

3种甘草种子蛋白游离氨基酸组成及呈味特性的对比分析

帕尔哈提·柔孜^{1,2}, 则拉莱·司马依¹, 刘源^{2*}, 古丽米热·阿巴拜克日¹, 邓杰¹

(1. 新疆农业大学 食品科学与药学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200240)

摘要:为探究3种甘草种子中游离氨基酸的差异,通过测定游离氨基酸种类和含量,采用氨基酸比值系数法、味道阈值、相关性分析、主成分分析和聚类分析等方法对其进行综合评价。结果表明,甘草种子中氨基酸含量丰富,含有17种氨基酸,总量在8.10 mg/g~12.87 mg/g之间,不同品种之间各类氨基酸含量均存在差异。胀果甘草是氨基酸含量最高的品种,并且其中必需氨基酸的比值系数分达到69.02。在呈味氨基酸中,鲜味氨基酸所占比例最高,为51.95%,其中谷氨酸为主要贡献者;药用氨基酸含量也很丰富,所占比例为70.59%~73.19%。胀果甘草综合得分在3种甘草种子之中最高,为4.16。系统聚类法将各类氨基酸大致分为2类,可以较好地反映出不同品种之间的差异性。甘草种子中氨基酸种类丰富,且富含呈味氨基酸和药用氨基酸,营养价值高,有望成为新资源食品。

关键词:甘草种子;游离氨基酸;呈味氨基酸;药用氨基酸;主成分分析

Comparative Analysis of Free Amino Acid Composition in Proteins of Seeds of Three *Glycyrrhiza* Species and the Flavor Characteristics

ROZI Parhat^{1,2}, SIMAYI Zelalail¹, LIU Yuan^{2*}, ABABAIKERI Gulimire¹, DENG Jie¹

(1. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China;
2. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: This study aims to explore the difference in free amino acids among seeds of three *Glycyrrhiza* species. To be specific, the types and content of the free amino acids were determined by amino acid analyzer. Ratio coefficient of amino acid (RC), taste activity value (TAV), correlation analysis, principal component analysis, and clustering analysis were used for comprehensive evaluation. The results showed that seeds of the three *Glycyrrhiza* species were rich in amino acids (17 kinds, total content: 8.10 mg/g~12.87 mg/g) and that the content of various amino acids was different among seeds of the three species. Seeds of *Glycyrrhiza inflata* topped the three species in amino acid content, and the score of RC of essential amino acids stood at 69.02. Among the flavor amino acids, umami amino acids accounted for the largest proportion (51.95%), and glutamine was the main contributor. The content of medicinal amino acids was also high (70.59%~73.19%). Seeds of *G. inflata* won the highest comprehensive score (4.16). Clustering analysis roughly classified various types of amino acids into two categories. The clustering analysis result was consistent with that of principal component analysis, which reflected the difference in amino acids among seeds of different species. Seeds of *Glycyrrhiza* boast many kinds of amino acids and are rich in flavor amino acids and medicinal amino acids, which are thus of high nutritional value and show potential as a nutritional food.

Key words: *Glycyrrhiza* seeds; free amino acid; flavor amino acid; medicinal amino acid; principal component analysis

基金项目:新疆维吾尔自治区天山青年博士科技人才培养项目(2019Q074)

作者简介:帕尔哈提·柔孜(1989—),男(维吾尔),副教授,博士,研究方向:功能多肽的制备与活性筛选。

*通信作者:刘源(1979—),男(汉),教授,博士,研究方向:食品风味与品质评价。

引文格式:

帕尔哈提·柔孜,则拉莱·司玛依,刘源,等.3种甘草种子蛋白游离氨基酸组成及呈味特性的对比分析[J].食品研究与开发,2023,44(8):53-60,218.

ROZI Parhat, SIMAYI Zelalail, LIU Yuan, et al. Comparative Analysis of Free Amino Acid Composition in Proteins of Seeds of Three *Glycyrrhiza* Species and the Flavor Characteristics[J]. Food Research and Development, 2023, 44(8): 53-60, 218.

甘草(*Glycyrrhiza*)属于豆科植物,是世界上使用频率最高的中草药之一,主要分布于我国新疆、内蒙古、宁夏及甘肃等地区^[1]。乌拉尔甘草、胀果甘草和光果甘草作为药用甘草植物收载于《中国药典》。甘草的根和根茎是众多药物的主要成分,其医疗用途非常广泛,保健功效和药用价值较高,还可以作为食品添加剂使用。甘草除了含有丰富的三萜、黄酮、生物碱、多糖等活性成分外,蛋白质也是其重要的营养成分之一^[2],具有较好的开发利用价值。

游离氨基酸是易于被人体消化吸收的一种营养成分,不仅可以增强机体新陈代谢、生长和免疫功能,还可以作为重要的呈味物质体现出鲜、苦、甜、酸等味道及涩感,赋予食物丰富的味觉层次感,且被广泛用于增香、保鲜、调味及除臭等方面^[3]。植物蛋白是游离氨基酸的重要来源之一,资源丰富且优质。

游离氨基酸的含量与种类是评价其蛋白产品食用品质的一项重要指标之一。目前,已有关于大豆、芸豆、鹰嘴豆等豆科植物的氨基酸种类及含量分析的研究^[4-6]。安馨等^[6]研究发现鹰嘴豆中含有18种氨基酸,其总量为868.7 mg/g,必需氨基酸(essential amino acid, EAA)含量为353.1 mg/g,接近联合国粮食与农业组织/世界卫生组织(Food and Agriculture Organization/World Health Organization, FAO/WHO)推荐的理想蛋白氨基酸组成(红芸豆、黄芸豆、白芸豆和黑芸豆蛋白中必需氨基酸占总氨基酸的比例分别为60%、57%、62%、57%),而大豆蛋白的必需氨基酸占总氨基酸含量的比例为47%,小于芸豆蛋白^[5];汪一飞等^[7]通过测定3种药用甘草叶的氨基酸含量发现,它们均含有17种氨基酸,并且3种甘草叶中必需氨基酸占所有氨基酸的比例为约39.8%,必需氨基酸占非必需氨基酸的比例约为60%,虽然与大豆、芸豆等豆科植物相比,氨基酸含量相对较低,但也与FAO/WHO标准模式谱非常接近。种子作为甘草非传统药用部位,目前对其营养价值、呈味特性及生物活性尚未进行系统地深入研究,导致资源的浪费和产业链的延伸受阻。甘草种子同样作为豆科植物,具有较好蛋白资源开发应用潜力,因此对其进行氨基酸组成、含量、呈味功能及营养特性等方面的研究,在实现优势资源的综合利用,提高附加值及风味蛋白食品开发等领域具有重要的意义。

