

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250205003

引用格式: 何嘉怡, 吴小艳, 王鹏泽, 等. 固相萃取-高效液相色谱-蒸发光散射法检测药食同源食用酵素中 γ -氨基丁酸含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(9): 199–205.

HE JY, WU XY, WANG PZ, *et al.* Determination of γ -aminobutyric acid content in edible enzymes from medicinal and edible homologous sources by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(9): 199–205. (in Chinese with English abstract).

固相萃取-高效液相色谱-蒸发光散射法检测药食同源食用酵素中 γ -氨基丁酸含量

何嘉怡¹, 吴小艳¹, 王鹏泽¹, 张松姿¹, 贾福怀^{1,2}, 陆伟^{1*}

(1. 宁波御坊堂生物科技有限公司, 宁波 315012; 2. 浙江大医德美生物科技有限公司, 宁波 315012)

摘要: **目的** 建立一种基于固相萃取-高效液相色谱-蒸发光散射法(solid phase extraction-high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection, SPE-HPLC-ELSD)快速检测药食同源食用酵素中 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)含量的分析方法。**方法** 选取西洋参发酵液为代表样品, 经离心(8000 r/min, 10 min)、超声提取(10 min, 25 °C)后, 对比不净化、分散固相萃取净化、亲水-亲脂平衡(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)通过式固相萃取净化3种不同的处理方式优化样品前处理过程, 开发优化HPLC-ELSD仪器方法实现含量准确测定, 并推广应用于其他多种药食同源食用酵素产品中的 GABA 含量测定。**结果** 选用优化后的 SPE-HPLC-ELSD 测定 GABA, 在 50–2000 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内线性指标良好($r=0.999$), 加标回收率在 85.93%–96.30%, 重复性相对标准偏差为 0.87% ($n=6$)。**结论** 本方法高效、准确, 适用于多种药食同源食用酵素中 GABA 定量分析, 也可为复杂基质下的 GABA 测定及强极性、低紫外吸收小分子化合物检测提供新的途径和参考。**关键词:** 药食同源; γ -氨基丁酸; 食用酵素; 固相萃取-高效液相色谱-蒸发光散射法; 固相萃取

Determination of γ -aminobutyric acid content in edible enzymes from medicinal and edible homologous sources by solid phase extraction-high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection

HE Jia-Yi¹, WU Xiao-Yan¹, WANG Peng-Ze¹, ZHANG Song-Zi¹, JIA Fu-Huai^{1,2}, LU Wei^{1*}

(1. Ningbo Yufangtang Biotechnology Co., Ltd., Ningbo 315012, China;
2. Zhejiang Davidemi Biotechnology Co., Ltd., Ningbo 315012, China)

ABSTRACT: Objective To establish a rapid analysis method based on solid phase extraction-high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection (SPE-HPLC-ELSD) for determining the γ -aminobutyric acid (GABA) content in edible enzymes from medicinal and edible homologous sources. **Methods** Fermented panacis quinquefolii radix liquid was selected as a representative sample. After centrifugation (8000 r/min, 10 min)

收稿日期: 2025-02-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2201300)

第一作者: 何嘉怡(1992—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品、化妆品安全与功效评价。E-mail: 18892626459@qq.com

*通信作者: 陆伟(1990—), 男, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: 190980997@qq.com

and ultrasonic extraction (10 min, 25 °C), 3 kinds of different sample pretreatment methods—non-purification, dispersive solid phase extraction purification, and hydrophilic-lipophilic balance (HLB)-based solid phase extraction purification were compared and optimized. An optimized HPLC-ELSD instrumental method was developed to achieve accurate content determination. The method was then applied to determine the GABA content in other medicinal and edible homologous enzyme products. **Results** GABA was determined by optimized SPE-HPLC-ELSD. GABA showed a good linear relationship ($r=0.999$) in the mass concentration range of 50–2000 $\mu\text{g/mL}$. The recovery rate ranged from 85.93% to 96.30%, with a repeatability relative standard deviation of 0.87% ($n=6$). **Conclusion** This method is efficient and accurate, suitable for the quantitative analysis of GABA in various medicinal and edible homologous enzymes. It also provides a new approach and reference for GABA determination in complex matrices and for detecting small molecules with strong polarity and low ultraviolet absorption.

