

金丝小枣在生长成熟过程中理化特性的变化规律

丁胜华¹, 王蓉蓉^{1,2}, 李高阳¹, 付复华¹, 吕慧英¹, 黄绿红¹

(1. 湖南省农业科学院, 湖南省农产品加工研究所, 湖南长沙 410125)

(2. 湖南农业大学食品科技学院, 湖南长沙 410128)

摘要: 本文研究了6个不同生长成熟期(S1~S6)金丝小枣果实的色泽、叶绿素、可溶性糖及其代谢酶活性、有机酸及氨基酸的动态变化,以明确其代谢规律。研究结果表明:枣果生长成熟过程中,叶绿素含量降低,枣果由绿变红;葡萄糖、果糖均逐步积累,而山梨醇含量逐渐降低,蔗糖则在生长发育初期未被检出,其积累主要发生在枣果成熟后期,且其含量最高,金丝小枣为蔗糖积累型果实,蔗糖磷酸合成酶是蔗糖积累的关键酶;金丝小枣为苹果酸型果实,苹果酸随枣果的成熟而积累,而柠檬酸含量先上升后降低;Pro和Asp在枣果成熟过程中被大量合成,是成熟枣果中最主要的两种氨基酸。全红枣的可溶性总糖、糖酸比以及游离氨基酸总量最高,可作为金丝小枣鲜食的最佳采收时期。

关键词: 枣果; 生长成熟期; 可溶性糖; 蔗糖磷酸合成酶; 有机酸; 氨基酸

文章编号: 1673-9078(2016)9-47-55

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.9.008

Changes in Physicochemical Properties of Jujube (*Zizyphus jujuba*) Fruit

cv. Jinsixiaozao during Growth and Maturity Stages

DING Sheng-hua¹, WANG Rong-rong^{1,2}, LI Gao-yang¹, FU Fu-hua¹, LV Hui-ying¹, HUANG Lv-hong¹

(1. Hunan Agricultural Product Processing Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China)

(2. Hunan Agriculturist University College of Food Science and Technology, Changsha 410128, China)

Abstract: The dynamic changes in color, chlorophylls, soluble sugars, metabolic activity, organic acids, and free amino acids in jujube fruit *cv. jinsixiaozao* during six different growth and maturity stages (S1~S6) were studied in order to understand fruit metabolism. The results indicated that as growth and maturity progressed, the chlorophyll content decreased and the fruit color changed from green into red in jujube fruit. The contents of fructose and glucose gradually increased, while the sorbitol content decreased gradually. Sucrose was not detected at early growth stages, but it accumulated at the late maturity stage and showed the highest content. Jujube fruit *cv. jinsixiaozao* is a sucrose accumulation-type fruit and sucrose phosphate synthase is the key enzyme for accumulating sucrose. Jujube fruit *cv. jinsixiaozao* is also a malic acid-type fruit, malic acid accumulated along with fruit maturation, and the citric acid content showed a declining trend after the initial increase. Asparagine and proline were synthesized in large amounts during fruit maturation, and are the two main amino acids in mature jujube fruits. The total soluble sugars, ratio of sugar to acid, and total free amino acids of jujube fruit at the S6 stage were the highest among all growth stages. So S6 can be considered as the suitable harvest stage for fresh edible jujube fruits *cv. jinsixiaozao*.

Key words: jujube; growth and maturity stage; soluble sugar; sucrose phosphate synthase; organic acid; amino acid

枣(*Zizyphus jujuba* Mill)属于鼠李科枣属植物,分布于亚、欧、美、非、大洋洲的30多个国家,是一种具有很高经济价值的果树。枣果具有很高的营养与功效,是一种天然的药食两用同源的食品。国内外对枣果化学成分的研究表明,枣果含有丰富的糖类、氨基酸、有机酸、维生素C、矿物质、酚类化合物、萜类

收稿日期: 2015-09-08

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目

作者简介: 丁胜华(1985-),男,博士,助理研究员,研究方向: 果蔬加工及贮藏研究

通讯作者: 李高阳,研究员,研究方向: 果蔬加工研究

化合物、环核苷酸等^[1]。

水果生长成熟对果实品质特性的形成起着非常重要的作用。随着果实的生长成熟,果实中发生了一系列的复杂的生化反应,如果胶质的水解、糖和酸的代谢、类胡萝卜素的积累以及酚类化合物变化。Wang等^[2]发现随着枣果成熟,其水溶性果胶和Na₂CO₃溶性果胶含量增加,且果胶链宽度变窄,长度变短。苟茜等^[3]发现随着枣果成熟,枣果的总糖、还原糖、环磷酸腺苷含量逐渐增加,而环磷酸鸟苷含量未发生显著变化。Lu等^[4]研究枣果生长成熟期过程中维生素C、总酚、总黄酮、胡萝卜素以及抗氧化能力等的变化,

并采用测定叶绿素荧光的方法评估了枣果最佳采收时期。Siriamornpun 等^[5]发现绿色枣果果皮与果肉中总酚、总黄酮含量以及抗氧化能力均分别高于成熟枣果果皮与果肉。

金丝小枣核小皮薄,肉质细腻,作为一种鲜食加工两种品种,其种植适应性强,在北京、河北、山东等省市广泛种植。关于枣果在生长成熟过程中抗氧化特性及相关物质的变化已有大量研究,而关于金丝小枣枣果中叶绿素、可溶性糖及其代谢酶活性、有机酸以及氨基酸的变化规律报道较少,因此本文以金丝小枣为研究对象,研究其在生长成熟过程中的叶绿素、可溶性糖及其代谢酶活性、有机酸以及氨基酸的动态变化规律,旨在为金丝小枣的最佳采收期及其资源的高效利用提供基础资料和参考依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

不同生长成熟期的金丝小枣于 2013 年 6 月下旬到 9 月下旬到北京市门头沟区王龙口村枣园采收。从枣树盛花期开始采集枣果样品,每隔 15~18 d 采集样品,每批次约 5 kg,经分级挑选,选择大小均一,色泽基本一致、无机械伤、无病害和无裂纹的枣果作为该批次的样品,一共采集 6 个批次,按照枣果大小与果皮色泽分为 6 个生长成熟期,记为 S1、S2、S3、S4、S5 和 S6 期枣果,如图 1。

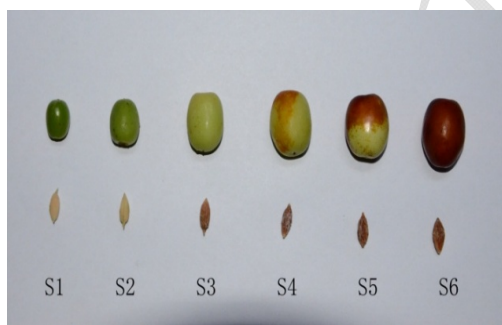


图 1 不同生长成熟期金丝小枣外观图

Fig.1 Changes in the appearance of jujube fruits cv. 'jinsixiaozao' from different growth stages

