

柱前衍生化 HPLC 法测定 柃叶游离氨基酸成分及风味评价

黄元河¹, 黄玉镯², 潘乔丹^{2,*}, 陆海峰², 黄 健²

(1. 右江民族医学院基础医学院, 广西百色 533000;

2. 右江民族医学院药学院, 广西百色 533000)

摘要:建立柱前衍生化 HPLC 法测定柃叶游离氨基酸的方法, 对其营养价值和风味进行评价。柱前衍生化 HPLC 法以异硫氰酸苯酯为衍生试剂, 色谱条件为: C_{18} 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 醋酸钠缓冲液-乙腈(93:7)和乙腈-水(4:1)为流动相, 进行梯度洗脱, 流速为 1.0 mL/min, 柱温 40 $^{\circ}$ C, 检测波长为 254 nm。结果表明, 18 种氨基酸均呈现良好的线性关系($R^2 > 0.9990$), 柃叶游离氨基酸的平均回收率分别为 98.3%~105.6% (RSD 为 0.63%~3.11%, $n=6$)。所建立的方法稳定、灵敏、重现性好, 可用于柃叶游离氨基酸的定量分析。柃叶含有 18 种氨基酸及 8 种人体必需氨基酸, 必需氨基酸总量为 38.85%, 接近于 WHO/FAO 模式值(40.0%), 各种必需氨基酸组分达到 WHO/FAO 氨基酸成人模式的需求; 鲜味氨基酸和甜味氨基酸的含量分别为 10.73 和 5.20 mg/g, 占呈味氨基酸总含量的 22.58% 和 46.59%; 鲜味氨基酸 Asp 和甜味氨基酸 Thr 的含量较高, 分别为 3.75 mg/g 和 3.33 mg/g, 鲜味氨基酸 Asp 和芳香族氨基酸 Cys 的 RCT 值分别为 125.00 和 20.50, 对风味贡献最高。总之柃叶氨基酸种类齐全, 比例合理, 呈味氨基酸含量丰富, 具有极大开发价值。

关键词:柃叶, 氨基酸, 柱前衍生化 HPLC, 呈味

Determination of Free Amino Acid Composition in *Phrynium rheedei* by Pre-column Derivatization HPLC and Flavor Quality Evaluation

HUANG Yuan-he¹, HUANG Yu-zhuo², PAN Qiao-dan^{2,*}, LU Hai-feng², HUANG Jian²

(1. Basic Medical College, Youjiang Medical Universities for Nationalities, Baise 533000, China;

2. Pharmacy College, Youjiang Medical Universities for Nationalities, Baise 533000, China)

Abstract: The method for the determination of free amino acids in *Phrynium rheedei* was established, and its nutritional value and flavor was evaluated. HPLC with phenylisothiocyanate as derivatization reagent, chromatographic conditions were as follows: Using C_{18} column(4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), with sodium acetate buffer-acetonitrile(93:7) and acetonitrile-water(4:1) as mobile phase in gradient elution, flow rate of 1.0 mL/min, column temperature of 40 $^{\circ}$ C, the detection wavelength was set at 254 nm. The results showed that the calibration curves of 18 kinds of amino acids showed good linearity within their test ranges ($R^2 > 0.9990$), and the average recovery rates of the free amino acids in *Phrynium rheedei* ranged from 98.3%~105.6% (RSD 0.63%~3.11%, $n=6$). The method was stable, sensitive, good reproducibility, and could be used to determine the content of free amino acids in *Phrynium rheedei*. The tested results showed that there were 18 amino acids and 8 essential amino acids in *Phrynium rheedei*. The total content of essential amino acids was 38.85%, which closed significantly the WHO/FAO model value (40.0%), the components of essential amino acids met the requirements of WHO/FAO amino acid model of adult. The contents of delicious amino acids and sweet amino acids were 10.73 mg/g and 5.20 mg/g, which accounted for 22.58% and 46.59% of the total respectively. The contents of Asp and Thr were more, were 3.75 mg/g and 3.33 mg/g respectively. The RCT values of Asp and Cys were 125.00 and 20.50 respectively, had more the contribution to flavour. In a word, *Phrynium rheedei* contains variety of amino acid, which is reasonable proportion, the content of its flavor amino acids is rich, it has broad development prospects.

