

高效液相色谱-串联质谱法定量分析橄榄果实氨基酸组分

彭真汾, 王 威, 叶清华, 陈清西*
(福建农林大学园艺学院, 福建 福州 350002)

摘 要: 为探索橄榄果实成熟过程氨基酸含量变化与营养价值及风味品质的相关性, 利用高效液相色谱-串联质谱法定量分析普通橄榄‘长营’与清橄榄‘清榄1号’果实水解和游离氨基酸成分。结果表明: 在水解氨基酸中, 2个品种果实均含有16种氨基酸, 其中7种必需氨基酸和9种非必需氨基酸, 氨基酸种类丰富; 但是, 二者水解氨基酸总含量变化规律存在差异, ‘长营’果实氨基酸总量呈升-降-升的变化趋势, ‘清榄1号’为降-升-降-升; 二者营养指标氨基酸比值、氨基酸比值系数、氨基酸比值系数分均不理想, 为营养不均衡类型。在游离氨基酸中, ‘长营’果实氨基酸含量变化呈升-降-升-降, ‘清榄1号’相反, 为降-升-降-升; 2个品种果实均含有19种氨基酸, 甜味氨基酸和鲜味氨基酸占比较高, ‘清榄1号’鲜味(谷氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺)和甜味氨基酸(谷氨酰胺)贡献值高于‘长营’, 使得‘清榄1号’鲜甜口感优于‘长营’, 鲜食品质更佳, 为橄榄果实风味判断提供依据。

关键词: 橄榄; 高效液相色谱-串联质谱; 水解氨基酸; 游离氨基酸

Quantitative Analysis of Amino Acids in Chinese Olive Using High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

PENG Zhenfen, WANG Wei, YE Qinghua, CHEN Qingxi*
(College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to correlate the changes in amino acid content with nutritional value and flavor quality during the ripening process of olive fruit, we applied high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to quantitatively analyze the contents of free and hydrolytic amino acids in the olive cultivars ‘Changying’ and ‘Qinglan 1 hao’. The results showed that a total of 16 hydrolytic amino acids were detected in each cultivar, including 7 essential amino acids and 9 non-essential ones. However, the contents of total hydrolytic amino acids in the two cultivars were different; ‘Changying’ olives showed an increase-decrease-increase trend, while ‘Qinglan 1 hao’ olives presented a decrease-increase-decrease-increase trend. The cultivars were undesirable in terms of ratio of amino acid (RAA), ratio coefficient (RC) and score of ratio coefficient (SRC), leading to nutritional imbalance. The total free amino acid content in ‘Changying’ olives exhibited an increase-decrease-increase-decrease trend, whereas the opposite was observed for ‘Qinglan 1 hao’ olives. Each cultivar contained 19 free amino acids, with sweet and umami amino acids being the major ones, and sweet (Gln) and umami (Glu, Asp, and Asn) amino acids made a substantially greater contribution to ‘Qinglan 1 hao’ olives than to ‘Changying’ olives. Thus, the ‘Qinglan 1 hao’ cultivar had better sweet and umami flavor than the ‘Changying’ cultivar. The results from this study provide a basis for judging the flavor of olives.

Keywords: *Canarium album*; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; hydrolytic amino acid; free amino acid

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201824035

中图分类号: S667.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2018)24-0231-08

引文格式:

彭真汾, 王威, 叶清华, 等. 高效液相色谱-串联质谱法定量分析橄榄果实氨基酸组分[J]. 食品科学, 2018, 39(24): 231-238. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201824035. <http://www.spkx.net.cn>

收稿日期: 2017-11-22

基金项目: 中央引导地方科技发展专项(2017L3001)

第一作者简介: 彭真汾(1992—), 女, 硕士研究生, 主要从事果树生理与生态研究。E-mail: 390689340@qq.com

*通信作者简介: 陈清西(1964—), 男, 教授, 博士, 主要从事园艺植物栽培生理研究。E-mail: cqx0246@fafu.edu.cn

PENG Zhenfen, WANG Wei, YE Qinghua, et al. Quantitative analysis of amino acids in Chinese olive using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Food Science, 2018, 39(24): 231-238. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201824035. <http://www.spkx.net.cn>

氨基酸具有抗菌^[1]、保肝保肾^[2]、降血脂^[3]等作用,可分为水解氨基酸和游离氨基酸,其中水解氨基酸以结合态形式存在于肽和蛋白质中,主要体现物质的营养状况^[4-5];游离氨基酸以游离态存在,一方面可通过呈味氨基酸反映物质口感和风味,以及药用氨基酸反映药用价值^[4,6-7];另一方面,通过其在逆境中游离氨基酸含量特别是脯氨酸含量反映植物抗逆性强弱^[8]。因此,食物氨基酸含量、种类和比例是评价其营养价值优劣的主要指标之一,是对其营养品质和风味均有重要贡献的成分^[9]。

橄榄(*Canarium album* (Lour.) Raeusch.)为橄榄科(Burseraceae)橄榄属(*Canarium*)植物,又名青果、青榄、白榄,属热带、亚热带果树^[10],是福建省名特优水果,果实营养价值高,富含VC和钙质^[11-12],同时具有很高的药用价值,能达到生津止渴^[10]、解酒保肝^[13]等功效,是一种药食两用的水果^[16]。目前,橄榄氨基酸的研究多集中于成熟时期果实水解氨基酸的变化^[11,14-16],对其成熟过程氨基酸含量变化及游离氨基酸的研究较少。用于测定氨基酸含量的常见方法有分光光度计法^[17]、氨基酸自动分析仪法^[18]和液相色谱法^[19-21]等。分光光度法操作简单方便,但其只能测定某种氨基酸或一类氨基酸,不能进行氨基酸分离^[17];氨基酸自动分析仪是一种专门测定氨基酸含量的仪器,能同时测定多种氨基酸,但其价格昂贵、用途单一且需对氨基酸进行柱后衍生,存在一定局限性;液相色谱法包括柱前、柱后衍生法和直接测定法,3种方法均能对氨基酸进行分离测定,但柱前和柱后衍生法会对检测结果产生一定影响,因此直接法具有一定的优势,其中液相色谱-串联质谱是直接法中的一种^[22]。故本研究选择普通橄榄‘长营’和清橄榄‘清榄1号’2个不同风味的橄榄品种,通过高效液相色谱-串联质谱法测定其成熟过程水解氨基酸和游离氨基酸组分与含量,从氨基酸组分方面分析其对2个橄榄品种营养品质和风味的贡献,为今后鲜食橄榄品种选育与果实品质调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

‘长营’、‘清榄1号’橄榄果实采于福建省闽清县久源橄榄专业合作社,于花后30 d开始采摘,每20 d采摘一次,共9次。

乙腈、甲酸、甲醇(均为色谱级) 德国Merck公司;乙酸铵(色谱级)、20种氨基酸标准品:甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、丝氨酸(Ser)、脯氨酸(Pro)、缬氨酸(Val)、苏氨酸(Thr)、半胱氨酸(Cys)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、天冬酰胺(Asn)、天冬氨酸(Asp)、谷氨酰胺(Gln)、赖氨酸(Lys)、谷氨酸(Glu)、甲硫氨酸(Met)、组氨酸(His)、苯丙氨酸(Phe)、精氨酸(Arg)、酪氨酸(Tyr)、色氨酸(Trp) 美国Sigma公司;0.22 μm型尼龙、聚醚砜一次性过滤器 天津津腾实验设备有限公司;盐酸、无水乙醇均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

