

# 不同产地和品种桑叶游离氨基酸主成分分析及综合评价

陈爽<sup>1,2,3</sup>, 姚欢<sup>1</sup>, 袁林<sup>1,3</sup>,  
吴应梅<sup>1\*</sup>, 李金金<sup>1</sup>, 阳文武<sup>3</sup>, 刘迪迪<sup>1</sup>, 周浓<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>重庆三峡学院生物与食品工程学院; <sup>2</sup>三峡库区地道药材绿色种植与深加工重庆市工程实验室, 重庆 404120;  
<sup>3</sup>重庆市万州食品药品检验所, 重庆 404100

**摘要:** 研究重庆市 3 个品种共 17 种不同产地桑叶水提液中游离氨基酸组成及含量, 为本地桑叶的开发利用提供理论基础。以桑、华桑、鸡桑 3 个品种不同采样地区的样品为原材料, 模拟桑叶茶冲泡方式获得水提液, 用 HPLC 荧光法测定其游离氨基酸含量并计算 18 种游离氨基酸的味道强度值 (taste activity value, TAV), 通过相关性分析、主成分分析、聚类分析等方法综合评价不同品种和产地桑叶营养成分和风味特征。研究结果显示, 不同品种、不同产地桑叶氨基酸种类无明显差别, 但氨基酸含量存在差异, 可测得最高总氨基酸、必需氨基酸、半必需氨基酸、非必需氨基酸含量分别为 1 927.33 mg/100g、322.6 mg/100g、46.17 mg/100g 和 1 558.56 mg/100g; 桑叶氨基酸风味特征表现为甜味氨基酸 > 鲜味氨基酸 > 苦味氨基酸; 聚类分析将 17 个样品分为 2 类, 重庆市巴南区安澜镇鸡桑 (S15)、华桑 (S7) 两个品种的氨基酸品质高。综上所述, 桑叶中氨基酸含量丰富, 具有较高的营养价值, 可开发氨基酸类功能性食品。

**关键词:** 桑叶; 游离氨基酸; 味道强度值; 主成分分析; 聚类分析

中图分类号: Q94

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2023)6-0938-11

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2023.6.003

## Principal component analysis and comprehensive evaluation of free amino acids in mulberry leaves from different producing areas and varieties

CHEN Shuang<sup>1,2,3</sup>, YAO Huan<sup>1</sup>, YUAN Lin<sup>1,3</sup>,  
WU Ying-mei<sup>1\*</sup>, LI Jin-jin<sup>1</sup>, YANG Wen-wu<sup>3</sup>, LIU Di-di<sup>1</sup>, ZHOU Nong<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University;

<sup>2</sup>Green Planting and Deep Processing of Genuine Medicinal Materials in Three Gorges Reservoir Area, Chongqing Engineering Laboratory, Chongqing 404120, China;

<sup>3</sup>Chongqing Wanzhou Food and Drug Inspection Institute, Chongqing 404100, China

**Abstract:** To study the composition and content of free amino acids in the water extracts of three varieties from 17 different origins of mulberry leaves in Chongqing, providing theoretical basis for the development and utilization of mulberry leaves in this region. Leaves of *Morus alba* L., *M. cathayana* Hemsl. and *M. australis* Poi. from different origins were used as raw materials, the water extract was obtained by simulating mulberry leaf tea brewing method. The content of free amino acids was determined by HPLC fluorescence method and taste activity value (TAV) of 18 kinds of free amino acids was calculated. Then, the nutritional components and flavor characteristics of mulberry leaves were comprehensively evaluated by correlation analysis, principal component analysis, cluster analysis, etc. The results showed that there was no significant difference in the types of amino acids in mulberry leaves from different varieties and origins, but the content of amino acids were obvious differences. The highest content of total amino acids, essential amino acids, semi-essential amino acids and non-essential amino acids were 1 927.33 mg/100 g, 322.6 mg/100 g, 46.17 mg/100 g and 1 558.56 mg/100 g, respectively. Moreover, the taste characteris-

tics of amino acids from mulberry leaves were as follows: sweet amino acids > umami amino acids > bitter amino acids. The 17 samples were divided into two categories by cluster analysis and the results showed that the samples of *M. australis* Poi. (S15) and *M. cathayana* Hemsl. (S7) from Anlan Town in Banan District of Chongqing have high quality of amino acids. In summary, mulberry leaves are rich in amino acids and have high nutritional value, which can be used to develop amino acids functional foods.

**Key words:** mulberry leaf; free amino acids; taste activity value; principal component analysis; cluster analysis

桑叶始载于《神农本草经》,源自桑科植物的干燥叶,分布在我国大部分地区<sup>[1]</sup>。桑叶营养价值均衡<sup>[2]</sup>,具有“神仙叶”之称,其同时是典型的药食同源资源之一,含有丰富的蛋白质、游离氨基酸、生物碱类、黄酮类等具有特殊生理活性的营养成分,是开发药物或功能食品的天然原料<sup>[3]</sup>。据报道,桑叶中游离氨基酸(free amino acids, FAAs)占干物质总量可达0.2%~2.0%<sup>[3]</sup>,而FAAs的组成和含量对桑叶风味品质有重要影响,从而直接或间接影响了桑叶制品的品质<sup>[4]</sup>。因此,对桑叶FAAs进行综合分析评价具有十分重要的意义。目前,FAAs的测定方法多样且应用研究进展迅速,有报道分光光度法测定茶叶、药材等氨基酸含量<sup>[5]</sup>,Xia等<sup>[6]</sup>采用分光光度法测定23个桑品种桑叶中GABA的含量,桑品种火桑的鲜桑叶中GABA含量最高,可达1.224 mg/g,是含量最低桑品种的3.76倍。Deng等<sup>[2]</sup>用氨基酸分析法测定桑叶总氨基酸含量为8.62~10.63 g/100g, Yang等<sup>[7]</sup>测定桑叶蛋白必需氨基酸含量为29.11 g/100g粗蛋白。Zhen等<sup>[8]</sup>用HPLC法检测了3个桑品种不同季节收获桑叶中的游离氨基酸含量,发现春季桑叶中含量较高的丝氨酸在初霜时节含量降低,而春季桑叶中含量较低的苏氨酸到初霜时节含量升高。Lu等<sup>[9]</sup>建立了超高效液相串联三重四极杆质谱同时测定桑叶样品中氨基酸、核苷及生物碱含量的方法。分光光度法简单易行,适用于芳香族游离氨基酸的检测,但线性范围小,仅有一个数量级;氨基酸分析法准确可靠、重现性好,能测定大多数种类的氨基酸及其同系物,但该方法测定时间相对较长、柱后扩散较大导致分辨率下降,且仪器结构复杂、价格相对昂贵;高效液相色谱法及高效液相色谱-质谱联用法具有高选择性、高特异性、高灵敏度、对样品适用范围广等优点,但仪器价格高、高效液相色谱法衍生副产物以及衍生物水解会造成干扰等不足限制了其使用<sup>[3,5,10]</sup>。高效液相色谱结合荧光检测器(high-performance liquid chromatography fluorescence detection, HPLC-FLD)法测定氨基酸含量具有高特异性、高灵敏度,简化了烦