Key words: *Phrynium capitatum* Willd.; amino acids; HPLC with precolumn derivatization; flavour

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)01-0292-06

收稿日期: 2020-03-16

作者简介: 黄元河(1979-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 从事野生植物资源保护与利用, E-mail: gxhuanhe@163.com。

* 通信作者: 潘乔丹(1980-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: panqiao112@163.com。

基金项目: 广西自然科学基金项目(2017GXNSFAA198011); 2016 广西高校中青年教师基础能力提升项目(KY2016YB337); 2018 年广西大学生创新创业训练计划项目(201810599075)。

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020030183

引文格式:黄元河,黄玉镯,潘乔丹,等.柱前衍生化 HPLC 法测定柅叶游离氨基酸成分及风味评价[J].食品工业科技, 2021,42(1):292-296,303.

HUANG Yuan-he, HUANG Yu-zhuo, PAN Qiao-dan, et al. Determination of Free Amino Acid Composition in *Phrynium rheedei* by Pre-column Derivatization HPLC and Flavor Quality Evaluation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(1): 292-296, 303. (in Chinese with English abstract) <http://www.spagykj.com>

柅叶(*Phrynium capitatum* Willd.) 别名粽子叶, 粽叶, 为竹芋科多年生草本植物^[1], 具有清热解毒、凉血止血的功效^[2], 根茎用于治疗肝肿大、痢疾、赤尿, 叶清热利尿功效, 治音哑、喉痛、口腔溃疡, 解酒毒等^[1-2]。柅叶味道清甜, 在我国广西、云南、贵州等地区少数民族常将其栽种于庭院, 取叶裹米粽或包物用, 能够提高粽子风味, 改善糯米的黏腻, 增强糯米益气健脾的功效。柅叶还具有防腐的功能, 其叶包裹的粽子可保存数月, 是有极大开发价值的粽子天然包装材料^[3]。氨基酸是蛋白质的基本结构单位, 是维持生命活动的物质基础, 是人体的必需营养成分之一, 对机体代谢具有非常重要的作用^[4-5]。氨基酸还在食品的呈味方面扮演重要角色, 这些氨基酸被称为呈味氨基酸, 根据氨基酸的味觉感受, 可以分为鲜味氨基酸、甜味氨基酸和苦味氨基酸^[6-9]。

目前氨基酸的分析方法有很多种, 主要包括氨基酸自动分析仪^[10]、高效液相色谱法^[11]、毛细管电泳法^[12]等, 其中柱前衍生高效液相色谱(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)法由于灵敏度高、重复性好, 操作费用较低等优点, 已经成为测定氨基酸的主要方法^[13]。以异硫氰酸苯酯(PITC)作为衍生试剂, 其产物单一稳定、易于检测, 已成为一种常用的氨基酸衍生方法, 已广泛用于检测蔬菜^[14]、水果^[15]、药材^[16]等。

迄今为止有关柅叶中氨基酸含量分析的资料尚未见报道, 因此本文建立一种柱前衍生高效液相色谱同时测定柅叶游离氨基酸的方法, 测定氨基酸种类和含量, 根据 FAO/WHO 理想模式为评定标准^[17]评价其营养价值和呈味特性, 为深入开发利用柅叶提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

柅叶 6 批次样品 都购置百色市右江区大菜市场不同商户, 经右江民族医学院黄元河副教授鉴定为竹芋科植物柅叶(*Phrynium capitatum* Willd.) 的叶。柅叶干燥箱 60℃ 烘干后, 粉碎处理, 过 60 目筛, 粉末 4℃ 保存待用; 三乙胺、乙腈、异硫氰酸苯酯 均为色谱纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 浓盐酸、无水乙酸钠、冰乙酸 均为分析纯, 天津市西陇化工厂有限公司; 超纯水 自制; 18 种氨基酸[天冬氨酸(Asp)、谷氨酸(Glu)、丝氨酸(Ser)、甘氨酸(Gly)、组氨酸(His)、精氨酸(Arg)、苏氨酸(Thr)、丙氨酸(Ala)、脯氨酸(Pro)、半胱氨酸(Cys)、酪氨酸(Tyr)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、苯丙氨酸(Phe)、色氨酸(Trp)、赖氨酸(Lys)] 纯度均大于 98.0%, 上海源叶生物科技有

限公司。

LD-20ADIT 型高效液相色谱仪、Shim-pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm) 岛津企业管理(中国)有限公司; KQ2200DE 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; FA1104 型电子天平 上海良平仪器仪表有限公司; TGL-15B 型高速台式离心机 上海安亭科学仪器厂; RE-3000 型旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; Mill-Q 超纯水机 美国密理博。

