

超高效液相色谱-串联质谱法测定酸笋中 多种游离氨基酸含量

武 源*, 覃慧丽, 陈荣珍, 刘永逸, 林 华

(柳州市质量检验检测研究中心, 柳州 545036)

摘 要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定柳州螺蛳粉原料酸笋中苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸等 16 种游离氨基酸含量的方法。**方法** 匀浆后的样品用水作为溶剂超声提取、离心过滤后, 采用 BEH Amide 色谱柱分离, 经甲酸铵水溶液-乙腈体系梯度洗脱, 超高效液相色谱-串联质谱仪以正离子扫描, 多反应监测模式进行检测。**结果** 建立的测定方法对各氨基酸分离效果及峰型良好, 在 0.5~10.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性范围内, 相关系数(r)均大于 0.998, 16 种氨基酸在各自质量浓度范围内均呈现良好线性关系, 方法检出限 0.23~4.59 mg/kg。样品在 3 个添加水平(25、50、100 mg/kg)的平均加标回收率为 78.1%~114.4%, 相对标准偏差 0.7%~6.6%。测定部分预包装柳州螺蛳粉生产厂采样的酸笋原料, 各氨基酸含量为 0~625.8 mg/kg。**结论** 该方法简便快捷、测定高效, 可用于酸笋的多种氨基酸含量分析测定。

关键词: 超高效液相色谱-串联质谱法; 氨基酸; 酸笋; 柳州螺蛳粉

Determination of multiple free amino acids in fermented bamboo shoots by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WU Yuan*, QIN Hui-Li, CHEN Rong-Zhen, LIU Yong-Yi, LIN Hua

(Liuzhou Quality Inspection and Testing Research Center, Liuzhou 545036, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination the 16 kinds of free amino acids such as phenylalanine, leucine and isoleucine in fermented bamboo shoots of Liuzhou river snails rice noodle by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** After homogenization, the samples were extracted by ultrasonic extraction with water as solvent, filtered by centrifugation, and separated by BEH Amide column. The samples were eluted by gradient elution of ammonium formate aqueous solution and acetonitrile system, and detected by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with positive ion scanning and multiple reaction monitoring. **Results** The established determination method in this experiment showed good separation and shape of peak for each amino acid, good linear relationships in the range of 0.5–10.0 $\mu\text{g/mL}$, and the correlation coefficients (r) were greater than 0.998, the limits of detection were 0.23–4.59 mg/kg. The average recoveries of the samples at three addition levels (25, 50, 100 mg/kg) were 78.1%–114.4%, and the relative standard

基金项目: 中央引导地方科技发展专项资金项目(桂科 ZY19183022)、柳州市科技计划项目(2019BK10601、2020NCBA0801)

Fund: Supported by the Special Fund Project for Guiding Local Scientific and Technological Development by the Central Government (ZY19183022), and the Liuzhou Science and Technology Planning Project (2019BK10601, 2020NCBA0801)

***通信作者:** 武源, 硕士, 主管药师, 主要研究方向为兽药残留与食品理化分析检测。E-mail: 910219256@qq.com

***Corresponding author:** WU Yuan, Master, Pharmacist, Liuzhou Quality Inspection and Testing Research Center, Yanghe Industrial District, Liuzhou 545036, China. E-mail: 910219256@qq.com

deviations were 0.7%–6.6%. The raw fermented bamboo shoots samples taken from several prepacked Liuzhou river snails rice noodle manufacturers were tested with the method, and the amino acids content were 0–625.8 mg/kg.

Conclusion The method is simple, rapid and efficient. It can be used for the analysis and determination of various amino acids in fermented bamboo shoots.

KEY WORDS: ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; amino acids; fermented bamboo shoots; Liuzhou river snails rice noodle

0 引言

柳州螺蛳粉是广西壮族自治区柳州市街头巷尾随处可见的地方特色小吃。在以工业化理念促产品发展的思想指导下,柳州第一家预包装螺蛳粉企业于 2014 年诞生。得到现代食品生产技术赋能后,柳州螺蛳粉冲破了“现煮堂食”的场景限制,得以在全国市场迅速推广流通^[1–3]。螺蛳粉具有“酸、辣、鲜、爽”的特点,其浓郁而独特的风味,与其中添加的酸笋原料密不可分^[4–6]。

酸笋在发酵过程中会产生种类丰富的氨基酸,测定其中氨基酸成分组成和含量,对不同产地产品的风味差异比较、发酵过程的深入研究、发酵工艺的创新开发和指导柳州螺蛳粉的相关原料规范化标准化生产等工作具有重要意义^[7–8]。

目前检测氨基酸的常规方法有茚三酮衍生紫外分光光度法^[9]、毛细管电泳检测紫外测定法^[10]、衍生-电位传感法^[11]、柱前衍生高效液相色谱法^[12]、柱后衍生-高效液相色谱法^[13]、柱后衍生-阳离子交换色谱法^[14]、液相色谱-串联质谱法^[15]等。其中,作为食品安全国家标准的茚三酮柱后衍生离子交换色谱法(氨基酸分析法)在食品中氨基酸测定方面具有广泛的应用,也是多数食品检验检测机构最为常用的氨基酸检测技术。由于氨基酸缺少发色基团,不能被分光光度检测器直接检出,因此色谱法进行氨基酸分析必须首先衍生化。而衍生化操作步骤烦琐,衍生试剂对实验员带来职业健康风险,衍生效率缺乏直观评判和有效保证,前处理分析时长普遍在 1 h 以上^[16–17],成本较高而效率偏低。

超高效液相色谱-串联质谱法可分离并直接检测未衍生化的氨基酸,操作简便、节约成本;而且在分析复杂样品时具有高效快速、高灵敏度等优点,正在成为国内外食品科学和生物医药领域氨基酸分析方法的新方向^[18–27],但目前鲜少有超高效液相色谱-串联质谱法检测酸笋中氨基酸的研究报道。本研究采用纯水超声提取,离心过滤净化上机,建立酸笋中多种氨基酸定量分析的超高效液相色谱-串联质谱法,以期对柳州螺蛳粉酸笋原料的质量控制和发酵结果评估与工艺研究提供新的技术参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨

酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸、精氨酸(纯度 100%)、谷氨酸(纯度 99.5%)标准品(中国食品药品检定研究院);乙腈、甲醇、甲酸(色谱级,上海安谱实验科技股份有限公司);甲酸铵(纯度 99%,美国 ARCOS ORGANICS 公司)。

酸笋为柳州当地 9 家螺蛳粉厂家采集。

1.2 仪器与设备

Agilent 1290-6430 超高效液相色谱-三重四极杆质谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司];XP26 微量天平[梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司];JJ 200 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂);明澈-D24UV 实验室超纯水系统[西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司];L18-Y32 破壁料理机(九阳股份有限公司);VIBRAX VXR basic 小型振荡器[艾卡(广州)仪器设备有限公司];SK8200HP 超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);DL-5000B 低速冷冻大容量离心机(上海安亭科学仪器厂);0.22 μm 聚四氟乙烯(poly tetra fluoroethylene, PTFE)微孔滤膜(上海安谱实验科技股份有限公司);ACQUITY UPLC[®]BEH Amide 柱(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7 μm , 美国沃特世公司)。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液配制

单个标准储备液(1 mg/mL): 分别精密称取氨基酸标准品各 5 mg 至不同的 5 mL 容量瓶中,加一级水溶解并稀释至刻度,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱避光保存。

混合标准中间溶液(10 $\mu\text{g/mL}$): 分别准确吸取氨基酸标准储备液各 1.00 mL,置于同一个 100 mL 容量瓶,用一级水定容至刻度。

混合标准工作溶液: 准确吸取一定量的混合标准中间溶液,用一级水稀释定容,配制不同质量浓度系列的混合标准工作溶液,经 0.22 μm PTFE 微孔滤膜过滤,临用新配。

1.3.2 流动相配制

200 mmol/L 甲酸铵水溶液(pH 3): 称取 12.61 g 的甲酸铵至装有 900 mL 水的 1000 mL 容量瓶中,然后加入 25 mL 甲酸,将溶液混合均匀,再加水至刻度,所得溶液最终 pH 为 3。

流动相 A: 在 950 mL 的一级水中加入 50 mL 的 200 mmol/L 甲酸铵水溶液(pH 3),混合均匀。流动相 B: 在

950 mL 的乙腈中加入 50 mL 的 200 mmol/L 甲酸铵水溶液 (pH 3), 超声约 5 min 至透明澄清。

1.3.3 样品前处理

酸笋样品用破壁机充分匀浆 5 min, 准确称取约 1 g(精确至 0.01 g)试样于 50 mL 离心管中, 加入约 40 mL 一级水, 振荡 1 min, 超声提取 10 min; 转移全部提取液至 50 mL 比色管中, 一级水定容至刻度, 充分摇匀; 取 10 mL 提取液, 4000 r/min 离心 5 min, 经 0.22 μm PTFE 微孔滤膜过滤, 上机检测。

1.3.4 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC® BEH Amide 柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 流动相 A: 10 mmol/L 甲酸铵溶液(pH 3); 流动相 B: 乙腈/200 mmol/L 甲酸铵溶液(pH 3) (95:5, V:V); 流速: 0.40 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样量: 1 μL; 洗脱梯度见表 1。

1.3.5 质谱条件

(1)质谱离子源参数

电离源类型: 电喷雾离子源(electrospray ionization,

ESI); 干燥气温度: 350 °C; 干燥气流量: 11 L/min; 雾化器压力: 15 psi; 毛细管电压: 4000 V。

(2)质谱采集参数

扫描类型: 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM); 其他信息见表 2。

1.4 数据处理

通过 Mass Hunter Workstation Software 数据系统进行数据定性及定量分析。

表 1 液相色谱梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution program of liquid chromatography

时间/min	A/%	B/%
0	5	95
4.5	5	95
7.0	40	60
9.0	55	45
10.0	55	45
10.1	5	95
16.0	5	95

表 2 16 种氨基酸的质谱参数
Table 2 Mass spectrometric parameters of 16 kinds of amino acids

序号	化合物	保留时间/min	母离子(m/z)	碎裂电压/V	定量离子(m/z)	碰撞能量/V	定性离子(m/z)	碰撞能量/V
1	苯丙氨酸	6.04	166.1	70	120.1	10	103.1	30
2	亮氨酸	6.09	132.1	60	86.1	6	44.2	26
3	异亮氨酸	6.26	132.1	65	86.1	6	69.1	16
4	蛋氨酸	6.53	150.1	70	104.1	6	133.1	6
5	缬氨酸	6.69	118.1	60	72.2	7	55.2	21
6	脯氨酸	6.70	116.1	70	70.2	15	43.3	34
7	酪氨酸	6.80	182.1	75	136.2	12	91.2	12
8	丙氨酸	7.14	90.1	30	44.2	7	/	/
9	苏氨酸	7.23	120.1	65	74.1	7	56.1	16
10	甘氨酸	7.29	76.1	40	30.1	4	48.1	4
11	丝氨酸	7.42	106.1	60	60.1	10	42.2	7
12	谷氨酸	7.48	148.1	70	84.1	17	130.0	5
13	天冬氨酸	7.69	134.1	70	88.1	6	74.2	14
14	组氨酸	7.78	156.1	75	110.0	14	83.1	30
15	精氨酸	7.81	175.1	70	70.2	24	60.2	30
16	赖氨酸	7.86	147.0	70	84.0	20	129.9	7

注: /表示丙氨酸在当前仪器条件下无法找到响应合适的定性离子。

2 结果与分析

2.1 质谱条件的优化

为保证在分析中每种氨基酸都能得到灵敏度高和特异性强的质谱参数, 本研究优化了各氨基酸的最佳碎裂电压和最佳碰撞能量。取适量氨基酸标准储备液以水稀释成浓度约为 10 μg/mL 的单标使用液, 上机测试。根据化合物的性质, 16 种氨基酸均选择正离子模式。首先进行 MS2 SCAN 扫描, 分别扫描 16 种化合物得到一个质子形成的母离子[M+H]⁺, 确定母离子的质荷比(m/z)并优化各母离子

