

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201409034

刘萍, 黄春霞, 邓光宙, 等. 不同贮藏条件对沙田柚果实苦味物质含量的影响[J]. 广西植物, 2016, 36(6):658-662

LIU P, HUANG CX, DENG GZ, et al. Effects of different storage conditions on changes of bitter substance of "Shatian" Pomelo[J]. *Guihaia*, 2016, 36(6):658-662

# 不同贮藏条件对沙田柚果实苦味物质含量的影响

刘萍<sup>1,2</sup>, 黄春霞<sup>1,2</sup>, 邓光宙<sup>1,2\*</sup>, 范七君<sup>1,2</sup>, 牛英<sup>1,2</sup>

(1. 广西特色作物研究院, 广西 桂林 541004; 2. 广西柑橘生物学重点实验室, 广西 桂林 541004)

**摘要:** 沙田柚原产广西, 营养丰富且适合高血压和糖尿病等患者食用, 近年来在沙田柚产业中存在品质下降、有苦味、异味生成等问题。为了研究不同贮藏条件下沙田柚苦味物质的含量变化, 该文利用高效液相色谱仪, 对室温包薄膜袋(A)、室温不包薄膜袋(B)和4℃低温不包薄膜袋(C)三种不同贮藏条件下, 沙田柚外果皮、中果皮、囊衣、汁胞和种子中柚皮苷、柠檬苦素和诺米林在贮藏过程中的含量变化进行了测定。结果表明: 沙田柚果实苦味物质以柚皮苷为主, 主要分布在中果皮和囊衣中, 柠檬苦素主要分布在种子和外果皮中, 诺米林主要分布在种子中。各处理果实在贮藏过程中苦味物质含量变化不同, 其中柚皮苷含量略有上升, 柠檬苦素和诺米林含量整体呈下降趋势, 略有波动, 而汁胞中柠檬苦素和诺米林含量先上升再下降。三种不同贮藏条件相比, 4℃低温不包薄膜袋贮藏的果实汁胞中柚皮苷和柠檬苦素的含量最高, 在贮藏第30天, A、B、C三种不同贮藏条件果实汁胞中柚皮苷含量分别为(0.139 ± 0.006)、(0.190 ± 0.009)和(0.194 ± 0.019) mg · g<sup>-1</sup>, 柠檬苦素含量分别为(47.28 ± 1.91)、(33.64 ± 1.90)和(84.19 ± 5.56) μg · g<sup>-1</sup>。与此相反, 外果皮、中果皮、囊衣和种子中柚皮苷、柠檬苦素和诺米林含量最低。该研究结果为采后沙田柚贮藏保鲜方式的选择提供了理论指导。

**关键词:** 沙田柚, 采后贮藏, 高效液相色谱, 柚皮苷, 柠檬苦素, 诺米林**中图分类号:** Q945 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)06-0658-05

## Effects of different storage conditions on changes of bitter substance of "Shatian" Pomelo

LIU Ping<sup>1,2</sup>, HUANG Chun-Xia<sup>1,2</sup>, DENG Guang-Zhou<sup>1,2\*</sup>, FAN Qi-Jun<sup>1,2</sup>, NIU Ying<sup>1,2</sup>(1. *Guangxi Academy of Specialty Crops*, Guilin 541004, China; 2. *Guangxi Key Laboratory of Citrus Biology*, Guilin 541004, China)

**Abstract:** The "Shatian" Pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) was native to Guangxi, rich in nutrition and for hypertension and diabetes patients to eat. In recent years, there were many problems in the industry, such as quality decreased, smell and bitter generated. The "Shatian" Pomelo were stored under ambient temperature with film (A), ambient temperature without film (B) and 4℃ without film (C). Naringin, limonin and nomilin contents in different sues of fruits were determined during storage by high-performance liquid chromatography. The results showed that Naringin as main bittering substance of "Shatian" Pomelo was distributed in the albedos and segment membranes. Limonoids mainly distributed in the seeds and flavedos, and nomilin mainly distributed in the seeds. Changes of bittering substance contents were different during storage under three storage conditions. The naringin content slightly increased