Xevo TQ-S高效液相色谱-串联质谱联用仪 美国Waters公司;LGJ-25C型冷冻干燥机 北京四环科学仪器厂有限公司;FW177型中草药粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司;KQ-300DE型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;Allegra 64R型台式高速冷冻离心机 美国贝克曼库尔特公司;DK-S22型电热恒温水浴锅、DHG-9240A型电热恒温鼓风干燥箱 上海精宏实验设备有限公司;MNT-2800D型氮吹仪 天津奥特赛恩斯有限公司;RV10型旋转蒸发仪 德国IKA公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的制备

先将每个氨基酸标准品用甲醇溶液配制成不同浓度储备液。吸取一定体积储备液,用70%甲醇溶液定容至10 mL,配为混标液。再吸取混标液100、200、500 μL和800 μL,用70%甲醇溶液分别定容至1 000 μL,得到4个浓度标准溶液,分别稀释10、100、1 000倍,共获得17个不同浓度标准溶液。

1.3.2 橄榄粉末的制备

将新鲜采下的橄榄用4℃保温箱带回实验室,立即洗净、晾干、取果肉,冻干并粉碎至过40目筛后保存于-40℃冰箱。

1.3.3 橄榄果实水解氨基酸样品的提取

参考GB/T 5009.124—2003《食品中氨基酸含量的测定》^[23]并略有改进。称取橄榄粉末0.25 g(精确至0.000 1 g)于水解管中,加入5 mL 6 mol/L HCl溶液,充分浸透粉末,避免黏壁,用氮吹仪充氮气10 min后瓶塞封口,置于110℃烘箱中水解24 h,冷却,过滤,吸取1 mL上清液用蒸馏水稀释5倍,吸取稀释液3 mL置于水浴锅上反复蒸干8次(每次用2 mL蒸馏水),用2 mL蒸馏水冲洗干样后过0.22 μm聚醚砜过滤器作为橄榄果实水解氨基酸样品。

1.3.4 橄榄果实游离氨基酸样品的提取

称取橄榄粉末0.5 g (精确至0.000 1 g) 于50 mL离心管中, 加入60%乙醇溶液20.5 mL, 在超声功率270 W、超声温度50 ℃条件下超声提取20 min, 后在常温下10 000 r/min离心10 min, 过0.22 μm尼龙过滤器作为橄榄果实游离氨基酸样品。

1.3.5 色谱条件

色谱柱: Merck ZIC-pHILIC (100 mm×2.1 mm, 5 μm); 柱温: 40 ℃; 流速: 0.4 mL/min; 进样室温度: 10 ℃; 进样量: 2 μL; 流动相A: 5 mmol/L乙酸铵溶液; 流动相B: 0.1%甲酸-乙腈溶液; 梯度洗脱程序: 0~13 min 5% A, 13~15 min 5%~60% A, 15~20 min 60%~5% A。

1.3.6 质谱条件

表1 20种氨基酸的质谱条件

Table 1 Mass spectrometric conditions for 20 amino acids

氨基酸	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量/V
甘氨酸	76.2	30.2*	5
		48.0	5
丙氨酸	90.3	44.3*	7
丝氨酸	106.3	60.3*	8
		88.2	10
脯氨酸	116.3	70.2*	12
缬氨酸	118.3	55.3	18
		72.3*	8
苏氨酸	120.3	56.3	13
		74.3*	9
半胱氨酸	122.2	59.1	17
		76.1*	11
亮氨酸	132.2	86.3*	8
		44.1	18
异亮氨酸	132.2	86.3*	8
		69.3	16
天冬酰胺	133.3	74.2*	14
		87.3	8
天冬氨酸	134.2	77.2	20
		88.2*	10
谷氨酰胺	147.2	84.2*	15
		130.2	7
赖氨酸	147.3	84.2*	13
		130.3	10
谷氨酸	148.2	84.2*	15
		102.2	10
甲硫氨酸	150.2	104.3	10
		133.2*	8
组氨酸	156.3	83.3	22
		110.3*	13
苯丙氨酸	166.3	103.3	25
		120.3*	15
精氨酸	175.3	60.3	13
		70.3*	20
酪氨酸	182.3	136.2*	13
		165.2	9
色氨酸	205.3	146.3	17
		188.2*	10

注: *.定量离子; —.经过碰撞后只有一个子离子。

离子源: 电喷雾正离子模式; 监测方式: 多反应监测; 离子源温度: 150 ℃; 毛细管电压: 1.00 kV;

锥孔电压: 30 V; 锥孔气 (N₂) 流量: 150 L/h; 脱溶剂气 (N₂) 流量: 800 L/h; 脱溶剂温度: 400 ℃; 碰撞气 (Ar) 流速: 0.13 mL/min; 定量方式: 外标法。其他质谱条件如表1所示。

1.3.7 氨基酸评价指标的计算^[24-26]

氨基酸比值 (ratio of amino acid, RAA)、氨基酸比值系数 (ratio coefficient, RC)、氨基酸比值系数分 (score of ratio coefficient, SRC)、含量阈值比 (ratio of content and taste threshold, RCT) 分别按公式 (1)~(4) 计算:

$$RAA = \frac{\text{待测蛋白质某必需氨基酸含量}}{\text{FAO/WHO模式谱中相应必需氨基酸含量}} \quad (1)$$

$$RC = \frac{RAA}{\overline{RAA}} \quad (2)$$

$$SRC = 100 - SRD \times 100 \quad (3)$$

$$RCT = \frac{\text{待测蛋白质某氨基酸含量}}{\text{相应氨基酸味觉阈值}} \quad (4)$$

式中: SRD为RC相对标准偏差; $\overline{RAA}$ 为氨基酸RAA的平均值。

1.4 数据处理

数据整理和图表制作采用Excel 2013软件, 显著性分析采用SPSS 17.0软件, 仪器控制、数据采集软件为Masslynx V4.1 SCN905; 数据处理软件 (即积分和定量) 采用Masslynx中的Targetlynx模式。

2 结果与分析

2.1 氨基酸的线性关系、检测限和定量限

表2 20种氨基酸的标准曲线方程

Table 2 Standard curves and limits of detection and quantification for 20 amino acids

