

盐酸水解方法对鸡肉中氨基酸含量的影响

杜光英¹, 牛国一¹, 李富银¹, 王天武¹, 杨万进¹, 尹汝高凡¹, 陶冶²,
甘文斌³, 陶琳丽^{1*}

(1. 云南农业大学动物科学技术学院, 云南省动物营养与饲料重点实验室, 昆明 650201;
2. 云南省饲料工业协会, 昆明 650201; 3. 云南省兽药饲料检测所, 昆明 650201)

摘要: **目的** 研究盐酸水解过程中, 水解时间和添加巯基乙醇和苯酚保护剂对鸡肉中 18 种氨基酸含量的影响, 确定获得鸡肉氨基酸最高含量的盐酸水解方法。**方法** 以 30 个鸡胸肌(3 种鸡、每种 10 个)为实验对象, 设计 6 个水解时间, 研究盐酸水解时间对鸡肉样品中 18 种氨基酸含量的影响, 确定获得氨基酸最高含量的盐酸水解时间。在上述研究的基础上, 随机选择 6 个鸡胸肌(3 种鸡、每种 2 个)为实验对象, 设置 3 个水解时间, 研究巯基乙醇和苯酚对鸡肉样品中 18 种氨基酸含量的影响, 最终确定获得鸡肉中 18 种氨基酸最高含量的盐酸水解方法。**结果** 缬氨酸(valine, Val)和异亮氨酸(isoleucine, Ile)的最佳水解时间为 24 或 26 h, 两水解时间无显著性差异($P>0.05$); 其余 16 种氨基酸的最高含量均在水解 22 h 时; Ile 的含量在盐酸水解法水解 24 h 显著高于 20 和 22 h ($P<0.05$), 在苯酚+盐酸水解法水解 22 h 含量最高; 天冬氨酸(aspartate, Asp)的含量在巯基乙醇+盐酸水解法水解 22 h 显著高于 20 和 24 h ($P<0.05$), 在盐酸水解法水解 22 h 含量最高; 甘氨酸(glycine, Gly)、丙氨酸 (alanine Ala)、酪氨酸 (tyrosine, Tyr) 和苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)的含量在苯酚+盐酸水解法水解 22 h 显著高于 20 h ($P<0.05$), 但水解 22 与 24 h 之间无显著性差异($P>0.05$)。Gly 在苯酚+盐酸水解法水解 22 h 含量最高, Ala 在盐酸水解法水解 22 h 含量最高, Tyr 和 Phe 在巯基乙醇+盐酸水解法水解 22 h 含量最高; Val 在盐酸水解法水解 24 h 含量最高, 脯氨酸(proline, Pro)和赖氨酸(lysine, Lys)在苯酚+盐酸水解法水解 22 h 含量最高, 亮氨酸(leucine, Leu)在巯基乙醇+盐酸水解法水解 22 h 含量最高; 其余氨基酸在不同水解方法及水解时间中均无显著性差异($P>0.05$), 但都在盐酸水解法水解 22 h 时含量最高。**结论** 巯基乙醇和苯酚对鸡肉中的含硫氨基酸无保护作用, 获得鸡肉中 18 种氨基酸最高含量的盐酸水解方法是盐酸水解法水解 22 h。

关键词: 鸡肉; 氨基酸; 水解时间; 盐酸水解; 巯基乙醇; 苯酚

Effects of hydrochloric acid hydrolysis on amino acid content in chicken

DU Guang-Ying¹, NIU Guo-Yi¹, LI Fu-Yin¹, WANG Tian-Wu¹, YANG Wan-Jin¹, YIN Ru-Gao-Fan¹,
TAO Ye², GAN Wen-Bin³, TAO Lin-Li^{1*}

(1. Yunnan Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed, College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Yunnan Feed Industry Association, Kunming 650201, China; 3. Veterinary Drug and Feed Monitoring Station of Yunnan Province, Kunming 650201, China)

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760487)、云南省重大科技专项(2016ZA008)、云南省现代农业产业技术体系建设项目(2017KJTX0017)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31760487), the Major Science and Technology Special Project of Yunnan Province (2016ZA008), and the Modern Agricultural Industry Technology System Construction Project of Yunnan Province (2017KJTX0017)

*通信作者: 陶琳丽, 博士, 教授, 主要研究方向为动物营养与饲料科学、畜禽肉近红外检测。E-mail: tllkm@qq.com

*Corresponding author: TAO Lin-Li, Ph.D, Professor, Yunnan Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed, College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China. E-mail: tllkm@qq.com

ABSTRACT: Objective To study the effects of hydrolysis time and adding mercaptoethanol and phenol protectants on the content of 18 kinds of amino acids in chicken during hydrochloric acid hydrolysis, and to determine the method of hydrochloric acid hydrolysis, so as to obtain the highest content of amino acids in chicken. **Methods** Totally 30 chicken breast muscles (3 kinds of chickens, 10 of each) were selected as the experimental objects, 6 types of hydrolysis time were designed to study the effect of hydrochloric acid hydrolysis time on the content of 18 kinds of amino acids in chicken samples, and the hydrochloric acid hydrolysis time obtaining the highest content of amino acids was determined. On the basis of the above research, 6 chicken breast muscles (3 kinds of chicken, 2 of each) were randomly selected as the experimental objects, and 3 types of hydrolysis time were set to study the effect of mercaptoethanol and phenol on the content of 18 kinds of amino acids in chicken samples, and finally the hydrochloric acid hydrolysis method with the highest content of 18 kinds of amino acids in chicken was determined. **Results** The optimal hydrolysis time of valine (Val) and isoleucine (Ile) was 24 or 26 h, and there was no significant difference between the 2 types of hydrolysis time ($P>0.05$); the highest content of the other 16 kinds of amino acids was hydrolysis for 22 h; the content of Ile in hydrochloric acid hydrolysis for 24 h was significantly higher than that for 20 and 22 h ($P<0.05$), and it was the highest in phenol+hydrochloric acid hydrolysis for 22 h; the content of aspartate (Asp) was significantly higher in mercaptoethanol+hydrochloric acid hydrolysis for 22 h than for 20 and 24 h ($P<0.05$), and the content was the highest in hydrochloric acid hydrolysis for 22 h; the content of glycine (Gly), alanine (Ala), tyrosine (Tyr) and phenylalanine (Phe) in phenol+hydrochloric acid hydrolysis for 22 h was significantly higher than that for 20 h ($P<0.05$), but there was no significant difference between hydrolysis for 22 and 24 h ($P>0.05$). Gly had the highest content in phenol+hydrochloric acid hydrolysis for 22 h, Ala had the highest content in hydrochloric acid hydrolysis for 22 h, and Tyr and Phe had the highest content in mercaptoethanol+hydrochloric acid hydrolysis for 22 h; the content of Val was the highest in 24 h of hydrochloric acid hydrolysis, proline (Pro) and lysine (Lys) were the highest in 22 h of phenol+hydrochloric acid hydrolysis, and leucine (Leu) was the highest in 22 h of mercaptoethanol+hydrochloric acid hydrolysis; there was no significant difference in other amino acids in different hydrolysis methods and hydrolysis time ($P>0.05$), but the highest content was found in hydrochloric acid hydrolysis for 22 h. **Conclusion** Mercaptoethanol and phenol have no protective effect on sulfur-containing amino acids in chicken, and the hydrochloric acid hydrolysis method with the highest content of 18 kinds of amino acids in chicken is hydrochloric acid hydrolysis for 22 h.

