

OPA-FMOC 柱前衍生化 HPLC 法测定两种常用食用菌中蛋白氨基酸和非蛋白氨基酸的含量

谢志茹¹, 程敏², 谭丽容², 肖雪¹, 李莎莎³

(1. 广东药科大学中药学院, 广东广州 510006) (2. 弘正道(中国)中药研究有限公司, 广东广州 510623)

(3. 广东省中医院, 广东广州 510006)

摘要: 本文研究了两种常用食用菌-香菇、金针菇中蛋白氨基酸(PAA)及非蛋白氨基酸(NPAA)的组成及含量, 并对其进行了营养、呈味评价。采用 OPA-FMOC 柱前衍生化法确定香菇、金针菇中 PAA 及 NPAA 的组成及含量。测定结果表明香菇中含有 15 种 PAA, 其含量为 10.99 mg/g, 含有 2 种 NPAA, 其含量为 2.37 mg/g, 其中必需氨基酸(EAA)含量为 4.39 mg/g, 呈味氨基酸(FAA)含量为 5.40 mg/g; 金针菇中含有 14 种 PAA, 其含量为 16.79 mg/g, 含有 2 种 NPAA, 其含量为 3.99 mg/g, 其中 EAA 含量为 5.98 mg/g, FAA 含量为 9.96 mg/g。本文建立的方法准确可行, 可用于两种菌类中的 PAA 和 NPAA 测定。香菇中 PAA 种类多于金针菇, 其中 EAA 种类多于金针菇, 金针菇中的 PAA、NPAA 含量均高于香菇。金针菇营养价值高, 味道鲜美, 香菇营养价值均衡, 为两种常用食用菌的产品再次开发提供依据。

关键词: 香菇; 金针菇; 蛋白氨基酸; 非蛋白氨基酸; OPA-FMOC 柱前衍生化法

文章编号: 1673-9078(2018)10-240-246

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.10.032

Determination of Protein Amino Acids and Nonprotein Amino Acids in Two Edible Fungi by HPLC with OPA-FMOC Precolumn Derivatization

XIE Zhi-ru¹, CHENG Min², TAN Li-rong², XIAO Xue¹, LI Sha-sha³

(1.School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

(2.Hong Zheng Dao (China) Traditional Chinese Medicine Research Company Ltd, Guangzhou 510623, China)

(3.Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

Abstract: To study composition and content of protein amino acids (PAA) and nonprotein amino acids (NPAA) in *Letinous edodes* and *Flammulina velutipes*, and to evaluation their nutrition and flavor, the composition and content of PAA and NPAA in *Letinous edodes* and *Flammulina velutipes* were determined by OPA-FMOC precolumn derivatization and HPLC. The results showed that *Letinous edodes* contains 15 kinds of PAA with the content of 10.99 mg/g, contains 2 kinds of NPAA with a content of 2.37 mg/g. The content of essential amino acids (EAA) is 4.39 mg/g and the content of flavor amino acid (FAA) is 5.40 mg/g. There are 14 kinds of PAA in the *Flammulina velutipes* with content of 16.79 mg/g and 2 kinds of NPAA with the content of 3.99 mg/g. The content of the EAA is 5.98 mg/g and FAA is 9.96 mg/g. The method is accurate and feasible. It can be used for the determination of PAA and NPAA in the fungi. There are more kinds of PAA in *Letinous edodes* than that in *Flammulina velutipes*, EAA in *Letinous edodes* was more than that in *Flammulina velutipes*, and PAA and NPAA contents in *Flammulina velutipes* were higher than those in *letinous edodes*. *Flammulina velutipes* occupy high nutritional value and delicious taste, while *Letinous edodes* possess a balance nutritional value. The results in this work were helpful for the re-development of *Letinous edodes* and *Flammulina velutipes*.

Key words: *Letinous edodes*; *Flammulina velutipes*; protein amino acids; nonprotein amino acids; OPA-FMOC precolumn derivatization

食用菌具有极好的营养价值和保健功效, 如抗菌、

收稿日期: 2018-06-21

基金项目: 广州市科技计划项目珠江科技新星专项 (201610010113)

作者简介: 谢志茹 (1996-), 女, 硕士, 研究方向: 中药分析

通讯作者: 肖雪 (1985-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 中药质量分析

抗肿瘤、降血压、降血脂、护肝和健胃助消化等, 这可能与其中的氨基酸(AA)和蛋白质成分有关^[1,2]。基于此, 已有关于其蛋白质及氨基酸的研究报道^[3,4]。AA作为具有生物活性的植物次生代谢产物, 其活性与AA的种类及含量有关, 如螺旋藻水解肽的抗氧化性与其氨基酸含量有关^[5]。另一项研究也证明食物蛋