注: S1~S6 表示 6 个不同生长成熟期枣果。

色谱纯果糖、葡萄糖、蔗糖、山梨醇、柠檬酸、苹果酸、琥珀酸、19 种氨基酸、正亮氨酸、异硫氰酸苯酯(PITC)皆购自 Sigma-Aldrich 上海贸易有限公司;色谱纯乙腈购自 MREDA 公司;其余分析纯购自北京化学试剂厂。

1.2 主要仪器与设备

万分之一分析天平(BT 124S),SARTORIUS 公司; pH 计(PB-10), SARTORIUS 公司; 恒温水浴锅(HH.S11-4),北京长安仪器厂;紫外分光光度计(UV-1800,日本 SHIMADUZU 公司)高效液相色谱(LC-20A),日本 SHIMADUZU 公司;高效液相色谱(2695),美国 WATERS 公司;冷冻干燥机(LGJ-25C),高速冷冻离心机(CR21GIII),日本 HITACHI 公司;旋转蒸发器(R501),上海申顺生物科技有限公司;超声波清洗机(KQ-250DE),昆山市超声仪器有限公司;全自动色差仪(HunterLab Color Quest XE,美国 HunterLab 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 枣果的色泽测定

将枣果去核、切碎,为防止褐变,冰浴环境中将果肉快速碾碎,碾碎的枣果浆用来代表枣果色泽。色泽的测定:采用全自动色差仪(HunterLab Color Quest XE,美国 HunterLab 公司)在反射模式下测定枣果的色泽参数 L^* 、 a^* 和 b^* ,其中:

$$H^{\circ} = \begin{cases} \frac{\arctan \left| \frac{b^*}{a^*} \right|}{\pi} \times 180, & \text{当 } a^* > 0, b > 0 \\ 180 - \frac{\arctan \left| \frac{b^*}{a^*} \right|}{\pi} \times 180, & \text{当 } a^* < 0, b < 0 \end{cases}$$

1.3.2 枣果提取液全波长扫描

提取液制备:不同生长成熟期的枣果去核、收集果肉、切碎,于暗处冰浴研碎磨至浆状。称取 2.0 g 样品于 10 mL 离心管,加入 7.5 mL 80%冷丙酮(在 4 °C 放置 24 h),振荡混匀 2 min 后,于 4 °C 下以 8000 r/min 离心 15 min,收集上清液至 25 mL 棕色容量瓶中,重复上述操作 2 次,合并上清液,定容至 25 mL 棕色容量瓶中,用于全波长扫描与叶绿素含量测定。全波长扫描:以 80%丙酮作为空白对照,调平基线,在 360~720 nm 波长范围内扫描,扫描步长为 0.5 nm,以波长作为横坐标,吸光值作为纵坐标,绘制全波长扫描图。

1.3.3 叶绿素含量的测定

叶绿素测定参照 Teng 和 Chen 报道的方法^[6]。色谱条件:色谱柱:Cosmosil 5C18-AR-II (NACALAI TESQUE, INC., 5 μm, 4.6×250 mm),流动相:乙腈:甲醇:三氯甲烷:正己烷=75:12.5:7.5:7.5 (V/V/V),柱温:30 °C,流速:1 mL/min,等度洗脱,检测波长为 432 nm,进样量 20 μL。叶绿素 a (Chla) 与叶绿素 b (Chlb) 标准品购于 Sigma 公司。外标法进行 Chla 和 Chla 的定量,结果以 100 g 鲜重样品所含毫克数计

($\times 10^{-2}$ mg/g FW)。

1.3.4 可溶性糖含量的测定

可溶性糖的提取:准确称取8.0 g果肉,加入50 mL蒸馏水常温下超声辅助提取(UAE)30 min,于9000 r/min下离心15 min,收集上清液,滤渣重复提取1次,合并滤液,过0.45 μ m水系滤膜,待测。测定:蔗糖、葡萄糖、果糖和山梨醇采用高效液相色谱(HPLC)法进行测定^[7]。HPLC条件:高效液相色谱(德国Knauer仪器有限公司),RI-2301示差检测器,色谱柱:糖柱Sugar Pak¹(4.6 \times 250 mm, 5 μ m)。流动相为50 mg/L的乙二胺四乙酸钙盐溶液,等速洗脱,流速0.5 mL/min,进样量20 μ L,柱温为90 $^{\circ}$ C。外标法进行定量,结果以每克或100 g鲜重样品所含毫克数计。

1.3.5 蔗糖磷酸合成酶、蔗糖合成酶和蔗糖转化酶的测定

粗酶液制备:所有粗酶液的制备参考Moscatello等^[8]的方法。分别称取2.0 g鲜重样品于冰浴的研钵中,分2次共加入6 mL的提取液研磨成匀浆。提取液成分为:100 mM Tris-HCl(pH 7.5)(含10 mM MgCl₂、1 mM DTT、10 mM 抗坏血酸钠、0.1 mM 苯甲基磺酰氟(PMSF)、3% PVPP和0.01% (V/V) Triton X-100)。4 $^{\circ}$ C下12000 r/min离心20 min,收集上清液,置于透析袋中(分子截留量为20000 u),在4 $^{\circ}$ C下(将透析物和磁力搅拌器置于低温层析柜中进行),用其10倍体积的稀释10倍的提取液(去除Triton X-100和PVPP),透析24 h以上,中间换4次透析液,透析后的酶液即可用于酶活性的测定。

蔗糖磷酸合成酶(SPS)的测定:参考Sun等^[9]的方法并做修改。通过测定尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG)生成的蔗糖来定量其活性。将0.4 mL反应液(反应液含50 mM HEPES-NaOH(pH 7.5)、15 mM MgCl₂、1 mM EDTA、10 mM 果糖-6-磷酸(F-6-P)和10 mM 葡萄糖-6-磷酸(G-6-P))、0.1 mL 10 mM UDPG和0.05 mL酶液混合,反应在37 $^{\circ}$ C进行30 min后,加入3% KOH 0.1 mL终止反应,沸水浴10 min,破坏未反应的G-6-P、冷却后,加30% 2.5 mL和0.1%的间苯二酚0.5 mL,80 $^{\circ}$ C保温10 min,冷却,于480 nm处测定吸光值。以蔗糖标准品绘制标准曲线,计算样品蔗糖含量。空白包括底物和缓冲液各组分,在反应起始时加入KOH,其它各步骤同上。SPS活性以每小时每克样品生成微摩尔蔗糖表示[μ mol/(h·g FW)]。