本研究利用氨基酸自动分析仪,测定3种甘草种子中含有的游离氨基酸,将其中必需氨基酸与FAO/WHO标准模式谱进行比较,通过计算氨基酸比值(ratio of amino acid, RAA)、氨基酸比值系数(ratio coefficient of amino acid, RC)、氨基酸比值系数分(score of ratio coefficient of amino acid, SRC)以及味道强度值(taste active value, TAV)等方法对甘草种子蛋白氨基酸进行营养价值评价,同时采用主成分分析(principal component analysis, PCA)和聚类分析进行较为全面的综合质量评价,为甘草种子营养价值与呈味功能的进一步开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

3种甘草种子:市售,经新疆农业大学食品科学与药学院马生军副教授鉴定为乌拉尔甘草种子、胀果甘草种子、光果甘草种子。

石油醚:天津市致远化学试剂有限公司;无水乙醇:天津永晟精细化工有限公司,以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DF-101S 恒温加热磁力搅拌器:上海兴创科学仪器有限公司;SF-TDL-40D 离心机:上海菲恰尔分析仪器有限公司;RE-52AA 旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂;LGJ-12 真空冷冻干燥机:上海腾方仪器设备有限公司;L-8900 日立全自动氨基酸分析仪:日本高新技术公司。

1.3 方法

1.3.1 甘草种子蛋白的提取

分别称取3种甘草种子适量,进行粉碎,过60目筛。将甘草种子粉末与石油醚按1:10(g/mL)的比例置于摇床中振摇3h,重复3次、进行抽滤、室温放置12h,直至完全干燥。分别称取3种脱脂粉末各10g,放入圆底烧瓶内,加入蒸馏水200mL[料液比为1:20(g/mL)],40℃下磁力搅拌提取4h,重复4次,在4000r/min离心10min,将离心液在旋转蒸发器上浓缩,温度控制在40℃,浓缩液进行透析;将3种透析后的提取液分别置于培养皿中,用-45℃低温冰箱冰冻12h,再进行冷冻干燥,得到3种甘草种子蛋白粉末。

1.3.2 氨基酸的测定

根据 GB/T 30987—2020《植物中游离氨基酸的测定》,采用全自动氨基酸分析仪测定氨基酸含量与成分。

1.4 数据分析

1.4.1 氨基酸比值系数法

将3种甘草种子蛋白的氨基酸组成与1973年FAO/WHO提出的人体必需氨基酸模式进行比对,按文献[8]计算RAA、RC和SRC,并对甘草种子蛋白的营养价值进行评价与讨论。

1.4.2 TAV分析

TAV为呈味物质测定值与呈味物质味觉阈值的比值,数据分析采用Excel软件完成。

1.4.3 相关性分析

采用SPSS 26软件进行相关系数分析,相关系数反映原始变量之间的线性相关程度。

1.4.4 PCA及综合评价

采用SPSS 26软件对3种甘草种子游离氨基酸进行主成分分析及综合评价。

1.4.5 聚类分析

采用SPSS 26软件对甘草种子游离氨基酸进行聚类分析。

蛋白进行氨基酸组成分析,结果如表1所示。

表1 3种甘草种子的游离氨基酸含量

Table 1 Content of free amino acids in seeds of three

Glycyrrhiza species

氨基酸种类	乌拉尔甘草/ ($\mu\text{g/g}$)	胀果甘草/ ($\mu\text{g/g}$)	光果甘草/ ($\mu\text{g/g}$)
异亮氨酸(Isoleucine, Ile)*	249.62	386.62	206.69
亮氨酸(Leucine, Leu)*	460.60	718.23	378.56
苏氨酸(Threonine, Thr)*	546.54	612.19	461.08
苯丙氨酸(Phenylalanine, Phe)*	553.03	774.51	674.71
赖氨酸(Lysine, Lys)*	562.66	741.57	464.80
缬氨酸(Valine, Val)*	479.37	713.20	398.48
蛋氨酸(Methionine, Met)*	0	155.80	0
酪氨酸(Tyrosine, Tyr)	438.11	574.53	320.96
天冬氨酸(Aspartate, Asp)	1 197.54	1 471.36	1 174.06
丝氨酸(Serine, Ser)	407.12	531.94	351.53
丙氨酸(Alanine, Ala)	578.71	922.36	439.87
谷氨酸(Glutamate, Glu)	2 042.61	2 134.27	1 683.99
甘氨酸(Glycine, Gly)	591.07	1 126.52	499.96
半胱氨酸(Cysteine, Cys)	43.17	183.83	44.94
组氨酸(Histidine, His)	200.85	290.43	180.35
精氨酸(Arginine, Arg)	840.72	1 386.86	733.57
脯氨酸(Proline, Pro)	99.54	143.63	89.04

注:*是指必需氨基酸。

2 结果与分析

2.1 游离氨基酸的组成与含量

游离氨基酸是易被人体消化吸收的一种营养成分,不仅可以增强机体新陈代谢、生长和免疫功能,还具有多种生理功能,而且其含量与种类对食物的口感和品质也有一定的影响,是评价其食用品质的一项重要指标^[9]。本试验利用氨基酸分析仪,对3种甘草种子

根据表1所示的氨基酸种类及含量,对3种甘草种子的氨基酸总量(total amino acid, TAA)、EAA、必需氨基酸(non-essential amino acid, NEAA)、药用氨基酸(medicinal amino acid, MAA)、儿童必需氨基酸(child essential amino acid, CEAA)和支链氨基酸(branched-chain amino acid, BAA)的含量以及组成比例进行了汇总,结果见表2。

表2 3种甘草种子中不同氨基酸的含量及总氨基酸中的组成比例

Table 2 Content of free amino acids and their proportions in total amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

