

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201707014

引文格式: 刘海燕, 汪建文, 洪江, 等. 贵州五种野山茶种子氨基酸及脂肪酸成分含量的研究 [J]. 广西植物, 2018, 38(2):169-179
LIU HY, WANG JW, HONG J, et al. Contents of amino acids and fatty acids in seeds of five wild *Camellia* species in Guizhou plateau (ⅢD 10 d) [J]. *Guihaia*, 2018, 38(2):169-179

贵州五种野山茶种子氨基酸及脂肪酸成分含量的研究

刘海燕¹, 汪建文², 洪江², 范志伟¹, 汤升虎¹, 邹天才^{2*}

(1. 贵州省植物园, 贵阳 550004; 2. 贵州科学院, 贵阳 550001)

摘要: 采用高效液相色谱(HPLC)和氨基酸比值系数法,对贵州五种野山茶种子氨基酸和主要脂肪酸成分含量进行了研究。结果表明:(1)五种野山茶种子中均含有13种氨基酸,不同种类的氨基酸总量差异极显著,必需氨基酸和非必需氨基酸含量的差异显著($P < 0.01$, $P < 0.05$),且第一限制性氨基酸含量不同;长柱红山茶(*Camellia longistyla*)和贵州红山茶(*C. kweichouensis*)的氨基酸总量及人体必需氨基酸含量分别为33.01、13.29和26.33、10.38 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。(2)不同种类种子的千粒重、含油率、含水率皆呈显著差异($P < 0.01$, $P < 0.05$),种子含油率与不饱和脂肪酸含量显著正相关($R = 0.556$, $P < 0.05$),种子不饱和脂肪酸含量与棕榈酸、饱和脂肪酸含量极显著负相关($R = -0.791$, $P < 0.01$; $R = -0.776$, $P < 0.01$),其中长柱红山茶和贵州红山茶种子的含油率和不饱和脂肪酸含量分别为43.93%、71.89%和43.91%、71.85%。(3)小黄花茶(*C. luteoflora*)、皱叶瘤果茶(*C. rhytidophylla*)、贵州红山茶、长柱红山茶、美丽红山茶(*C. delicata*)所含必需氨基酸与总氨基酸比值分别为44.9、43.3、39.0、40.9、33.8,必需氨基酸与非必需氨基酸比值分别为81.6、76.4、64.0、67.4、51.0,除了美丽红山茶的比值系数偏低外,其余4种均达到了WHO/FAO的理想蛋白质标准,种子蛋白质均具有较高的营养价值,其中长柱红山茶和贵州红山茶的种子含油脂质量等级指标接近我国现行茶油标准(GB11765—2003),可以作为重要的优质油茶种质资源加以开发利用。

关键词: 野山茶种子, 氨基酸, 脂肪酸, 成分含量, 营养评价, 贵州高原

中图分类号: Q945.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)02-0169-11

Contents of amino acids and fatty acids in seeds of five wild *Camellia* species in Guizhou plateau (ⅢD 10 d)

LIU Haiyan¹, WANG Jianwen², HONG Jiang², FAN Zhiwei¹,
TANG Shenghu¹, ZOU Tiancai^{2*}

(1. Guizhou Botanical Garden, Guiyang 550004, China; 2. Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550001, China)

Abstract: The contents of amino acids and major fatty acids in the seeds of five wild *Camellia* species in Guizhou plateau (ⅢD 10 d) were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) and amino acid ratio coefficient

收稿日期: 2017-08-18

基金项目: 国家自然科学基金(31360075,31560097);贵州省科学技术基金(黔科合基础[2016]1058号) [Supported by the National Natural Science Foundation of China(31360075,31560097); Science & Technology Foundation of Guizhou Province (2016-1058)]。

作者简介: 刘海燕(1982-),女,安徽庐江县人,副研究员,研究方向为植物资源学,(E-mail)120587539@qq.com。

*通信作者: 邹天才,研究员,硕士研究生导师,研究方向为植物资源学,(E-mail)121111951@qq.com。

method. The results were as follows: (1) Thirteen kinds of amino acids were checked out in seeds of five wild *Camellia* species. The total amounts of amino acids were extremely different, and the contents of essential amino acids and non essential amino acids were significantly different ($P < 0.01, P < 0.05$), and the first restriction amino acid content was different. The total amino acid and essential amino acid contents of *C. longistyla* and *C. kweichouensis* were respectively 33.01, 26.33, and 13.29, 10.38 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$. (2) The grain weight, oil content, water content of different seeds showed significant differences. The seed oil content was significantly positively correlated with unsaturated fatty acid content ($R = 0.524, P < 0.05$). The content of unsaturated fatty acids in seeds was significantly negatively correlated with the content of palmitic acid and oleic acid ($R = -0.791, P < 0.01; R = -0.776, P < 0.01$). The seed oil rate and the unsaturated fatty acid content of *C. longistyla* and *C. kweichouensis* reached 43.93%, 71.89% and 43.91%, 71.85% respectively. (3) The ratio of essential amino acids to total amino acids of *C. luteoflora*, *C. rhytidophylla*, *C. kweichouensis*, *C. longistyla* and *C. delicata* was 44.9, 43.3, 39.0, 40.9, 33.8, and the ratio of essential amino acids to nonessential amino acids was 81.6, 76.4, 64.0, 67.4, 51.0 respectively. Except for the low ratio of *C. delicata*, the other four species reached the ideal protein standard of WHO/FAO, the nutritional value of seed was high. And the seed oil quality of *C. longistyla* and *C. kweichouensis* was close to the current oil standard of China (GB11765-2003), therefore, the two species can be utilized as important tea oil *Camellia* species germplasm resources.

Key words: wild *Camellia* seeds, amino acids, fatty acid, component contents, nutritional evaluation, Guizhou plateau (ⅢD 10 d)

山茶属植物属于热带亚洲分布类型(吴征镒, 1991),主产我国长江流域以南地区,蒴果、苞背开裂,种子圆球形或半球形,种皮角质,胚乳丰富,大部分种类的种子含油量较高,可供食用及工业用,少数种类可入药用,颇具植物资源的优势特色和经济价值(张宏达, 1998; 闵天禄, 2000)。贵州自中生代三叠纪结束海浸后就成为稳定大陆,为起源古老的陆生高等植物的繁衍和生长发育提供了极为有利的条件,并促使其进一步演变成复杂的地理成分,热带亚热带植物区系成分占有明显优势,气候温和湿润,适宜山茶属植物的生长发育。贵州有山茶属植物 13 组 49 种 4 变种,组和种分布比例分别达到 65.00% 和 18.92%, 特有种比例占 37.74% (Liu et al, 2016a), 而且蕴藏着优良的油料植物种质资源。目前,相关文献已报道了贵州山茶属植物资源调查、引种栽培、种群生态等方面的研究进展(张华海和班平原, 2007; 刘海燕等, 2010, 2016b), 而对其种子资源特性、氨基酸与脂肪酸成分含量及其营养价值方面的研究较少。

