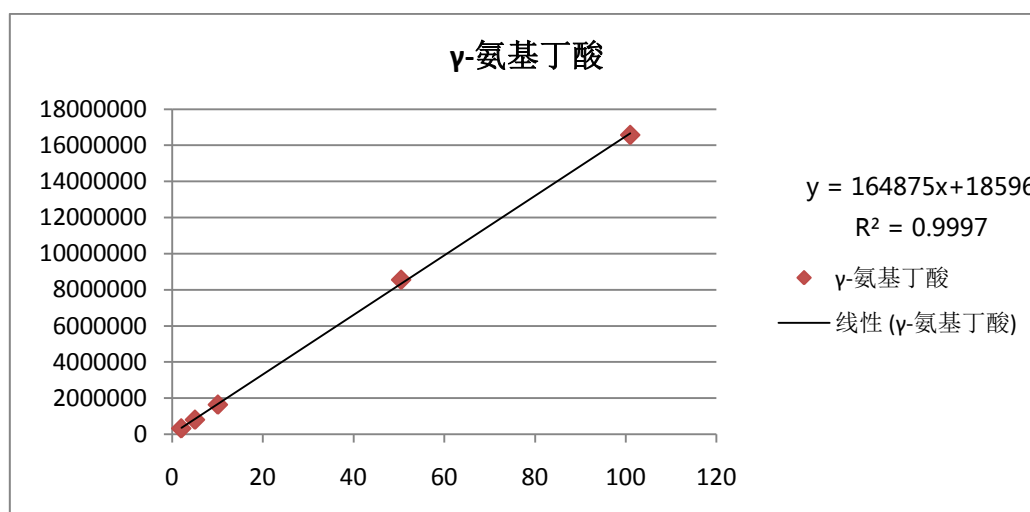


图 3 γ-氨基丁酸标准曲线

5. 结论

采用 EasySep®-1020 液相色谱系统，配备 UV 检测器，可以实现稻米中γ-氨基丁酸的测定，方法准确、灵敏度高，可以满足日常分析要求。

6. 配置列表

仪器配置	EasySep®-1020 二元梯度液相色谱仪（配自动进样器、柱温箱）
	EasySep®-1020 UV 检测器
	Unimicro 色谱工作站