收稿日期: 2014-09-16 修回日期: 2015-03-23

**基金项目:** 广西自然科学基金(2012GXNSFAA053040); 国家现代农业产业技术体系广西创新团队建设专项(桂农业发[2011]33号); 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科能 1347013-9; 桂科能 14123006-31) [Supported by the Natural Science Foundation of Guangxi (2012GXNSFAA053040); Guangxi Special Fund for Innovation Team Construction of the National System of Modern Agricultural Technology ([2011]33号)]; Scientific Research and Technology Development Project of Guangxi (1347013-9; 14123006-31)。

**作者简介:** 刘萍(1983-), 女, 山西左权人, 硕士, 助理研究员, 从事采后生物技术与研究工作, (E-mail) liupingsmile@126.com。**\*通讯作者:** 邓光宙, 高级农艺师, 从事柑橘品种选育及柑橘无病毒苗繁育研究工作, (E-mail) dgz66@126.com。

during storage, while limonin and nomilin contents declined overall with a minor fluctuation. The contents of limonin and nomilin in juice sac increased firstly and then decreased. On the 30th day of storage, A, B and C storage conditions of naringin contents in juice sacs were  $(0.139 \pm 0.006)$ ,  $(0.190 \pm 0.009)$  and  $(0.194 \pm 0.019)$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  respectively and limonin contents were  $(47.28 \pm 1.91)$ ,  $(33.64 \pm 1.90)$  and  $(84.19 \pm 5.56)$   $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  respectively. Comparing with the A and B storage conditions, the contents of naringin and limonin of fruit juice sac under 4 °C low temperature storage (C storage conditions) were the highest. On the contrary, the contents of naringin, limonin and nomilin in flavedos, albedos, segment membranes and seeds were the lowest under C storage condition. This study provides theoretical guides for storage of postharvest “Shatian” Pomelo.

**Key words:** “Shatian” Pomelo, postharvest storage, HPLC (high-performance liquid chromatography), naringin, limonin, nomilin

沙田柚 (*Citrus grandis*) 属芸香科 (*Rutaceae*) 柑橘属 (*Citrus* L.), 原产广西容县沙田村。其果实风味独特, 营养丰富, 具有清热润肺, 凉血降压等功效, 适合于高血压、心血管疾病和肥胖症等患者食用, 被誉为柚中佳品 (区善汉等, 2010)。2010年广西沙田柚产量达到 41.3 万 t, 占全区柚类产量的 92%, 已成为广大果农致富的支柱产业之一。但目前该产业存在诸多问题, 如贮藏过程中果实腐烂、失水严重、果皮皱缩、果形指数下降、汁胞失去弹性, 口感失脆、风味变淡、有异味和苦味生成 (黄桂香, 2005) 等问题。苦味在调味和生理调节上不可或缺, 植物性多酚、类黄酮类、萜类和硫苷类具有抗氧化、降低肿瘤和心血管疾病发病率的作用 (张开诚, 2004)。然而, 消费者对苦味具有较高的感知力, 阈值极低仅有 0.001 6% (刘晶晶, 2006), 较淡的苦味可使消费者产生拒食心理, 直接影响到沙田柚的经济效益。本研究通过研究产业中最常用的三种贮藏条件下沙田柚不同组织中柚皮苷、柠檬苦素和诺米林的含量变化, 以期了解采后沙田柚苦味生成的原因, 为采后沙田柚贮藏保鲜方式的选择提供理论指导。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

试验于 2012–2013 年连续两年在广西融安县同一个沙田柚果园进行, 15 年生砧板柚砧木沙田柚 (*Citrus grandis* Osbeck), 种植密度  $4 \text{ m} \times 5 \text{ m}$ 。11 月中旬采收成熟商品果实, 当天运回实验室, 预贮 3 d 后分别进行室温包薄膜袋 (A)、室温不包薄膜袋 (B) 和 4 °C 低温不包薄膜袋 (C) 贮藏, 贮藏期 90 d。贮藏期间每隔 15 d 每个处理随机选取 5 个果实, 并将其分为外果皮、中果皮、囊衣、汁胞和种子共 5 部