的碎裂电压。然后使用 Product Ion 模式以前述的母离子及质谱条件进行扫描, 确定响应值最强、稳定性好的 2 个子离子(丙氨酸只选择 1 个子离子)的质荷比(m/z), 并调节优化各自离子的碰撞能量, 确定最佳的质谱参数。16 种游离氨基酸产物离子的质谱参数见表 2。在此质谱条件下, 大部分的氨基酸在二级质谱碎片中都产生丢失一个甲酸的中性碎片产物[M+H-46]⁺。

2.2 色谱柱的选择

由于氨基酸属于极性较强的化合物, 在常规的反相

色谱条件下, C₁₈ 填料的色谱柱对氨基酸的保留效果不好, 峰型差。而且氨基酸与色谱柱上未保留的其他极性杂质一同洗脱, 增大受基质干扰的概率^[28-29]。因此, 本试验规避了常规的反相色谱与 C₁₈ 色谱柱方案, 直接采用高有机相低水含量与极性固定相组合的亲水作用色谱(hydrophilic interaction chromatography, HILIC)技术。HILIC 技术是正相色谱的变体, 在提高强极性化合物保留的同时, 仍然使用了反相溶剂系统, 兼容电喷雾离子化质谱, 解决了极性化合物的保留与分离难题, 用于氨基酸等极性物质的质谱分析优势明显^[30-33]。

本研究对比了 ACQUITY UPLC® BEH HILIC 和 ACQUITY UPLC® BEH Amide 2 种 HILIC 色谱柱, 填料粒径均为 1.7 μm, 色谱柱尺寸均为 100 mm×2.1 mm, 以便直接反映不同填料对氨基酸分析的性能差异。以 10 μg/mL 的氨基酸混合标准中间溶液进样, 进样量 1 μL, 流动相采用 10 mmol/L 甲酸铵(0.1%甲酸)及乙腈梯度洗脱。

从总离子流图看, BEH HILIC 色谱柱对氨基酸有一定的保留能力, 但分离效果一般, 组氨酸和与谷氨酸存在双峰、肩峰现象, 且同分异构体亮氨酸与异亮氨酸未能有效

分离, 天冬氨酸峰型较差且拖尾明显(结果见图 1)。

BEH Amide 色谱柱对于氨基酸各成分的分离效果更好, 虽然赖氨酸与精氨酸出现明显的双峰, 但亮氨酸与异亮氨酸可初步分离, 天冬氨酸峰型有所改善(图 2)。因此, 选择 BEH Amide 色谱柱作为本次试验的色谱柱, 下一步对液相条件进行优化, 通过流动相组成与梯度解决上述问题。

2.3 流动相的优化

在色谱柱选择试验中, 以 10 mmol/L 甲酸铵(含 0.1%甲酸)及乙腈作为流动相进行梯度洗脱, 可以满足多数氨基酸的分离纯化要求, 但仍有赖氨酸、精氨酸等若干成分的峰形不理想, 存在进一步优化的空间。改用 HILIC 模式推荐的流动相 10 mmol/L 甲酸铵溶液(pH 3)和乙腈/200 mmol/L 甲酸铵溶液(pH 3) (95:5, V:V), 对甲酸浓度的微调改善了氨基酸的保留特性和峰形, 又使得整个梯度洗脱程序中始终维持相同的甲酸铵浓度和 pH, 确保梯度洗脱过程中溶剂环境的稳定。如图 3 经多次试验优化, 最终得到能够使各氨基酸成分拥有更合适的保留时间和良好峰形, 并且亮氨酸与异亮氨酸分离完全的流动相洗脱程序(表 1)。

