

ICS 67.060

CCS X 11

T

团 体 标 准

T/CGTA 03—2024

# 发芽糙米中 $\gamma$ -氨基丁酸的测定 高效液相色谱-串联质谱法

Determination of  $\gamma$ -aminobutyric acid in germinated brown rice by high performance  
liquid chromatography-tandem mass spectrometry method

2024 - 09- 20 发布

2024- 11- 20 实施

中国粮食商业协会 发布



## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由陈克明食品股份有限公司提出。

本文件由中国粮食商业协会归口。

本文件起草单位：陈克明食品股份有限公司、辽宁寨香生态农业股份有限公司、长沙尚海农业科技股份有限公司、湖南诺千健康管理有限公司、湖南省粮油产品质量监测中心、湖南省农产品加工研究所。

本文件主要起草人：陈克明、陈幸莺、钟鹏鹏、龚浩如、许艳霞、李志坚、林树化、张瑶、陈立忠、葛胜修、谭莉、邓晓庆、陈旭霞、周希福、黄能文。



# 发芽糙米中 $\gamma$ -氨基丁酸的测定

## 高效液相色谱-串联质谱法

### 1 范围

本文件规定了高效液相色谱-串联质谱法测定发芽糙米中  $\gamma$ -氨基丁酸的术语和定义、原理、试剂与材料、仪器与设备、试样制备与保存、分析步骤、结果计算、精密度及其他的要求。

本文件适用于发芽糙米中  $\gamma$ -氨基丁酸含量的测定。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 术语和定义

#### 3.1 发芽糙米 germinated brown rice

以稻谷或糙米(包括紫米、红米等)为原料,经过预处理、发芽、干燥等工艺加工而成的带有胚芽的糙米产品。

### 4 原理

试样经甲酸水溶液提取 $\gamma$ -氨基丁酸，用高效液相色谱-串联质谱法测定，外标法定量。

### 5 试剂与材料

除非另有规定，使用试剂均为色谱纯。水为GB/T 6682 中规定的一级水。

#### 5.1 试剂

5.1.1 甲醇（ $\text{CH}_3\text{OH}$ ）。

5.1.2 甲酸（ $\text{HCOOH}$ ）。

#### 5.2 试剂配制

5.2.1 0.1% 甲酸水溶液：准确吸取 1.00 mL 的甲酸（5.1.2）用水定容至 1000 mL。

5.2.2 甲醇+0.1% 甲酸水溶液=1+9（V+V）：取 100 mL 甲醇（5.1.1）和 900 mL 0.1% 甲酸水（5.2.1）溶液混合，用滤膜（0.22  $\mu\text{m}$ ，有机相）过滤后备用。

### 5.3 标准品

$\gamma$ -氨基丁酸标准品（CAS号：56-12-2）：纯度 $\geq 99\%$  或经国家认证并授予标准物质证书的标准品。

### 5.4 标准溶液配制

5.4.1  $\gamma$ -氨基丁酸标准储备溶液：准确称取  $\gamma$ -氨基丁酸标准品（5.3）10.0 mg（精确至 0.0001 g），用水溶解并定容至 10 mL，此溶液浓度为 1 mg/mL。储存于 4 °C 冰箱中，有效期 3 个月。

5.4.2  $\gamma$ -氨基丁酸标准系列工作溶液：将  $\gamma$ -氨基丁酸标准储备溶液（5.4.1）用 0.1 % 甲酸水溶液（5.2.1）配制成 2  $\mu\text{g/mL}$  标准中间液，再稀释成 10 ng/mL、20 ng/mL、40 ng/mL、80 ng/mL、160 ng/mL、400 ng/mL 标准系列工作溶液，临用时配制。

## 6 仪器与设备

6.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源。

6.2 分析天平：感量为 0.0001 g。

6.3 超声波清洗器。

6.4 漩涡混匀器。

6.5 离心机：转速 $\geq 6000$  r/min。

## 7 试样制备与保存

样品混匀后，取 200 g 样品经四分法缩分至约 50 g，研磨至全部通过孔径 0.25 mm（60 目）筛的试样，装入密封的容器中，室温下保存。

## 8 分析步骤

### 8.1 提取

称取 0.5 g 样品（7）（精确至 0.0001 g）于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 0.1 % 甲酸水溶液（5.2.1），30 °C 超声提取 30 min 后在漩涡混匀器（6.4）上涡旋 2 min，于 6000 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 的 0.1 % 甲酸水溶液（5.2.1）重复上述提取步骤提取一次，合并 2 次提取液，用 0.1 % 甲酸水溶液（5.2.1）定容至 25 mL，摇匀备用。根据需要用 0.1 % 甲酸水溶液（5.2.1）稀释至标准曲线线性范围内，混匀，经微孔滤膜（0.22  $\mu\text{m}$ ）过滤待测。

### 8.2 仪器参考条件

#### 8.2.1 液相色谱条件

- a) 色谱柱: C<sub>18</sub> 色谱柱 (2.1×150 mm, 1.7 μm), 或性能相当者;
- b) 流动相: 甲醇+0.1% 甲酸水溶液=1+9 (V+V) (5.2.2)
- c) 进样量: 2 μL;
- d) 柱温: 35 °C;
- e) 流速: 0.2 mL/min。

### 8.2.2 质谱条件

- a) 离子源: 电喷雾电离源 (ESI);
- b) 扫描方式: 正离子扫描;
- c) 检测方式: 多反应监测 (MRM);
- d) 离子源温度: 550 °C;
- e) 气帘气: 35 psi;
- f) 离子喷雾电压: 5500 V;
- g) 定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞能见表1。

表1 定性离子对、定量离子对、去簇电压和碰撞能

目标化合物	定性离子对 m/z	定量离子对 m/z	去簇电压 V	碰撞能 V
γ-氨基丁酸	104.0/87.1	104.0/87.1	47	14
	104.0/69.1		47	14

