

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241018005

引用格式: 潘玲, 顾海华, 王煜博, 等. 高效液相色谱法测定植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(2): 206–214.

PAN L, GU HH, WANG YB, *et al.* Determination of γ -amino butyric acid content in foods of plant origin by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(2): 206–214. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱法测定植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量

潘玲^{1,2}, 顾海华^{1,2}, 王煜博³, 张湫惟^{1,2}, 崔亚娟^{1,2*}

(1. 北京市营养源研究所有限公司, 北京 100069; 2. 北京市系统营养工程技术研究中心, 北京 100069;
3. 北京城市学院生物医药学部, 北京 100083)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法测定植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的分析方法。**方法** 以4-二甲氨基偶氮苯-4-磺酰氯为柱前衍生试剂, 以提取溶剂、料液比、提取方式和提取时间为考察因素, 设计正交实验并进行方法学验证。通过检测不同植物源性食品、仪器比对测定, 分析 γ -氨基丁酸测定结果。**结果** 确定提取 γ -氨基丁酸最优条件为60%乙醇溶液, 按1:25 (g:mL)的料液比, 通过水浴振荡(40 °C)或超声提取30 min。色谱条件: C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m), 柱温30 °C, 流动相为乙腈+乙酸钠溶液(20:80, V:V), 流速1.0 mL/min, 检测波长为436 nm。 γ -氨基丁酸在1.092~131.064 μ g/mL范围内与峰面积具有良好的线性关系。火龙果(白心)、番茄和麦芽中 γ -氨基丁酸精密度的相对标准偏差均小于5.0%, 加标回收率均在95.80%~104.36%之间, 表明方法精密度良好, 添加回收率高。**结论** 本研究建立的方法重复性好、准确度高, 可以准确定量植物源性食品中 γ -氨基丁酸的含量。

关键词: 高效液相色谱法; 植物源性食品; γ -氨基丁酸; 4-二甲氨基偶氮苯-4-磺酰氯

Determination of γ -amino butyric acid content in foods of plant origin by high performance liquid chromatography

PAN Ling^{1,2}, GU Hai-Hua^{1,2}, WANG Yu-Bo³, ZHANG Hao-Wei^{1,2}, CUI Ya-Juan^{1,2*}

(1. Beijing Institute of Nutrition Resources Co., Ltd., Beijing 100069, China; 2. Beijing Institute of Nutrition Resources Co., Ltd., Beijing 100069, China; 3. Beijing City University Biomedical Engineering, Beijing 100083, China)

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for determining γ -amino butyric acid content in foods of plant origin by high performance liquid chromatography. **Method** Foods samples were pre-column derivatized with 4-dimethylamino-azobenzene 4-sulfonyl chloride, orthogonal experiments were designed and methodological verification was carried out based on extraction solvent, solid-liquid ratio, extraction method and extraction time. The results of γ -amino butyric acid were analyzed by detecting different plant-derived foods and comparing with

收稿日期: 2024-10-18

基金项目: 中华人民共和国国家卫生健康委员会 食品安全国家标准制定、修订项目(spaq-2023-18)

第一作者: 潘玲(1990—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为营养分析与功能评价。E-mail: 814247847@qq.com

*通信作者: 崔亚娟(1979—), 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为食物资源营养分析与应用。E-mail: cuiyj66@163.com

instruments. **Results** The results showed that the optimal conditions were determined as 60% ethanol solution, which was extracted by water bath (40 °C) or ultrasonic for 30 min at 1:25 (g:mL) solid-liquid ratio. The separation of γ -amino butyric acid was achieved on C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) using acetonitrile+sodium acetate solution (20:80, V:V) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min. The absorption wavelength of γ -amino butyric acid was 436 nm and column temperature was set at 30 °C, respectively. The linear range of γ -amino butyric acid was 1.092–131.064 μ g/mL. The relative standard deviation of γ -amino butyric acid was all less than 5.0% in pitaya (white heart), tomato, and malt. The average recovery rate of γ -amino butyric acid was between 95.80%–104.36%, indicating that the method had good precisions and high recoveries. **Conclusion** The method established in this study has good repeatability and high accuracy, and can accurately quantify the content of γ -amino butyric acid in foods of plant origin.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; foods of plant origin; γ -amino butyric acid; 4-dimethylamino-azobenzene 4-sulfonyl chloride

0 引言

γ -氨基丁酸(γ -amino butyric acid), 化学名称为 4-氨基丁酸, 别名叫 γ -氨基丁酸、氨酪酸、哌啶酸, 广泛分布于动植物体内^[1-3]。在植物中, 如豆属、参属、中草药等的种子、根茎和组织液中都含有 γ -氨基丁酸^[4-7]; 在动物体内, γ -氨基丁酸几乎只存在于神经组织中, 其中脑组织中的含量大约为 0.1~0.6 mg/g 组织, 浓度最高的区域为大脑中黑质^[8-10]。

γ -氨基丁酸是研究较为深入的一种重要的抑制性神经递质, 可以抑制动物的活动, 减少能量的消耗^[11-13]。此外, 它还参与多种代谢活动, 具有镇静^[14-17]、催眠^[18-22]、抗惊厥^[23-25]、降血压^[26-28]、治疗癫痫和改善记忆力^[29-31]等生理活性。因此, 研究 γ -氨基丁酸的检测方法对指导生产生活具有重要意义。

NY/T 2890—2016《稻米中 γ -氨基丁酸的测定 高效液相色谱法》、QB/T 5633.7—2022《氨基酸、氨基酸盐及其类似物 第7部分: γ -氨基丁酸》等国内相关 γ -氨基丁酸检测方法中, NY/T 2890—2016 只规定了稻米中 γ -氨基丁酸的测定, 不适用于谷物、蔬菜、水果等植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的测定, 采用此方法测定的植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量, 测定结果不能满足现阶段检测需求。国外方面, 国际标准化组织(International Organization for Standardization, ISO)、政府农业化学师学会(Association of Official Agricultural Chemists, AOAC)、美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)及欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)等相关检测标准, 均未涉及到 γ -氨基丁酸测定方法。

