

Analysis of Composition and Content of Free Amino Acids in Pod Endocarp from Vegetable Soybean

Zhijuan Feng, Na Liu, Guwen Zhang, Yuanpeng Bu, Yaming Gong*

Institute of Vegetables, Zhejiang Academy of Agriculture, Hangzhou Zhejiang
Email: *gongym07@126.com

Received: Jul. 1st, 2020; accepted: Jul. 17th, 2020; published: Jul. 24th, 2020

Abstract

Vegetable soybean, also known as green soybean, is consumed as one leguminous vegetable. The quantity variance of white bean coat (membranous endocarp of pod wall or pod endocarp) outside the fresh grain, as one of the appearance quality traits, directly affects consumers' judgments about the degree of freshness of vegetable soybean pod. In this study, the free amino acids in white bean coat were detected by automatic amino acid analyzer. The results showed that the quantity variance of white bean coat depended on the different varieties; the content of free amino acids ranged from 76.051 to 839.804 $\mu\text{g/g}$, including glutamic acid, γ -aminobutyric acid, alanine, serine and aspartic acid; the umami amino acids accounted for 65.246% of the total free amino acids, including glutamic acid and aspartic acid; the content of γ -aminobutyric acid with special physiological function was 190.659 $\mu\text{g/g}$. The data generated preliminarily clarified the composition and content of umami amino acids in pod endocarp and provided the theoretical basis for quality breeding of vegetable soybean.

Keywords

Vegetable Soybean, Pod Endocarp, Free Amino Acid, Umami Amino Acid

菜用大豆豆衣游离氨基酸组成及含量分析

冯志娟, 刘娜, 张古文, 卜远鹏, 龚亚明*

浙江省农业科学院蔬菜研究所, 浙江 杭州
Email: *gongym07@126.com

收稿日期: 2020年7月1日; 录用日期: 2020年7月17日; 发布日期: 2020年7月24日

*通讯作者。

摘要

菜用大豆, 又称毛豆, 作新鲜豆类蔬菜食用, 主食鲜籽粒。毛豆豆荚内包裹豆粒的白色豆衣(荚皮内膜层或豆荚内果皮)的多少, 直接影响消费者对毛豆豆荚新鲜程度的判断, 是评价毛豆品种外观品质性状之一。本文首次以毛豆最佳采收期的豆仁外白色豆衣为实验材料, 利用氨基酸自动分析仪, 对其游离氨基酸组成及含量进行了测定与分析。结果发现: 在最佳采收期, 白色豆衣多少因毛豆品种而不同; 白色豆衣内含量较高的游离氨基酸依次为谷氨酸、 γ -氨基丁酸、丙氨酸、丝氨酸、天冬氨酸, 为76.051~839.804 $\mu\text{g/g}$; 包含2种典型的呈鲜味氨基酸: 谷氨酸和天冬氨酸, 占总游离氨基酸总量65.246%; 包含1种具有生理活性功能的特殊氨基酸: γ -氨基丁酸, 含量190.659 $\mu\text{g/g}$ 。本研究结果初步明确了毛豆白色豆衣内主要呈鲜味游离氨基酸成分及含量, 对菜用大豆品质育种具有一定的理论指导意义。

关键词

菜用大豆, 豆衣, 游离氨基酸, 呈鲜味氨基酸

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

菜用大豆(Vegetable soybean), 又称毛豆, 属大豆(*Glycine Max* L. Merr)的专用型品种, 主食鲜籽粒, 富含可溶性糖、淀粉、游离氨基酸、蛋白质等, 具有极高营养价值, 作为一类重要的豆类蔬菜食用[1] [2] [3]。随着人们健康意识增强, 亚欧美等多个国家市场需求不断增加, 推动菜用大豆产业规模不断扩大。近年来, 我国菜用大豆的生产种植迅速发展, 已成为国际上最大的菜用大豆生产种植国和速冻加工出口国。菜用大豆作为出口创汇农产品, 在我国 2019 年制定的大豆振兴计划中具有优势发展定位。

与传统的粮用大豆相比, 国际市场对菜用大豆的品质要求更高, 更注重外观品质、食用品质和营养品质。外观品质包括豆荚大小、豆荚颜色、籽粒大小等。菜用大豆豆荚内包裹豆粒的白色豆衣(荚皮内膜层或豆荚内果皮)的多少, 直接影响消费者对毛豆豆荚新鲜程度的判断, 是评价毛豆品种外观品质性状之一, 亦是菜用大豆商品性和产量的重要组成因子[4] [5]。食味品质与营养品质相互交叉, 主要体现在甜度、糯性、香味和鲜味等方面, 由可溶性糖、淀粉、游离氨基酸、2-乙酰-1-吡咯啉(2-AP)、蛋白质、脂肪等物质所决定。通过对鲜味评分和不同种类游离氨基酸含量进行相关分析, 发现影响菜用大豆籽粒鲜味的主要游离氨基酸为谷氨酸和天冬氨酸[6] [7] [8]。然而, 有关菜用大豆白色豆衣中鲜味氨基酸组成及含量的研究目前尚未见报道。本研究拟对白色豆衣中游离氨基酸成分及含量进行检测分析, 并对其进行鲜味评价, 以期对菜用大豆品质育种提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

