

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 3872—2021

食用菌中L-麦角硫因的测定 超高效液相色谱法

Determination of L-ergothioneine in edible fungi—Ultra high
performance liquid chromatography

2021-05-07 发布

2021-11-01 实施



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种植业管理司提出并归口。

本文件起草单位：上海市农业科学院、农业农村部食用菌产品质量监督检验测试中心（上海）。

本文件主要起草人：张艳梅、鄂恒超、赵晓燕、周昌艳、陈磊、赵志勇、李晓贝、刘海燕、任佳丽、冯路路、白冰、董慧、范婷婷、何香伟、李健英。

食用菌中 L-麦角硫因的测定 超高效液相色谱法

1 范围

本文件规定了食用菌中 L-麦角硫因含量的超高效液相色谱测定方法。

本文件适用于食用菌中 L-麦角硫因含量的测定。

本文件方法的定量限:鲜样为 2.0 mg/100g,干样为 4.0 mg/100g。

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

GB/T 12728 食用菌术语

3 术语和定义

GB/T 12728 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

L-麦角硫因 (L-ergothioneine)

学名 2-巯基-组氨酸-三甲基内盐,摩尔质量 229.3 g/mol,易溶于水,不易分解,对热不敏感,是一种具有重要生理活性的稀有天然手性氨基酸。

4 原理

食用菌样品中 L-麦角硫因经甲醇(甲醇-水)溶液提取,通过色谱分离后,用配置有紫外检测器或二极管阵列检测器的超高效液相色谱仪测定,以峰面积计算,外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯试剂,实验室用水符合 GB/T 6682 中一级水的规定。

5.1 乙腈(CH_3CN ,CAS 号:75-05-8),色谱纯。

5.2 甲醇(CH_3OH ,CAS 号:67-56-1),色谱纯。

5.3 甲酸(HCOOH ,CAS 号:64-18-6),色谱纯。

5.4 0.1%甲酸甲醇溶液:准确吸取 1 mL 甲酸(5.3)加甲醇(5.2)定容至 1 000 mL,混匀。

5.5 70%甲醇水溶液:量取 700 mL 甲醇(5.2)加水至 1 000 mL,混匀。

5.6 0.1%甲酸乙腈溶液:准确吸取 1 mL 甲酸(5.3)加乙腈(5.1)定容至 1 000 mL,混匀并脱气。

5.7 0.1%甲酸水溶液:准确吸取 1 mL 甲酸(5.3)加水定容至 1 000 mL,混匀并脱气。

5.8 L-麦角硫因($\text{C}_9\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$,CAS 号:497-30-3)标准品:纯度 $\geq 98\%$ 。

5.9 L-麦角硫因标准储备溶液配制:称取 L-麦角硫因标准品 10 mg(精确至 0.000 1 g),用水溶解并定容至 10 mL。L-麦角硫因标准储备溶液(1 000 mg/L), -18°C 保存,有效期 2 个月。

5.10 L-麦角硫因标准工作溶液配制:准确移取一定量的 L-麦角硫因标准储备溶液(5.9),用 0.1%甲酸甲醇溶液(5.4)逐级稀释得到一系列的标准工作溶液(质量浓度分别为 1.0 mg/L、2.0 mg/L、5.0 mg/L、10.0 mg/L、20.0 mg/L、50.0 mg/L)。临用现配。

5.11 有机系微孔滤膜:0.22 μm 。

6 仪器和设备

- 6.1 超高效液相色谱仪:配置有紫外检测器或二极管阵列检测器。
- 6.2 天平:感量 0.01 g 和 0.000 1 g。
- 6.3 超声波清洗器。
- 6.4 离心机:不低于 4 000 r/min。
- 6.5 氮气吹干仪。
- 6.6 涡旋混合器。
- 6.7 均质机。
- 6.8 样品粉碎机。
- 6.9 标准筛:0.425 mm。

7 分析步骤

7.1 试样制备

7.1.1 鲜样

取不少于 1 000 g 食用菌鲜样,用干净纱布轻轻擦去表面附着物,切碎后,放置于均质机(6.7)中粉碎成匀浆状,于密封容器中-18℃保存备用。称取试样时,冷冻试样应先解冻再混匀。

