

苹果果实酚类物质含量与果实苦涩关系的研究

乜兰春 孙建设

(河北农业大学园艺学院, 保定 071001)

摘要: 以富士苹果为试材, 利用高效液相色谱 (HPLC) 研究了果实酚类物质含量与果实苦涩的关系以及酚类物质在果实中的分布。结果表明, 苦涩的幼果中, 根皮素和儿茶素含量均高达成熟果实的 30 多倍; 表儿茶素、原花青素和绿原酸含量分别为成熟果实的 10 倍左右。在成熟果实中, 有涩味的果实其绿原酸、儿茶素、表儿茶素和原花青素含量显著高于风味正常的果实; 有苦味的果实其根皮素和原花青素含量显著高于风味正常的果实; 苦涩味均较强的果实其绿原酸、儿茶素、表儿茶素、根皮素和原花青素含量最高。苦痘病果病变组织中根皮素和原花青素含量分别是正常组织的 15 倍和 3 倍。绿原酸、儿茶素、表儿茶素和原花青素是引起苹果果实涩感的主要物质; 根皮素、儿茶素和原花青素是引起苦味的主要物质。成熟果实中绿原酸主要分布于种子、果心和果肉; 儿茶素、表儿茶素和槲皮素主要分布于果皮; 原花青素主要分布于果皮中, 果肉和果心中也有分布; 根皮素则主要分布于种子、果皮和果心中。

关键词: 苹果; 酚类物质

中图分类号: S 661.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 05-0778-05

Relationship between the Content of Phenolic Compounds and the Taste of Astringency and Bitterness in Apple Fruit

Nie Lanchun and Sun Jianshe

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001, China)

Abstract: The distribution of phenolic compounds and the relationship between the content of phenolic compounds and the taste of astringency and bitterness in apple (*Malus domestica* Borkh.) fruits were studied by high-performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the contents of phloridzin and catechin were more than 30 times, and epicatechin, procyanidins and chlorogenic acid were about 10 times in young fruits with strongly astringency and bitterness compared to that in ripe fruits with no taste of astringency and bitterness. In ripe fruits with astringent taste, the contents of chlorogenic acid, catechin, epicatechin, and procyanidins were much higher than that with no astringent taste. In fruits with bitter taste, the contents of chlorogenic acid, phloridzin, and procyanidins were much higher than that with no bitter taste. In fruits with both astringent and bitter taste, the contents of chlorogenic acid, catechin, epicatechin, phloridzin, and procyanidins were the highest. The levels of phloridzin and procyanidins in the bitter pit tissue were fifteen and three times higher than those in normal tissue, respectively. These results indicated that the astringency of apple fruits was due to the increase of chlorogenic acid, catechin, epicatechin, and procyanidins, while the bitter taste was associated with the accumulation of phloridzin, catechin, and procyanidins. Chlorogenic acid mainly exists in seed, core, and flesh. Catechin, epicatechin, and quercetin are mainly in the peel. Procyanidins are also mainly in the peel with small amount in the flesh and core, and phloridzin is mainly in the seed, peel, and core.

Key words: Apple; Phenolic compounds

酚类物质 (Phenolic compounds) 是植物体内重要的次生代谢物质。大量研究表明, 酚类物质除

收稿日期: 2004-11-02; 修回日期: 2005-01-13

基金项目: 国家教委优秀青年教师基金项目

与果实色泽、褐变有关外,还与果实的涩、苦、香、甜等风味密切相关^[1]。柑橘类果实的苦味由柚皮苷引起^[1],桃果实的涩味与含有较多的原花青素有关^[2,3]。苹果酒的涩味和苦味源于儿茶素、表儿茶素和原花青素^[4]。苹果 (*Malus pumila* Mill) 果实富含酚类物质^[5],主要酚类物质包括绿原酸、儿茶素、表儿茶素、根皮素、槲皮素和原花青素^[6]。至于这些物质对苹果鲜食风味的影响,国内外研究报道很少。苹果幼果有较强的苦涩味,随着果实发育,苦涩味变淡或消失。但生产中也时常出现成熟后仍有涩味,甚至苦味而影响风味品质的现象。作者以富士为试材,研究了酚类物质含量与果实苦涩的关系以及酚类物质在果实中的分布,以期揭示酚类物质对苹果鲜食风味的影响和改善苹果风味品质奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

