

不同核桃品种内种皮苦涩味物质差异分析

刘雨霞¹, 田鑫², 杨笑¹, 张小军¹, 段国锋¹, 刘群龙^{1*}

(¹山西农业大学园艺学院, 山西晋中 030801; ²山西农业大学果树研究所, 太原 030031)

摘要:【目的】比较不同程度苦涩味核桃品种内种皮苦涩味物质的差异, 寻找核桃内种皮的主要苦涩味物质, 发掘苦涩味轻的品种。【方法】以‘中林3号’‘京861’‘香玲’‘薄壳香’和‘农核1号’5个核桃品种的内种皮为试验材料, 测定了总单宁、酚酸类组分、黄酮类组分和生物碱组分等苦涩味物质的含量, 并进行了相关性和主成分分析。【结果】总单宁含量以‘中林3号’最高, ‘农核1号’最低, 其他3个品种居中。在酚酸类组分含量上, ‘中林3号’显著高于其他品种, 其中没食子酸的含量最多。黄酮类组分含量, ‘中林3号’和‘京861’显著高于其他品种, 其中儿茶素的含量最多。生物碱组分含量, ‘中林3号’和‘薄壳香’显著高于其他品种, ‘农核1号’最低, 其中咖啡碱含量最多。相关性分析发现所有苦涩味物质与苦味、涩味之间均呈正相关, 没食子儿茶素与苦味呈极显著正相关, 对香豆酸、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯与苦味呈显著正相关, 总单宁、表儿茶素与涩味呈显著正相关。从主成分分析的结果可以看出所有苦涩味物质对第1主成分均有贡献, 按第1主成分得分排序可分为苦涩味较轻和较重两大类。【结论】总单宁、绿原酸、表儿茶素和表没食子儿茶素没食子酸酯等是影响核桃内种皮苦涩味的主要物质, 这为改善核桃内种皮口感品质和筛选低苦涩味的核桃品种等提供了参考。

关键词: 核桃; 内种皮; 单宁; 儿茶素; 生物碱

中图分类号: S664.1

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2021)02-0222-09

Analysis of the differences in bitter and astringent substances in the pellicle of different walnut varieties

LIU Yuxia¹, TIAN Xin², YANG Xiao¹, ZHANG Xiaojun¹, DUAN Guofeng¹, LIU Qunlong^{1*}

(¹College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Jinzhong 030801, Shanxi, China; ²Fruit Research Institute, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031, Shanxi, China)

Abstract: 【Objective】The pellicle is the key part that causes the bitter and astringent taste of walnut kernels. In order to find out the main bitter and astringent substances in walnut pellicle and find varieties with light bitter and astringent taste, we compared the differences in bitter and astringent substances in walnut pellicle among different walnut varieties. 【Methods】Sensory evaluation was conducted on the taste quality of fresh walnut kernels and pellicle in the early stage, and the water extract of pellicle was tested using electronic tongue. In this study, fruits of five walnut varieties (‘Zhonglin 3’, ‘Jing 861’, ‘Xiangling’, ‘Bokexiang’ and ‘Nonghe 1’) were selected as the test materials at mature stage. The total tannin content was determined by the Folin colorimetric method, and the content of bitter and astringent substances such as phenolic acids, flavonoids and alkaloids were determined by HPLC. The obtained data were processed using SPSS 23.0 software for correlation analysis and principal component analysis was conducted using SAS 8.0 software. 【Results】The total tannin content was highest in ‘Zhonglin 3’ and lowest in ‘Nonghe 1’. The tannin content in ‘Zhonglin 3’ was 2.62 times that in ‘Nonghe 1’. The content of different phenolic acids was in a descending order of gallic acid > caffeic

收稿日期: 2020-09-24 接受日期: 2020-11-05

基金项目: 山西省重点研发计划(201703D211001-04-02, 201703D221016-1); 山西省高等学校科技成果转化培育项目(2020CG027)

作者简介: 刘雨霞, 女, 在读硕士研究生, 主要从事园艺植物创新与利用研究。E-mail: liuyuxia0313@163.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail: lql0288@126.com

acid > chlorogenic acid > ferulic acid > vanillic acid > ellagic acid > *p*-coumaric acid > syringic acid, and total phenolic acid in ‘Zhonglin 3’ was significantly higher than the other varieties ($p < 0.05$). The content of rutin in ‘Xiangling’, ‘Zhonglin 3’ and ‘Jing 861’ was significantly higher than in the other varieties ($p < 0.05$); catechins from high to low were catechin, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, gallic acid, gallic acid gallate, epicatechin and epicatechin gallate. ‘Zhonglin 3’ and ‘Jing 861’ had a significantly higher content of catechins than the other varieties ($p < 0.05$), and the total amount of catechins and ester catechins in ‘Nonghe 1’ was the lowest. As for alkaloids, theobromine was not detected in any varieties, and the content of caffeine was significantly higher than that of theophylline in all the varieties. The caffeine content in ‘Bokexiang’ was significantly higher than in the other varieties ($p < 0.05$). The content of theophylline in ‘Zhonglin 3’ was significantly higher than that in the other varieties ($p < 0.05$), and the content of caffeine and theophylline in ‘Nonghe 1’ was the lowest. Correlation analysis showed that all bitter and astringent substances were positively correlated with bitterness and astringency, and there was a significant positive correlation between gallic acid and bitterness, and coumaric acid, epicatechin, and epicatechin gallate were significantly positively correlated with bitterness. Total tannins, epicatechins and astringency are significantly positively correlated. These indicated that all the bitter and astringent substances tested in this study contributed to bitterness and astringency. Among them, gallic acid, coumaric acid, epicatechin and epicatechin gallate contributed more to bitterness, while total tannin and epicatechin contributed more to astringency. The result of principal component analysis showed that the cumulative contribution rate of the two principal components was 83.08%, which contained 83.08% of the bitterness and astringency index. The first principal component could be interpreted as the “total bitterness” factor. All bitter and astringent substances contributed to the first principal component, among them, the contribution of epicatechin, total tannins, chlorogenic acid, ellagic acid, ferulic acid, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate and theophylline were greater. The second principal component could be interpreted as a “bitter structure” factor, which included coumaric acid, gallic acid, epigallocatechin, and caffeine. According to the score of the first principal component, the taste could be divided into two categories: lighter and heavier bitterness and astringency. ‘Nonghe 1’ and ‘Bokexiang’ had lighter bitterness, and ‘Zhonglin 3’, ‘Jing 861’ and ‘Xiangling’ had heavier bitterness and astringency. According to the score of the second principal component, the varieties with astringent taste greater than bitter taste were ‘Nonghe 1’, ‘Xiangling’ and ‘Jing 861’, and the varieties with bitter taste greater than astringent taste were ‘Bokexiang’ and ‘Zhonglin 3’. From the results of the principal component analysis, it could be seen that the total tannin, chlorogenic acid, ellagic acid, epicatechin, gallic acid, epigallocatechin gallate, caffeine and other substances basically contain bitterness and astringency information of walnut pellicle. 【Conclusion】Total tannin, chlorogenic acid, epicatechin, gallic acid, epigallocatechin gallate and caffeine are the main substances that affect the bitter taste of walnut pellicle. In terms of taste intensity, ‘Zhonglin 3’ is the highest, ‘Nonghe 1’ the lowest. This provides inspiration for future research on the taste quality of walnut pellicle and the selection of walnut varieties with lower bitterness and astringency. ‘Nonghe 1’ has the lightest bitterness and astringency, so it can be used as an important material for walnut breeding and can be promoted to meet the needs of consumers.