蔗糖合成酶(SS)的测定:通过测定从UDPG生成的蔗糖来定量其活性。分析方法同SPS,但反应中

以10 mM果糖代替6-P-F,且不添加G-6-P。SS活性以每小时每克样品生成微摩尔蔗糖表示[μ mol/(h·g FW)]。

蔗糖转化酶(Ivr)的测定:参考King等^[10]的方法,并做修改。通过测定水解蔗糖产生的还原糖来表示Ivr的活性,还原糖的测定采用3,5-二硝基水杨酸(DNS)法测定。反应体系(0.5 mL),包含300 μ L 0.1 M乙酸-乙酸钠(pH 4.8)(预热),100 μ L酶液,100 μ L 0.1 mol/L蔗糖溶液。在37 $^{\circ}$ C保温30 min后,加入0.5 mL DNS试剂,准确煮沸5 min,迅速冷却,测定A₅₂₀,即可测定蔗糖释放还原糖的量,空白组在反应的起始时加入DNS试剂,其它同上。Ivr活性以每小时每克样品释放微摩尔还原糖表示[μ mol/(h·g FW)]。

1.3.6 有机酸含量的测定

有机酸的提取:同可溶性糖的提取方法。有机酸的测定方法参考Liu等^[7]的方法。液相色谱条件:岛津液相色谱系统,LC-20A泵,SPD-20AV紫外可见检测器,SIL-20A自动进样器,进样量20 μ L,CTO-20A柱温箱,Waters公司SunfireTMC₁₈柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m)和C₁₈保护柱(4.6 mm \times 10 mm)。柱温:30 $^{\circ}$ C,流动相A:0.01 mol/L的KH₂PO₄的磷酸缓冲液(pH 2.55);流动相B:甲醇;采用流动相A:流动相B=97:3 (V/V)等速洗脱,流速为0.5 mL/min,检测波长为210 nm。有机酸含量结果以 $\times 10^{-2}$ mg/g FW计。

表1 分离氨基酸衍生物的洗脱程序

Table 1 Gradient elution program for separating amino acid derivatives

时间/min	流动相 A	流动相 B
0	100	0
4	100	0
4.01	97	3
8	97	3
8.01	89	11
17	89	11
17.01	79	21
30	79	21
30.01	66	34
34	66	34
34.01	0	100
45	0	100
45.01	100	0
50	100	0

1.3.7 氨基酸的测定

(1) 游离氨基酸(FAA)的提取:准确称取6.0 g,置于50 mL离心管,加入80%甲醇水溶液25 mL,

常温 UAE 30 min, 4 °C 下 10000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 滤渣重复提取 2 次, 合并上清液, 用 80% 甲醇定容至 100 mL, 取 30 mL 提取液于 35 °C 旋转蒸发浓缩 10 倍, 过 0.45 μm 有机滤膜, 备用。

(2) FAA 的测定: 采用天津博纳艾杰尔公司提供的异硫氰酸乙腈 (PITC) 柱前衍生化反相 HPLC 法测定。流动相配制: 流动相 A, 称取 15.2 g 无水醋酸钠, 加去离子水 1850 mL, 溶解后用冰醋酸调 pH 至 6.5, 然后加乙腈 140 mL, 混匀, 用 0.45 μm 滤膜过滤。流动相 B, 80% 乙腈水溶液 (乙腈:超纯水=80:20, V/V)。氨基酸衍生: 准确量取氨基酸标准溶液或样品 200 μL, 分别置于 1 mL 离心管中, 往每个离心管中准确加入 20 μL 正亮氨酸 (1 mg/mL), 后加入 1 mol/L 三乙胺乙腈溶液 100 μL, 0.1 mol/L PITC 乙腈溶液 100 μL, 振荡混匀, 室温避光放置 1 h, 然后加入正己烷 400 μL, 振荡后避光放置 10 min, 取下层液, 过 0.45 μm 水系膜, 待测。HPLC-PDA 检测方法: 色谱柱为 Venusil

AA 柱子 (250×4.6 mm, 5 μm), 柱温 42 °C, 进样量 3 μL, 检测波长为 254 nm。洗脱程序见表 1。标准曲线的制作以及样品测定: 采用 0.1 mol/L 盐酸溶液配制 1 mg/mL 的 19 种氨基酸混标储备液。将贮备液用 0.1 mol/L 的盐酸稀释得到不同浓度 19 种氨基酸的混标溶液。用 0.1 M HCl 溶液将正亮氨酸制成 1 mg/mL 内标溶液。按上述氨基酸衍生方法和洗脱方法测定不同浓度氨基酸衍生物的峰面积与内标衍生物的峰面积, 并采用内标法绘制 19 种氨基酸的标准曲线。样品采用内标法进行定量, 样品中的 FAA 含量以 $\times 10^{-2}$ mg/g FW 计。

1.4 数据统计与分析

采用 Origin 8.0 统计分析实验数据, 计算标准偏差; 数据结果以平均值±标准差表示; 并进行单因素方差分析, 采用 *t* 检验, 显著水平 *p* 为 0.05, 当 *p*<0.05 时, 表示差异显著。

表 2 不同生长成熟期金丝小枣颜色的变化

Table 2 Color of jujube fruits cv. *Jinsixiaozao* from different growth stages

生长成熟期	L^*	a^*	b^*	H^0
S1	48.87±1.11 ^{bc}	-7.92±0.38 ^a	13.94±0.58 ^d	119.57±4.38 ^a
S2	49.88±0.46 ^b	-7.11±0.39 ^b	16.27±1.24 ^c	113.57±4.02 ^{ab}
S3	52.19±0.44 ^a	-5.67±0.43 ^c	16.39±0.86 ^c	109.05±3.14 ^{bc}
S4	47.35±0.80 ^c	-4.67±0.41 ^d	18.6±0.73 ^b	104.06±2.13 ^{cd}
S5	45.29±1.81 ^d	-2.70±0.30 ^e	20.36±1.13 ^{ab}	97.51±3.85 ^d
S6	40.79±0.90 ^e	1.19±0.38 ^f	21.42±1.05 ^a	86.86±2.32 ^e

