

# 梅子苦味物質之萃取、分離與鑑定

田永彥 方祖達

國立臺灣大學園藝學研究所

關鍵字：杏仁苷、寡數胜肽、苦味物質、梅子、胺基酸

**摘要：**梅子經催熟後質軟色黃且香氣濃郁，是製造果汁和果醬的好材料，唯一的缺點是仍含有苦味物質，影響製品品質，除了含有杏仁苷(amygdalin)外，尚無其他苦味物質存在的報告，本研究則從苦味的胺基酸和寡數胜肽存在情形加以調查。

新鮮梅子經破碎、冷凍脫水，再以三氯甲烷和甲醇(CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH = 2:1 v/v)萃取，所得萃取液經蒸發濃縮，再以膠體過濾法分離出胜肽，由官能品評試驗，再由膠體過濾所得之光學濃度曲線得知梅子中含有五種苦味的寡數胜肽，檢出第五種胜肽液中含有繡胺酸、白胺酸和苯丙胺酸，由定序結果證明梅子中確含有呈苦味的寡數胜肽，可修正過去只認為主要苦味物質為杏仁苷一種的觀念。

## Extraction, Fractionation and Identification of Bitter Substances in Mei Fruit (*Prunus mume* Sieb. et Zucc.)

Yung-Yen Tien and Tzuu-Tar Fang

Graduate Institute of Horticulture, National Taiwan University  
Taipei, Taiwan, Republic of China

Key words : Amygdalin, oligopeptide, bitter substance, Japanese apricot or mei fruit, amino acid

**Summary** Mei or Japanese apricot fruit contains soft, yellow flesh with good aroma after ripening. It is an excellent raw material for production of fruit juice drink, jam and jelly. However, its bitter taste affects the quality. The objective of this study is to find bitter substances besides amygdalin.

The ripened mei fruit were shredded, freeze-dried, and extracted with a mixture of chloroform and methanol (CHCl<sub>3</sub>:CH<sub>3</sub>OH=2:1, v/v). The extract was then concentrated by evaporation under vacuum. The oligopeptides were separated by gel filtration method. The F threshold value for bitter taste of each oligopeptide was determined organoleptically. The results indicate that mei fruit contained five fractions with different optical density (O.D.) after being separated by Sephadex G-25 gel filtration method. The amino acid sequence of the compounds in each fraction was determined by an automatic amino acid analyzer. For example, valine, leucine and phenylalanine were presented and the oligopeptide sequence with H-Val-Leu-Phe-OH in structure was found in fraction V.

The results of this experiment indicates that other bitter taste materials, bitter amino acids and oligopeptides, than amygdalin are contained in Japanese apricot fruit.

\* 本研究承蒙行政院國家科學委員會補助。This research was financially sponsored by National Science Council with Project No. NSC79-0409-B002-61.

\*\* 本文於民國80年3月30日收到。Date received for publication: Mar. 30, 1991.

## 前 言

梅子，學名 *Prunus mume* Sieb. et Zucc. 英名為 mei 或 Japanese apricot，屬薔薇科 (Rosaceae) 核果類水果，原產我國，長江以南均有栽培。日本則以經濟生產。臺灣目前栽培面積已達 8,820 公頃，產量達 95,266 公噸<sup>(8)</sup>，梅子向以鹽漬加工再曬成梅胚輸日，每年賺取外匯達數千萬美元。但近年來日本梅胚市場已達飽和，尋求其他加工利用為業界所祈望<sup>(1)</sup>。

查新鮮梅子經催熟後可製成色澤鮮黃、香氣濃厚的果汁飲料<sup>(1,2,7)</sup>，但如欲製成天然果汁則因含有苦澀味，故必須加以稀釋為果汁飲料。依前人研究得知梅子的苦味物質是一種含氰化合物，稱為杏仁苷 (amygdalin)<sup>(11,13)</sup>，但經過分析調查，其在梅子中的含量均在 300ppm 以下<sup>(1,2,7)</sup>，如以純化的杏仁苷做不同濃度的苦味官能品評試驗，則需濃度達到 600ppm 以上才會有苦味的感覺，因此梅子的苦味物質，除了杏仁苷外，可能另有其他化合物的存在<sup>(4,16)</sup>。如利用梅子核仁的杏仁苷分解酶，一種葡萄糖苷酶 ( $\beta$ -glucosidase) 來分解梅汁的苦味物質，雖然可以將此杏仁苷分解，但梅汁仍含有些苦味<sup>(4,15)</sup>，尋找杏仁苷以外的苦味化合物，如胺基酸及寡數胜肽 (oligopeptide) 則為本研究之試驗目的。