1.2 实验方法

1.2.1 样品溶液制备与衍生化

1.2.1.1 样品溶液制备 精密称定柅叶粉末 2.0 g, 加入 50% 的乙醇溶液 200 mL, 超声(300 W, 100 kHz)取两次, 每次 30 min, 抽滤去渣取合并滤液, 滤液于旋转蒸发器 80℃ 水浴挥至近干, 用超纯水定容至 10 mL, 即得柅叶样品溶液^[18]。

1.2.1.2 标准品溶液制备 分别称取 Asp 22.0 mg、Glu 22.0 mg、Ser 12.0 mg、Gly 12.0 mg、His 22.0 mg、Arg 6.0 mg、Thr 12.0 mg、Ala 12.0 mg、Pro 12.0 mg、Tyr 11.0 mg、Val 11.0 mg、Met 11.0 mg、Cys 11.0 mg、Ile 12.0 mg、Leu 11.0 mg、Phe 12.0 mg、Trp 11.0 mg、Lys 12.0 mg、加 0.1 mol/L 盐酸溶液, 置于 50 mL 容量瓶定容, 即得氨基酸混合对照品储备液。

1.2.1.3 空白液制备 以 0.1 mol/L 盐酸溶液作为空白液。

1.2.1.4 衍生化处理 精密吸取样品溶液、标准品溶液和空白液, 400 μL 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mol/L 的衍生试剂 A(1 mol/L 三乙胺乙腈) 200 μL, 衍生试剂 B(0.1 mol/L 异硫氰酸苯酯乙腈溶液) 200 μL, 混匀, 室温避光放置 1 h, 加入正己烷 800 μL, 混匀, 12000 r/min 离心 5 min, 取下层溶液, 0.22 μm 滤膜过滤, 超声 5 min, 即得衍生化溶液^[19]。

1.2.2 色谱条件 采用 Shim-Pack VP-ODS C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 流动相 A 为 0.1% 醋酸钠缓冲溶液(pH6.5)-乙腈(93:7), 流动相 B 为乙腈-水(4:1); 梯度洗脱条件为 0 min, 0% B; 11 min, 7.0% B; 13.9 min, 12.0% B; 14 min, 15.0% B; 29 min, 34.0% B; 32 min, 50% B; 37 min, 100% B; 50 min, 0% B, 流速 1.0 mL/min, 柱温 40℃, 检测波长 254 nm 时, 18 种氨基酸能有效分离, 峰型理想; 样品进样量为 20 μL^[20]。

1.2.3 氨基酸营养价值与风味评价 氨基酸营养价值采用 1973 年 FAO/WHO 建议的氨基酸评分标准进行评价, 评价指标包括必需氨基酸含量占总氨基酸含量的质量分数(EAA/TAA)、必需氨基酸含量占非必需氨基酸含量的质量分数(EAA/NEAA)和必需

表1 18种氨基酸的线性回归方程
Table 1 The linearity relationships of 18 amino acids

峰号	氨基酸	线性回归方程	R ²	线性范围 (μg/mL)	检出限 (μg/mL)	定量限 (μg/mL)
1	天冬氨酸 Asp	Y = 43462X - 163934	0.9994	0.969~440.0	0.03	0.11
2	谷氨酸 GLu	Y = 16783X + 15515	0.9994	6.854~440.0	0.23	0.75
3	丝氨酸 Ser	Y = 59043X + 207425	0.9993	0.382~240.0	0.01	0.04
4	甘氨酸 Gly	Y = 138411X - 208343	0.9995	0.075~240.0	0.00	0.01
5	组氨酸 His	Y = 34080X + 52725	0.9993	5.790~440.0	0.19	0.63
6	精氨酸 Arg	Y = 47265X - 30594	0.9990	0.271~120.0	0.01	0.03
7	苏氨酸 Thr	Y = 63605X - 51158	0.9992	0.940~240.0	0.03	0.10
8	丙氨酸 Ala	Y = 90381X + 178211	0.9994	1.266~240.0	0.04	0.14
9	脯氨酸 Pro	Y = 82352X + 196162	0.9991	0.430~240.0	0.01	0.05
10	酪氨酸 Tyr	Y = 50381X + 237870	0.9991	0.389~220.0	0.01	0.04
11	缬氨酸 Val	Y = 77889X + 131809	0.9992	0.361~220.0	0.01	0.04
12	蛋氨酸 Met	Y = 62911X - 121384	0.9992	0.342~220.0	0.01	0.04
13	半胱氨酸 Cys	Y = 43126X - 286830	0.9992	1.253~220.0	0.04	0.14
14	异亮氨酸 Ile	Y = 51267X + 411429	0.9991	0.888~240.0	0.03	0.10
15	亮氨酸 Leu	Y = 66799X + 58025	0.9993	0.857~220.0	0.03	0.09
16	苯丙氨酸 Phe	Y = 53309X + 140916	0.9994	0.361~240.0	0.01	0.04
17	色氨酸 Trp	Y = 54130X + 120174	0.9995	0.426~220.0	0.01	0.05
18	赖氨酸 Lys	Y = 108650X - 62934	0.9995	0.307~220.0	0.01	0.03