注: 同一类指标进行单因素方差分析多重比较, *t* 检验; 表中不同字母表示有显著差异 (*p*<0.05)。

2 结果与讨论

2.1 不同生长成熟期金丝小枣色泽的变化

表 2 是不同生长成熟期枣果的色泽参数变化。从表 2 可知, 随着金丝小枣生长成熟, 枣果 L^* 值呈先上升后下降的趋势, L^* 值从 S1 期的 48.87 增至 S3 期的 52.19, 然后逐渐降低至 S6 期的 40.79。枣果的 a^* 值和 b^* 值在枣果生长成熟过程中均呈逐渐上升的趋势, 其中 a^* 值和 b^* 值分别从 S1 期 -7.92 和 13.94 的显著增至 S6 期的 1.19 和 21.42 (*p*<0.05)。 a^* 值增大表明: 枣果绿色逐渐消失, 红色增加, 分析其可能的原因枣果含有呈现绿色的叶绿素类物质, 而随着枣果成熟, 叶绿素物质逐渐降解。 b^* 值增大表明: 枣果颜色随生长成熟逐渐色泽变黄, 其可能的原因是叶绿素在生长成熟过程中被逐渐降解, 绿色逐渐消失后, 原来被叶绿素所掩盖的类胡萝卜素、花色素的颜色被显现出来。枣果的 H^0 值则随枣果的生长成熟均呈逐渐下降的趋势,

从 S1 期的 119.57 降至 S6 期的 86.86, 且 S1-S5 期枣果 H^0 值不存在差异显著 (*p*>0.05), 而其它期枣果间存在显著差异 (*p*<0.05)。

2.2 不同生长成熟期金丝小枣提取液全波长变化

图 2 是不同生长成熟期金丝小枣 80% 丙酮提取液全波长变化。由图 2 可知, 不同生长成熟期枣果提取液在扫描波长范围出现了 3 个主要光谱吸收峰 (峰 1, 峰 2 和峰 3), 波长段分别为 425~455 nm、460~469 nm 和 636~690 nm, 各个峰的最大吸收波长分别为 431 nm、440 nm 和 662 nm。分析峰 1 和峰 3 发现其最大吸收波长即为 Chla 的特征吸收波长 (431 nm 和 662 nm), 峰 3 还包含了 Chlb 的其中一个特征吸收波长 (645 nm), 而峰 2 则包括了 Chlb 另外一个特征吸收波长 (456 nm), 因此判断枣果 (S1~S4 期) 80% 丙酮提取液中含有叶绿素成分。另外, 不同生长成熟期的

枣果提取液的3个光谱吸收峰的峰高和峰宽均存在差异,枣果越成熟,其3个光谱吸收峰的峰高越低,峰宽越窄,即光谱吸收愈弱,表明随着金丝小枣枣果生长成熟,叶绿素组分发生降解含量降低,枣果由绿变红。

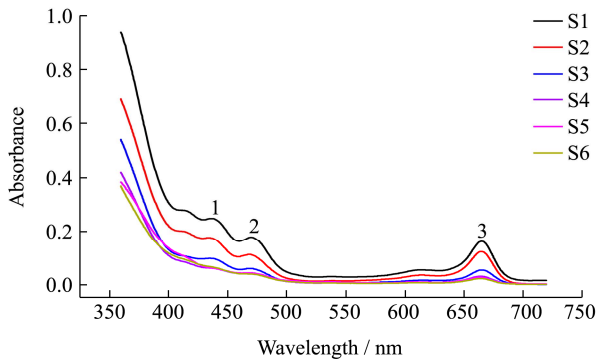


图2 不同生长成熟期金丝小枣丙酮提取液的全波长扫描图
Fig.2 Full wavelength scanning of acetone extracts from jujube fruits cv. jinsixiaozao at different growth stages

2.3 不同生长成熟期金丝小枣叶绿素的变化

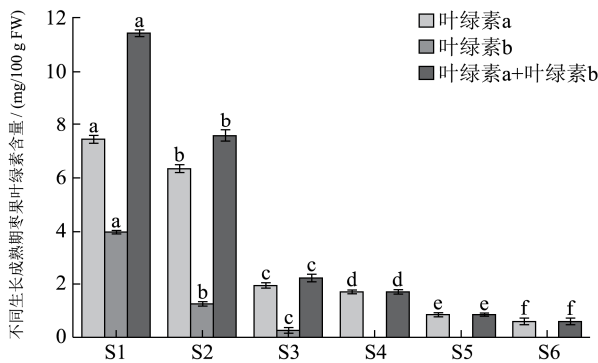


图3 不同成熟度金丝小枣 Chla、Chlb 和 Chla+Chlb 含量的变化

Fig.3 Changes of the chlorophyll a, chlorophyll b, and (chlorophyll a + chlorophyll b) contents in jujube fruits cv. 'jinsixiaozao' from different growth stages

注:同一类指标进行单因素方差分析;图中不同字母表示有显著,差异($p < 0.05$),ND表示未检出。

图3为金丝小枣中Chla、Chlb和Chla+Chlb含量随生长成熟期的动态变化。从图3中可知,金丝小枣中Chla、Chlb和Chla+Chlb含量随枣果的生长成熟均呈下降趋势,且不同生长成熟期枣果中Chla、Chlb以及Chla+Chlb含量均分别存在显著差异($p < 0.05$),这与表2关于不同生长成熟期枣果色泽变化以及图2关于枣果全波长扫描结果相吻合。在枣果生长成熟过程中,其Chla含量始终高于Chlb,表明Chla是枣果的主要叶绿素。不同生长成熟期之间叶绿素的下降速率也存在差异。从S1~S2期,Chla含量从 $7.45 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$

FW降至 $6.32 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$ FW,而S3期枣果的Chla含量迅速降至 $1.93 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$ FW;从S4~S6期,Chla含量缓慢降至 $0.60 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$ FW。从S1~S3期,枣果中Chlb从 $3.95 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$ FW迅速降至 $0.26 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$ FW,而S4~S6枣果均未检出Chlb。从S1~S3期,Chla+Chlb含量从 $11.40 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$ FW降至 $2.20 \times 10^{-2} \text{ mg/g}$ FW,下降了80.70%。