琐的前处理步骤,缩短前处理时间,且无需使用强碱和接触高温,安全性更高等优点, Fang等<sup>[11]</sup>采用HPLC-FLD法实现茶鲜叶和干茶中18种游离氨基酸的靶向检测为本研究提供了参考。前期研究表明,不同产地<sup>[9]</sup>、不同品种<sup>[12]</sup>、不同干燥方式<sup>[13]</sup>、不同采收期<sup>[14]</sup>等因素对桑叶中氨基酸含量影响较大,为此,本研究对重庆市3个品种共17个不同产地桑叶集中在10月采集并于45℃烘干至恒重,利用HPLC-FLD法测定不同桑叶样品中18种游离氨基酸的积累差异,结合TAV分析、SPSS软件相关统计分析技术综合评价不同产地桑 *Morus alba* L.、华桑 *M. cathayana* Hemsl. 和鸡桑 *M. australis* Poi. 3种桑叶中游离氨基酸的营养与风味特征,进而对桑属资源利用及其品质形成提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

LC-20AT 高效液相色谱仪(配置RF-20A检测器,日本岛津公司);ME215S型分析天平(赛多利斯公司,精度值0.000 01 g)。17种氨基酸混标(1.000 mmol/L,坛墨质检科技股份有限公司,批号:BWT30103-1-C-1); $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)(纯度:99.2%,坛墨质检科技股份有限公司,批号:012-24861);6-氨基喹啉-N-羧基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯、盐酸三乙胺、无水硼砂、盐酸氢二钠、盐酸二氢钾、盐酸、乙腈(其中乙腈为色谱纯,其余均为分析纯),水为Milli-Q制得的超纯水。

### 1.2 试验材料

不同品种桑叶均于2018年10月采集自重庆市相关区县,共17批(见表1),经重庆三峡学院生物与食品工程学院周浓教授鉴定分别为桑科植物桑 *M. alba* L.、华桑 *M. cathayana* Hemsl. 和鸡桑 *M. australis* Poir. 的干燥叶。将叶洗净后于45℃烘干至恒质量,粉碎,过80目筛,密封储存于4℃环境,待用。

### 1.3 溶液制备

#### 1.3.1 对照溶液的制备

精密称取 $\gamma$ -氨基丁酸0.006 62 g置10 mL容量瓶中,加水溶解并稀释至刻度,摇匀,精密量取155

表 1 不同品种桑叶来源

Table 1 Sources of mulberry leaves of different cultivars

编号 No.	种类 Type	采集地点 Collection location	编号 No.	种类 Type	采集地点 Collection location
S1	桑 <i>M. alba</i>	重庆市万州区分水镇	S10	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市开州区大进镇
S2	桑 <i>M. alba</i>	重庆市云阳县双河镇	S11	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市云阳县双河镇
S3	桑 <i>M. alba</i>	重庆市奉节县竹园镇	S12	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市万州区分水镇
S4	华桑 <i>M. cathayana</i>	重庆市云阳县双河镇	S13	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市奉节县竹园镇
S5	华桑 <i>M. cathayana</i>	重庆市奉节县竹园镇	S14	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市南岸区黄桷垭镇
S6	华桑 <i>M. cathayana</i>	重庆市开州区大进镇	S15	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市巴南区安澜镇
S7	华桑 <i>M. cathayana</i>	重庆市巴南区安澜镇	S16	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市北碚区天生街道
S8	华桑 <i>M. cathayana</i>	重庆市南岸区黄桷垭镇	S17	鸡桑 <i>M. australis</i>	重庆市开州区临江镇
S9	华桑 <i>M. cathayana</i>	重庆市开州区临江镇			

$\mu\text{L}$  与 17 种氨基酸混标 1.00 mL 置 2 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,制成 500 nmol/mL 的混合对照溶液。

### 1.3.2 供试品溶液的制备

取桑叶粉末 0.400 g,置 250 mL 具塞锥形瓶中,精密加入煮沸纯净水 50 mL,混匀,95 °C 水浴提取 10 min(每隔 5 min 摇匀一次),取出,趁热抽滤,取适量样品溶液过 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜,即得。

### 1.3.3 氨基酸的衍生化

分别提取样品溶液与标准工作溶液各 100  $\mu\text{L}$ ,加入衍生缓冲溶液 800  $\mu\text{L}$ 、衍生试剂 100  $\mu\text{L}$ (缓冲溶液和衍生试剂制备见 GB/T30987-2020(第二法)),涡旋混合 10 s,加盖密封于进样瓶中,室温下静置 1 min,转移至 55 °C 烘箱中放置 10 min,取出,

室温下静置 30 min 后,待测。

### 1.4 色谱条件

氨基酸测定方法依据 GB/T30987-2020(第二法),HPLC 条件:Waters XBridge C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm,5  $\mu\text{m}$ );流动相 A 为 80 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液(800 mmol/L 磷酸二氢钾 190 mL,800 mmol/L 磷酸氢二钠 10 mL,1 mol/L 盐酸三乙胺 20 mL,110 mL 乙腈,用超纯水定容至 2 000 mL),流动相 B 为 80 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液(800 mmol/L 磷酸二氢钾 200 mL,加入超纯水 500 mL,乙腈 1 000 mL,用超纯水定容至 2 000 mL);流.速为 1.0 mL/min;柱温 35 °C;激发波长 250 nm,发射波长 395 nm;进样量 5  $\mu\text{L}$ 。色谱图见图 1,各成分峰形尖锐,分离度良好。