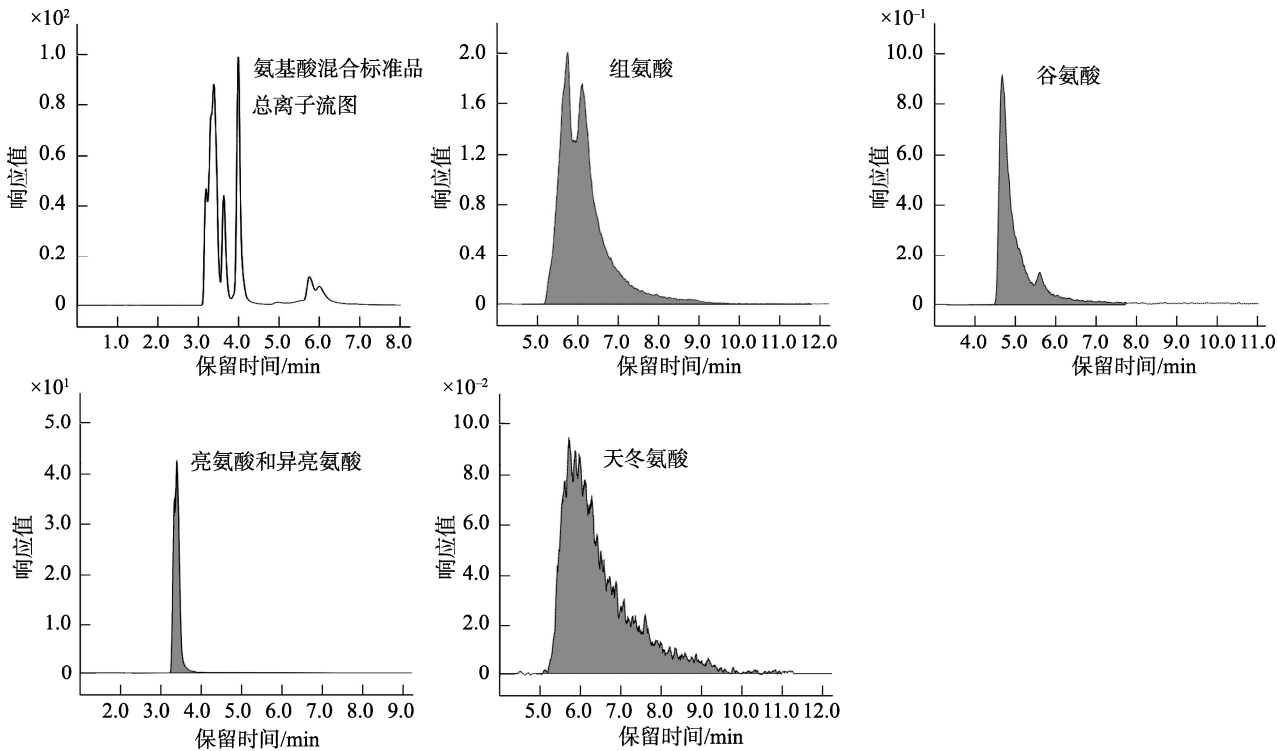


图 1 BEH HILIC 色谱柱分离效果图
Fig.1 Chromatographic separations of BEH HILIC column

2.4 提取溶剂的选择

试验考察了提取时间为 10 min 时, 分别使用一级水、30%甲醇和 80%甲醇作为提取溶剂的提取效果。回收率结

果表明, 上述各溶剂对 16 种氨基酸的各自提取回收率结果相对标准偏差为 1.1%~5.8%, 差异较小, 如图 4。最终选择经济便捷, 对人员环境无害的一级水作为提取溶剂。

2.5 提取时间的选择

当提取溶剂为一级水时, 试验对比了超声提取时间分别为 5、10、30 min 对提取效率的影响。结果表明, 提取时间

10 min 与 5 min 比较, 多数氨基酸回收率增加了 0.5%~4.1%, 而比较 30 min 时多数成分差异较小, 如图 5。综合以上因素及检验效率, 最终选择样品提取时间为 10 min。

