

ICS 07.080
G 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 30987—2014

GB/T 30987—2014

植物中游离氨基酸的测定

Determination of free amino acids in plants

中华人民共和国
国家标准
植物中游离氨基酸的测定
GB/T 30987—2014

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

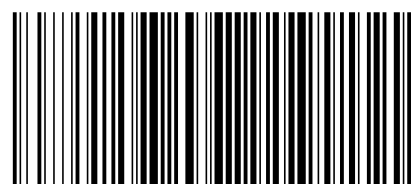
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 20 千字
2014年12月第一版 2014年12月第一次印刷

*

书号: 155066·1-50566 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB/T 30987-2014

2014-07-24 发布

2015-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

附 录 A
(资料性附录)
氨基酸检测种类及检出限

氨基酸检测种类及检出限见表 A.1。

表 A.1 氨基酸检测种类及检出限

序号	中文名	英文简写	相对分子质量	第一法检出限/ ($\mu\text{g/g}$)	第二法检出限/ ($\mu\text{g/g}$)
1	丙氨酸	Ala	89.09	4.64	1.01
2	精氨酸	Arg	174.20	9.08	6.60
3	天冬酰胺	Asn	132.12	25.02	4.54
4	天冬氨酸	Asp	133.10	4.48	10.65
5	胱氨酸	Cys	240.30	14.96	31.21
6	γ -氨基丁酸	GABA	103.12	6.68	1.50
7	谷氨酰胺	Gln	146.15	6.47	2.98
8	谷氨酸	Glu	147.13	7.60	7.30
9	甘氨酸	Gly	75.07	5.56	2.20
10	组氨酸	His	155.16	25.14	4.69
11	异亮氨酸	Ile	131.18	10.08	0.67
12	亮氨酸	Leu	131.18	9.58	0.64
13	赖氨酸	Lys	146.19	13.21	2.36
14	蛋氨酸	Met	149.20	7.93	3.38
15	苯丙氨酸	Phe	165.19	11.21	0.47
16	脯氨酸	Pro	115.13	98.77	4.40
17	丝氨酸	Ser	105.09	4.57	5.24
18	茶氨酸	The	174.20	6.40	3.09
19	苏氨酸	Thr	119.13	5.30	2.61
20	酪氨酸	Tyr	181.19	13.93	3.49
21	缬氨酸	Val	117.15	6.27	1.55

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国测试技术研究院提出。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)归口。

本标准负责起草单位:中国测试技术研究院、中测测试科技有限公司、四川中测生物科技有限公司。

本标准主要起草人:谭和平、徐文平、赵爱平、孙登峰、谭福元。

移液器:量程分别为 10 μL ~100 μL , 20 μL ~100 μL 和 200 μL ~1 000 μL 。

高效液相色谱仪:配备二元梯度泵,柱温箱,荧光检测器。

液相色谱柱:规格型号为 C₁₈ 填料,5 μm 粒径,4.6 mm \times 250 mm。

5.7 分析步骤

5.7.1 样品制备

同 4.7.1。

5.7.2 液相色谱仪参考条件

柱温:35 $^{\circ}\text{C}$ 。

流速:1 mL/min。

进样体积:5 μL 。

荧光检测器参数:激发波长 250 nm,发射波长 395 nm。

二元梯度洗脱程序见表 3。

表 3 高效液相色谱法洗脱程序

时间/min	A/%	B/%
0	100.0	0.0
5	100.0	0.0
25	97.3	2.7
40	81.2	18.8
55	74.4	25.6
67	50.2	49.8
70	0.0	100.0
75	0.0	100.0
77	100.0	0.0

5.7.3 衍生化操作

用移液器移取制备好的样品溶液或标准溶液 10 μL 于洁净的玻璃内插管中,加入配制好的衍生用缓冲溶液(见 5.4.2)70 μL ,然后加入衍生试剂(见 5.4.1)20 μL ,并立刻用涡旋混合仪混合 10 s,加盖密封于进样瓶中,在室温下静置 1 min,转移至事先预热好的 55 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中加热 10 min,取出待测。

5.7.4 绘制校正曲线

启动高效液相色谱仪,设定工作参数,待基线稳定后,分别吸取不同梯度浓度的混合氨基酸标准工作溶液(见 5.3),按照 5.7.3 规定进行衍生化操作,衍生化完毕后,注入高效液相色谱仪进行测定,分别得到 21 种氨基酸的峰面积。分别以各氨基酸峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,建立校正曲线。通过保留时间识别各氨基酸出峰顺序,混合氨基酸标准工作液色谱图见图 2。

植物中游离氨基酸的测定

1 范围

本标准规定了植物中游离氨基酸的测定方法,包括全自动氨基酸分析仪法(第一法)和高效液相色谱仪法(第二法)两种方法。

本标准适用于茶叶、中药材、烟叶等植物样品中的游离氨基酸的测定。

注:本标准检测的氨基酸种类参见附录 A。

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

GB/T 8303 茶 磨碎试样的制备及其干物质含量测定

3 术语与定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

游离氨基酸 free amino acids

植物材料中未与其他化学物质结合,以单个分子或离子形式存在,可被水溶液或其他溶剂直接浸提出来的氨基酸。

4 全自动氨基酸分析仪法(第一法)

4.1 原理

样品中游离氨基酸经沸水提取后,经氨基酸分析仪的磺酸型阳离子交换柱分离后,在 135 $^{\circ}\text{C}$ 下加热氨基酸与茚三酮混合反应,伯胺与茚三酮生成蓝紫色化合物,仲胺与茚三酮生成黄色化合物,分别在 570 nm 和 440 nm 波长下检测两种衍生产物,保留时间定性,外标法定量。

4.2 试剂和材料

4.2.1 试剂

氨基酸标准品(纯度 $>$ 98%)种类参见附录 A;柠檬酸锂(四水)、氯化锂、柠檬酸、氢氧化锂、硼氢化钠、无水乙酸钠、茚三酮、无水乙醇、硫代双乙醇、聚氧乙烯月桂醚、辛酸、苯甲醇、乙二醇甲醚和冰乙酸均为优级纯;氮气为高纯氮(纯度 \geq 99.999%)。

除特别要求以外,本标准所使用的实验用水均为一级超纯水,具体要求见 GB/T 6682。