氨基酸是构成生物体蛋白质并同生命活动息息相关的基本物质,是生物体内不可或缺的营养成分,一般占植物干重的 10% ~ 30% (Owen &

Jones, 2001)。植物中的氨基酸以游离态、多肽和蛋白质形式存在,对植物生长具有重要作用。前人对植物中游离氨基酸的研究主要集中在药用和营养价值方面,研究发现,氨基酸代谢与植物对营养不良、病虫害、重金属、高温、冷害和盐碱胁迫等逆境的响应密切相关,因此植物中游离氨基酸的提取与测定具有重要意义(高肖飞等, 2016)。目前山茶属氨基酸的研究主要在含量测定及营养评价(张新昌等, 2013; 刘美等, 2016)、组成成分分析和营养评价(王芳等, 2015)。近年来,高效液相色谱法(HPLC)已广泛用于氨基酸的测定,并已趋向成熟。因此,本文开展了贵州高原亚地区(ⅢD 10 d)特有分布的五种野山茶种子氨基酸及脂肪酸成分含量方面的研究,对其种子油脂质量及资源利用价值做出评价,以为进一步发掘和开发利用油用山茶植物资源提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

采集贵州特有分布的五种野生山茶和油茶农家栽培品种的种子,每种设 3 个重复,采集 1 500

g, 种子采回在室内通风干燥处自然晾干, 备用。其中, 长柱红山茶 (*Camellia longistyla*) 采自赤水市丙安乡瓦店村乐溪口常绿阔叶林区, 美丽红山茶 (*C. delicata*) 和小黄花茶 (*C. luteoflora*) 采自赤水市金沙沟桫欏自然保护区楠竹林场, 贵州红山茶 (*C. kweichouensis*) 采自清镇市九龙山常绿落叶阔叶混交林区, 皱叶瘤果茶 (*C. rhytidophylla*) 采自开阳县花梨乡乐旺河上游流域常绿落叶阔叶混交林区。对照材料油茶农家品种 (*Camellia oleifera* cv.), 采自玉屏县田坪镇庆寨村的油茶种植场。

1.2 仪器与药品

仪器: 岛津高效液相色谱仪 (LC-20AT), 20 μL 进样阀, 二级阵列管检测器 (PDA-20AT), 岛津色谱工作站 (LCsolution), 迪马 C_{18} 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 药材粉碎机; 美国 ELMA T660/H 超声波清洗器 (功率 360 W, 频率 35 kHz); 超纯水器 (美国 Milli2pore 公司); GC-2014 气相色谱分析仪; UV-3310 分光光度计 (日本日立公司)。

药品: 组氨酸 (His)、天冬氨酸 (Asp)、胱氨酸 (Cys)、丝氨酸 (Ser)、精氨酸 (Arg)、甘氨酸 (Gly)、苏氨酸 (Thr)、赖氨酸 (Lys)、脯氨酸 (Pro)、丙氨酸 (Ala)、酪氨酸 (Tyr)、缬氨酸 (Val)、甲硫氨酸 (Met)、谷氨酸 (Glu)、异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、苯丙氨酸 (Phe) 和色氨酸 (Trp) 共 18 种氨基酸标准品; 乙腈 (色谱纯); N, N-二甲基甲酰胺 (色谱纯); 2, 4-二硝基氟苯 (DNBF) (色谱纯); 超纯水。实验所用其它试剂均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 种子千粒重及含水率检测 种子千粒重和含水率检测参照 GB2772-1999《林木种子检验规程》(国家质量技术监督局, 2002), 从测定样品中随机数取 3 个重复, 每个重复 250 粒, 各重复分别称重 (g), 计算其平均值。种子含水率计算参照《种子学实验指南》(刘子凡, 2010), 含水率 (%) = $S_1 + S_2 - (S_1 \times S_2) / 100$, 式中 S_1 、 S_2 分别为第 1 次和第 2 次失去的水分 (g)。

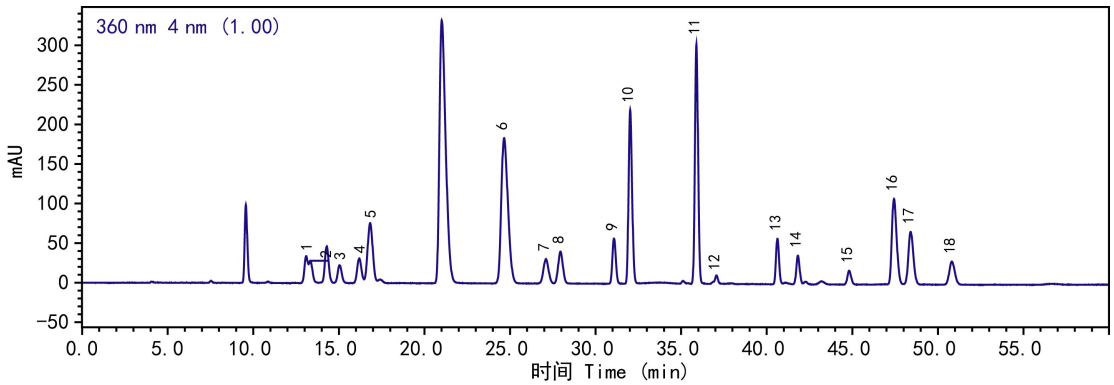
1.3.2 标准氨基酸溶液的制备 分别准确称取对照品 (g): 组氨酸 (0.016 3 g)、天冬氨酸 (0.080 2 g)、胱氨酸 (0.048 1 g)、丝氨酸 (0.026 9 g)、精氨酸 (0.050 9 g)、甘氨酸 (0.088 2 g)、苏氨酸

(0.025 5 g)、赖氨酸 (0.046 0 g)、脯氨酸 (0.016 7 g)、丙氨酸 (0.067 2 g)、酪氨酸 (0.036 7 g)、缬氨酸 (0.015 5 g)、甲硫氨酸 (0.019 6 g)、谷氨酸 (0.019 4 g)、异亮氨酸 (0.045 7 g)、亮氨酸 (0.033 4 g)、苯丙氨酸 (0.017 4 g), 加入适量 6 mol \cdot L⁻¹ 盐酸溶解, 定容至 10 mL, 配制成 17 种氨基酸混合标准储备液。同时, 准确称取 0.100 g 的 4-氨基丁酸标准物于 10 mL 容量瓶中, 6 mol \cdot L⁻¹ 盐酸定容, 配制成浓度 10 mg \cdot mL⁻¹ 的内标使用液。