KEY WORDS: chicken; amino acid; hydrolysis time; hydrochloric acid hydrolysis; mercaptoethanol; phenol

0 引言

鸡肉具有高蛋白、低脂肪、低能量和低胆固醇的特点^[1], 对人体营养成分的补充和机体的生命活动有积极的作用。鸡肉中丰富的蛋白质, 是动物组织和畜产品的重要组成部分。蛋白质的基本组成单位是氨基酸, 氨基酸含量是评价鸡肉营养价值的一项重要指标, 因此, 准确测定鸡肉中各氨基酸的含量对于判断鸡肉的营养价值尤为重要。但想要准确得到鸡肉中氨基酸的含量, 盐酸水解方法起到决定性作用^[2-3]。

目前, 氨基酸含量测定主要分为前处理和定量检测 2 部分。随着科学技术的发展, 定量部分已经充分实现仪器自动化。目前常用的方法有柱前衍生高效液相色谱

谱法^[4-5]、柱后衍生离子交换色谱法^[6-7]、近红外光谱法^[8-9]、毛细管电泳法^[10-11]、气相-质谱联用法^[12-13]和液相-质谱联用法^[14-15]。前处理方法也种类繁多, 包括酸水解法^[16-17]、碱水解法^[18-19]和保护含硫氨基酸的前处理方法^[20-21]。其中, 酸水解法主要有盐酸水解法和硫酸水解法, 盐酸水解法因盐酸易挥发、样品质量无要求且易得的特点^[22], 在大多数氨基酸检测中被广泛应用, 但盐酸水解法会将色氨酸(tryptophan, Trp)和含硫氨基酸部分破坏或完全破坏^[23-25]。现阶段, 氨基酸前处理的经典方法是 6 mol/L 盐酸在 110 °C 条件下水解 24 h, 但研究表明水解 24 h 会造成酪氨酸 (tyrosine, Tyr)、丝氨酸 (serine, Ser) 和苏氨酸 (threonine, Thr) 等氨基酸的损失^[22], 且缬氨酸 (valine, Val)、异亮氨酸 (isoleucine, Ile) 和亮氨酸

(leucine, Leu)的肽键很难被水解开^[26], 要延长水解时间, 才能获得这几种氨基酸的最高产量。此外, 为了减少含硫氨基酸的损失, 还可以在盐酸水解液中添加保护剂, 如苯酚、巯基乙酸、巯基乙醇、吡啶或色胺等, 降低含硫氨基酸的损失^[27]。其中, 苯酚和巯基乙醇的保护效果较好。

ROWAN 等^[28]、ALBIN 等^[29]与钱爱萍等^[30]、徐洁等^[31]的研究表明, 目前在氨基酸水解时间和前处理方法的研究, 多以饲料原料或饲料为研究对象, 以鸡肉为研究对象的尚未发现。本研究以 30 个鸡胸肌(3 种鸡、每种 10 个)为实验对象, 设计 6 个水解时间, 研究盐酸水解时间对鸡肉样品中 18 种氨基酸含量的影响, 确定获得氨基酸最高含量的盐酸水解时间。在上述研究的基础上, 随机选择 6 个鸡胸肌(3 种鸡、每种 2 个)为实验对象, 设置 3 个水解时间, 研究巯基乙醇和苯酚对鸡肉样品中 18 种氨基酸含量的影响, 最终确定获得鸡肉中 18 种氨基酸最高含量的盐酸水解方法, 以期今后鸡肉中氨基酸检测的精确性提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选择 42 日龄白羽肉鸡 10 只、300 日龄左右的瓢鸡和茶花鸡各 10 只, 取其胸肌, 制成冻干粉, 备用。

1.2 实验试剂

氨基酸标准物质(优级纯, 中国食品药品检定研究院); 异硫氰酸苯酯[色谱纯, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; 乙腈[色谱纯, 霍尼韦尔贸易(上海)有限公司]; 无水乙酸钠(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 三乙胺(优级纯, 天津市光复精细化工研究所); 盐酸(分析纯, 成都市科隆化学品有限公司); 苯酚(分析纯, 天津市化学试剂三厂)。

1.3 仪器与设备

LC-20AT 高效液相色谱仪(日本岛津公司); GW0303 超声清洗机(深圳市冠博科技实业有限公司); FD-1A-50 冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); PX224ZH 电子天平[奥豪斯仪器(常州)有限公司]; HH-S26S 数显恒温水浴锅(金坛市大地自动化仪器厂)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验设计