幼果及成熟果取自河北保定北章果园,品种为富士,树龄8年。2003年选择生长健壮的10株树,分别于幼果期(5月30日)和商品成熟期(10月25日)在每株树冠相同位置取大小一致的果实各1个,迅速削皮后纵切,幼果取果肉的1/2;成熟果分别取果皮、果肉的1/4、果心和种子,-70℃下保存,用于酚类物质含量的测定。

苦涩果取自河北农业大学标本园,品种为富士,树龄5年,管理粗放,染病毒病,长势弱,果实发育不良,2003年商品采收期单果质量100g左右,且大多苦涩。10月25日随机选择5株树,采树冠中部病果共150个。纵切成两半并编号。一半立即在-70℃下保存;一半品尝其果肉风味,并分为无不良风味、苦味较重、涩味较重和苦涩味均较重等4类。从保存的冻样中,每类果实取10个,削皮,纵切,取果肉的1/2,用于酚类物质含量测定。

苦痘病果取自保定北章果园。商品采收期取苦痘病果5个,分别切取其病变组织和健康组织,在-70℃下保存,用于测定酚类物质含量。

1.2 绿原酸、儿茶素、表儿茶素、根皮素和槲皮素含量测定

取适量待测样品两份,一份参照Awad等^[6]的方法,加入85%的甲醇,在0~4℃下研磨匀浆,定容后超声波震荡10min,室温下浸提4h,4000r·min⁻¹离心,上清液用0.45μm滤膜过滤,滤液用于绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮素含量的测定。另一份参照Micha等^[7]的方法,加入20mL 1.2mol·L⁻¹的盐酸-甲醇溶液,0~4℃下研磨匀浆,90℃下回流2h,将槲皮素糖苷水解为槲皮素。冷却后用甲醇定容,超声、离心和过滤同上,滤液用于槲皮素含量的测定。用Waters1525/2487型高效液相色谱仪测定,C-18反相柱(200mm×4.6mm×5μm)。绿原酸、儿茶素、表儿茶素的测定条件为:流动相(pH3.2):80%甲醇0~9min;70%甲醇9~16min;80%甲醇16~25min,流速0.6mL·min⁻¹,检测波长280nm。根皮素测定条件为:流动相(pH3.0)42%甲醇,流速0.8mL·min⁻¹,检测波长280nm。槲皮素测定条件为:流动相(pH2.4)50%甲醇,流速0.8mL·min⁻¹,检测波长370nm。重复两次进样,两次相差10%以上时,重新测定。酚类物质标样均购于Sigma公司。

1.3 原花青素含量的测定

原花青素提取同绿原酸、儿茶素、表儿茶素和根皮素。采取盐酸-香草醛法^[8]测定。取1mL提取液移入遮光试管,加入5mL1%香草醛甲醇溶液与8%盐酸甲醇溶液的等量混合溶液,在20℃下反应15h,用U-2001型紫外分光光度计在500nm下测定吸光值。用80%甲醇配制不同浓度的儿茶素溶液,按待测液的反应方法和条件测定吸光值,根据儿茶素浓度和吸光值作标准曲线。原花青素含量用相对于儿茶素的含量表示。

2 结果与分析

2.1 幼果酚类物质含量

从表1可以看出,苹果幼果酚类物质含量显著高于成熟果实,其中根皮素和儿茶素分别是成熟果

实含量的 33.6 和 32.3 倍；表儿茶素、原花青素和绿原酸分别是成熟果实的 14.1、9.1 和 7.3 倍；槲皮素含量与成熟果实的相差最少，是成熟果实的 2.2 倍。可见，与成熟果实比，在苦涩的幼果中含有大量的根皮素、儿茶素、表儿茶素、原花青素和绿原酸。