2.4 不同生长成熟期金丝小枣可溶性糖的变化

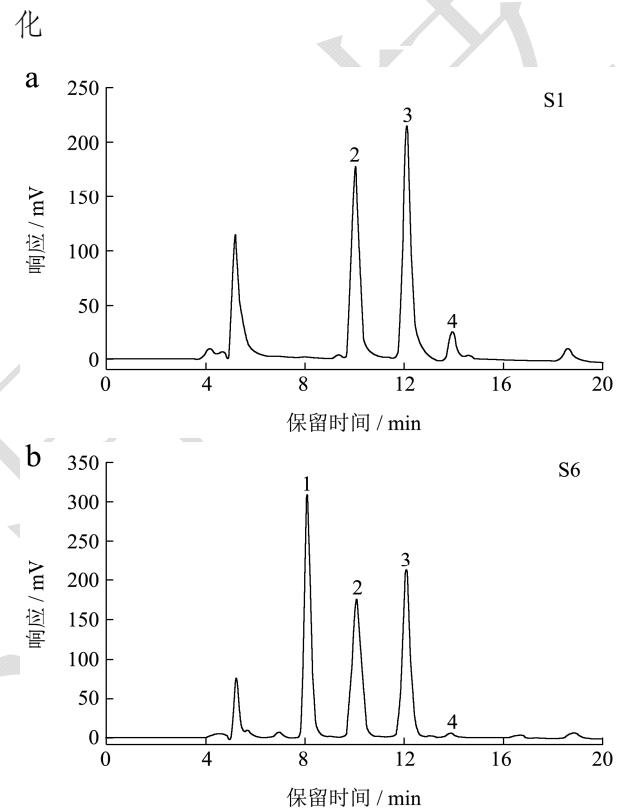


图4 S1期(a)和S6期(b)枣果水提液的液相色谱图

Fig.4 HPLC chromatograms of water extracts from the jujube fruits at stages S1 and S6

注:色谱峰1,蔗糖;色谱峰2,果糖;色谱峰3,葡萄糖;色谱峰4,山梨醇。

通过比较可溶性糖标准物质与枣果水提物的保留时间,发现S1和S2期枣果检出葡萄糖、果糖和山梨醇,未检出蔗糖;而其余枣果均检出上述4种可溶性糖(图4)。

从表3可知,在金丝小枣整个生长成熟过程中,葡萄糖和果糖含量整体呈上升趋势,其中S4与S5期枣果果糖和葡萄糖含量分别不存在显著差异($p > 0.05$),其余生长成熟期枣果的果糖和葡萄糖含量均分别存在显著差异($p < 0.05$)。与S1期相比,S6期枣果的葡萄糖和果糖含量分别是S1期的4.41和4.00倍。枣果从S3期开始检出蔗糖,其含量从8.97 mg/g

FW(S1 期)显著增至 95.17 mg/g FW(S6 期)($p<0.05$)。在金丝小枣的生长成熟过程中,山梨醇含量呈逐渐下降趋势,从 S1 期的 225.36×10^{-2} mg/g FW 显著降至 S6 期的 99.80×10^{-2} mg/g FW ($p<0.05$)。与前人文献相比,对金丝小枣可溶性糖组分及含量存在一定差异。Li 等^[11]报道了金丝小枣可溶性糖种类及含量,其中果糖、葡萄糖、鼠李糖、山梨醇和蔗糖的含量分别为 19.1%、22.5%、12.2%、2.1%和 14.1%。而本文涉及的枣果均未检出鼠李糖。分析可能的原因是原料与提取可溶性

糖的方法不同导致可溶性糖组分和含量的差异。虽均以金丝小枣为原料,Li 等^[11]所使用的原料为经太阳晒干的干枣,而本文枣果未经干制处理;Li 等^[11]提取可溶性糖时,采用去脂、多级醇提、浓缩、去蛋白、醇提、热风干燥复杂流程,提取物最后经衍生进气相色谱分析,本文采用去离子水常温下 UAE 得到可溶性糖。鼠李糖是金丝小枣果胶多糖的重要中性单糖,金丝小枣的果胶果糖可能在晒干过程中发生了降解。

表 3 不同生长成熟期金丝小枣蔗糖、果糖、葡萄糖、山梨醇和总可溶性糖的含量

Table 3 Changes in the contents of sucrose, fructose, glucose, sorbitol, and total soluble sugars in jujube fruits cv. *jinsixiaozao* from different growth stages

生长成熟期	蔗糖/(mg/g FW)	葡萄糖/(mg/g FW)	果糖/(mg/g FW)	山梨醇 $\times 10^{-2}$ /(mg/g FW)	总可溶性糖 $\times 10^{-2}$ /(g/g FW)
S1	ND	17.38 \pm 0.63 ^e	20.12 \pm 1.31 ^e	225.36 \pm 14.67 ^a	3.97 \pm 0.17 ^f
S2	ND	21.02 \pm 0.57 ^d	24.49 \pm 0.70 ^d	173.86 \pm 10.45 ^b	4.72 \pm 0.14 ^e
S3	8.97 \pm 0.94 ^d	25.10 \pm 1.16 ^c	30.22 \pm 1.76 ^c	153.38 \pm 19.63 ^{bc}	6.58 \pm 0.33 ^d
S4	49.95 \pm 2.58 ^c	47.51 \pm 2.82 ^b	51.07 \pm 2.31 ^b	146.28 \pm 33.59 ^{bc}	15.00 \pm 0.76 ^c
S5	77.84 \pm 3.13 ^b	49.69 \pm 1.73 ^b	54.04 \pm 1.47 ^b	130.98 \pm 5.55 ^{cd}	18.29 \pm 0.61 ^b
S6	95.17 \pm 3.11 ^a	76.81 \pm 2.01 ^a	80.53 \pm 1.23 ^a	99.80 \pm 8.88 ^d	25.35 \pm 0.47 ^a

注:表中不同字母表示有显著差异($p<0.05$),ND 表示未检出。

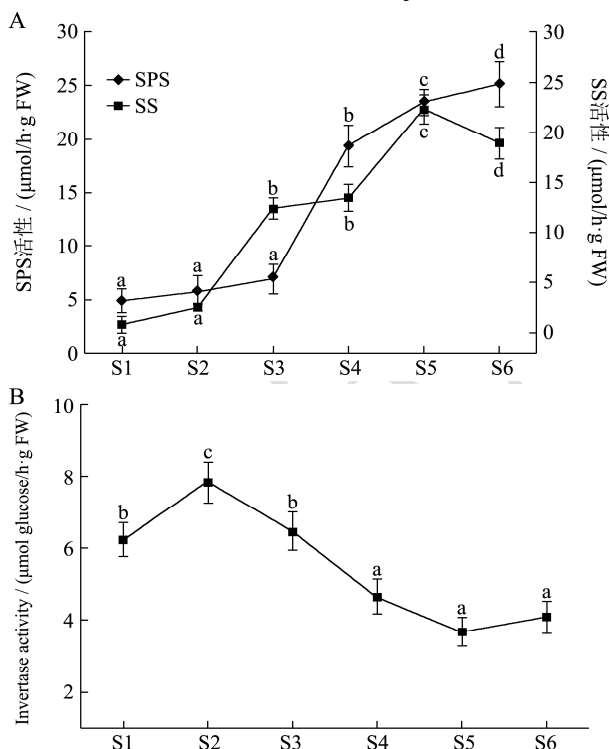


图 5 不同生长成熟期金丝小枣 SPS、SS (A) 和 Ivr (B) 活性的变化

Fig.5 Changes of SPS, SS, (A) and Ivr (B) activities in jujube fruits cv. *jinsixiaozao* from different growth stages