白水解物具有潜在的抗氧化活性且该活性与适当量的特定氨基酸相关^[6]。

游离氨基酸 (FAAs) 是人体维生素 E 及叶酸的来源^[7], 也是提高或改善天然食品鲜味和风味的重要成分^[8,9], 如天冬氨酸及谷氨酸对紫果西番莲的鲜味起重要作用^[10]。蛋白氨基酸 (PAA) 为常见的组成人体蛋白质的 20 种氨基酸^[11], 是蛋白质执行生命活动的基础物质。非蛋白氨基酸 (NPAA) 如 γ -氨基丁酸、鸟氨酸作为功能性氨基酸, 具有充当神经递质、抗癌、抗菌等生物活性^[12], 目前对游离氨基酸的研究多是对 PAA 的测定, 如王富花利用 HPLC 法测定茶叶中 17 种蛋白氨基酸^[13], 唐翎利用柱前衍生 HPLC 法测定猴头菌丝体中 15 种游离蛋白氨基酸^[14]。香菇、金针菇作为常用食用菌, 于海龙等利用氨基酸测定仪测定香菇子实体中常见 18 种 PAA^[15], 陈惜燕等利用 HPLC-ELSD 对包含金针菇在内的 8 种食用菌的 15 种 PAA 进行测定^[16], 均缺少对 NPAA 的测定。故本文以香菇及金针菇为例, 测定常用食用菌中的 PAA 及 NPAA, 并通过对比氨基酸组成及含量, 对其营养价值及风味进行评价。

目前对氨基酸的测定有阳离子交换色谱法及高效液相色谱法, 前者准确性高, 但是灵敏度较低, 且价格相对昂贵。后者因氨基酸属于极性大且无紫外吸收的一类化合物, 故需进行衍生化, 该方法方便快捷, 故本文采用 OPA-FMOC 柱前衍生化 HPLC 法对香菇及金针菇中 PAA 及 NPAA 进行测定, 以期为进一步开发及利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 原料

1.1.1 原材料

香菇 (批号: YY02AB2016、YY05AB2016、XG16B03-170705、KDX16D04-170726、XG16E06-170830、YG03AC2016、YG02AC2016)、金针菇 (批号: WLJZG170901、WLJZG170902、WLJZG170703、WLJZG170801) 干品均由弘正道 (中国) 中药研究有限公司提供。

1.1.2 试剂

乙腈、甲醇 (HPLC 级) 购于德国默克公司; 氢氧化钠、磷酸二氢钠、四氢呋喃、硼酸购于天津市致远化学试剂有限公司; 3-巯基丙酸购于上海麦克林生化科技有限公司; 邻苯二甲醛 (OPA)、氯甲酸-9-芴基甲酯 (FMOC) 购于美国 Sigma 公司; 天冬氨酸 (Asp, 批号 wkq16082503)、谷氨酸 (Glu, 批号

wkq17010904)、天冬酰胺 (Asn, 批号 wkq17010305)、丝氨酸 (Ser, 批号 wkq16090603)、甘氨酸 (Gly, 批号 wkq16110106)、苏氨酸 (Thr, 批号 wkq16090801)、精氨酸 (Arg, 批号 wkq16090702)、丙氨酸 (Ala, 批号 wkq17011305)、 γ -氨基丁酸 (GABA, wkq17011602)、酪氨酸 (Tyr, 批号 wkq16090304)、 α -氨基丁酸 (AABA, wkq17021001)、缬氨酸 (Val, 批号 wkq16082004)、甲硫氨酸 (Met, 批号 wkq16090704)、苯丙氨酸 (Phe, 批号 wkq16090605)、异亮氨酸 (Ile, wkq16092108)、鸟氨酸 (Orn, 批号 wkq17020103)、亮氨酸 (Leu, 批号 wkq16090402)、赖氨酸 (Lys, 批号 wkq16090804)、脯氨酸 (Pro, 批号 wkq16101204) 购于四川省维克奇生物科技有限公司, 纯度均 $\geq 98\%$; 纯化水自制。

1.1.3 主要仪器设备

Agilent1260 高效液相色谱仪 (配有 G1322A 在线脱气机、G1311C 四元泵、G1316A 柱温箱、G1315D 二极管阵列检测器、G1329B 自动进样器)、Agilent ChemStation 色谱工作站 (版本 04.03.054.), 美国 Agilent 公司; pH 计、十万分之一天平、万分之一天平, 瑞士 METTLER TOLEDO 公司; Milli-Q 超纯水仪系统, 美国 Millipore 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 供试品的制备