分, 液氮速冻后存放 -80 °C 超低温冰箱备用。

### 1.2 测定方法

1.2.1 柚皮苷提取及 HPLC 检测条件 参考丁帆 (2010) 的提取方法略作修改, 将样品加入液氮研磨成粉末, 称取一定量的样品 (汁胞 3 g, 外果皮与种子各 2 g, 囊衣与中果皮各 1 g)。放入 50 mL 的离心管中, 加入 10 mL 提取液 ( $V_{\text{甲醇}} : V_{\text{二甲基亚砜}} = 1 : 1$ ) 充分振荡混匀, 超声波常温提取 50 min。过滤, 弃滤渣, 滤液定容至 10 mL。0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 高效液相色谱测定 (岛津 LC20A)。流动相用 50% 甲醇等梯度洗脱; 流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; SPD-20A 紫外检测器, 检测波长 283 nm; 进样量 10  $\mu\text{L}$ ; 柱温为室温;  $\text{C}_{18}$  色谱柱 ( $4.6 \text{ mm} \times 150 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$ , Inertsil, 日本)。

1.2.2 柠檬苦素和诺米林提取及 HPLC 检测条件 将样品加入液氮研磨成粉末, 称取一定量的样品 (汁胞 3 g, 外果皮与种子各 2 g, 囊衣与中果皮各 1 g)。放入 50 mL 的离心管, 加入 4 mL 丙酮提取液充分振荡混匀, 超声波常温提取 50 min。过滤, 弃滤渣, 真空旋转蒸发仪 (Thermo SPD1010) 蒸发至干。加入 1 mL 乙腈, 经 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 备用。流动相采用 45% 乙腈等梯度洗脱, 流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 检测波长 210 nm, 进样量 20  $\mu\text{L}$ , 柱温为室温, 仪器设备同 1.2.1。

### 1.3 数据统计与分析

物质的定性通过标准品在 HPLC 上的保留时间和特征吸收光谱进行双重鉴定, 外标法定量。用岛津高效液相色谱仪系统软件 (LCsolution) 对色谱结果进行处理。应用 Excel 软件进行数据处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同贮藏条件下不同组织柚皮苷含量变化

图 1 结果显示, 沙田柚果实中柚皮苷主要分布

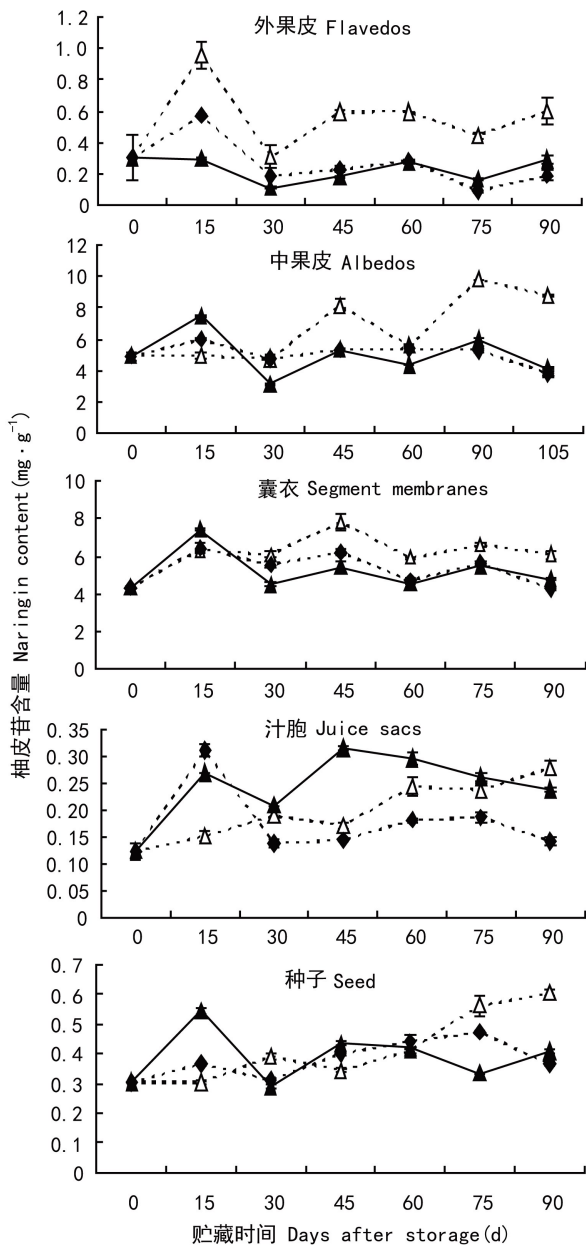


图 1 三种贮藏条件下不同组织中柚皮苷含量变化

△常温贮藏, ◆常温包膜贮藏, ▲4℃贮藏。下同。

Fig. 1 Contents of naringin in different tissues of "Shatian"

Pomelo fruit under different conditions △Storage under ambient temperature; ◆Storage under ambient temperature with film; ▲Storage under 4℃. The same below.