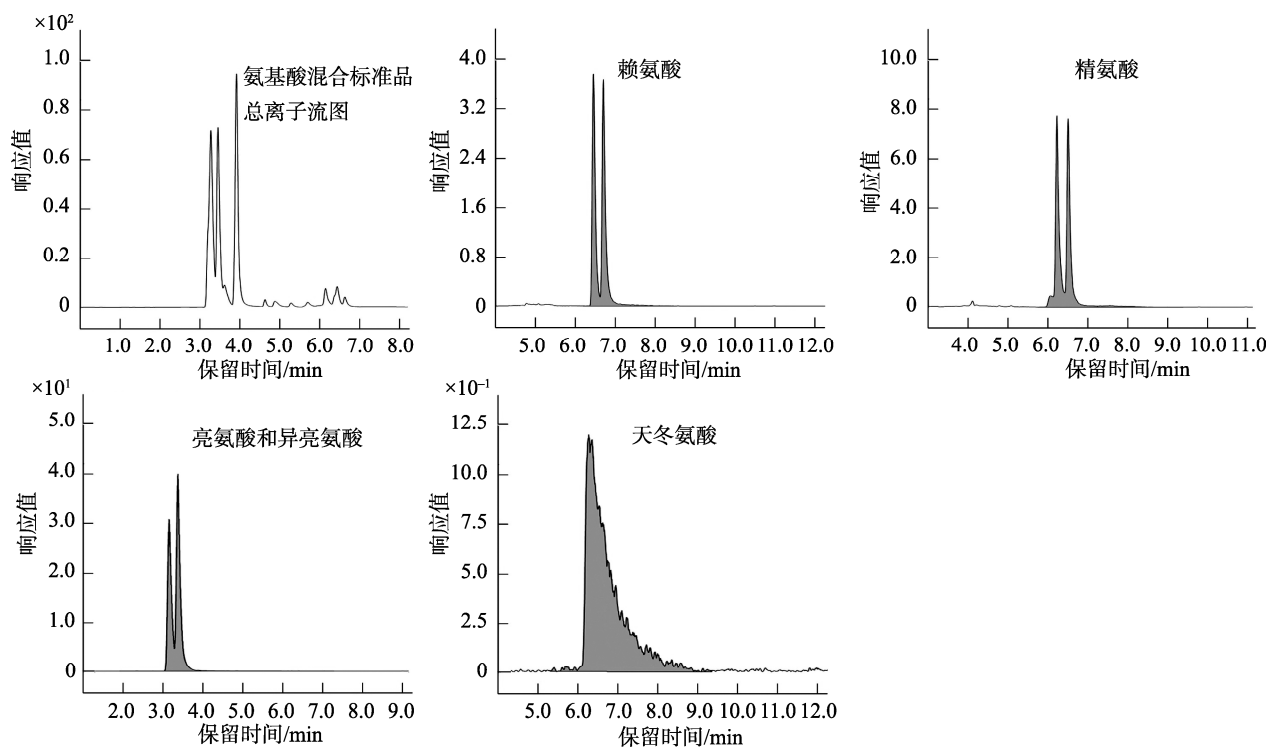


图2 BEH Amide 色谱柱分离效果图

Fig.2 Chromatographic separations of BEH Amide column

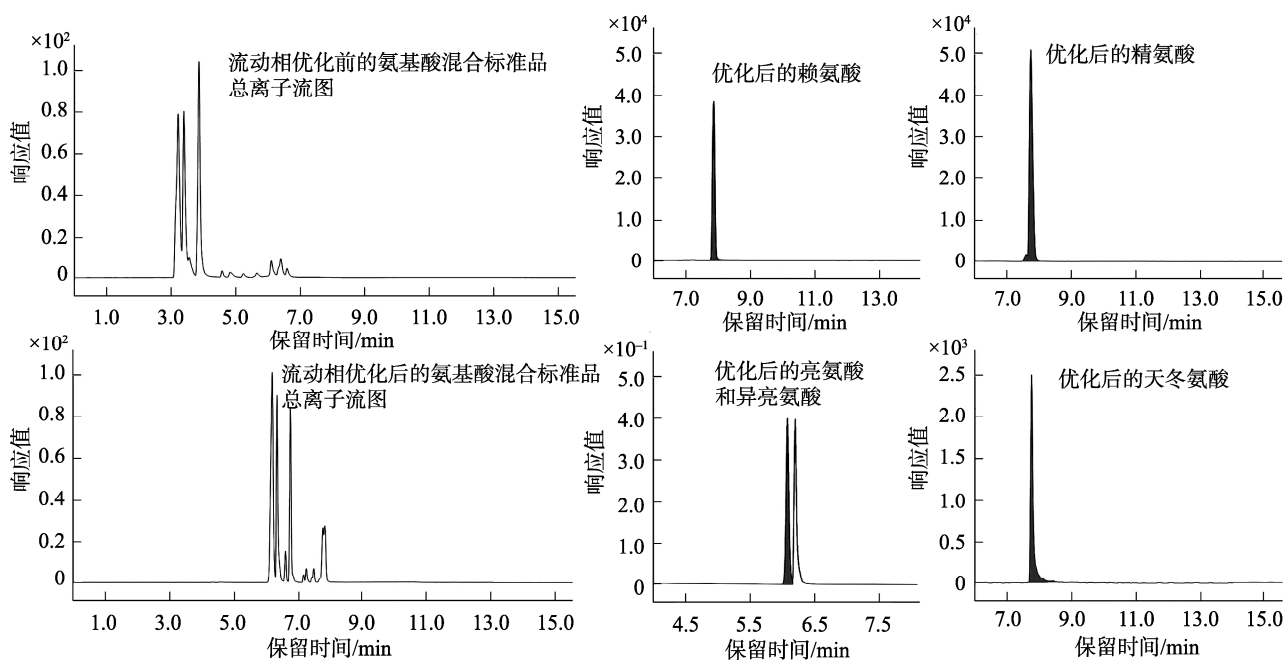


图3 流动相优化前后总离子流图、赖氨酸、精氨酸、天冬氨酸对比和亮氨酸、异亮氨酸的色谱分离

Fig. 3 Comparison of total ion chromatography, lysine, arginine, aspartic acid and chromatographic separation of leucine and isoleucine before and after mobile phase optimization

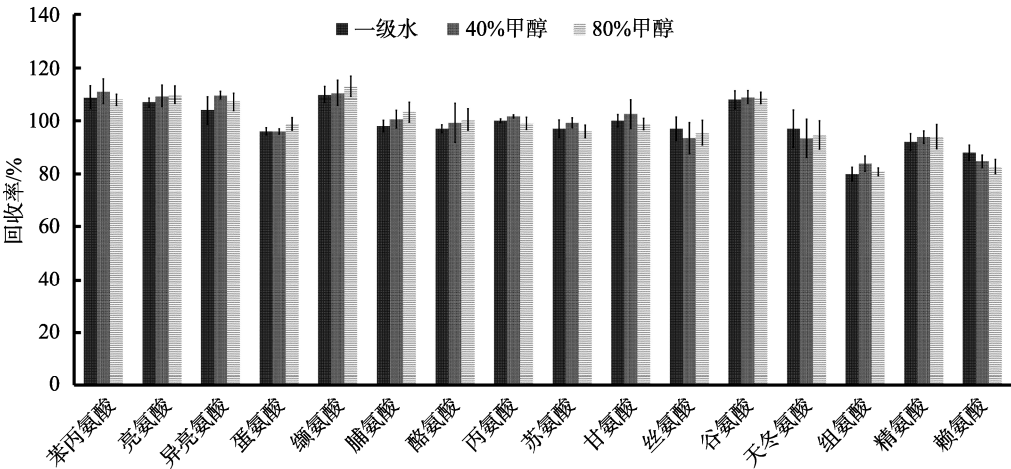


图 4 不同提取溶剂的回收率($n=3$)

Fig.4 Recoveries of different extraction solvents ($n=3$)

2.6 方法学验证

2.6.1 线性关系与定量限

按照前述步骤选定的试验方法,对混合标准工作溶液进行测定,以各氨基酸的质量浓度为横坐标($X, \mu\text{g/mL}$)、各定量离子峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线用于定量。以信噪比(S/N)为 3 倍和 10 倍时对应的氨基酸含量分别计算方法检出限和定量限,各氨基酸的线性范围、线性方程、相关系数(r)、检出限、定量限见表 3。结果表明,所测定的 16 种氨基酸的线性关系良好,相关系数(r)值都大于 0.998,满足检测要求。

2.6.2 回收率与精密度

在酸笋样品中分别进行低、中、高 3 个不同浓度水平的加标回收试验,添加水平、回收率结果见表 4。结果表

明,3 个浓度水平的加标样品平均回收率在 78.1%~114.4% 之间,加标样品测定结果的相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)在 0.7%~6.6%之间,证实该方法准确度和重复性较好。

2.7 样品测定

从柳州本地若干预包装螺蛳粉生产企业的原料库中分别抽取 9 批酸笋用选定方法进行含量测定,外标曲线法定量,测定结果见表 5。结果表明不同企业所用的原料中各氨基酸含量有较大差异,且部分原料所测得氨基酸总量呈现整体偏低或偏高的现象,反映出各厂家的酸笋原料和发酵过程可能存在较大差别,为研究提高酸笋发酵技术及改进工艺条件提供了一定的支持。