样品	TAA/ ($\mu\text{g/g}$)	EAA/ ($\mu\text{g/g}$)	NEAA/ ($\mu\text{g/g}$)	MAA/ ($\mu\text{g/g}$)	CEAA/ ($\mu\text{g/g}$)	BAA/ ($\mu\text{g/g}$)	(EAA/ TAA)/%	(EAA/ NEAA)/%	(MAA/ TAA)/%	(CEAA/ TAA)/%	(BAA/ TAA)/%
乌拉尔甘草	9 291.26	2 851.82	6 439.44	6 248.23	4 143.01	1 189.59	30.69	44.29	71.96	41.90	12.80
胀果甘草	12 867.85	4 102.12	8 765.73	8 509.12	6 166.03	1 818.05	31.88	46.80	70.59	44.91	14.13
光果甘草	8 102.59	2 584.32	5 518.27	5 609.65	3 704.93	983.73	31.89	46.83	73.19	43.17	12.14

3种提取物中氨基酸种类均较齐全,其中,胀果甘草样品检测出17种氨基酸,而光果甘草和乌拉尔甘草样品中也含有除Met之外的其他16种氨基酸成分。TAA、EAA、NEAA、MAA、CEAA和BAA含量均为光果甘草<乌拉尔甘草<胀果甘草,其中乌拉尔甘草、胀果甘草、光果甘草的EAA/TAA值分别为30.69%、31.88%、31.89%,EAA/NEAA值分别为44.29%、46.80%、46.83%,都较接近FAO/WHO规定的EAA/TAA=40%,EAA/NEAA=60%的标准。此外,在3个样品中Asp和Glu的含量均明显高于其他氨基酸组分,分别占TAA的

12.89%、11.43%、14.49%和21.98%、16.59%、20.78%。除了在食品上的应用,在医药、化工等方面也都有着广泛的用途,并且有研究表明母乳氨基酸含量中Glu含量最丰富^[10]。Glu是谷胱甘肽的前体,是中枢神经系统重要的兴奋性递质,其对婴幼儿的生长发育有更大的益处,同时是肠道细胞能量的重要底物^[11]。所测样品中胀果甘草种子的Glu含量最高,同时,其CEAA/TAA值也最高,为44.91%。Ile、Leu和Val被称为支链氨基酸,不仅是合成蛋白质的前体物质,而且具有许多其他特殊生物学功能,属于功能性氨基酸^[12]。BAA/TAA的比值

中,3类样品基本一致,分别为12.80%、14.13%、12.14%。整体上不同品种的样品在多种氨基酸含量上存在的差异不明显,其中胀果甘草种子的多种氨基酸含量均高于其余样品。

各类蛋白质的氨基酸营养价值主要取决于所含EAA的种类、数量和组成比例,为了确定3种药用甘草中氨基酸的营养价值,将其所含EAA与FAO/WHO推荐的氨基酸模式谱标准值进行比较,结果如表3所示。

表3 3种甘草种子的必需氨基酸组成

Table 3 Composition of essential amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

项目	Ile	Leu	Thr	Phe+Tyr	Lys	Val	Met+Cys
FAO/WHO 模式	4.00	7.00	4.00	6.00	5.50	5.00	3.50
乌拉尔甘草	2.69	4.96	5.88	10.67	6.12	5.16	0.46
胀果甘草	3.00	5.58	4.76	10.48	5.76	5.54	2.64
光果甘草	2.55	4.67	5.69	12.29	5.74	4.92	0.55

由表3可知,3种甘草种子中Thr、Phe+Tyr和Lys的含量均高于氨基酸标准模式谱;乌拉尔甘草和胀果甘草中的Val含量也高于氨基酸模式谱。但3种甘草种子中Ile、Leu和Met+Cys的含量都与氨基酸标准模式谱有较大的差距。

2.2 氨基酸比值系数法的评价结果

为了更好地对3种甘草种子中氨基酸的营养价值进行直观评价,采用氨基酸比值系数法对3种样品所含的必需氨基酸进行进一步分析,氨基酸比值系数法即根据氨基酸平衡理论利用FAO/WHO的必需氨基酸模式计算样品中EAA的RAA、RC和SRC见表4。

由表4可知,3种甘草种子中SRC值范围为43.21~69.02,平均值为53.62,说明其营养价值较高。其

表4 3种甘草种子必需氨基酸的RAA、RC、SRC

Table 4 Ratio, ratio coefficient, and score of ratio coefficient of essential amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

样品	参数	Ile	Leu	Thr	Phe+Tyr	Lys	Val	Met+Cys
乌拉尔甘草	RAA	0.67	0.71	1.47	1.78	1.10	1.03	0.13
	RC	0.68	0.72	1.49	1.81	1.12	1.05	0.13
	SRC	48.64						
胀果甘草	RAA	0.75	0.80	1.19	1.75	1.05	1.11	0.75
	RC	0.71	0.75	1.13	1.65	0.99	1.05	0.71
	SRC	69.02						
光果甘草	RAA	0.64	0.67	1.42	2.05	1.04	0.98	0.16
	RC	0.64	0.67	1.43	2.06	1.05	0.99	0.16
	SRC	43.21						
平均值	RAA	0.69	0.72	1.36	1.86	1.06	1.04	0.35
	RC	0.68	0.72	1.35	1.84	1.05	1.03	0.34
	SRC	53.62						

中胀果甘草的SRC值最高,达到69.02,可视为营养价值较高的植物蛋白。而光果甘草和乌拉尔甘草的SRC值相对较低,分别为43.21和48.64。在3种甘草样品中,RC平均值最接近1的是Lys和Val;而在3种甘草种子氨基酸中RC值最小者均为Met+Cys,即为第一限制性氨基酸,相对而言,在植物性蛋白质中缺少的含硫氨基酸Met+Cys,而在鸡蛋、肉等动物蛋白中含量较高,因此甘草种子蛋白与动物蛋白相结合,可提高甘草种子蛋白的营养价值。

2.3 呈味特征和TAV分析

根据氨基酸的呈味特征,大致将其分为鲜味氨基酸(Asp、Glu、Gly、Ala、Lys)、苦味氨基酸(Arg、Val、Met、Ile、Leu)、甜味氨基酸(Ser、Thr、His、Pro)和芳香族氨基酸(Cys、Tyr、Phe)^[13]。3种甘草种子呈味氨基酸的含量及比例如表5所示。

表5 3种甘草种子呈味氨基酸的含量及比例

Table 5 Content and proportions of flavor amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