2.5 不同生长成熟期金丝小枣 SS、SPS 和 Ivr

活性的变化

糖是果实重要的品质指标之一,枣果成熟过程中一个显著的特点就是糖的积累。植物体内与蔗糖代谢和积累密切相关的酶主要包括 SPS、SS 和 Ivr。图 5 为金丝小枣生长成熟过程中枣果中 SPS、SS 和 Ivr 活性变化。从图 5 (A) 可以看出,在金丝小枣整个生长成熟过程中,SPS 活性呈上升趋势;其中在枣果生长初期(S1~S3 期),SPS 活性未发生显著变化($p>0.05$),而从 S3~S4 期,SPS 活性从 $6.86 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ 显著增至 $19.37 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ ($p<0.05$);此后则保持逐渐增加的趋势,在 S6 期,枣果的 SPS 活性达到最大。在 S1~S2 期,SS 同样维持较低的活性,并未发生显著变化($p>0.05$);而到 S3 期,SS 活性显著增大($p<0.05$),在此阶段,SS 活性比 SPS 活性高;从 S3~S4 期,SS 维持比较高的活性,但未发现显著变化($p>0.05$);SS 在 S5 期达到其峰值,为 $22.32 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$,此时其活性接近 SPS 活性,而此后 SS 活性开始下降。SPS 活性变化与蔗糖积累趋势相同,并且,除 S3 期外,其余生长成熟期枣果中 SPS 活性均高于 SS 活性,这说明 SPS 对调节金丝小枣枣果的蔗糖积累更为关键。从如图 5 (B) 可以知,在金丝小枣生长成熟过程中,枣果中 Ivr 活性呈先上升后下降的趋势。从 S1~S2 期,Ivr 活性从 $6.19 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ 显著增至 $7.82 \mu\text{mol}/(\text{h}\cdot\text{g FW})$ ($p<0.05$),并达到峰值;此后,则呈现逐渐下降的趋势,并维持较低的活性水平。在枣果生长初期,枣果中 Ivr 活性较高,说明此阶段枣果中的蔗糖在 Ivr

的作用下转化为单糖，主要以积累单糖为主；而在成熟后期，Ivr 活性较低，说明此阶段枣果中的蔗糖水解被抑制，而使在 SPS 的作用下合成蔗糖，这与枣果中果糖、葡萄糖以及蔗糖的变化相佐证。

2.6 不同生长成熟期金丝小枣有机酸含量以及糖酸比的变化

表 4 是不同生长成熟期金丝小枣有机酸含量与糖酸比的变化。从表 4 可知，金丝小枣在整个生长成熟过程中，均检出苹果酸、柠檬酸和琥珀酸。随着枣果生长成熟，苹果酸和琥珀酸呈现相似的变化趋势。其中苹果酸随着生长成熟期变化其含量逐渐增加，从 S1 期的 269.03×10^{-2} mg/g FW 增至 S6 期的 860.58×10^{-2} mg/g FW；琥珀酸则随着生长成熟期变化其含量也呈

现逐渐增加的趋势，从 S1 期的 166.44×10^{-2} mg/g FW 增至 S6 期的 737.60×10^{-2} mg/g FW；而柠檬酸则呈先上升后下降的趋势，从 960.46×10^{-2} mg/g FW 增至 1017.87×10^{-2} mg/g FW (S1~S2)，然后逐渐降至 124.12×10^{-2} mg/g FW (S2~S6 期)。金丝小枣总有机酸含量在生长成熟过程中呈现一定的波动，其中 S4 期总有机酸含量最低，显著低于其余各生长成熟期 ($p < 0.05$)，而 S6 期的总有机酸含量最高，显著高于其余各生长成熟期。糖酸比作为果实品质的一个重要指标，其变化可作为采收的重要依据。从表 4 中可知，枣果在 S1~S2 期，糖酸比较低且未发生显著变化 ($p > 0.05$)，而 S3~S6 期，糖酸比显著增加 ($p < 0.05$)，其中 S6 期糖酸比是 S1 期的 5.16 倍。考虑到枣果口感与风味，S6 期可作为金丝小枣鲜食的最佳采收期。

表 4 不同生长成熟期金丝小枣枣果有机酸含量和糖酸比变化

Table 4 Changes in ratio of sugar to acid and the contents of malic acid, citric acid, succinic acid, and total organic acids in jujube fruits cv. jinsixiaozao from different growth stages

生长成熟期	有机酸 $\times 10^{-2}$ (mg/g FW)				糖酸比
	苹果酸	柠檬酸	琥珀酸	总量	
S1	269.03±18.61 ^e	960.46±64.98 ^a	166.44±20.40 ^e	1395.93±86.70 ^{cd}	2.85±0.18 ^e
S2	292.25±16.10 ^e	1017.87±43.81 ^a	223.60±27.80 ^d	1533.71±16.00 ^b	3.08±0.08 ^e
S3	347.43±16.32 ^d	677.09±25.43 ^b	293.81±17.38 ^{ce}	1318.33±44.88 ^d	5.01±0.41 ^d
S4	486.92±11.52 ^c	235.20±2.07 ^c	568.03±31.89 ^{bd}	1290.15±27.72 ^e	11.62±0.45 ^c
S5	616.10±30.52 ^b	16157±14.40 ^d	702.75±23.99 ^a	1480.42±13.05 ^{bc}	12.37±0.69 ^b
S6	860.58±21.79 ^a	124.12±1.43 ^d	737.60±5.21 ^a	1722.31±22.42 ^a	14.72±0.39 ^a

注：表中不同字母表示有显著差异 ($p < 0.05$)。

2.7 不同生长成熟期金丝小枣 FAA 的变化

本文采用柱前衍生结合 HPLC 的方法测定样品中的氨基酸，19 种氨基酸标准品与枣果提取物 (S3) 经衍生后的 HPLC 色谱图如图 6 所示。对照标准品的保留时间，发现 S1、S2 检出 17 种 FAA，S3 检出 18 种 FAA，S5 检出 15 种 FAA，S4 和 S6 均检出 16 种 FAA。