本次实验使用研究室育种过程中搜集获得的全国推广应用面积(5 千亩以上)相对较大的 36 个春季菜用大豆品种。在浙江省农科院杨渡科研育种基地进行春季田间种植、白色豆衣性状观察记载和取样检测工作。每个品种种植面积均为 36 平方米。当田间 85%以上植株豆荚鼓粒饱满, 籽粒鼓粒到 80%~90%时

为最佳采收期,在晴天上午 7:00~9:00 豆荚干燥条件下进行取样。取样时,每品种取生长势一致的典型植株,摘取全部豆荚。随机选取 20 个鲜荚,剥开豆荚,进行豆衣性状(多少及相连程度)鉴定。以浙江省种植业主导品种“浙农 6 号”为材料,剥离豆粒外白色豆衣,随机称取 1.00 克,3 个生物学重复,放入液氮速冻后置于 -80°C 冰箱保存,用于后续样品品质检测。

2.2. 试验仪器

德国赛卡姆(sykam) S433D 氨基酸分析仪;德国 SORVAL 公司台式高速离心机;美国 AHOMS 公司 AR5120 电子天平;深圳杰拓科技便携式超声波清洗仪。

2.3. 样品处理

- 1) 将白色豆衣样品于液氮中研磨至粉碎,准确称量 0.5 g 样品于试管中;
- 2) 加入含 0.01 mol/L 的 HCl 的 50%乙醇溶液 5 mL;
- 3) 低温冰水浴,超声 30 min,超声频率 40 KHz;
- 4) 4°C 离心 12000 rpm 5 min,取 1 mL 提取液置于 -80°C 超低温冰箱冻成固体,然后置于冻干机中完全冻干,以 1 mL 氨基酸稀释液复溶;
- 5) 过 0.22 μm 水相滤膜,进氨基酸测定仪检测。

2.4. 检测条件

游离氨基酸的测定方法参考国家标准方法 GB/T30987-2014 (植物中游离氨基酸的测定) [9],仪器采用氨基酸自动分析仪,氨基酸标准品购自源叶生物。实验操作具体条件及试剂如下:

氨基酸自动分析仪型号:德国赛卡姆(sykam) S433D,分析柱:LCA K07/Li,进样量:50 μL ,检测波长:570 nm、440 nm,茚三酮流速:0.25 mL/min,流动相流速:0.45 mL/min,反应器温度:130 $^{\circ}\text{C}$,柱温:57 $^{\circ}\text{C}$ ~74 $^{\circ}\text{C}$ 梯度温度。流动相 A: pH 为 2.90 柠檬酸锂缓冲液,流动相 B: pH 为 4.20 柠檬酸锂缓冲液,流动相 C: pH 为 8.0 柠檬酸锂缓冲溶液,流动相 D: pH 为 2.20 柠檬酸锂缓冲溶液。

2.5. 数据分析

利用 SPSS 软件对测定数据进行统计分析,所有测定数据以平均值表示。

3. 结果与分析

3.1. 白色豆衣性状鉴定

通过观察鉴定,发现:所有品种白色豆衣性状,主要包括多且相连、多不相连、豆衣少三种类型(图 1)。



Figure 1. White pod endocarp characteristic of vegetable soybean
图 1. 菜用大豆白色豆衣性状

其中, 研究室育成品种“浙农 6 号”白色豆衣性状经鉴定属于: 多且相连类型(图 2)。



Figure 2. Pod endocarp characteristic of vegetable soybean “Zhenong 6”
图 2. 菜用大豆“浙农 6 号”多豆衣性状

3.2. 游离氨基酸组成及含量分析

以包衣多且相连的“浙农 6 号”品种为材料, 通过游离氨基酸测定分析, 发现: 共检测到 18 种游离氨基酸(表 1)。总游离氨基酸的含量为 1403.693 $\mu\text{g/g}$ 。其中, 包括苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和赖氨酸 6 种人体必需氨基酸, 必需氨基酸含量为 61.682 $\mu\text{g/g}$, 占游离氨基酸总量 4.394%; 包括谷氨酸和天冬氨酸 2 种呈鲜味氨基酸, 鲜味氨基酸含量为 915.855 $\mu\text{g/g}$, 占游离氨基酸总量 65.246%。