样品	鲜味氨基酸		苦味氨基酸		甜味氨基酸		芳香族氨基酸	
	含量/(mg/g)	比例/%	含量/(mg/g)	比例/%	含量/(mg/g)	比例/%	含量/(mg/g)	比例/%
乌拉尔甘草	4.973	53.52	2.030	21.85	1.254	13.50	1.034	11.13
胀果甘草	6.396	49.71	3.361	26.12	1.578	12.26	1.533	11.91
光果甘草	4.263	52.61	1.717	21.19	1.082	13.35	1.041	12.85
平均值	5.210	51.95	2.369	23.05	1.305	13.04	1.202	11.96

由表5可知,3种甘草种子样品中鲜味氨基酸含量最高,平均含量为5.210 mg/g,占TAA的51.95%,其中胀果甘草中含量最高,达6.396 mg/g,而对占氨基酸总量的比值来说,乌拉尔甘草的占比最高,为53.52%。其次是苦味氨基酸,平均含量为2.369 mg/g,所占TAA比值为23.05%,其中胀果甘草中含量最高,达3.361 mg/g。甜味氨基酸含量介于1.082 mg/g~1.578 mg/g,占TAA的比例为13.04%。而含量最少的是芳香族氨基酸,占TAA的11.96%。通过比较3种甘草种子样品中4种呈

味氨基酸的占TAA的比值可知,鲜味氨基酸占TAA的比值排序:乌拉尔甘草>光果甘草>胀果甘草;苦味氨基酸占TAA的比值排序:胀果甘草>乌拉尔甘草>光果甘草;甜味氨基酸占TAA的比值排序:乌拉尔甘草>光果甘草>胀果甘草;芳香族氨基酸占TAA的比值排序:光果甘草>胀果甘草>乌拉尔甘草。4种呈味氨基酸在不同甘草种子中的含量差异并不明显,3种甘草种子均富含鲜味氨基酸且芳香族氨基酸含量最低。

游离氨基酸对食品风味的贡献主要与其含量及

比例有关。3种甘草种子呈味氨基酸组成模式如图1所示。

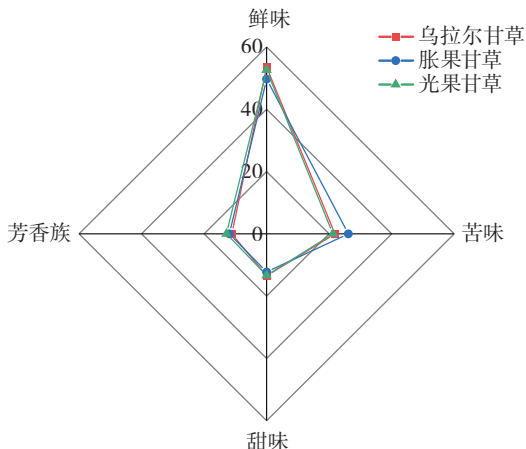


图1 3种甘草种子呈味氨基酸组成模式图

Fig.1 Comparative profiles of flavor amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

根据图1可知,贡献较大的是鲜味氨基酸和苦味氨基酸,3种样品的模式图面积大小基本一致,说明在3种甘草种子中各类呈味氨基酸含量及比例差异不明显。甘草独特的风味可能与其含有的高含量呈味氨基酸有密切联系,特别是占比最高的鲜味氨基酸,赋予甘草丰富的鲜味,同时有效减少苦味,缓解其不良口感。

各种游离氨基酸之所以能呈现出不同的味觉特征,跟其阈值有最直接的关系。根据各游离氨基酸阈值计算TAV,其值越大表示其对呈味贡献越大,而当TAV<1时,表示该氨基酸对呈味贡献不大^[14]。3种甘草种子中氨基酸的TAV见表6。

表6 3种甘草种子呈味氨基酸的TAV

Table 6 Taste activity values of flavor amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

分类	氨基酸	味道阈值/(mg/g)	TAV			
			乌拉尔甘草	胀果甘草	光果甘草	平均值
鲜味	Glu	0.30	6.81	7.11	5.61	6.51
	Asp	1.00	1.20	1.47	1.17	1.28
	Lys	0.50	1.13	1.48	0.93	1.18
	Gly	1.30	0.45	0.87	0.38	0.57
	Ala	0.60	0.96	1.54	0.73	1.08
苦味	Met	0.30	0.00	0.52	0.00	0.17
	Arg	0.50	1.68	2.77	1.47	1.97
	Val	0.40	1.20	1.78	1.00	1.33
	Leu	1.90	0.24	0.38	0.20	0.27
	Ile	0.90	0.28	0.43	0.23	0.31
甜味	Thr	2.60	0.21	0.24	0.18	0.21
	His	0.20	1.00	1.45	0.90	1.12
	Pro	3.00	0.03	0.05	0.03	0.04
	Ser	1.50	0.27	0.35	0.23	0.28
芳香族	Phe	0.90	0.61	0.86	0.75	0.74
	Cys	0.02	2.16	9.19	2.25	4.53
	Tyr	0.90	0.49	0.64	0.36	0.50

由表6可知,在3种甘草种子中胀果甘草样品TAV大于1的氨基酸组成最多,共有8种;乌拉尔甘草次之,有7种;光果甘草中最少,仅5种。4类呈味氨基酸中鲜味氨基酸的TAV平均值大于1的种类最多,包括Glu、Asp、Lys和Ala4种,对风味具有重要的贡献,其中Glu是最主要的成分,3种样品中Glu的TAV平均值高达6.51,说明其对呈鲜味的贡献最大。3种甘草种子中苦味氨基酸种类也较多,但仅有Arg和Val的TAV大于1,当苦味氨基酸含量低于味道阈值时,因对比现象可以使其他味觉变得更突出,增强呈味氨基酸的作用。

胀果甘草种子中大于味道阈值的呈味氨基酸数量最多,共有9种,其中Cys、Glu和Arg的TAV为9.19、7.11和2.77,明显高于其他呈味氨基酸组分,说明其对鲜味和芳香味有较大贡献。乌拉尔甘草与光果甘草种子一样,共有8种呈味氨基酸大于其味道阈值,其中对其味道有特别贡献的是Glu,TAV分别为6.81和5.61,并且两者Cys的TAV也较大,分别为2.16和2.25,虽与胀果甘草比较相对较低,但仍远高于其味道阈值0.02。总体来看,3个样品中测得的17种氨基酸的组成对其风味的影响存在一定差异,整体表现为Gly、Thr、Pro、Ser、Met、Leu、Ile、Tyr和Phe对呈味贡献不大,其余各氨基酸的呈味贡献大小依次为Glu>Cys>Arg>Val>Asp>Lys>His>Ala。显然,在3种甘草种子中鲜味氨基酸的呈味贡献远高于其他组分,因此甘草种子可作为风味添加剂、保鲜剂和调味剂应用到食品工业中。