氨基酸的组分分析^[17]。氨基酸的风味评价采用呈味氨基酸的含量和风味贡献强度,氨基酸风味贡献强度采用味觉阈值比 (ratio of content and taste threshold, RCT) 来评价, RCT = 某风味氨基酸含量/相应氨基酸的味觉阈值^[21]。

1.3 数据处理

全部实验数据用 WPS Office 表格进行统计处理,数值以均值 ± 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 线性关系考察

精密吸取混合对照品储备液 0.5、1.0、2.0、2.5、3.5、4.5 mL,分别置于 5 mL 量瓶中,加 0.1 mol/L 盐酸溶液定容至刻度,精密吸取上述系列溶液各 400 μL 于 1.5 mL 离心管中,制备衍生化溶液。按照色谱条件进样分析。分别以氨基酸质量浓度 X (μg/mL) 为横坐标,相应的峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程。18 种氨基酸的线性方程、线性范围、决定系数 R²、检出限和定量限见表 1,色谱图见图 1。

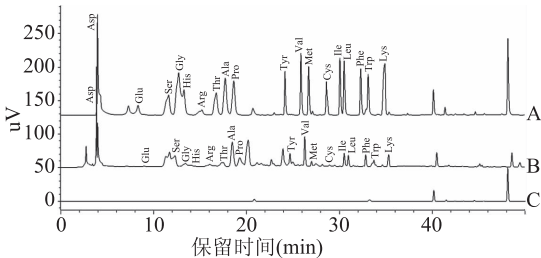


图1 柃叶氨基酸高效液相色谱图

Fig.1 Phrynium capitatum Willd.amino acid HPLC

注:A:氨基酸对照品;B:柃叶游离氨基酸;C:空白。

由表 1 可知,18 种氨基酸线性方程线性范围在

0.307~440.0 μmol/L, R² 都在 0.9990 以上,结果良好。图 1 显示经过衍生化处理后,在该色谱条件下,18 种氨基酸峰型良好,分离清晰。

2.2 稳定性、精密度和重复性实验

参考赵岩等^[18]方法,稳定性实验取柃叶供试品衍生化溶液,分别于 0、2、4、8、12、16、20、24 h 进样,测定各氨基酸的峰面积计算标准差 (RSD, relative standard deviation);精密度实验取衍生化标准品溶液,按色谱条件,连续进样 6 次,测定峰面积。结果 18 种氨基酸的峰面积 RSD;重复性实验取同一批柃叶 6 份,进行衍生化处理,按色谱条件,进样分析,计算 18 种氨基酸含量,分析 18 种游离氨基酸百分含量 RSD 值,结果见表 2。

由表 2 可知,在不同时间进样,18 种氨基酸峰面积的 RSD (n = 8) 在 0.78% ~ 3.0%,表明供试品溶液在室温放置 24 h 内基本稳定;连续进样 6 次,结果显示 18 种氨基酸的峰面积 RSD (n = 6) 在 0.18% ~ 2.4% 之间,表示仪器的精密度良好;同一批柃叶 6 份 18 种氨基酸含量百分含量 RSD (n = 6) 在 0.59% ~ 2.3% 之间,表明该方法重复性良好。

2.3 回收实验

取柃叶供试品溶液和标准品溶液按 1:4 比例取样 400 μL,进行衍生化处理、进样分析,平行测定 6 次,分别计算各氨基酸含量的回收率和 RSD。18 种游离氨基酸的回收率平均在 98.3% ~ 105.6% 之间, RSD 在 0.63% ~ 3.11% 之间,各种氨基酸的回收率都在 98% 以上,说明该测定方法较好,结果见表 3。

2.4 氨基酸营养价值与风味评价

2.4.1 氨基酸营养评价 取 6 批次柃叶样品,制备衍生化溶液,进样测定 18 种类氨基酸含量。采用

表2 稳定性、精密度和重复性实验的 RSD 值(%)
Table 2 RSD values of stability,precision
and repeatability experiments(%)