香菇子实体、金针菇全株干品粉碎, 过 60 目筛, 分别取 2.0 g 粉末加 18 倍水, 浸泡 1 h, 回流提取 4 h, 补足失重, 提取液过 0.22 μm 微孔滤过, 得供试品。

1.2.2 氨基酸测定方法的建立

依据 Xiao X 所做研究并进行改进^[17]。

1.2.2.1 溶液配制

OPA 溶液: 取 OPA 80 mg, 加 0.4 mol/L 硼酸盐缓冲液 (pH 10.4) 7 mL, 乙腈 1 mL, 3-巯基丙酸 125 μL , 溶解; FMOC 溶液: 取 FMOC 40 mg, 加乙腈 8 mL 溶解。

1.2.2.2 色谱条件

色谱柱: Alltima C18 柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 柱温: 25 $^{\circ}\text{C}$; 流动相 A: 25 mmol/L 磷酸二氢钠-四氢呋喃 (体积比为 995:5, pH=7.2); 流动相 B: 50 mmol/L 磷酸二氢钠-甲醇-乙腈 (体积比为 50:35:15, pH=7.2)。梯度洗脱程序为: 0~8 min, 5%~19% B; 8~20 min, 19%~35% B; 20~34 min, 35%~60% B; 34~40 min, 60%~70% B; 40~50 min, 70%~100% B; 50~80 min, 100%~100% B。流速: 0.8 mL/min。检测波长: 0~60 min, 338 nm; 60~80 min, 262 nm。使用

程序进样,将 5 μL 样品、5 μL 硼酸盐缓冲液、1 μL OPA 溶液、1 μL FMOC 溶液、28 μL 蒸馏水置于定量环中混合,进样 20 μL 。

1.2.2.3 标准曲线绘制及方法检出限测定

准确称取 AA 标准品适量,用 1% HCl 溶液制备成 1 mg/mL 溶液。再将其混合,制备混标,并进行梯度稀释。进样分析,绘制峰面积-质量浓度标准曲线,求回归方程和相关系数。并将信噪比为 3 时 AA 浓度作为检出限。

1.2.2.4 仪器精密度考察

取香菇样品,按 1.2.1 项制备供试品,按 1.2.2.2 项下色谱条件进行检测,连续进样 6 针,记录保留时间及峰面积,并计算保留时间及峰面积的 RSD。

1.2.2.5 方法重复性考察

取香菇样品,按 1.2.1 项平行制备供试品 6 份,按 1.2.2.2 项下色谱条件进行检测,记录保留时间及峰面积,并计算保留时间及峰面积的 RSD。

1.2.2.6 方法稳定性考察

取香菇样品,按 1.2.1 项制备供试品,于 0、2 h、4 h、8 h、12 h、24 h,按 1.2.2.2 项下色谱条件进行检测,记录保留时间及峰面积,并计算保留时间及峰面积的 RSD。

1.2.2.7 加样回收率

取香菇样品,按 100% 含量加入 AA 标准品,按 1.2.1 项平行制备供试品 6 份,按 1.2.2.2 项下色谱条件进行检测,记录峰面积,并计算加样回收率。

1.2.3 样品测定

取香菇、金针菇供试品,按照 1.2.2.2 项下色谱条件进行氨基酸的测定。

1.3 数据分析

利用 Agilent ChemStation 工作站,根据色谱图,对比色谱峰保留时间进行定性分析,根据峰面积和标准曲线对样品中 AA 进行定量分析。

味道强度值 (taste active value, TAV) 是某 AA 组分浓度与其味觉阈值的比值。

2 结果与讨论

2.1 香菇及金针菇中 AA 的组成

19 种 AA 混标、香菇及金针菇中 AA HPLC 测定结果如图 1 所示,在该色谱条件下可以实现 19 种 AA 的分离,在金针菇和香菇中 AA 的种类仅相差 1 种,金针菇中无 Met。在香菇中含有 15 种 PAA,分别为 Asp、Glu、Asn、Ser、Gly、Thr、Arg、Ala、Tyr、Val、

Met、Phe、Ile、Leu、Lys, 2 种 NPAA, 分别为 GABA、Orn。本研究改进 Xiao X 研究中的色谱条件流动相 B 组成,达到 AABA 同 Tyr, GABA 同 Ala 的分离度大于 1.5,从而实现同时测定 17 种 PAA 和 2 种 NPAA;一级氨基酸最大吸收波长为 338 nm,二级氨基酸最大吸收波长为 262 nm,故本研究中增添 262 nm 检测波长以检测 Pro。