Key words: Walnut; Pellicle; Tannin; Catechin; Alkaloid

核桃(*Juglans regia* L.), 又称胡桃、羌桃、万岁子等, 为胡桃科(*Juglandaceae*)核桃属(*Juglans*)落叶乔木, 果实营养价值很高, 为“世界四大干果”(核桃、扁桃、腰果、榛子)之一^[1]。核桃坚果的种仁外有一层呈黄色或浅黄色的内种皮, 占种仁质量的5%左右, 它可以阻止种仁的氧化酸败, 对核桃果实生长发育及采后品质的保持起着非常重要的作用^[2-3]。核桃内种皮富含多酚类物质, 对核桃种仁的口感起着关键作用, 也是核桃仁中对人体健康起主要作用的部位之一, 但由于其具有一定的苦涩味, 再加上其干制后颜色加深并伴随一定程度的褐变现象^[4-5], 因此在食品加工过程中会被剔除或者经脱涩后再加工, 造成资源浪费。

苦涩味是由单宁等酚类物质与唾液蛋白之间的相互作用引起的。在苦涩味成分的研究中, 主要集中在酚酸类组分、儿茶素组分、生物碱组分、氨基酸组分等物质^[6]。目前, 苦涩味物质的研究主要集中在茶、柿子等植物^[7-10], 其中茶叶涩味主体物质是儿茶素类物质, 儿茶素是茶多酚类的主体物质^[7], 柿单宁的主要成分是儿茶素和没食子酸^[8], 黄瓜中主要涩味物质为儿茶素类物质^[9], 也兰春等^[10]研究认为引起苹果果实涩感的主要物质是绿原酸、儿茶素、表儿茶素和原花青素。目前, 核桃的有关研究主要是对其酚类物质及其组分含量的测定上^[11-12], 在核桃果实苦涩味方面的研究较少^[13-14]。俞文君等^[13]对38份核桃资源7个呈苦涩味指标的研究得出单宁是核桃果实中的主要苦涩味物质; 刘雨霞等^[14]利用电子舌系统对具有不同程度苦涩味的核桃内种皮口感品质进行了分类评价, 将核桃内种皮分为苦涩味较重、苦涩味略重和苦涩味轻三类, 但是这些研究并没有对核桃内种皮的苦涩味物质进行系统全面的分析。笔者实验室前期利用感官评价和电子舌测定对鲜核桃内种皮的苦涩味进行分类评价, 通过主成分分析和聚类分析的结果发现分为三类: 苦涩味较重的品种、苦涩味略重的品种和苦涩味轻的品种。笔者基于本实验室前期筛选出的5个不同程度苦涩味(较重、略重、轻)的核桃品种, 通过对其内种皮的总单宁、酚酸类组分、黄酮类组分和生物碱组分等苦涩味物质的含量进行测定, 并进行相关性和主成分分析, 旨在找出对核桃内种皮苦涩味起关键作用的功能物质, 以期筛选低苦涩味核桃品种以及核桃口感品质研究等方面提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为‘中林3号’(苦涩味较重), ‘薄壳香’‘香玲’和‘京861’(苦涩味略重), ‘农核1号’(苦涩味轻)5个核桃品种的新鲜内种皮, 采于山西省晋中市太谷区山西农业大学(山西省农业科学院)果树研究所核桃资源圃(112°33'N、37°25'E)。试验地土质沙壤土, 肥力中等、管理良好、光照充足。采样所挑选的植株树龄为10 a, 生长健壮、无病虫害。于2019年9月上旬采集成熟度一致的果实, 从植株的东、西、南、北四个方向各采集50个果实混匀, 放入冰盒中带回实验室, 将采回的鲜核桃迅速剥去青皮和硬壳, 用镊子将内种皮从种仁上剥下, 经冷冻干燥后研成粉末, 于-40℃条件下干燥保存。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理 称取0.1 g内种皮粉末, 加入一定量60%(φ)的乙醇溶液, 50℃超声波辅助提取30 min, 10 000 r·min⁻¹离心10 min, 2次重复, 合并上清液, 定容, 待紫外分光光度计测定。称取0.1 g内种皮粉末, 加入一定量50%的甲醇溶液, 50℃超声波辅助提取30 min, 10 000 r·min⁻¹离心10 min, 2次重复, 合并上清液, 定容, 待HPLC测定。