氨基酸	稳定性 实验 RSD 值	精密度 实验 RSD 值	重复性 实验 RSD 值
天冬氨酸 Asp	1.35	1.3	2.14
谷氨酸 GLu	2.17	2.17	1.34
丝氨酸 Ser	0.94	0.35	1.33
甘氨酸 Gly	2.33	0.57	0.91
组氨酸 His	1.76	1.89	1.48
精氨酸 Arg	3.0	2.12	2.04
苏氨酸 Thr	2.88	1.21	1.88
丙氨酸 Ala	1.21	1.79	1.15
脯氨酸 Pro	1.33	2.07	0.59
酪氨酸 Tyr	2.27	2.4	1.31
缬氨酸 Val	2.31	1.61	1.83
蛋氨酸 Met	1.19	0.73	2.40
半胱氨酸 Cys	2.57	1.42	1.79
异亮氨酸 Ile	0.78	2.19	0.65
亮氨酸 Leu	2.74	1.33	0.73
苯丙氨酸 Phe	1.08	2.14	1.36
色氨酸 Trp	1.87	1.73	1.41
赖氨酸 Lys	2.95	0.18	0.83

FAO/WHO 的模式标准对柅叶游离氨基酸营养价值进行评价。柅叶游离氨基酸含量见表 4 和表 5, 色谱图见图 1。

由表 4 可知,柅叶含有 18 种游离氨基酸和 8 种人体必需氨基酸。根据 FAO/WHO 的模式标准,质

量较好的蛋白质氨基酸组成中 EAA/TAA 应在 40.0% 左右,EAA/NEAA 应该在 60.0% 以上^[9]。根据分析柅叶样品,EAA/TAA 为 38.85% 左右,EAA/NEAA 为 61.15% 以上,基本达到了 FAO/WHO 模式标准的要求。

表 5 显示,柅叶 Leu 和 Lys 的组分分别为 2.9% 和 2.4%, 低于 WHO/FAO 氨基酸模式谱外,其余氨基酸组分均高于 WHO/FAO 标准模式;所有必需氨基酸组分同时达到 WHO/FAO 氨基酸成人模式的需求,这说明柅叶必需氨基酸含量配比较为合理,营养较全面,是较好的植物蛋白。

2.4.2 风味评价氨基酸 除了营养作用之外,对食物口感和品质方面起到重要作用。这些呈味氨基酸依据其的味觉强度,大致可分为鲜味氨基酸(Asp、Glu、Lys)、甜味氨基酸(Thr、)、Ser、Gly、Ala、His、Pro)、苦味氨基酸(Val、Met、Ile、Leu、Arg) 和芳香族氨基酸(Cys、Tyr、Phe) 苦味氨基酸四大类^[22],这些呈味氨基酸在食品体系中的风味作用取决于各类氨基酸的含量和贡献度(RCT),当 RCT < 1 时,表示该物质对风味无贡献,RCT ≥ 1 时,对风味有贡献^[21]。6 批次柅叶各种呈味氨基酸的含量以及 RCT 见表 6。

表 6 可以看出,柅叶中含有 17 种呈味氨基酸,总含量为 23.03 mg/g。其中鲜味氨基酸 Asp 含量最高,甜味氨基酸 Thr 其次,芳香族氨基酸 Cys 最低。各类呈味氨基酸含量中,鲜味氨基含量为 5.20 mg/g,占呈味氨基酸总含量 22.58%;甜味氨基酸含量为 10.73 mg/g,占 46.59%,苦味氨基酸 4.47 mg/g,占 19.41%。3 种鲜味氨基酸的 RCT 均 > 1,其中 Asp 的 RCT = 125.00,对鲜味贡献度最大;6 种甜味氨基酸中除了 Gly 的 < 1,其余氨基酸的 RCT 均 > 1,其中 His

表3 柅叶游离氨基酸的加样回收实验(n=6)
Table 3 Recovery experiment of free amino acids in *Phrynium capitatum*(n=6)

氨基酸	原始量 (μg/mL)	加入量 (μg/mL)	测得量 (μg/mL)	平均回收率(%)	RSD(%)
天冬氨酸 Asp	75.48	70.40	144.68	98.30	0.93
谷氨酸 GLu	18.79	70.40	91.17	102.81	1.03
丝氨酸 Ser	19.27	38.40	58.23	100.29	1.02
甘氨酸 Gly	3.02	38.40	43.57	105.60	1.91
组氨酸 His	3.46	70.40	74.43	100.80	1.31
精氨酸 Arg	5.57	19.20	24.69	99.57	2.84
苏氨酸 Thr	28.06	38.40	67.01	101.42	2.05
丙氨酸 Ala	10.30	38.40	48.73	100.08	0.63
脯氨酸 Pro	23.81	38.40	63.14	102.41	2.02
酪氨酸 Tyr	11.17	35.20	46.18	99.46	1.05
缬氨酸 Val	12.55	35.20	48.37	101.76	2.35
蛋氨酸 Met	3.53	35.20	39.00	100.78	1.62
半胱氨酸 Cys	3.20	35.20	39.13	102.06	1.30
异亮氨酸 Ile	9.01	38.40	47.75	100.88	1.59
亮氨酸 Leu	5.37	35.20	40.91	100.96	3.11
苯丙氨酸 Phe	7.84	38.40	47.00	101.97	1.59
色氨酸 Trp	5.49	35.20	41.25	101.59	1.96
赖氨酸 Lys	4.84	35.20	40.36	100.90	1.42