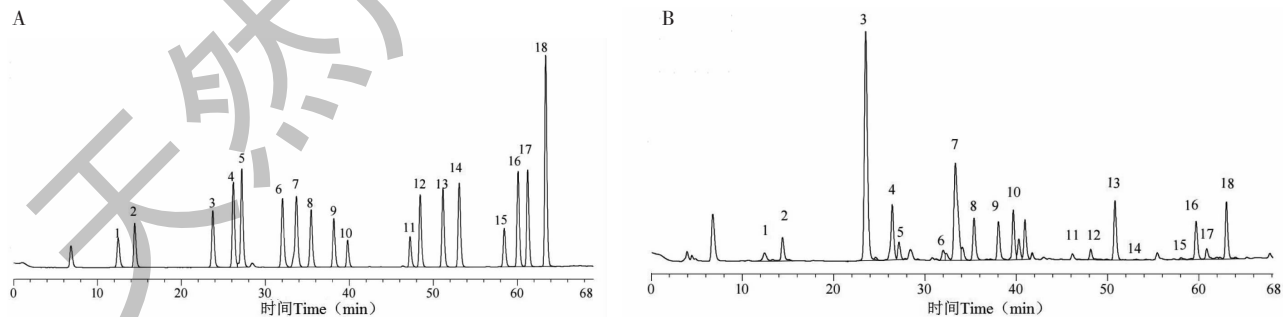


图 1 氨基酸标准品(A)与桑叶样品(B)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of amino acids standard (A) and mulberry sample (B)

注:1. 天冬氨酸(Asp);2. 谷氨酸(Glu);3. 丝氨酸(Ser);4. 甘氨酸(Gly);5. 组氨酸(His);6. 精氨酸(Arg);7. 苏氨酸(Thr);8. 丙氨酸(Ala);9.  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA);10. 脯氨酸(Pro);11. 胱氨酸(Cys);12. 酪氨酸(Tyr);13. 缬氨酸(Val);14. 甲硫氨酸(Met);15. 赖氨酸(Lys);16. 异亮氨酸(Iso);17. 亮氨酸(Leu);18. 苯丙氨酸(Phe)。Note:1. Aspartic acid (Asp);2. Glutamic acid (Glu);3. Serine (Ser);4. Glycine (Gly);5. Histidine (His);6. Arginine (Arg);7. Threonine (Thr);8. Alanine (Ala);9.  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA);10. Proline (Pro);11. Cystine (Cys);12. Tyrosine (Tyr);13. Valine (Val);14. Methionine (Met);15. Lysine (Lys);16. Isoleucine (Iso);17. Leucine (Leu);18. Phenylalanine (Phe)。

## 1.5 方法学验证

### 1.5.1 标准曲线、检出限和定量限

精密吸取“1.3.1”项下混合对照溶液,逐级稀释成浓度为 10、20、50、100、250、500 nmol/mL 标准曲线系列溶液,按照“1.3.3”项下色谱条件分析,以各对照品峰面积( $Y$ )与其相应的质量浓度( $X$ )绘制标准曲线,得到各游离氨基酸线性方程及相关系数。

### 1.5.2 精密度试验

取同一混合对照品溶液,按“1.3.3”项下方法连续进样 6 次,记录各氨基酸色谱峰面积并计算 RSD 值。

### 1.5.3 重复性试验

精密称取 S1(重庆市万州区分水镇)样品 0.400 g,平行 6 份,按照“1.3.2”项下制备供试品溶液,并按“1.3.3”项下的色谱条件进样测定,记录 18 种氨基酸峰面积并计算 RSD 值。

### 1.5.4 稳定性试验

精密称取 S1(重庆市万州区分水镇)样品 0.400 g,按照“1.3.2”项下制备供试品溶液,并按“1.3.3”项下色谱条件在 0、2、6、12、24、32、48 h 内进样测定,记录各氨基酸色谱峰面积并计算 RSD 值。

## 1.6 TAV 分析

TAV 是样品中呈味物质的测定值与其滋味阈值之比,计算公式<sup>[15]</sup>如下,各游离氨基酸滋味阈值参考文献<sup>[16]</sup>。TAV 可反映单一化合物对整体滋味的贡献,当 TAV > 1 时,认为该物质对呈味有贡献,

而 TAV < 1 时,认为该物质对呈味贡献较小,由此确定桑叶主要的呈味氨基酸<sup>[15]</sup>。

$$TAV = \rho_1 / \rho_2$$

式中: $\rho_1$  为呈味氨基酸含量/(mg/100g); $\rho_2$  为该氨基酸滋味阈值/(mg/100 g)。

## 1.7 数据分析

采用 Excel 2016 软件计算 FAAs 数据的平均值、标准差及雷达图。采用 SPSS Statistics 27.0 软件通过单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)进行显著性分析,分析方法为 Duncan 多重范围检验, $P < 0.05$ ,差异显著, $P < 0.01$ ,差异极显著。采用 SPSS Statistics 27.0 软件中 Pearson 分析法进行相关系数矩阵直接检验,根据相关系数矩阵中相关系数反映的原始变量之间的线性相关程度进行适用性检验。游离氨基酸的综合评价采用 SPSS 27.0 软件进行游离氨基酸相关性分析和主成分分析;利用 SPSS 27.0 中系统聚类法对 17 份桑叶进行基于各游离氨基酸组分含量的聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 方法学验证

#### 2.1.1 标准曲线、检出限和定量限

游离氨基酸各成分的线性关系及  $R^2$  值见表 2,表明工作曲线线性关系良好。适用于游离氨基酸的含量测定,根据信噪比计算检出限( $R_{S/N} = 3$ )和定量限( $R_{S/N} = 10$ ),检出限为 0.008 ~ 0.046  $\mu\text{g/g}$ ,定量限为 0.027 ~ 0.154  $\mu\text{g/g}$ ,灵敏度高。

表 2 各氨基酸组分线性关系

Table 2 Linear relation of components of amino acids

组分 Component	线性回归方程 Equation of linear regression	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range (nmol/mL)
天冬氨酸 Aspartic acid	$Y = 42\ 256.7X$	0.999 8	10 ~ 500
谷氨酸 Glutamic acid	$Y = 52\ 527.7X$	0.999 9	10 ~ 500
丝氨酸 Serine	$Y = 72\ 788.4X$	0.999 8	10 ~ 500
甘氨酸 Glycine	$Y = 105\ 411X$	0.999 7	10 ~ 500
组氨酸 Histidine	$Y = 121\ 385X$	0.999 6	10 ~ 500
精氨酸 Arginine	$Y = 92\ 313.3X$	0.999 8	10 ~ 500
苏氨酸 Threonine	$Y = 106\ 630X$	0.999 8	10 ~ 500
丙氨酸 Alanine	$Y = 75\ 152.4X$	0.999 9	10 ~ 500
$\gamma$ -氨基丁酸 $\gamma$ -Aminobutyric acid	$Y = 60\ 923.6X$	0.999 9	9.87 ~ 493.5
脯氨酸 Proline	$Y = 31\ 201.9X$	0.999 8	10 ~ 500
胱氨酸 Cystine	$Y = 31\ 377.2X$	0.999 2	10 ~ 500
酪氨酸 Tyrosine	$Y = 82\ 499.1X$	0.999 5	10 ~ 500