2.2 苦涩成熟果实酚类物质含量

从图 1 可以看出，成熟果实中，有涩味的果实绿原酸、儿茶素、表儿茶素和原花青素含量显著高于正常风味的果实，分别为正常果实的 1.91 倍、2.91 倍、2.05 倍和 1.99 倍，槲皮素含量则与正常果实无显著差异。有苦味的果实根皮素、原花青素和绿原酸含量显著高于正常的果实，分别为正常果实的 3.21 倍、3.09 倍和 1.56 倍，而儿茶素、表儿茶素和槲皮素含量与正常果实无显著差异。苦涩感均较重的果实绿原酸、儿茶素、表儿茶素、根皮素和原花青素含量在 4 类果实中最高，分别为正常果实的 3.41 倍、4.83 倍、2.35 倍、3.57 倍和 4.70 倍，槲皮素含量低于正常果实。

可见成熟后仍有涩感的果实中含有较多的绿原酸、儿茶素、表儿茶素和原花青素；有苦味的果实中含有较多的根皮素、原花青素；而苦涩感均较重的果实中，绿原酸、儿茶素、表儿茶素、原花青素和根皮素含量均较高。

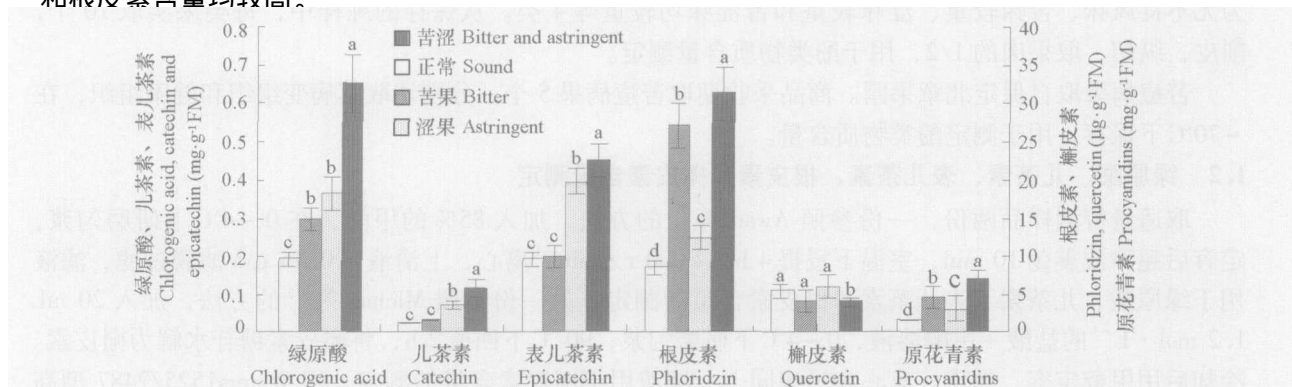


图 1 富士苦涩果实酚类物质含量

Fig. 1 Contents of phenolic compounds in the flesh of 'Fuji' apple fruits with bitter and astringent taste

2.3 苦痘病果病变组织酚类物质含量

图 2 表明，苦痘病果病变组织中绿原酸和槲皮素含量显著低于正常组织，分别仅为正常组织的 1/3 和 1/2；而表儿茶素、根皮素和原花青素含量显著高于正常组织，特别是根皮素和原花青素，病变组织含量分别达正常组织的 15 倍和 3 倍。表明苦痘病病变组织酚类物质代谢失调，根皮素和原花青素异常增高，导致病变组织变苦。

2.4 酚类物质在果实不同部位的分布

从表 2 可以看出，果实不同部位组织中各种酚类物质含量存在显著差异。绿原酸含量以种子最高，其次为果心和果肉，果皮含量最低，分别只有种子含量的 1/10、果肉含量的 1/3 左右。儿茶素、表儿茶素和原花青素含量均以果皮最高，其次为果肉和果心，种子含量最低。根皮素含量以种子最高，其次为果皮和果心，果肉含量最低，分别只有种子、果皮和果肉含量的 1/100、1/17 和 1/13 左右；槲皮素含量果皮最高，果肉、果心和种子含量很低。可见绿原酸主要分布于果实的种子、果心和果肉中；儿茶素、表儿茶素和原花青素主要分布在果皮中，果肉和果心也有分布；槲皮素主要分布于果皮，果肉有少量分布；根皮素主要分布于种子、果皮和果心中。