以 30 个鸡胸肌(3 种鸡、每种 10 个)为实验对象, 设计 6 个水解时间, 研究盐酸水解时间对鸡肉样品中 18 种氨基酸含量的影响, 确定获得氨基酸最高含量的盐酸水解时

间。在上述研究的基础上, 随机选择 6 个鸡胸肌(3 种鸡、每种 2 个)为实验对象, 设置 3 个水解时间, 研究巯基乙醇和苯酚对鸡肉样品中 18 种氨基酸含量的影响, 最终确定获得鸡肉中 18 种氨基酸最高含量的盐酸水解方法。

1.4.2 样品前处理

(1) 盐酸水解法

称取 0.3 g 左右冻干粉样品, 完全转移至 10 mL 安瓿瓶中, 加入 10 mL 6 mol/L 盐酸溶液, 封口, 置于 110 °C 烘箱中水解, 水解时间按试验设计进行。水解完成后, 将水解液完全转移至石英坩埚内, 70 °C 水浴蒸干, 加入 1 mL 0.02 mol/L 的盐酸, 溶解后继续水浴蒸干。使用 0.02 mol/L 的盐酸稀释, 最后转移定容至 100 mL 容量瓶中。

(2) 巯基乙醇+盐酸水解法

称取 0.3 g 左右冻干粉样品, 完全转移至 10 mL 安瓿瓶中, 加入 10 mL 含 0.5% (V:V) 巯基乙醇的 6 mol/L 盐酸溶液, 其余步骤同盐酸水解。

(3) 苯酚+盐酸水解法

称取 0.3 g 左右冻干粉样品, 完全转移至 10 mL 安瓿瓶中, 加入 10 mL 含 0.1% 苯酚的 6 mol/L 盐酸溶液, 其余步骤同盐酸水解。

1.4.3 氨基酸定量检测

此部分采用博纳艾科技推出的异硫氰酸苯酯柱前衍生高效液相色谱法, 使用该公司配套的氨基酸分析柱和洗脱程序。配制 18 种氨基酸的标准溶液: 天冬氨酸(aspartate, Asp)、谷氨酸(glutamic acid, Glu)、Ser、甘氨酸(glycine, Gly)、组氨酸(histidine, His)、精氨酸(arginine, Arg)、Thr、丙氨酸(alanine Ala)、脯氨酸(proline, Pro)、Tyr、Val、甲硫氨酸(methionine, Met)、Ile、Leu、苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)、赖氨酸(lysine, Lys)的浓度为 2.5 μmol/mL, (Cys)₂ 和 Cys 的浓度为 1.25 μmol/mL。

1.4.4 计算公式

向色谱柱内注入氨基酸标准溶液和样品溶液, 经检测得到色谱峰面积的响应值, 样品的峰面积记为 f_1 , 标准品的峰面积记为 f_2 。样品溶液中各种氨基酸浓度计算公式如公式(1)。

$$C_{AA} = f_1 / f_2 \times C \quad (1)$$

式中: C_{AA} 为样品溶液中各种氨基酸浓度, μg/mL; f_1 为样品溶液中各氨基酸峰面积/内标峰面积; f_2 为混合氨基酸标准溶液中各氨基酸峰面积/内标峰面积; C 为氨基酸对照品浓度, μg/mL。

$$\text{样品氨基酸百分比含量}(\%) = C_{AA} \times V \times 10^{-6} \times 100 / m$$

式中: V 为样品定容体积, mL; m 为样品质量(样品为绝干样), μg。

1.5 数据处理

所有数据均由 Excel 建立数据库, 数据用统计软件

SPSS 25.0 进行单因素方差分析,若差异显著,用 Duncan's 法进行多重比较,统计显著水平为 $P < 0.05$,结果以平均值 \pm 标准偏差来表示。

2 结果与分析

2.1 不同水解时间对鸡肉中 18 种氨基酸含量的影响

蛋白质水解是氨基酸含量测定中最重要的步骤,其中,水解时间不同使得氨基酸含量有细微差异。水解时间过短,氨基酸未被完全水解释放出来,水解时间过长,先水解的氨基酸水解过度,使得氨基酸的含量降低。ALBIN 等^[29]以不同年份的 2 种豆粕为研究对象,研究 10 个不同水解时间(0~72 h)的氨基酸含量变化得出: Asp、Glu、Gly、His、Thr、Ala、Arg、Pro、Tyr、Leu、Phe 和 Lys 的含量在 16~72 h 含量差异不大; Ser 的含量在 10 h 时最高,10~72 h 呈明显的下降趋势; Val 的含量在水解 32 h 时达到最高,其后 2 种豆粕氨基酸含量的变化呈相反趋势; 2 种豆粕中 Ile 的含量分别在水解 24、32 h 时含量最高,其后呈下降趋势。18 种氨基酸标准图谱见图 1,根据此计算各氨基酸含量,结果如表 1 所示。本研究中 Ser 在水解 16、18、20、22 h 时无显著差异($P > 0.05$),在 22 h 时含量最高,其后呈下降趋势; Val 与 Ile 在水解 24 与 26 h 时含量最高,且两水解时间点无显著差异性($P > 0.05$); 其他各氨基酸均在水解 22 h 时含量达到了最高,在水解 24 h 时均会产生一定量的损耗。这与上述结果部分一致,这可能是蛋白源和水解时间间隔时长的不同导致的差异; Val 与 Ile 在水解过程中释放缓慢,随水解时间的增加,Val 与 Ile 的含量将会不断增加,需增加水解时间间隔,才能判断其最佳水解时间。因此,单一的水解时间不能将所有氨基酸精准定量。DARRAGH 等^[32]进行水解时间对氨基酸分析的影响中也得出类似观点。此外,ROWAN 等^[28]和 FRANTISEK 等^[33]研究结果也表明在水解 24 h 时, Ser 会有部分损失, Val 和 Ile 则需要更长的水解时间才能获得最大产量。因此,在水解一次的条件下,并不能获得所有氨基酸的最大水解量。此外,FRANTISEK 等^[33]研究还观察到加工奶酪中某些氨基酸的损失率和脂肪含量存在依赖性。这说明了氨基酸的含量还可能受到样品中的其他成分的影响,不同样品的最佳水解时间并不相同。因此研究水解时间对鸡肉样品的影响,也要考虑到鸡肉样品中其他成分的影响(脂肪、微量元素等)。