1.3.3 色谱条件 色谱条件参考李东和孙家义 (2004) 和缪潇瑶等 (2016) 的并加以改进。色谱柱为迪马 C_{18} 色谱柱 (4.6 mm \times 250 mm, 5 μm)。流动相 A 为 0.1 mol \cdot L⁻¹ 醋酸钠缓冲溶液 (pH = 6.5, 含 10 mL \cdot L⁻¹ N, N-二甲基甲酰胺); 流动相 B 为乙腈: 水 (体积比 1:1)。流动相 B 的梯度洗脱程序: 0~6 min, 16%; 6~12 min, 16%~24%; 12~18 min, 24%~30%; 18~30 min, 30%~40%; 30~37 min, 40%~50%; 37~42 min, 50%~98%; 42~50 min, 98%~80%; 50~55 min, 80%~16%; 55~60 min, 16%。流动相流速为 1.0 mL \cdot min⁻¹; 检测波长为 360 nm; 柱温为 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量为 20 μL 。

1.3.4 氨基酸样品的制备与水解 准确称取 0.2 g (精确至 0.001 g) 经破碎处理的山茶种子样品于聚氯乙烯罐中, 加入 10 mL 的 6.0 mol \cdot L⁻¹ 的盐酸, 于马弗炉中 110 $^{\circ}\text{C}$ 水解 24 h, 过滤, 取 0.5 mL 于试管中, 混标也取 0.5 mL 于另一试管中, 滤液和混标旋干后, 加入 0.5 mL 的 0.1 mol \cdot L⁻¹ 的盐酸溶解。

1.3.5 标准品及样品的衍生与测定 分别量取混合标准液和样品水解液 500 μL , 加入 200 μL 的 10 mg \cdot mL⁻¹ 4-氨基丁酸 (内标) 和 1.5 mL、0.7 mol \cdot L⁻¹ 的 HPO_3 , 震荡摇匀后, -4 $^{\circ}\text{C}$ 下离心 30 min, 取上清液 500 μL 加入 pH 为 9.0 的 Na_2CO_3 - NaHCO_3 1.5 mL, 然后加入 30 mg \cdot mL⁻¹ 的 2, 4-二硝基氟苯 500 μL , 再震荡摇匀, 然后置于 90 $^{\circ}\text{C}$ 恒温遮光水浴 1.5 h, 冷却至室温, 加入 10% 乙酸 500 μL 摇匀, 加超纯水定容至 5.0 mL, 用 0.45 μm 有机滤膜过滤, 高效液相色谱测试 (吴文和等, 2015)。得标准液及样品衍生物溶液, 取 20 μL 进样测定。以保留时间定性, 峰面积内标法定量, 用



注: 出峰顺序及浓度 ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1. 组氨酸(1.63); 2. 天冬氨酸(8.01); 3. 胱氨酸(4.87); 4. 丝氨酸(2.68); 5. 精氨酸(5.08); 6. 甘氨酸(8.82); 7. 苏氨酸(2.54); 8. 赖氨酸(4.60); 9. 脯氨酸(1.66); 10. 丙氨酸(6.73); 11. 内标(4-氨基丁酸)(0.128); 12. 酪氨酸(3.65); 13. 缬氨酸(1.51); 14. 甲硫氨酸(1.92); 15. 谷氨酸(1.95); 16. 异亮氨酸(4.56); 17. 亮氨酸(3.38); 18. 苯丙氨酸(1.71)。

Note: Peak order and their concentration ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 1. His(1.63); 2. Asp(8.01); 3. Cys(4.87); 4. Ser(2.68); 5. Arg(5.08); 6. Gly(8.82); 7. Thr(2.54); 8. Lys(4.60); 9. Pro(1.66); 10. Ala(6.73); 11. Internal standard(4-aminobutyric acid)(0.128); 12. Tyr(3.65); 13. Val(1.51); 14. Met(1.92); 15. Glu(1.95); 16. Ile(4.56); 17. Leu(3.38); 18. Phe(1.71).

图 1 氨基酸混合标准溶液色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of amino acids mixed standard solution

岛津色谱工作站进行数据处理。

色氨酸的测定参照徐礼生等(2014)采用紫外分光光度法快速测定。

1.3.6 种子含油率和脂肪酸成分含量检测 种子含油率、脂肪酸、不饱和脂肪酸依据国家标准《食品中总脂肪、饱和脂肪酸、不饱和脂肪(酸)的测定——水解提取—气相色谱法》(GB/T 22223-2008)。折射率用阿贝折射仪(2WJ)检测。

1.3.7 种子营养价值评价 采用理想蛋白质和人体必需氨基酸模式谱比对法(Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee, 1973), 计算供试样品中必需氨基酸(EAA)的氨基酸比值(RAA), 氨基酸比值系数(RC)及比值系数分值(SRC)。

$\text{RAA} = (\text{待评蛋白质 EAA 含量}) / (\text{模式谱中相应 EAA 含量})$; $\text{RC} = (\text{RAA}) / (\text{RAA 的平均值})$; $\text{SRC} = 100 - \text{CV} \times 100$ 。

式中, CV 为 RC 的变异系数, $\text{CV} = \text{标准差} / \text{均值}$ 。RAA 表明样品蛋白质中某种 EAA 含量是 WHO/FAO 模式谱中相应 EAA 倍数, RAA 和 RC 越接近 1 表明该氨基酸越接近 WHO/FAO 模式谱。RC > 1 表明该种必需氨基酸相对过剩, RC < 1

表明该氨基酸相对不足, RC 最小者则为第一限制性氨基酸(FLAA)。SRC 越接近 100 营养价值越高, SRC 越小营养价值越低(陈菲等, 2015)。

1.4 数据统计分析

数据采用 SPSS 21.0 软件分析(陈胜可, 2013), 图表处理采用 Excel 软件。

2 结果与分析

2.1 氨基酸混合标准品色谱分离的结果

检测 17 种氨基酸在 1.3.3 色谱条件下的峰响应有高低不等, 分离良好, 不影响目标物的定性定量, 在保证分离度满足要求的情况下, 55 min 可完成一个样品的上机检测分析(图 1); 色氨酸的测定采用紫外分光光度法。实验重复 3 次, 检测平均值汇总得表 1。

2.2 五种野山茶种子的氨基酸成分及含量

从种子中 18 种氨基酸含量的检测结果(表 1)可以看出, 贵州五种野山茶的种子均未检测出天冬氨酸(Asp)、丝氨酸(Ser)、酪氨酸(Tyr)、甲硫氨酸(Met)和谷氨酸(Glu), 其余 13 种氨基酸皆有,

表 1 贵州五种野山茶种子的氨基酸成分含量及差异性分析

Table 1 Amino acid composition content and variance analysis on five wild *Camellia* species seeds in Guizhou