续表 2(Continued Tab. 2)

组分 Component	线性回归方程 Equation of linear regression	相关系数 Correlation coefficient	线性范围 Linear range (nmol/mL)
缬氨酸 Valine	$Y = 98\ 602.7X$	0.999 9	10 ~ 500
甲硫氨酸 Methionine	$Y = 105\ 954X$	0.999 7	10 ~ 500
赖氨酸 Lysine	$Y = 48\ 157.4X$	0.999 6	10 ~ 250
异亮氨酸 Isoleucine	$Y = 116\ 840X$	0.999 9	10 ~ 250
亮氨酸 Leucine	$Y = 114\ 936X$	0.999 8	10 ~ 250
苯丙氨酸 Phenylalanine	$Y = 237\ 992X$	0.999 5	10 ~ 250

2.1.2 精密度试验

结果显示各氨基酸峰面积 RSD 值均在 0.3% ~ 2.1% 范围内,表明仪器精密度良好。

2.1.3 重复性试验

结果显示各氨基酸峰面积 RSD 值均在 0.5% ~ 2.8% 范围内,表明本方法重复性良好。

2.1.4 稳定性试验

结果显示各氨基酸峰面积 RSD 值均在 1.2% ~

2.5% 范围内,表明样品溶液至少在 48 h 内稳定性良好。

2.2 不同品种桑叶 FAAs 含量差异

取 17 份不同产地样品按照“1.3.2”项下方法制备供试品溶液,每组样品平行制备 3 份,按“1.3.3”项下色谱条件进行测定,计算出 18 种氨基酸的含量,以平均值 ± 标准偏差表示,结果见表 3。

表 3 三个品种不同产地桑叶中 FAAs 的含量 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 3 Content of FAAs in mulberry leaves of three varieties from different origins ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

氨基酸种类 Amino acid type	含量 Content (mg/100g)																
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17
必需氨基酸 Essential amino acids																	
苏氨酸 Threonine	33.20 ± 0.86	32.92 ± 0.56	33.78 ± 5.5	70.54 ± 1.74	96.22 ± 1.01	53.9 ± 1.28	72.5 ± 2.08	72.68 ± 2.00	95.77 ± 3.50	82.21 ± 2.64	66.09 ± 3.23	107.63 ± 2.1	76.83 ± 0.99	76.98 ± 1.53	123.8 ± 3.61	64.84 ± 3.08	65.73 ± 2.8
缬氨酸 Valine	18.19 ± 0.21	15.46 ± 0.10	10.44 ± 0.04	32.35 ± 0.64	55.73 ± 0.99	7.24 ± 0.13	72.03 ± 2.08	28.22 ± 1.01	51.25 ± 2.67	45.67 ± 0.61	29.64 ± 0.55	30.76 ± 0.35	37.47 ± 0.33	40.02 ± 0.49	101.64 ± 0.61	31.31 ± 1.07	13.56 ± 0.28
异亮氨酸 Isoleucine	11.94 ± 0.06	8.13 ± 0.15	4.25 ± 0.02	17.47 ± 0.2	27.11 ± 0.07	5.65 ± 0.22	33.62 ± 0.6	17.56 ± 0.12	26.45 ± 0.11	24.55 ± 0.17	14.32 ± 0.28	13.36 ± 0.23	18.65 ± 0.12	22.69 ± 0.28	47.75 ± 1.01	14.53 ± 0.32	8.74 ± 0.41
亮氨酸 Leucine	3.46 ± 0.05	1.52 ± 0.04	0.43 ± 0.04	5.00 ± 0.09	6.53 ± 0.10	4.15 ± 0.69	3.42 ± 0.05	15.35 ± 0.06	6.59 ± 0.06	0.68 ± 0.09	1.23 ± 0.07	4.86 ± 0.08	14.46 ± 0.25	5.99 ± 0.08	10.04 ± 0.11	4.63 ± 0.07	11.31 ± 0.11
苯丙氨酸 Phenylalanine	6.39 ± 0.03	9.88 ± 0.09	7.05 ± 0.03	12.41 ± 0.06	30.94 ± 0.58	2.41 ± 0.19	37.79 ± 0.36	7.23 ± 0.12	32.54 ± 0.83	30.72 ± 0.06	8.56 ± 0.08	7.06 ± 0.03	9.62 ± 0.06	5.49 ± 0.04	35.18 ± 0.48	9.32 ± 0.08	4.14 ± 0.03
赖氨酸 Lysine	1.13 ± 0.03	0.16 ± 0.01	0.80 ± 0.06	0.82 ± 0.01	0.95 ± 0.02	1.42 ± 0.04	3.17 ± 0.01	6.41 ± 0.05	2.77 ± 0.03	0.54 ± 0.04	3.67 ± 0.02	0.70 ± 0.06	6.03 ± 0.22	4.26 ± 0.06	4.18 ± 0.01	0.79 ± 0.01	4.30 ± 0.04
半必需氨基酸 Semi-essential amino acids																	
甲硫氨酸 Methionine	0.27 ± 0.01	0.52 ± 0.01	1.56 ± 0.03	3.59 ± 0.08	1.08 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.66 ± 0.02	0.59 ± 0.01	1.17 ± 0.02	4.49 ± 0.20	1.00 ± 0.03	0.64 ± 0.03	0.38 ± 0.01	1.08 ± 0.06	0	0.42 ± 0.02	0.30 ± 0.02
组氨酸 Histidine	3.45 ± 0.03	3.60 ± 0.07	5.99 ± 0.25	10.15 ± 0.03	14.59 ± 0.03	2.19 ± 0.58	25.85 ± 0.05	6.69 ± 0.12	16.30 ± 0.94	13.55 ± 0.19	9.21 ± 0.03	8.19 ± 0.06	7.11 ± 0.03	10.78 ± 0.05	22.6 ± 0.44	9.80 ± 0.13	1.43 ± 0.05
非必需氨基酸 Non-essential amino acids																	
精氨酸 Arginine	13.97 ± 0.38	0.86 ± 0.04	1.67 ± 0.07	6.70 ± 0.10	11.81 ± 0.24	3.35 ± 0.38	36.76 ± 0.01	19.93 ± 0.12	13.55 ± 0.21	4.34 ± 0.10	5.27 ± 0.34	4.64 ± 0.14	14.51 ± 0.29	16.47 ± 0.19	23.57 ± 0.56	10.7 ± 0.16	23.68 ± 0.28
天冬氨酸 Aspartic acid	1.12 ± 0.07	3.86 ± 0.04	8.12 ± 0.08	9.77 ± 0.17	10.71 ± 0.10	23.97 ± 0.44	42.83 ± 0.5	25.41 ± 0.34	16.84 ± 0.51	7.51 ± 0.24	11.76 ± 0.23	28.05 ± 0.27	16.89 ± 0.21	22.56 ± 0.34	51.26 ± 1.00	13.33 ± 0.36	78.75 ± 0.26
谷氨酸 Glutamic acid	60.32 ± 0.03	11.49 ± 0.03	23.01 ± 0.03	21.92 ± 0.02	31.24 ± 0.56	63.67 ± 0.50	87.42 ± 0.58	69.42 ± 0.57	32.62 ± 0.04	15.48 ± 0.04	19.74 ± 0.31	27.68 ± 1.02	80.62 ± 0.97	65.04 ± 0.39	114.27 ± 1.02	25.23 ± 0.42	50.8 ± 0.08
丝氨酸 Serine	90.06 ± 1.14	75.59 ± 2.29	178.11 ± 5.77	241.77 ± 10	342.72 ± 10	81.99 ± 0.44	661.77 ± 0.5	260.73 ± 5.77	338.83 ± 5.77	267.75 ± 2.33	192.79 ± 0.12	165.25 ± 2.14	174.1 ± 0.02	352.00 ± 10.00	631.94 ± 10.43	191.91 ± 4.05	99.76 ± 0.05
甘氨酸 Glycine	9.41 ± 0.02	5.75 ± 0.02	11.07 ± 0.02	18.23 ± 0.01	24.76 ± 0.01	8.17 ± 0.49	48.91 ± 0.05	16.72 ± 0.06	20.24 ± 0.01	20.5 ± 0.04	18.1 ± 0.03	23.75 ± 0.02	19.09 ± 0.02	28.34 ± 0.53	38.02 ± 0.11	23.89 ± 0.56	7.82 ± 0.02