2.2 保护剂对鸡肉中 18 种氨基酸含量的影响

在盐酸水解中 Cys 和 $(Cys)_2$ 易被破坏, Met 易被氧化成蛋氨酸砷,这均会导致含硫氨基酸的测定不准确。巯基乙醇和苯酚具有抗氧化、还原的功能,可保护含硫氨基酸硫氢键和巯基,防止硫氢键和巯基被氧化,提高含

硫氨基酸的检测含量。李玉玲^[34]研究了苯酚与巯基乙醇对奶粉标准品酸水解含硫氨基酸检测的影响得出,添加苯酚会使 Met 得到较好的回收率,但不添加苯酚对 $(Cys)_2$ 的回收效果更好。与添加 0.5% 巯基乙醇相比,添加苯酚 Met 的回收率更佳,但 Cys 回收率很低,说明巯基乙醇具有一定的还原作用,但还原效果不佳。钱爱萍等^[30]研究表明,在饲料样品中加入 0.5% 的巯基乙醇对含硫氨基酸具有保护作用,含硫氨基酸的含量明显升高,同时对其他氨基酸的含量均有不同程度的保护,与徐洁等^[31]研究结果一致。

如图 2 所示,本研究通过将盐酸水解法、巯基乙醇+盐酸水解法和苯酚+盐酸水解法对比分析发现, Ile 和 Val 的含量在盐酸水解法中呈现逐渐上升的趋势, Cys 的含量在巯基乙醇+盐酸水解法呈现先下降后上升的趋势,其余氨基酸在不同水解方法中,均呈先上升后下降的趋势。其中, Gly、Pro、Ile 和 Lys 在苯酚+盐酸水解法水解 22 h 含量最高; Tyr、Leu 和 Phe 在巯基乙醇+盐酸水解法水解 22 h 含量最高; Val 在盐酸水解法水解 24 h 含量最高; 其余氨基酸都在盐酸水解法水解 22 h 时含量最高。对含硫氨基酸而言, Met 在盐酸水解法和苯酚+盐酸水解法的效果比巯基乙醇+盐酸水解法的效果更佳,且 2 种方法在各个时间点水解的 Met 含量变化不大($P > 0.05$),这说明盐酸水解法和苯酚保护法是 Met 的最佳盐酸水解方法。Met 的含量在 20、22、24 h 均保持相对稳定的状态,但在盐酸水解法水解 22 h 时含量最高; Cys 在盐酸水解法水解 22 h 和巯基乙醇+盐酸水解法水解 24 h 时效果最佳,但在盐酸水解法水解 22 h 时含量最高,这说明巯基乙醇对 Cys 的还原能力很弱。因此,针对鸡肉中的含硫氨基酸而言,获得最高含硫氨基酸的方法是盐酸水解法水解 22 h,这与李玲玉^[34]、钱爱萍等^[30]和徐洁等^[31]研究结果均不一致,这可能是苯酚与巯基乙醇对鸡肉氨基酸的保护效果不同导致的。

此外,巯基乙醇+盐酸水解法和苯酚+盐酸水解法对其他氨基酸也存在一定的保护效果,如 Gly、Pro、Tyr、Ile、Leu、Phe 和 Lys (如图 2 所示),但大多数氨基酸最高含量的盐酸水解方法是盐酸水解法水解 22 h。并且,本研究无论哪种前处理方法均测定出微量的 $(Cys)_2$,与李洪潮等^[35]和乔通通等^[36]未检出 $(Cys)_2$ 含量的研究结果不一致,导致这种结果的原因可能是 2 种研究的研究对象和采用的定量方法不一致。ALBIN 等^[29]研究发现,与柱前衍生高效液相色谱法相比,尽管柱后衍生离子交换色谱法能提供类似的结果,但 2 种方法并不能总是提供相似的浓度。因此,柱前衍生高效液相色谱法更为灵敏,对于测定某些微量氨基酸的含量应采用柱前衍生高效液相色谱法进行测定。

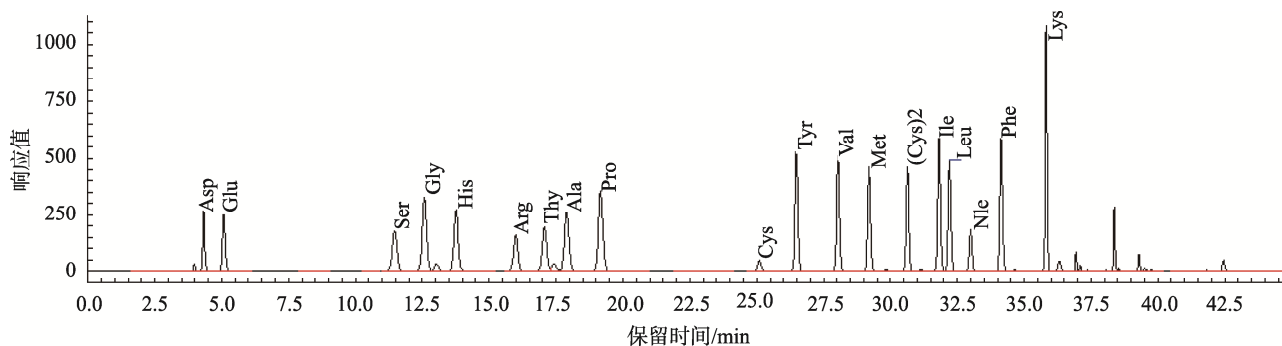


图 1 18 种氨基酸标准图谱

Fig.1 Standard atlas of 18 kinds of amino acids

表 1 不同水解时间对鸡肉中 18 种氨基酸含量的影响(绝干样, %, n=30)

Table 1 Effects of different hydrolysis time on the content of 18 kinds of amino acids in chicken (dry sample, %, n=30)