氨基酸	标准曲线方程	相关系数	检测限/(ng/mL)	定量限/(ng/mL)	线性最高质量浓度/(μg/mL)
甘氨酸	$y=0.164\ 62x-11.520$	0.988 0	800	2 400	100
丙氨酸	$y=315.96x+876.11$	0.972 9	8	24	10
丝氨酸	$y=20.684x-154.34$	0.998 5	20	60	20
脯氨酸	$y=0.843\ 59x+11.289$	0.989 8	2	6	0.2
缬氨酸	$y=0.925\ 35x+9.318\ 0$	0.993 3	1	3	1.3
苏氨酸	$y=0.826\ 26x+7.893\ 3$	0.996 3	2	6	5
半胱氨酸	$y=0.540\ 84x+9.119\ 6$	0.980 2	100	300	5
亮氨酸	$y=0.925\ 51x+9.217\ 1$	0.997 2	2	6	2
异亮氨酸	$y=0.899\ 27x+9.269\ 3$	0.995 1	2	6	2
天冬酰胺	$y=1.078\ 5x+3.035\ 4$	0.997 2	50	150	1.07
天冬氨酸	$y=1.122\ 75x+2.473\ 6$	0.998 1	100	300	5.4
谷氨酰胺	$y=1.206\ 5x+3.850\ 0$	0.987 8	20	60	5
赖氨酸	$y=1.145\ 8x+5.282\ 8$	0.996 3	10	30	8
谷氨酸	$y=832.16x-392.23$	0.994 9	20	60	10
甲硫氨酸	$y=11\ 202x+2\ 343.5$	0.995 3	0.5	1.5	2
组氨酸	$y=5\ 414.0x+3\ 992.7$	0.998 5	5	15	10
苯丙氨酸	$y=42\ 413x+15\ 257$	0.996 2	0.8	2.4	2
精氨酸	$y=0.996\ 17x+8.843\ 6$	0.990 0	1	3	5
酪氨酸	$y=0.834\ 12x+10.426$	0.992 8	0.2	0.6	0.4
色氨酸	$y=23\ 090x+1\ 424.8$	0.998 6	0.5	1.5	2

注: y 为氨基酸峰面积; x 为氨基酸质量浓度/(ng/mL)。

通过配制不同浓度标准品进行20种氨基酸标准曲线的制作,由表2可知,20种氨基酸标准曲线线性关系良好,相关系数均达到0.97以上。以各氨基酸色谱峰3倍以及10倍信噪比分别得出检测限和定量限,并以定量限线性最高质量浓度确定其线性范围。

2.2 橄榄果实水解氨基酸组分与含量

2.2.1 橄榄果实各发育时期水解氨基酸含量和组成

通过高效液相色谱-串联质谱法测定‘长营’与‘清榄1号’果实从花后30~190 d水解氨基酸组成与含量变化。从表3可知,‘长营’与‘清榄1号’均检测出16种氨基酸,其中包括7种必需氨基酸:赖氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸、异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸;9种非必需氨基酸:甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、脯氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、组氨酸、精氨酸和酪氨酸。由于本实验提取水解氨基酸时采用酸水解法,因此色氨酸可能在提取过程中被破坏未检测出来^[27],半胱氨酸含量低于检测限而未被检测出来。总体上,‘长营’和‘清榄1号’果实含量较高的氨基酸为天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、亮氨酸和赖氨酸。

由表3可知,‘长营’水解氨基酸总量(total amino acid, TAA)最高在花后50 d为16.590 6 mg/g,与花后70 d(16.073 5 mg/g)和花后190 d(15.761 9 mg/g)含量无显著性差异($P>0.05$);最低在花后110 d为

11.673 9 mg/g,与最高值差异显著($P<0.05$),整体趋势为升-降-升,变化较平缓。必需氨基酸(essential amino acid, EAA)含量各时期变化不大,最高在花后50 d为6.105 5 mg/g,最低是花后110 d为4.124 2 mg/g。必需氨基酸与总氨基酸含量比值(EAA/TAA)为30.202 7%~40.676 0%,与40%较为接近,必需氨基酸与非必需氨基酸(non-essential amino acid, NEAA)比值(EAA/NEAA)为43.272 0%~68.565 8%,与60%相比相近,各时期两个比值表现为随着发育时间的延长,比值与标准差值越来越大,其中以花后30 d与50 d最为接近,达到联合国粮农及农业组织/世界卫生组织(FAO/WHO)推荐的理想蛋白质标准^[28],表明‘长营’橄榄随着发育逐渐转变为营养不均衡类型。

由表3可知,‘清榄1号’水解TAA最高是花后190 d,为22.187 3 mg/g,显著高于其他时期($P<0.05$),最低在花后70 d,为8.759 8 mg/g。整体呈上升趋势,变幅较大。EAA含量各时期变化不大,最高是花后190 d,为5.646 2 mg/g,最低在花后70 d,为3.548 1 mg/g。EAA/TAA为25.447 9%~40.504 3%,高低差异大,仅花后30、50 d与70 d与40%相近,EAA/NEAA为34.134 6%~68.079 5%,变幅大,仅花后30、50 d与70 d与60%接近,其中以花后30、50 d和70 d与FAO/WHO推荐的理想蛋白质标准^[28]最为接近,花后190 d相

表3 ‘长营’和‘清榄1号’果实不同发育时期水解氨基酸组成与含量
Table 3 Hydrolytic amino acid composition of ‘Changying’ and ‘Qinglan 1 hao’ olives at different developmental stages