## 材料與方法

### 一. 試驗材料

大青種的梅子於民國 78 年 4 月 12 日自南投縣信義鄉海拔 450 公尺梅園採集，當日運至臺大園產加工實驗室。梅子材料經清水洗淨、拭乾後即裝入塑膠袋密封於 -20℃ 冷凍貯存。另取一部份果實依直徑大小分級，大果 (>26mm)、中果 (21-26mm) 及小果 (<21mm) 三個等級。

### 二. 試驗方法

1. 杏仁苷之測定：依 Kajiwara 等<sup>(13)</sup> 及廖與方<sup>(7)</sup> 之修正法，取果汁 20g，加去離子水定量為 100g，經振盪均勻後，以濾紙過濾，濾液再經 0.45  $\mu$ m 的薄膜過濾後，注入液相層析儀，儀器操作條件及定量鑑定方法均依上述修正方法進行。

2. 梅子中胜肽之萃取：依 Ney<sup>(15)</sup> 及 Guigoz 與 Solms<sup>(11)</sup> 等方法，取出核後之梅果肉 1,000g，經搗碎後冷凍乾燥，加入氫仿及甲醇，以體積 2:1 比之混合溶液混和，過濾出之濾液加入 20% 體積比之蒸餾水，取水層進行蒸發及冷凍乾燥，則得粗萃取物。

3. 梅子中胜肽之膠體過濾與分離：依照前人研究的方法<sup>(5,12,11,16)</sup>，取一定量的梅子的胜肽萃取物，溶於 25ml 蒸餾水，進行膠體過濾，膠體為 Sephadex G-25；移動相為蒸餾水，流速調為 2ml/min；以 UV 偵測儀在波長 280nm，測定分離液之吸光值，並重複三次。並由五人品嚐各試管中胜肽類溶液是否呈現苦味，以不苦、微苦及苦區別苦味的程度。

4. 游離胺基酸之測定：依方及張定量方法<sup>(3)</sup>，添加 3.75g 磺基水楊酸 (sulfosalicylic acid) 於 pH2.2 檸檬酸鈉緩衝液中，配成 100ml，然後以緩衝液調至 pH1.8，每 1ml 樣品加入 4ml 之磺基水楊酸溶液，振盪使蛋白質沈澱，然後以冷凍離心 (15,000rpm) 15 分鐘，取上清液，再以 0.4  $\mu$  m 薄膜過濾，處理後之樣品以 LKB-4150 之胺基酸分析儀測胺基酸之含量。
5. 總胺基酸之測定：依王及方<sup>(2)</sup>的方法，將樣品加入三氟醋酸 (trifluoroacetate, TFA) 與鹽酸以 1:4 體積比，加熱至 158 $^{\circ}$ C，經 30 min，令肽鍵水解，以 LKB-4150 胺基酸分析儀測出總胺基酸之含量。
6. 肽類之高效能液相層析：參考 Kajiwara 等<sup>(13)</sup> 方法，所使用之層析儀為日本 JASCO 公司所出品 Model Familic-300，使用管柱為 NOVA Pak C18，移動相為 A：0.1%TFA，B：0.1%TFA+90%CH<sub>3</sub>CN，流速為 3.5ml/min；檢出計為 UV，波長在 214nm。
7. 梅汁加入專一性內切酶 (specific endopeptidase) 試驗：目的在使用不同內切酶以切斷出各種相關的胺基酸，如用胰蛋白酶 (trypsin) 分解出離胺酸 (lysine) 和精胺酸 (arginine)；Sa 蛋白酶 (Sa protease) 分解出門冬胺酸 (aspartic acid) 及谷胺酸 (glutamic acid)，胰凝乳蛋白酶 (chymotrypsin) 則分解出苯丙胺酸 (phenylalanine)、酪胺酸 (tyrosin) 及色胺酸 (tryptophan)；Fm 蛋白酶分離出脯胺酸 (proline)。以上分解方法參考莊氏的方法<sup>(5)</sup>。
8. 肽之定序：依 Findlay 等蛋白質之定序方法<sup>(9)</sup>，使用固相定序儀，進行肽之定序，所使用試劑如下：

- (1) 緩衝液：a. 50ml 過濾用水 Milli-Q water。  
b. 10ml 4-甲基嗎琳 (4-methylmorpholine)。  
c. 150  $\mu$  l 正丙胺 (n-propylamine)。  
d. 140ml 甲醇：Rathburn HPLC grade。  
e. 20% (v/v) aqueous TFA。