氨基酸 Amino acid	样品氨基酸含量 Amino acid content of sample ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)				
	长柱红山茶 <i>Camellia longistyla</i> X_1	贵州红山茶 <i>C. kewichouensis</i> X_2	小黄花茶 <i>C. luteoflora</i> X_3	美丽红山茶 <i>C. delicata</i> X_4	皱叶瘤果茶 <i>C. rhytidophylla</i> X_5
组氨酸 His	10.14Aa	8.14Bb	4.79Dd	6.21Cc	3.81Ee
天冬氨酸 Asp	ND	ND	ND	ND	ND
胱氨酸 Cys	2.50Aa	1.99Cc	1.32Ee	2.04Bb	1.42Dd
丝氨酸 Ser	ND	ND	ND	ND	ND
精氨酸 Arg	1.40Aa	1.16Bb	0.51Dd	0.81Cc	0.50Dd
甘氨酸 Gly	2.17Aa	1.84Bb	1.47Cd	1.82Be	0.95De
苏氨酸 Thr *	1.02Bb	1.08Aa	0.84Cc	1.01Bb	0.61Dd
赖氨酸 Lys *	2.93Aa	1.87Cc	1.29Dd	2.11Bb	1.25Ee
脯氨酸 Pro	2.19Aa	1.60Dd	1.83Bb	1.77Cc	0.95Ee
丙氨酸 Ala	1.29Aa	1.22Bb	0.99Dd	1.09Cc	0.65Ee
酪氨酸 Tyr	ND	ND	ND	ND	ND
缬氨酸 Val *	2.32Aa	1.65Dd	2.06Cc	2.20Bb	1.46Ee
甲硫氨酸 Met *	ND	ND	ND	ND	ND
谷氨酸 Glu	ND	ND	ND	ND	ND
异亮氨酸 Ile *	1.83Aa	1.54Bb	1.33Dd	1.43Cc	0.81Ee
亮氨酸 Leu *	3.41Aa	2.77Bb	2.26Dd	2.55Cc	1.49Ee
苯丙氨酸 Phe *	1.78Aa	1.47Bb	1.18Cc	1.11Dd	0.93Ee
色氨酸 Trp	0.03Dd	0.28Aa	0.07Cc	0.15Bb	0.29Aa
人体必需氨基酸 EAA Essential amino acid	13.29Aa	10.38Bb	8.96Cc	8.21Dd	6.55Ee
非必需氨基酸 NEAA Nonessential amino acid	19.72Aa	16.23Bb	10.98Dd	16.09Cc	8.57Ee
总氨基酸 TAA Total amino acid	33.01Aa	26.33Bb	19.85Dd	24.14Cc	14.83Ee
EAA/TAA (%)	40.3Cc	39.0Dd	44.9Aa	33.8Ee	43.3Bb
EAA/NEAA (%)	67.4Cc	64.0Dd	81.6Aa	51.0Ee	76.4Bb

注: ND 表示未检测到该氨基酸; * 指人体必需氨基酸; WHO/FAO 为规定的理想蛋白质标准(EAA/TAA = 40%, EAA/NEAA = 60%); 不同小写和大写字母分别表示差异显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$)。

Note: ND means not detected the amino acids; * means essential amino acids; The ideal protein standard of WHO/FAO is EAA/TAA = 40%, EAA/NEAA = 60%; Different small and capital letters indicate significant differences ($P < 0.05$) and extremely significant differences ($P < 0.01$), respectively.

总氨基酸(TAA)含量在 14.83 ~ 33.01 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间,其含量大小为长柱红山茶>贵州红山茶>美丽红山茶>小黄花茶>皱叶瘤果茶。人体必需氨基酸

(EAA)含量为 6.55 ~ 13.29 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,其含量大小为长柱红山茶>贵州红山茶>小黄花茶>美丽红山茶>皱叶瘤果茶。五种野山茶种子的氨基酸组成以组

氨酸含量最高,亮氨酸次之,色氨酸最低。其中,小黄花茶、皱叶瘤果茶和长柱红山茶的必需氨基酸与总氨基酸比值(EAA/TAA),必需氨基酸与非必需氨基酸比值(EAA/NEAA)皆达到了WHO/FAO规定的理想蛋白质之标准。

表1结果表明:(1)不同种类种子的总氨基酸含量具有极显著差异($P<0.01, P<0.05$)。其中,长柱红山茶含量最高,达到 $33.01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;贵州红山茶、美丽红山茶、小黄花茶依次降低,分别为 $26.33, 24.14, 19.85 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$;皱叶瘤果茶最低,为 $14.83 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。(2)人体必需氨基酸和非必需氨基酸含量因种类不同而呈显著差异($P<0.01, P<0.05$),人体必需氨基酸总含量表现为长柱红山茶>贵州红山茶>小黄花茶>美丽红山茶>皱叶瘤果茶。其中苏氨酸含量以贵州红山茶最高,其次是长柱红山茶和美丽红山茶(两者含量差异不显著),小黄花茶、皱叶瘤果茶次之;色氨酸含量最高的是贵州红山茶和皱叶瘤果茶,且两者差异不显著,其次是美丽红山茶、小黄花茶、长柱红山茶,且含量差异显著($P<0.01, P<0.05$),其余5种必需氨基酸含量皆表现为长柱红山茶最高,皱叶瘤果茶最低;贵州红山茶种子中缬氨酸的含量低于小黄花茶,其他4种必需氨基酸均高于小黄花茶;美丽红山茶种子苯丙氨酸含量低于小黄花茶,其余4种必需氨基酸均高于小黄花茶。(3)人体非必需氨基酸总含量表现为长柱红山茶>贵州红山茶>美丽红山茶>小黄花茶>皱叶瘤果茶。其中精氨酸、组氨酸、丙氨酸含量均表现为长柱红山茶>贵州红山茶>美丽红山茶>小黄花茶>皱叶瘤果茶;长柱红山茶种子中甘氨酸、胱氨酸、脯氨酸含量最高,皱叶瘤果茶种子中甘氨酸、脯氨酸含量最低,小黄花茶种子的胱氨酸含量最低。

2.3 五种野山茶种子千粒重、含水率及脂肪酸成分含量的差异

表2结果表明:(1)不同种类山茶种子的千粒重存在显著差异($P<0.01, P<0.05$),其中长柱红山茶种子颗粒最大,达到 3289.7 g ,美丽红山茶、小黄花茶次之,分别为 $1334.15, 1161.21 \text{ g}$,皱叶瘤果茶、贵州红山茶和油茶农家品种茶的种子颗粒较小,仅有 $898.86, 786.33, 758.12 \text{ g}$ 。(2)不同