### 8.2.3 定性确证

按照仪器参考条件测定试样溶液和标准工作溶液, 试样中的γ-氨基丁酸质量色谱峰保留时间与标准工作溶液一致 (变化范围在±2.5% 之内); 且试样中γ-氨基丁酸的两个子离子的相对丰度比 (k) 与浓度相当标准工作溶液中γ-氨基丁酸的两个子离子的相对丰度比相比, 其允许偏差不超过表2 规定的范围, 则可判定为试样中存在γ-氨基丁酸。γ-氨基丁酸标准溶液质量色谱图参见附录A。

表2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

单位为 %

相对离子丰度	k > 50	50 ≥ k > 20	20 ≥ k > 10	k ≤ 10
允许的最大偏差	± 20	± 25	± 30	± 50

### 8.2.4 定量测定

将标准系列工作溶液按仪器参考条件进行测定，得到相应的标准系列工作溶液的质量色谱峰面积。以标准系列工作溶液的浓度为横坐标，以质量色谱峰的峰面积为纵坐标，绘制工作曲线，保证样品中 $\gamma$ -氨基丁酸浓度在标准曲线范围内，外标法定量。

## 9 结果计算

试样中 $\gamma$ -氨基丁酸的含量按式（1）计算。

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中：

- $X$  一试样中 $\gamma$ -氨基丁酸含量，单位为毫克/千克（mg/kg）；
- $c$  一样液中 $\gamma$ -氨基丁酸测定的质量浓度，单位为纳克/毫升（ng/mL）；
- $V$  一定容体积，单位为毫升（mL）；
- $m$  一试样质量，单位为克（g）；
- $f$  一稀释倍数；
- 1000 一单位换算系数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

## 10 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%。

## 11 其他

当称样量为0.5 g 时，按照本文件方法的定容体积，检测浓度范围为10 ng/mL~400 ng/mL时，检出限为0.05 mg/kg，定量限为0.15 mg/kg。

## 附录 A

(资料性)

 $\gamma$ -氨基丁酸多反应监测色谱图

A.1 标准品定量离子对质量色谱图及定性离子对质量色谱图见图 A.1 和图 A.2。

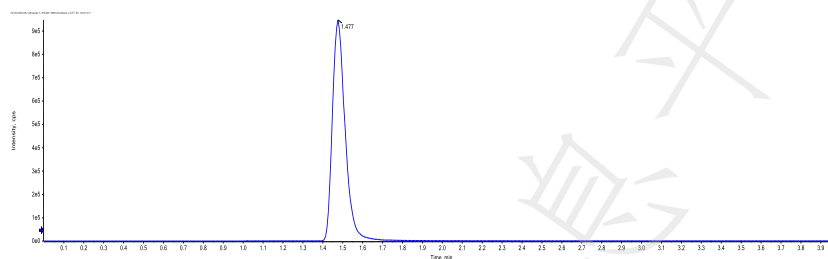


图 A.1 标准品定量离子对质量色谱图 (m/z 104.0/87.1)

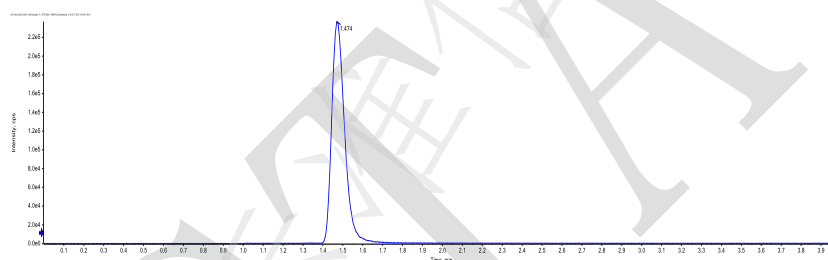


图 A.2 标准品定性离子对质量色谱图 (m/z 104.0/69.1)

A.2 样品定量离子对质量色谱图及定性离子对质量色谱图见图 A.3 和图 A.4。

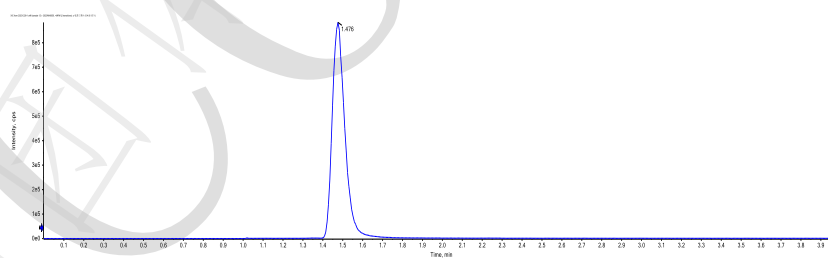


图 A.3 样品定量离子对质量色谱图 (m/z 104.0/87.1)

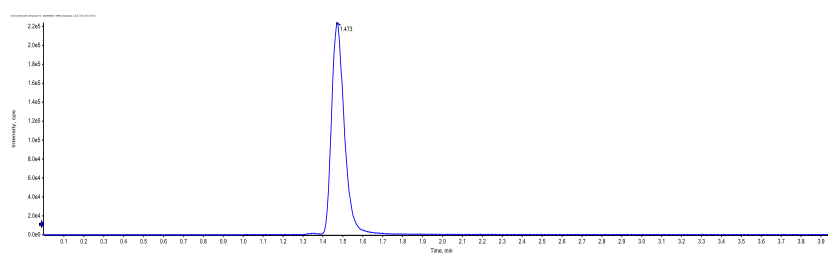


图 A.4 样品定性离子对质量色谱图 (m/z 104.0/69.1)