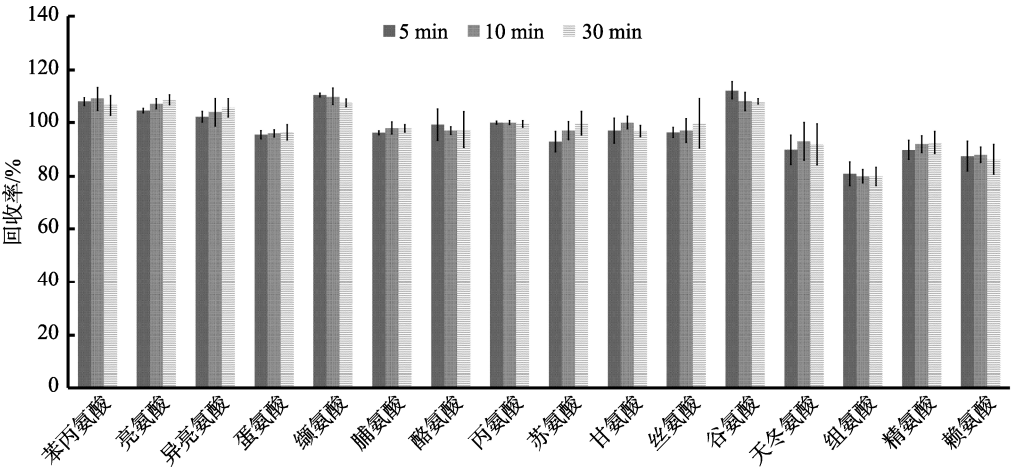


图 5 不同提取时间的回收率($n=3$)

Fig.5 Recoveries of different extraction time ($n=3$)

表 3 16 种氨基酸的线性范围、线性方程、相关系数(r)、检出限及定量限
Table 3 Linear ranges, linear equations, correlation coefficients (r), limits of detection and limits of quantitation of 16 kinds of amino acids

成分	线性范围/(μg/mL)	线性方程	相关系数	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
苯丙氨酸	0.5102~10.2000	Y=61111.4X-6524.1	0.9996	0.29	0.98
亮氨酸	0.5153~10.3000	Y=65849.1X-12397.7	0.9998	0.47	1.57
异亮氨酸	0.4941~9.8820	Y=69454.8X-13658	0.9999	0.62	2.06
蛋氨酸	0.4951~9.9020	Y=12150X-4031.6	0.9996	0.23	0.78
缬氨酸	0.5257~10.5100	Y=25083.6X+2312.9	0.9994	0.55	1.83
脯氨酸	0.5081~10.1600	Y=87443.9X+723.6	0.9991	0.29	0.97
酪氨酸	0.4904~9.8080	Y=1944.1X-69.3	1.0000	1.37	4.58
丙氨酸	0.4832~9.6640	Y=5025.6X-971.8	0.9992	3.22	10.74
苏氨酸	0.5108~10.2200	Y=4166.1X-432.2	1.0000	1.00	3.32
甘氨酸	0.5013~10.0300	Y=730.6X-83.8	0.9996	4.59	15.28
丝氨酸	0.5225~10.4500	Y=2383.6X+479.3	0.9998	0.72	2.41
谷氨酸	0.5008~10.0200	Y=4708.6X-623.1	0.9993	2.85	9.48
天冬氨酸	0.4864~9.7280	Y=1283.0X+44.4	0.9988	4.50	15.01
组氨酸	0.5189~10.3800	Y=29369X-4335.5	0.9989	1.31	4.38
精氨酸	0.5142~10.2800	Y=31536.9X+5253.1	0.9981	0.64	2.14
赖氨酸	0.4874~9.7490	Y=18011X+6998.2	0.9986	0.62	2.08

表 4 加标回收试验结果(n=6) Table 4 Results of standard recovery test (n=6)				表 4(续)			
成分	添加水平/(mg/kg)	回收率/%	RSDs/ %	成分	添加水平/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
苯丙氨酸	25	110.9	5.1	丝氨酸	25	91.9	1.3
	50	109.6	6.6		50	97.8	3.9
	100	107.8	4.0		100	102.1	2.5
	25	113.2	4.5	谷氨酸	25	111.6	3.9
亮氨酸	50	107.0	4.9		50	107.4	3.8
	100	102.2	3.5		100	108.9	3.1
异亮氨酸	25	104.2	3.7	天冬氨酸	25	96.2	3.8
	50	109.8	6.4		50	93.3	2.8
	100	101.4	3.5		100	101.1	3.7
蛋氨酸	25	91.8	4.7	组氨酸	25	78.5	4.0
	50	87.3	3.1		50	79.7	3.9
	100	96.3	1.4		100	84.3	0.7
缬氨酸	25	110.3	3.0	精氨酸	25	78.1	3.0
	50	109.1	1.9		50	80.6	2.0
	100	104.0	6.5		100	92.3	2.8
脯氨酸	25	110.6	1.8	赖氨酸	25	79.2	5.0
	50	98.6	4.2		50	81.4	2.8
	100	98.9	2.0		100	88.7	2.2
酪氨酸	25	98.8	2.8				
	50	96.4	2.3				
	100	97.4	3.6				
丙氨酸	25	114.4	2.6				
	50	108.1	4.1				
	100	100.8	2.6				
苏氨酸	25	98.4	3.6				
	50	98.3	1.5				
	100	100.3	3.5				
甘氨酸	25	110.2	1.8				
	50	106.4	2.5				
	100	101.5	2.1				

表 5 酸笋样品中氨基酸含量(mg/kg)
Table 5 Content of amino acids in fermented bamboo shoot samples (mg/kg)

成分	酸笋 1	酸笋 2	酸笋 3	酸笋 4	酸笋 5	酸笋 6	酸笋 7	酸笋 8	酸笋 9
苯丙氨酸	81.8	75.7	361.3	212.5	134.9	108.7	178.9	118.7	140.1
亮氨酸	164.3	119.2	565.8	361.4	219.9	180.3	291.7	199.6	234.4
异亮氨酸	116.9	52.6	297.4	205.0	93.0	88.1	124.9	89.1	109.2
蛋氨酸	26.2	4.1	78.6	19.1	39.5	31.5	25.8	25.3	0
缬氨酸	195.5	79.2	482.3	333.8	151.3	134.2	210.0	141.3	195.9

3 结 论

本研究采用一级水超声提取, 离心过滤净化上机分析, 初步建立了酸笋中多种氨基酸定量分析的超高效液相色谱-串联质谱方法。该方法无需衍生化、环境友好、快速高效, 为柳州螺蛳粉所需的酸笋原料的质量控制、发酵结果评估与工艺研究提供了新的技术参考。