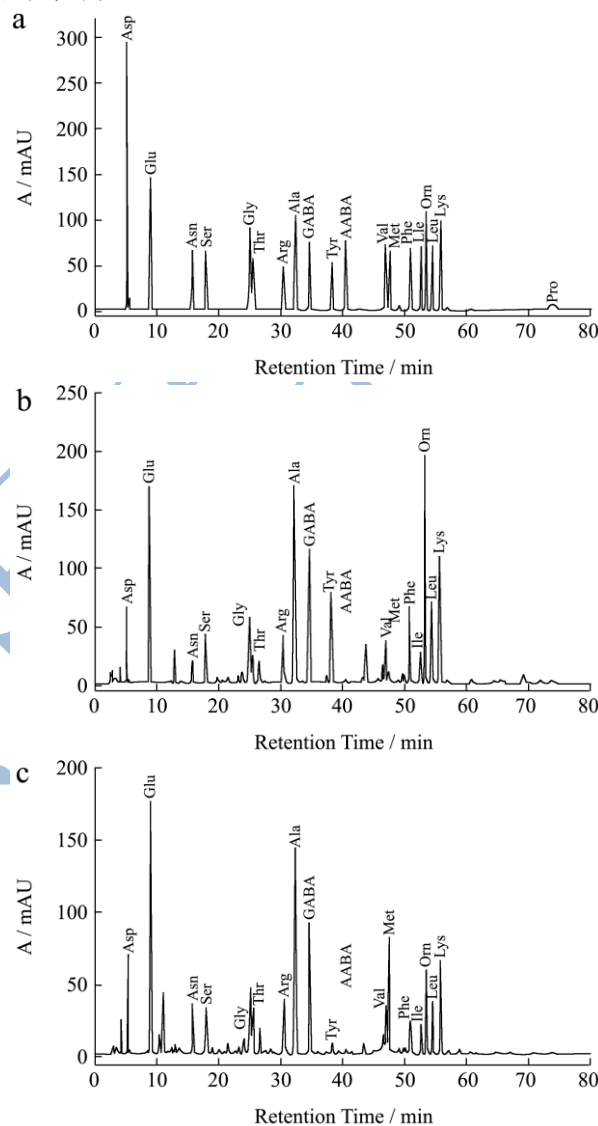


图 1 19 种 AA 混合标准品溶液 (a)、金针菇 (b)、香菇 (c) HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatograms of mixed AA standards sample(a), Flammulina velutipes(b) and Letinous edodes(c)

2.2 标准曲线绘制及方法检出限

以各 AA 质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得到各 AA 的回归方程及相关系数,AA 混标进行梯度稀释后测定检出限。结果见表 1。由表 1 可知在线性范围内,相关系数 (r^2) 分布在 0.9990~1.0000,说明 AA 峰面积与质量浓度的线性关

系良好, 此条件可用来测定 AA 含量。

表 1 19 种 AA 标准曲线

名称	方法检出限/($\mu\text{g/mL}$)	线性范围/(mg/mL)	回归方程	r^2
Asp	0.0563	0.0113~0.2252	$y=15817x+19.884$	0.9999
Glu	0.0987	0.0197~0.3946	$y=15151x-5.6679$	1.0000
Asn	0.0532	0.0021~0.2126	$y=15452x+33.694$	0.9999
Ser	0.0474	0.0095~0.1894	$y=20040x+16.608$	0.9997
Gly	0.0229	0.0046~0.1828	$y=28730x+95.841$	1.0000
Thr	0.0983	0.0100~0.1966	$y=18100x+35.893$	0.9990
Arg	0.1003	0.0100~1.0028	$y=11808x+70.622$	0.9999
Ala	0.0615	0.0025~0.2458	$y=24755x+20.240$	0.9998
GABA	0.0580	0.0023~0.2318	$y=17453x+3.3576$	0.9999
Tyr	0.2200	0.0044~0.2200	$y=11039x+30.004$	0.9990
AABA	0.0979	0.0039~0.1958	$y=21816x+21.964$	0.9996
Val	0.0509	0.0020~0.0407	$y=19498x+6.7282$	0.9995
Met	0.1082	0.0043~0.2164	$y=14611x+13.244$	0.9996
Phe	0.1129	0.0045~0.2258	$y=11946x+40.050$	0.9997
Ile	0.0941	0.0036~0.1804	$y=15499x+20.913$	0.9997
Orn	0.0656	0.0039~0.1972	$y=21877x-34.963$	0.9996
Leu	0.0601	0.0036~0.1804	$y=16397x+3.937$	0.9994
Lys	0.0501	0.0040~0.2004	$y=23719x-29.360$	0.9995
Pro	0.5790	0.0046~0.1158	$y=14312x-7.2352$	0.9998