γ -氨基丁酸对电化学、紫外和可见光不灵敏, 用直接方法测定比较困难。目前, 国内外测定 γ -氨基丁酸的检测方法主要有: 氨基酸分析法、酶法、色谱-质谱法、柱层析荧光测定法、纸电泳比色法、毛细管气相色谱法、放射性受体法、毛细管电泳法、高效液相色谱法等^[32-37]。氨基酸分析法由于仪器设备价格昂贵, 仪器应用领域也仅限

制于氨基酸相关项目检测等方面检测, 不适用于大批量定量分析; 色谱-质谱法虽操作简便、分离效果良好, 但其成本较高; 比色法样液中其他游离氨、色素以及显色液稳定性等对测定结果有影响; 柱层析荧光测定法操作步骤相对复杂, 荧光信号容易受到环境因素, 如温度、光线、污染物等的影响。因此, 本研究建立高效液相色谱法检测植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的分析方法, 通过检验不同的植物源性样品, 分析 γ -氨基丁酸的含量, 为研究食品质量、营养价值评价和技术开发利用提供支持。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

香菇、平菇、油菜、蒜苔、黄瓜、西葫芦、西兰花、大白菜、菜花、菠菜、架豆角、胡萝卜、紫洋葱、丝瓜、莲藕、青萝卜、冬瓜、番茄、土豆、南瓜、麦芽、紫甘蓝、芹菜、大葱、绿豆芽、圆白菜、李子、绿香瓜、蜜瓜、猕猴桃、杏子、蓝莓、荔枝、香蕉、火龙果(白心)、水蜜桃、梨、橙子、柠檬、芒果、油桃、木瓜、杨梅、樱桃、草莓、苹果、小米、大豆样品, 市售。

γ -氨基丁酸标准品(纯度 \geq 99.9%, 美国 Sigma 公司); 甲醇、乙腈、乙醇(色谱纯, 上海 Anpel 公司); 碳酸氢钠、三水合乙酸钠(分析纯, 北京国药集团化学试剂有限公司); 4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯(上海源叶生物公司)。

BS224S 分析天平[精度 0.1 mg, 德国赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]; Centrifuge 5420 高速冷冻离心机(德国艾本德公司); KQ-500DE 型数控超声波清洗器(舒美昆山市超声仪器有限公司); DIONEX ULTRAMATE U-3000 高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器或性能相当的检测器)[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]。

1.2 实验方法

1.2.1 试剂配制

标准储备液(1000 μ g/mL): 称取 γ -氨基丁酸标准品

10.0 mg(精度 0.1 mg), 用无水乙醇溶解后, 转移到 10 mL 棕色容量瓶中, 用无水乙醇定容至刻度。标准储备液贮存于密闭棕色玻璃瓶中, 于 -18 °C 中冷冻保存, 有效期 3 个月。

4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯溶液(2.0 mg/mL): 称取 4-二甲基氨基偶氮苯-4-磺酰氯 20.0 mg, 用乙腈溶解后, 转移至 10 mL 棕色容量瓶中, 用乙腈定容, 混匀, 现配现用。

乙醇水溶液: 无水乙醇+水(6:4, V:V), 取无水乙醇 600 mL 和水 400 mL 混匀。

碳酸氢钠溶液(0.04 g/mL): 称取碳酸氢钠 0.40 g, 用水溶解后, 转移到 10 mL 容量瓶中, 用水定容, 混匀, 现配现用。

乙酸钠溶液(6.8 mg/mL): 称取三水合乙酸钠 3.40 g, 用水溶解并稀释至 500 mL, 经微孔滤膜(0.45 μm)过滤。

1.2.2 样品前处理

称取干样品 1.0~2.0 g, 鲜样品 2.0~5.0 g(样品精确至 0.001 g)于 50 mL 离心管中, 加入乙醇水溶液 10 mL, 超声提取 30 min 后, 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 提取溶液提取一次, 合并 2 次提取液, 用乙醇水溶液定容至 25 mL, 摇匀, 待衍生化。

准确吸取 1 mL 试样溶液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 4-二甲基氨基偶氮苯-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(0.45 μm)过滤, 待测。

1.2.3 色谱条件的选择

确定色谱条件为: C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 或具同等性能的色谱柱; 柱温: 30 °C; 流动相: 乙腈+乙酸钠溶液(20:80, V:V); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 436 nm; 进样量: 10 μL。

1.2.4 单因素实验

分别称取待测样品于 50 mL 离心管中, 加入提取试剂 10 mL, 超声提取 30 min 后, 在涡旋混匀器上振荡 2 min, 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 提取溶液提取一次, 合并 2 次提取液, 用提取液定容至 25 mL, 摇匀, 待衍生化。

准确吸取 1 mL 试样溶液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 4-二甲基氨基偶氮苯-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(0.45 μm)过滤, 待测。

(1) 提取溶剂对提取率的影响

选取大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄样品, 分别按以下 12 种提取试剂溶液: a: 40% 甲醇溶液; b: 60% 甲醇溶液; c: 80% 甲醇溶液; d: 甲醇溶液; e: 40% 乙醇溶液; f: 60% 乙醇溶液; g: 80% 乙醇溶液; h: 乙醇溶液; i: 40% 乙腈溶液; j: 60% 乙腈溶液; k: 80% 乙腈溶液; l: 乙腈溶液 10 mL 加入提取, 其他操作步骤同 1.2.4。

(2) 料液比对提取率的影响

选取大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄样品, 分别按 1:5、1:10、1:25、1:50、1:100 和 1:250 (g:mL) 的料液比加入 60% 乙醇溶液实验, 超声提取 30 min 后, 其他操作步骤同 1.2.4。

(3) 提取方式对提取率的影响

选取大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄样品, 加入 60% 乙醇溶液 10 mL, 分别以超声、振荡和水浴振荡(40 °C) 3 种提取方式提取 30 min, 其他操作步骤同 1.2.4。

(4) 提取时间对提取率的影响

选取大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄样品, 加入 60% 乙醇溶液 10 mL, 分别超声提取 10、30、45、60 和 90 min, 其他操作步骤同 1.2.4。