在中果皮和囊衣,其次是外果皮和种子,汁胞中含量最少。贮藏过程中各组织柚皮苷含量起伏波动略有上升。在贮藏 30~90 d,果实外果皮、中果皮和囊衣中柚皮苷含量由低到高的贮藏方式依次为 C<A<B; 而汁胞中柚皮苷含量由低到高的贮藏方式依次为 A<B<C。在贮藏第 45 天, A、B、C 3 种不同贮藏条件

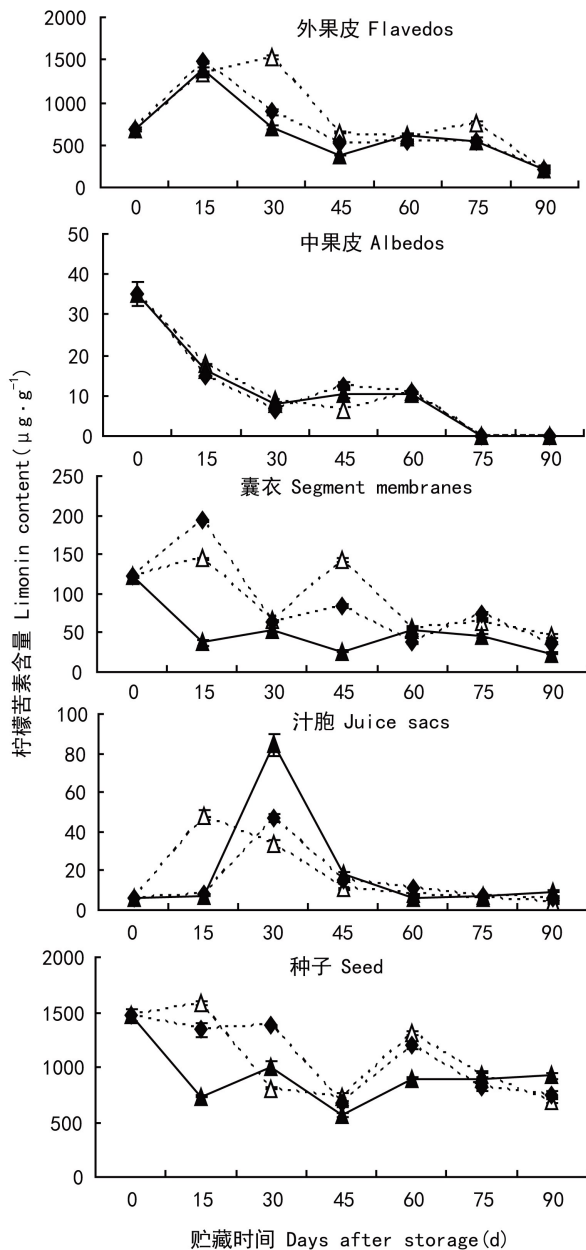


图 2 三种贮藏条件下不同组织中柠檬苦素含量变化

Fig. 2 Contents of limonin in different tissues of "Shatian" Pomelo fruit under different conditions

下汁胞中柚皮苷含量分别为  $(0.1445 \pm 0.002)$ 、 $(0.172 \pm 0.006)$  和  $(0.316 \pm 0.003)$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

## 2.2 不同贮藏条件下不同组织柠檬苦素含量变化

图 2 显示,柠檬苦素主要分布在种子和外果皮中,囊衣次之,汁胞和中果皮中含量最少。采摘时柠檬苦素在种子、外果皮、囊衣、中果皮和汁胞中的含量分别为  $(1470.04 \pm 59.94)$ 、 $(685.69 \pm 30.90)$ 、 $(121.51 \pm 1.07)$ 、 $(35.08 \pm 3.05)$  和  $(6.13 \pm 0.16)$