氨基酸	含量/(mg/g)																	
	‘长营’花后时间/d									‘清榄1号’花后时间/d								
	30	50	70	90	110	130	150	170	190	30	50	70	90	110	130	150	170	190
甘氨酸	0.270 3	0.381 2	0.317 3	0.191 7	0.133 9	0.146 3	0.121 8	0.123 2	0.121 0	0.303 8	0.213 8	0.156 4	0.177 2	0.245 0	0.110 7	0.133 3	0.187 5	0.237 3
丙氨酸	0.510 9	1.078 1	0.863 3	0.690 0	0.550 1	0.406 9	0.414 5	0.270 6	0.281 7	0.643 9	0.660 3	0.435 0	0.721 7	0.973 1	0.471 2	0.623 2	0.528 1	0.984 5
丝氨酸	1.988 4	2.967 3	2.738 2	1.882 4	1.142 2	1.108 9	1.079 1	0.961 4	0.902 2	2.353 1	1.976 0	1.297 3	1.768 6	2.062 8	1.389 0	1.566 4	1.567 1	2.539 6
脯氨酸	0.458 7	0.471 7	0.485 1	0.444 2	0.395 6	0.441 2	0.426 9	0.423 3	0.503 2	0.347 8	0.327 8	0.308 4	0.383 6	0.453 7	0.389 0	0.523 9	0.471 5	0.503 0
缬氨酸	0.589 6	0.688 7	0.586 4	0.518 0	0.451 3	0.496 2	0.435 4	0.447 2	0.524 2	0.476 0	0.459 9	0.336 4	0.419 5	0.570 8	0.427 2	0.600 4	0.543 8	0.605 3
苏氨酸	0.697 8	0.995 3	0.781 7	0.717 4	0.505 4	0.507 7	0.554 6	0.502 7	0.571 9	0.820 6	0.795 3	0.541 7	0.680 4	0.863 7	0.577 7	0.788 5	0.781 0	1.048 5
半胱氨酸	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
亮氨酸	1.326 0	1.213 2	1.233 4	1.169 5	0.914 3	1.021 5	0.904 2	1.020 2	1.183 9	1.001 6	0.908 6	0.797 1	0.979 3	1.081 6	0.941 5	1.310 1	1.139 9	1.176 2
异亮氨酸	0.903 7	1.078 1	0.798 2	0.736 2	0.644 4	0.695 3	0.624 2	0.697 8	0.896 7	0.789 0	0.727 7	0.570 0	0.585 7	0.829 7	0.646 1	0.889 6	0.691 3	0.732 5
天冬氨酸	2.336 4	1.663 3	2.299 9	1.886 4	1.385 9	1.755 5	2.238 5	2.047 4	2.734 8	1.629 0	2.064 3	1.104 7	1.496 1	1.889 4	1.155 8	2.116 5	2.452 4	3.339 8
赖氨酸	1.050 0	1.117 4	1.186 5	1.101 6	1.013 1	1.128 9	1.046 4	1.035 3	1.207 5	0.877 4	0.869 3	0.831 9	1.005 7	1.136 5	1.001 8	1.216 6	1.128 3	1.275 2
谷氨酸	1.296 6	2.112 5	2.751 0	2.525 0	3.075 3	3.796 0	4.328 2	3.865 5	4.953 6	1.361 2	1.281 1	1.165 9	2.474 6	4.177 1	3.442 0	5.355 1	5.415 0	7.561 3
甲硫氨酸	0.124 5	0.150 6	0.072 2	0.050 0	0.097 9	0.066 9	0.061 8	0.099 7	0.116 7	0.041 6	0.042 1	0.027 5	0.071 1	0.082 7	0.066 8	0.073 9	0.125 9	0.094 2
组氨酸	0.172 0	0.266 7	0.200 4	0.159 9	0.153 7	0.167 9	0.168 6	0.162 1	0.195 8	0.140 8	0.143 7	0.106 6	0.140 7	0.204 1	0.153 9	0.234 7	0.191 7	0.225 6
苯丙氨酸	0.773 3	0.862 2	0.708 1	0.629 5	0.497 8	0.566 0	0.507 2	0.548 7	0.665 8	0.658 4	0.626 3	0.443 5	0.533 9	0.642 3	0.512 2	0.704 4	0.676 6	0.714 3
精氨酸	0.529 0	0.537 2	0.551 1	0.485 4	0.427 1	0.480 4	0.465 8	0.452 0	0.518 9	0.424 8	0.387 5	0.340 2	0.417 2	0.522 1	0.449 6	0.580 2	0.528 5	0.628 1
酪氨酸	0.408 2	1.007 3	0.500 9	0.335 8	0.286 0	0.317 5	0.309 8	0.301 1	0.384 2	0.363 7	0.594 2	0.297 2	0.445 4	0.522 6	0.307 9	0.416 7	0.412 1	0.521 9
色氨酸	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
TAA	13.435 2 ^b	16.590 6 ^a	16.073 5 ^{ab}	13.523 2 ^b	11.673 9 ^b	13.103 1 ^b	13.687 2 ^b	12.958 1 ^b	15.761 9 ^{ab}	12.232 6 ^c	12.077 9 ^c	8.759 8 ^d	12.300 8 ^c	16.257 3 ^b	12.042 3 ^c	17.133 5 ^b	16.840 5 ^b	22.187 3 ^a
EAA	5.464 9	6.105 5	5.366 3	4.922 2	4.124 2	4.482 4	4.133 9	4.351 6	5.166 7	4.664 6	4.429 1	3.548 1	4.275 7	5.207 3	4.173 3	5.583 3	5.086 7	5.646 2
NEAA	7.970 3	10.485 1	10.707 2	8.600 9	7.549 7	8.620 7	9.553 3	8.606 6	10.595 3	7.568 0	7.648 7	5.211 7	8.025 1	11.050 0	7.869 0	11.550 2	11.753 8	16.541 0
EAA/TAA/%	40.676 0	36.801 0	33.386 0	36.398 2	35.328 4	34.208 7	30.202 7	33.582 1	32.779 7	38.132 5	36.671 1	40.504 3	34.759 5	32.030 5	34.655 3	32.587 0	30.205 2	25.447 9
EAA/NEAA/%	68.565 8	58.230 3	50.118 6	57.228 9	54.626 0	51.995 8	43.272 0	50.561 2	48.764 1	61.635 8	57.911 1	68.079 5	53.279 1	47.124 9	53.034 7	48.339 4	43.277 1	34.134 6

注:同一橄榄品种同行不同小写字母表示TAA含量差异显著($P<0.05$),下同。

差最大,表明‘清榄1号’橄榄随着发育逐渐转变为营养不均衡类型。

因此,‘长营’与‘清榄1号’果实水解氨基酸含量随着发育离FAO/WHO推荐的理想蛋白质标准越来越远,表现为营养价值不均衡。以鲜食为主的成熟果花后190 d相比较,‘清榄1号’水解TAA和EAA含量均高于‘长营’,但其EAA/TAA与EAA/NEAA比值均低于‘长营’。

2.2.2 EAA与FAO/WHO推荐的氨基酸模式谱的比较

表4 ‘长营’和‘清榄1号’果实不同时期EAA与FAO/WHO推荐氨基酸模式谱比较
Table 4 Comparison between essential amino acid composition of ‘Changying’ and ‘Qinglan 1 hao’ olives at different developmental stages and FAO/WHO recommended patterns

氨基酸	氨基酸模式谱标准值	EAA/TAA%																	
		‘长营’花后时间/d									‘清榄1号’花后时间/d								
		30	50	70	90	110	130	150	170	190	30	50	70	90	110	130	150	170	190
苏氨酸	4.00	3.12	6.00	4.86	5.31	4.33	3.87	4.05	3.88	3.63	4.01	6.58	6.18	5.53	5.31	4.80	4.60	4.64	4.73
缬氨酸	5.00	2.64	4.15	3.65	3.83	3.87	3.79	3.18	3.45	3.33	4.65	3.81	3.84	3.41	3.51	3.55	3.50	3.23	2.73
甲硫氨酸+半胱氨酸	3.50	0.56	0.91	0.45	0.37	0.84	0.51	0.45	0.77	0.74	0.20	0.35	0.31	0.58	0.51	0.55	0.43	0.75	0.42
异亮氨酸	4.00	4.04	6.50	4.97	5.44	5.52	5.31	4.56	5.38	5.69	3.85	6.02	6.51	4.76	5.10	5.37	5.19	4.11	3.30
亮氨酸	7.00	5.93	7.31	7.67	8.65	7.83	7.80	6.61	7.87	7.51	4.89	7.52	9.10	7.96	6.65	7.82	7.65	6.77	5.30
苯丙氨酸+酪氨酸	6.00	8.79	11.27	7.52	7.14	6.71	6.74	5.97	6.56	6.66	4.99	10.11	8.46	7.96	7.17	6.81	6.54	6.46	5.57
赖氨酸	5.50	4.69	6.73	7.38	8.15	8.68	8.62	7.65	7.99	7.66	6.79	7.20	9.50	8.18	6.99	8.32	7.10	6.70	5.75

从表4可知,‘长营’和‘清榄1号’各时期的EAA/TAA与FAO/WHO推荐的氨基酸模式谱^[27]相比,除甲硫氨酸与半胱氨酸含量远低于模式谱标准值,缬氨酸含量略低于模式谱标准值,其余氨基酸均与模式谱推荐值相当,或高于模式谱,其中有一个原因可能是由未检测出半胱氨酸引起。营养学上把食物中各EAA/TAA与氨基酸模式谱标准值相当的认为是营养价值高且均衡的食物,而那些低于氨基酸模式谱的EAA即未达到人体需求比例的EAA称为限制氨基酸,并根据其不足差异大小,分为第1限制氨基酸和第2限制氨基酸等^[29]。依此,‘长营’和‘清榄1号’各时期的EAA组成和含量均与氨基酸模式谱标准值有一定的差距,营养价值不够均衡,但属于人体第1限制氨基酸——赖氨酸含量较高的食物。

