

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4356—2023

植物源性食品中甜菜碱的测定 高效液相色谱法

Determination of betaine in foods of plant origin by high
performance liquid chromatography

2023-04-11 发布

中华人民共和国农业农村部 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。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专家委员会归口。

本文件起草单位：农业农村部食物与营养发展研究所、北京市营养源研究所有限公司、内蒙古蒙牛乳业(集团)股份有限公司、中国合格评定国家认可委员会、北京城市学院、北京林业大学、大连工业大学、北京工商大学、北京市农林科学院农产品加工与食品营养研究所、唐山市食品药品综合检验检测中心、北京东方倍力营养科技有限公司。

本文件主要起草人：朱大洲、崔亚娟、杨春雪、孔凡华、徐佳佳、孙婉秋、白沙沙、罗欣、特日格乐、王佳、林立民、马利军、李宏、田荣荣、杨清、孟冬、杜明、李赫、刘光敏、王磊、蒋峰、蒋彤。



植物源性食品中甜菜碱的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了植物源性食品中甜菜碱的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于植物源性食品中甜菜碱含量的测定。

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

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中甜菜碱,经甲醇提取后,采用配有紫外检测器或者二极管阵列检测器的高效液相色谱仪在波长 196 nm 处测定;根据色谱峰的保留时间定性,外标法定量。

5 试剂与材料

5.1 试剂

除非另有说明,本方法所用试剂为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1.1 甲醇(CH_3OH)。

5.1.2 乙腈($\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$):色谱纯。

5.2 标准品

甜菜碱标准品: $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$,CAS 号:107-43-7,纯度 $\geq 98.0\%$,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3 标准溶液的配制

5.3.1 标准储备溶液(1.0 mg/mL):准确称取甜菜碱标准品 100 mg(精确到 0.1 mg),用水溶解转移至 100 mL 容量瓶并定容。转移至于棕色玻璃瓶,于 4 °C 下储存。

5.3.2 标准工作溶液:分别吸取标准储备溶液 0.1 mL、0.5 mL、1.0 mL、5.0 mL、10.0 mL 于 10 mL 容量瓶,用甲醇(5.1.1)定容至刻度,得 0.01 mg/mL、0.05 mg/mL、0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL 的标准工作溶液,现用现配。

5.4 材料

有机相微孔滤膜:孔径为 0.45 μm 。

6 仪器设备

6.1 高效液相色谱仪:配紫外检测器或者二极管阵列检测器。

6.2 天平:感量 0.000 01 g,0.000 1 g。

6.3 粉碎机。

6.4 匀浆机。

6.5 恒温振荡水浴锅,30 °C~100 °C。

7 分析步骤

7.1 试样制备

试样取可食部分经匀浆机匀浆或者粉碎机粉碎均匀后,储存于样品瓶中。所有制备试样于-18℃条件下保存。

7.2 提取

根据试样性状,称取试样 0.1 g~5.0 g(精确至 0.001 g)置于 150 mL 具塞三角瓶中,加入 25 mL 甲醇(5.1.1),置于恒温振荡水浴锅中 45℃下振荡提取 10 min,取出后转移至 50 mL 容量瓶中,分别用 5 mL 甲醇冲洗具塞三角瓶 2 次后,转入 50 mL 容量瓶中并用甲醇定容至 50 mL,混匀后过滤膜(5.4),测甜菜碱的含量。对照标准工作溶液中甜菜碱的含量进行稀释。

7.3 测定

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱:Rx SIL 色谱柱,柱长 150 mm,内径 4.6 mm,颗粒度 5.0 μm,或性能相当者;
- b) 流动相:乙腈+水=80+20(体积比);
- c) 进样量:10 μL;
- d) 柱温:30℃;
- e) 检测波长:196 nm。

7.3.2 标准工作曲线

标准工作溶液(5.3.2)注入高效液相色谱仪按照 7.3.1 的规定测定,以甜菜碱质量浓度为横坐标,响应的峰面积为纵坐标,绘制标准工作曲线和甜菜碱标准溶液色谱图见(附录 A)。

7.3.3 测定

取试样溶液进行测定,以标准样品色谱峰保留时间定性,以标准样品色谱峰峰面积和试样峰峰面积比较定量。

7.4 结果计算

试样中的甜菜碱含量以质量分数表示,按公式(1)计算:

$$\omega = \rho \times \frac{V}{m} \times f \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- ω ——试样中甜菜碱含量的数值,单位为毫克每百克(mg/100g);
- ρ ——从标准曲线上得到的被测组分溶液质量浓度的数值,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- f ——试样溶液稀释倍数;
- V ——试样溶液的定容体积,单位为毫升(mL);
- m ——试样质量的数值,单位为克(g);
- 100——单位转换系数。

以 2 次测定结果的算术平均值表示,结果保留 3 位有效数字。

8 精密度

8.1 重复性

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%。

8.2 再现性

在再现性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

9 其他

9.1 检出限

当样品取样量为 5.0 g,定容体积为 50 mL 时;甜菜碱的检出限为 1.0 mg/100 g。

9.2 定量限

当样品取样量为 5.0 g,定容体积为 50 mL 时;甜菜碱的定量限为 3.0 mg/100 g。

附 录 A
(资料性)
甜菜碱标准工作溶液色谱图

甜菜碱标准工作溶液色谱图见图 A.1。

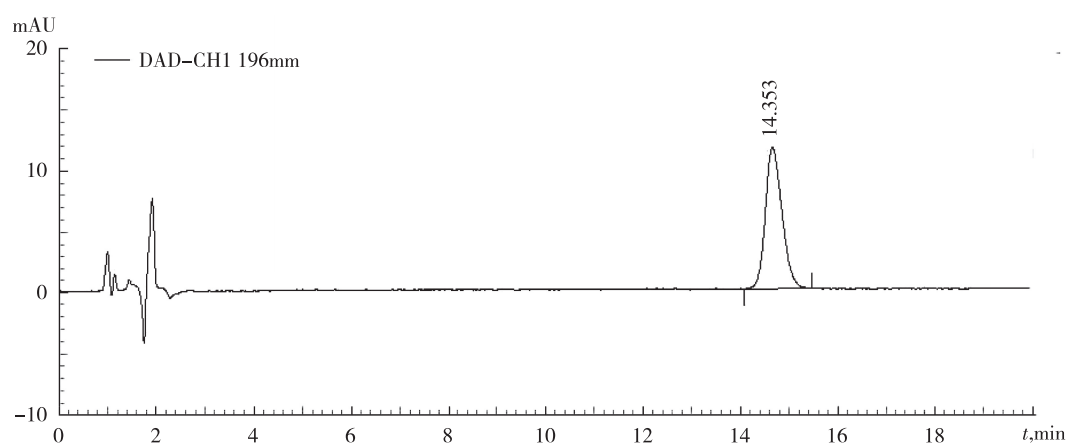


图 A.1 甜菜碱色谱图