1.2.5 正交实验

在参考国内外方法和文献研究的基础上^[4,17-21], 以提取溶剂的类型(A)、料液比(B)、提取方式(C)和提取时间(D)为考察因素, γ-氨基丁酸提取率的高低为评价指标, 采用 L₉(3⁴) 正交实验设计对大豆、小米、菠菜、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和木瓜中 γ-氨基丁酸的提取方法进行优化, 不同样品各因素和各水平结果见表 1。

表 1 因素与水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素			
	A	B (g:mL)	C	D/min
1	60% 甲醇	1:25	水浴振荡(40 °C)	30
2	60% 乙醇	1:50	超声	45
3	40% 乙腈	1:100	振荡	60

1.2.6 γ-氨基丁酸含量的计算

(1) 标准曲线的制作

将系列标准工作液分别注入液相色谱仪中, 测定相应的峰面积, 以标准工作液的浓度为横坐标(X, μg/mL), 以峰面积为纵坐标(Y), 绘制标准曲线。

(2) γ-氨基丁酸含量的测定及含量的计算

γ-氨基丁酸含量的测定及含量的计算如公式(1):

$$\omega = \frac{\rho \times V \times 1000}{m \times 1000} \quad (1)$$

式中, ω 为试样中 γ-氨基丁酸含量, mg/kg; ρ 为根据标准曲线计算得到的 γ-氨基丁酸质量浓度, μg/mL; V 为试样溶液定容体积, mL; m 为测试样品称样量, g; 1000 为换算系数。

以 3 次测定结果的算术平均值表示, 计算结果保留 3 位有效数字。

1.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 21.0 软件对数据进

行统计分析, 每组实验进行3次平行, 实验结果以平均值表示。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

选取25、30、35、40℃不同柱温, 对比不同柱温对 γ -氨基丁酸的分离效果, 结果显示, 25、30、35、40℃时谱图无明显差异。

选取C₁₈色谱柱、SB-Aq色谱柱和NH₂色谱柱, 对比上述3种色谱柱对 γ -氨基丁酸的分离效果。

选取6种不同流动相种类[甲醇:水溶液(35:65, V:V)等度洗脱、乙腈:水溶液(35:65, V:V)等度洗脱、乙腈:6.8 g/L 乙酸钠溶液(35:65, V:V)等度洗脱、乙腈:3.4 g/L 乙酸钠溶液(35:65, V:V)等度洗脱、乙腈:0.68 g/L 乙酸钠溶液(20:80, V:V)等度洗脱、乙腈:0.34 g/L 乙酸钠溶液(35:65, V:V)等度洗脱],

对比6种不同流动相种类对 γ -氨基丁酸的分离效果。

从出峰的时间、峰型对称性、响应程度等因素综合考虑, 由图1可知, C₁₈色谱柱分离效果优于SB-Aq和NH₂色谱柱; 乙腈:0.68 g/L 乙酸钠溶液(20:80, V:V)等度洗脱效果最佳, 因此, 仪器条件选取柱温30℃, 乙腈:0.68 g/L 乙酸钠溶液(20:80, V:V)等度洗脱。

2.2 单因素实验结果分析

2.2.1 提取溶剂对提取率的影响结果分析

由表2可知, 按不同浓度的甲醇溶液(40%、60%、80%, V:V)、乙醇溶液(40%、60%、80%, V:V)和乙腈溶液(40%、60%、80%, V:V)进行实验, 结果表明, 不同浓度提取大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄中 γ -氨基丁酸, 其含量较高, 表明提取效果较好。但是测得的 γ -氨基丁酸含量之间没有明显差异, 所以选60%甲醇、60%乙醇和40%乙腈作为正交实验的提取试剂。

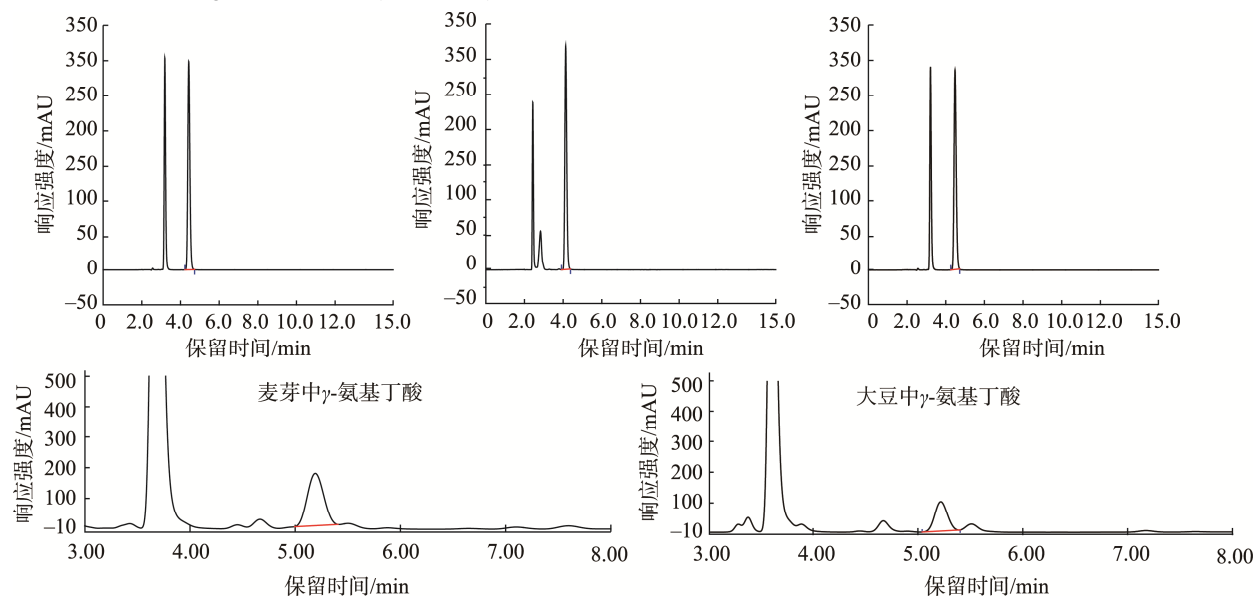


图1 色谱条件优化分析效果

Fig.1 Separation effects of optimized chromatographic conditions

表2 不同提取溶剂测定结果(mg/kg)