	水解时间/h					
	16	18	20	22	24	26
Asp	10.12±0.58 ^{bc}	10.23±0.64 ^{abc}	10.35±0.64 ^{ab}	10.50±0.64 ^a	10.18±0.51 ^{abc}	9.99±0.52 ^c
Glu	12.15±0.66 ^b	12.30±0.74 ^{ab}	12.40±0.75 ^{ab}	12.60±0.76 ^a	12.30±0.67 ^{ab}	12.04±0.66 ^b
Ser	3.15±0.20 ^{ab}	3.18±0.24 ^{ab}	3.18±0.23 ^{ab}	3.24±0.25 ^a	3.08±0.21 ^{bc}	3.01±0.19 ^c
Gly	3.15±0.18 ^b	3.17±0.18 ^b	3.22±0.18 ^{ab}	3.27±0.18 ^a	3.23±0.18 ^{ab}	3.14±0.19 ^b
His	3.00±0.23	3.02±0.24	3.04±0.23	3.15±0.30	3.11±0.31	2.99±0.37
Arg	6.96±0.32 ^c	7.13±0.40 ^{bc}	7.24±0.39 ^{ab}	7.36±0.39 ^a	7.22±0.36 ^{ab}	7.09±0.36 ^{bc}
Thr	3.30±0.20 ^{bc}	3.38±0.24 ^{abc}	3.41±0.22 ^{ab}	3.48±0.24 ^a	3.34±0.21 ^{bc}	3.28±0.20 ^c
Ala	4.82±0.18 ^{bc}	4.88±0.25 ^{abc}	4.91±0.26 ^{ab}	4.98±0.27 ^a	4.88±0.21 ^{abc}	4.76±0.20 ^c
Pro	2.21±0.17	2.18±0.20	2.21±0.21	2.22±0.19	2.22±0.19	2.15±0.19
Tyr	2.33±0.16 ^b	2.36±0.14 ^{ab}	2.40±0.14 ^{ab}	2.44±0.14 ^a	2.40±0.15 ^{ab}	2.33±0.15 ^b
Val	2.94±0.14 ^c	3.12±0.15 ^d	3.27±0.14 ^c	3.32±0.14 ^{bc}	3.40±0.15 ^a	3.36±0.16 ^{ab}
Met	2.10±0.11 ^b	2.13±0.12 ^{ab}	2.15±0.11 ^{ab}	2.18±0.11 ^a	2.13±0.11 ^{ab}	2.09±0.12 ^b
(Cys) ₂	0.01±0.02	0.02±0.02	0.01±0.02	0.02±0.02	0.01±0.02	0.02±0.02
Cys	0.44±0.14	0.45±0.14	0.46±0.14	0.46±0.16	0.41±0.10	0.42±0.12
Ile	3.12±0.19 ^d	3.33±0.19 ^c	3.50±0.17 ^b	3.55±0.18 ^{ab}	3.65±0.20 ^a	3.61±0.22 ^a
Leu	5.96±0.28 ^c	6.06±0.31 ^{bc}	6.17±0.30 ^{ab}	6.27±0.32 ^a	6.17±0.32 ^{ab}	6.02±0.34 ^{bc}
Phe	2.60±0.14 ^c	2.65±0.14 ^{bc}	2.71±0.12 ^{ab}	2.75±0.13 ^a	2.72±0.14 ^{ab}	2.66±0.15 ^{bc}
Lys	7.70±0.36 ^b	7.87±0.43 ^{ab}	8.00±0.42 ^a	8.09±0.42 ^a	8.04±0.42 ^a	7.86±0.45 ^{ab}
TAA	76.05±3.40 ^c	77.44±3.92 ^{bc}	78.63±3.81 ^{ab}	79.89±3.87 ^a	78.50±3.62 ^{ab}	76.82±3.68 ^{bc}