KEY WORDS: medicinal and edible homologous sources; γ -aminobutyric acid; edible enzymes; solid phase extraction-high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection; solid phase extraction

0 引言

药食同源食用酵素是指以国家发布的“药食同源”目录品种为原料,经过可控的微生物定向发酵过程为途径,制得含有特定生物活性成分的食用酵素类产品^[1-3]。药食同源经过微生物的定向发酵,相比于传统的炮制或水提工艺,不仅可以改善口感风味,同时在减毒增效、提高生物活性和利用率等方面均具有不可替代的优势^[4-8]。 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)是一种非蛋白类氨基酸近年来逐渐成为研究热点,尤其是在其生物合成、代谢途径、生理功能及食品应用等方面^[9-12]。其结构简单并无明显的紫外吸收,因此常规的分光光度法和液相色谱紫外检测法具有较大的局限,往往只能通过化学衍生、氨基酸分析仪或者液相色谱-质谱法等方法进行分析^[13-15],并常会遇到衍生效果不佳、实验重复性差、耗时及设备要求高等问题。建立科学的 GABA 检测方法对于提高研发效率和质量,确保其真实含量和有效性、安全性具有重要的现实意义和应用价值。

亲水-亲脂平衡(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)通过式固相萃取柱,使用时直接将样品提取液加载到 HLB 固相萃取柱上,通过液即为净化后的样品溶液,操作简便快捷,不需要换相操作过程及额外的有机溶剂已逐渐被广泛使用^[16-18]。蒸发光散射检测器能够针对低紫外吸收化合物的灵敏检测,作为一种通用紫外检测器的补充应用于液相色谱分析中,而且相比示差折光检测器,具有平衡时间短,可以采用梯度洗脱等优势;相比于电喷雾式检测器也具有测试成本低、稳定性好等优点^[19-24]。

本研究创新结合采用固相萃取-高效液相色谱-蒸发光散射法检测(solid phase extraction-high performance liquid chromatography-evaporative light scattering detection, SPE-HPLC-ELSD)的方式,针对基质较为复杂的药食同源食用酵素中的 GABA 进行分析检测,便于药食同源微生物发酵过程中的过程监控和成品成分分析。不仅可以为复杂基质状态下的 GABA 检测提供一条新的出路,同时也可以为药

食同源质量研究及产品控制过程中低紫外吸收小分子化合物的定性定量提供一种新的检测途径。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

1.1.1 仪器

Agilent 1260 高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); Alltech 3300 蒸发光散射检测器(美国 Alltech 公司); SBL-10DT 超声波恒温清洗机(宁波新芝生物科技有限公司); XH-C 型旋涡混合器(常州朗越仪器制造有限公司); ASE-12 手动固相萃取装置(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); ME 204 分析天平(精度 0.1 mg, 瑞士梅特勒-托利多公司); GWB-1 超纯水机(北京普析通用仪器有限公司); Eu210-5L 实验室高级发酵罐(安徽霍尔斯特工程技术有限公司); MLS-830L 高压蒸汽灭菌锅[普和希健康医疗器械(上海)有限公司]; VORTEX 22K 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); RE-3000B 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); PRiME HLB 通过式固相萃取柱(6 cc/200 mg)、Oasis HLB 分散固相萃取柱(6 cc/200 mg)[沃特世科技(上海)有限公司]; XSelect HSS T₃ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 3.5 μm)、XSelect HSS T₃ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)、XBridge C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)、XBridge C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm)、Atlantis T₃ 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)(美国 Waters 公司)。

1.1.2 样品与试剂

多种药食同源食用酵素样品由浙江大医德美有限公司研发制备。

三氟乙酸(色谱纯,北京沃凯生物科技有限公司); 甲醇(色谱纯,美国 TEDIA 公司); 水(超纯水,电阻率 $\geq 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$); GABA 标准品[含量为 99.0%,安谱云实验用品(上海)有限公司]

1.2 实验方法

1.2.1 药食同源食用酵素工艺流程图

本研究所用的药食同源食用酵素工艺流程图见图 1。

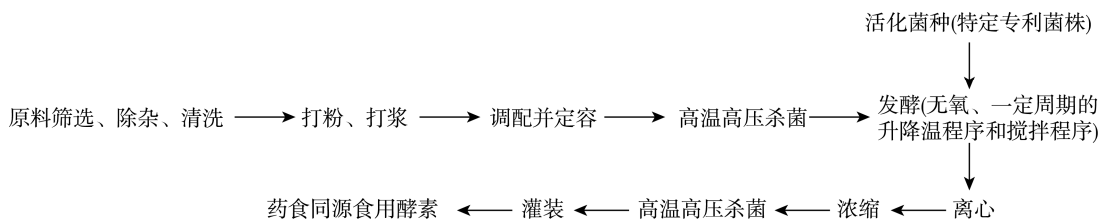


图1 工艺流程图

Fig.1 Process flow diagram

1.2.2 HPLC 色谱条件

色谱柱: Waters XSelect HSS T₃ 柱(4.6 mm×250 mm, 3.5 μ m); 进样体积 2 μ L; 柱温: 40 $^{\circ}$ C; 流动相流速 0.7 mL/min; ELSD 气化温度: 95 $^{\circ}$ C; 氮气流量: 1.8 L/min; 增益: 4; 运行时间: 35 min; 数据结果以外标对数法计算; 液相梯度洗脱程序和流动相如表 1 所示。