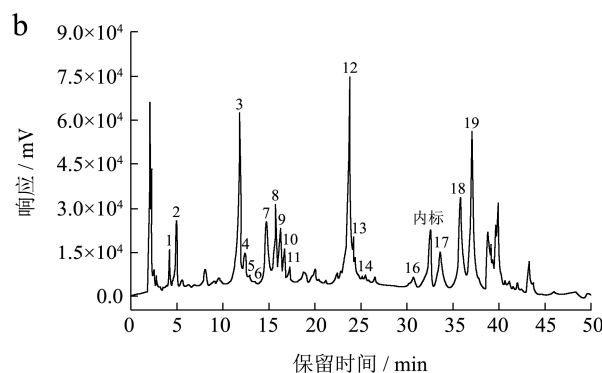
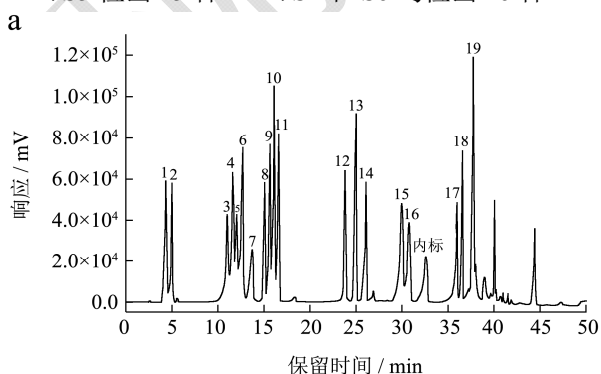


图 6 氨基酸混合标准品 (a) 衍生物和枣果 (S3) 提取物 (b) 衍生物的 HPLC 色谱图

Fig. 6 HPLC chromatograms of the derivatives of 19 amino acid standards (0.25 mg/mL) (a) and jujube (S3) extracts (b)

注：图中 1-Asn, 2-Glu, 3-Asp, 4-Gln, 5-Ser, 6-Gly, 7-His, 8-Arg, 9-Thr, 10-Ala, 11-Pro, 12-Tyr, 13-Val, 14-Met, 15-Ile, 16-Leu, 17-Phe, 18-Trp, 19-Lys, 内标-Neu。

表5 不同生长成熟期金丝小枣游离氨基酸含量

Table 5 Changes of free amino acid (FAA) contents in jujube fruits *cv. jinsixiaozao* from various growth stages

FAA	不同生长成熟期枣果 FAA 含量×10 ⁻² /(mg/g FW)					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Asn	6.92±0.91 ^e	7.97±0.42 ^d	10.45±1.47 ^c	16.79±2.63 ^a	11.51±0.32 ^c	13.25±0.67 ^b
Glu	11.42±0.74 ^a	12.27±0.57 ^a	5.81±1.30 ^b	12.90±1.11 ^a	12.05±0.36 ^a	12.09±0.70 ^a
Asp	36.12±2.71 ^e	85.18±9.04 ^d	101.38±9.83 ^c	192.67±4.84 ^a	172.92±4.40 ^b	181.66±35.73 ^{ab}
Gln	4.16±0.26 ^a	4.75±0.21 ^a	5.37±0.91 ^a	0.52±0.04 ^b	ND	ND
Ser	1.17±0.82 ^b	2.18±0.56 ^b	3.66±0.32 ^a	ND	0.37±0.07 ^c	0.16±0.08 ^d
Gly	1.07±0.06 ^a	1.11±0.01 ^a	0.37±0.18 ^b	ND	ND	ND
His	11.04±0.30 ^a	3.30±0.22 ^b	3.90±0.74 ^b	2.51±0.07 ^c	ND	0.75±0.27 ^d
Arg	1.64±0.16 ^d	10.79±0.64 ^b	6.20±0.28 ^c	15.30±0.08 ^a	1.30±0.13 ^d	11.90±2.67 ^b
Thr	13.11±0.59 ^b	11.04±0.65 ^c	8.62±1.02 ^e	17.30±0.28 ^a	9.27±0.42 ^d	7.09±0.69 ^c
Ala	4.92±0.32 ^e	5.88±0.39 ^d	16.00±2.76 ^a	8.62±0.18 ^b	6.91±0.18 ^c	ND
Pro	4.39±0.29 ^e	4.12±0.20 ^e	21.26±2.84 ^d	343.98±22.7 ^c	620.50±46.6 ^b	951.71±75.42 ^a
Tyr	5.71±0.16 ^b	5.87±0.77 ^b	2.64±0.50 ^c	1.59±0.06 ^d	8.28±0.61 ^a	0.94±0.03 ^e
Val	1.51±0.07 ^c	1.78±0.19 ^b	0.90±0.11 ^d	1.80±0.21 ^b	0.78±0.07 ^d	2.91±0.22 ^a
Met	1.97±0.16 ^a	2.31±0.28 ^a	1.74±0.28 ^a	2.18±0.22 ^a	1.72±0.05 ^b	1.56±0.01 ^c
Ile	ND	ND	0.36±0.06 ^a	0.41±0.06 ^a	0.38±0.04 ^a	0.34±0.14 ^a
Leu	ND	ND	ND	ND	ND	0.45±0.17
Phe	2.00±0.13 ^d	9.19±0.78 ^{ab}	3.80±0.30 ^c	10.16±0.45 ^a	2.92±0.86 ^{cd}	8.71±0.50 ^b
Trp	5.32±1.61 ^d	10.25±0.22 ^a	6.69±0.87 ^c	9.87±0.19 ^a	8.85±0.26 ^b	1.50±0.23 ^e
Lys	3.63±0.15 ^e	6.38±0.31 ^d	10.07±0.09 ^b	14.36±0.81 ^a	15.05±0.26 ^a	8.27±0.54 ^c
TFAA	141.34±7.21 ^e	232.68±17.56 ^d	209.04±15.30 ^d	650.99±42.17 ^c	872.83±65.2 ^b	1214.81±89.98 ^a

注：同一类指标进行单因素方差分析，表中不同字母表示有显著差异 ($p < 0.05$)；TFAA: total free amino acids, 游离氨基酸总量；ND 表示未检出。

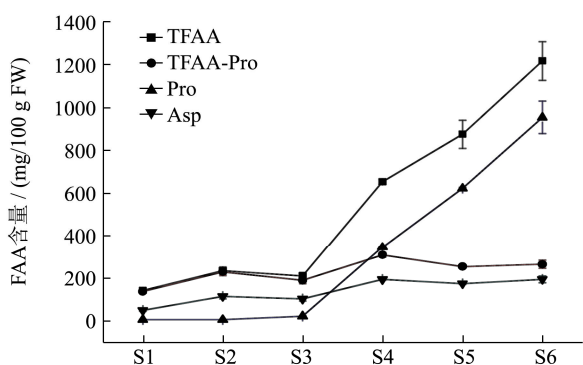


图7 不同生长成熟期金丝小枣 TFAA、(TFAA-Pro)、Pro 和 Asp 含量

Fig.7 Changes of TFAA, (TFAA-Pro), Pro, and Asp contents in jujube fruits *cv. jinsixiaozao* from different growth stages