续表 4 (Continued Tab. 4)

类别 Category	阈值 Threshold value	S1 S2 S3 S4 S5 S6 S7 S8 S9 S10 S11 S12 S13 S14 S15 S16 S17																
		缬氨酸 Valine	40	0.45	0.39	0.26	0.81	1.39	0.18	1.8	0.71	1.28	1.14	0.74	0.77	0.94	1	2.54
异亮氨酸 Isoleucine	90	0.13	0.09	0.05	0.19	0.3	0.06	0.37	0.2	0.29	0.27	0.16	0.15	0.21	0.25	0.53	0.16	0.1
亮氨酸 Leucine	190	0.02	0.01	0	0.03	0.03	0.02	0.02	0.08	0.03	0	0.01	0.03	0.08	0.03	0.05	0.02	0.06
精氨酸 Arginine	50	0.28	0.02	0.03	0.13	0.24	0.07	0.74	0.4	0.27	0.09	0.11	0.09	0.29	0.33	0.47	0.21	0.47
甲硫氨酸 Methionine	30	0.01	0.02	0.05	0.12	0.04	0.01	0.02	0.02	0.04	0.15	0.03	0.02	0.01	0.04	0	0.01	0.01
TAV 总和 Total TAV	-	0.89	0.53	0.39	1.28	2	0.34	2.95	1.41	1.91	1.65	1.05	1.06	1.53	1.65	3.59	1.18	0.98
总含量 Total content (mg/100g)	-	62.98	41.27	28.22	87.68	147.57	43.93	222.16	141.55	127.35	108.04	94.73	78.48	150.98	128.92	259.21	77.08	114.28
相对含量 Relative content (%)	-	15.37	17.28	7.22	14.87	16.53	11.49	12.93	18.46	14.95	17.1	17.86	14.37	22.15	14.75	13.45	14.64	15.4
鲜味氨基酸 Umami amino acids																		
天冬氨酸 Aspartic acid	100	0.01	0.04	0.08	0.1	0.11	0.24	0.43	0.25	0.17	0.08	0.12	0.28	0.17	0.23	0.51	0.13	0.79
谷氨酸 Glutamic acid	30	2.01	0.38	0.77	0.73	1.04	2.12	2.91	2.31	1.09	0.52	0.66	0.92	2.69	2.17	3.81	0.84	1.69
赖氨酸 Lysine	50	0.02	0	0.02	0.02	0.02	0.03	0.06	0.13	0.06	0.01	0.07	0.01	0.12	0.09	0.08	0.02	0.09
TAV 总和 Total TAV	-	2.04	0.42	0.87	0.85	1.17	2.39	3.4	2.69	1.32	0.61	0.85	1.21	2.98	2.49	4.4	0.99	2.57
总含量 Total content (mg/100g)	-	62.58	15.51	31.93	32.51	42.91	89.05	133.41	101.22	52.24	23.53	35.16	56.44	103.53	91.86	169.72	39.35	133.84
相对含量 Relative content (%)	-	15.27	6.49	8.17	5.51	4.81	23.28	7.76	13.2	6.13	3.72	6.63	10.33	15.19	10.51	8.81	7.47	18.04
芳香族氨基酸 Aromatic amino acids																		
胱氨酸 Cystine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
酪氨酸 Tyrosine	260	0.02	0.01	0.02	0.04	0.07	0.01	0.09	0.02	0.06	0.05	0	0.03	0.04	0.03	0.1	0.03	0
苯丙氨酸 Phenylalanine	90	0.15	0.08	0.03	0.15	0.24	0.13	0.36	0.53	0.15	0.15	0.16	0.19	0.48	0.19	0.44	0.09	0.26
TAV 总和 Total TAV	-	0.17	0.09	0.05	0.19	0.31	0.14	0.45	0.55	0.21	0.20	0.16	0.22	0.52	0.22	0.54	0.12	0.26
总含量 Total content (mg/100g)	-	47.19	27.64	19.63	26.58	47.49	18.17	60.08	53.99	31.83	29.36	18.89	26.46	54.22	25.51	69.33	17.08	30.08
相对含量 Relative content (%)	-	11.52	11.57	5.02	4.51	5.32	4.75	3.5	7.04	3.74	4.65	3.56	4.84	7.95	2.92	3.6	3.24	4.05
甜味氨基酸 Sweet amino acids																		
丝氨酸 Serine	150	0.6	0.5	1.19	1.61	2.28	0.55	4.41	1.74	2.26	1.79	1.29	1.1	1.16	2.35	4.21	1.28	0.67
甘氨酸 Glycine	130	0.07	0.04	0.09	0.14	0.19	0.06	0.38	0.13	0.16	0.16	0.14	0.18	0.15	0.22	0.29	0.18	0.06
组氨酸 Histidine	20	0.17	0.18	0.3	0.51	0.73	0.11	1.29	0.33	0.82	0.68	0.46	0.41	0.36	0.54	1.13	0.49	0.07