表1 梯度洗脱程序
Table 1 Gradient elution procedures

| 时间/min | 流动相 A (0.1%三氟乙酸水溶液)/% | 流动相 B (0.1%三氟乙酸甲醇溶液)/% |
|--------|--------------------------|---------------------------|
| 0 | 90 | 10 |
| 5.00 | 90 | 10 |
| 25.00 | 10 | 90 |
| 30.00 | 10 | 90 |
| 30.01 | 90 | 10 |
| 35.00 | 90 | 10 |

1.2.3 标准品溶液配制

精密称取 GABA 标准品 50.0 mg(精确至 0.1 mg)至 25 mL 容量瓶中, 加纯水溶解稀释至刻度定容。以此溶液为标准品储备溶液, 并逐级用纯水进行稀释至不同浓度, 4 $^{\circ}$ C可保存 24 h, 备用。

1.2.4 样品前处理

取西洋参发酵液或其他食用酵素原液, 8000 r/min 离心 10 min 去除残留药材及沉淀, 混合均匀后, 准确移取 1.0 mL 至 10 mL 容量瓶中, 加水 8 mL, 25 $^{\circ}$ C超声提取 10 min。静置至室温后定容, 摇匀, 取 3 mL 上清液, 分别先采用不净化、分散固相萃取净化和 HLB 通过式固相萃取 3 种不同形式的净化方式, 再过水相滤膜(0.22 μ m), 4 $^{\circ}$ C可保存 20 h, 备用待测。

1.2.5 含量测定

分别吸取 2 μ L 样品溶液注入 HPLC-ELSD 仪器中, 以保留时间定性, 外标对数法定量(ELSD 的响应值与样品浓度的对数呈线性关系), 测定不同药食同源食用酵素样品中的 GABA 含量。

1.3 数据处理

本研究采用 Agilent OpenLab CDS 软件进行色谱数据的采集和数据处理。其中, 实验平行重复测定 3 次, 结果以平均值标识, 并通过 Microsoft Excel 2010 和 Origin 2016 软件进行数据的再分析和图表的绘制。

2 结果与分析

2.1 净化方式的选择

药食同源食用酵素经乳酸菌发酵后, 发酵液经过离心分离, 仍会有发酵产物、药渣、菌体、培养基、生物酶等各类基质的干扰^[25-28], 而 GABA 化学性质又是极性较大, 出峰靠前。本研究以西洋参发酵液为样本, 考察了前处理提取液的净化方式, 分别采用不净化、分散固相萃取净化和 HLB 通过式固相萃取 3 种不同形式的净化方式, 以加标回收率作为结果表征手段。具体回收率结果见图 2。

样品不净化时, 目标峰存在一定的基质干扰, 基线明显整体抬高, 影响色谱峰分离, 加标回收率受积分方式和程度影响较大, 准确性由此必受影响; 传统的分散固相萃取净化能够通过去除样品中的磷脂、脂肪、盐、蛋白质等干扰降低基线问题, 然而相比于 HLB 通过式固相萃取回收率结果不具有优势。同时 HLB 通过式固相萃取净化在样品前处理的时间和操作复杂程度上更优, 无需活化步骤、不消耗额外的有机溶剂、不用换相。故对于基质复杂的酵素样品或其他含有 GABA 的复杂样品而言, HLB 通过式固相萃取具有显著的优势。不同前处理的色谱图见图 3。因此, 选择 HLB 通过式固相萃取作为样品净化方法。

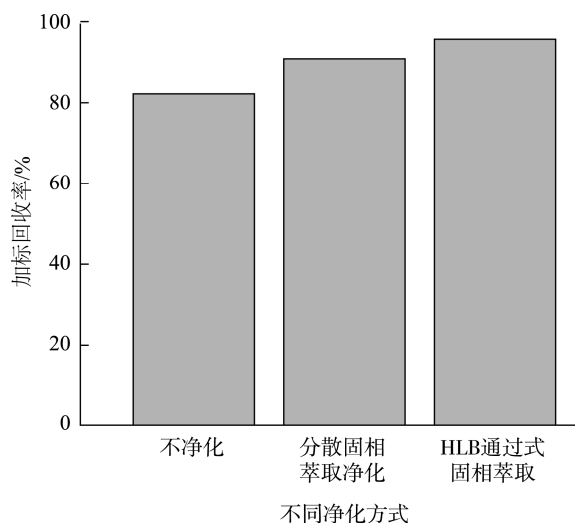


图2 不同净化方式下的样品加标回收率比对

Fig.2 Comparison of sample spike recovery rates under different purification methods