Table 2 Results of different extraction solvents (mg/kg)

提取溶剂	大豆	小米	菜花	火龙果(白心)	麦芽	绿香瓜	番茄
40%甲醇溶液	61.91±0.44	11.71±0.44	452.25±0.04	301.24±0.21	1005.91±0.35	425.58±0.98	528.36±2.69
60%甲醇溶液	63.31±2.77	14.62±0.25	563.31±2.17	307.29±1.61	1558.31±2.77	498.28±0.67	569.28±3.67
80%甲醇溶液	51.23±1.12	16.82±0.31	558.13±1.07	333.58±2.99	1382.11±2.58	521.37±0.39	555.39±1.29
甲醇溶液	22.62±0.72	5.71±0.37	363.31±2.77	198.24±2.77	998.35±2.77	333.58±2.88	258.98±1.98
40%乙醇溶液	66.52±0.23	12.33±1.29	463.31±1.11	357.98±3.33	1528.51±1.07	489.27±2.77	555.55±2.77
60%乙醇溶液	71.61±0.06	15.40±0.67	567.25±0.18	388.57±0.08	1658.25±0.09	521.27±0.19	642.38±0.13
80%乙醇溶液	46.63±2.27	19.82±0.88	555.24±0.59	364.29±1.52	1699.25±0.37	509.27±2.33	627.38±1.39
乙醇溶液	10.13±0.82	4.24±0.48	335.27±2.77	168.27±2.77	1025.37±2.38	324.69±1.28	289.98±3.33
40%乙腈溶液	70.33±4.61	17.20±0.76	542.85±1.25	333.57±2.66	1458.25±3.28	495.87±2.02	599.65±2.99
60%乙腈溶液	70.52±0.14	17.44±1.01	542.37±3.85	342.95±1.09	1568.97±2.77	501.81±0.29	581.92±2.77
80%乙腈溶液	10.80±0.36	3.64±1.31	485.69±2.57	102.38±1.00	1112.57±0.67	305.68±1.39	510.33±3.52
乙腈溶液	12.41±2.55	ND	301.11±2.44	122.35±4.27	859.27±2.67	288.28±5.27	211.37±3.58

注: ND表示未检出。

2.2.2 料液比对提取率的影响结果分析

由表3可知,按1:5、1:10、1:25、1:50、1:100和1:250(g:mL)的料液比进行实验,结果表明,1:5和1:10(g:mL)料液比提取大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄样品中的 γ -氨基丁酸,由于提取不够充分,其含量较低;但是,1:25、1:50、1:100和1:250(g:mL)料液比提取的不同样品,其之间无明显差异,考虑到扩大料液比会带来实验经济成本的增加、实验耗材的浪费以及对环境保护的影响。综合考虑,以1:25、1:50和1:100(g:mL)的料液比作为正交实验的提取因素。

2.2.3 提取方式对提取率的影响结果分析

由表4可知,以振荡、超声和水浴振荡(40℃)3种提取方式进行实验,结果表明,振荡提取大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄样品中的 γ -氨基丁酸,其含量较低,以水浴振荡(40℃)和超声的含量要高一些,且超声和水浴振荡(40℃)提取方式之间无明显差异,这可能是因为单纯的振荡提取效果不够充分,水浴振荡(40℃)和超声两种方式在振荡的同时,也提供了适合提取 γ -氨基丁酸的温度条件,导致其含量升高。

2.2.4 提取时间对提取率的影响结果分析

由表5可知,以10、30、45、60和90min的提取时间进行实验,结果表明,提取时间为60min时,大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄样品中的 γ -氨基丁酸含量较高,这可能是因为提取时间低于60min时,提取效果不够充分,其中的 γ -氨基丁酸没有提取完全,随着提取时间的继续延长,样品提取结果已趋于稳定,且各提取时间之间无明显差异,综合考虑,以30、45和60min作为正交实验的提取因素。

2.3 正交实验结果分析

对大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄进行正交实验,由表6方差分析结果可知,提取溶剂类型对小米、菜花、火龙果(白心)、绿香瓜和番茄中 γ -氨基丁酸含量存在显著性影响($P<0.05$);料液比对麦芽和绿香瓜中 γ -氨基丁酸含量存在显著性影响($P<0.05$);提取方式对大豆、菜花和麦芽中 γ -氨基丁酸含量存在显著性影响($P<0.05$);提取时间对麦芽中 γ -氨基丁酸含量存在显著性影响($P<0.05$)。综合考虑极差分析和方差分析结果,确定最优条件为 $A_2B_1C_1D_1$ 或 $A_2B_1C_2D_1$,即60%乙醇溶液,按1:25的料液比,通过水浴振荡(40℃)或超声提取30min。

表3 不同料液比测定结果(mg/kg)

Table 3 Results of different ratio of material to liquid (mg/kg)

料液比(g:mL)	大豆	小米	菜花	火龙果(白心)	麦芽	绿香瓜	番茄
1:5	21.90±1.53	12.44±0.01	466.25±0.11	274.14±0.51	1125.06±0.31	358.55±0.97	399.58±0.75
1:10	29.82±0.92	13.12±0.96	487.76±0.61	289.33±0.89	1258.34±1.11	395.67±0.23	425.88±1.22
1:25	30.13±0.93	17.82±0.76	554.39±0.10	366.87±0.88	1608.15±0.12	522.17±0.07	624.58±0.15
1:50	31.51±1.93	18.60±0.90	550.24±0.24	370.24±0.91	1613.57±2.58	525.88±0.91	630.24±1.55
1:100	31.73±0.38	18.71±0.47	554.37±0.31	371.99±0.22	1616.57±1.85	530.27±1.57	633.54±2.57
1:250	33.63±1.89	18.70±0.25	555.29±2.14	374.55±0.81	1615.27±0.17	528.67±1.97	635.87±0.01

表4 不同提取方式测定结果(mg/kg)

Table 4 Results of different extraction methods (mg/kg)