表 5(续)

成分	酸笋 1	酸笋 2	酸笋 3	酸笋 4	酸笋 5	酸笋 6	酸笋 7	酸笋 8	酸笋 9
脯氨酸	160	45.6	254.5	9.9	64.2	64.7	99.5	52.2	116.1
酪氨酸	7.5	55.1	191.4	5.0	116.7	28.7	161.1	102.4	8.6
丙氨酸	79.2	19.6	72.8	102.0	36.1	33.4	39.3	17.8	83.6
苏氨酸	9.5	54.8	343.6	11.8	147.7	38.9	159.7	69.9	14.0
甘氨酸	136.8	55.5	342.8	274.6	99.5	86.7	124.0	83.1	146.2
丝氨酸	8.2	53.7	370.5	5.6	127.9	38.2	151.3	124.1	10.4
谷氨酸	12.8	146.6	625.8	22.4	327.5	176.8	449.1	303.6	340.9
天冬氨酸	11.4	48.7	397.0	15.4	131.1	28.9	182.6	119.1	11.4
组氨酸	27.5	28.8	176.0	27.5	32.7	27.8	94.4	29.4	27.8
精氨酸	13.6	19.3	36.7	13.1	22.7	18.1	34.3	19.6	13.8
赖氨酸	29.3	80.0	467.5	30.1	180.6	43.7	222.7	203.0	29.1

参考文献

- [1] 思雨. 螺蛳粉产值从零到百亿 看柳州市政府如何造梦成功[J]. 中国食品, 2021, (3): 44–45.
- SI Y. River snails rice noodle output value from zero to 10 billion to see how Liuzhou government make dreams successful [J]. China Food, 2021, (3): 44–45.
- [2] 李斌. 柳州螺蛳粉为什么这样红[J]. 当代广西, 2021, (Z1): 110–111.
- LI B. Why are Liuzhou river snails rice noodle so popular [J]. Contemp Guangxi, 2021, (Z1): 110–111.
- [3] 李丹. 柳州螺蛳粉: 地方特色小吃工业化发展的样本[J]. 决策, 2021, (1): 73–75.
- LI D. Liuzhou river snails rice noodle: Sample of industrialization development of local characteristic snacks [J]. Decis-mak, 2021, (1): 73–75.
- [4] 杨伟军. 柳州螺蛳粉的生产工艺技术研究[J]. 食品工业, 2017, 38(8): 80–83.
- YANG WJ. Study on production technology about Liuzhou snail of rice noodles [J]. Food Ind, 2017, 38(8): 80–83.
- [5] 梅林. 科学解读螺蛳粉令人上头的气味[J]. 中国食品, 2020, (15): 141.
- MEI L. Scientific interpretation of the fascinating smell of river snails rice noodle [J]. China Food, 2020, (15): 141.
- [6] 郭之东. 柳州螺蛳粉酸辣鲜烫[J]. 饮食科学, 2021, (7): 59.
- GUO ZD. Liuzhou river snails rice noodle: Spicy and sour, fresh and hot [J]. Diet Sci, 2021, (7): 59.
- [7] 朱照华. 酸笋的营养成分检测及其主要风味物质的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2014.
- ZHU ZH. Study on fermented bamboo shoot nutrition and flavor components [D]. Nanning: Guangxi University, 2014.
- [8] 范婉萍, 吴婕. 用分光光度法测定含氨基酸类制品中的氨基酸含量[J]. 中国测试技术, 2007, (3): 117–119.
- FAN WP, WU J. Determination of amino acid content in products by spectrophotometric method [J]. China Meas Technol, 2007, (3): 117–119.
- [9] 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 amino acid analysis and detection [J]. Light Ind Sci Technol, 2020, 36(2): 111–113, 132.
- [10] 王海美, 李锋成, 肖本游, 等. 探讨基于衍生化与电位传感的氨基酸检测方法[J]. 化工管理, 2019, (34): 120–121.
- WANG HM, LI FC, XIAO BY, *et al.* Explore amino acid detection methods based on derivatization and potentiometric sensor [J]. Chem Enterp Manag, 2019, (34): 120–121.
- [11] 贾载凯, 毛新刚, 苏晓岚, 等. 柱前衍生高效液相色谱法测定中韩泡菜中的氨基酸含量[J]. 农产品加工, 2019, (20): 47–50.
- JIA ZK, MAO XG, SU XL, *et al.* Determination of amino acids in Chinese and Korean pickles by pre-column derivatization high performance liquid chromatography [J]. Farm Prod Process, 2019, (20): 47–50.
- [12] 金明, 牛宏亮, 袁辉, 等. 高效液相色谱柱后衍生法测定鸡肉中的 18 种氨基酸[J]. 食品与发酵工业, 2014, 40(1): 212–215.
- JIN M, NIU HL, YUAN H, *et al.* Determination of eighteen amino acids by high performance liquid chromatography and post-column derivation in chicken [J]. Food Ferment Ind, 2014, 40(1): 212–215.
- [13] TSIASIOTI A, TZANAVARAS PD. Selective post-column derivatization coupled to cation exchange chromatography for the determination of histamine and its precursor histidine in fish and oriental sauce samples [J]. Food Chem, 2021, 351: 129351.
- [14] 郑重, 孙琦, 石永伟, 等. 高效液相色谱-串联质谱法直接定量分析植物酵素中多种氨基酸成分[J]. 色谱, 2015, 33(3): 309–313.
- ZHENG Z, SUN Q, SHI YW, *et al.* Direct quantitative analysis of amino acids in fermented beverage of plant extract using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. China J Chromatogr, 2015, 33(3): 309–313.
- [15] 陈贵兰, 徐坤, 周远明, 等. 液质联用仪分析氨基酸方法的建立及其在枸杞中的应用[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2021, 38(1): 57–64.
- CHEN GL, XU K, ZHOU YM, *et al.* Establish and application of a new assay method for detection of amino acids of wolfberry based on liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Qingdao Agric Univ (Nat Sci Ed), 2021, 38(1): 57–64.
- [16] 龚天理, 刘付芳, 王卫, 等. 食品中氨基酸测试的发展[J]. 中国标准化, 2018, (S1): 154–157.
- GONG TL, LIU FF, WANG W, *et al.* Research on the development of amino acid testing in food [J]. China Stand, 2018, (S1): 154–157.
- [17] ŁOZOWICKA B, KACZYŃSKI P, IWANIUK P. Analysis of 22 free amino acids in honey from Eastern Europe and central Asia using LC-MS/MS technique without derivatization step [J]. J Food Compos Anal, 2021, 98: 103837.