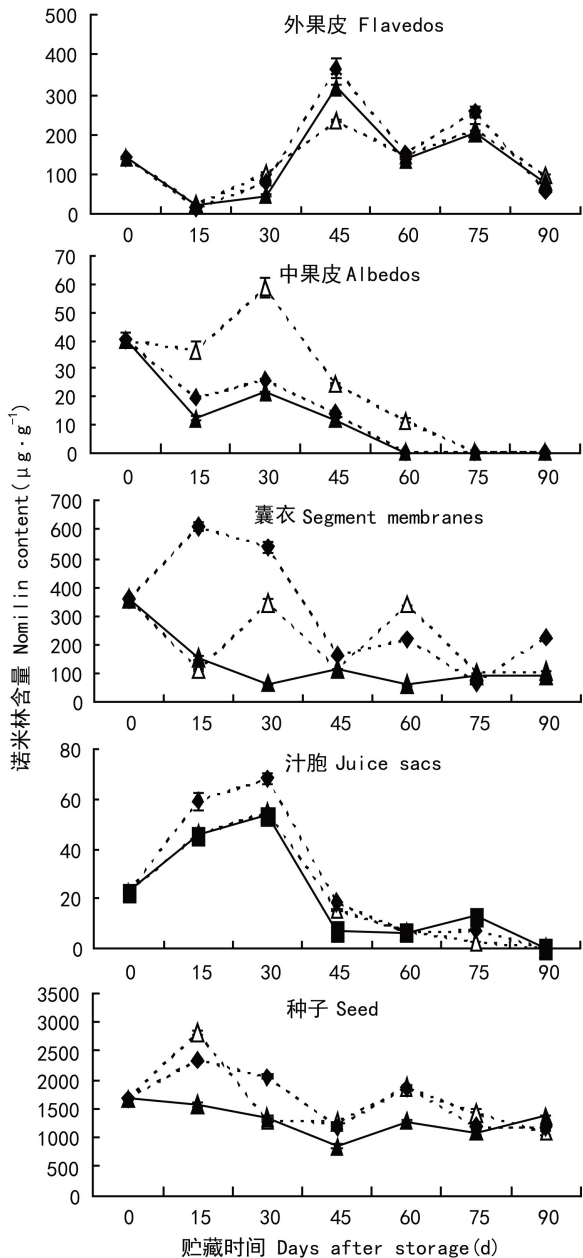


图 3 三种贮藏条件下不同组织中诺米林含量变化  
Fig. 3 Contents of nomilin in different tissues of "Shatian" Pomelo fruit under different conditions

$\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。贮藏过程中,各处理果实中果皮和种子的柠檬苦素含量逐渐下降,在种子中,经  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温贮藏的果实柠檬苦素含量最低,下降速度最快,而在中果皮不同贮藏条件差异不明显。各处理果实外果皮和汁胞中柠檬苦素含量在贮藏第 30 天,上升达到最高峰,随后急剧下降然后缓慢下降,汁胞中柠檬苦素含量以  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温不包薄膜袋贮藏最高,室温不包膜贮藏最低。贮藏第 30 天 A、B、C 3 种不同贮藏条件汁

胞中柠檬苦素含量分别为  $(47.28 \pm 1.91)$ 、 $(33.64 \pm 1.90)$  和  $(84.19 \pm 5.56) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 2.3 不同贮藏条件下不同组织诺米林含量变化

诺米林主要分布在种子中,外果皮和囊衣次之,汁胞和中果皮中含量最少。采摘时诺米林在种子、外果皮、中果皮、囊衣和汁胞中的含量分别为  $(1\ 673.88 \pm 0.21)$ 、 $(140.91 \pm 3.50)$ 、 $(40.2 \pm 2.87)$ 、 $(358.27 \pm 12.20)$  和  $(22.57 \pm 0.35) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。贮藏过程中,囊衣和种子中诺米林含量逐渐下降,且  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温不包薄膜袋贮藏果实含量最低。外果皮和中果皮中诺米林含量在贮藏过程中先下降后上升然后再下降,在中果皮中,室温不包薄膜袋果实诺米林含量最高,外果皮中各处理间差异不显著。汁胞中诺米林含量在贮藏第 30 天达到最大值然后下降,以室温包薄膜袋贮藏的果实诺米林含量最高。在贮藏第 30 天,3 种不同贮藏方式汁胞中诺米林含量分别为  $(68.29 \pm 3.60)$ 、 $(54.71 \pm 1.82)$  和  $(53.49 \pm 2.13) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