提取方式	大豆	小米	菜花	火龙果(白心)	麦芽	绿香瓜	番茄
振荡	26.20±1.91	13.61±0.03	300.98±0.93	188.27±2.58	1010.24±1.36	321.48±0.33	352.58±0.83
超声	53.92±1.01	17.12±0.80	550.28±0.11	388.57±0.08	1655.87±0.02	524.87±0.08	654.27±0.05
水浴振荡(40℃)	59.80±2.10	17.43±0.50	552.47±0.18	390.27±0.27	1658.27±0.37	527.87±0.17	657.27±0.10

表5 不同提取时间测定结果(mg/kg)

Table 5 Results of different extraction time (mg/kg)

提取时间/min	大豆	小米	菜花	火龙果(白心)	麦芽	绿香瓜	番茄
10	40.11±0.98	16.82±1.00	513.21±0.24	343.21±0.36	1601.22±1.24	511.33±1.22	599.58±1.54
30	36.70±2.30	16.33±0.63	518.34±0.68	351.02±0.44	1612.54±0.57	520.14±2.58	611.21±0.58
45	35.44±3.42	16.50±0.16	520.24±1.31	360.24±2.22	1655.27±1.63	533.77±1.77	625.87±1.00
60	55.04±1.98	17.72±1.39	557.37±0.28	388.27±0.03	1715.98±0.05	543.21±0.07	648.84±0.10
90	48.63±1.41	16.74±0.04	556.27±1.27	385.28±1.08	1701.24±1.55	540.47±1.09	643.21±1.49

表6 7种样品显著性分析结果
Table 6 Results of significance analysis in 7 kinds of different samples

样品名称		A(提取溶剂)	B(料液比)	C(提取方式)	D(提取时间)
大豆	k1	63.36±0.98 ^a	61.09±0.08 ^a	49.04±0.17 ^c	76.25±0.58 ^a
	k2	72.28±0.18 ^a	77.30±0.03 ^a	69.68±0.91 ^b	63.64±0.68 ^a
	k3	68.65±0.14 ^a	65.90±0.10 ^a	85.57±0.84 ^a	64.41±0.71 ^a
小米	k1	20.52±0.98 ^{ab}	20.06±0.10 ^a	22.27±0.28 ^a	20.52±0.34 ^a
	k2	18.39±0.98 ^b	22.09±0.13 ^a	18.56±0.04 ^a	22.13±0.35 ^a
	k3	23.05±0.98 ^a	19.81±0.03 ^a	21.15±0.14 ^a	19.32±0.38 ^a
菜花	k1	437.58±0.98 ^b	472.01±0.27 ^a	667.38±0.33 ^a	507.84±0.58 ^a
	k2	518.68±0.98 ^{ab}	569.21±0.35 ^a	482.95±0.45 ^b	539.01±0.28 ^a
	k3	634.37±0.98 ^a	549.42±0.42 ^a	440.31±0.07 ^b	543.78±0.08 ^a
火龙果(白心)	k1	500.63±0.98 ^a	489.12±0.45 ^a	485.94±0.28 ^a	469.52±0.16 ^a
	k2	448.34±0.98 ^b	467.76±0.36 ^a	482.56±0.26 ^a	455.75±0.05 ^a
	k3	468.98±0.98 ^{ab}	461.06±0.19 ^a	449.45±0.14 ^a	492.67±0.08 ^a
麦芽	k1	1988.28±0.98 ^a	1858.22±0.18 ^b	2108.54±0.13 ^a	2127.47±0.12 ^a
	k2	2076.38±0.98 ^a	2155.01±0.07 ^a	2074.70±0.11 ^{ab}	1837.49±0.17 ^b
	k3	1996.15±0.98 ^a	2047.58±0.09 ^{ab}	1877.56±0.57 ^b	2095.85±0.49 ^{ab}
绿香瓜	k1	379.61±0.98 ^b	360.49±0.13 ^b	550.13±0.27 ^a	547.77±0.35 ^a
	k2	563.72±0.98 ^a	475.88±0.18 ^{ab}	562.59±0.21 ^a	598.33±0.33 ^a
	k3	541.01±0.98 ^a	547.97±0.12 ^a	571.63±0.29 ^a	538.24±0.98 ^a
番茄	k1	407.11±0.98 ^b	629.60±0.11 ^a	644.17±0.34 ^a	636.49±0.20 ^a
	k2	618.00±0.98 ^a	652.12±0.11 ^a	664.04±0.35 ^a	615.76±0.10 ^a
	k3	587.57±0.98 ^a	670.97±0.08 ^a	634.48±0.06 ^a	660.43±0.08 ^a

注: k1、k2 和 k3 表示三水平; 同行不同小写字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

2.4 方法学验证

2.4.1 方法的线性范围

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中, 测定相应的峰面积, 以标准工作液的浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明, 在质量浓度 1.092~131.064 $\mu\text{g/mL}$ 时, γ -氨基丁酸标准曲线的相关系数 (r^2) 为 0.9999, 线性关系良好, 可以满足检测要求。

2.4.2 方法的检出限和定量限

本研究中方法的检出限和定量限分别以 3 倍和 10 倍的信噪比计算。当样品取样量为 5.0 g, 定容体积为 50 mL 时, γ -氨基丁酸的检出限为 0.03 mg/kg, 定量限为 0.10 mg/kg, 能满足植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的准确定量。

2.4.3 方法的精密度

选取含有 γ -氨基丁酸的代表性食品, 以火龙果(白心)、番茄和麦芽为研究对象进行精密度实验, 平行测定 6 次, 考察检测方法的精密度。

根据 GB 5009.295—2023《食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》的要求, 被测组分含量大于 100 mg/kg (10 mg/100 g) 时, 实验室内变异系数为 3.8%。由表 7 可知, 样品中的 γ -氨基丁酸 6 次平行实验测定结果的 RSDs 均

表7 精密度测定结果($n=6$)
Table 7 Precision measurement results ($n=6$)