表4 柅叶中游离氨基酸的含量测定结果(n=6,干样品)

Table 4 Results of the determination of free amino acids in *Phrynium capitatum*(n=6,dry sample)

氨基酸种类	含量(x±s,mg/g)	氨基酸种类	含量(x±s,mg/g)
天冬氨酸 Asp	3.72±0.13	酪氨酸 Tyr	1.34±0.09
谷氨酸 Glu	0.87±0.08	缬氨酸 Val*	1.50±0.08
丝氨酸 Ser	2.42±0.07	甲硫氨酸 Met*	0.54±0.08
甘氨酸 Gly	0.36±0.02	半胱氨酸 Cys	0.41±0.03
组氨酸 His	0.46±0.04	异亮氨酸 Ile*	1.03±0.08
精氨酸 Arg	0.72±0.07	亮氨酸 Leu*	0.68±0.03
苏氨酸 Thr*	3.33±0.13	苯丙氨酸 Phe*	0.88±0.09
丙氨酸 Ala	1.11±0.17	色氨酸 Trp*	0.66±0.12
脯氨酸 Pro	3.05±0.08	赖氨酸 Lys*	0.58±0.02
氨基酸总量 TAA	23.63±0.38	非必需氨基酸总量 NEAA	14.45±3.21
必需氨基酸总量 EAA	9.18±1.65	EAA/NEAA(%)	61.15
EAA/TAA(%)	38.85		

注：*：人体必需氨基酸；EAA:必需氨基酸总量；TAA:氨基酸总量；NEAA:非必需氨基酸总量。

表5 柅叶各种必需氨基酸的组分分析

Table 5 Composition and comparative analysis of essential amino acids in *Phrynium capitatum*(%)

种类	Thr	Val	Met-Cys	Ile	Leu	Phe-Tyr	Lys	Trp
WHO/FAO 标准模式	4.0	5.0	3.5	4.0	7.0	6.0	5.5	1.0
婴儿*	4.4	4.7	2.9	3.5	8	6.3	5.2	0.85
儿童(10~12岁)*	4.4	4.1	3.4	3.7	5.6	3.4	7.5	0.46
成人*	1.3	1.8	2.4	1.8	2.5	2.2	2.2	0.6
柅叶样品均值	14.1	6.3	4.0	4.4	2.9	9.4	2.4	2.8

注：*：1973年FAO/WHO提出不同年龄段人群对摄入蛋白EAA含量需求参考值。

表6 柅叶呈味氨基酸含量和组分分析

Table 6 Analysis the content and constituent of flavor amino acid in *Phrynium capitatum*

氨基酸种类	鲜味氨基酸				甜味氨基酸				苦味氨基酸					芳香族氨基酸			
	Asp	Glu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Pro	His	Arg	Val	Met	Ile	Leu	Tyr	Cys	Phe
样品均值 (mg/g)	3.75	0.87	0.58	2.42	0.36	3.33	1.11	3.05	0.46	0.72	1.50	0.54	1.03	0.68	1.34	0.41	0.88
味道阈值 (mg/mL)	0.03	0.05	0.50	1.50	1.10	2.60	0.60	3.00	0.20	0.10	1.50	0.30	0.90	3.80	2.60	0.02	1.50
RCT	125.00	17.40	1.16	1.61	0.33	1.28	1.85	1.02	2.30	7.20	1.00	1.80	1.14	0.18	0.52	20.50	0.59
各类呈味氨基酸 含量 (mg/g)	5.20	10.73	4.47	2.63													
各类呈味氨基酸 质量分数 (%)	22.58	46.59	19.41	11.42													