2.2.3 SRC法对橄榄果实各发育时期蛋白质营养价值的评价

RAA及RC越接近1,则表明其EAA含量越接近FAO/WHO推荐值^[27]。从表5可知,‘长营’和‘清榄1号’除甲硫氨酸+半胱氨酸RAA和RC值远低于1,缬氨酸略低于1,其余RAA均接近1。因此,甲硫氨酸和半胱氨酸为‘长营’与‘清榄1号’的第1限制氨基酸。SRC值越接近100,食物中各EAA含量越均衡,营养价值越高^[27]。‘长营’与‘清榄1号’SRC值不高,除花后170 d外,其余时期SRC均低于60,表明2种橄榄果实EAA含量不均衡,导致营养价值不足。此结果与氨基酸模式谱的比较结果相当。

表5 ‘长营’和‘清榄1号’不同发育时期必需氨基酸的RAA、RC和SRC

Table 5 RAA, RC and SRC of essential amino acids in ‘Changying’ and ‘Qinglan 1 hao’ olives at different developmental stages

花后时间/d	评价指数	FAO/WHO推荐EAA组成及SRC																	
		‘长营’									‘清榄1号’								
		苏氨酸	缬氨酸	甲硫氨酸+半胱氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	苯丙氨酸+酪氨酸	赖氨酸	SRC	苏氨酸	缬氨酸	甲硫氨酸+半胱氨酸	异亮氨酸	亮氨酸	苯丙氨酸+酪氨酸	赖氨酸	SRC		
30	RAA	0.78	0.53	0.16	1.01	0.85	1.47	0.85	49.92	1.00	0.46	0.06	0.96	0.70	1.39	0.78	44.47		
	RC	0.97	0.65	0.20	1.25	1.05	1.82	1.06		1.31	0.61	0.08	1.26	0.91	1.82	1.02			
50	RAA	1.50	0.83	0.26	1.62	1.04	1.88	1.22	54.45	1.65	0.76	0.10	1.51	1.07	1.68	1.31	50.70		
	RC	1.26	0.70	0.22	1.36	0.87	1.57	1.03		1.43	0.66	0.09	1.30	0.93	1.46	1.13			
70	RAA	1.22	0.73	0.13	1.24	1.10	1.25	1.34	56.68	1.55	0.77	0.09	1.63	1.30	1.41	1.73	51.65		
	RC	1.21	0.73	0.13	1.24	1.10	1.25	1.34		1.28	0.64	0.07	1.34	1.07	1.17	1.43			
90	RAA	1.33	0.77	0.11	1.36	1.24	1.19	1.48	54.98	1.38	0.68	0.17	1.19	1.14	1.33	1.49	55.40		
	RC	1.24	0.72	0.10	1.28	1.16	1.12	1.39		1.31	0.65	0.16	1.13	1.08	1.26	1.41			
110	RAA	1.08	0.77	0.24	1.38	1.12	1.12	1.58	58.32	1.33	0.70	0.15	1.28	0.95	1.19	1.27	56.08		
	RC	1.04	0.74	0.23	1.32	1.07	1.07	1.51		1.35	0.72	0.15	1.30	0.97	1.22	1.30			
130	RAA	0.97	0.76	0.15	1.33	1.11	1.12	1.57	54.46	1.20	0.71	0.16	1.34	1.12	1.14	1.51	55.65		
	RC	0.97	0.76	0.15	1.33	1.11	1.12	1.57		1.17	0.69	0.15	1.31	1.09	1.11	1.48			
150	RAA	1.01	0.64	0.13	1.14	0.94	0.99	1.39	54.60	1.15	0.70	0.12	1.30	1.09	1.09	1.29	56.35		
	RC	1.14	0.71	0.14	1.28	1.06	1.11	1.56		1.19	0.73	0.13	1.35	1.13	1.13	1.34			
170	RAA	0.97	0.69	0.22	1.35	1.12	1.09	1.45	71.16	1.16	0.65	0.21	1.03	0.97	1.08	1.22	70.86		
	RC	0.67	0.48	0.15	0.93	0.77	0.75	1.00		0.95	0.53	0.18	0.84	0.79	0.88	1.00			
190	RAA	0.91	0.67	0.21	1.42	1.07	1.11	1.39	56.09	1.18	0.55	0.12	0.83	0.76	0.93	1.05	54.38		
	RC	0.94	0.69	0.22	1.47	1.11	1.15	1.44		1.53	0.71	0.16	1.07	0.98	1.20	1.35			

2.3 橄榄果实游离氨基酸组分与含量

2.3.1 橄榄果实各发育时期游离氨基酸含量和组成

氨基酸具有呈味性^[4,30-33],可分为甜味氨基酸:甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸、苏氨酸、脯氨酸、组氨酸和谷氨酰胺;苦味氨基酸:缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、色氨酸和精氨酸;鲜味氨基酸:赖氨酸、谷氨酸、天冬氨酸和天冬酰胺;芳香族氨基酸:苯丙氨酸、酪氨酸和半胱氨酸。据其是否有药用价值,归为药用氨基酸:甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸^[34]。

从表6可知,通过高效液相色谱-串联质谱法测出‘长营’和‘清榄1号’果实各时期均含有19种氨基酸,其中仅半胱氨酸因含量低于检测限未测出。‘长营’果实游离氨基酸含量总体呈升-降-升-降趋势,含量最高在花后150 d为10.146 0 mg/g,与花后50 d(10.076 8 mg/g)无显著性差异($P>0.05$),其他时期含量具有显著性差异($P<0.05$),最低为花后30 d仅6.493 2 mg/g;呈味氨基酸在花后150 d前以甜味氨基酸含量居高,之后以鲜味氨基酸为主,苦味氨基酸含量降低,芳香族氨基酸略有减少,药用氨基酸总体在增加。‘清榄1号’果实游离氨基酸含量总体呈降-升-降-升趋势,含量最高在花后190 d为14.542 6 mg/g,与其他时期含量形成显著性差

表6 ‘长营’和‘清榄1号’果实不同发育时期游离氨基酸组分与含量
Table 6 Free amino acid composition of ‘Changying’ and ‘Qinglan 1 hao’ olives at different developmental stages