续表 4(Continued Tab. 4)

类别 Category	阈值 Threshold value	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17
酪氨酸 Tyrosine	260	0.13	0.13	0.13	0.27	0.37	0.21	0.28	0.28	0.37	0.32	0.25	0.41	0.3	0.3	0.48	0.25	0.25
丙氨酸 Alanine	60	0.23	0.12	0.05	0.22	0.36	0.2	0.54	0.8	0.23	0.22	0.24	0.28	0.72	0.29	0.66	0.14	0.4
脯氨酸 Proline	300	0.31	0.09	0.25	0.3	0.49	0.28	1.52	0.35	0.46	0.19	0.29	0.24	0.29	0.51	1.93	0.31	0.95
TAV 总和 Total TAV	-	1.51	1.06	2.01	3.05	4.42	1.41	8.42	3.63	4.3	3.36	2.67	2.62	2.98	4.21	8.7	2.65	2.4
总含量 Total content(mg/100g)	-	244.11	151.54	307.19	443.59	645.44	240.96	1297.23	510.69	621.61	453.6	387.25	394.55	406.16	639.32	1433.48	392.29	483.49
相对含量 Relative content(%)	-	59.58	63.44	78.59	75.25	72.29	63	75.5	66.59	72.96	71.79	73.01	72.24	59.59	73.15	74.38	74.49	65.16

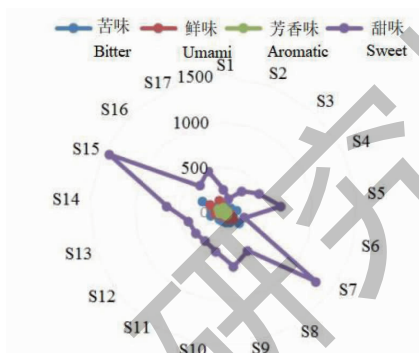


图 2 不同产地与品种桑叶 FAAs 呈味特征雷达图

Fig. 2 Radar map of FAAs flavor characteristics of mulberry leaves from different producing areas and varieties

TAV 是样品中呈味物质成分的测定值与呈味物质滋味阈值之比,FAAs 作为可呈味的基础成分之一,可采用 TAV 对 FAAs 的滋味进行评价。参考相关文献<sup>[17]</sup>,氨基酸的两种呈现形式为游离态和非游离态,游离态氨基酸为主要的呈味成分,根据游离氨基酸滋味特征可将桑叶 FAAs 分为苦味氨基酸 (Val、Ile、Leu、Arg、Met)、鲜味氨基酸 (Asp、Glu、Lys)、芳香族氨基酸 (Cys、Tyr、Phe) 和甜味氨基酸 (Ser、Gly、His、Thr、Ala、Pro) 四大类。因 TAV 可反映单一氨基酸对桑叶整体滋味的贡献,当 TAV > 1 时,认为该氨基酸对呈味有贡献,而 TAV < 1 时,认为该氨基酸对呈味贡献小。由表 4 可知,苦味氨基酸中 TAV 大于 1 的氨基酸为 Val,其中不同产地不同品种桑叶提供苦味氨基酸 Val 顺序依次为: S15 > S7 > S5 > S9 > S10; 鲜味氨基酸中 TAV 大于 1 的氨基酸为 Glu,其中不同产地不同品种桑叶提供鲜味氨基酸 Glu 顺序依次为: S15 > S7 > S13 > S8 > S14 > S6 > S1 > S17 > S9 > S5; 芳香族氨基酸 TAV 和 TAV

总和均小于 1,对滋味贡献较小;甜味氨基酸中 TAV 大于 1 的氨基酸为 Ser、His、Pro,其中不同产地不同品种的桑叶除 S1、S2、S6 和 S17 外,提供甜味氨基酸 Ser 的 TAV 值均大于 1,S15 的 TAV 值高达 4.21;产自巴南区安澜镇的华桑和鸡桑 (S7 和 S15) 两个品种桑叶中含有的 His 提供甜味氨基酸,S15 含有的 Pro 提供甜味氨基酸。通过比较不同产地不同品种桑叶 FAAs 的 TAV 总值及图 2 FAAs 呈味特征雷达图可知,氨基酸呈味特征表现为甜味氨基酸 > 苦味氨基酸 > 鲜味氨基酸 > 芳香味氨基酸,且 S15、S7 甜味氨基酸含量显著高于其他品种和产地桑叶样品。甜味氨基酸不仅能掩盖苦涩味,同时能与鲜味氨基酸协同作用,起到增香增鲜的效果<sup>[15]</sup>,重庆不同产地 3 个品种桑叶甜味氨基酸含量最高,具有开发利用潜力。

#### 2.4 相关性分析

相关性分析采用文献<sup>[18,19]</sup>报道的方法,利用 SPSS 27.0 软件对不同品种不同产地桑叶中 18 种氨



氨基酸含量进行相关性分析见表 5,由分析结果可知,有 101 对氨基酸呈极显著正相关( $P < 0.01$ ),且多种氨基酸组分之间均呈正相关,说明各组分氨基酸含量之间具有较强的相关性。当数值越接近 1,正相关程度越大,相关系数达到 0.9 以上的分别有 Gly

与 Ser、His、Ile 与 Tyr、Val、His、Ser、His 与 Ser、Gly、Ile、Tyr、Val、Tyr 与 Ile、His、Phe、Val,其中 Cys 与其他组分各氨基酸之间均为负相关性,Arg 与大多数氨基酸相关性极显著。

表 5 不同品种桑叶中 FAAs 的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of FAAs in mulberry leaves of different cultivars