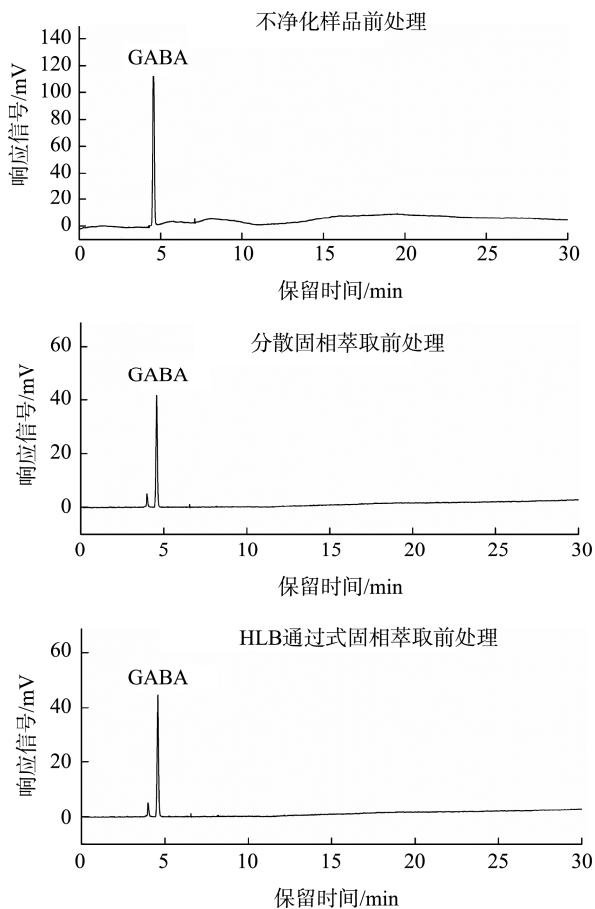


图3 不同前处理下 GABA 色谱图

Fig.3 Chromatogram of GABA under different pretreatment

2.2 色谱柱的选择与优化

基于药食同源发酵基质复杂的特性, 及 GABA 水溶性好, 极性强的特性, 在液相分离过程中往往会遇到基质干扰、出峰过于靠前等问题^[29-30]。因此在色谱柱的选择上进行了优化, 实验比对不同类型色谱柱[XSelect HSS T₃ 柱(4.6 mm×250 mm, 3.5 μm)、XSelect HSS T₃ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)、XBridge C₁₈ (4.6 mm×250 mm, 5 μm)、XBridge C₁₈ (4.6 mm×150 mm, 5 μm)、Atlantis T₃ (4.6 mm×250 mm, 5 μm)]。尝试多种药食同源食用酵素样品, 对比主峰分离度和峰型。发现 XBridge C₁₈ 和 Atlantis T₃ 填料类型的色谱柱对于 GABA 的保留效果不及亲水性保留效果更好的 XSelect HSS T₃ 柱, GABA 会和溶剂峰及杂质峰部分重合, 影响定量。而 3.5 μm 小粒径的 XSelect HSS T₃ 柱相比于 5 μm 分离效果也会更佳。在优化后的 0.7 mL/min 的流速条件下, 使用 3.5 μm 小粒径的也不会超过液相仪器的最高使用压力。各食用酵素样品中 GABA 主峰与杂质峰、溶剂峰分离度 ≥ 1.5 , 理论塔板数 >8000 , 满足色谱定量要求。最终选用 XSelect HSS T₃ 柱(4.6 mm×250 mm, 3.5 μm), 可以满足不同药食同源食用酵素样品中 GABA 的有效保留和高效分离。

以下参照《中华人民共和国药典》2020 版四部 通则 9101 “分析方法验证指导原则”和 GB 5009.295—2023《食品安全国家标准 化学分析方法验证通则》中规定的内容进行本分析方法的验证研究。

2.3 专属性考察

根据上述优化后的样品前处理及色谱条件, 以西洋参发酵液为典型, 考察色谱条件的专属性, 分别针对空白溶液、西洋参发酵液样品溶液、GABA 标准品溶液进行仪器分析, 结果表明在此方法下 GABA 得到良好分离和保留, 具体详见图 4。标准品和样品溶液中的 GABA 出峰保留时间完全一致, 色谱峰型良好对称, 理论塔板数大于 9300, 拖尾因子为 1.07, 与前后杂质峰的分离度分别为 1.84 和 2.33, 达到分离要求。表明方法专属性良好, 能够满足样品中低含量 GABA 的准确定量。