注: a~e 同行小写字母不同表示差异显著(P<0.05), 字母相同表示差异不显著(P>0.05), 图 2 同。

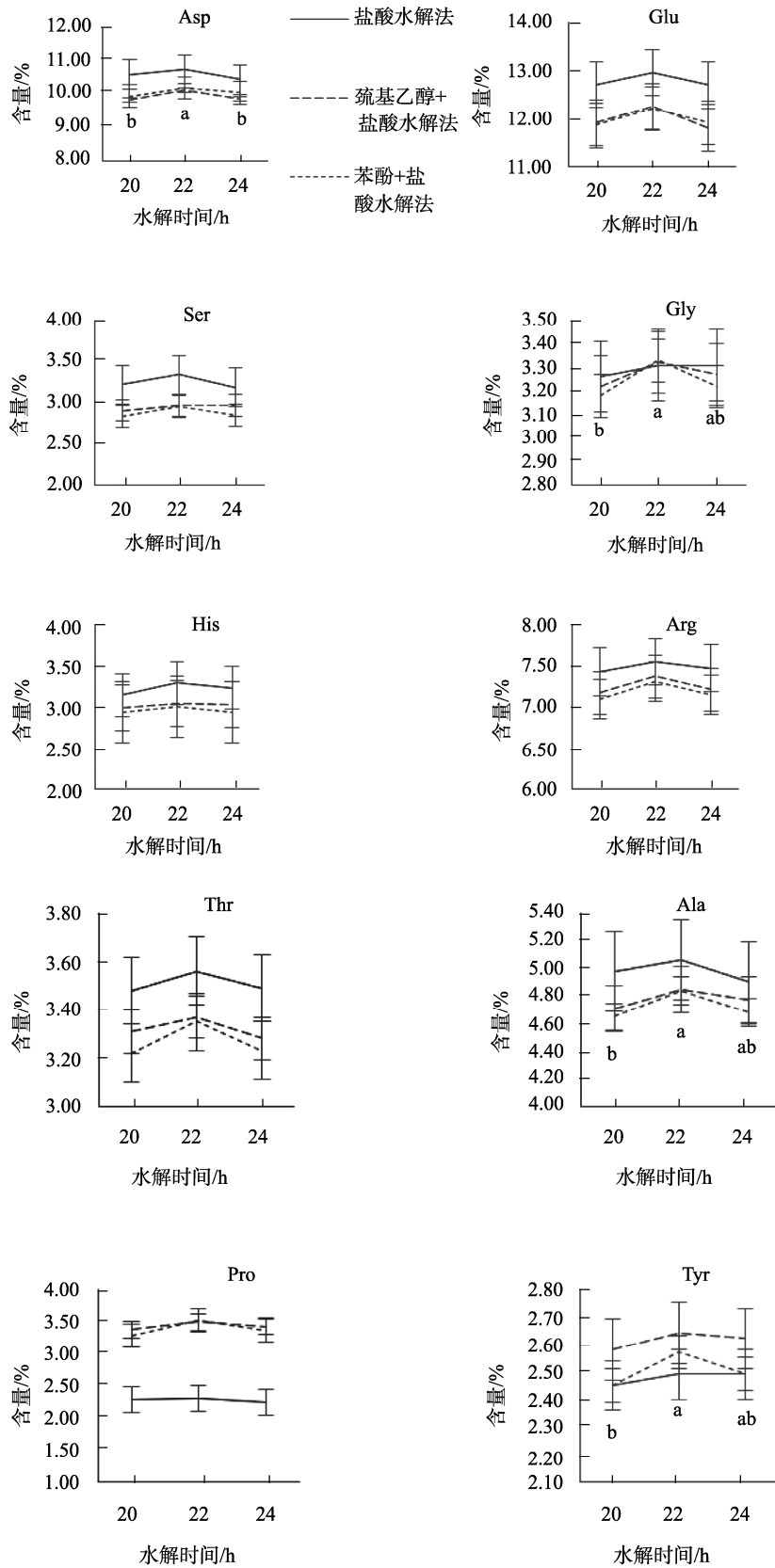


图 2 保护剂对鸡肉中 18 种氨基酸含量的影响(绝干样, %, n=6)

Fig.2 Effects of protectant on the content of 18 kinds of amino acids in chicken (dry sample, %, n=6)

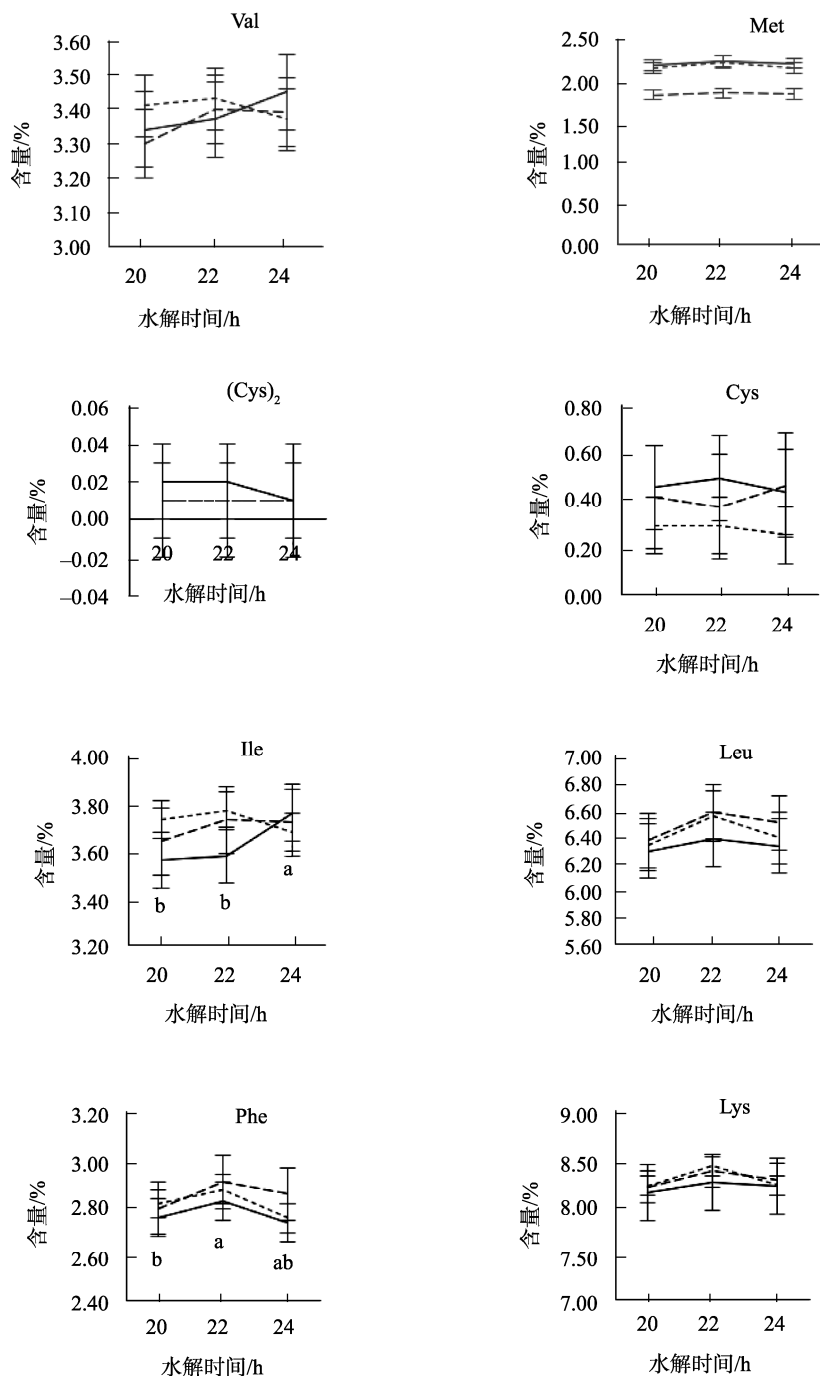


图 2(续) 18 种氨基酸含量的影响(绝干样, %, n=6)

Fig.2 Effects of protectant on the content of 18 kinds of amino acids in chicken (dry sample, %, n=6)

3 结 论

本研究对盐酸水解过程中, 水解时间和添加巯基乙醇和苯酚保护剂对鸡肉中 18 种氨基酸含量的影响进行了研究。本研究条件下可得出: 结合盐酸水解法、巯基乙醇+盐酸水解法、苯酚+盐酸水解法和各水解时间下的氨基酸含量来看, 巯基乙醇和苯酚对鸡肉中的含硫氨基酸无保护

作用, 获得鸡肉中 18 种氨基酸最高含量的盐酸水解方法是盐酸水解法水解 22 h。研究结果可为今后鸡肉中氨基酸检测的精确性提供科学依据。

参考文献

[1] 瞿丞, 贺雅非, 李少博, 等. 我国肉鸡生产加工现状与发展趋势[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(8): 258-266.