2.4 药用氨基酸含量分析

自然界中氨基酸有20多种,其中Arg、Gly、Glu、Asp、Met、Lys、Phe、Leu、Tyr等9种氨基酸被称为药用氨基酸^[15]。本文对3种甘草种子中的不同种药用氨基酸进行了对比分析,如图2所示。

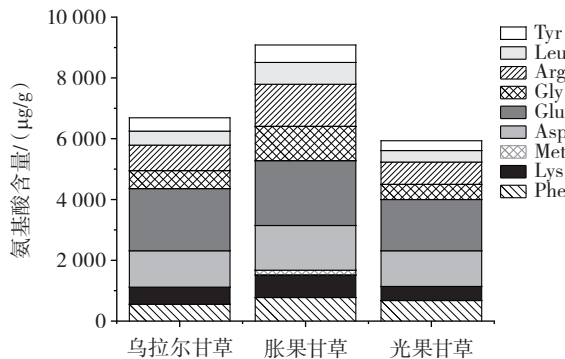


图2 3种甘草种子中药用氨基酸组分含量

Fig.2 Content of medicinal amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

由图2可知,胀果甘草种子中药用氨基酸含量最

高,占 TAA 含量的 70.59%,与部分药食同源食材相比,含量与党参(70%)相当^[16],高于枇杷(56%)^[17],可视为药用价值较高的植物蛋白资源。3 种甘草种子药用氨基酸中 Glu、Asp 和 Arg 含量较高,是甘草种子蛋白中药用氨基酸的主要成分。其中 Glu 的含量明显高于其他成分,乌拉尔甘草种子中的 Glu 含量占 MAA 的比例为 32.69%。Glu 作为机体组织游离氨基酸中最为丰富的一种氨基酸,具有促进蛋白合成、提高机体免疫力和保护肠黏膜屏障及加快创伤机体的恢复等多种功能^[18]。对肝性昏迷和改善儿童智力发育均有一定的治疗效果^[19]。此外,Glu 可通过维持 ATP 和谷胱甘肽的水平而发挥保护心脏的作用^[20]。光果甘草种子中 Asp 含量最高,占 MAA 的比例为 20.93%。Asp 对增强肝功

能,调节神经代谢,预防心脏病、高血压等疾病起到重要作用^[21]。3 种甘草种子中 Arg 含量均略低于 Asp,其中胀果甘草种子的 Asp 含量相对较高,占 MAA 的比例为 16.30%。Arg 对于婴幼儿来说是一种必需氨基酸,虽然不是成人人体必需的氨基酸,但它作为最丰富的氮载体,是体内合成一氧化氮(NO)等分子的前体,对机体维持正常生理功能有重要的作用^[22]。因此富含各种药用氨基酸的甘草种子蛋白可视为多种保健食品开发以及药用膳食搭配的理想蛋白。

2.5 相关性分析

根据相关系数矩阵直观检验原则,利用 SPSS 软件计算相关系数矩阵,对 3 种甘草种子 17 种氨基酸成分进行相关性分析,如表 7 所示。

表 7 3 种甘草种子各类氨基酸指标间相关性分析

Table 7 Correlation analysis among amino acids in seeds of three *Glycyrrhiza* species

名称	Ile	Leu	Thr	Phe	Lys	Tyr	Val	Met	Asp	Ser	Ala	Glu	Gly	Cys	His	Arg	Pro
Ile	1.000																
Leu	1.000**	1.000															
Thr	0.933	0.934	1.000														
Phe	0.689	0.687	0.381	1.000													
Lys	0.992	0.992	0.971	0.592	1.000												
Tyr	0.969	0.970	0.993	0.489	0.992	1.000											
Val	1.000*	1.000*	0.940	0.674	0.994	0.974	1.000										
Met	0.974	0.973	0.826	0.836	0.937	0.887	0.969	1.000									
Asp	0.987	0.987	0.864	0.795	0.960	0.918	0.984	0.997*	1.000								
Ser	0.997*	0.997*	0.957	0.632	0.999*	0.985	0.998*	0.954	0.973	1.000							
Ala	0.999*	0.999*	0.951	0.65	0.997*	0.981	0.999*	0.96	0.978	1.000*	1.000						
Glu	0.812	0.814	0.968	0.136	0.879	0.931	0.823	0.657	0.709	0.854	0.842	1.000					
Gly	0.995	0.995	0.894	0.755	0.976	0.941	0.993	0.991	0.998*	0.985	0.989	0.753	1.000				
Cys	0.971	0.97	0.82	0.842	0.933	0.882	0.966	1.000**	0.997	0.95	0.957	0.649	0.989	1.000			
His	0.999*	0.998*	0.912	0.727	0.984	0.954	0.997*	0.985	0.995	0.992	0.994	0.779	0.999*	0.983	1.000		
Arg	0.997*	0.997	0.902	0.742	0.98	0.947	0.995	0.988	0.997	0.988	0.992	0.765	1.000*	0.987	1.000*	1.000	
Pro	0.999*	0.999*	0.914	0.723	0.985	0.956	0.998*	0.983	0.994	0.992	0.995	0.783	0.999*	0.981	1.000**	1.000*	1.000

注:*表示显著相关($P<0.05$);**表示极显著相关($P<0.01$)。

由表 7 可知,氨基酸含量之间存在较强正相关,尤其是 Leu 与 Ile,Cys 与 Met,Pro 与 His 之间呈极显著相关($P<0.01$)。整体表明甘草种子氨基酸间相关性较强,进一步通过 PCA 的方法进行综合分析。

2.6 主成分分析

通过 SPSS 软件,以氨基酸各组分含量为分析指标,对 3 种甘草种子中 17 种氨基酸进行主成分分析,结果见表 8。

表 8 主成分的特征值和贡献率

Table 8 Eigenvalues of the principal components,their contributions,and cumulative contributions