## 3 讨论

柑橘类果实中主要含有两类苦味物质,一类是黄酮类化合物,以柚皮苷为主。在柑橘果实生长发育过程中,柚皮苷的含量变化随着果实成熟度的增加呈现先升高后下降的趋势且在果实中的分布也极为不均匀(Sun et al, 2005)。沙田柚成熟果实苦味物质主要以柚皮苷为主,主要分布在中果皮和囊衣中,汁胞中含量最少,这与 Sun et al(2005)的结果一致。在贮藏过程中各组织柚皮苷含量起伏波动并逐渐上升,说明柚皮苷等黄酮类化合物可能具有采后合成特性。三种贮藏方式相比,在贮藏后期,经  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温贮藏的果实其外果皮、中果皮和囊衣中柚皮苷含量最低,这可能因为低温抑制了柚皮苷的采后合成。而在果实汁胞中,经  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温贮藏的果实柚皮苷含量上升速度最快,室温包膜的果实上升速度最慢,这可能与植物自身的防御反应为提高生物抗氧化性有关,且环境条件变化越明显其合成速度越快,具体作用机制需要进一步研究。

柑橘类果实中另一类苦味物质是柠檬苦素类化合物,以柠檬苦素和诺米林等为主(眭顺照等, 2008)。柠檬苦素类化合物的产生是以角鲨烯为起始物,在植物体内通过三萜的生物合成途径合成。首先在茎部的筛管中经醋酸和甲羟戊酸合成柠檬苦

素类似物的最初前体物质诺米林,再向叶、果实和种子转运(Nakatani, 2001),诺米林经过柠檬苦素群、宜昌根辛群、卡拉敏群以及醋酸酯类柠檬苦素类似物群4个合成途径最终形成柠檬苦素类化合物(蔡护华和桥永文男,1996)。本研究表明,在成熟沙田柚果实中柠檬苦素和诺米林主要存在种子中,汁胞中含量最低,在贮藏过程中各组织柠檬苦素含量呈现下降趋势。但柠檬苦素在水溶液中的苦味阈值约为 $6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,比柚皮苷的苦味强度高20倍(Kuroyanagi et al, 2008),因此柠檬苦素可能是影响沙田柚口感最主要的苦味成分。

本研究在贮藏第1~30天各处理果实汁胞中柠檬苦素含量急剧上升然后下降,且低温贮藏的果实汁胞中柠檬苦素含量高于室温包膜和不包膜的果实。柑橘果实中存在少量柠檬苦素,但却存在大量的柠檬苦素前体物质-柠檬苦素A环内酯(Breksa et al, 2005),当果实受到迫害时,果汁细胞的细胞质隔膜中的柠檬苦素A环内酯暴露在酸性果汁环境中,同时在柠檬苦素D环内酯水解酶作用下快速转变成柠檬苦素(蔡护华和桥永文男,1996)。因此贮藏前期柠檬苦素含量的增加可能因为果实在离开树体后为适应环境变化进行自身调节,在柠檬苦素D环内酯水解酶作用下合成柠檬苦素,且 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫更能促进柠檬苦素合成与转化,这与丁帆(2010)研究一致。而汁胞中诺米林含量以 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温贮藏的果实最低,可能因为低温环境促进了诺米林作为合成前体向柠檬苦素类似物进行转化。

王壮(2011)研究了不同地理位置柑橘果实柠檬苦素和诺米林的含量,结果表明其主要受温度影响,柠檬苦素含量随温度的升高呈下降趋势,而诺米林则呈上升的变化趋势,这与我们的研究不一致,这可能因为果实在发育和采后过程中苦味物质的作用机制不同。而在外果皮、囊衣和种子中,经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温贮藏的果实柚皮苷和柠檬苦素含量低于室温贮藏,与汁胞中不一致,这可能因为组织中含水量和酸碱度不同,汁胞在环境胁迫下反应更明显,而在其他组织存在着胁迫条件下苦味物质的合成与自然衰老过程中物质降解的一个平衡,也可能存在组织间物质转运,具体原因需要进一步研究。

## 参考文献:

BREKSA AP 3RD, ZUKAS AA, MANNERS GD, 2005. Determi-

nation of limonoate and nomilinoate A-ring lactones in citrus juices by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 1 064: 187-191.