Table 1. Content of free amino acids in white pod endocarp of vegetable soybean “Zhenong 6”

表 1. 菜用大豆“浙农 6 号”白色豆衣中游离氨基酸含量($\mu\text{g/g}$)

编号 Number	游离氨基酸种类 Types of free amino acids	含量($\mu\text{g/g}$) Content ($\mu\text{g/g}$)			平均值($\mu\text{g/g}$) Mean ($\mu\text{g/g}$)
		重复 1	重复 2	重复 3	
1	天冬氨酸	78.646	72.753	76.753	76.051
2	苏氨酸	17.274	16.061	15.874	16.403
3	丝氨酸	92.361	82.371	84.052	82.928
4	谷氨酸	909.201	847.228	862.984	839.804
6	甘氨酸	6.510	5.258	5.762	5.177
7	丙氨酸	99.358	90.153	81.024	96.845
8	缬氨酸	10.417	10.046	10.094	10.852
9	蛋氨酸	4.514	4.008	4.037	3.520
10	异亮氨酸	9.722	9.663	9.084	10.157
11	亮氨酸	6.858	6.935	6.423	7.072
12	酪氨酸	4.861	4.346	4.404	4.204
13	组氨酸	19.229	17.973	19.361	18.521
14	鸟氨酸	9.639	9.943	9.112	9.898
15	赖氨酸	8.073	7.553	7.964	7.197
16	精氨酸	14.844	15.377	16.025	14.215
17	脯氨酸	10.851	9.560	10.160	10.190
18	γ -氨基丁酸	207.726	192.658	191.595	190.659

不同种类游离氨基酸含量分析发现：谷氨酸含量最高，为 839.804 $\mu\text{g/g}$ ，其次含量由高到低依次为 γ -氨基丁酸 190.659 $\mu\text{g/g}$ 、丙氨酸 96.845 $\mu\text{g/g}$ 、丝氨酸 82.928 $\mu\text{g/g}$ 、天冬氨酸 76.051 $\mu\text{g/g}$ (图 3)。其中， γ -氨基丁酸作为天然生理活性物质，具有降血压、健肝利肾、促进生长激素分泌等功效。

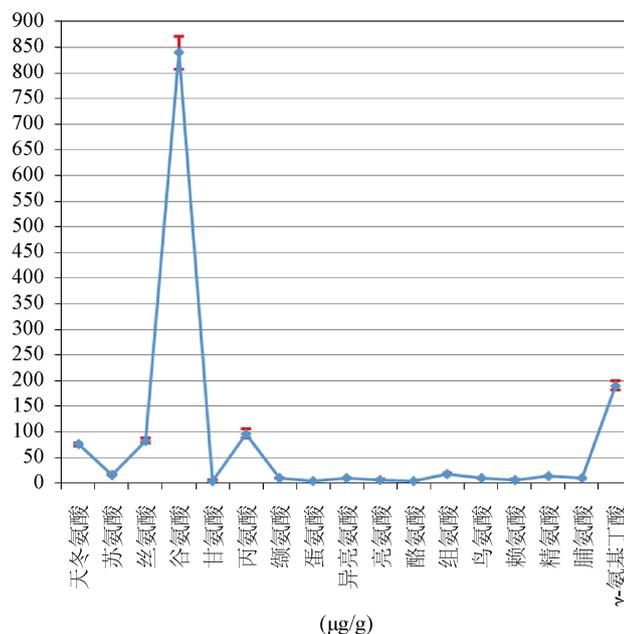


Figure 3. Content of free amino acids in white pod endocarp of vegetable soybean "Zhenong 6"

图 3. 菜用大豆“浙农 6 号”白色豆衣中游离氨基酸含量($\mu\text{g/g}$)