γ -氨基丁酸	平均值/(mg/kg)	RSDs/%
火龙果(白心)	340.40	2.32
番茄	617.71	2.17
麦芽	1620.90	3.07

注: 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

小于 3.8%, 表明该方法的精密度良好, 适合定量分析。

2.4.4 方法的回收率

分别准确称取含有 γ -氨基丁酸的代表性食品火龙果(白心)、番茄和麦芽样品, 向样品本底添加低、中、高 3 个浓度水平的标准溶液, 进行三水平三平行加标回收实验, 计算 γ -氨基丁酸的回收率和相对标准偏差。

根据 GB 5009.295—2023 的要求, 被测组分含量大于 100 mg/kg (10 mg/100 g) 时, 回收率范围在 95%~105% 之间。由表 8 知, 火龙果(白心)、番茄和麦芽样品中的 γ -氨基丁酸平均加标回收率分别在 99.67%~104.36%、95.80%~97.59% 和 96.25%~99.30% 之间, 加标回收率的相对标准偏差均小于 5.0%, 各组分回收率结果满足 GB 5009.295—2023 的要求, 表明方法回收率高, 适用于植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的测定。

表 8 回收率验证结果($n=6$)
Table 8 Recovery verification results ($n=6$)

样品名称	加标回收率/%	平均回收率/%	RSDs/%
火龙果(白心)	98.67	99.67	2.44
	97.89		
	102.44		
	102.99	104.36	1.31
	105.73		
	104.37		
	100.90		
	104.30	101.00	3.21
	97.81		
	番茄	92.94	95.80
98.84			
95.61			
101.26			
96.22		97.59	3.29
95.28			
96.98			
95.94		96.95	1.03
97.94			
99.62			
麦芽	102.17	99.30	3.06
	96.12		
	96.40		
	98.81	96.25	2.73
	93.56		
	99.48		
	100.36	97.60	4.14
	92.96		

表 9 不同样品测定结果($n=3$)

Table 9 Determination results of different samples ($n=3$)

样品名称	平均值/(mg/kg)	RSDs/%	样品名称	平均值/(mg/kg)	RSDs/%
香菇	157.51	1.91	李子	270.32	3.68
平菇	109.89	2.86	绿香瓜	532.45	8.71
油菜	60.83	0.64	蜜瓜	81.11	2.61
蒜苔	154.29	9.03	猕猴桃	24.37	9.12
黄瓜	121.55	0.30	杏子	49.49	7.38
西葫芦	61.53	4.00	蓝莓	10.28	3.88
西兰花	508.23	1.36	荔枝	1198.87	2.52
大白菜	30.58	9.54	香蕉	259.19	0.37
菜花	569.80	0.51	火龙果(白心)	394.13	3.96
菠菜	118.21	0.67	水蜜桃	205.15	2.19
架豆角	336.33	2.38	梨	11.94	6.12
胡萝卜	385.87	0.08	橙子	1724.87	3.45
紫洋葱	92.23	5.88	柠檬	216.73	0.46
丝瓜	141.13	0.23	芒果	31.72	4.23
莲藕	614.28	0.40	油桃	51.68	0.94
青萝卜	809.37	4.65	木瓜	407.62	1.73
冬瓜	82.90	3.26	杨梅	262.58	0.09
番茄	649.64	6.03	樱桃	58.82	0.13
土豆	906.69	3.81	草莓	10.07	8.10
南瓜	42.84	4.28	苹果	15.06	5.16
麦芽	1620.94	3.07	绿豆芽	497.75	3.44
紫甘蓝	4743.58	1.84	圆白菜	278.40	6.45
芹菜	308.68	4.54	大葱	124.82	1.84

2.4.5 实际样品测定

选取香菇、平菇、油菜、蒜苔、黄瓜、西葫芦、西兰花、大白菜、菜花、菠菜、架豆角、胡萝卜、紫洋葱、丝瓜、莲藕、青萝卜、冬瓜、番茄、土豆、南瓜、麦芽、紫甘蓝、芹菜、大葱、绿豆芽、圆白菜、李子、绿香瓜、蜜瓜、猕猴桃、杏子、蓝莓、荔枝、香蕉、火龙果(白心)、水蜜桃、梨、橙子、柠檬、芒果、油桃、木瓜、杨梅、樱桃、草莓、苹果 46 种样品。按本研究建立的方法, 计算不同样品中 γ -氨基丁酸的含量和相对标准偏差。结果显示, 各样品在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值均小于平均值的 10%, 见表 9, 说明本研究建立的方法可适用于植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的测定。

2.4.6 高效液相色谱仪与氨基酸分析仪测定样品结果比对分析

选取酒糟原料、酵素、谷物粉、安心蛋白肽固体饮料、陈醋、青稞、银耳芦笋汁、发芽糙米、发芽大豆、青稞苗粉、小麦芽苗菜粉、荞麦芽苗菜粉、小麦籽粒、麦芽、番茄、土豆、南瓜、紫甘蓝、豌豆芽苗菜粉、蚕豆芽苗菜粉、萌芽豆浆、 γ -氨基丁酸大豆酸奶、荔枝和木瓜样品, 按本研究建立的方法, 分别计算高效液相色谱仪和氨基酸分析仪测定不同样品中 γ -氨基丁酸的含量和相对标准偏差。结果显示, 各样品在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值均小于平均值的 10%, 见表 10。由于氨基酸分析仪方法处理样品时间较长, 设备维护成本偏高, 仪器应用领域也仅限制于氨基酸相关项目检测等方面, 本研究建立的方法能满足植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的测定。

表 10 高效液相色谱仪和氨基酸分析仪测定不同样品结果比对
Table 10 Compared results of different samples determined by high performance liquid chromatography and amino acid analyzer