7.1.2 干样

取不少于 200 g 食用菌干样,放置于样品粉碎机(6.8)中粉碎,过 0.425 mm 标准网筛,制成待测样,于密封容器中常温保存备用。称取试样时,常温试样应搅拌均匀。

7.2 提取

7.2.1 鲜样

称取 2 g 试样(精确至 0.01 g),置于 50 mL 离心管中,准确加入 40.00 mL 0.1%甲酸甲醇溶液(5.4),在超声波清洗器中超声提取 10 min 后,于 4 000 r/min 离心 5 min,取 2 mL 提取液,过 0.22 μm 滤膜后,取 1 mL 滤液供超高效液相色谱仪测定。

7.2.2 干样

称取 1 g 试样(精确至 0.01 g),置于 50 mL 离心管中,准确加 40.00 mL 70%甲醇水溶液(5.5),超声波清洗器超声提取 30 min 后,4 000 r/min 离心 5 min,取 2 mL 提取液吹至近干,用 2 mL 0.1%甲酸甲醇溶液(5.4)复溶,过 0.22 μm 滤膜后,取 1 mL 滤液供超高效液相色谱仪测定。

7.3 测定

7.3.1 色谱参考条件

色谱柱:HILIC 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm),或相当规格色谱柱;
 流动相:0.1%甲酸乙腈溶液(5.6)-0.1%甲酸水溶液(5.7)(88+12,V/V);
 流速:0.4 mL/min;
 柱温:40℃;
 波长:262 nm;
 进样量:3 μL。

7.3.2 标准曲线的绘制

用 L-麦角硫因系列标准工作溶液(5.10),参考上述色谱条件(7.3.1)进行测定,以标准工作溶液的质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制 L-麦角硫因的标准曲线。L-麦角硫因标准工作溶液的色谱图参见附录 A。

7.3.3 定量测定

按照保留时间进行定性,样品与相似浓度下标准品保留时间的相对偏差不大于 2%,外标法定量。待

测样液中 L-麦角硫因的响应值应在标准曲线范围内,超出标准工作曲线 1.0 mg/L~50.0 mg/L 的范围则应稀释后再进样分析。

7.3.4 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤进行。

8 结果计算

试样中的 L-麦角硫因含量以质量分数 w 计,数值以毫克每克(mg/g)表示,按公式(1)计算。

$$w = \frac{c \times V}{m} \times f \times \frac{1}{1000} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

c ——由标准曲线得出的试样溶液中 L-麦角硫因浓度的数值,单位为毫克每升(mg/L);

V ——提取溶液体积的数值,单位为毫升(mL);

m ——试样质量的数值,单位为克(g);

f ——稀释倍数。

计算结果保留小数点后一位数字。

注:当待测样液中 L-麦角硫因含量超过标准工作曲线范围时,进行稀释,即需进行稀释倍数换算。

9 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不超过算术平均值的 10%。

附录 A
(资料性)

L-麦角硫因标准工作溶液(10.0 mg/L)的色谱图

L-麦角硫因标准工作溶液(10.0 mg/L)的色谱图见图 A.1。



图 A.1 L-麦角硫因标准工作溶液(10.0 mg/L)的色谱图

中 华 人 民 共 和 国
农 业 行 业 标 准
食 用 菌 中 L-麦 角 硫 因 的 测 定
超 高 效 液 相 色 谱 法

NY/T 3872—2021

* * *

中 国 农 业 出 版 社 出 版
(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码:100125 网址:www.ccap.com.cn)

北 京 印 刷 一 厂 印 刷

新 华 书 店 北 京 发 行 所 发 行 各 地 新 华 书 店 经 销

* * *

开 本 880mm×1230mm 1/16 印 张 0.75 字 数 15 千 字

2021 年 10 月 第 1 版 2021 年 10 月 北 京 第 1 次 印 刷

书 号: 16109 · 8731

定 价: 24.00 元



NY/T 3872—2021

版 权 专 有 侵 权 必 究

举 报 电 话: (010) 59194261