1.2.2 总单宁含量的测定 总单宁含量的测定参照罗玉洁^[15]的方法, 稍作修改。取0.1 mL提取液到10 mL容量瓶, 分别加入0.5 mL福林酚试剂和1 mL饱和碳酸钠溶液, 用蒸馏水定容后室温避光静置反应1 h, 在725 nm波长下测定样品溶液的吸光度, 3次重复。标准曲线回归方程为: $y = 0.0799x + 0.0003$, $R^2 = 0.9993$ 。

1.2.3 酚酸组分含量的测定 参照卢文青等^[16]的方法, 稍作修改。色谱条件: 采用Hypersil GOLD C18 column(250 mm×4.6 mm, 粒径5 μm)色谱柱。流动相A为甲酸溶液(0.02%, v/v), B为甲醇溶液(100%, φ)。柱温: 25℃, 流速: 0.8 mL·min⁻¹, 进样量: 10 μL, 检测波长: 280 nm、320 nm。洗脱梯度为: 0~5 min: 90%A~80%A; 5~10 min: 80%A~65%A; 10~20 min: 65%A~60%A; 20~35 min: 60%A~25%A; 35~40 min: 25%A~10%A; 40~45 min: 10%A~10%A。

1.2.4 芦丁含量的测定 参照徐文平^[17]的方法, 稍作修改。色谱条件: 采用Hypersil GOLD C18 column(250 mm×4.6 mm, 粒径5 μm)色谱柱。流动相

A为乙酸溶液(0.2%, φ),B为乙腈溶液(100%, φ)。柱温:25℃,流速:0.8 mL·min⁻¹,进样量:10 μL,检测波长:360 nm。洗脱梯度为:0~4 min:92%A~92%A;4~10 min:92%A~79%A;10~15 min:79%A~71%A;15~16 min:71%A~71%A;16~23 min:71%A~60%A;23~28 min:60%A~60%A;28~32 min:60%A~92%A;32~35 min:92%A~92%A。

1.2.5 没食子酸、儿茶素组分和生物碱的测定 参照杨金川等^[18]的方法,稍作修改。色谱条件:色谱柱同上。流动相A为乙酸溶液(0.5%, φ),B为乙腈溶液(100%, φ),C为甲醇溶液(100%, φ)。柱温:25℃,流速:0.8 mL·min⁻¹,进样量:10 μL,检测波长:280 nm。洗脱梯度为:A:B:C=88:4:8,保持3 min;7 min内流动相比比例改变为85:5:10;15 min内流动相比比例改变为70:10:20;5 min内流动相比比例改变为72:8:20,保持2 min;3 min内流动相比比例改变为88:4:8,保持5 min,共40 min。

1.2.6 感官评价 参照邹运乾等^[19]的方法,随机招募10名志愿者组成感官评价的测试人员,每次评价时不同品种随机选取10个果实做好标记,将内种皮剥下混匀。评价指标包括苦味和涩味,评分标准为5个等级:不苦/涩0~2分,微苦/涩2~4分,较苦/涩4~6分,苦/涩6~8分,极苦/涩8~10分,将评分的平均值作为内种皮苦涩味强度的最终值。

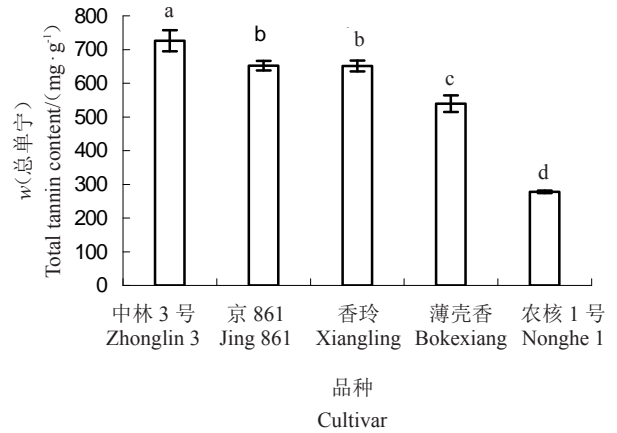
1.3 数据处理

采用Microsoft Excle 2016和Origin Pro 9进行整理数据和作图,利用SPSS 23.0软件采用Pearson相关系数法进行相关性分析,利用SAS 8.0软件采用Duncan新复极差法进行显著性分析和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 不同核桃品种内种皮总单宁的含量分析

单宁等酚类物质具有苦涩味,总单宁含量在一定程度上可以反映苦涩味程度。由图1可知,总单宁含量在不同苦涩程度核桃内种皮上存在明显差异。总单宁含量(w ,后同)以‘中林3号’最高(726.03 mg·g⁻¹),‘京861’(651.81 mg·g⁻¹)、‘香玲’(651.31 mg·g⁻¹)、‘薄壳香’(539.26 mg·g⁻¹)居中,‘农核1号’最低(277.56 mg·g⁻¹)。‘中林3号’的单宁含量是‘农核1号’的2.62倍。‘中林3号’的单宁含量显著高于其他品种($p < 0.05$)。结果表明,从总单宁



不同小写字母表示不同品种间的差异显著($p < 0.05$)。

Different small letters indicate significant difference at $p < 0.05$.