- [18] 戴明, 苏晓明, 吴少明, 等. UPLC-MS/MS 测定铁观音茶中 21 种游离氨基酸含量[J]. 化学研究与应用, 2021, 33(7): 1410–1419.
DAI M, SU XM, WU SM, *et al.* Determination of 21 kinds of free amino acids in TieGuanYin tea by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Res Appl, 2021, 33(7): 1410–1419.
- [19] 李诚至, 张庆, 林钰涓, 等. SPE-HPLC-MS/MS 测定水稻中氨基酸[J]. 食品工业, 2021, 42(8): 300–304.
LI CZ, ZHANG Q, LIN YJ, *et al.* Determination of amino acids in rice by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Food Ind, 2021, 42(8): 300–304.
- [20] WANG SN, WANG Q, YIN XQ, *et al.* Simultaneous determination of iridoid glycosides, phenylpropanoid glycosides, organic acids, nucleosides and amino acids in *Scrophulariae Radix* processed by different processing methods by HPLC-QTRAP-MS/MS [J]. J Chromatogr Sci, 2021. DOI: 10.1093/chromsci/bmab056
- [21] 杨坤, 吴凯仪, 张建场, 等. 鱼酱调味料中氨基酸含量分析[J]. 中国调味品, 2021, 46(6): 144–148.
YANG K, WU KY, ZHANG JY, *et al.* Analysis of amino acid content in fish sauce acid seasoning [J]. China Cond, 2021, 46(6): 144–148.
- [22] 贺习文, 雷浩, 高勤叶, 等. 液相色谱-串联质谱法测定饲料中 16 种氨基酸[J]. 现代畜牧兽医, 2021, (6): 27–30.
HE XW, LEI H, GAO QY, *et al.* Determination of 16 amino acids in feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod J Anim Husb Vet Med, 2021, (6): 27–30.
- [23] THIELE B, HUPERT M, SANTIAGO SB, *et al.* Direct analysis of underivatized amino acids in plant extracts by LC-MS/MS (improved method) [J]. Methods Mol Biol, 2019, 2030: 403–414.
- [24] ZHAO LQ, ZHAO XD, XU YP, *et al.* Simultaneous determination of 49 amino acids, B vitamins, flavonoids, and phenolic acids in commonly consumed vegetables by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2021, 344: 128712.
- [25] ROGGENSACK T, MERZ B, DICK N, *et al.* Targeted ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometric quantification of methylated amines and selected amino acids in biofluids [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2020, 34(7): e8646.
- [26] PATRICIA PC, SILVIA RM, MARIO DSR, *et al.* Development and validation of an LC/MS method of glatiramer and its sequential amino acids, at pharmaceutical product [J]. J Pharm Pharmacol, 2020, 8(9): 263–269.
- [27] 安捷伦科技有限公司(Andrew Kennedy 和 Adam Bivens). 使用液质联用系统分析未衍生化氨基酸的方法[EB/OL]. [2019-08-14]. https://www.agilent.com.cn/cs/library/applications/5991-8582ZHCN_HILIC_Underivatized_Amino_Acid_application.pdf [2021-12-01].
Agilent Technologies, Inc (Andrew Kennedy and Adam Bivens). Methods for the analysis of underivatized amino acids by LC/MS [EB/OL]. [2019-08-14]. https://www.agilent.com.cn/cs/library/applications/5991-8582ZHCN_HILIC_Underivatized_Amino_Acid_application.pdf [2021-12-01].
- [28] 阳曦, 刘玮. 亲水作用色谱-串联质谱法同时测定涪城麦冬中的多种氨基酸[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(20): 254–258.
YANG X, LIU W. Simultaneous determination of multiple amino acids in *Ophiopogon japonicas* by hydrophilic interaction chromatography-mass spectrometry [J]. Food Ferment Ind, 2020, 46(20): 254–258.
- [29] 毛叶勤, 姚鑫, 陈琳. HILIC-HPLC-MS/MS 测定酸枣仁内氨基酸类成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(21): 67–72.
MAO YQ, YAO X, CHEN L. Determination of underivatized amino acids from *Ziziphi Spinosae Semen* by HILIC-HPLC-MS/MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Formul, 2016, 22(21): 67–72.
- [30] ZHANG L, ZHENG W, WANG SS, *et al.* A merged method for targeted analysis of amino acids and derivatives using parallel reaction monitoring combined with untargeted profiling by HILIC-Q-Orbitrap HRMS [J]. J Pharmaceut Biomed, 2021, 203: 114208.
- [31] CHEN XM, FENG DJ, ZOU Y, *et al.* Quick extraction and direct determination of amino acids from plants by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) and high-performance liquid chromatography-mass spectrometry without derivatization [J]. Web Conf, 2021, 252: 2055.
- [32] EMMANOUIL T, MARIA P, STAVROS K. Validation of a HILIC UHPLC-MS/MS method for amino acid profiling in triticum species wheat flours [J]. Foods, 2019, 8(10): 514–514.
- [33] LI J, WANG QL, LIU Y, *et al.* Simultaneous determination of 24 free amino acids in MGC803 cells by hydrophilic interaction liquid chromatography with tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr B, 2019, 1132(C): 121792.

(责任编辑: 韩晓红 于梦娇)

作者简介



武源, 硕士, 主管药师, 主要研究方向为兽药残留与食品理化分析检测。
E-mail: 910219256@qq.com