- QU C, HE ZF, LI SB, *et al.* Current status and development trend of processing and producing broilers in China [J]. *Food Ferment Ind*, 2019, 45(8): 258–266.
- [2] 陈超, 姜涛, 胡建蓉, 等. 一种氨基酸快速水解方法[J]. *粮油仓储科技通讯*, 2020, 36(6): 39–41.
CHEN C, JIANG T, HU JR, *et al.* A method for rapid hydrolysis of amino acids [J]. *Grain Oil Storage Technol Newslett*, 2020, 36(6): 39–41.
- [3] 孙蕊, 贾鹏禹, 寇芳, 等. 牛血清中游离氨基酸的检测方法研究进展[J]. *科学技术创新*, 2018, (10): 55–56.
SUN R, JIA PY, KOU F, *et al.* Research progress of detection methods of free amino acids in bovine serum [J]. *Sci Technol Innov*, 2018, (10): 55–56.
- [4] 卢彬, 付铭, 范蕊, 等. 柱前衍生反相高效液相色谱法测定新疆特色食品饅中氨基酸含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(2): 713–720.
LU B, FU M, FAN R, *et al.* Determination of amino acids in Xinjiang special food Nang by reversed-phase high performance liquid chromatography with pre-column derivatization [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(2): 713–720.
- [5] 黄丽佳, 吴双凤, 邓亮, 等. 高效液相色谱法同时测定新鲜烟叶中 17 种氨基酸含量[J]. *昆明学院学报*, 2020, 42(6): 26–29.
HUANG LJ, WU SF, DENG L, *et al.* Contents determination of 17 amino acids in fresh tobacco leaves by high performance liquid chromatography [J]. *J Kunming Univ*, 2020, 42(6): 26–29.
- [6] 刘长蛟, 杨越越, 王妮, 等. 茚三酮比色法测定黄秋葵氨基酸含量的不确定度评定[J]. *粮食与油脂*, 2019, 32(9): 92–95.
LIU CJ, YANG YY, WANG N, *et al.* Uncertainty evaluation for determining amino acids' content in okra by ninhydrin colorimetric method [J]. *Cere Oils*, 2019, 32(9): 92–95.
- [7] FA Y, LIU Y, XU A, *et al.* Color and alcohol removal for the simultaneous detection of amino acids and sugars in wine by two-dimensional ion chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1063: 36–41.
- [8] YU H, LIU H, ERASMUS SW, *et al.* Rapid high-throughput determination of major components and amino acids in a single peanut kernel based on portable near-infrared spectroscopy combined with chemometrics [J]. *Ind Crops Prod*, 2020, 158: 112956.
- [9] 樊霞, 姜训鹏, 贾铮, 等. 玉米干全酒精糟氨基酸的近红外检测研究[J]. *饲料工业*, 2020, 41(10): 50–54.
FAN X, JIANG XP, JIA Z, *et al.* Application of near infrared reflectance spectroscopy in analyzing amino acids in maize DDGS [J]. *Feed Ind*, 2020, 41(10): 50–54.
- [10] HIRAYAMA A, SOGA T. Amino acid analysis by capillary electrophoresis-mass spectrometry [J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 828: 307–313.
- [11] 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.
WEN J, LI W, YANG J. Application of capillary electrophoresis in the determination of amino acids [J]. *Light Ind Sci Technol*, 2020, 36(2): 111–113, 132.
- [12] WANG J, LIU SM, LONG J, *et al.* Derivatization method for the determination of amino acids in tobacco by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Anal Chem*, 2020, 75(8): 1046–1053.
- [13] HUANG Z, LONG S, SHA YF, *et al.* Determination of free amino acids in tobacco using silylation derivatization followed by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2017, 36(11): 1341–1346.
- [14] 孙慧娟, 王瑞, 宋芊芊, 等. 基于超快速液相色谱-质谱联用技术检测药食两用薄荷中氨基酸和核苷类成分[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(8): 261–266.
SUN HJ, WANG R, SONG QQ, *et al.* The analysis of amino acid and nucleoside components in medicinal and edible *Mentha haplocalyx* based on UFLC-MS/MS technology [J]. *Food Ferment Ind*, 2020, 46(8): 261–266.
- [15] 黄元礼, 柯林楠, 李常坤, 等. 液相质谱联用法同时检测体外生殖培养液中的 18 种氨基酸[J]. *中国组织工程研究*, 2018, 22(18): 2915–2920.
HUANG YL, KE LN, LI CK, *et al.* Simultaneous determination of 18 different amino acids in *in vitro* fertilization medium by ultra-high performance liquid chromatography–tandem mass-spectrometry [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2018, 22(18): 2915–2920.
- [16] 李磊, 张权, 刘文政, 等. 酸水解法测定大米中 17 种氨基酸的含量[J]. *微量元素与健康研究*, 2020, 37(1): 2.
LI L, ZHANG Q, LIU WZ, *et al.* The contents of 17 kinds of amino acids in rice were determined by acid hydrolysis [J]. *Study Trace Elem Health*, 2020, 37(1): 2.
- [17] 陈文, 王湘君, 赵阳, 等. 酸水解-全自动氨基酸分析仪测定方格星虫中氨基酸[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(3): 299–304.
CHEN W, WANG XJ, ZHAO Y, *et al.* Determination of amino acids from *Sipunculus nudus* by acid hydrolysis-automatic amino acid analyzer [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2017, 38(3): 299–304.
- [18] DARIO MF, FREIRE TB, PINTO C, *et al.* Tryptophan and kynurenine determination in human hair by liquid chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2017, 1065-1066: 59–62.
- [19] 别梅, 孙立臻, 王骏, 等. 液相色谱内标法测定婴幼儿配方食品中色氨酸含量[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(17): 272–276.
BIE M, SUN LZ, WANG J, *et al.* Determination of tryptophan in infant formula by HPLC internal standard method [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, 47(17): 272–276.
- [20] 贺习文, 李宏, 高勤叶, 等. 常规水解法和氧化水解法对饲料及饲料原料中含硫氨基酸测定结果的比较分析[J]. *饲料博览*, 2019, (4): 46–50.
HE XW, LI H, GAO QY, *et al.* Comparison and analysis of determination results of sulfur-containing amino acids in feed and feed materials by conventional hydrolysis and oxidative hydrolysis [J]. *Feed Rev*, 2019, (4): 46–50.
- [21] 叶颖慧, 别致, 唐凌轩, 等. 食品中含硫氨基酸含量测定前处理条件的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2021, (8): 236–242.
YE YH, BIE Z, TANG LX, *et al.* Pretreatment conditions for determination of sulfur-containing amino acid in food [J]. *Food Ferment Ind*, 2021, (8): 236–242.
- [22] 周梦怡, 马小芳. 氨基酸分析前处理水解技术比较研究[J]. *实验室科学*, 2018, 21(5): 75–78.
ZHOU MY, MA XF. Comparative study on pretreatment hydrolysis techniques for amino acid analysis [J]. *Lab Sci*, 2018, 21(5): 75–78.
- [23] SHAHEEN N, ISLAM S, MUNMUN S, *et al.* Amino acid profiles and digestible indispensable amino acid scores of proteins from the prioritized