表 5 为不同生长成熟期金丝小枣枣果中 19 种 FAA 及总游离氨基酸 (TFAA) 量的变化。由表 5 可知, 随着枣果的生长成熟, 从 S1~S2 期, TFAA 含量显著增加 ($p < 0.05$), S2 和 S3 期 TFAA 含量不存在显著差异 ($p < 0.05$); 而从 S3~S6 期, TFAA 含量显著增加 ($p < 0.05$), 并在 S6 期达到最高, 是 S1 期的 8.6 倍。

比较各生长成熟期枣果 FAA 含量, 发现天冬氨酸 (Asp) 在 S1~S3 期枣果中含量最高, 而 S4~S6 期枣果中脯氨酸 (Pro) 最高, 其次是 Asp。这与张艳红等^[12]在分析 3 种成熟枣果 (若羌红枣、新郑红枣与哈密红枣) 中氨基酸组成与含量结果类似: Pro 含量最高, Asp 次之。枣果中 Asp 和 Pro 含量在生长成熟过程中整体呈上升趋势, 其中 S4 期枣果 Asp 含量达到最高值 (图 7), 是 S1 期的 5.33 倍; 而 Pro 在 S1 与 S2 期枣果中含量很低, 未发生显著变化 ($p > 0.05$); 但从 S3 期开始, Pro 含量显著增加 ($p < 0.05$), 其中 S6 期枣果中 Pro 含量是 S1 期枣果的 216.8 倍。另外, 枣果 S1~S3 期枣果中 TFAA 的增加主要来自于 Asp 含量的增加; 而 S4~S6 期, 枣果中 TFAA 含量增加的主要贡献来自于 Pro 含量的增加 (图 7)。

Pro 作为植物蛋白质的组分之一, 也可以游离态广泛存在于植物体中。在高盐、干旱或低温等逆境胁迫下, 植物体内游离 Pro 含量急剧上升, 可比原始含量增加几十倍到几百倍^[13]。枣树被认为耐盐碱的植物, 可在其它多种果树不能正常生长的盐碱土上正常

生长,被认为是开发盐碱地的优良树种,因此枣树在生长发育过程中通常受到过高土壤含盐量的胁迫^[14]。另外,文献还报道 Pro 具有螯合单线态氧、高效地清除羟自由基,从而稳定蛋白质、DNA 和膜组织的作用^[15]。枣果的生长成熟过程,同时也是一个衰老过程,枣果中产生大量的 Pro 有利于螯合和清除枣果成熟衰老过程中产生的单线态氧和羟基自由基。另外, S1~S5 期枣果均未检出亮氨酸 (Leu),仅在 S6 期枣果中有少量检出 (0.004 mg/g FW)。S4~S6 期枣果还为检测到甘氨酸 (Gly); S1 和 S2 期枣果也未检测到异亮氨酸 (Ile)。

3 结论

金丝小枣在生长成熟过程中,枣果叶绿素含量降低,色泽由绿变红;葡萄糖、果糖均逐步积累,而山梨醇含量逐渐降低,蔗糖积累主要发生在枣果成熟后期,且含量最高,金丝小枣为蔗糖积累型果实,SPS 是蔗糖积累的关键酶;金丝小枣为苹果酸型果实,苹果酸随枣果的成熟而积累,而柠檬酸含量先上升后降低;Pro 和 Asp 在枣果成熟过程中被大量合成,是成熟枣果中最主要的两种氨基酸;全红枣的可溶性总糖、糖酸比以及游离氨基酸总量最高,可作为金丝小枣鲜食的最佳采收时期。

参考文献

- [1] Gao Q H, Wu C S, Wang M. The jujube (*Zizyphus Jujuba* Mill.) fruit: A review of current knowledge of fruit composition and health benefits [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(14): 3351-3363
- [2] Wang H J, Chen F S, Yang H S, et al. Effects of ripening stage and cultivar on physicochemical properties and pectin nanostructures of jujubes [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 89(4): 1180-1188
- [3] 苟茜,王敏,冀晓龙,等.不同成熟度灵武长枣食用及营养品质研究[J].现代食品科技,2014,30(11):98-104
- [4] GOU Qian, WANG Min, JI Xiao-long, et al. Dietary and nutritional properties of Lingwu long jujube at various stages of maturation [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(11): 98-104
- [5] Lu H F, Lou H Q, Zheng H, et al. Nondestructive evaluation of quality changes and the optimum time for harvesting during Jujube (*Zizyphus jujuba* Mill. cv. Changhong) fruits development [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 5(6): 2586-2595
- [6] Siriamompun S, Weerapreeyakul N, Barusrux S. Bioactive compounds and health implications are better for green jujube fruit than for ripe fruit [J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 12: 246-255
- [7] Teng S S, Chen B H. Formation of pyrochlorophylls and their derivatives in spinach leaves during heating [J]. *Food Chemistry*, 1999, 65(3): 367-373
- [8] Liu F, Fu S, Bi X, et al. Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China [J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(1): 396-405
- [9] Moscatello S, Famiani F, Proietti S, et al. Sucrose synthase dominates carbohydrate metabolism and relative growth rate in growing kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cv *Hayward*) [J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 128(3): 197-205
- [10] Sun Z, Li Y, Zhou J, et al. Effects of exogenous nitric oxide on contents of soluble sugars and related enzyme activities in 'Feicheng' peach fruit [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(10): 1795-1800
- [11] King S, Lunn J, Furbank R. Carbohydrate content and enzyme metabolism in developing canola siliques [J]. *Plant Physiology*, 1997, 114(1):153-160
- [12] Li J W, Fan L P, Ding S D, et al. Nutritional composition of five cultivars of Chinese jujube [J]. *Food Chemistry*, 2007, 103(2): 454-460
- [13] 张艳红,陈兆慧,王德萍,等.红枣中氨基酸和矿质元素含量的测定[J].食品科学,2008,29(1):263-266
- [14] ZHANG Yan-hong, CHEN Zhao-hui, WANG De-ping, et al. Determination of amino acids and mineral elements content in *Zizyphus jujuba* [J]. *Food Science*, 2008, 29(1): 263-266
- [15] Hare P D, Cress W A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants [J]. *Plant Growth Regulation*, 1997, 21(2): 79-102
- [16] 徐呈祥,马艳萍,徐锡增.15个枣树品种耐盐性研究[J].广东农业科学,2011,16:31-32
- [17] XU Cheng-xiang, MA Yan-ping, XU Xi-zeng. Study on the salt tolerance of 15 jujube tree cultivars [J]. *Guangdong Agricultural Science*, 2011, 16: 31-32
- [18] Matsysik J O R, Bhalu B, Mohanty P, et al. Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants [J]. *Current Science*, 2002, 82(5): 525-532