氨基酸类别		含量/ (mg/g)																	
		‘长营’ 花后时间/d									‘清榄1号’ 花后时间/d								
		30	50	70	90	110	130	150	170	190	30	50	70	90	110	130	150	170	190
甜味氨基酸	甘氨酸	0.114 4	0.137 9	0.085 4	0.058 6	0.039 2	0.027 0	0.040 6	0.026 3	0.034 1	0.143 4	0.128 5	0.071 7	0.073 8	0.091 7	0.037 7	0.044 9	0.046 6	0.075 1
	丙氨酸	0.156 3	0.600 5	0.369 5	0.282 8	0.179 0	0.096 4	0.097 4	0.035 9	0.035 9	0.309 4	0.384 9	0.184 4	0.362 7	0.410 5	0.158 2	0.175 2	0.050 0	0.128 5
	丝氨酸	1.067 4	1.501 8	1.308 3	0.970 6	0.697 0	0.529 3	0.687 1	0.471 4	0.437 2	1.329 2	1.261 0	0.804 2	1.172 9	1.291 9	0.685 4	0.679 9	0.648 4	1.161 3
	苏氨酸	0.271 4	0.492 2	0.334 2	0.285 0	0.183 4	0.142 3	0.180 0	0.150 6	0.139 6	0.419 7	0.403 0	0.260 5	0.314 8	0.389 5	0.217 9	0.257 1	0.203 6	0.279 4
	脯氨酸	0.135 8	0.113 5	0.148 9	0.125 7	0.204 3	0.197 7	0.219 7	0.200 4	0.171 1	0.122 9	0.118 5	0.103 6	0.139 9	0.198 7	0.167 2	0.186 2	0.210 0	0.222 8
	组氨酸	0.013 3	0.157 0	0.057 5	0.033 9	0.098 6	0.055 4	0.075 6	0.038 6	0.040 8	0.031 0	0.059 7	0.018 2	0.051 4	0.205 5	0.103 1	0.134 4	0.111 4	0.158 0
	谷氨酰胺	0.761 9	2.069 1	2.154 3	1.889 3	2.883 8	2.266 2	3.334 3	1.838 6	1.666 9	1.201 2	1.186 2	0.841 9	2.271 8	3.628 2	2.188 3	2.444 2	2.068 3	3.539 7
	缬氨酸	0.157 8	0.266 7	0.139 4	0.111 3	0.157 3	0.108 9	0.136 3	0.088 6	0.077 5	0.232 7	0.220 8	0.105 3	0.155 0	0.257 9	0.150 2	0.164 1	0.138 5	0.188 6
苦味氨基酸	亮氨酸	0.109 6	0.240 8	0.133 1	0.126 0	0.254 0	0.221 0	0.217 8	0.193 3	0.229 6	0.239 7	0.202 2	0.053 1	0.215 1	0.315 0	0.255 7	0.296 3	0.264 5	0.674 7
	异亮氨酸	0.216 2	0.518 7	0.140 8	0.101 3	0.201 5	0.106 7	0.118 4	0.066 1	0.083 1	0.359 7	0.363 9	0.113 4	0.198 3	0.405 3	0.221 7	0.226 9	0.166 1	0.220 3
	甲硫氨酸	0.015 5	0.045 8	0.039 7	0.020 2	0.036 1	0.023 1	0.051 8	0.033 6	0.033 3	0.025 6	0.034 6	0.015 7	0.035 4	0.067 1	0.042 8	0.052 3	0.055 4	0.109 2
	色氨酸	0.082 9	0.272 3	0.186 1	0.074 6	0.209 1	0.108 5	0.094 2	0.026 5	0.051 8	0.118 5	0.176 5	0.065 8	0.117 3	0.257 5	0.162 1	0.183 8	0.228 8	0.282 8
	精氨酸	0.029 6	0.231 0	0.244 5	0.141 5	0.173 5	0.158 9	0.376 2	0.102 3	0.091 7	0.038 8	0.095 6	0.044 7	0.210 3	0.382 7	0.236 9	0.354 4	0.1092	0.213 7
鲜味氨基酸	赖氨酸	0.089 5	0.162 2	0.125 7	0.147 1	0.176 2	0.184 6	0.241 5	0.125 1	0.138 7	0.095 4	0.110 1	0.092 0	0.188 8	0.279 4	0.217 2	0.274 7	0.073 3	0.123 2
	谷氨酸	0.251 5	0.318 3	0.562 2	0.778 2	1.185 9	1.400 7	1.906 3	2.007 7	2.045 6	0.223 9	0.263 9	0.337 5	0.840 3	1.363 8	1.516 0	1.824 2	2.278 9	2.740 4
	天冬氨酸	0.297 4	0.477 0	0.558 4	0.603 4	0.731 0	0.899 1	1.103 1	1.328 3	1.387 9	0.390 0	0.456 6	0.442 0	0.811 4	1.034 5	1.080 1	1.048 2	1.473 3	2.248 3
	天冬酰胺	2.287 1	1.760 7	2.440 2	1.371 0	1.053 8	0.920 7	1.126 7	0.700 0	0.661 9	2.049 7	1.811 8	1.206 0	1.600 0	1.404 3	0.620 4	0.640 0	0.677 5	1.707 7
芳香族氨基酸	苯丙氨酸	0.254 3	0.499 0	0.152 1	0.052 7	0.096 5	0.054 1	0.058 5	0.020 6	0.036 8	0.497 1	0.595 6	0.102 3	0.160 1	0.194 8	0.094 0	0.089 1	0.081 1	0.179 9
	酪氨酸	0.181 4	0.212 3	0.217 2	0.103 9	0.119 4	0.070 9	0.080 6	0.023 5	0.042 5	0.231 6	0.195 0	0.218 0	0.876 5	0.549 1	0.230 1	0.221 1	0.117 7	0.289 1
	半胱氨酸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
总量		6.493 2 ^a	10.076 8 ^a	9.397 6 ^b	7.277 0 ^c	8.679 5 ^b	7.571 5 ^{bc}	10.146 0 ^a	7.477 2 ^c	7.406 0 ^c	8.059 4 ^d	8.068 3 ^d	5.080 4 ^e	9.796 2 ^c	12.727 4 ^b	8.384 9 ^d	9.296 9 ^{cd}	9.002 7 ^{cd}	14.542 6 ^a
甜味氨基酸		2.520 5	5.072 0	4.458 1	3.645 8	4.285 3	3.314 3	4.634 6	2.761 6	2.525 6	3.556 8	3.541 7	2.284 5	4.387 5	6.216 0	3.557 8	3.921 9	3.338 4	5.564 7
苦味氨基酸		0.611 5	1.575 4	0.883 6	0.574 9	1.031 4	0.727 1	0.994 7	0.510 4	0.567 1	1.014 9	1.093 6	0.398 0	0.931 5	1.685 6	1.069 3	1.277 6	0.962 6	1.689 3
鲜味氨基酸		2.925 6	2.718 2	3.686 5	2.899 8	3.146 9	3.405 1	4.377 5	4.161 1	4.234 0	2.759 0	2.642 3	2.077 5	3.440 6	4.082 0	3.433 7	3.787 1	4.502 9	6.819 6
芳香族氨基酸		0.435 7	0.711 3	0.369 3	0.156 6	0.215 9	0.125 1	0.139 1	0.044 1	0.079 3	0.728 7	0.790 6	0.320 3	1.036 6	0.743 8	0.324 1	0.310 2	0.198 8	0.469 0
药用氨基酸		1.378 0	2.630 7	2.041 9	2.029 0	2.893 8	3.075 2	4.114 2	3.903 2	4.080 9	2.013 6	2.251 0	1.272 5	2.733 7	4.134 3	3.702 1	4.210 8	4.548 3	6.584 9

异 ($P<0.05$)，最低为花后70 d仅5.080 4 mg/g；呈味氨基酸在花后150 d前以甜味氨基酸含量居高，后以鲜味氨基酸为主，苦味氨基酸总体上稍有增加，芳香族氨基酸有所减少，药用氨基酸总体呈上升趋势。

‘长营’与‘清榄1号’果实游离氨基酸总量趋势有所差异。两者含量较多的氨基酸均为丝氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、天冬氨酸和天冬酰胺。呈味氨基酸均表现出前期甜味氨基酸占比大，后期鲜味氨基酸为主，苦味氨基酸总体变化不大，芳香族氨基酸先增加后逐渐减少，药用氨基酸含量逐渐增大。以鲜食为主的花后190 d相比，‘清榄1号’果实游离氨基酸含量较‘长营’高出7.137 7 mg/g，‘清榄1号’果实游离氨基酸总量上更具有优势。