样品名称	高效液相色谱仪 测定含量/(mg/kg)	氨基酸分析仪 测定含量/(mg/kg)	RSDs /%	样品名称	高效液相色谱仪 测定含量/(mg/kg)	氨基酸分析仪 测定含量/(mg/kg)	RSDs /%
酒糟原料	584.71	562.14	3.94	陈醋	92.98	88.18	5.30
酵素	364.78	350.24	4.07	青稞	242.96	236.55	2.67
谷物粉	57.11	55.11	3.56	银耳芦笋汁	155.01	145.69	6.20
安心蛋白肽固体 饮料	9741.92	9652.45	0.92	发芽糙米	89.56	88.23	1.50
发芽大豆	995.30	982.50	1.29	小麦籽粒	355.74	342.32	3.84
青稞苗粉	3120.53	3101.25	0.62	麦芽	1724.12	1620.94	6.17
小麦芽苗菜粉	2367.79	2243.28	5.40	番茄	666.59	649.64	3.04
荞麦芽苗菜粉	1480.09	1382.61	6.81	土豆	445.08	426.69	4.22
南瓜	793.46	742.84	6.59	豆芽豆浆	18.97	17.34	8.98
紫甘蓝	399.99	383.58	4.19	γ -氨基丁酸 大豆酸奶	35.19	33.14	6.00
豌豆芽苗菜粉	2233.32	2125.31	4.96	荔枝	1233.01	1198.87	2.81
蚕豆芽苗菜粉	2079.66	2043.24	1.77	木瓜	427.38	407.62	4.73

3 结 论

本研究建立了高效液相色谱法测定植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的分析方法,以大豆、小米、菜花、火龙果(白心)、麦芽、绿香瓜和番茄为代表性样品,进行了单因素实验和正交实验,确定了最优提取条件为:60%乙醇溶液,按1:25(g:mL)的料液比,通过水浴振荡(40℃)或超声提取30 min。其中,又以代表性样品火龙果(白心)、番茄、麦芽对线性范围、检出限和定量限、精密度、准确度等指标进行考察,结果表明,该方法操作简单、快速,准确度高,重现性好,特异性强,适用于植物源性食品中 γ -氨基丁酸含量的测定。选取多个实际样品测定,以及仪器比对结果,解决了仪器方法处理样品时间较长、设备维护成本偏高,仪器应用领域受限、操作复杂且烦琐、数据结果易受环境因素影响等方面问题。综上所述,本研究为植物源性食品中 γ -氨基丁酸分析与研究提供了方法支持。

参考文献

- [1] OKETCH-RABAH HA, MADDEN EF, ROE AL, *et al.* United States Pharmacopeia (USP) safety review of gamma-aminobutyric (GABA) [J]. *Nutrients*, 2021, 13(8): 2742.
- [2] 李海峰,李冰冰,石硕硕,等. γ -氨基丁酸在食品中的应用研究进展[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2023, 44(1): 117-125.
LI HF, LI BB, SHI SS, *et al.* Research progress on the application of γ -aminobutyric acid in food [J]. *Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition)*, 2023, 44(1): 117-125.
- [3] 张芳,耿恩奕,韩华凤,等. 食醋中 γ -氨基丁酸的检测及变化规律研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(9): 197-204.
ZHANG F, GENG SY, HAN HF, *et al.* Study on detection and changing rules of γ -aminobutyric acid in vinegar [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(9): 197-204.
- [4] 马菊兰,刘墩福,李晓婷,等. HPLC法测定青稞中 γ -氨基丁酸含量的研究[J]. 酿酒, 2024, 51(1): 121-123.
MA JL, LIU DF, LI XT, *et al.* Measurement of GABA in highland barley by HPLC [J]. *Liquor Making*, 2024, 51(1): 121-123.
- [5] 刘宗乐,高林森,张冬冬,等. 高效液相色谱法测定乳酸菌发酵液中 γ -氨基丁酸[J]. 中国酿造, 2022, 41(11): 233-238.
LIU ZL, GAO LS, ZHANG DD, *et al.* Determination of γ -amino butyric acid in lactic acid bacteria fermentation broth by HPLC [J]. *China Brewing*, 2022, 41(11): 233-238.
- [6] 刘宗乐,张展展,尤晓亭,等. 高效液相色谱法测定酵素中 γ -氨基丁酸[J]. 中国饲料, 2022(24): 38-44.
LIU ZL, ZHANG ZZ, YOU XT, *et al.* Determination of γ -amino butyric acid in Jiaosu by high performance liquid chromatography [J]. *China Feed*, 2022(24): 38-44.
- [7] 湛珍,刘青茹,张晓伟,等. 高效液相色谱法测定桑叶 γ -氨基丁酸和谷氨酸[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(3): 162-166.
SHEN Z, LIU QR, ZHANG XW, *et al.* Determination of γ -amino butyric acid and glutamic acid in mulberry leaves by high performance liquid chromatography [J]. *Food Research and Development*, 2019, 40(3): 162-166.
- [8] RAMESH SA, TYERMAN SD, GILLIHAM M. γ -Amino butyric acid (GABA) signaling in plants [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2017, 74(9): 1577-1603.
- [9] 郭海阳,谭海生,陈丽伟,等. UPLC法和HPLC法对比检测乳酸菌发酵液中的 γ -氨基丁酸[J]. 中国酿造, 2019, 38(12): 167-170.
GUO HY, TAN HS, CHEN LW, *et al.* Comparison of UPLC and HPLC for the determination of γ -aminobutyric acid in lactic acid bacteria fermentation broth [J]. *China Brewing*, 2019, 38(12): 167-170.
- [10] 宁亚维,马梦戈,杨正,等. γ -氨基丁酸的制备方法及其功能食品研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(23): 238-247.
NING YW, MA MG, YANG Z, *et al.* Research progress in the enrichment process and functional foods of γ -aminobutyric acid [J]. *Food and Fermentation Industry*, 2020, 46(23): 238-247.
- [11] DUPONT AG, LEGAT L. GABA is a mediator of brain at 1 and at 2