和Ala的RCT分别为2.30和1.85,对甜味的贡献度较大;5种苦味氨基酸中,除了Leu对的RCT<1,其它氨基酸RCT均>1,其中Arg贡献度最大;芳香族氨基酸Tyr和Phe的RCT均<1较大,而Cys的RCT=20.50,对香味的贡献度最大。综合分析,柅叶中鲜味氨基酸和甜味氨基酸含量大,鲜味氨基酸、甜味氨基酸和芳香族氨基酸对风味贡献度高。

3 结论

本研究采用柱前衍生化HPLC法测定柅叶游离氨基酸含量,色谱图显示在本色谱条件下18种氨基酸分离良好,基线分离。方法学考察结果显示,该方法简单易予操作,且稳定性和重复性良好。氨基酸营养组分分析显示,柅叶含有8种人体必需氨基酸,EAA/TAA为38.85%,EAA/NEAA都在60%以上,各种必需氨基酸组分达到WHO/FAO氨基酸成人模式的需求;这说明柅叶氨基酸含量配比较为合理,营养

较全面,是较好的植物蛋白。风味分析显示,鲜味氨基酸和甜味氨基酸分别为10.73和5.20mg/g,占呈味氨基酸总含量22.58%和46.59%,其中鲜味氨基酸Asp和甜味氨基酸Thr含量较高,分别为3.75和3.33mg/g,鲜味氨基酸Asp和芳香族氨基酸Cys的RCT值最高分别为125.00和20.50,对风味贡献最高,可以选择鲜味氨基酸Asp和Glu,甜味氨基酸His和Ala,以及芳香族氨基酸Cys作为其产品质量标准。总之柅叶氨基酸种类齐全,比例合理,呈味氨基酸含量丰富,具有极大开发价值。

参考文献

[1]中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志 第五十四卷 五加科[M].北京:科学出版社,1978.
[2]中国药材公司.中国中药资源志要[M].北京:科学出版
(下转第303页)

[10] 王强,张宾,马路凯,等.流化冰保鲜对冰鲜南美白对虾品质的影响[J].现代食品科技,2014,30(10):134-140.

[11] 刘锋,谢晶.流化冰结合臭氧在水产品保鲜中的应用[J].食品与机械,2018,34(5):173-176.

[12] 奉琳娜.基于微冻与气调结合的罗非鱼片保鲜技术研究[D].海口:海南大学,2016.

[13] 蓝蔚青,张皖君,吴启月,等.流化冰预冷处理对鲈鱼贮藏期间品质变化的影响[J].食品科学,2018,39(11):247-254.

[14] Liu X C, Jiang Y, Shen S, et al. Comparison of Arrhenius model and artificial neuronal network for the quality prediction of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during storage at different temperatures [J]. LWT- Food Science and Technology, 2015, 60(1):142-147.

[15] 杨坤,魏佩宇,王祺,等. EGCG 对冷藏金鲳鱼鱼片新鲜度品质的影响[J].食品工业科技,2017,38(17):255-259.

[16] 黎柳,谢晶,苏辉,等.含茶多酚、植酸生物保鲜剂冰对鲳鱼保鲜效果的研究[J].食品工业科技,2015,36(1):338-343.

[17] Li Q, Zhang L T, Lu H, et al. Comparison of postmortem changes in ATP - related compounds, protein degradation and endogenous enzyme activity of white muscle and dark muscle from common carp (*Cyprinus carpio*) stored at 4 °C [J]. LWT, 2017, 78: 317-324.

[18] 高萌,张宾,王强,等.流化冰保鲜对鲈鱼蛋白质功能特性的影响[J].食品科学,2014,35(22):304-309.

[19] 黄利华,张业辉,张友胜,等.抑菌流化冰提高白鲢鱼的贮藏品质[J].现代食品科技,2020,36(3):99-105.

(上接第 296 页)

社,1994.

[3] 祝洪艳,张荻,张力娜,等.柱前衍生化 HPLC 法检测紫苏子和紫苏叶中氨基酸的含量[J].药物分析杂志,2017(10):1858-1864.

[4] 岑爱华,邓伟,莫熙礼,等.黔西南州野生柃叶资源调查研究[J].种子,2017,36(1):60-63.

[5] 赵岩,赵天琦,徐殿文,等.柱前衍生 RP-HPLC 法测定仙鹤草中氨基酸含量[J].食品研究与开发,2016,37(12):117-120.

[6] 姜雪,李焕荣,王威,等.新疆红枣中氨基酸与枣苦味相关性分析[J].食品科技,2016,41(7):87-91.

[7] 赵卿宇,胡锦蓉,沈群.四种大米味感品质研究[J].中国粮油学报,2019,34(4):17-23.