4. 讨论

菜用大豆豆荚内包裹豆粒的白色豆衣(荚皮内膜层或豆荚内果皮)作为外观品质性状，易于观察，直接影响消费者对毛豆豆荚商品性(如新鲜程度)的判断。然而，感官评价相对于客观评价容易受到主观因素的影响。本研究通过检测毛豆豆衣中游离氨基酸的组成成分，对影响其鲜味评价的主要游离氨基酸成分进行了探究，以期客观评定菜用大豆的品质和优质菜用大豆的筛选提供科学依据。呈鲜物质成分在呈味上有显著的增鲜作用，主要包括游离氨基酸、核苷酸、肽类等[10][11][12]。本实验结果发现：菜用大豆豆衣中共检测到 18 种游离氨基酸，氨基酸种类丰富。其中，包括 6 种人体必需氨基酸、2 种呈鲜味氨基酸和 1 种特殊氨基酸 γ -氨基丁酸。豆衣中鲜味氨基酸(谷氨酸和天冬氨酸)含量占游离氨基酸总量 65.246%，影响烹调风味，是菜用大豆口感鲜美的因素之一。 γ -氨基丁酸作为一种天然生理活性物质，参与人体内多项代谢及生理活动，具有降血压、健脑、活化肝肾及调节免疫等功能，被誉为“大脑的天然镇静剂”[13][14]。豆衣中谷氨酸含量最高为 839.804 $\mu\text{g/g}$ ，其次为 γ -氨基丁酸 190.659 $\mu\text{g/g}$ ， γ -氨基丁酸是菜用大豆的特殊功能性因子之一。此外，他人的研究表明荚皮内膜层性状与产量和粒重均呈极显著正相关，内膜对产量的作用达到极显著水平[4]。所以，在育种工作中应注重内膜层性状的选择，注意其对产量、籽粒以及品质的影响。

5. 结论

本论文基于氨基酸自动分析仪，参照国家标准方法 GB/T30987-2014 (植物中游离氨基酸的测定)，对菜用大豆豆仁外白色豆衣中的游离氨基酸组成及含量进行了检测分析，实验结果表明，白色豆衣中不仅

包含呈鲜味氨基酸(谷氨酸和天冬氨酸), 还包含具有生理活性功能的特殊氨基酸(γ -氨基丁酸), 为豆衣多的菜用大豆品种更新鲜提供了理论支撑。

基金项目

国家重点研发计划项目(2017YFD0101500); 浙江省蔬菜新品种选育重大科技专项(2016C02051); 国家自然科学基金项目(31601767, 31572138 和 31872114)和校企合作项目(2018R23B88D01 和 2018R23B88D02)。

参考文献

- [1] 龚亚明, 胡齐赞, 茅国夫, 张古文, 丁桔, 徐盛春. 菜用春大豆新品种浙农 6 号[J]. 中国蔬菜, 2010(3): 32.
- [2] 张古文, 刘娜, 冯志娟, 龚亚明. 菜用大豆新品种浙农 3 号[J]. 园艺学报, 2018, 45(S2): 2775-2776.
- [3] 徐盛春, 王建成, 胡齐赞, 张古文, 龚亚明. 菜用大豆核心种质构建策略研究[J]. 科技通报, 2012, 8(28): 36-41.
- [4] 范秀凤, 吕小明, 陈莉莉, 武天龙. 菜用大豆荚皮性状与产量形成的关系 [J]. 大豆科学, 2004, 23(4): 264-267.
- [5] Zhang, D., Sun, L., Li, S., Wang, W., Ding, Y., Swarm, S.A., Li, L., Wang, X., Tang, X., Zhang, Z., Tian, Z., Brown, P.J., Cai, C., Nelson, R.L. and Ma, J. (2018) Elevation of Soybean Seed Oil Content through Selection for Seed Coat Shininess. *Nature Plants*, 4, 30-35. <https://doi.org/10.1038/s41477-017-0084-7>
- [6] 汪自强, 艾麦里, 苏贤坤. 鲜食大豆食味品质的评价指标研究[J]. 中国粮油学报, 2004, 19(3): 47-50.
- [7] 张玉梅, 胡润芳, 林国强. 菜用大豆品质性状研究进展[J]. 大豆科学, 2013, 32(5): 698-702.
- [8] 张秋英, 李彦生, 刘长锴, 田博文, 涂冰洁, 毛健伟. 菜用大豆食用品质关键组分及其积累动态研究[J]. 作物学报, 2015, 41(11): 1692-1700.
- [9] 全国生化检测标准化技术委员会. 中华人民共和国国家标准 GB/T30987-2014. 植物中游离氨基酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [10] 顾永清. 鲜味的生物化学[J]. 生物学通报, 1994, 29(6): 11-13.
- [11] 吴晓花, 吴新义, 汪颖, 汪宝根, 鲁忠富, 徐沛, 李国景. 多重 PCR 测序揭示浙蒲系列瓠瓜优异瓜形与鲜味的基因型基础[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(1): 43-49.
- [12] 莫润宏, 汤富彬, 丁明, 屈明华, 倪张林, 沈丹玉, 钟冬莲. 雷竹笋不同部位的游离氨基酸含量[J]. 浙江农业科学, 2012, 1(7): 961-963.
- [13] 蒋彤, 徐慧, 贾丽娜. γ -氨基丁酸的生理功能及其在食品中的应用研究进展[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(4): 23-25.
- [14] 王红波, 魏蜜, 徐媛, 赵慧霞, 陈禅友. 富含 γ -氨基丁酸豆类功能食品的研究进展[J]. 中国调味品, 2019, 44(6): 190-197.