2.3.2 橄榄果实不同时期游离氨基酸RCT值

每个氨基酸都有其味觉阈值^[4,30-33]，通过其RCT决定其对食物风味的贡献，并非含量越高其贡献就越大，当RCT大于1时，此氨基酸对食物具有贡献，并且RCT值越大，贡献就越大，否则就对食物风味无贡献^[4]。从表7可知，对‘长营’和‘清榄1号’果实风味贡献较大的有苦味的精氨酸以及呈鲜味的谷氨酸、天冬氨酸和天冬酰胺。

胺。使‘长营’和‘清榄1号’橄榄具有丰富且独特口感。其中呈鲜味的谷氨酸和天冬氨酸均随着果实成熟，含量逐渐上升，贡献越来越大，使‘长营’和‘清榄1号’果实鲜味浓郁。以食用为主的花后190 d相比，‘清榄1号’橄榄果实鲜味和甜味贡献大于‘长营’，使‘清榄1号’橄榄更具有鲜甜味，这也许就是造成清橄榄‘清榄1号’鲜食口感优于普通橄榄‘长营’的原因之一。

3 讨论与结论

橄榄果实氨基酸种类丰富，本实验中2个品种橄榄水解氨基酸均测出16种氨基酸，包括7种EAA和9种NEAA，此结果与文献[11,14,16]测定结果相一致。在EAA含量上，赖氨酸含量高，甲硫氨酸为限制氨基酸，与林玉芳^[11]、何志勇^[16]结果一致，但其EAA/TAA、EAA/NEAA、EAA与氨基酸模式谱标准及氨基酸评价指标不符合理想参考值，是一种营养不够均衡的水果，与何志勇^[16]认为的檀香橄榄符合FAO/WHO推荐EAA/TAA及EAA/NEAA比例接近40%和60%结果相左，可能是橄榄品种差异所导致。

表7 ‘长营’和‘清榄1号’不同时期游离氨基酸RCT值
Table 7 RCT values of free amino acids of ‘Changying’ and ‘Qinglan 1 hao’ olives at different developmental stages

氨基酸类别		味觉 阈值	RCT																	
			‘长营’ 花后时间/d									‘清榄1号’ 花后时间/d								
			30	50	70	90	110	130	150	170	190	30	50	70	90	110	130	150	170	190
甜味 氨基酸	甘氨酸	1.10	0.10	0.13	0.08	0.05	0.04	0.02	0.04	0.02	0.03	0.13	0.12	0.07	0.07	0.08	0.03	0.04	0.04	0.07
	丙氨酸	0.60	0.26	1.00	0.62	0.47	0.30	0.16	0.16	0.06	0.06	0.52	0.64	0.31	0.60	0.68	0.26	0.29	0.08	0.21
	丝氨酸	1.50	0.71	1.00	0.87	0.65	0.46	0.35	0.46	0.31	0.29	0.89	0.84	0.54	0.78	0.86	0.46	0.45	0.43	0.77
	苏氨酸	2.60	0.10	0.19	0.13	0.11	0.07	0.05	0.07	0.06	0.05	0.16	0.15	0.10	0.12	0.15	0.08	0.10	0.08	0.11
	脯氨酸	3.00	0.05	0.04	0.05	0.04	0.07	0.07	0.07	0.07	0.06	0.04	0.04	0.03	0.05	0.07	0.06	0.06	0.07	0.07
	组氨酸	0.20	0.07	0.78	0.29	0.17	0.49	0.28	0.38	0.19	0.20	0.15	0.30	0.09	0.26	1.03	0.52	0.67	0.56	0.79
	谷氨酰胺	2.50	0.30	0.83	0.86	0.76	1.15	0.91	1.33	0.74	0.67	0.48	0.47	0.34	0.91	1.45	0.88	0.98	0.83	1.42
苦味 氨基酸	缬氨酸	1.50	0.11	0.18	0.09	0.07	0.10	0.07	0.09	0.06	0.05	0.16	0.15	0.07	0.10	0.17	0.10	0.11	0.09	0.13
	亮氨酸	3.80	0.03	0.06	0.04	0.03	0.07	0.06	0.06	0.05	0.06	0.06	0.05	0.01	0.06	0.08	0.07	0.08	0.07	0.18
	异亮氨酸	0.90	0.24	0.58	0.16	0.11	0.22	0.12	0.13	0.07	0.09	0.40	0.40	0.13	0.22	0.45	0.25	0.25	0.18	0.24
	甲硫氨酸	0.30	0.05	0.15	0.13	0.07	0.12	0.08	0.17	0.11	0.11	0.09	0.12	0.05	0.12	0.22	0.14	0.17	0.18	0.36
	色氨酸	0.90	0.09	0.30	0.21	0.08	0.23	0.12	0.10	0.03	0.06	0.13	0.20	0.07	0.13	0.29	0.18	0.20	0.25	0.31
	精氨酸	0.10	0.30	2.31	2.44	1.41	1.74	1.59	3.76	1.02	0.92	0.39	0.96	0.45	2.10	3.83	2.37	3.54	1.09	2.14
	赖氨酸	0.50	0.18	0.32	0.25	0.29	0.35	0.37	0.48	0.25	0.28	0.19	0.22	0.18	0.38	0.56	0.43	0.55	0.15	0.25
鲜味 氨基酸	谷氨酸	0.05	5.03	6.37	11.24	15.56	23.72	28.01	38.13	40.15	40.91	4.48	5.28	6.75	16.81	27.28	30.32	36.48	45.58	54.81
	天冬氨酸	0.03	9.91	15.90	18.61	20.11	24.37	29.97	36.77	44.28	46.26	13.00	15.22	14.73	27.05	34.48	36.00	34.94	49.11	74.94
	天冬酰胺	1.00	2.29	1.76	2.44	1.37	1.05	0.92	1.13	0.70	0.66	2.05	1.81	1.21	1.60	1.40	0.62	0.64	0.68	1.71
	苯丙氨酸	1.50	0.17	0.33	0.10	0.04	0.06	0.04	0.04	0.01	0.02	0.33	0.40	0.07	0.11	0.13	0.06	0.06	0.05	0.12
芳香族 氨基酸	酪氨酸	2.60	0.07	0.08	0.08	0.04	0.05	0.03	0.03	0.01	0.02	0.09	0.08	0.08	0.34	0.21	0.09	0.09	0.05	0.11
	半胱氨酸	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

果实游离氨基酸中呈味氨基酸含量的差异将影响其风味品质。鲁敏等^[5]通过测定无籽刺梨和刺梨中游离氨基酸含量,发现刺梨中精氨酸、谷氨酸、天冬氨酸和鸟氨酸均对刺梨果实风味形成有贡献,而无籽刺梨仅天冬氨酸为其鲜味形成作出贡献,风味品质不如刺梨丰富;岳冬等^[26]测定樱桃番茄和普通番茄游离氨基酸含量,发现樱桃番茄鲜味、甜味和芳香族氨基酸含量高于普通番茄,表明樱桃番茄风味品质优于普通番茄。普通橄榄口味酸涩,多用于加工,鲜食口感不佳;清橄榄口味清淡,回甘良好,品质优于普通橄榄,更适宜鲜食。本实验表明普通橄榄‘长营’和清橄榄‘清榄1号’2个品种橄榄鲜食品质有所差异,‘清榄1号’果实鲜、甜味氨基酸贡献高于‘长营’,表明‘清榄1号’果实鲜甜风味优于‘长营’,符合人们对2种橄榄口感的评价。