CAI HH, HASHINAGA F, 1996. The prospect and current studies on the limonoids in Citrus [J]. Acta Bot Sin, 38(4): 328-336. [蔡护华, 桥永文男, 1996. 柑橘果实中柠檬苦素类化合物的研究现状与展望 [J]. 植物学报, 38(4): 328-336.]

DING F, LIU B Z, WANG Z, et al, 2010. Effects of different storage temperature on changes of limonin and naringin content in pulp of Satsuma Mandarin [J]. J Huazhong Agric Univ, 29(2): 221-226. [丁帆, 刘宝贞, 王壮, 等, 2010. 贮藏温度对柑橘果肉中柠檬苦素和柚皮苷含量变化的影响 [J]. 华中农业大学学报, 29(2): 221-226.]

HUANG GX, 2005. Study on the integrated techniques of quality improving of shatianyou (*Citrus grandis* Osbeck) [D]. Nanning: Guangxi University. [黄桂香. 2005. 沙田柚品质改良综合技术研究 [D]. 南宁: 广西大学]

KUROYANAGI M, ISHII H, KAWAHARA N, et al, 2008. Flavonoid glycosides and limonoids from Citrus molasses [J]. J Nat Med, 62: 107-111.

LIU JJ, 2006. Study on bitterness mechanism and bitter compounds [J]. Food Sci Technol, 8(3): 21-24. [刘晶晶, 2006. 苦味机理及苦味物质的研究概况 [J]. 食品科技, 8(3): 21-24.]

MORIGUCHI T, KITA M, TOMONO Y, et al, 2001. Gene expression in flavonoid biosynthesis: correlation with flavonoid accumulation in developing citrus fruit [J]. Physiol Plant, 114: 251-258.

NAKATANI M, 2001. Limonoids from Meliaceae and their biological activities. bioactive compounds from natural sources [M]. London: Taylor & Fran: 527-554.

OU SH, LIAO KF, XIAO YH, et al, 2010. The selection of self-pollination pomelo variety "Guiyou 1" [J]. Guangxi Agric Sci, 41(1): 4-6. [区善汉, 廖奎富, 肖远辉, 等, 2010. 自花结果沙田柚品种"桂柚1号"选育初报 [J]. 广西农业科学, 41(1): 4-6.]

SUI SZ, ZANG Q, LUO J, et al, 2008. Molecular cloning and analysis of a novel gene encoding limonoid glucosyl transferase (LGT) in *Citrus maxima* [J]. J Fruit Sci, 25(4): 607-610. [睦顺照, 张倩, 罗江会, 等, 2008. 柚苦味形成相关基因CmLGT的克隆与分析 [J]. 果树学报, 25(4): 607-610.]

SUN CD, CHEN KS, CHEN Y, et al, 2005. Contents and antioxidant capacity of limonin and nomilin in different tissues of citrus fruit of four cultivars during fruit growth and maturation [J]. Food Chem, 93(4): 599-605.

SUN ZG, HUANG XG, JIAO BN, et al, 2005. Studied on the distributing of main bitter components in citrus fruit and the debittering technology of orange juice [J]. Food Sci, 26(6): 146-148. [孙志高, 黄学根, 焦必宁, 等, 2005. 柑橘果实主要苦味成分的分布及橙汁脱苦技术研究 [J]. 食品科学, 26(6): 146-148.]

WANG Z, 2011. Bitterness quality evaluation of fruit from different citrus germplasm resources and Newhall navel orange harvested in different area [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. [王壮. 2011. 不同柑橘种质资源及不同产区纽荷尔脐橙果实苦味品质的评价 [D]. 武汉: 华中农业大学.]

ZHANG KC, 2004. Study progress in bitterness mechanism and bitterness depressant technique [J]. Chin Cond, 309. [张开诚, 2004. 苦味机理与苦味抑制技术研究概况 [J]. 中国调味品, 309.]