氨基酸 Amino acid	Asp	Glu	Ser	Gly	His	Arg	Thr	Ala	GABA	Pro	Cys	Tyr	Val	Met	Lys	Ile	Leu	Phe
Asp	-																	
Glu	0.537 **	-																
Ser	0.327 *	0.558 **	-															
Gly	0.280 *	0.493 **	0.924 **	-														
His	0.173	0.367 **	0.954 **	0.920 **	-													
Arg	0.669 **	0.747 **	0.686 **	0.649 **	0.550 **	-												
Thr	0.372 **	0.320 *	0.604 **	0.626 **	0.629 **	0.319 *	-											
Ala	0.473 **	0.765 **	0.471 **	0.429 **	0.324 *	0.686 **	0.470 **	-										
GABA	0.648 **	0.758 **	0.660 **	0.610 **	0.523 **	0.806 **	0.527 **	0.883 **	-									
Pro	0.721 **	0.736 **	0.807 **	0.701 **	0.687 **	0.800 **	0.479 **	0.519 **	0.740 **	-								
Cys	-0.317 *	-0.074	-0.312 *	-0.406 **	-0.323 *	-0.133	-0.624 **	-0.315 *	-0.384 **	-0.126	-							
Tyr	0.157	0.414 **	0.879 **	0.815 **	0.922 **	0.501 **	0.673 **	0.373 **	0.490 **	0.667 **	-0.208	-						
Val	0.275	0.525 **	0.922 **	0.861 **	0.926 **	0.571 **	0.759 **	0.497 **	0.645 **	0.765 **	-0.301 *	0.932 **	-					
Met	-0.371 **	-0.507 **	0.007	-0.027	0.128	-0.361 **	0.033	-0.317 *	-0.296 *	-0.315 *	-0.184	0.096	0	-				
Lys	0.487 **	0.664 **	0.284 *	0.227	0.11	0.605 **	0.277 *	0.823 **	0.790 **	0.373 **	-0.381 **	0.038	0.251	-0.376 **	-			
Ile	0.271	0.552 **	0.915 **	0.832 **	0.904 **	0.597 **	0.753 **	0.530 **	0.660 **	0.747 **	-0.293 *	0.911 **	0.988 **	0.036	0.301 *	-		
Leu	0.488 **	0.591 **	0.122	0.074	-0.030	0.503 **	0.390 **	0.836 **	0.644 **	0.276	-0.345 *	0.096	0.197	-0.387 **	.797 **	0.245	-	
Phe	0.102	0.215	0.806 **	0.693 **	0.896 **	0.423 **	0.568 **	0.244	0.415 **	0.573 **	-0.162	0.923 **	0.849 **	0.235	-0.037	0.841 **	-0.061	-

注: \*显著相关( $P < 0.05$ ), \*\*极显著相关( $P < 0.01$ )。

Note: \*Significant correlation ( $P < 0.05$ ), \*\*Extremely significant correlation ( $P < 0.01$ ).

## 2.5 主成分分析

### 2.5.1 主成分筛选及贡献率

利用 SPSS 27.0 对原始数据进行标准化处理后,再进行主成分分析,得到主成分特征值及贡献率见表 6。如表 6 所示:提取到 3 个主成分(特征值 > 1),前 2 个主成分累积贡献率达 75.26%,主成分 1

特征值 9.851 贡献率 54.73%,主要影响因子为丝氨酸、酪氨酸、异亮氨酸(成分得分系数 > 0.09),主成分 2 特征值 3.695 贡献率 20.53%,主要影响因子为赖氨酸、亮氨酸(成分得分系数 > 0.19),主成分 3 特征值 1.556 贡献率 8.65%,主要影响因子为谷氨酸、精氨酸、脯氨酸、胱氨酸(成分得分系数 > 0.18)。

表 6 主成分的特征值及方差贡献率

Table 6 Eigenvalues and variance contribution rates of principal components

主成分编号 Principal component number	特征值 Initial eigenvalue	方差贡献 Variance contribution (%)	累积方差贡献率 Cumulative variance contribution rate (%)
1	9.851	54.727	54.727
2	3.695	20.53	75.257
3	1.556	8.645	83.902

### 2.5.2 主成分得分、综合评分及排序

利用每个主成分所对应的特征值占所提取主成分总特征值之和的比例作为权重得到综合主成分表达式为  $F_{\text{综}} = 0.652F_1 + 0.245F_2 + 0.103F_3$ , 并根据综合得分情况对不同产地桑叶 FAAs 成分进行排序

(见表7)。结果显示:重庆市巴南区安澜镇鸡桑(S15)、重庆市巴南区安澜镇华桑(S7)、重庆市南岸区黄桷垭镇华桑(S8)的样品综合得分排名前3, 不同产地三种桑叶的综合F值为-0.816~1.61, 表明不同产地三种桑叶氨基酸差异明显。

表7 样品主成分得分、综合得分及其排序

Table 7 Principal component score, comprehensive score and ranking of samples

样品编号 Sample number	主成分因子 Principal component factor			$F_{\text{综}}$	综合排序 Overall ranking
	$F_1$	$F_2$	$F_3$		
S1	-0.95	0.25	2.41	-0.31	9
S2	-1.311	-0.289	1.062	-0.816	17
S3	-1.169	-0.453	0.629	-0.809	16
S4	-0.422	-0.859	-0.956	-0.584	14
S5	0.476	-0.91	-0.183	0.068	7
S6	-0.927	0.631	0.156	-0.434	13
S7	1.957	-0.571	1.504	1.291	2
S8	0.364	1.769	-0.971	0.571	3
S9	0.405	-0.801	-0.563	0.01	8
S10	-0.152	-1.755	-1.248	-0.658	15
S11	-0.494	-0.047	-0.417	-0.377	11
S12	-0.312	-0.191	-0.878	-0.341	10
S13	0.404	1.488	-0.988	0.526	4
S14	0.257	0.261	-0.304	0.2	6
S15	2.405	-0.129	0.71	1.61	1
S16	-0.442	-0.359	-0.145	-0.391	12
S17	-0.088	1.966	0.181	0.443	5

### 2.6 聚类分析

利用 SPSS 27 聚类分析三个品种不同产地桑叶的氨基酸成分, 见图3可知, 当欧式距离大于20小

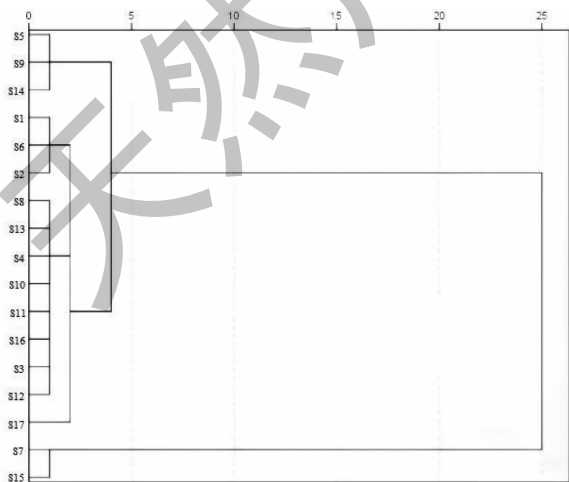


图3 样品聚类分析

Fig. 3 Cluster analysis of samples

于25时, 样品可分为2类, 其中重庆市巴南区安澜镇鸡桑(S15)、重庆市巴南区安澜镇华桑(S7)为第1类, S5, S9, S14, S1, S2, S3, S4, S6, S8, S10, S11, S12, S13, S16, S17为第2类。结合数据及结果分析, 桑叶氨基酸的品质与差异可能存在明显的地域属性。