种类山茶的种子其含水量存在显著差异($P<0.01, P<0.05$),含水量的高低顺序为小黄花茶(48.85%)>贵州红山茶(43.15%)>皱叶瘤果茶(41.22%)>美丽红山茶(40.25%)>长柱红山茶(39.52%)>油茶农家品种(35.56%)。(3)不同种类山茶种子的含油率存在显著差异($P<0.01, P<0.05$),油茶农家品种的种子含油率最高(50.76%),依次是长柱红山茶(43.93%)、贵州红山茶(43.91%)、美丽红山茶(40.79%)、皱叶瘤果茶(34.91%)和小黄花茶(13.70%)。(4)五种野山茶种子皆含有丰富的不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸,且不同种类山茶种子的各种脂肪酸含量差异显著($P<0.01, P<0.05$),小黄花茶的饱和脂肪酸含量最高,达到了 64.25% ,其后分别是皱叶瘤果茶(43.81%)、美丽红山茶(39.85%)、贵州红山茶(28.15%)、长柱红山茶(28.11%)和油茶农家品种(10.97%);油茶农家品种的不饱和脂肪酸含量最高(89.03%),含量依次减少为长柱红山茶(71.89%)、贵州红山茶(71.85%)、小黄花茶(65.30%)、美丽红山茶(60.15%)、皱叶瘤果茶(56.19%);不同种类山茶种子中的4种主要脂肪酸的含量存在显著差异($P<0.01, P<0.05$),棕榈酸 $C_{16:0}$ 含量:小黄花茶(62.58%)>皱叶瘤果茶(42.94%)>美丽红山茶(38.24%)>长柱红山茶(25.91%)>贵州红山茶(25.79%)>油茶农家品种(7.98%);硬脂酸 $C_{18:0}$ 和油酸 $C_{18:1}$ 含量都表现为农家品种茶($2.99\%, 82.57\%$)>贵州红山茶($2.36\%, 68.71\%$)>长柱红山茶($2.20\%, 68.30\%$)>小黄花茶($1.67\%, 60.79\%$)>美丽红山茶($1.61\%, 57.66\%$)>皱叶瘤果茶($0.87\%, 52.60\%$),但亚油酸 $C_{18:2}$ 含量变化是农家品种茶(6.46%)>小黄花茶(4.51%)>皱叶瘤果茶(3.59%)=长柱红山茶(3.59%)>贵州红山茶(3.14%)>美丽红山茶(2.49%)。

2.4 五种野山茶种子千粒重、含水量及脂肪酸成分含量的相关性分析

表3结果表明:(1)种子千粒重与油脂折光率极显著负相关($R=-0.766, P<0.01$)。(2)种子含水量与棕榈酸、饱和脂肪酸、油脂折光率极显著正相关($R=0.876, P<0.01; R=0.884, P<0.01; R=0.626,$

表 2 贵州五种野山茶与油茶农家品种种子千粒重、含水量及脂肪酸成分与含量的差异性分析

Table 2 Variance analysis on thousand grain weights, water contents and fatty acid contents of five wild *Camellia* species and *C. oleifera* seeds in Guizhou

特征要素 Characteristic factor	长柱红山茶 <i>C. longistyla</i> X ₁	贵州红山茶 <i>C. kewichouensis</i> X ₂	小黄花茶 <i>C. luteoflora</i> X ₃	美丽红山茶 <i>C. delicata</i> X ₄	皱叶瘤果茶 <i>C. rhytidophylla</i> X ₅	农家品种 <i>C. oleifera</i> X ₆
Y ₁ 千粒重 Thousand grain weight (g)	3289.70Aa	786.33Ee	1161.21Cc	1334.15Bb	898.86Dd	758.12Ff
Y ₂ 含水量 Water content (%)	39.52Ee	43.15Bb	48.85Aa	40.25Dd	41.22Cc	35.56Ff
Y ₃ 含油率(脂肪酸) Oil content (fatty acid) (%)	43.93Bb	43.91Bc	13.70Ef	40.79Cd	34.91De	50.76Aa
Y ₄ 棕榈酸 C ₁₆ H ₃₂ O ₂ (16:0) Palmitic acid	25.91Dd	25.79Ee	62.58Aa	38.24Cc	42.94Bb	7.98Ff
Y ₅ 硬脂酸 C ₁₈ H ₃₆ O ₂ (18:0) Stearic acid	2.20Cc	2.36Bb	1.67Dd	1.61Ee	0.87Ff	2.99Aa
Y ₆ 饱和脂肪酸 Saturated fatty acid	28.11Ee	28.15Dd	64.25Aa	39.85Cc	43.81Bb	10.97Ff
Y ₇ 油酸 C ₁₈ H ₃₄ O ₂ (18:1) Oleic acid	68.30Cc	68.71Bb	60.79Dd	57.66Ee	52.60Ff	82.57Aa
Y ₈ 亚油酸 C ₁₈ H ₃₂ O ₂ (18:2) Linoleic acid	3.59Cc	3.14Dd	4.51Bb	2.49Ee	3.59Cc	6.46Aa
Y ₉ 不饱和脂肪酸 Unsaturated fatty acid	71.89Bb	71.85Cc	65.30Dd	60.15Ee	56.19Ff	89.03Aa
Y ₁₀ 油脂折光率 Oil refractive index (%)	1.455Dd	1.470Bb	1.475Aa	1.471Bb	1.471Bb	1.464Cc

注: 种子的脂肪酸组成成分与含量中假设棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸的总含量为 100%; 其他含量极微的成分省略。

Note: Total content of palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid is 100%; The other minimal content component is omitted.

表 3 贵州五种野山茶和油茶农家品种种子千粒重、含水量及脂肪酸含量的相关性分析

Table 3 Correlation analysis on thousand grain weights, water contents and fatty acid contents of five wild *Camellia* species and *C. oleifera* seeds in Guizhou

	Y ₁	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	Y ₇	Y ₈	Y ₉	Y ₁₀
Y ₁	1	-0.117	0.105	-0.057	0.052	-0.057	0.008	-0.246	-0.022	-0.766 **
Y ₂		1	-0.904 **	0.876 **	-0.454	0.884 **	-0.527 *	-0.309	-0.517 *	0.626 **
Y ₃			1	-0.946 **	0.556 *	-0.952 **	0.563 *	0.095	0.524 *	-0.615 **
Y ₄				1	-0.759 **	0.998 **	-0.791 **	-0.381	-0.766 **	0.646 **
Y ₅					1	-0.742 **	0.975 **	0.574 *	0.957 **	-0.485 *
Y ₆						1	-0.776 **	-0.369	-0.750 **	0.646 **
Y ₇							1	0.718 **	0.997 **	-0.510 *
Y ₈								1	0.773 **	-0.169
Y ₉									1	-0.485 *
Y ₁₀										1

注: * 为显著相关($P < 0.05$); ** 为极显著相关($P < 0.01$)。

Note: * means significant correlation($P < 0.05$); ** means extremely significant correlated($P < 0.01$).