(2) 10% 乙醯氨酸對苯酯溶於氬甲烷 (phenylisothiocyanate in acetonitrile) 中。

(3) 甲醇：Rathburn HPLC grade。

(4) 苯 (benzene)：Fluka sequencer grade。

(5) 三氟醋酸 (TFA)：Anhydrous TFA (Rathburn sequencer grade)。

經加入 1mg/ml dithiothreitol 再蒸餾而得。另外加入 5  $\mu$  g/100ml PTH-norleucine 者則供 HPLC 分析時做為 internal standard。

9. 肽之合成：依 Merrifield<sup>(14)</sup> 使用固相肽合成法，其操作流程為氬甲基化、酯化作用、肽鍵形成及肽之游離等四步驟。

## 結 果

### 一. 催熟與果實大小對梅子杏仁苷含量之影響

三種果實大小等級及經高效能液相層析分析催熟前後的梅子中杏仁苷含

量，結果列如表1，發現梅子果實大小對所含之杏仁苷類有差異，中形及大形的果實較小形果實中杏仁苷含量為高，但均在200ppm以下，此與前人調查的結果近似<sup>(1,4,6,7)</sup>。催熟後梅子中杏仁苷則有顯著的減低現象，大果、中果及小果分別降低約為7.2%，12.2%及13.6%，此種現象從梅子在樹上成熟期間即開始。柏及方<sup>(4)</sup>曾調查梅子採收前及催熟後杏仁苷含量降低是受梅果中可以分解杏仁苷的葡萄糖苷酶( $\beta$ -glucosidase)作用之結果。

表一. 催熟前後梅子中杏仁苷含量之變化

Table 1. Changes in amygdalin content of mei fruit before and after ripening.

Fruit size	Ripening*	Amygdalin	
		Content, ppm	Decrease, %
Large	Before	146.7	
Large	After	136.1	7.2
Medium	Before	164.1	
Medium	After	124.1	12.2
Small	Before	98.4	
Small	After	85.1	13.6

\*: Ripening at room temperature for 4 days.

表二、梅子果汁中游離胺基酸之含量

Table 2. Free amino acid content of mei fruit juice.

Free amino acid	Content, $\mu$ mole/g				
	Small	Medium	Large	Average	%
Alanine	13.07	13.67	12.79	13.18	18.62
Serine	9.12	8.91	9.62	9.22	13.02
Threonine	8.31	6.92	8.14	7.79	11.00
Proline	8.09	9.11	8.12	8.44	11.92
Aspartic acid	7.62	6.71	7.69	7.34	10.37
Glutamic acid	7.51	7.39	7.36	7.42	10.48
Valine*	7.12	7.32	6.84	7.09	10.02
Isoleucine*	3.19	2.98	3.21	3.13	4.42
Tyrosine	2.14	1.79	2.38	2.10	2.97
Methionine	1.81	1.68	1.78	1.76	2.48
Leucine*	1.24	1.54	2.11	1.63	2.30
Histidine	0.97	0.91	0.95	0.94	1.33
Phenylalanine*	0.56	0.45	0.55	0.52	0.73
Lysine	0.23	0.21	0.25	0.23	0.32
Total	70.98	69.60	71.79	70.79	100.00

\*: Bitter amino acid

## 二. 梅果汁中游離胺基酸之測定

採用經催熟後的梅子為材料，抽取果汁，由胺基酸自動分析儀測出游離胺基酸，結果列如表2，十四種胺基酸中以丙胺酸含量最高，次為絲胺酸、蘇胺酸、脯胺酸、門冬胺酸、谷胺酸及纈胺酸，均佔全部游離胺基10%以上。

其他如異白胺酸等七種均含量較低，依 Fukui 氏<sup>(10)</sup> 呈苦味的胺基酸種類有纈胺酸、異白胺酸、白胺酸、苯丙胺酸及色胺酸等五種。由本試驗結果得知呈此苦味之胺基酸含量合計為  $12.37 \mu \text{mole/g}$ ，佔全部游離胺基酸 17.47%。

### 三. 梅果汁經酸水解後總胺基酸之測定

梅果汁樣品加入三氟醋酸與鹽酸混合液，加熱使水解肽鍵，測定總胺基酸之含量結果列如表 3。總胺基酸平均含量高達  $606.9 \mu \text{mole/g}$ ，較未水解前之含量  $70.79 \mu \text{mole/g}$  增加 8.57 倍。梅子果汁含約 5% 的有機酸，所以梅汁經熱處理加工後苦味大為增加，由表 3 可見梅汁經酸水解後得纈胺酸、異白胺酸、白胺酸及苯丙胺酸等四種呈苦味胺基酸之含量達  $165.9 \mu \text{mole/g}$ ，約佔全部胺基酸之 27.34%，由此可見梅果汁經熱處理等加工後苦味的增加部份是由這些寡數肽被水解出來呈苦味的胺基酸。

表三、梅子果實經酸水解後總胺基酸之含量

Table 3. Total amino acid contents of mei fruit after acid hydrolysis.