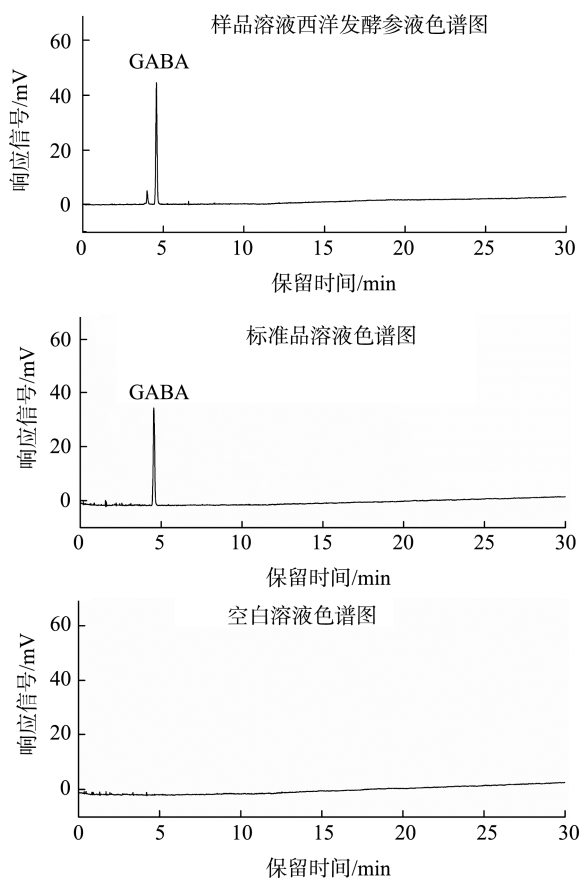


图4 方法专属性考察图谱

Fig.4 Chromatograms of method specificity

2.4 线性和范围

分别配制 50、150、300、600、1000、2000 μg/mL 不同质量浓度的 6 个 GABA 标准品溶液, 依次由低到高注入 HPLC 中, 通过 ELSD 检测色谱峰面积, 以质量浓度的对数为横坐标(X, μg/mL), 峰面积的对数为纵坐标(Y), 重复平

行操作3次取平均值,进行线性回归曲线的绘制。最终得到线性回归方程 $Y=1.6245X+3.1926$,相关系数 $r=0.999$,表明方法线性较好,范围合适,适用于各类不同GABA含量水平样品的定量分析。

2.5 检出限和定量限

仪器检出限和定量限:通过标准品溶液的逐级稀释进样,以色谱峰主峰信噪比 $S/N \geq 10.0$ 时对应的GABA浓度作为定量限,以 $S/N \geq 3.0$ 时对应的GABA浓度作为检出限。最终得到本方法在标准品溶液质量浓度为 $15 \mu\text{g/mL}$ 时,检出限为4.6,满足检出限要求;标准品溶液质量浓度为 $30 \mu\text{g/mL}$ 时,定量限为11.1,满足定量限要求。

方法检出限和定量限:按照上述方法,通过对于西洋参发酵液样品经逐级稀释后,再经过样品前处理和色谱检测,得到西洋参发酵液样品中GABA质量浓度分别为 $20 \mu\text{g/mL}$ 和 $40 \mu\text{g/mL}$ 时,满足 $S/N \geq 3.0$ 和 $S/N \geq 10.0$ 要求,即为本方法的检出限和定量限。

2.6 精密度考察

2.6.1 仪器精密度考察

取已制备西洋参发酵液样品提取溶液和标准品溶液(0.6 mg/mL)按上述色谱分析条件采取连续进样6次,记录色谱峰面积响应值,计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。结果样品溶液连续进样RSD为0.73%;标准品溶液连续进样RSD为0.39%,表明本方法仪器精密度考察结果较好。

2.6.2 重复性考察

选取同批次的西洋参发酵液,重复6次样品前处理和仪器检测过程,考察本分析方法的重复性,计算得到GABA含量的RSD值为0.87%,证明方法重复性良好。

2.6.3 中间精密度考察

为考察随机变动因素,在同个实验室,不同研究人员、不同日期及不同仪器水平上进行同批次实际样品进行检测,连续平行实验3次,考察方法中间精密度。结果2位

实验人员在不同实验日期6组的实验数据中表现基本一致,6次实验结果的RSD为2.73%,符合中间精密度考察要求。

2.7 样品溶液稳定性考察

基于室温、避光的贮存条件下放置的已通过样品前处理后的西洋参发酵液样品溶液,进行样品溶液稳定性考察,通过一定的色谱自动进样程序,分别在0、5、10、15、20、25、30 h的时间段进行进样分析,记录相应的GABA色谱峰面积,考察样品溶液在一定存放时间内的稳定性。结果发现在0~20 h时间段内,GBAB峰面积基本无显著变化,前5次进样峰面积的RSD在0.97%范围中,而后续25 h、30 h后逐渐出现缓慢分解下降趋势。同个样品在室温、避光的贮存条件下25 h和30 h后峰面积将分别下降1.4%和3.6%。由此,本样品前处理后的样品溶液,在室温、避光的贮存条件下建议存放20 h内进行色谱分析,以达到最佳的定量检测结果。

2.8 耐用性考察

改变一定区间内的色谱条件参数,以考察分析方法的耐用性及不同实验室间的重现性,结果发现在流速变化 $\pm 0.05 \text{ mL/min}$,氮气流量 0.3 mL/min 以及柱温,ELSD气化温度变动 $\pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下,样品提取溶液及标准品峰型依旧保持对称良好,GABA色谱峰理论塔板数在8642~9314区间内波动;与主峰最近杂质的分离度在1.78~2.11区间内波动;以峰面积定量结果恒定,不将显著影响检测结果,证明方法耐用性较好。