图1 不同核桃品种内种皮总单宁含量

Fig. 1 The total tannin content in the pellicle of different cultivar of walnut

含量上来说,‘中林3号’的苦涩味强度最高,‘农核1号’最低,其他3个品种居中。

2.2 不同核桃品种内种皮酚类物质和生物碱组分的含量分析

5个核桃品种的酚类物质和生物碱各组分含量差异明显(表1),对5个核桃品种内种皮共检测了16种酚类物质(酚酸类8种,包括没食子酸、绿原酸、香草酸、丁香酸、咖啡酸、对香豆酸、阿魏酸、鞣花酸;黄酮类8种,包括芦丁、C、EC、GC、EGC、ECG、GCG、EGCG)和3种生物碱(咖啡碱、可可碱、茶碱)。除了可可碱在所有核桃品种的内种皮中均未被检测到外,各个组分均可检测到。

没食子酸、绿原酸等酚酸类物质具有苦涩味,其苦涩味强度随浓度增加而增强。由表1可知,核桃内种皮在酚酸组分的含量存在差异,酚酸组分中含量最高的是没食子酸,最低的是丁香酸,酚酸组分含量由高到低为没食子酸>咖啡酸>绿原酸>阿魏酸>香草酸>鞣花酸>对香豆酸>丁香酸。不同核桃品种在各个酚酸组分上也存在一定差异,没食子酸含量最大值为1 171.26 mg·100 g⁻¹、最小值为431.44 mg·100 g⁻¹,‘京861’的没食子酸含量显著高于其他品种($p < 0.05$);绿原酸含量最大值为363.60 mg·100 g⁻¹、最小值为114.60 mg·100 g⁻¹,‘中林3号’的绿原酸含量显著高于其他品种($p < 0.05$);香草酸含量最大值为178.75 mg·100 g⁻¹、最小值为89.51 mg·100 g⁻¹,‘香玲’的香草酸含量显著高于其他品种($p <$

表 1 不同核桃品种内种皮苦涩味物质含量

Table 1 Contents of bitter and astringent substances in the pellicle of different walnut cultivar (mg·100g⁻¹)

苦涩味物质 Bitter and astringent substances		中林3号 Zhonglin 3	京861 Jing 861	香玲 Xiangling	薄壳香 Bokexiang	农核1号 Nonghe 1
酚酸类 Phenolic acids	没食子酸 Gallic acid	916.51±71.55 c	1 171.26±17.89 a	1 081.06±22.99 b	431.44±19.38 e	631.81±18.61 d
	绿原酸 Chlorogenic acid	363.60±5.19 a	177.74±1.58 c	245.24±2.38 b	152.47±0.98 d	114.60±3.12 e
	香草酸 Vanillic acid	147.67±7.06 b	135.40±1.25 c	178.75±3.20 a	105.66±1.08 d	89.51±4.50 e
	丁香酸 Syringic acid	37.99±0.50 a	39.95±0.69 a	28.17±0.88 b	20.09±0.66 c	27.99±2.26 b
	咖啡酸 Caffeic acid	324.22±34.54 a	334.57±9.71 a	206.39±1.70 c	263.75±1.93 b	184.26±31.55 c
	对香豆酸 P-coumaric acid	48.60±0.02 a	48.46±0.04 b	48.18±0.02 c	48.51±0.02 b	47.99±0.02 d
	阿魏酸 Ferulic acid	219.05±9.81 a	180.24±1.80 c	204.48±0.38 b	124.78±1.13 e	143.68±4.04 d
黄酮类 Flavonoids	鞣花酸 Ellagic acid	131.47±7.50 a	59.77±3.39 c	98.02±2.61 b	37.97±2.96 d	40.60±5.54 d
	芦丁 Rutin	295.83±72.32 a	225.41±47.50 ab	301.55±63.72 a	122.33±22.33 b	200.87±61.42 ab
	儿茶素 C	1 842.75±196.69 b	2 143.23±64.68 a	1 749.90±57.43 b	695.81±37.59 d	1 068.88±63.78 c
	表儿茶素 EC	147.81±3.44 a	123.07±18.95 b	119.48±7.75 b	111.29±2.68 b	72.57±2.53 c
	没食子儿茶素 GC	364.58±42.04 a	231.88±4.99 b	178.22±6.62 b	362.26±64.03 a	97.67±16.55 c
	表没食子儿茶素 EGC	2 242.78±135.83 a	782.38±56.57 c	197.66±13.05 d	1 424.45±104.36 b	754.74±78.59 c
	表儿茶素没食子酸酯 ECG	90.22±7.64 a	80.51±3.63 b	73.67±1.94 b	78.37±2.06 b	52.62±6.52 c
	没食子儿茶素没食子酸酯 GCG	141.28±21.14 ab	161.03±1.83 a	129.21±7.35 b	72.83±1.35 d	95.62±9.84 c
生物碱 Alkaloids	表没食子儿茶素没食子酸酯 EGCG	512.48±61.95 a	347.02±26.64 c	447.22±62.81 ab	386.62±51.38 bc	193.38±22.45 d
	咖啡碱 Caffeine	605.32±37.71 b	475.24±29.65 c	693.85±77.02 b	956.77±76.03 a	246.03±34.26 d
	可可碱 Theobromine	-	-	-	-	-
	茶碱 Theophylline	23.43±2.04 a	9.43±1.57 c	13.19±2.21 b	11.87±1.42 bc	4.96±1.02 d
总含量 Total content		8 455.59	6 726.59	5 994.24	5 407.27	4 067.78

注：“-”表示未检出；表中数值为平均值±标准偏差；同一行中带有不同小写字母的数值之间差异显著($p < 0.05$)。

Note: “-” means not detected; the values in the table are the average ± standard deviation; the values with different lowercase letters in the same column have significant differences ($p < 0.05$).

0.05);丁香酸含量最大值为39.95 mg·100 g⁻¹、最小值为20.09 mg·100 g⁻¹，‘中林3号’和‘京861’的丁香酸含量显著高于其他品种($p < 0.05$)；咖啡酸含量最大值为334.57 mg·100 g⁻¹、最小值为184.26 mg·100 g⁻¹，‘中林3号’和‘京861’的咖啡酸含量显著高于其他品种($p < 0.05$)；对香豆酸含量最大值为48.60 mg·100 g⁻¹、最小值为47.99 mg·100 g⁻¹，‘中林3号’的对香豆酸含量显著高于其他品种($p < 0.05$)；阿魏酸含量最大值为219.05 mg·100 g⁻¹、最小值为124.78 mg·100 g⁻¹，‘中林3号’的阿魏酸含量显著高于其他品种($p < 0.05$)；鞣花酸含量最大值为131.47 mg·100 g⁻¹、最小值为37.97 mg·100 g⁻¹，‘中林3号’的鞣花酸含量显著高于其他品种($p < 0.05$)。因此，从酚酸组分含量上来说，‘中林3号’的苦涩味强度显著高于其他品种。