Amino acid	Content, $\mu \text{mole/g}$			
	Small fruit	Medium fruit	Large fruit	Average
Serine	112.09	113.33	112.01	112.81
Alanine	80.24	81.21	80.81	80.75
Valine*	76.61	77.28	76.13	76.67
Aspartic acid	54.38	54.31	53.64	54.11
Isoleucine*	39.41	40.84	41.75	40.67
Threonine	40.38	40.32	39.83	40.18
Glutamic acid	31.71	30.90	31.16	31.26
Methionine	28.23	28.32	28.04	28.16
Leucine*	26.69	26.32	26.51	26.51
Proline	24.61	23.52	24.34	24.16
Phenylalanine*	22.57	22.33	21.31	22.07
Tyrosine	21.73	21.47	21.76	21.62
Arginine	19.86	19.31	19.12	19.43
Cysteine	17.89	18.33	17.37	17.86
lysine	7.81	7.51	7.63	7.65
Total	614.21	605.19	601.32	606.91

\*: Bitter amino acid

### 四. 梅果中肽之分離

梅果萃取液經 Sephadex G-25 膠體過濾，以每分鐘滴出 2ml 之速度，每 10ml 濾液收集為一試管，經在 UV 280nm 測定其光度 (optical density, O.D.)，結果列如表 4，再依此 O.D. 值苦味品嚐結果歸納為六個區分 (fraction) 分別列如表 5 及繪成如圖 1。由圖 1 所示區分 I 之試管數最多共 36 支，分離出之肽液為 280ml，佔全部肽分離液之 40.57%；且苦味強，區分 II 及區分 III 層次，但品嚐的苦味甚微；區分 IV 及區分 V 分別各為 50ml 及 80ml，佔全部肽分離液體積之 7.24% 及 11.59%，但此二個區分的肽液含有濃厚的苦味。區分 VI 體積最小且不苦。

表四、梅汁經膠體過濾出各試管之吸光度及苦味程度

Table 4. Bitter taste and optical density (O.D.) value of different tubes of mei fruit juice filtrated with Sephadex G-25.

Tube No.	O.D.	Taste*	Tube No.	O.D.	Taste	Tube No.	O.D.	Taste
1	0.10	N	88	0.18	S	110	0.32	N
2-67	0.10	N	89	0.19	S	111	0.31	B
68	0.18	S	90	0.17	S	112	0.27	S
69	0.19	S	91	0.15	S	113	0.24	N
70	0.24	B	92	0.14	S	114	0.21	N
71	0.27	B	93	0.13	S	115	0.28	B
72	0.29	B	94	0.13	S	116	0.16	B
73	0.31	B	95	0.13	S	117	0.15	N
74	0.38	S	96	0.23	S	118	0.14	N
75	0.41	S	97	0.25	S	119	0.18	B
76	0.42	S	98	0.28	B	120	0.23	B
77	0.43	B	99	0.21	S	121-141	0.10	N
78	0.45	B	100	0.18	B	142	0.14	B
79	0.47	B	101	0.16	B	143	0.16	B
80	0.42	B	102	0.14	S	144	0.18	B
81	0.41	B	103	0.13	B	145	0.27	B
82	0.39	N	104	0.12	S	146	0.17	B
83	0.36	N	105	0.13	B	147	0.15	B
84	0.37	N	106	0.21	B	148	0.13	B
85	0.21	B	107	0.27	S	149	0.12	S
86	0.18	B	108	0.28	N	150-165	0.10	N
87	0.19	B	109	0.29	N			