2.9 准确度考察

选取已测样品西洋参发酵液,分别加入不同浓度的低、中、高3种标准品,按优化后的样品前处理稀释、超声提取、净化后,同样进行仪器测定,计算加标回收率结果,以考察本方法的准确程度。具体数据见表2,不同浓度下的加标回收率在范围85.93%~96.30%内,平均回收率范围在89.40%~94.35%之间,RSDs为1.86%~3.90%,说明本分析方法准确性良好。

表2 加标回收率实验结果

Table 2 Results of spiked recovery rate experiment

| 测试序号 | 移取体积 | 样品中原有量/ μg | 标准品添加量/ μg | 测定结果/ μg | 回收率/% | RSDs/% | 平均回收率/% |
|------|------|-----------------------|-----------------------|---------------------|-------|--------|---------|
| 1 | 1.00 | 150.5 | | 221.4 | 94.53 | | |
| 2 | 1.00 | 150.5 | 75 | 215.6 | 86.80 | 3.90 | 89.60 |
| 3 | 1.00 | 150.5 | | 216.1 | 87.47 | | |
| 4 | 1.00 | 150.5 | | 284.3 | 89.20 | | |
| 5 | 1.00 | 150.5 | 150 | 290.1 | 93.07 | 3.26 | 89.40 |
| 6 | 1.00 | 150.5 | | 279.4 | 85.93 | | |
| 7 | 1.00 | 150.5 | | 334.6 | 92.05 | | |
| 8 | 1.00 | 150.5 | 200 | 343.1 | 96.30 | 1.86 | 94.35 |
| 9 | 1.00 | 150.5 | | 339.9 | 94.70 | | |

2.10 方法适用性研究

选取除西洋参发酵液之外的 10 款已研究开发的药食同源食用酵素产品进行适用性研究, 结果表明本方法可以适用于多种不同品类的药食同源食用酵素产品中 GABA 的低含量分析, 色谱分离良好, 检测稳定, 且适用于多品类不同浓度水平的样品检测。具体数据详见表 3。相比于传统衍生剂衍生紫外光谱检测的标准方法, 尤其是在基质复杂、含量较低的终产品检测过程中, 改进后的方法准确度和检测效率具有明显的优势。同时, 针对已研究开发下述 10 款食用酵素产品中的 GABA 含量进行分析, 发现实测数据远高于 QB/T 5323《植物酵素》中关于 GABA 的限量要求, 也证明本研究设计开发的食用酵素工艺及配方较为成功。

表 3 多种药食同源食用酵素产品中 GABA 测定结果
Table 3 Determination results of GABA in various edible enzymes from medicinal and edible homologous sources

| 序号 | 样品名称 | 批号 | GABA 含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) |
|----|---------|----------|--|
| 1 | 山楂发酵液 | 20240101 | 314 |
| 2 | 灵芝发酵液 | 20240101 | 127 |
| 3 | 人参发酵液 | 20240201 | 1251 |
| 4 | 沙棘发酵液 | 20240201 | 4109 |
| 5 | 桑叶发酵液 | 20240301 | 555 |
| 6 | 铁皮石斛发酵液 | 20240301 | 258 |
| 7 | 百合发酵液 | 20240301 | 194 |
| 8 | 陈皮发酵液 | 20240401 | 4989 |
| 9 | 余甘子发酵液 | 20240501 | 484 |
| 10 | 枸杞子发酵液 | 20240601 | 2221 |

3 结论

本研究建立了一种基于 SPE-HPLC-ELSD 的色谱分析方法, 可以简便、快速、高准确度地针对药食同源食用酵素产品中的 GABA 进行分析检测。相比于传统的化学衍生或质谱分析等技术手段, 本方法不仅具有良好的抗基质干扰能力, 同时效率更高、操作更易。同时通过优化样品称样量及稀释倍数, 本方法同样适用于其他功能果蔬食用酵素、天然食品、GABA 原料及复杂基质下含 GABA 的功能保健食品产品中 GABA 的定量分析, 可为复杂样品中强极性、低紫外吸收化学小分子的定性定量分析提供一种新的途径和方向。

参考文献

- [1] 陈雨欣, 杨峰山, 付海燕, 等. 食用植物酵素发酵过程中主要成分与功能研究进展[J]. 中国农学通报, 2024, 40(24): 143-150.
CHEN YX, YANG FS, FU HY, *et al.* Research progress on the main components and functions during the fermentation process of edible plant enzymes [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2024, 40(24):

143-150.