主成分	特征值	贡献率/%	累计贡献率/%
1	15.764	92.730	92.730
2	1.236	7.270	100.00

由表 8 可知,由于前 2 个主成分的累计贡献率为 100%,基本上可反映出所有变量的原有信息,故可选取前 2 个主成分作为数据分析的有效成分。

主成分载荷矩阵反映的是主成分与每个变量之间的相关系数,已选择的 2 个主成分的载荷矩阵如表 9 所示。

如表 9 所示,数值反映原变量对因子影响的大小,正负则代表变化方向的区别^[23]。在主成分 1 中除了 Phe 和 Glu 两个指标,其余的所有指标的载荷系数均超过 0.9,均为高度正相关,说明第 1 主成分的贡献率最大。而在第 2 主成分中 Phe 和 Glu 的载荷系数较高,分别为 0.722 和 -0.587,具有正向影响,也具有负向影响。PCA 载荷图如图 3 所示。

根据图 3 两个主成分中 Gly、Arg、Leu、His、Ile、

表 9 主成分的载荷矩阵
Table 9 Load matrix of principal components

氨基酸	Ile	Leu	Thr	Phe	Lys	Tyr	Val	Met	Asp	Ser	Ala	Glu	Gly	Cys	His	Arg	Pro
主成分1	1.000	1.000	0.931	0.692	0.992	0.968	1.000	0.975	0.988	0.997	0.998	0.810	0.996	0.972	0.999	0.997	0.999
主成分2	-0.004	-0.007	-0.364	0.722	-0.129	-0.251	-0.024	0.224	0.155	-0.079	-0.057	-0.587	0.091	0.235	0.050	0.073	0.044

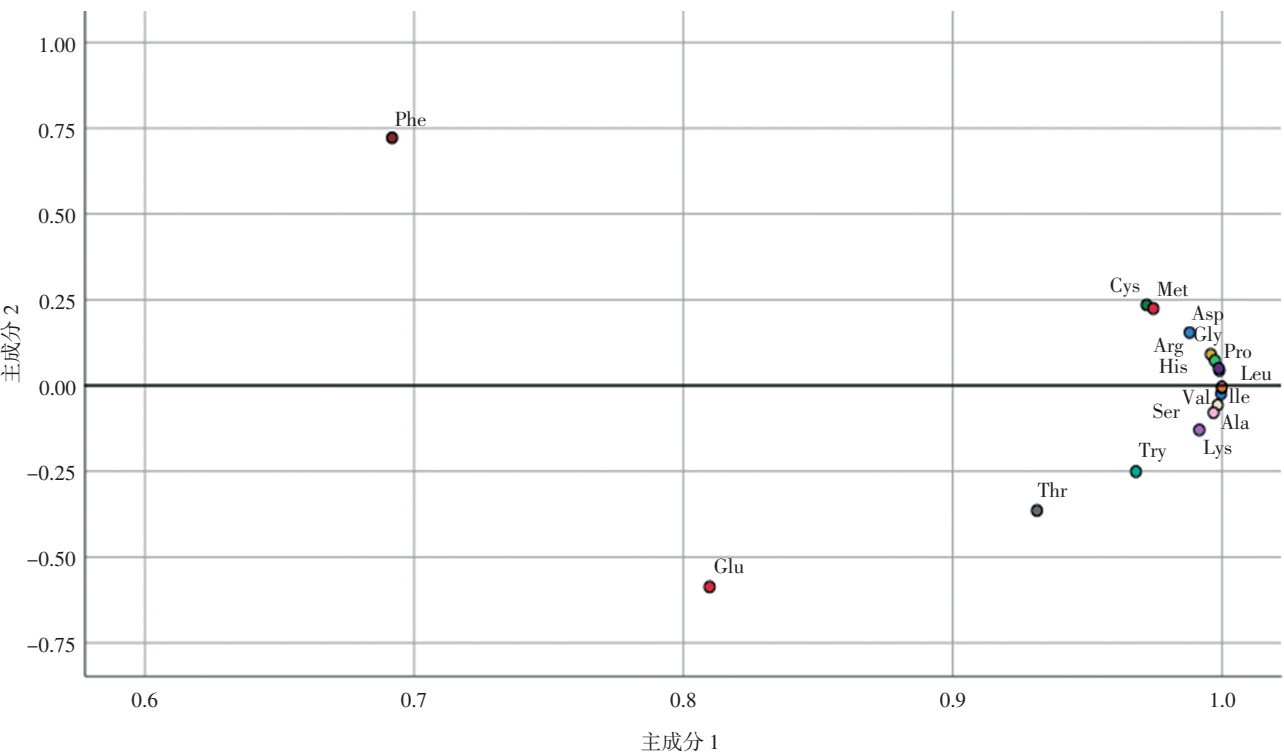


图 3 PCA 载荷图
Fig.3 PCA loading plot

Ala、Val 和 Ser 等指标分布的位置可知,它们的相关性较大,贡献率也较高。

2.7 综合评价

通过 PCA 发现前 2 个主成分足以反映 17 种氨基酸信息,因此,利用前 2 个主成分进行 3 种甘草种子游离氨基酸的综合评价是可行的,可用 PCA 得到的 F_1 和 F_2 两个新的综合指标代替原来的 17 个指标对氨基酸进行分析,得到 3 种甘草种子氨基酸成分的前 2 个主成分线性关系分别为 $F_1=0.252x_1+0.252x_2+0.234x_3+0.174x_4+\cdots+0.245x_{14}+0.252x_{15}+0.251x_{16}+0.252x_{17}$; $F_2=-0.004x_1-0.006x_2-0.327x_3+0.649x_4+\cdots+0.211x_{14}+0.045x_{15}+0.066x_{16}+0.040x_{17}$ 。

单独使用某一主成分无法对其质量做出综合性评价,因此根据 PCA 结果,以各主成分对应的特征值的方差贡献率 β_i 作为权重,建立综合评价模型 $F=0.927\ 3F_1+0.072\ 7F_2$,计算各样品的综合得分,所得的分数可以反映出各样品中氨基酸的综合品质见表 10。

由表 10 可知,第一主成分得分最高的是胀果甘

表 10 不同品种甘草种子的成分得分和综合得分
Table 10 Principal component scores and comprehensive scores of different cultivars of *Glycyrrhiza* seeds

品种	F_1	F_2	F
乌拉尔甘草	-1.343 3	-1.224 7	-1.334 9
胀果甘草	4.468 1	0.288 7	4.164 3
光果甘草	-3.124 8	0.938 7	-2.829 4

草,而第二主成分得分最高的是光果甘草。根据计算得到的 3 种样品的综合得分可判断出,综合评价排序依次为乌拉尔甘草、胀果甘草、光果甘草;胀果甘草的综合评价得分最高,为 4.164 3,并且较大程度上超出其他 2 种甘草的综合评价得分,这说明胀果甘草种子的游离氨基酸综合质量较高。光果甘草的综合评价得分最低,为-2.829 4,说明其游离氨基酸综合质量水平低于平均水平。