$P < 0.01$); 种子含水量与含油率极显著负相关 ($R = -0.904, P < 0.01$), 与油酸、不饱和脂肪酸显著负相关 ($R = -0.527, P < 0.05; R = -0.517, P < 0.05$)。 (3) 种子含油率与棕榈酸、饱和脂肪酸、油脂折光率极显著负相关 ($R = -0.946, P < 0.01; R = -0.952, P < 0.01; R = -0.615, P < 0.01$), 与硬脂酸、油酸、不饱和脂肪酸含量显著正相关 ($R = 0.556, P < 0.05; R = 0.563, P < 0.05; R = 0.524, P < 0.05$)。 (4) 种子棕榈酸含量与饱和脂肪酸、油脂折光率极显著正相关 ($R = 0.998, P < 0.01; R = 0.646, P < 0.01$), 与硬脂酸、油酸、不饱和脂肪酸含量极显著负相关 ($R = -0.759, P < 0.01; R = -0.797, P < 0.01; R = -0.766, P < 0.01$)。 (5) 种子硬脂酸与饱和脂肪酸极显著负相关 ($R = -0.742, P < 0.01$), 与油酸、不饱和脂肪酸极显著正相关 ($R = 0.975, P < 0.01; R = 0.957, P < 0.01$), 与亚油酸显著正相关 ($R = 0.574, P < 0.01$), 与油脂折光率显著负相关 ($R = -0.485, P < 0.01$)。 (6) 种子饱和脂肪酸含量与油酸、不饱和脂肪酸含量极显著负相关 ($R = -0.776, P < 0.01; R = -0.750, P < 0.01$), 与油脂折光率极显著正相关 ($R = 0.646, P < 0.01$)。 (7) 种子油酸含量与亚油酸、不饱和脂肪酸含量极显著正相关 ($R = 0.718, P < 0.01; R = 0.997, P < 0.01$), 与油脂折光率显著负相关 ($R = -0.510, P < 0.01$)。 (8) 种子中亚油酸含量与不饱和脂肪酸含量极显著正相关 ($R = 0.773, P < 0.01$)。 (9) 种子不饱和脂肪酸含量与油脂折光率显著负相关 ($R = -0.485, P < 0.05$)。

2.5 种子油脂质量的营养评价

根据氨基酸平衡理论原理和方法, 采用氨基酸比值系数法对贵州五种野山茶种子进行油脂质量的营养评价。如果蛋白质中必需氨基酸齐全, 且比例越接近或符合 WHO/FAO 的氨基酸模式要求, 则其蛋白质的营养价值越高。贵州五种野山茶种子中各种必需氨基酸与 WHO/FAO 模式谱进行比较的结果表明(表 4), 其中 9 种必需氨基酸偏低于 WHO/FAO 模式值。

根据表 4 的统计计算得出贵州五种野山茶种子蛋白质的氨基酸比值(RAA)、氨基酸比值系数(RC)及比值系数分值(SRC)值(表 5)。由表 5 的 RC 值可知, 五种野山茶种子中的第一限制性氨

基酸皆不同, 且长柱红山茶种子中各必需氨基酸的 RC 值均 > 1 , 表明长柱红山茶种子的各项必需氨基酸均相对充足, 贵州红山茶种子中除第一限制性氨基酸缬氨酸(Val)的 RC 值为 0.882 外, 其余 RC 值均 > 1 , 表明贵州红山茶种子除缬氨酸(Val)外, 其他的各项必需氨基酸都相对充足。贵州五种野山茶种子的 SRC 值为 83.639~90.947, 说明这五种野山茶种子中的蛋白质均具有很好的营养价值, 且长柱红山茶和贵州红山茶的营养价值最高。

3 讨论与结论

3.1 贵州五种野山茶种子脂肪酸含量对生长环境变化的响应

贵州五种野山茶种子中均含有丰富的脂肪酸, 但其成分含量因不同种类而显著差异, 植物种子脂肪酸成分含量的变化响应着植物生长的环境。五种野山茶种子中均含有丰富的不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸, 且不同山茶种子的各种脂肪酸含量差异显著。饱和脂肪酸含量最高的是小黄花茶(64.25%), 比油茶农家品种高出 52.28%; 不饱和脂肪酸含量最高的是长柱红山茶(71.89%)和贵州红山茶(71.85%), 仅比油茶农家品种低 17.14%和 17.18%。4 种主要脂肪酸的含量也因种类不同呈显著差异, 棕榈酸 $C_{16:0}$ 含量较小的为长柱红山茶(25.91%)和贵州红山茶(25.79%), 分别比油茶农家品种高出 17.93%和 17.81%; 硬脂酸 $C_{18:0}$ 和油酸 $C_{18:1}$ 含量较高的是贵州红山茶(2.36%)和长柱红山茶(2.20%), 分别比油茶农家品种低 0.63%、13.86%和 0.79%、14.27%; 而亚油酸 $C_{18:2}$ 含量最高的是小黄花茶(4.51%), 长柱红山茶(3.59%)、贵州红山茶(3.14%)次之, 分别比油茶农家品种低 2.31%、2.57%和 3.32%。本研究证明了植物种子脂肪酸的组成及含量与植物生长环境的响应有着密切的关系, 系统地开展野生山茶植物种子脂肪酸的检测评价并找出其与生长环境的相互关系, 结合配套栽培措施的试验, 探索其含量得以增加的形成机理和优质高产油茶新品种的选育及其高效栽培技术具有重要的应用价值。

表 4 各种必需氨基酸与 WHO/FAO 模式谱的比较

Table 4 Comparision among essential amino acid compositions of samples and WHO/FAO recommeded pattern

模式值及山茶种类 Mode value and <i>Camellia</i> species	Thr	Val	Met+Cys	Ile	Leu	Phe+Tyr	Lys
WHO/FAO 模式值 WHO/FAO mode value	4.0	5.0	3.5	4.0	7.0	6.0	5.5
小黄花茶 <i>Camellia luteoflora</i>	0.84	2.06	1.32	1.33	2.26	1.18	1.29
美丽红山茶 <i>C. delicata</i>	1.01	2.20	2.04	1.43	2.55	1.11	2.11
贵州红山茶 <i>C. kewichouensis</i>	1.08	1.65	1.99	1.54	2.77	1.47	1.87
皱叶瘤果茶 <i>C. rhytidophylla</i>	0.61	1.46	1.42	0.81	1.49	0.93	1.25
长柱红山茶 <i>C. longistyla</i>	1.02	2.32	2.5	1.83	3.41	1.78	2.93