\*N:Non-bitter; S:Slightly bitter; B:Bitter

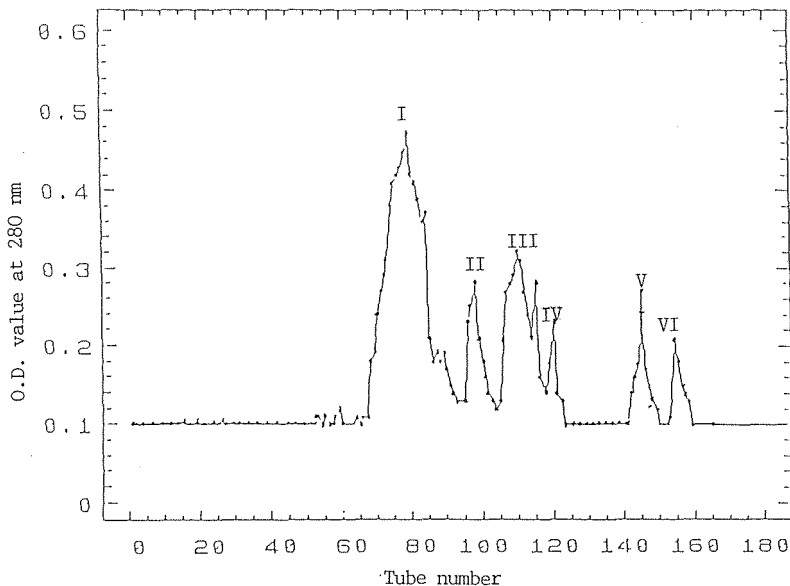
## 五. 梅果萃取液經膠體過濾出各區分之肽中胺基酸含量

分離所得之六個區分，分別加入 TFA 及鹽酸混合溶液加熱水解後，再用胺基酸自動分析儀分析，結果發現構成各肽的胺基酸共有八種列如表 6。由表 6 觀察此八種胺基酸中具有三個含有苦味的纈胺酸、白胺酸和苯丙胺酸，如將各區分含有苦味的胺基酸揀出列如表 7，結果發現在第 5 個區分所含的苦味胺基酸佔其總胺基酸量 95.7% 為最高，其他各區分的所佔百分比相對的低。而在區分 VI 不含苦味的胺基酸，與感官品嚐的結果相吻合。

表五、梅果萃取物經膠體過濾後所分離出六個區分的試管數、體積及苦味

Table 5. Tube number, volume and bitter taste of six fractions of mei fruit extract filtrated with Sephadex G-25.

Fraction No.	Tube No.	Volume (ml)	In filtrate (%)	Taste
I	68-95	280	40.57	Bitter
II	96-104	90	13.04	Slightly bitter
III	105-117	130	18.84	Slightly bitter
IV	118-122	50	7.24	Bitter
V	142-149	80	11.59	Bitter
VI	153-158	60	8.61	Bitterless



圖一、梅汁進行膠體過濾之層析圖

Fig. 1. Chromatogram shows six fractions in mei juice extract after gel filtration.

#### 六、寡數胜肽固相定序之結果

由膠體過濾分離出之六個胜肽的區分示如表六。供寡數胜肽固相定序用的選擇區分V之胜肽液為材料，經自動定序儀定序結果，發現在滯留時間 (retention time) 分別在 16.51, 21.80 及 25.0 分鐘時分別出現纈胺酸、白胺酸和苯丙胺酸三種胺基酸，與三種標準胺基酸所出現的時間及位置相同示如圖2及表8。由此結果顯示梅果萃取液分離出區分V中含有 H-Val-Leu-Phe-OH 寡數胜肽，分子量在 400 左右。

表六、梅果萃取物經膠體過濾後六個區分中所含之胺基酸  
Table 6. Amino acid content of six fractions in mei fruit  
extract filtrated with Sephadex G-25.

	Amino acid content in fraction, $\mu$ mole/g					
	I	II	III	IV	V	VI
Alanine	0.396	0.101	0.132	0.028	-	-
Serine	0.421	0.031	0.052	-	0.013	0.018
Threonine	0.481	-	-	0.132	-	0.035
Phenylalanine*	0.281	0.028	-	0.072	0.102	-
Aspartic acid	0.332	0.086	0.047	0.086	-	0.021
Valine*	0.087	-	0.043	-	0.095	-
Leucine*	0.051	-	-	-	0.093	-
Histidine	0.021	-	0.031	-	-	-
Total	2.012	0.246	0.305	0.318	0.303	0.074

\*:Bitter amino acid

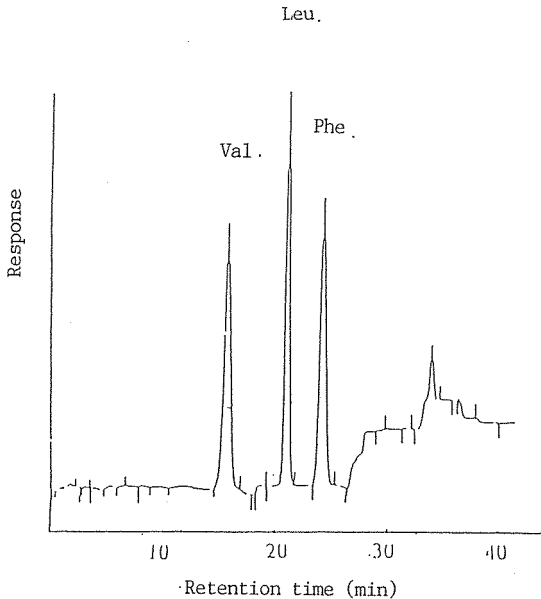
表七、梅果萃取物經膠體過濾後各區分之苦味胺基酸佔總胺基酸  
之百分比  
Table 7. Bitter amino acid percentage in total amino acids  
of six fraction in mei fruit extract after gel  
filtration with Sephadex G-25.