2.3 仪器精密度

17 种 AA 保留时间 RSD 分布在 0.01%~0.26% 之间, 峰面积 RSD 分布在 1.56%~4.77% 间, 表明仪器精密度良好。

2.4 方法重复性

17 种 AA 保留时间 RSD 位于 0.02%~0.34% 之间, 峰面积 RSD 位于 1.72%~4.78% 之间, 表明该方法重复性较好。

2.5 方法稳定性

在 24 h 内, 17 种 AA 保留时间 RSD 为 0.02%~0.24%, 峰面积 RSD 为 1.41%~4.42%, 表明样品在 24 h 内稳定性较好。

2.6 加样回收率

本试验的加样回收率为 101.24%~105.59% 之间, 说明该方法准确度较高。

2.7 香菇及金针菇质量评价

2.7.1 香菇及金针菇 PAA 中 EAA 及 FAA 评价

香菇及金针菇中 PAA 含量测定结果如表 3 所示, 两种菌类中 PAA 含量存在较大的差异。金针菇中 PAA 含量为 16.79 mg/g, 其中有 6 种 EAA, 分别为 Thr、Val、Phe、Ile、Leu、Lys, 含量为 5.98 mg/g, 结果与已有研究略有差异^[18], 可能与金针菇的来源、品种不同有关。香菇中 PAA 含量为 10.99 mg/g, 其中 EAA 为 7 种, 含量为 4.39 mg/g, 同金针菇中 EAA 相比多了 Met。两种常用食用菌中, 金针菇的 PAA、EAA 含量较高, 营养价值高; 香菇的 EAA 种类多, 营养价值均衡。

TAV 为呈味物质测定值与呈味物质味觉阈值的比值^[19]。本研究参考的味道阈值为氨基酸的水溶液测定值^[20]。由表 3 可知, 在香菇中大于味觉阈值的 FAA 有 Glu、Arg、Ala、Val、Met 和 Lys, 其 TAV 值分别为 8.4, 1.5, 2.8, 1.4, 4.3, 1.3。在金针菇中 FAA 的 TAV 大于阈值的有 Glu、Arg、Ala、Val、Phe 和 Lys, 其 TAV 值分别为 9.1, 2.1, 4.4, 1.5, 1.6, 3.1。在香菇中, FAA 总量为 5.40 mg/g, Glu 和 Met 为主要的 FAA, 其含量为 3.83 mg/g, 在金针菇中, FAA 总量为 9.96 mg/g, 其主要 FAA 为 Glu 和 Ala, 含量为 5.38 mg/g。Glu 是鲜味氨基酸中的特征氨基酸, Ala 为呈甘味的特征氨基酸^[21], Met 可发生美拉德反应而形成肉

香^[22]。在两种常用食用菌中，金针菇的 FAA 含量高于香菇，金针菇比香菇味道更鲜美。

2.7.2 香菇及金针菇中 NPAA

NPAA 是除组成人体蛋白质的常见 20 种氨基酸之外的氨基酸，且其参与神经传递，具有抗癌、抗菌等生物活性^[12]。两种菌类中 NPAA 有 GABA 和 Orn，香菇中 NPAA 含量为 2.37 mg/g。金针菇中 NPAA 含量为 3.99 mg/g。

氨基丁酸分为 α -氨基丁酸、 γ -氨基丁酸、 β -氨基丁酸三种类型，均具有抑菌作用^[23]，其中 GABA 属于强神经抑制氨基酸，具有多种生物活性，如镇静、降血压、抗焦虑、抗抑郁、增强记忆力等^[24-27]。在两种

食用菌中均检测到 GABA，且金针菇中 GABA 含量为 2.38 mg/g，香菇中为 1.59 mg/g。作为新资源食品，SFDA 允许 GABA 可作为食品添加剂，我国规定其摄入量不得超过 500 mg/d。

鸟氨酸作为 NPAA，同样具有广泛的生物活性，因其参与尿素循环，故对机体有一定的解毒作用，可刺激脑垂体分泌生长激素，促进糖、脂肪的代谢而促进蛋白质的合成^[28]，同样也具有增强免疫力、抗癌的活性^[29]。在金针菇中含量为 1.61 mg/g，香菇中为 0.78 mg/g。金针菇中 NPAA 含量高于香菇，结合其增强免疫力，提高记忆力等保健功能，金针菇营养价值高于香菇。

表 2 精密度、稳定性、重复性、加样回收率 (%)

Table 2 Precision, stability, repeatability and recovery tests of AA (%)