- [2] 周文钊, 黄文平, 张华, 等. 食用酵素产品稳定性研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(6): 32-41.
ZHOU WZ, HUANG WP, ZHANG H, *et al.* Research progress on the stability of edible enzyme products [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(6): 32-41.
- [3] 张红艳, 韩姗姗, 冉滢侨, 等. 食用酵素的营养功效及研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2021, 57(1): 107-110.
ZHANG HY, HAN SS, RAN GQ, *et al.* Nutritional efficacy and research progress of edible enzymes [J]. Food and Fermentation Science & Technology, 2021, 57(1): 107-110.
- [4] 张春月, 刘珊珊. 食用酵素及其微生物资源的研究进展[J]. 农产品加工, 2021(5): 77-80, 85.
ZHANG CY, LIU SN. Research progress on edible enzymes and their microbial resources [J]. Agricultural Products Processing, 2021(5): 77-80, 85.
- [5] 蔡丽琴, 王伟军, 李延华, 等. 食用酵素发酵代谢及功能特性研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(20): 408-414.
CAI LQ, WANG WJ, LI YH, *et al.* Research progress on the fermentation metabolism and functional characteristics of edible enzymes [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(20): 408-414.
- [6] 易媛, 左勇, 黄雪芹, 等. 食用植物酵素开发关键技术研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 316-321.
YI Y, ZUO Y, HUANG XQ, *et al.* Research progress on key technologies for the development of edible plant enzymes [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(7): 316-321.
- [7] 索婧怡, 朱雨婕, 陈磊, 等. 食用酵素的研究及发展前景分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(19): 271-283.
SUO JY, ZHU YJ, CHEN L, *et al.* Research and development prospects of edible enzymes [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(19): 271-283.
- [8] 杨成玮, 袁斌, 杨权, 等. 食用酵素的功能活性及应用研究进展[J]. 现代食品, 2019(9): 70-76.
YANG CW, YUAN B, YANG Q, *et al.* Research progress on the functional activity and application of edible enzymes [J]. Modern Food, 2019(9): 70-76.
- [9] 朱柳燕, 姚丹. 氨基酸对儿童睡眠作用的研究新进展[J]. 中国药理学杂志, 2025, 60(5): 441-446.
ZHU LY, YAO D. New research progress on the effect of aminobutyric acid on children's sleep [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2025, 60(5): 441-446.
- [10] 顾坤. γ -氨基丁酸与运动疲劳的相关性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(8): 3153-3158.
GU K. Correlation study between γ -aminobutyric acid and exercise fatigue [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(8): 3153-3158.
- [11] 吕旦, 陈冰, 曹俊明, 等. γ -氨基丁酸的生物学功能及其在动物生产中的应用[J]. 动物营养学报, 2024, 36(11): 6903-6916.
LV D, CHEN B, CAO JM, *et al.* Biological functions of γ -aminobutyric acid and its application in animal production [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2024, 36(11): 6903-6916.
- [12] 李姐姐, 秦秋云, 夏猛. γ -氨基丁酸在脑-肠轴的作用研究进展[J]. 神经解剖学杂志, 2023, 39(5): 590-594.
LI NN, QIN QY, XIA M. Research progress on the role of γ -aminobutyric acid in the brain-gut axis [J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2023,