表 1 苹果幼果和成熟果肉酚类物质含量

Table 1 Contrast of phenolic concentration in the

young and ripe Fuji apple fruit ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \text{FM}$)

果实 Fruit	绿原酸 Chlorogenic acid	儿茶素 Catechin	表儿茶素 Epicatechin	根皮素 Phloridzin	槲皮素 Quercetin	原花青素 Procyanidins
幼果 Young	933.2a	591.1a	854.7a	296.0a	40.5a	8461.2a
成熟果 Ripe	127.3b	18.3b	60.6b	8.8b	18.6b	929.1b

注：不同字母表示 Duncan's 新复极差测验达 5% 显著水平。以下同。

Note: Different letters are significantly different at $\alpha = 0.05$ by Duncan's test. The same below.

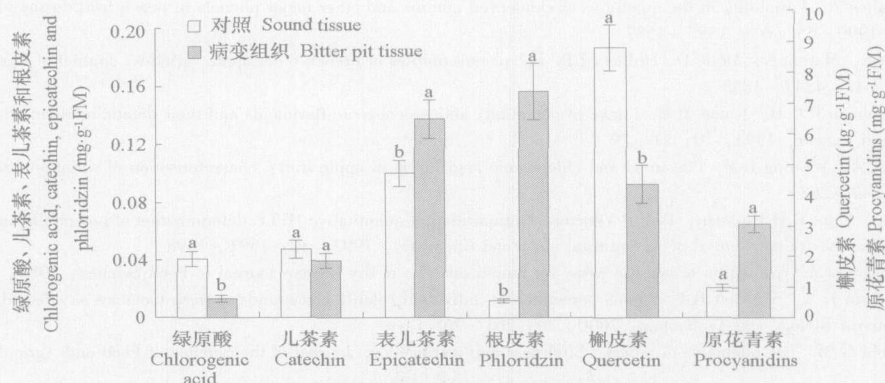


图 2 富士苦痘病变组织中酚类物质含量

Fig. 2 Content of phenolic compounds in the bitter pit tissue of 'Fuji' apple fruit

表 2 酚类物质在果实不同部位的分布

Table 2 Distribution of phenolic compounds in different tissues of mature 'Fuji' apple fruit

组织 Tissue zone	绿原酸 Chlorogenic acid (mg · g ⁻¹)	儿茶素 Catechin (mg · g ⁻¹)	表儿茶素 Epicatechin (mg · g ⁻¹)	根皮素 Phloridzin (mg · g ⁻¹)	槲皮素 Quercetin (μg · g ⁻¹)	原花青素 Procyanidins (mg · g ⁻¹)
果皮 Peel	0.0353d	0.1139a	0.2895a	0.1385b	81.4a	6.043a
果肉 Flesh	0.1279c	0.0243b	0.0606b	0.0081c	18.6b	0.929b
果心 Core	0.2928b	0.0451b	0.0595b	0.1032b	3.2c	0.816b
种子 Seed	0.3836a	0.0171c	0.0236c	0.8012a	2.1c	0.091c

3 讨论

以往有关苹果风味品质的研究主要集中在糖和酸含量方面，对果实涩和苦味的来源及其调控研究报道很少。本研究表明在苦涩的幼果中含有大量的根皮素、儿茶素、表儿茶素、原花青素和绿原酸，特别是根皮素和儿茶素，其含量分别高达成熟果实的 30 多倍。有涩感的成熟果实中绿原酸、儿茶素、表儿茶素和原花青素含量显著高于无涩感的果实，有苦味的果实中根皮素和原花青素含量显著高于无苦味的果实，而苦涩感均较重的果实中绿原酸、儿茶素、表儿茶素、根皮素和原花青素含量最高。苦痘病病变组织中根皮素和原花青素含量分别达正常组织的 15 倍和 3 倍，而绿原酸和槲皮素含量显著低于正常组织。作者参照 Tandond 等^[9]的方法分别鉴定了几种酚类物质在水中和糖酸溶液中的风味特点，绿原酸和表儿茶素均具有较强的涩味，根皮素具有强烈的苦味，儿茶素既具有苦味又具有涩味。Lea 等^[10]和 Ozawa 等^[11]曾分别报道，原花青素是引起许多植物产品涩感的主要物质，原花青素也具有苦味。可见，绿原酸、儿茶素、表儿茶素和原花青素是引起苹果果实涩感的主要物质；根皮素、儿茶素和原花青素是引起其苦味的主要物质。这些物质在成熟果实中主要存在于果实的果皮、果心和种子等组织，因而这些组织也往往带有不同程度的苦涩味。