AA	精密度/RSD		重复性/RSD		稳定性/RSD		回收率	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	平均值	RSD
Asp	0.26	4.55	0.22	4.78	0.24	4.10	101.63	4.44
Glu	0.08	1.98	0.34	3.00	0.07	1.80	101.24	4.61
Asn	0.05	2.16	0.26	2.53	0.08	1.95	103.90	1.14
Ser	0.05	1.56	0.29	2.20	0.08	1.41	104.15	1.23
Gly	0.03	2.05	0.19	1.72	0.04	1.83	102.12	3.56
Thr	0.04	1.89	0.18	2.99	0.04	1.71	104.65	2.77
Arg	0.02	1.79	0.10	3.00	0.04	1.61	105.59	3.06
Ala	0.03	1.77	0.07	2.46	0.03	1.59	104.70	2.85
GABA	0.02	2.13	0.03	1.77	0.03	1.90	102.27	2.26
Tyr	0.02	4.77	0.02	1.73	0.03	4.42	103.13	2.30
Val	0.01	2.27	0.05	3.49	0.02	2.05	104.20	3.60
Met	0.01	1.83	0.05	3.03	0.02	1.64	104.74	3.36
Phe	0.01	2.14	0.06	3.11	0.02	1.92	102.11	1.18
Ile	0.02	1.87	0.10	2.58	0.03	1.67	102.72	2.48
Orn	0.01	1.73	0.07	2.43	0.02	1.55	103.66	1.09
Leu	0.02	1.87	0.16	2.42	0.03	1.67	104.06	1.83
Lys	0.03	1.95	0.12	3.55	0.05	1.76	105.65	3.54

表 3 香菇、金针菇中 AA 含量及 TAV 值

Table 3 Content of FAA and TAV value in *Letinous edodes* and *Flammulina velutipes* ($\bar{x} \pm s$, *Letinous edodes*: n=7; *Flammulina velutipes*: n=4)

AA	味道特征	味觉阈值/(mg/g)	AA 含量/(mg/g)		TAV	
			香菇	金针菇	香菇	金针菇
Asp [^]	鲜 (+)	1.0	0.26±0.09	0.24±0.09	0.3	0.2
Glu [^]	鲜 (+)	0.3	2.53±0.75	2.73±0.39	8.4	9.1
Asn	-	-	0.41±0.11	0.34±0.07	-	-
Ser	甜 (+)	1.5	0.44±0.07	0.86±0.18	0.3	0.6
Gly [^]	甜 (+)	1.3	0.30±0.10	0.79±0.17	0.2	0.6
Arg	甜/苦 (+)	0.5	0.73±0.23	1.04±0.23	1.5	2.1

转下页

接上页

Ala [^]	甜 (+)	0.6	1.68±0.16	2.65±0.16	2.8	4.4
Tyr [^]	-	-	0.22±0.07	2.15±0.07	-	-
GABA ^Δ	-	-	1.59±0.36	2.38±0.36	-	-
Orn ^Δ	-	-	0.78±0.29	1.61±0.30	-	-
Thr [*]	甜 (+)	2.6	0.54±0.08	0.50±0.08	0.2	0.2
Val [*]	甜/苦(-)	0.4	0.57±0.08	0.61±0.08	1.4	1.5
Met [*]	苦/甜/硫(-)	0.3	1.30±0.26	ND	4.3	ND
Phe ^{*^}	苦(-)	0.9	0.41±0.06	1.40±0.07	0.4	1.6
Ile [*]	苦(-)	0.9	0.34±0.06	0.51±0.06	0.4	0.6
Leu [*]	苦(-)	1.9	0.60±0.13	1.43±0.13	0.3	0.8
Lys [*]	甜/苦(-)	0.5	0.63±0.14	1.53±0.14	1.3	3.1
必需氨基酸 (EAA)			4.39	5.98		
呈味氨基酸 (FAA)			5.40	9.96		
蛋白氨基酸 (PAA)			10.99	16.79		
非蛋白氨基酸 (NPAA)			2.37	3.99		
总游离氨基酸 (TAA)			13.36	20.78		

注: *为必需氨基酸; ^为呈味氨基酸; Δ为非蛋白氨基酸; (+)为令人愉快的味道; (-)为令人不愉快的味道; -为未报道; ND为未检出。

3 结论

3.1 本研究采用 OPA-FMOC 柱前自动衍生化法对氨基酸样品进行测定,在该色谱条件下可实现 19 种氨基酸的分离,采用仪器自动衍生,操作方便,结果可信,可用于金针菇、香菇中 PAA 及 NPAA 测定。