### 3 讨论与结论

桑叶中含有丰富营养成分和生物活性物质, 且富含多种氨基酸, 其功能性作用以及生物活性被广泛研究。Zhang<sup>[20]</sup>的研究表明桑叶中氨基酸含量与油菜花粉类似, 其中包含了人体所需必需氨基酸8种, 栽种资源丰富, 是良好的开发功能性食品植物资源; Deng等<sup>[21]</sup>对不同产地桑叶质量进行评价, 测得不同产地桑叶化学种类不存在明显差异而成分含量有所差异, 反映了不同产地桑叶的化学成分特征。

本实验对桑、华桑、鸡桑三个品种、不同产地的桑叶样品 FFAs 进行研究, 最高总氨基酸含量可达1 927.33 mg/100g, 其中必需氨基酸、半必需氨基酸、非必需氨基酸含量均较高, 具有开发氨基酸功能

性营养食品的价值。TAV 值作为提供滋味的参考指标,通过氨基酸 TAV 分析,三个品种不同产地桑叶 TAV 值大于 1 的氨基酸较少,尽管其氨基酸对呈味的贡献值较少,但并非对滋味没有贡献,滋味的构成不全源于滋味组分 TAV 大于 1 贡献值的因素,很多滋味组分在桑叶中具有多个滋味属性,还需对各个氨基酸组分做进一步研究才能揭示其间存在的相互作用。通过主成分分析得出不同产地三种桑叶氨基酸差异明显,其中重庆市巴南区安澜镇地区桑叶氨基酸含量和品质最高。因此,在建立桑叶栽种基地时可根据该地区的地理及环境优势,选择鸡桑和华桑品种进行广泛栽种,该地区桑叶是进一步开发利用的优选品种。本研究对不同品种及不同产地桑叶中氨基酸成分的研究,为桑叶产品品质的评价、功能性产品的开发利用提供了参考依据。

#### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 311.
- 2 Deng ZH, Yu YF, Zheng SY, et al. Analysis and evaluation of amino acid composition in mulberry leaves [J]. Newslett Seric Tea (蚕桑茶叶通讯), 2022, 222: 6-10.
- 3 Ge JB, Zhai BQ, Sheng Y, et al. Progress in analyzing and fingerprinting functional components in mulberry leaf [J]. Acta Sericol Sin (蚕业科学), 2018, 44: 156-165.
- 4 Zhang XX, Zhang X, Tong L, et al. Summary of free amino acids to improve crop flavor quality [J]. J China Agric Univ (中国农业大学学报), 2022, 27: 73-81.
- 5 Chen X, Liang KH, Zhu H, et al. Analysis method and application of free amino acids [J]. J Food Saf Qual (食品安全质量检测学报), 2021, 12: 7298-7304.
- 6 Xia YL, Xu L, Yang FC. Determination of the  $\gamma$ -aminobutyric acid in mulberry leaves [J]. Chin Agric Sci Bull (中国农学通报), 2009, 25: 209-212.
- 7 Yang WW, Li K, Wang TT, et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction process of mulberry leaf protein and analysis of its amino acid composition [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2022, 43: 106-113.
- 8 Zhen ZX, Yang GM, Gao YX, et al. Content variation of free amino acid in varieties of mulberry leaves at different growth stages [J]. North Seric (北方蚕业), 2014, 35: 10-12.
- 9 Lu CY, Li JS, Di LQ, et al. Determination and multivariate statistical analysis of amino acids, nucleosides and alkaloid in mulberry leaves from different origins [J]. Chin J Mod Appl Pharm (中国现代应用药学), 2020, 37: 1052-1057.
- 10 Zhang CY, Huang XL, Huang WP, et al. Determination of 17 amino acids in different varieties of mulberry branches by UPLC with precolumn derivatization [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2022, 48: 277-283.
- 11 Fang SM, Zhang T, Yang T, et al. Targeted analysis of free amino acid accumulation characteristics of ancient tea trees based on HPLC-FLD [J]. Jiangsu J Agric Sci (江苏农业学报), 2022, 38: 1070-1077.
- 12 Yang Z, Cheng QS, Zhang Q, et al. Difference of amino acid content between mulberry and mulberry leaves of different varieties [J]. J Food Safe Qual (食品安全质量检测学报), 2018, 9: 4534-4538.
- 13 Sheng JF, Chen K, Wang XF, et al. Analysis of physical properties, amino acids and volatile aroma components of mulberry leaf powder by different drying methods [J]. Sci Tech Food Ind (食品工业科技), 2022, 43: 108-118.
- 14 Zhang J, Yan XP, Gong X, et al. Content determination and principal component analysis of free amino acids in leaves of 15 mulberry varieties collected in different seasons [J]. Acta Sericol Sin (蚕业科学), 2016, 42: 131-142.
- 15 Fan TT, Zhan XY, Li XB, et al. Principal component analysis for comprehensive evaluation of free amino acids in cultivated and wild Morchella [J]. Food Sci (食品科学), 2022, 43: 295-302.
- 16 Kato H, Rhue M, Nishimura T. Role of free amino acids and peptides in food taste [M]. Washington, DC: American Chemical Society, 1989: 158-174.
- 17 Liu W, Deng CY, Chen X, et al. Determination of free amino acid and volatile aromatic compound in *Camellia tachangensis* [J]. J Zhejiang Forest Sci Technol (浙江林业科技), 2021, 41: 1-14.
- 18 Lin M, Zhang WQ, Wang TY, et al. Study on the composition of free amino acid and the effects on fruit flavor quality in 15 hybrid citrus varieties [J]. J Fruit Sci (果树学报), 2022, 39: 352-365.
- 19 Yang Y, Ma S, Qiu JY, et al. Analysis of the contents of polyphenol and amino acid of *Pleurotus ostreatus* in different media [J]. Mod Food Sci Technol (现代食品科技), 2022, 38: 271-281.
- 20 Zhang PY. Exploration of edible value of mulberry leaf [J]. Mod Hortic (现代园艺), 2016, 39: 216.
- 21 Deng MH, Lu J, Chai RP, et al. Quality evaluation of Mori Folium from different origins based on fingerprint, cluster analysis and principal component analysis [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2020, 31: 1139-1142.