在正常情况下，苹果成熟果实果肉中上述酚类化合物含量很低，特别是根皮素和儿茶素，含量只有几到几十微克。但若管理粗放、病害发生等因素导致这些物质增加，将影响果实的风味。至于这些物质使果实出现苦涩味的含量阈值及其在果实发育和成熟过程中的变化动态有待深入研究。作者调查发现苹果的涩和苦味与品种、年份、树势、果园管理水平等有关，研究环境因子和栽培措施对果实酚类物质和风味的影响对全面提高苹果风味品质具有重要意义。

参考文献：

- 1 Tom   Barber   FA, Esp   J C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2001, 81: 853 ~ 876
- 2 Kubota N, Minura H, Shimamura K. Differences in phenolic levels among mature peach and nectarine cultivars and their relation to stringency. Journal of Japanese Society of Horticulture Science, 2000, 69 (1): 35 ~ 39

- 3 Senter S D, Callahan A. Variability in the quantities of condensed tannins and other major phenols in peach fruit during maturation. *Journal of Food Science*, 1990, 55 (6): 1585 ~ 1587
- 4 Sanoner P, Guyot S, Mamet N, Molle D, Drilleau J P. Polyphenol profiles of French cider apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 47: 4847 ~ 4853
- 5 Hertog M G L, Holman P C H, Katan M B. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutrition and Cancer*, 1993, 20: 21 ~ 29
- 6 Award M A, Jager A, Westing L M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. *Scientia Horticulturae*, 2000, 86: 249 ~ 263
- 7 Michà G L, Hertog, Peter C H, Holman, Dini P, Venema. Optimization of quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40: 1591 ~ 1598
- 8 Deshpande S, Cheryan M. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. *Journal of Food Science*, 1985, 50: 905 ~ 910
- 9 Tandon K S, Baldwin E A, Shewfelt R L. Aroma perception of individual volatile compounds in fresh tomatoes as affected by the medium of evaluation. *Postharvest Biology and Technology*, 2000, 20: 261 ~ 268
- 10 Lea A G H, Arnold G M. The phenolics of ciders: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1978, 29: 478 ~ 483
- 11 Ozawa T, Terence H L, Haslam E. Polyphenol interactions: astringency and the loss of astringency in ripening fruit. *Phytochemistry*, 1987, 26 (11): 2937 ~ 2942

杨桃果实生长发育过程中营养品质的变化

胡志群 周碧燕* 陈杰忠 林小冰 蓝永辉 (华南农业大学园艺学院南方果树生理研究室, 广州 510642)

Changes of Nutrient Components of *Averrhoa carambola* during Fruit Development

Hu Zhiquan, Zhou Biyan*, Chen Jiezhong, Lin Xiaobing, and Lan Yonghui (College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

关键词: 杨桃; 糖; 有机酸; 维生素 C; 单宁

中图分类号: S 667.9 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2005) 05-0782-01

杨桃 (*Averrhoa carambola* L.) 为华南地区重要的热带水果。本试材为华南农业大学园艺分场种植的 3 年生盆栽马来西亚甜杨桃, 砧木为酸杨桃。在杨桃的开花期, 选择生长势、开花数量和时间较一致 45 株为试材, 再选择受精时间一致的果实做标记。采样时间从开花后 (2003 年 7 月 15 日) 至杨桃充分成熟 (2003 年 10 月 25)。测定杨桃果实中的糖 (蒽酮比色法)、有机酸 (HPLC 法)、维生素 C (2, 6-二氯酚钠滴定法) 和单宁 (高锰酸钾滴定法) 的含量。