3.2 香菇中 EAA 种类多于金针菇,金针菇中 EAA、FAA、NPAA 含量均高于香菇,基于游离氨基酸,金针菇营养价值高,味道鲜美,香菇营养价值更均衡。

参考文献

- [1] 陈巧玲,李忠海,陈素琼.5 种地产食用菌氨基酸组成比较及营养评价[J].食品与机械,2014,30(6):43-46,81
CHEN Qiao-ling, LI Zhong-hai, CHEN Su-qiong. Analysis of amino acid composition and nutritional evaluation in five local edible fungus [J]. Food and Machinery, 2014, 30(6): 43-46, 81
- [2] 庄海宁,张劲松,冯涛,等.我国食用菌保健食品的发展现状与政策建议[J].食用菌学报,2015,22(3):85-91
ZHANG Hai-ning, ZHANG Jin-song, FENG Tao, et al. Development status and policy suggestions of edible fungi health food in China [J]. Acta Edulis Fungi, 2015, 22(3): 85-91
- [3] 张璐,弓志青,王文亮,等.7 种大宗食用菌的呈味物质分析及鲜味评价[J].食品科技,2017,42(3):274-278,283
ZHANG Lu, GONG Zhi-qing, WANG Wen-liang, et al. Analysis of flavor components and evaluation on umami of seven kinds of edible fungi [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(3): 274-278, 283
- [4] 班立桐,杨红澎,黄亮,等.新疆和天津产香菇中氨基酸和多糖的对比分析[J].食品研究与开发,2015,36(14):8-10
BAN Li-tong, YANG Hong-peng, HUANG Liang, et al. Comparison and analysis of amino acid and polysaccharides in *Lentinus edodes* from Xinjiang and Tianjin [J]. Food Research and Development, 2015, 36(14): 8-10
- [5] Paiva L, Lima E, Neto A I, et al. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity, antioxidant properties, phenolic content and amino acid profiles of *Fucus spiralis* L. protein hydrolysate fractions [J]. Mar Drugs, 2017, 15(10): 311
- [6] Udenigwe C C, Aluko R E. Chemometric analysis of the amino acid requirements of antioxidant food protein hydrolysates [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(5): 3148-3161
- [7] 陈晓明,成兆友,赵建民.盱眙龙虾肌肉营养成分分析与评价[J].食品工业科技,2010,31(7):345-349
CHEN Xiao-ming, CHENG Zhao-you, ZHAO Jian-min. Analysis and evaluation of the nutritional composition in muscle of crayfish from Xuyi [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(7): 345-349
- [8] 黄艳.常见果蔬中游离氨基酸含量的测定[J].安徽农业科学,2013,41(9):4088-4089
HUANG Yan. Determination of free amino acids in common