- 39(5): 590–594.
- [13] 段静,李硕,李莉,等.在线柱前衍生高效液相色谱法测定古树红茶中的 γ -氨基丁酸[J].食品安全质量检测学报,2018,9(15):4038–4042.
DUAN J, LI S, LI L, *et al.* Determination of γ -aminobutyric acid in ancient tree black tea by online precolumn derivatization high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2018, 9(15): 4038–4042.
- [14] 秦宇,侯蓓蓓,张斌斌,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定南瓜中 γ -氨基丁酸的含量[J].食品安全质量检测学报,2020,11(2):528–532.
QIN Y, HOU BB, ZHANG BJ, *et al.* Determination of γ -aminobutyric acid in pumpkin by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(2): 528–532.
- [15] 李放,蔡梅,陈蓓,等.氨基酸自动分析仪测定保健食品中 γ -氨基丁酸[J].分析试验室,2016,35(9):1012–1015.
LI F, CAI M, CHEN B, *et al.* Determination of γ -aminobutyric acid in health foods by amino acid autoanalyzer [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2016, 35(9): 1012–1015.
- [16] 武源,覃慧丽,黄焯焯,等.PRiME HLB固相萃取柱结合气相色谱-串联质谱法快速测定茶叶中200种农药残留[J].食品安全质量检测学报,2022,13(2):650–656.
WU Y, QIN HL, HUANG XY, *et al.* Rapid determination of 200 pesticide residues in tea by PRiME HLB solid-phase extraction column combined with gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(2): 650–656.
- [17] 杨霄,万译文,黄华伟,等.分散固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中5种硝基咪唑类和6种苯二氮卓类药物[J].色谱,2022,40(7):625–633.
YANG X, WAN YW, HUANG HW, *et al.* Determination of five nitroimidazoles and six benzodiazepines in aquatic products by dispersive solid-phase extraction-ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2022, 40(7): 625–633.
- [18] 张艳侠,赵慧男,孙珊珊,等.通过式SPE-UPLC-MS/MS测定植物油中的9种酚类抗氧化剂[J].食品科学,2021,42(10):322–329.
ZHANG YX, ZHAO HN, SUN SS, *et al.* Determination of nine phenolic antioxidants in plant oils by on-line SPE-UPLC-MS/MS [J]. Food Science, 2021, 42(10): 322–329.
- [19] 金钰莹,钟先锋,徐家豪,等.水苏糖及其代谢产物的高效液相色谱-蒸发光散射法检测方法[J].食品与发酵工业,2024,50(16):293–298.
JIN YY, ZHONG XF, XU JH, *et al.* Detection of stachyose and its metabolites by high-performance liquid chromatography-evaporative light scattering method [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(16): 293–298.
- [20] 朱小朋,付尚辰,郝果,等.钙型糖柱-高效液相色谱-蒸发光散射检测器法测定牛乳中的乳糖[J].食品与机械,2023,39(11):58–63.
ZHU XP, FU SC, HAO G, *et al.* Determination of lactose in milk by calcium-type sugar column-high-performance liquid chromatography-evaporative light scattering detector [J]. Food & Machinery, 2023, 39(11): 58–63.
- [21] 周跃,李春莉,王冲,等.HPLC-蒸发光散射检测法测定铁皮石斛西洋参颗粒中人参皂苷Re和人参皂苷Rb1的含量[J].哈尔滨医科大学学报,2023,57(2):229–232.
ZHOU Y, LI CL, WANG C, *et al.* Determination of ginsenoside Re and Rb1 in *Dendrobium* and *Panax quinquefolius* granules by HPLC-evaporative light scattering detection [J]. Journal of Harbin Medical University, 2023, 57(2): 229–232.
- [22] 柴佩君,薛俊萍,朱瑞瑞,等.人参皂苷类化合物的色谱分析进展[J].分析试验室,2023,42(1):125–132.
CHAI PJ, XUE JP, ZHU RR, *et al.* Advances in chromatographic analysis of ginsenoside compounds [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2023, 42(1): 125–132.
- [23] 张建伟,刘海燕,吕海阳,等.HPLC-ELSD法同时测定地麦活性糖颗粒中4种糖类成分[J].中成药,2022,44(8):2651–2653.
ZHANG JW, LIU HY, LV HY, *et al.* Simultaneous determination of four sugar components in Dimai active sugar granules by HPLC-ELSD [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(8): 2651–2653.
- [24] 贾福怀,陆伟,涂宏建,等.黄芪饮片中黄芪甲苷含量检测方法的改进[J].亚太传统医药,2019,15(9):62–65.
JIA FH, LU W, TU HJ, *et al.* Improvement of the detection method for astragaloside content in *Astragalus* slices [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2019, 15(9): 62–65.
- [25] 何江龙,裴莉昕,张童童,等.基于ICP-MS及多元统计分析相结合的地黄酵素发酵前后无机元素特征[J].中国无机分析化学,2023,13(11):1255–1263.
HE JL, PEI LX, ZHANG TT, *et al.* Inorganic element characteristics of Rehmannia yeast before and after fermentation based on ICP-MS and multivariate statistical analysis [J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2023, 13(11): 1255–1263.
- [26] 董墨思,张雨婷,杨宇峰,等.混合植物果蔬酵素的抗氧化活性及降血糖活性研究[J].中国酿造,2023,42(7):132–136.
DONG MS, ZHANG YT, YANG YF, *et al.* Study on antioxidant and hypoglycemic activities of mixed plant and fruit vegetable yeast [J]. China Brewing, 2023, 42(7): 132–136.
- [27] 陈英,余雄伟,龚文发,等.植物酵素发酵特性及风味物质变化的研究[J].饮料工业,2015,18(2):9–12.
CHEN Y, YU XW, GONG WF, *et al.* Study on fermentation characteristics and flavor changes of plant yeast [J]. Beverage Industry, 2015, 18(2): 9–12.
- [28] 高亮,谭德星,王延龙,等.酵素菌发酵中药渣试验研究[J].现代农业科技,2016(18):144–146,153.
GAO L, TAN DX, WANG YL, *et al.* Experimental study on the fermentation of traditional Chinese medicine residues by yeast bacteria [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2016(18): 144–146, 153.
- [29] 郭海阳,谭海生,陈丽伟,等.UPLC法和HPLC法对比检测乳酸菌发酵液中的 γ -氨基丁酸[J].中国酿造,2019,38(12):167–170.
GUO HY, TAN HS, CHEN LW, *et al.* Comparison of UPLC and HPLC for the determination of γ -aminobutyric acid in lactic acid bacteria fermentation broth [J]. China Brewing, 2019, 38(12): 167–170.
- [30] 张健,陆颖珊,温嘉倩,等.柱前衍生-高效液相色谱法检测测定沉香叶中 γ -氨基丁酸的含量[J].广东医科大学学报,2019,37(5):510–512.
ZHANG J, LU YS, WENG JQ, *et al.* Determination of the content of γ -aminobutyric acid in leaves of *Aquilaria sinensis* (Lour.) spreng with pre-column derivatization-high performance liquid chromatography [J]. Journal of Guangdong Medical University, 2019, 37(5): 510–512.

(责任编辑:安香玉 蔡世佳)