- key foods in Bangladesh [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 213(15): 83–89.
- [24] 熊南安, 董滨, 戴晓虎. 反向高效液相色谱法检测污泥中含硫氨基酸 [J]. *中国环境科学*, 2017, 37(12): 4614–4619.
XIONG NAN, DONG B, DAI XH. Determination of sulfur amino acids in sludge by RP-HPLC [J]. *China Environ Sci*, 2017, 37(12): 4614–4619.
- [25] 宋洁, 王丽芳, 姚一萍, 等. 饲料中色氨酸测定方法研究进展 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2021, 42(1): 45–50.
SONG J, WANG LF, YAO YP, *et al.* Research progress in determination techniques of tryptophan in feed [J]. *Anim Husband Feed Sci*, 2021, 42(1): 45–50.
- [26] MASUDA A, DOHMAE N. Amino acid analysis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2019, 82(21): 8939–8945.
- [27] 丁永胜, 牟世芬. 氨基酸的分析方法及其应用进展 [J]. *色谱*, 2004, (3): 210–215.
DING YS, MU SF. Development of analytical methods for amino acids and their applications [J]. *Chin J Chromatogr*, 2004, (3): 210–215.
- [28] ROWAN AM, MOUGHAN PJ, WILSON MN. Effect of hydrolysis time on the determination of the amino acid composition of diet, ileal digesta, and feces samples and on the determination of dietary amino acid digestibility coefficients [J]. *Appl Spectrosc*, 1992, 35(2): 272–279.
- [29] ALBIN DM, WUBBEN JE, GABERT VM. Effect of hydrolysis time on the determination of amino acids in samples of soybean products with ion-exchange chromatography or precolumn derivatization with phenyl isothiocyanate [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 48(5): 1684–1691.
- [30] 钱爱萍, 徐洁. 饲料中含硫氨基酸测定前处理方法探讨 [J]. *福建农业科技*, 1999, (1): 18–20.
QIAN AIP, XU J. Discussion on pretreatment method for determination of sulfur-containing amino acids in feed [J]. *Fujian Agric Sci Technol*, 1999, (1): 18–20.
- [31] 徐洁, 钱爱萍. 提高饲料中含硫氨基酸回收率的前处理方法 [J]. *福建分析测试*, 1996, (4): 583–587.
XU J, QIAN AIP. Pretreatment method for improving the recovery rate of sulfur-containing amino acids in feed [J]. *Fujian Anal Test*, 1996, (4): 583–587.
- [32] DARRAGH AJ, MOUGHAN PJ. The effect of hydrolysis time on amino acid analysis [J]. *J AOAC Int*, 2005, 88(3): 888–893.
- [33] FRANTISEK B, OLDRICH K, ALENA V, *et al.* Effect of acid hydrolysis time on amino acid determination in casein and processed cheeses with different fat content [J]. *J Food Compost Anal*, 2009, 22(3): 224–232.
- [34] 李玉玲. 奶粉中含硫氨基酸的分析与检测 [D]. 太原: 山西大学, 2012.
LI YL. Analysis and detection of sulfur-containing amino acids in milk powder [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2012.
- [35] 李洪潮, 常征, 丁长春, 等. 32 种石斛属植物的氨基酸分析及营养价值评定 [J]. *文山学院学报*, 2020, 33(3): 5–11.
LI HC, CHANG Z, DING CC, *et al.* Nutritional value evaluation of protein in *Dendrobium* SW [J]. *J Wenshan Univ*, 2020, 33(3): 5–11.
- [36] 乔通通, 薛菊兰, 何引, 等. 和田红葡萄汁熬煮过程中游离氨基酸检测与分析 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(16): 5663–5667.
QIAO TT, XUE JL, HE Y, *et al.* Detection and analysis of free amino acids during the cooking process of Hetian red grape juice [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(16): 5663–5667.

(责任编辑: 李磅礴 郑 丽)

作者简介



杜光英, 硕士研究生, 主要研究方向为家禽营养与品质。
E-mail: 2664947236@qq.com



陶琳丽, 博士, 教授, 主要研究方向为动物营养与饲料科学、畜禽肉近红外检测。
E-mail: tllkm@qq.com