- receptor-mediated blood pressure responses [J]. *Hypertension Research*, 2020, 43(10): 995–1005.
- [12] MILANEZ MI, SILVA AM, PERRY JC, *et al.* Pattern of sympathetic vasomotor activity induced by GABAergic inhibition in the brain and spinal cord [J]. *Pharmacological Reports*, 2020, 72: 67–79.
- [13] HUSSIN FS, CHAY SY, ZAREI M, *et al.* Potentiality of self-cloned *Lactobacillus plantarum* taj-apis362 for enhancing GABA production in yogurt under glucose induction: Optimization and its cardiovascular effect on spontaneous hypertensive rats [J]. *Foods*, 2020, 9(12): 1826.
- [14] WANG H, WANG Z, CHEN N. The receptor hypothesis and the pathogenesis of depression: Genetic bases and biological correlates [J]. *Pharmacological Research*, 2021, 167: 105542.
- [15] CAI L, TAO Q, LI W, *et al.* The anti-anxiety/depression effect of a combined complex of casein hydrolysate and γ -aminobutyric acid on C57BL/6 mice [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 971853.
- [16] INOTSUKA R, UDONO M, YAMATSU A, *et al.* Exosome-mediated activation of neuronal cells triggered by γ -aminobutyric acid (GABA) [J]. *Nutrients*, 2021, 13(8): 2544.
- [17] YANG J, CHEN J, LIU Y, *et al.* Ventral tegmental area astrocytes modulate cocaine reward by tonically releasing GABA [J]. *Neuron*, 2023, 111(7): 1104–1117.
- [18] JEONG A, HWANG J, JO K, *et al.* Fermented gamma aminobutyric acid improves sleep behaviors in fruit flies and rodent models [J]. *International journal of molecular sciences*, 2021, 22(7): 3537.
- [19] 李科, 俞兰秀, 刘小雨, 等. γ -氨基丁酸改善睡眠作用机制的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(14): 353–358.
- LI K, YU LX, LIU XY, *et al.* Research progress on improving sleep mechanism of γ -amino butyric acid [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(14): 353–358.
- [20] BRUNI O, FERINI SL, GIACOMONI E, *et al.* Herbal remedies and their possible effect on the GABAergic system and sleep [J]. *Nutrients*, 2021, 13(2): 530.
- [21] YAMATSU A, YAMASHITA Y, PANDHARIPANDE T, *et al.* Effect of oral γ -amino butyric acid (GABA) administration on sleep and its absorption in humans [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2016, 25(2): 547–551.
- [22] HEPSONALI P, GROEGER JA, NISHIHARA J, *et al.* Effects of oral gamma-amino butyric acid (GABA) administration on stress and sleep in humans: a systematic review [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2020, 14: 923.
- [23] 陈青峰, 贺婧, 谢小梅, 等. 淡豆豉炮制中 γ -氨基丁酸含量测定及其抗抑郁作用研究[J]. *药物评价研究*, 2021, 44(4): 688–694.
- CHEN QF, HE J, XIE XM, *et al.* Determination of content of γ -amino butyric acid and its antidepressant effect at different time points during processing of sojse semen praeparatum [J]. *Drug Evaluation Research*, 2021, 44(4): 688–694.
- [24] ZHANG Z, JING Y, MA Y, *et al.* Driving GABAergic neurons optogenetically improves learning, reduces amyloid load and enhances autophagy in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 525(4): 928–935.
- [25] XU Y, ZHAO M, HAN Y, *et al.* GABAergic inhibitory interneuron deficits in Alzheimer's disease: Implications for treatment [J]. *Front Neuroscience*, 2020, 14: 660.
- [26] HOSSEINI DA, SHARIFI M, SOLTANI N. GABA administration improves liver function and insulin resistance in offspring of type 2 diabetic rats [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 23155.
- [27] LIN EE, SCOTT SE, KURUVILLA R. Peripheral innervation in the regulation of glucose homeostasis [J]. *Trends in Neurosciences*, 2021, 44(3): 189–202.
- [28] LI XF, CHEN L, ZHU XY, *et al.* Effect of γ -aminobutyric acid-rich yogurt on insulin sensitivity in a mouse model of type 2 diabetes mellitus [J]. *J Dairy Science*, 2020, 103(9): 7719–7729.
- [29] HUANG D, WANG Y, THOMPSON JW, *et al.* Cancer-cell-derived GABA promotes β -catenin-mediated tumour growth and immunosuppression [J]. *Nature Cell Biology*, 2022, 24(2): 230–241.
- [30] HUANG D, ALEXANDER PB, LI Q, *et al.* GABAergic signaling beyond synapses: an emerging target for cancer therapy [J]. *Trends in Cell Biology*, 2022.
- [31] DASHNIANI MG, BURJANADZE MA, CHKHIKISHVILI NC, *et al.* Modulation of spatial memory and expression of hippocampal neurotransmitter receptors by selective lesion of medial septal cholinergic and GABAergic neurons [J]. *Experimental Brain Research*, 2020, 238(10): 2385–2397.
- [32] 周俊萍, 徐玉娟, 温靖, 等. γ -氨基丁酸(GABA)的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(5): 393–401.
- ZHOU JP, XU YJ, WEN J, *et al.* Research progress of γ -aminobutyric acid (GABA) [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(5): 393–401.
- [33] 万蓝婷, 李喧妍, 程建峰, 等. Berthelot 比色法测定植物叶片中 γ -氨基丁酸(GABA)含量的体系优化[J]. *植物生理学报*, 2021, 57(7): 1462–1472.
- WAN LT, LI XY, CHENG JF, *et al.* Systematic optimization of Berthelot colorimetry for determining γ -aminobutyric acid (GABA) content in plant leaves [J]. *Plant Physiology Journal*, 2021, 57(7): 1462–1472.
- [34] 王能凤. 红枣 γ -氨基丁酸测定方法的优化及应用研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2022.
- WANG NF. Research on optimization and application of determination method of γ -aminobutyric acid in jujube [D]. Alaer: Tarim University, 2022.
- [35] 王能凤, 杨家荣, 蒲云峰, 等. 红枣中 γ -氨基丁酸的功能及检测方法的研究进展[J]. *农产品加工*, 2022(14): 94–96.
- WANG NF, YANG JR, PU YF, *et al.* Research progress of function and detection methods of γ -aminobutyric acid in jujube fruit [J]. *Agricultural Products Processing*, 2022(14): 94–96.
- [36] 李雁琴. 红枣中GABA检测方法优化及其变化规律的研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2020.
- LI YQ. Study on the optimization of γ -aminobutyric acid detection method and its variation rule in jujube [D]. Alaer: Tarim University, 2022.
- [37] DAI D, QIN Q, ZHU X, *et al.* A high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry protocol for detection of neurotransmitters in the rat brain tissue [J]. *Methods X*, 2023, 10: 102083.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)