Bitter amino acid	Fraction, $\mu$ mole/g					
	I	II	III	IV	V	VI
Valine	0.087	-	0.043	-	0.095	-
Leucine	0.051	-	-	-	0.093	-
Phenylalanine	0.281	0.028	-	0.072	0.102	-
Total	0.419	0.028	0.043	0.072	0.290	0
In total amino acids, %	20.8	11.4	14.1	22.6	95.7	0

表八、合成肽定序後其組成胺基酸分別出現之滯留時間  
Table 8. Composition of amino acid after sequence of synthetic  
peptide and their retention time.

Amino acid of sequence of synthetic peptide	Retention time, min
Valine	16.51
Leucine	21.82
Phenylalanine	25.09





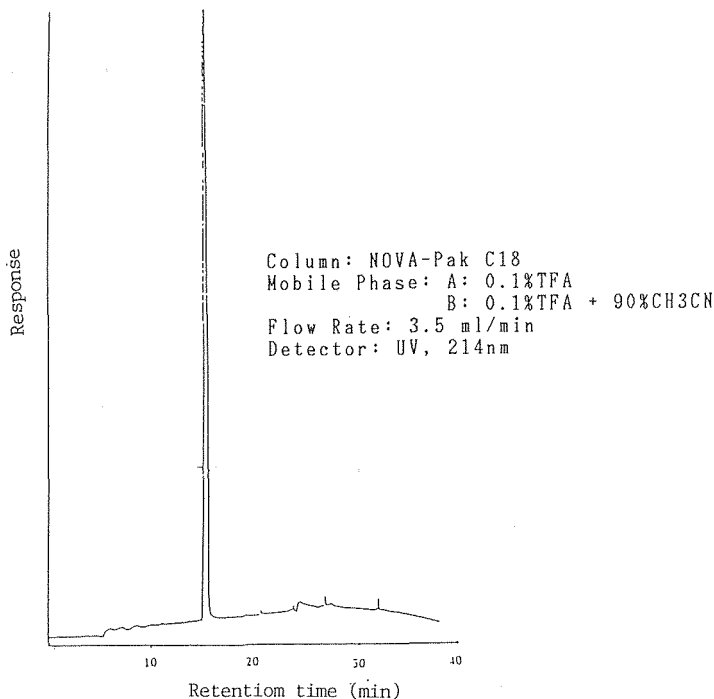
圖二、合成胜肽中胺基酸組成之高效液相層析圖

Fig. 2. High Performance Liquid Chromatogram of amino acid composition in the synthetic peptide.

### 七.合成胜肽純度之鑑定

依固相胜肽合成法，自動合成儀所合成之胜肽，尚需進行其純度之鑑定，本試驗採用下列二個步驟鑑定結果如下：

1. 胺基酸之組成分析：由膠體過濾所分離出區分V之胜肽液，經酸水解後得到主要三種胺基酸分別為纈胺酸、白胺酸和苯丙胺酸示如圖2，即表示此類寡數胜肽是由此三種胺基酸所組成。在先前將合成的此類胜肽(H-Val-Leu-Phe-OH)以高效能液相層析儀測出之結果如圖3所示。而在圖上只有一個胜肽的明顯大波峰，其位置在滯留時間第15分鐘處。
2. 梅果萃取液加入合成胜肽之HPLC層析：為進一步確認梅果萃取液經膠體過濾分離出之區分V是否含有H-Val-Leu-Phe-OH之寡數胜肽，因此將其加入所合成的胜肽，再打入HPLC中，比較結果示如圖4。結果顯示亦在滯留時間15分鐘時出現，H-Val-Leu-Phe-OH含量在110ppm左右，具苦味，經評定其最低之苦味閾值為80ppm，Q值為2623，分子量為377.29。