芦丁自身没有明显的滋味，但是它有增强咖啡碱苦味的作用。由表1可知，芦丁的含量在不同品种核桃内种皮上均存在差异。芦丁含量最大值为301.55 mg·100 g⁻¹、最小值为122.33 mg·100 g⁻¹。‘香玲’‘中林3号’和‘京861’的芦丁含量显著高于其他品种。结果表明，从芦丁含量上来说，‘香玲’‘中林

3号’和‘京861’的苦涩味强度显著高于其他品种。儿茶素具有苦涩味，其中酯型儿茶素是引起苦涩味的主要因素，酯型儿茶素中的EGCG是引起苦涩味的关键物质。由表1可知，核桃内种皮在儿茶素组分含量的配比上存在差异，儿茶素组分中含量最高的是C，最低的是ECG，儿茶素组分含量由高到低为C>EGC>EGCG>GC>GCG>EC>ECG。不同品种的儿茶素总量也存在差异，儿茶素总量由高到低为‘中林3号’>‘京861’>‘薄壳香’>‘香玲’>‘农核1号’。不同品种的酯型儿茶素和非酯型儿茶素总量也存在差异，酯型儿茶素总量由高到低为‘中林3号’>‘香玲’>‘京861’>‘薄壳香’>‘农核1号’，非酯型儿茶素总量由高到低为‘中林3号’>‘薄壳香’>‘京861’>‘农核1号’>‘香玲’。不同品种的EGCG含量也存在差异，EGCG含量由高到低为‘中林3号’>‘香玲’>‘薄壳香’>‘京861’>‘农核1号’。‘京861’的C含量显著高于其他品种($p < 0.05$)，‘中林3号’的EC、EGC、ECG含量显著高于其他品种($p < 0.05$)，‘中林3号’和‘薄壳香’的GC含量显著高于其他品种($p < 0.05$)，‘中林3号’的GCG含量显著高于其他品种($p < 0.05$)，‘中林3

号’和‘香玲’的EGCG含量显著高于其他品种($p < 0.05$)。因此,儿茶素组分方面,‘中林3号’最高,‘农核1号’最低,其他3个品种居中。结果表明,从儿茶素含量上来说,‘中林3号’和‘京861’的苦涩味强度显著高于其他品种。

咖啡碱是单一的苦味物质,阈值较低,其含量越高对核桃内种皮的苦味贡献率越高。茶碱也呈现苦味,但与咖啡碱相比苦味较弱。由表1可知,核桃内种皮在生物碱组分的含量存在较大差异,各个品种的咖啡碱含量明显高于茶碱。咖啡碱含量最大值为 $956.77 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ 、最小值为 $246.03 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ 。茶碱含量最大值为 $23.43 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ 、最小值为 $4.96 \text{ mg} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ 。‘薄壳香’的咖啡碱含量显著高于其他品种($p < 0.05$),‘中林3号’的茶碱含量显著高于其他品种($p < 0.05$)。不同品种的生物碱总量存在差异,生物碱总量由高到低为:‘薄壳香’>‘香玲’>‘中林3号’>‘京861’>‘农核1号’。结果表明,从生物碱含量上来说,‘中林3号’和‘薄壳香’的苦味强度显著高于其他品种,‘农核1号’的苦味最轻。

2.3 核桃内种皮苦涩味物质与口感评价的相关性分析

为了探究苦涩味物质与口感评价(苦味、涩味)之间的相关性,利用Pearson相关系数对其进行相关性分析,结果如表2所示。所有苦涩味物质与苦味、涩味之间均呈正相关,表明随着所有苦涩味物质含量的增加,苦味和涩味也随之增加。GC与苦味呈极显著正相关,对香豆酸、EC、ECG与苦味呈显著正相关,表明随着GC、对香豆酸、EC、ECG含量的增加,苦味也随之增加;总单宁、EC与涩味呈显著正相关,表明随着总单宁、EC含量的增加,涩味也随之增加。由此可知,本研究所检测的所有苦涩味物质对苦涩味均有贡献,其中GC、对香豆酸、EC和ECG对苦味的贡献较大,总单宁和EC对涩味的贡献较大。

2.4 核桃内种皮苦涩味物质的主成分分析

对5个核桃品种内种皮18个苦涩味物质的含量进行主成分分析,第1主成分的特征值为11.0709,贡献率为58.27%,代表了所有苦涩味物质的58.27%的信息;第2主成分的特征值为4.7138,贡献率为24.81%,累积贡献率为83.08%。2个主成分的累计贡献率为83.08%,接近85%(常用阈值),包含了苦涩味指标83.08%的信息,因此可将第1主成分和第2主成分作为比较各个核桃品种内种皮苦涩味特点

表2 苦涩味物质与口感评价的相关性分析

Table 2 Correlation analysis between bitter and astringent substances and taste evaluation

	苦味 Bitterness	涩味 Astringency		苦味 Bitterness	涩味 Astringency
总单宁 Total tannins	0.813	0.943*	C	0.206	0.818
绿原酸 Chlorogenic acid	0.709	0.865	EC	0.896*	0.945*
香草酸 Vanillic acid	0.369	0.756	GC	0.959**	0.496
丁香酸 Syringic acid	0.218	0.741	EGC	0.740	0.379
咖啡酸 Caffeic acid	0.760	0.747	ECG	0.957*	0.861
对香豆酸 P-coumaric acid	0.954*	0.669	GCG	0.215	0.812
阿魏酸 Ferulic acid	0.376	0.870	EGCG	0.863	0.824
鞣花酸 Ellagic acid	0.550	0.838	咖啡碱 Caffeine	0.676	0.170
没食子酸 Gallic acid	0.069	0.721	茶碱 Theophylline	0.858	0.798
芦丁 Rutin	0.122	0.696			