普通橄榄‘长营’及清橄榄‘清榄1号’果实水解氨基酸在花后30~190 d均含有16种氨基酸,包括7种EAA和9种NEAA,赖氨酸含量高,EAA/TAA、EAA/NEAA比例不符合FAO/WHO推荐值,RAA、RC及SRC值不理想,为氨基酸种类丰富但营养价值不够均衡的高赖氨酸含量水果。

2个品种橄榄游离氨基酸均含有19种氨基酸,前期甜味氨基酸含量高,后期鲜味氨基酸含量高,苦味和芳香族氨基酸略有变化,药用氨基酸逐渐增高,使各时期

表现出不同的风味特点和高药用价值。总体表现为清橄榄‘清榄1号’鲜味(谷氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺)、甜味氨基酸(谷氨酰胺)贡献高于普通橄榄‘长营’,风味品质优于‘长营’。

参考文献:

- [1] 陈月开,徐军,曲运波,等.氨基酸的抑菌作用研究[J].中国生化药物杂志,2001,22(1):29-30.
- [2] 陆丽虹,缪长虹,张荃,等.老年胃肠道肿瘤患者术中输注氨基酸对术后肝肾功能的影响[J].中国癌症杂志,2015,25(8):614-618. DOI:10.3969/j.issn.1007-3969.2015.08.009.
- [3] 李俊明,贺强,袁超.苏氨酸的营养生理功能及其在畜禽日粮中的应用[J].中国饲料,2014(11):35-38.
- [4] 王齐,朱伟伟,苏丹,等.蒲桃中氨基酸组成与含量对其营养与风味的影响[J].食品科学,2012,33(16):204-207.
- [5] 鲁敏,安华明,赵小红.无籽刺梨与刺梨果实中氨基酸分析[J].食品科学,2015,36(14):118-121. DOI:10.7506/spkx1002-6630-2015140023.
- [6] PRIPIS-NICOLAU L, DE R G, BERTRAND A, et al. Formation of flavor components by the reaction of amino acid and carbonyl compounds in mild conditions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(9): 3761-3766. DOI:10.1021/jf991024w.
- [7] CHEN G, LI J, SUN Z, et al. Rapid and sensitive ultrasonic-assisted derivatisation microextraction (UDME) technique for bitter taste-free amino acids (FAA) study by HPLC-FLD[J]. Food Chemistry, 2014, 143: 97-105. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.07.099.
- [8] ASHRAF M, FOOLAD M R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, 59(2): 206-216. DOI:10.1016/j.envexpbot.2005.12.006.

- [9] 叶发荣, 韩秀梅, 肖钧, 等. ‘红阳’猕猴桃果实氨基酸含量及组成分析[J]. 中国园艺文摘, 2015, 28(5): 1-3.
- [10] 林聪. 闽江流域橄榄(*Canarium album* Raeusch)生产与产业化对策研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2011: 1-5.
- [11] 林玉芳. 福建橄榄(*Canarium album* (Lour.) Raeusch)若干功能成分和品质相关指标的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012: 1-4.
- [12] 谢倩. 橄榄(*Canarium album* (Lour.) Raeusch)果实发育成熟过程多酚及相关酶活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2014: 1-7.
- [13] 彭勃, 苗明三, 王颖芳, 等. 橄榄解酒饮对大鼠急性酒精性肝损伤肝组织病理形态的影响[J]. 中国医药学报, 2004, 19(8): 468-470.
- [14] 万继锋, 吴如健, 韦晓霞, 等. 橄榄果实中糖和氨基酸组成与含量分析[J]. 福建农业学报, 2013, 28(5): 472-477.
- [15] 谢晓琼. 橄榄(*Canarium album* (Lour.) Raeusch)果实若干生理生化指标的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2007: 25-28.
- [16] 何志勇. 橄榄酚类化合物的分离纯化和结构研究[D]. 无锡: 江南大学, 2007: 22.
- [17] 杨远帆, 倪辉, 吴黎明. 茚三酮法测定蜂蜜及果葡糖浆中的氨基酸含量[J]. 中国食品学报, 2013, 13(2): 171-176.
- [18] 何子顺, 李芳芳, 张绍铃, 等. 库尔勒香梨果实中脂肪酸和氨基酸变化及受套袋的影响[J]. 果树学报, 2016, 4(11): 22-26.
- [19] PEREIRA V, PONTES M, CAMARA J S, et al. Simultaneous analysis of free amino acids and biogenic amines in honey and wine samples using in loop orthophalaldehyde derivatization procedure[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1189(1/2): 435-443.
- [20] ZENG F, OU J, HUANG Y, et al. Determination of 21 free amino acids in fruit juices by HPLC using a modification of the 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) method[J]. Food Analytical Methods, 2015, 8(2): 428-437. DOI:10.1007/s12161-014-9905-8.
- [21] MIYOSHI Y, KOGA R, OYAMA T, et al. HPLC analysis of naturally occurring free *D*-amino acids in mammals[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2012, 69: 42-49. DOI:10.1016/j.jpba.2012.01.041.
- [22] 车兰兰. 液相色谱及液质联用法测定三种山西特色食品中游离氨基酸[D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [23] 卫生部. 食品中氨基酸含量的测定: GB/T 5009.124—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [24] 宁健婷, 岳喜庆, 武俊瑞, 等. 梅花鹿初乳主要营养成分及氨基酸组成分析[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 173-177. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201506032.
- [25] 孙锐, 贾明, 杨莉, 等. 山东引种无花果氨基酸及矿物元素成分分析与评价[J]. 食品工业科技, 2015, 36(19): 352-356. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.19.063.
- [26] 岳冬, 刘娜, 朱为民, 等. 樱桃番茄与普通番茄部分品质指标及氨基酸组成比较[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 92-96. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201504017.
- [27] 颜静, 刘继, 熊亚波, 等. 川明参不同部位主要营养成分及氨基酸组成分析[J]. 食品科学, 2015, 36(1): 240-244. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201501046.
- [28] WHO, FAO. Energy and protein requirements[R]. Rome: Report of FAO Nutritional Meeting Series No 52, 1973.
- [29] 王小生. 必需氨基酸对人体健康的影响[J]. 中国食物与营养, 2005(7): 48-49.
- [30] 周秀琴. 日本天然调味料开发现状[J]. 中国调味品, 1993(11): 3-10.
- [31] 蒋滢, 徐颖, 朱庚伯. 人类味觉与氨基酸味道[J]. 氨基酸和生物资源, 2002(4): 70.
- [32] 武彦文, 欧阳杰. 氨基酸和肽在食品中的呈味作用[J]. 中国调味品, 2001(1): 21-24. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2001.01.007.
- [33] 黄翠芳. 影响鸡肉中游离氨基酸和肽类因素的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006: 1-2.
- [34] 孙锐, 贾明, 杨莉, 等. 山东引种无花果氨基酸及矿物元素成分分析与评价[J]. 食品工业科技, 2015, 36(19): 352-356. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.19.063.