

γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid, GABA）试剂盒说明书

微量法 100 管/96 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

γ-氨基丁酸（γ-aminobutyric acid, GABA）是一种四碳非蛋白质组成的氨基酸，广泛存在于动植物和微生物体内。在植物体内，GABA 主要由谷氨酸脱羧酶催化 L-谷氨酸脱羧生成。在哺乳动物脑内，GABA 是一种有效的抑制性神经递质，具有降血压、增进脑活力、营养神经细胞、保持神经安定、促进生长激素分泌和保肝利肾等作用，目前在医药和保健食品中已有广泛的应用。

测定原理：

苯酚和次氯酸钠与 GABA 反应，产生蓝绿色产物，在 640nm 有最大吸光值。

需自备的仪器和用品：

酶标仪、水浴锅、可调式移液器、96 孔板、研钵、冰和蒸馏水。

试剂的组成和配制：

提取液：液体 100mL×1 瓶，4℃保存；

试剂一：液体 6mL×1 瓶，4℃保存；

试剂二：液体 5mL×1 瓶，4℃避光保存；

试剂三：液体 8mL×1 瓶，4℃保存；

试剂四：液体 25mL×1 瓶，4℃保存。

样品测定的准备：

称取约 0.1g 样本，加入 1mL 提取液，充分匀浆，转移至 EP 管，95℃水浴 2h（盖紧，以防止水分散失）。冷却后 8000g，25℃离心 10min，取上清待测。

测定步骤（EP 管中加入如下试剂）

试剂名称（μL）	测定管	空白管
上清	30	
提取液		30
试剂一	50	50
试剂二	40	40

混匀，室温静置 5min。

试剂三	60	60
-----	----	----

混匀，95℃水浴 10min，冰浴冷却。

试剂四	200	200
-----	-----	-----

混匀，取 200μL 于 96 孔板，测定 640nm 下吸光值 A 测定与 A 空白， $\Delta A = A_{\text{测定}} - A_{\text{空白}}$ ，空白管只需测一管。

GABA 含量计算：

标准条件下测定回归方程为 $y = 1.557x - 0.004$ ， $R^2 = 0.992$ ；x 为标准品（mg/mL），y 为 ΔA 。

1、按照蛋白浓度计算

$$\text{GABA}(\text{mg}/\text{mg prot}) = (\Delta A + 0.004) \div 1.557 \div \text{Cpr} = 0.642 \times (\Delta A + 0.004) \div \text{Cpr}$$

2、按样本鲜重计算

$$\text{GABA}(\text{mg}/\text{g 鲜重}) = (\Delta A + 0.004) \div 1.557 \div W = 0.642 \times (\Delta A + 0.004) \div W$$

Cpr: 样本蛋白质浓度，mg/mL；W: 样本质量，g。