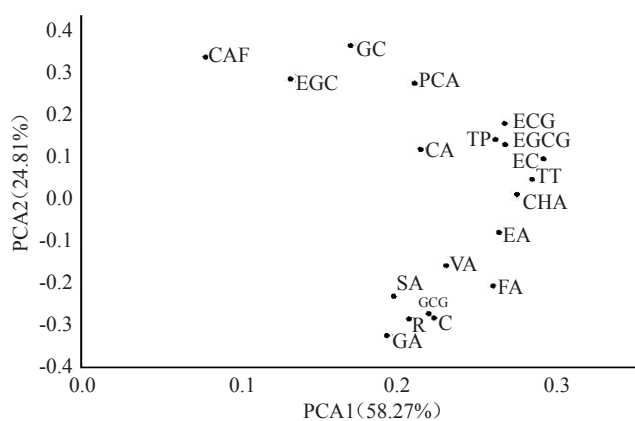
注:*表示0.05水平上的相关性,**表示0.01水平上的相关性。

Note: * indicates significant correlation at $p < 0.05$ level, ** indicates significant correlation at $p < 0.01$ level.

的尺度。

由图2可知,第1主成分的权(特征向量)均为正数,表明第1主成分可以代表苦涩味指标的整体信息,可解释为“总苦涩味”因子。第2主成分的权中绝对值较大的正权是对香豆酸、GC、EGC、咖啡碱,绝对值较大的负权是没食子酸、芦丁、C和GCG,前者为苦味较重物质,后者为涩味较重物质,第2主成分的值依赖于苦味物质与涩味物质的比例,苦味物质与涩味物质的比例越大,则主成分值越大,反之越小,故第2主成分可以解释为“苦涩结构”因子。从主成分分析的结果可以看出总单宁、绿原酸、鞣花酸、EC、GC、EGCG、咖啡碱等物质基本包含了核桃内种皮苦涩味信息。

由图3可知,5个核桃品种按第1主成分的值(得分)排序,值较小的品种是‘农核1号’‘薄壳香’,说明这两个品种苦涩味较轻;值最大的品种是‘中林3号’,说明这个品种苦涩味最重。5个核桃品种按第2主成分的值(得分)排序,值较小的品种是‘农核1号’‘香玲’和‘京861’,说明这三个品种的涩味大于苦味;值最大的品种是‘薄壳香’,说明这个品种的苦味大于涩味。



TT. 总单宁; CHA. 绿原酸; VA. 香草酸; SA. 丁香酸; CA. 咖啡酸; PCA. 对香豆酸; FA. 阿魏酸; EA. 鞣花酸; GA. 没食子酸; R. 芦丁; C. 儿茶素; EC. 表儿茶素; GC. 没食子儿茶素; EGC. 表没食子儿茶素; ECG. 表儿茶素没食子酸酯; GCG. 没食子儿茶素没食子酸酯; EGCG. 表没食子儿茶素没食子酸酯; CAF. 咖啡碱; TP. 茶碱。

TT. Total tannins; CHA. Chlorogenic acid; VA. Vanillic acid; SA. Syringic acid; CA. Caffeic acid; PCA. P-coumaric acid; FA. Ferulic acid; EA. Ellagic acid; GA. Gallic acid; R. Rutin; C. Catechin; EC. Epicatechin; GC. Galocatechin; EGC. Eepigallocatechin; ECG. Epicatechin gallate; GCG. Galocatechin gallate; EGCG. Epigallocatechin gallate; CAF. Caffeine; TP. Theophylline.

图2 苦涩味物质主成分分析的权分布图

Fig. 2 Weight distribution diagram of principal component analysis of bitter and astringent substances

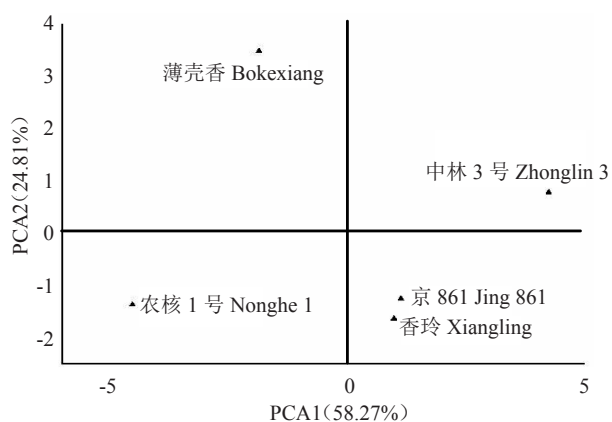


图3 主成分分析得分图

Fig. 3 Principal component score chart

3 讨 论

苦涩味主要来自单宁和其他多酚类化合物,是由单宁等多酚类物质与唾液蛋白之间的相互作用引起的^[20]。罗晓文等^[21]认为单宁和儿茶素类物质是决定果实涩味的关键因素。白蓝^[22]认为食物的涩味主要来自鞣质(单宁),在一些水果蔬菜中草酸、香豆素

类、奎宁酸等物质也能引起涩味。夏勃^[23]认为核桃中的苦味和涩味物质主要成分是单宁。在本研究中,口感评价苦涩味最重的品种总单宁含量也最高,反之则最低,这与上述研究结果一致,从而可以得出单宁是造成核桃内种皮苦涩味的关键物质。

没食子酸和绿原酸具有苦涩味,其苦涩味强度随浓度增加而增强^[24]。陆胜波等^[25]对‘黔核6号’和‘黔核7号’内种皮酚酸类含量的测定发现规律并不相同,‘黔核6号’的没食子酸含量最高,‘黔核7号’的绿原酸含量最高,万政敏等^[26]的研究得出没食子酸是酚酸类中含量最高的,在本研究中酚酸类组分中含量最高的是没食子酸,说明酚酸类组分在核桃内种皮中的分布因品种而异,但是没食子酸和绿原酸在酚酸类组分中是含量较高的。在本研究中阿魏酸含量(124.78~219.05 mg·100 g⁻¹)和鞣花酸含量(37.97~131.47 mg·100 g⁻¹)较低,但是在主成分分析得出阿魏酸和鞣花酸对苦涩味贡献较大,表明阿魏酸和鞣花酸也是重要的苦涩味物质。