[8] 张婷,杨波,罗瑞明,等.苦苦菜发酵过程中氨基酸组成与含量变化对其营养与风味的影响[J].食品工业科技,2015,36(03):367-371.

[9] 何洁,莫仁甫,劳水兵,等.紫果西番莲和其它 5 种水果中氨基酸组分分析[J].食品工业科技,2018,39(6):298-300,316.

[10] 陈小伟,程勇杰,范昊安,等.草莓酵素发酵过程中氨基酸成分分析和蛋白质营养评价[J].食品工业科技,2018,39(17):64-70,78.

[11] 陈菲,张奉苏,刘训红,等.樟芝菌粉的氨基酸测定及营养评价[J].食品工业科技,2015,36(5):286-291.

[12] 闻静,李薇,杨涓.毛细管电泳在氨基酸分析检测中的应用研究[J].轻工科技,2020,36(2):111-113,132.

[13] 欧阳道福,杨泽锐,郁晓艺,等.柱前衍生 RP-HPLC 法测

[20] 高乾坤,杜贺超,赵云飞,等.不同生物保鲜剂对带鱼冷藏保鲜效果的比较[J].食品工业科技,2018,39(22):270-275.

[21] 林旭东,郭儒岳,康孟利,等.流化冰结合静压式挤压技术对冰藏大黄鱼菌相变化的影响[J].食品工业科技,2018,39(13):287-291,310.

[22] Rodríguez Ó, Barros-Velázquez J, Piñeiro C, et al. Effects of storage in slurry ice on the microbial, chemical and sensory quality and on the shelf life of farmed turbot (*Psetta maxima*) [J]. Food Chemistry, 2006, 95(2):270-278.

[23] 郭全友,邢晓亮,姜朝军,等.野生和养殖大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 品质特征与差异性探究[J].现代食品科技,2019,35(10):92-101.

[24] 蓝蔚青,胡潇予,阮东娜,等.流化冰处理对南美白对虾冰藏期间品质与水分迁移变化的影响[J].食品科学,2019,40(9):248-255.

[25] 林雪.鲈鱼流化冰保鲜技术研究[D].舟山:浙江海洋学院,2014.

[26] 张皖君.流化冰处理对鲈鱼流通期间品质及微生物菌群变化影响[D].上海:上海海洋大学,2018.

[27] 袁鹏翔,邓尚贵,张宾,等.静态流化冰对鱿鱼保鲜效果的影响[J].现代食品科技,2015,31(8):242-247,87.

[28] Li D P, Jia S L, Zhang L T, et al. Effect of using a high voltage electrostatic field on microbial communities, degradation of adenosine triphosphate, and water loss when thawing lightly - salted, frozen common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Journal of Food Engineering, 2017, 212:226-233.

定肽藻营养粉中游离氨基酸的含量[J].现代食品科技,2018,34(7):280-285,104.

[14] 孙晓慧,郑奎玲,廖莉玲,等.八种野菜氨基酸及维生素的含量分析[J].食品工业科技,2012,33(12):61-63.

[15] 张国华,吴光斌,陈昭华,等.异硫氰酸苯酯柱前衍生 RP-HPLC 法同时测定莲雾中 15 种游离氨基酸的含量[J].食品工业科技:1-8[2020-06-08].

[16] 陈蓉,张超,顾倩,等.柱前衍生-HPLC 法同时测定不同产地茯苓中 18 种氨基酸含量[J].药物分析杂志,2017,37(2):297-303.

[17] Food and Agriculture Organization of the gaited Natimm/world Heal Organization. Energy and protein requirememnt [R]. Report of joint FAO/WHO, Gneve: WHO, 1973:62-64.

[18] 赵岩,赵天琦,徐殿文,等.柱前衍生 RP-HPLC 法测定仙鹤草中氨基酸含量[J].食品研究与开发,2016,37(12):117-120.

[19] 祝洪艳,张荻,张力娜,等.柱前衍生化 HPLC 法检测紫苏子和紫苏叶中氨基酸的含量[J].药物分析杂志,2017,37(10):1858-1864.

[20] 黄元河,潘乔丹,黎惠琴,等.柱前衍生-高效液相色谱法测定野芭蕉不同部位的 18 种氨基酸含量[J].食品研究与开发,2020,41(9):158-162.

[21] 陈小伟,程勇杰,范昊安,等.草莓酵素发酵过程中氨基酸成分分析和蛋白质营养评价[J].食品工业科技,2018,39(17):64-70,78.

[22] 王齐,朱伟伟,苏丹,等.蒲桃中氨基酸组成与含量对其营养与风味的影响[J].食品科学,2012,33(16):204-207.