2.8 聚类分析

通过 SPSS 软件对 3 种甘草种子氨基酸进行系统聚类分析,结果如图 4 所示。

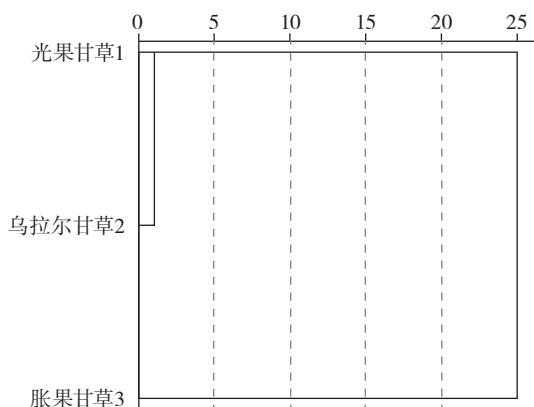


图4 聚类分析图

Fig.4 Dendrogram from cluster analysis

由图4可知,样品大致可分为2类,胀果甘草为单独一类,而综合评分为负值的乌拉尔和光果甘草为一类。样品的种类、种植环境与技术等因素均会影响氨基酸的品质,该聚类分析得到了与PCA一致的分析结果,可以较好地反映出不同品种之间的差异性。因此,本试验进行聚类分析是可行的,可为甘草种子蛋白开发利用及氨基酸营养价值评价提供理论参考。

3 结论

本文利用氨基酸分析仪,对3种甘草种子蛋白中的氨基酸组成与含量进行测定,共检测出17种氨基酸。Thr和Lys在3种甘草种子中的含量均高于氨基酸模式谱。各类呈味氨基酸的含量从高到低的顺序为鲜味氨基酸>苦味氨基酸>甜味氨基酸>芳香族氨基酸,其中,Glu的占比最高,TAV在5.61~7.11之间,平均值为6.51,说明其对呈味的贡献最大。胀果甘草种子中药用氨基酸含量最高,占TAA含量的70.59%,可视为药用价值较高的植物蛋白资源。

通过PCA从17种游离氨基酸中提取了2个特征值大于1的组分作为可反映所有指标原有信息的主成分,较好地分析甘草种子游离氨基酸的综合信息。通过建立综合评价模型 $F=0.9273F_1+0.0727F_2$,计算各样品的综合得分,综合得分越高说明样品中氨基酸的综合品质越好。其中,得分最高的是胀果甘草,即3个品种中胀果甘草种子游离氨基酸综合质量最好。采用系统聚类法将3种甘草种子氨基酸大致分为2类,分析结果与PCA一致,可以较好地反映出不同品种之间的差异性。综上所述,不同品种甘草的游离氨基酸品质间存在差异。3种甘草中胀果甘草种子EAA和药用氨基酸含量均最高,具有较好营养产品开发研究价值。

参考文献:

[1] 刘洋洋,刘春生,曾斌芳,等.甘草种质资源研究进展[J].中草药,

2013,44(24):3593-3598.

LIU Yangyang, LIU Chunsheng, ZENG Binfang, et al. Research progress on germplasm resources of *Glycyrrhizae Radix* et *Rhizoma*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2013, 44(24): 3593-3598.

[2] 孙琛.甘草的化学成分研究进展[J].科技资讯,2020,18(2):64-65.

SUN Chen. Advances in chemical constituents of *Glycyrrhiza uralensis*[J]. Science & Technology Information, 2020, 18(2): 64-65.

[3] KIRIMURA J, SHIMIZU A, KIMIZUKA A, et al. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1969, 17(4): 689-695.

[4] 李萍萍,崔元璐,蒋庆峰.柱前衍生RP-HPLC法分析淡豆豉和大豆中氨基酸[J].中草药,2013,44(9):1199-1202.

LI Pingping, CUI Yuanlu, JIANG Qingfeng. Analysis on amino acids in Sojae Semen Preparatum and *Glycine max* by pre-column derivatization RP-HPLC[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2013, 44(9): 1199-1202.

[5] 安珊,高小丽,户月秀,等.芸豆蛋白的理化功能特性研究[J].中国粮油学报,2015,30(12):43-48.

LIANG Shan, GAO Xiaoli, HU Yuexiu, et al. Physicochemical and functional properties of kidney bean protein[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2015, 30(12): 43-48.

[6] 安馨,鱼晓敏,李层层,等.鹰嘴豆蛋白质的营养学评价[J].食品科技,2018,43(6):83-87.

AN Xin, YU Xiaomin, LI Cengceng, et al. Nutritional evaluation on chickpea protein[J]. Food Science and Technology, 2018, 43(6): 83-87.

[7] 汪一飞,左小博,刘相真,等.不同品种甘草叶的化学组分比较研究[J].食品安全质量检测学报,2016,7(5):2075-2080.

WANG Yifei, ZUO Xiaobo, LIU Xiangzhen, et al. Comparison of chemical components of *Glycyrrhiza* leaves originated from different varieties[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2016, 7(5): 2075-2080.

[8] 王芳,乔璐,张庆庆,等.桑叶蛋白氨基酸组成分析及营养价值评价[J].食品科学,2015,36(1):225-228.

WANG Fang, QIAO Lu, ZHANG Qingqing, et al. Amino acid composition and nutritional evaluation of mulberry leaves[J]. Food Science, 2015, 36(1): 225-228.

[9] 李治平,刘娟汝,陈艳,等.不同产地香菇氨基酸组成及营养价值评价[J].保鲜与加工,2020,20(3):167-172.

LI Zhiping, LIU Juanru, CHEN Yan, et al. Amino acid composition and nutritional value evaluation of *Lentinus edodes* from different habitats[J]. Storage and Process, 2020, 20(3): 167-172.

[10] GARCIA-RODENAS C L, AFFOLTER M, VINYES-PARES G, et al. Amino acid composition of breast milk from urban Chinese mothers[J]. Nutrients, 2016, 8(10): 606.

[11] MALACARNE M, MARTUZZI F, SUMMER A, et al. Protein and fat composition of mare's milk: Some nutritional remarks with reference to human and cow's milk[J]. International Dairy Journal, 2002, 12(11): 869-877.