儿茶素是影响果实苦涩味的主要物质之一,广泛分布于自然界各种食品和药物中^[27]。儿茶素同时具有苦味和涩味,其中苦味强度大于涩味。儿茶素分为酯型(复杂)儿茶素和非酯型(简单)儿茶素,酯型儿茶素是引起苦涩味的主要因素,非酯型儿茶素涩味不重,酯型儿茶素中的EGCG是引起苦涩味的关键物质^[28]。‘中林3号’的儿茶素总量、酯型儿茶素总量和EGCG含量均高于其他品种,表明‘中林3号’的苦涩味强度高于其他品种;相反,‘农核1号’的儿茶素总量、酯型儿茶素总量和EGCG含量均低于其他品种,表明‘农核1号’的苦涩味强度低于其他品种,这与唐琴等^[29]在尤溪苦茶上的研究结果一致。

咖啡碱是单一苦味物质,但是其苦涩味阈值低于儿茶素,咖啡碱和EGCG之间具有苦味协同作用,且咖啡碱对EGCG的涩味具有增强作用^[30]。在本研究中,咖啡碱含量明显高于茶碱含量,虽然‘薄壳香’的咖啡碱含量最高,但是它在苦涩味感官评价中却是较轻的,这可能与咖啡碱阈值低有关系。另外,‘农核1号’的咖啡碱含量是最低的,单从咖啡碱含量上来说,‘农核1号’仍是苦味最轻的。

果实中的苦涩味物质对于人类的健康有积极作用。研究表明,单宁等多酚类物质具有抗氧化、抗菌、抗病毒、抗炎和抗癌等功效^[31-32]。但是,果实的苦

涩味会影响其食用品质,轻度苦涩味会丰富食物的口感,重苦涩味往往会引起人们的不适,因此具有重苦涩味的食物不受消费者喜欢。核桃内种皮是核桃各部位中酚类物质含量最高的部位,这也是其产生苦涩味的主要原因,将内种皮去除后,核桃仁口感将会香甜爽口,但是对人体有益的酚类物质就会损失掉,造成资源的浪费,因此找到内种皮苦涩味轻的核桃品种是至关重要并且需要迫切解决的事情。通过本实验室前期对鲜核桃的感官评价和本研究对核桃内种皮苦涩味物质含量的测定,发现‘农核1号’的苦涩味最轻,因此可以将其作为核桃苦涩味研究以及育种的重要材料,并将其进行推广栽植以满足消费者的需求。

4 结 论

本研究结果表明:总单宁、绿原酸、EC、GC、EGCG和咖啡碱等是影响核桃内种皮苦涩味的主要物质;在苦涩味强度上,‘中林3号’最高,‘农核1号’最低,其他三个品种居中,与感官评价结果基本一致。这为今后核桃内种皮口感品质以及筛选低苦涩味的核桃品种等方面的研究提供了启发。

参考文献 References:

- [1] 郗荣庭,张毅萍. 中国果树志·核桃卷[M]. 北京:中国林业出版社,1996: 1-9.
XI Rongting, ZHANG Yiping. Chinese Fruit Trees·Walnut Roll [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1996: 1-9.
- [2] 郭慧清,张泽坤,白光灿,卫亚洁,王安冬,马长华. 核桃内种皮多酚的研究进展及应用前景[J]. 农产品加工,2017(17):36-39.
GUO Huiqing, ZHANG Zekun, BAI Guangan, WEI Yajie, WANG Andong, MA Changhua. Research progress and application prospects of walnut inner seed coat polyphenols[J]. Agricultural Products Processing, 2017(17): 36-39.
- [3] 周晔. 核桃内种皮多酚分析与抗氧化活性[D]. 北京:中国林业科学研究院,2013.
ZHOU Ye. Polyphenols analysis and antioxidant activity of walnut inner seed coat [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2013.
- [4] PERSIC M, MIKULIC-PETKOVSEK M, SLATNAR A, VE-BERIC R. Changes in phenolic profiles of red-colored pellicle walnut and hazelnut kernel during ripening[J]. Food chemistry, 2018, 252.
- [5] 荣瑞芬,历重先,刘雪峥,裴东,陈佳,王怡婷. 核桃内种皮营养与功能成分初步分析研究[J]. 食品科学,2008,29(11):541-543.
RONG Ruifen, LI Chongxian, LIU Xuezheng, PEI Dong, CHEN Jia, WANG Yiting. Preliminary analysis of nutrient and functional components of walnut endocarp[J]. Food Science, 2008, 29(11): 541-543.
- [6] 银霞,张曙光,黄静,包小村,周凌云,戴伟东,赵琛杰,黄建安,刘仲华. 湖南红茶特征滋味化学成分研究[J]. 茶叶科学, 2019, 39(2):150-158.
YIN Xia, ZHANG Shuguang, HUANG Jing, BAO Xiaocun, ZHOU Lingyun, DAI Weidong, ZHAO Chenjie, HUANG Jian'an, LIU Zhonghua. Study on the chemical components of Hunan black tea with characteristic flavors[J]. Tea Science, 2019, 39(2): 150-158.
- [7] 刘敏. 茶主要涩味物质代谢相关基因的差异表达分析[D]. 扬州:扬州大学,2015.
LIU Min. Analysis of differential expression of genes related to the metabolism of main astringent substances in tea[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2015.
- [8] 费学谦,周立红,龚榜初. 不同甘、涩类型柿果实单宁组成的差异及罗田甜柿单宁的特性[J]. 林业科学研究,1999, 12(4): 369-373.
FEI Xueqian, ZHOU Lihong, GONG Bangchu. Differences in tannin composition of different sweet and astringent types of persimmon fruits and characteristics of Luotian sweet persimmon tannins[J]. Forestry Science Research, 1999, 12(4): 369-373.
- [9] 田恒禄. 黄瓜涩味形成与儿茶素类物质代谢的关系及相关分子基础的研究[D]. 扬州:扬州大学,2015.
TIAN Henglu. The relationship between the formation of cucumber astringency and the metabolism of catechins and the related molecular basis[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2015.
- [10] 也兰春,孙建设. 苹果果实酚类物质含量与果实苦涩关系的研究[J]. 园艺学报,2005, 32(5):13-17.
NIE Lanchun, SUN Jianshe. Study on the relationship between apple fruit phenolics content and fruit bitterness[J]. Acta Horticulture, 2005, 32(5): 13-17.
- [11] 徐宏化,程慧,王正加,付顺华,斯金平,于敏,张爱莲. 美国山核桃总多酚与总黄酮含量及抗氧化活性[J]. 核农学报,2016, 30(1):72-78.
XU Honghua, CHENG Hui, WANG Zhengjia, FU Shunhua, SI Jinping, YU Min, ZHANG Ailian. The content and antioxidant activity of total polyphenols and total flavonoids in pecans[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2016, 30(1): 72-78.
- [12] NOUR V, TRANDAFIR I, COSMULESCU S. HPLC determination of phenolic acids, flavonoids and juglone in walnut leaves [J]. Journal of Chromatographic Science, 2013, 51(9):883-890
- [13] 俞文君,金强,李根,张锐,吴翠云,王新建,于军. 基于果实苦涩味新疆核桃资源遗传多样性分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(13):234-240.
YU Wenjun, JIN Qiang, LI Gen, ZHANG Rui, WU Cuiyun, WANG Xinjian, YU Jun. Analysis of the genetic diversity of Xinjiang walnut resources based on the bitterness of the fruit[J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(13): 234-240.
- [14] 刘雨霞,张玲,张小军,杨笑,杨春,曲进,刘群龙. 基于电子舌技术分类评价核桃内种皮的口感品质[J]. 食品与发酵工业,