结果 (表 1) 表明, 杨桃果实在生长发育期间, 各种糖的含量在花后 30 d 以内没有明显的增加; 花后 44 ~ 93 d, 果糖、蔗糖和葡萄糖的含量均呈上升趋势; 果糖含量均最高, 而蔗糖的含量均很低, 接近成熟时有明显增加的趋势, 至花后 99 d, 蔗糖和葡萄糖的含量相当。有机酸主要是草酸、苹果酸和酒石酸, 而柠檬酸、琥珀酸、马来酸基本检测不到。果实成熟时各种酸的含量都明显下降, 但苹果酸比草酸多, 与前人的研究结果不一致, 这可能是采样分析时的成熟度不同造成的。维生素 C 含量在幼果期较高, 之后下降至最低值后又逐渐增加。幼果中的可溶性单宁含量高, 在果实发育中期以后至成熟均处于低水平, 可溶性的单宁是果实涩感的主要来源。根据本研究结果, 认为在花后 80 d 左右为杨桃可采收的时期, 此时的草酸含量已明显下降; 花后 95 ~ 100 d 为食用品质最佳的时期, 此时的糖、维生素 C 含量最高, 有机酸含量最低。

表 1 杨桃果实发育期间糖、有机酸、维生素 C 和单宁含量的变化

Table 1 Chang of sugars, organic acids, vitamin C and tannin in fruit of *Averrhoa carambola* during fruit development (mg/g FM)

花后天数 Days after anthesis	果糖 Fructose	蔗糖 Sucrose	葡萄糖 Glucose	草酸 Oxalic acid	酒石酸 Tartaric	苹果酸 Malic acid	维生素 C Vitamin C	单宁 Tannin
17	9.60 ± 1.22	0.86 ± 0.06	9.41 ± 1.30	2.48 ± 0.19	0.51 ± 0.14	2.50 ± 0.34	0.2656 ± 0.0242	0.20 ± 0.020
30	9.56 ± 0.94	0.70 ± 0.10	6.30 ± 0.60	2.33 ± 0.11	0.58 ± 0.06	5.15 ± 0.28	0.1469 ± 0.0214	0.14 ± 0.004
44	11.92 ± 0.32	1.95 ± 0.11	8.07 ± 0.32	2.60 ± 0.16	0.76 ± 0.15	2.20 ± 0.45	0.1172 ± 0.0142	0.06 ± 0.005
58	17.63 ± 0.92	2.82 ± 0.22	11.32 ± 0.30	2.30 ± 0.08	0.40 ± 0.037	1.98 ± 0.02	0.1008 ± 0.0054	0.05 ± 0.002
72	22.52 ± 2.57	4.41 ± 0.38	13.75 ± 1.33	2.49 ± 0.08	0.40 ± 0.043	1.98 ± 0.21	0.1633 ± 0.0178	0.04 ± 0.006
79	22.99 ± 2.57	9.02 ± 0.31	14.75 ± 1.39	0.98 ± 0.07	0.34 ± 0.06	1.92 ± 0.12	0.1732 ± 0.0236	0.03 ± 0.001
93	28.38 ± 1.59	13.63 ± 0.84	18.43 ± 1.83	0.73 ± 0.02	0.40 ± 0.04	1.48 ± 0.05	0.2560 ± 0.0429	0.03 ± 0.002
99	29.81 ± 1.49	16.93 ± 0.68	15.75 ± 1.24	0.65 ± 0.04	0.34 ± 0.10	1.07 ± 0.15	0.2657 ± 0.0224	0.03 ± 0.001

注: 表中数据为平均值 ± 标准误差 (n=3)。 Note: Values in the table are means ± SE (n=3).

收稿日期: 2005 - 07 - 04; 修回日期: 2005 - 09 - 25

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: zhoubiyan209@mail.china.com)