表 5 各种必需氨基酸的 RAA、RC 和 SRC 分析结果

Table 5 RAA, RC and SRC analysis results of essential amino acids

山茶种类 <i>Camellia</i> species		Thr	Val	Met+Cys	Ile	Leu	Phe+Tyr	Lys	SRC
小黄花茶 <i>Camellia luteoflora</i>	RAA	0.210	0.412	0.377	0.333	0.323	0.197	0.235	83.639
	RC	0.982	1.101	0.726	1.001	0.932	0.941	0.691 *	
美丽红山茶 <i>C. delicata</i>	RAA	0.253	0.44	0.583	0.358	0.364	0.185	0.384	90.688
	RC	1.181	1.175	1.122	1.077	1.052	0.886 *	1.130	
贵州红山茶 <i>C. kewichouensis</i>	RAA	0.270	0.330	0.569	0.385	0.396	0.245	0.340	88.608
	RC	1.263	0.882 *	1.094	1.159	1.142	1.173	1.002	
皱叶瘤果茶 <i>C. rhytidophylla</i>	RAA	0.153	0.292	0.406	0.203	0.213	0.155	0.227	89.708
	RC	0.713	0.780	0.781	0.610 *	0.614	0.742	0.670	
长柱红山茶 <i>C. longistyla</i>	RAA	0.255	0.464	0.714	0.458	0.487	0.297	0.533	90.947
	RC	1.193	1.24	1.37	1.378	1.406	1.420	1.570	

注: * 表示第一限制性氨基酸。

Note: * means the first limiting amino acid.

3.2 贵州五种野山茶种子蛋白质均具较高营养价值

贵州五种野山茶种子皆含有必需氨基酸,必需氨基酸与非必需氨基酸比值(EAA/NEAA)接近于WHO/FAO的理想蛋白质标准,并因种类不同其含油率和主要脂肪酸含量差异显著。五种野山茶种子含油率和不饱和脂肪酸含量的检测结果是长柱红山茶(43.93%, 71.89%)、贵州红山茶(43.91%, 71.85%)、美丽红山茶(40.79%,

60.15%)、皱叶瘤果茶(34.91%, 56.19%)、小黄花茶(13.70%, 65.30%),其含油率及其棕榈酸 $C_{16:0}$ 、硬脂酸 $C_{18:0}$ 、油酸 $C_{18:1}$ 、亚油酸 $C_{18:2}$ 等四种主要脂肪酸含量的差异显著($P < 0.01$, $P < 0.05$)。五种野山茶种子皆未检测出天冬氨酸(Asp)、丝氨酸(Ser)、酪氨酸(Tyr)、甲硫氨酸(Met)和谷氨酸(Glu),包括人体必需8种氨基酸在内的其余13种氨基酸皆有,总氨基酸(TAA)含

量在 14.83~33.01 mg·g⁻¹之间,不同种类的氨基酸总量呈极显著差异,人体必需氨基酸(EAA)含量为 6.55~13.29 mg·g⁻¹,必需氨基酸与非必需氨基酸比值(EAA/NEAA)除了美丽红山茶偏低外,其余四种皆达到了 WHO/FAO 的理想蛋白质标准(表 1),种子蛋白质均具有较高的营养价值。

3.3 长柱红山茶和贵州红山茶可作为优质油茶新品种开发利用

本研究中,五种野山茶种子中皆含有 13 种氨基酸,总氨基酸(TAA)含量为 14.83~33.01 mg·g⁻¹,人体必需氨基酸(EAA)含量为 6.55~13.29 mg·g⁻¹,总氨基酸含量和人体必需氨基酸含量皆是长柱红山茶和贵州红山茶较高。在营养评价中显示,长柱红山茶种子中各必需氨基酸的 RC 值均>1,贵州红山茶种子中除第一限制性氨基酸缬氨酸(Val)的 RC 值为 0.882 外,其余 RC 值均>1,表明长柱红山茶和贵州红山茶种子中的各项必需氨基酸含量都较高。我国现行茶油标准 GB11765-2003 规定(中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,2003),主要脂肪酸组成中,饱和脂肪酸 7%~11%,其中油酸 C_{18:1} 74%~78%、亚油酸 C_{18:2} 7%~14%,也就是说贵州五种野山茶的油酸和亚油酸组成的不饱和脂肪酸含量均未达到我国现行茶油标准。但是贵州红山茶和长柱红山茶的油酸和亚油酸相对较高,仅分别相差 5.29、3.86 和 5.69、3.41,较为接近我国现行茶油标准,而且出油率分别达到 43.91%、43.93%,与推广栽培的油茶农家品种仅分别相差 6.85 和 6.83 个百分点。因此,长柱红山茶和贵州红山茶的氨基酸含量较高,油脂质量等级指标接近我国现行茶油标准,可以作为优质的油茶新品种加以开发利用。

3.4 因地制宜和推广种植不同产地的油茶品种具有现实意义

油茶是中国主要的传统食用油,自公元前三世纪《山海经》记载“员木,南方油食也”以来,油茶(*Camellia oleifera* cv.)已经过两千多年的种植和选育而成为世界四大木本油料之一,在我国南方地区的高山及丘陵地带广泛栽培(庄瑞林,2008)。贵州位于长江、珠江上游的分水岭地带,总面积 17.167×10⁴ km²,80%以上地区年均气温为 11~19

℃,年均降雨量为 1 100~1 300 mm,黔西高原由于在冬半年受到西南暖流的影响,降雨较多,因而全省的干湿状况又出现地区性差异,贵州所处的地理位置及气候特点的适应,发育了亚热带常绿阔叶林植被成分,但又由于普遍受到太平洋季风、印度洋季风以及源于西伯利亚的极地大陆气团的影响,在贵州同时发育了湿润性常绿阔叶林(贵州东部和中部地区)及半湿润性常绿阔叶林(贵州西部地区),两者之间又有过渡性植被成分,因而使贵州山区形成了高原性、季风性、多样性的复杂生态环境。尽管气候条件有一定的区域性差异,但皆较为适合山茶属植物的生长发育。本研究中,不同种类山茶种子的千粒重存在显著差异,其中长柱红山茶种子颗粒最大(3 289.7g);不同种类的山茶种子其含水率呈显著差异,小黄花茶含水量最高(48.85%),长柱红山茶最低(39.52%);不同山茶的含油率呈显著差异,含油率较高的是长柱红山茶(43.93%)和贵州红山茶(43.91%)。贵州五种野山茶种子中千粒重、含水量、含油率皆因产地环境不同而有显著差异,这是其原产地及生态环境的对油茶植物生长的影响和物竞天择的结果,进化了相应的生理潜能和适应机制,因而造成不同油茶植物种类之间的差异性结果。因此,在贵州油茶产业发展上因地制宜地制定发展规划,依据生态适宜性原则开展引种栽培和品比试验,选育出适合不同区域推广种植的优质高产油茶新品种具有重要意义。

参考文献:

- CHEN F, ZHANG FS, LIU XH, et al, 2015. Analysis and nutritional evaluation of amino acids in *Antrodia camphorata* powder [J]. *Sci Technol Food Ind*, 36(5): 286-291. [陈菲,张奉芬,刘训红,等,2015.樟芝菌粉的氨基酸测定及营养评价[J].食品工业科技,36(5):286-291.]
- CHEN SK, 2013. SPSS statistical analysis from entry to master [M]. Beijing: Tsinghua University Press. [陈胜可,2013. SPSS 统计分析从入门到精通[M].北京:清华大学出版社.]
- GAO XF, XIAO HY, ZHANG ZY, et al, 2016. Determination of free amino acids in *Fragrans* leaves by using high performance liquid chromatography [J]. *Earth Environ*, 44(1):103-109. [高肖飞,肖化云,张忠义,等,2016.高效液相色谱

- 法测定桂花叶片中游离氨基酸浓度 [J]. 地球与环境, 44 (1): 103-109.]
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, 2003. Oil-tea *Camellia* seed oil (GB11765-2003) [S]. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 2003. 油茶籽油 (GB11765-2003) [S].]
- Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee, 1973. Energy and protein requirements [R]. Geneva: World Health Organization.
- LI D, SUN JY, 2004. Determination of 18 kinds of amino acids by HPLC with precolumn 2,4- Dinitrofluorobenzene derivatization [J]. Chem Anal Meterage, 13(1): 18-20. [李东, 孙家义, 2004. 2,4-二硝基氟苯柱前衍生高效液相色谱法测定 18 种氨基酸 [J]. 化学分析与计量, 13(1): 18-20.]
- LIU HY, HUANG CM, ZOU TC, et al, 2010. Study on propagation by seed of five species endemic *Camellia* in Guizhou [J]. Seed, 29 (11): 105-106, 113. [刘海燕, 黄彩梅, 邹天才, 等, 2010. 5 种贵州特有山茶的种子繁殖试验研究 [J]. 种子, 29(11): 105-106, 113.]
- LIU HY, ZOU TC, 2016a. Evaluation and utilize of rare and endangered *Camellia* L. plant resources in Guizhou [C]. Dali Int *Camellia* Congr. Dali: The International *Camellia* Society: 241-250.
- LIU HY, YANG NK, LI YY, et al, 2016b. Population structure and dynamic analysis of the rare and endangered plant *Camellia longistyla* [J]. Plant Sci J, 34 (1): 89-98. [刘海燕, 杨乃坤, 李媛媛, 等, 2016. 稀有濒危植物长柱红山茶种群特征及数量动态研究 [J]. 植物科学学报, 34(1): 89-98.]
- LIU M, MA YP, LIU YY, et al, 2016. Determination of free amino acids in tea [J]. Stud Tr Elem Health, 33(1): 51-52. [刘美, 马叶萍, 柳阳阳, 等, 2016. 茶叶中游离氨基酸含量的测定 [J]. 微量元素与健康研究, 33(1): 51-52.]
- LIU ZF, 2010. Seed science laboratory manual [M]. Beijing: Chemical Industry Press: 23. [刘子凡, 2010. 种子学实验指南 [M]. 北京: 化学工业出版社: 23.]
- MIN TL, 2000. Studies on the *Camellia* in the world [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press: 1-62. [闵天禄, 2000. 世界山茶属的研究 [M]. 昆明: 云南科技出版社: 1-62.]
- MIU XY, YU J, AN R, et al, 2016. Determination of amino acid in different kinds of Nereid by HPLC and the multivariate statistical analysis [J]. Chin Pharm Anal, 36 (1): 53-58. [缪潇瑶, 于静, 安骛, 等, 2016. 不同品种沙蚕中氨基酸含量的 HPLC 测定及多元统计分析 [J]. 药物分析杂志, 36(1): 53-58.]
- OWEN AG, JONES DL, 2001. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition [J]. Soil Biol Biochem, 33(4-5): 651-657.
- State Bureau of quality and technical supervision, 2002. The state bureau of quality and technical supervision (GB2772-1999) [S]. Beijing: Standards Press of China: 60-62. [国家质量技术监督局, 2002. 林木种子检验规程 (GB2772-1999) [S]. 北京: 中国标准出版社: 60-62.]
- WU WH, JIN YL, SHEN JW, et al, 2015. The effect of three organic fertilizers application on the fruit quality of blueberry [J]. Till Cult, (3): 1-3. [吴文和, 金义兰, 谌金吾, 等, 2015. 施用 3 种有机肥对蓝莓果实品质的影响 [J]. 耕作与栽培, (3): 1-3.]
- WU ZY, 1991. The areal-types of Chinese genera of seed plants [J]. Act Bot Yunn, IV: 1-139. [吴征镒, 1991. 中国种子植物属的分布区类型 [J]. 云南植物研究, 增刊IV: 1-139.]
- WANG F, GAO YL, RUAN Q, et al, 2015. Amino acids composition and nutritional value in *Camellia japonica* L. [J]. J Zhejiang Norm Univ (Nat Sci Ed), 38(3): 342-347. [王芳, 高瑜琰, 阮琴, 等, 2015. 山茶花氨基酸组成分析及营养价值评价 [J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 38(3): 342-347.]
- XU LS, GAO GZ, CAO WG, et al, 2014. Determination of L-tryptophan in fermentation broth by ultraviolet spectrophotometry [J]. Chin J Anal Lab, 33(6): 675-677. [徐礼生, 高贵珍, 曹稳根, 等, 2014. 紫外分光光度法快速测定发酵液中的 L-色氨酸 [J]. 分析实验室, 33(6): 675-677.]
- ZHANG HD, 1998. Flora Reipublicae Popularis Siniceae [M]. Beijing: Science Press, 49(3): 6-194. [张宏达, 1998. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 49(3): 6-194.]
- ZHANG HH, BAN PY, 2007. Geographical distribution of *Camellia* in Guizhou and its development and utilization [J]. Guizhou Sci, 25(1): 68-72. [张华海, 班平原, 2007. 贵州山茶属植物地理分布及开发利用 [J]. 贵州科学, 25(1): 68-72.]
- ZHANG XC, LIU F, SONG YR, et al, 2013. Evaluation of nutritional value of *Camellia* seed protein [J]. Chin Oil Fat, 38 (2): 45-47. [张新昌, 刘芳, 宋亚蕊, 等, 2013. 茶籽蛋白的营养价值评价 [J]. 中国油脂, 38(2): 45-47.]
- ZHUANG RL, 2008. Chinese tea oil [M]. 2nd ed. Beijing: China Forestry Publishing House: 1-58. [庄瑞林, 2008. 中国油茶 [M]. 2 版. 北京: 中国林业出版社: 1-58.]