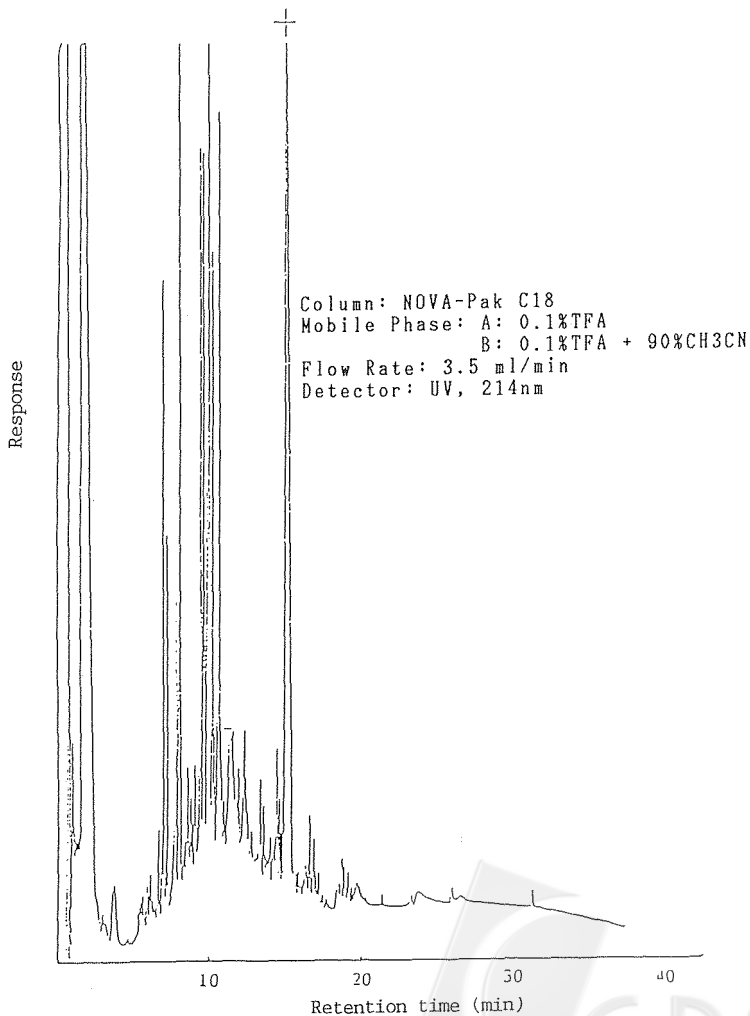


圖三、合成胜肽之高效液相層析圖

Fig. 3. High Performance Liquid Chromatogram of the synthetic peptide.

## 討 論

杏仁甘向來被認為是梅子中主要苦味物質<sup>(6)</sup>，但經本研究之多次分析，青梅採收時含杏仁甘約為250ppm，經催熟後之梅子中杏仁甘含量減了大半<sup>(1,7,12)</sup>，如以純化的杏仁甘(美國Sigma公司出品者)與梅子所含苦味物質相比較，品評純化的杏仁甘水溶液，其閾值在500ppm以上才感到苦味，而梅汁分析的含量只有150-250ppm，故認為梅汁中可能含有其他苦味物質如苦蛋白質、生物鹼、苦味嘔啶類、苦味酯類、苦味鹽類和糖異構物如 $\beta$ -D-mannose是苦的，本研究以苦味的胜肽為對象加以研究。



圖四、梅汁加合成肽之高效液相層析圖

Fig. 4. HPLC chromatogram of mei fruit extract coinjected with synthetic peptide .

胺基酸是否含有苦味決定於其疏水性之強弱，而疏水性之強弱則依  $\Delta F$  值來判定， $\Delta F$  值是以甘胺酸之疏水性訂為 0 做基礎， $\Delta F$  值大於 1300 的胺基酸才具有苦味，因為甘胺酸的 R 基團是一 H 基，而其餘的胺基酸之  $\Delta F$  值則以 R 基團的疏水性強弱決定，以色胺酸之  $\Delta F$  值最大達到 3000 cal/mole。一般以 L-form 的白胺酸、苯丙胺酸、酪胺酸及色胺酸具苦味，脯胺酸之  $\Delta F$  值雖然也達 2,600 cal/mole，但不苦，為唯一的例外<sup>(15)</sup>。

由本試驗分析梅汁中含有 Q 值超過 1300 的游離胺基酸有五種(表 9)，其中以纈胺酸含量 857 ppm 為最高，異白胺酸 390.7 ppm 次之，白胺酸又次之，苯丙胺酸最低為 76 ppm，但仍較其最低苦味閾的 60 ppm 以上。

又據 Fukui 等(1988)所合成的胜肽類進行苦味品評試驗，顯示 Q 值大於 1300 的胜肽具有苦味，而 Q 值是以  $\Delta F$  值除以胜肽的胺基酸總數所得之值<sup>(10)</sup>。例如 Val-Val-Val, Ser-Pro-Phe-Pro-Val-Ile, Val-Ser-Glu-Glu-Asp 均呈苦味。自然界中天然存在的苦味胜肽有 Leu-Phe(Q=2535), Leu-Lys(Q=1960), Arg-Leu-Leu(Q=1856), Phe-Ile-Ile-Glu-Gly-Val(Q=1766) 等 Q 值均大於 1,300，因此均具有苦味呈現<sup>(15)</sup>。