[12] WU G Y. Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition[J]. Amino Acids, 2009, 37(1): 1-17.

[13] 刘伟,张群,李志坚,等.不同品种黄花菜游离氨基酸组成的主成分分析及聚类分析[J].食品科学,2019,40(10):243-250.

LIU Wei, ZHANG Qun, LI Zhijian, et al. Principal component analysis and cluster analysis for evaluating free amino acids of different cultivars of daylily buds[J]. Food Science, 2019, 40(10): 243-250.

[14] 周常义,沈会玲,江锋,等.鱼腐乳发酵过程中游离氨基酸含量及抗氧化活性的变化[J].中国酿造,2020,39(12):42-45.

(下转第218页)

- ing effect, as well as preparation method and application thereof: CN111227240A[P]. 2020-06-05.
- [40] 陈亮, 李玉兴, 常兴云. 一种具有降血糖功能可吸代餐果冻及其制备工艺: CN112674307A[P]. 2021-04-20.
- CHEN Liang, LI Yuxing, CHANG Xingyun. Suckable meal replacement jelly with blood sugar reducing function and preparation process thereof: CN112674307A[P]. 2021-04-20.
- [41] 李晓平. 改善肠道菌群代餐粉及其应用: CN109965290A[P]. 2019-07-05.
- LI Xiaoping. Intestinal micro-organism flora-improving meal replacement powder and application thereof: CN109965290A[P]. 2019-07-05.
- [42] 白长山. 一种降血糖饼干及其制备方法: CN111587901A[P]. 2020-08-28.
- BAI Changshan. Biscuit for reducing blood sugar and preparation method thereof: CN111587901A[P]. 2020-08-28.
- [43] 高海燕, 孟可心, 曹蒙. 一种预防糖尿病的保健蛋糕: CN110140741A[P]. 2019-08-20.
- GAO Hanyan, MENG Kexin, CAO Meng. Health-care cake capable of preventing diabetes: CN110140741A[P]. 2019-08-20.
- [44] 刘志强, 藏磊, 陈春, 等. 一种降血糖调整血脂的金针菇罐头食品制备方法: CN101292726B[P]. 2008-10-29.
- LIU Zhiqiang, ZANG Lei, CHEN Chun, et al. Method for preparing gold needle mushroom canned food for decreasing blood sugar and adjusting blood fat: CN101292726 B[P]. 2008-10-29.
- [45] 魏祝明, 周献忠, 席军. 一种降血糖的中式火腿及其制作方法: CN112931799A[P]. 2021-06-11.
- WEI Zhuming, ZHOU Xianzhong, XI Jun. Chinese ham capable of reducing blood sugar and preparation method of Chinese ham: CN112931799A[P]. 2021-06-11.
- [46] 陈运中. 一种降血糖中药组合物及制备方法与应用: CN106074971B[P]. 2020-04-17.
- CHEN Yun-zhong. Blood-glucose-lowering traditional Chinese medicine composition as well as preparation method and application: CN106074971B[P]. 2020-04-17.

加工编辑: 孟琬星

收稿日期: 2022-01-10

(上接第 60 页)

- ZHOU Changyi, SHEN Huiling, JIANG Feng, et al. Changes of free amino acid contents and antioxidant activity during fermentation process of fish sufu[J]. China Brewing, 2020, 39(12): 42-45.
- [15] 张晓煜, 刘静, 袁海燕, 等. 不同地域环境对枸杞蛋白质和药用氨基酸含量的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(3): 100-104.
- ZHANG Xiaoyu, LIU Jing, YUAN Haiyan, et al. Effect of surrounding conditions on protein and pharmacological amino acid of *Lycium barbarum* L[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2004, 22(3): 100-104.
- [16] 杨鲜, 祝慧凤, 王涛, 等. 重庆巫山等多地党参氨基酸及营养价值比较与分析[J]. 食品科学, 2014, 35(15): 251-257.
- YANG Xian, ZHU Huifeng, WANG Tao, et al. Comparative analysis of amino acid composition and nutritional value of roots of *Codonopsis pilosula* from Wushan and other growing regions in China[J]. Food Science, 2014, 35(15): 251-257.
- [17] 高慧颖, 姜帆, 张立杰, 等. 5 个枇杷晚熟品种果实氨基酸组成和含量分析[J]. 福建果树, 2009(2): 37-41.
- GAO Huiying, JIANG Fan, ZHANG Lijie, et al. Analysis of the compositions and contents of amino acids in five late ripening loquat fruits[J]. Fujian Fruits, 2009(2): 37-41.
- [18] TAZUKE Y, WASA M, SHIMIZU Y, et al. Alanine-glutamine-supplemented parenteral nutrition prevents intestinal ischemia-reperfusion injury in rats[J]. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 2003, 27(2): 110-115.
- [19] 陈林玉, 宋乐园, 王云雨, 等. 红小米化学成分与营养成分分析[J]. 食品科学, 2021, 42(18): 218-224.
- CHEN Linyu, SONG Leyuan, WANG Yunyu, et al. Analysis of chemical and nutritional components of red millet[J]. Food Science, 2021, 42(18): 218-224.
- [20] WATANABE K, NAGAO M, TOH R, et al. Critical role of glutamine metabolism in cardiomyocytes under oxidative stress[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2021, 534: 687-693.
- [21] 杨芳, 严世武, 马维思, 等. 云南不同产地臭灵丹草氨基酸测定及营养评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 4173-4180.
- YANG Fang, YAN Shiwu, MA Weisi, et al. Amino acid composition and nutritional evaluation of *Laggera pterodonta* (DC.) Benth. from different areas in Yunnan[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(10): 4173-4180.
- [22] MCDOWELL K M. Recent diagnosis techniques in pediatric asthma: Impulse oscillometry in preschool asthma and use of exhaled nitric oxide[J]. Immunology and Allergy Clinics of North America, 2019, 39(2): 205-219.
- [23] 王馨雨, 王蓉蓉, 王婷, 等. 不同品种百合内外鳞片游离氨基酸组成的主成分分析及聚类分析[J]. 食品科学, 2020, 41(12): 211-220.
- WANG Xinyu, WANG Rongrong, WANG Ting, et al. Principal component analysis and cluster analysis for evaluating the free amino acid composition of inner and outer lily bulb scales from different cultivars[J]. Food Science, 2020, 41(12): 211-220.

加工编辑: 孟琬星

收稿日期: 2022-01-12