- fruits and vegetables [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(9): 4088-4089
- [9] 蒋滢,徐颖,朱庚伯.人类味觉与氨基酸味道[J].氨基酸和生物资源,2002,24(4):1-3
JIANG Ying, XU Ying, ZHU Geng-bo. Human taste and amino acid taste [J]. Amino Acids and Biotic Resources, 2002, 24(4): 1-3
- [10] 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
HE Jie, MO Ren-pu, LAO Shui-bing, et al. Analysis of amino acid composition in purple passionfruit and other 5 fruits [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(6): 298-300, 316
- [11] Woiwode U, Neubauer S, Lindner W, et al. Enantioselective multiple heartcut two-dimensional ultra-high-performance liquid chromatography method with a Coreshell chiral stationary phase in the second dimension for analysis of all proteinogenic amino acids in a single run [J]. J Chromatogr A, 2018, 1562: 69-77
- [12] 李英,王霞,杨帆.非蛋白氨基酸的功能和药物作用研究进展[J].上海应用技术学院学报(自然科学版),2003,3(3):194-198
LI Ying, WANG Xia, YANG Fan. Studies on the function and application of non-protein amino acids [J]. Journal of Shanghai Institute of Technology (Natural Science), 2003, 3(3): 194-198
- [13] 王富花.HPLC 分析测定不同茶叶中的游离氨基酸[J].食品研究与开发,2018,39(1):141-146
WANG Fu-hua. Analysis and determination of free amino acids in different tea by HPLC [J]. Food Research and Development, 2018, 39(1): 141-146
- [14] 唐翎,魏伟,赵勇.柱前衍生高效液相色谱测定猴头菌丝体中 15 种游离氨基酸的含量[J].中国药学杂志,2017,52(21): 1899-1902
TANG Ling, WEI Wei, ZHAO Yong. Determination of free amino acids in hericium erinaceus mycelium by HPLC with precolumn derivatization [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2017, 52(21): 1899-1902
- [15] 于海龙,李玉,陈万超,等.不同品种干制香菇子实体等鲜浓度值差异分析[J].食品科学,2018,39(4):171-175
YU Hai-long, LI Yu, CHEN Wan-chao, et al. Analysis of differential euc in dried fruiting bodies of different cultivars of *Lentinus edodes* [J]. Journal of Food Science, 2018, 39(4): 171-175
- [16] 陈惜燕,蒲鹏,康靖全,等.8 种食用菌游离氨基酸的组成及含量比较[J].西北农林科技大学学报(自然科版),2017,45(5):183-190
CHEN Xi-yan, PU Peng, KANG Jing-quan, et al. Comparison of composition and content of free amino acids in eight kinds of edible mushrooms [J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2017, 45(5): 183-190
- [17] Xiao X, Hou Y, Liu Y, et al. Classification and analysis of corn steep liquor by UPLC/Q-TOF MS and HPLC [J]. Talanta, 2013, 107: 344-348
- [18] 林忠宁,陈敏健,刘明香,等.金针菇菇脚和菌糠的氨基酸含量测定及营养评价[J].食药用菌,2012,20(1):56-59
LIN Zhong-ning, CHEN Min-jian, LIU Ming-xiang, et al. Determination and nutritional evaluation of amino acids in foot and mushroom bran of *Flammulina velutipes* [J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2012, 20(1): 56-59
- [19] Chen D W, Zhang M. Non-volatile taste active compounds in the meat of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 1200-1205
- [20] 陈德慰,苏键,刘小玲,等.广西北部湾 3 种贝类中主要呈味物质的测定及呈味作用评价[J].食品科学,2012,33(10):165-168
CHEN De-wei, SU Jian, LIU Xiao-ling, et al. Taste evaluation of non-volatile taste compounds in bivalve mollusks from Beibu Gulf, Guangxi [J]. Journal of Food Science, 2012, 33(10): 165-168
- [21] 张娜,袁信华,过世东.中华绒螯蟹不同部位游离氨基酸的测定与分析[J].天然产物研究与开发,2009,21(4):634-637, 644
ZHANG Na, YUAN Xin-hua, GUO Shi-dong. determination and analysis of free amino acids in different parts of eriocheir sinensis. milne-eswards [J]. Nat Prod Res Dev, 2009, 21(4): 634-637, 644
- [22] 沈雨佳,陆利霞,林丽军,等.酶解鲫鱼肉制取呈味氨基酸研究[J].中国调味品,2015,40(1):27-31,44
SHEN Yu-jia, LU Li-xia, LIN li-jun, et al. Study on preparation of flavor amino acids by enzymolysis of crucian carp meat [J]. China Condiment, 2015, 40(1): 27-31, 44
- [23] Fu D, Sun Y, Yu C, et al. Comparison of the effects of three types of aminobutyric acids on the control of *Penicillium expansum* infection in pear fruit [J]. J Sci Food Agric, 2017, 97(5): 1497-1501
- [24] Uehara, Hokazono, Hida, et al. GABA promotes elastin synthesis and elastin fiber formation in normal human dermal fibroblasts (HDFs) [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2017,

- 81(6): 1198-1205
- [25] Nishimura M, Yoshida S, Haramoto M, et al. Effects of white rice containing enriched gamma-aminobutyric acid on blood pressure [J]. *Tradit Complement Med*, 2015, 6(1): 66-71
- [26] 黄俊. 利用短乳杆菌制备 γ -氨基丁酸相关过程研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006
- HUANG Jun. Study on the related process of preparation of γ -aminobutyric acid using *Lactobacillus brevis* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006
- [27] 梁恒宇, 邓立康, 林海龙, 等. 新资源食品- γ -氨基丁酸(GABA)的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2013, 34(15): 119-123
- LIANG Heng-yu, DENG Li-kang, LIN Hai-long, et al. Research progress of new resource food- γ -aminobutanoic acid (GABA) [J]. *Food Research and Development*, 2013, 34(15): 119-123
- [28] 万红贵, 熊洋, 张建, 等. L-鸟氨酸产品开发与应用进展[J]. *中国酿造*, 2013, 32(1): 8-12
- WAN Hong-gui, XIONG Yang, ZHANG Jian, et al. Research progress in products exploitation and application of L-ornithine [J]. *China Brewing*, 2013, 32(1): 8-12
- [29] Sikorska H, Cianciara J, Wiercińska-Drapała A. Physiological functions of L-ornithine and L-aspartate in the body and the efficacy of administration of L-ornithine-L-aspartate in conditions of relative deficiency [J]. *Pol Merkur Lekarski*, 2010, 28(168): 490-495