本試驗分離梅萃取液中之胜肽是應用 Guigoz 及 Solms(1974)<sup>(11)</sup> 的方法以膠體 Sephadex G-25 過濾，分離胜肽前先以 Commasie brilliant blue 跑過，以檢查管柱有無漏氣。如欲進一步瞭解梅汁中是否具有苦味的胜肽存在，加入專一性內切酶如胰蛋白酶(trypsin)可分出離胺酸及精胺酸；凝乳胰蛋白酶(chymotrypsin)可分解出苯丙胺酸及酪胺酸；胃胰蛋白酶可分解出色胺酸及酪胺酸<sup>(5)</sup>。分離出之各種胺基酸可採用雙向層析法展開，即先以濾紙後用電泳展開，有些可採用溴化氫為試劑將肽鍵切成片段<sup>(5)</sup>。

梅子中游離胺基酸之含量經過試驗後，得到五種 Q 值超過 1300 的纈胺酸、異白胺酸、白胺酸、苯丙胺酸及離胺酸(表 9)，且均達到各種胺基酸所呈苦味的閾值(threshold value of bitter taste)，由此可知梅汁中含有此五種苦味的胺基酸。

表九、梅子果汁中苦味胺基酸之 Q 值、分子量、含量及閾值  
Table 9. Q-value, molecular weight, content and threshold value of bitter amino acid in mei fruit juice.

Amino acid	Q-value *	Molecular weight	Content, ppm	Threshold value of bitter, ppm*
Valine	2420	117.09	857.09	100
Isoleucine	2970	131.11	390.70	100
Threonine	440	191.08	1061.00	230
Methionine	1590	149.15	250.57	40
Phenylalanine	2870	165.09	75.94	60
Arginine	730	174.14	158.46	40
Leucine	2620	131.11	201.90	70

\*:Ney, 1979.

## 參考文獻

1. 方祖達、王德裕、廖玉梅。1988. 梅子果汁加工之研究：I.不同催熟程度對果汁品質之影響。臺大農研 28(1):26-38.
2. 王德裕、方祖達。1988. 梅汁加工方法之研究：II.濃汁加工中脫除苦味及防止褐變反應。臺大農研 28(1):39-45.
3. 方祖達、張康榮。1980. 天然果汁檢驗標準之研究：I.幾種重要天然果汁中游離胺基酸之剖面分析。臺大農研 20(2):74-82.
4. 柏有成、方祖達。1990. 梅核仁 $\beta$ -葡萄糖苷酶之純化與生化性質之研究。臺大農研 30(1):83-96.
5. 莊榮輝。1985. 水稻蔗糖合成酶之研究。國立臺灣大學農業化學研究所博士論文。
6. 張正明。1984. 梅子醃漬前果汁之製取及脫除苦味方法之研究。臺大食品科學及技術研究所碩士論文。
7. 廖玉梅、方祖達。1988. 梅汁加工方法之研究：III.加工條件對果汁品質之影響。中國園藝。34(4):262-270.
8. 臺灣省政府農林廳。1990. 臺灣農業年報。
9. Findlay, J. B. C., D. J. C. Pappin, and J. N. Keen. 1989. Protein sequence:Automated solid-phase microsequencing. *Biochem.* 85:615-624.
10. Fukui, S., N. Ishibashi, K. Kato, I. One, T. Shigenaga and I. Shinoda. 1988. Role of hydrophobic amino acid residue in the bitterness of peptides. *Agri. Biol. Chem.* 52(1):91-94.
11. Guigoz, T. and J. Solms. 1974. Isolation of a bitter tasting peptide from "Alplcase", a Swiss mountain-cheese *Labensmitt-Wiss. Food Technol.* 7(6):356-357.
12. Haisman, D. R. and Knight, D. J. 1967. The enzymatic hydrolysis of amygdalin. *Biochemistry J.* 103:528-534.
13. Kajiwara, N., C. Tomiyama, T. Ninomiya and Y. Hosogai. 1983. Determination of amygdalin in apricot kernel and processed apricot products by high performance liquid chromatography. *J. Food Hygienic Soc. Japan* 24(1):42-46.
14. Merrifield, B. 1988. Solid phase synthesis. *Science* 232:341-347.
15. Ney, K. H. 1979. Food taste chemistry: Bitterness of peptides. *Proc. Amer. Chem. Asso.* p. 208-239.
16. Seigler, D. C. 1975. Isolation and characterization of naturally occurring cyanogenic compounds. *Phytochemistry* 14(1):9-29.
17. Wiesser, H. 1975. *Zeitschr. Unters. Lebensm. Forsch.* 159:329.