- 2020,46(19): 258-263.
- LIU Yuxia, ZHANG Ling, ZHANG Xiaojun, YANG Xiao, YANG Chun, QU Jin, LIU Qunlong. Classification and evaluation of walnut kernel pellicle taste quality based on electronic tongue technology[J]. Food and Fermentation Industry, 2020, 46(19): 258-263.
- [15] 罗玉洁. 基于高通量测序的中国甜柿 microRNAs 鉴定及分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- LUO Yujie. Identification and analysis of Chinese sweet persimmon microRNAs based on high-throughput sequencing[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014.
- [16] 卢文青, 周晓敏, 张怀玉, 江俊生, 付丽. 高效液相色谱法同时测定水果中 9 种多酚物质[J]. 中国卫生检验杂志, 2017, 27(3): 317-320.
- LU Wenqing, ZHOU Xiaomin, ZHANG Huaiyu, JIANG Junsheng, FU Li. Simultaneous determination of 9 polyphenols in fruits by high performance liquid chromatography[J]. Chinese Journal of Health Inspection, 2017, 27(3): 317-320.
- [17] 徐文平. 四川绿茶苦涩味偏重成因分析及降低苦涩味技术研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2010.
- XU Wenping. Analysis of the cause of heavy bitterness and astringency of Sichuan green tea and research on the technology of reducing bitterness and astringency[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2010.
- [18] 杨金川, 白雪梅. HPLC 法同时测定茶叶中儿茶素类和咖啡因的含量[J]. 贵州农业科学, 2020, 48(2): 99-102.
- YANG Jinchuan, BAI Xuemei. Simultaneous determination of catechins and caffeine in tea by HPLC method[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2020, 48(2): 99-102.
- [19] 邹运乾, 张立, 吴方方, 许让伟, 徐娟, 胡世全, 谢合平, 程运江. 打蜡处理对温州蜜柑果实异味物质积累的影响[J]. 中国农业科学, 2020, 53(12): 2450-2459.
- ZOU Yunqian, ZHANG Li, WU Fangfang, XU Rangwei, XU Juan, HU Shiquan, XIE Heping, CHENG Yunjiang. Effect of waxing treatment on the accumulation of peculiar substances in Wenzhou mandarin oranges[J]. China Agricultural Sciences, 2020, 53(12): 2450-2459.
- [20] 陈锦永, 靳路真, 程大伟, 顾红, 张威远, 张洋, 郭西智, 方金豹. 水果涩味研究进展[J]. 果树学报, 2016, 33(12): 1556-1566.
- CHEN Jinyong, JIN Luzhen, CHENG Dawei, GU Hong, ZHANG Weiyuan, ZHANG Yang, GUO Xizhi, FANG Jinbao. Research progress in fruit astringency[J]. Journal of Fruit Science, 2016, 33(12): 1556-1566.
- [21] 罗晓文, 刘敏, 齐晓花, 徐强, 陈学好. 果实涩味分子研究进展[J]. 分子植物育种, 2013, 11(5): 647-656.
- LUO Xiaowen, LIU Min, QI Xiaohua, XU Qiang, CHEN Xuehao. Progress in the molecular research of fruit astringency[J]. Molecular Plant Breeding, 2013, 11(5): 647-656.
- [22] 白蓝. 味觉与呈味物质[J]. 生物学通报, 1991(4): 10-12.
- BAI Lan. Taste and taste-producing substances[J]. Bulletin of Biology, 1991(4): 10-12.
- [23] 夏勃. 斑苦竹笋(*Arundinaria oleosa*)营养成分和化学成分分析[D]. 南京: 南京林业大学, 2006.
- XIA Bo. Analysis of the nutritional and chemical components of *Arundinaria oleosa*[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2006.
- [24] 金孝芳. 绿茶滋味化合物研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- JIN Xiaofang. Research on the flavor compounds of green tea [D]. Chongqing: Southwest University, 2007.
- [25] 陆胜波, 史斌斌, 张文娥, 潘学军. 泡核桃不同器官多酚类物质组分及含量差异分析[J]. 经济林研究, 2020, 38(2): 104-113.
- LU Shengbo, SHI Binbin, ZHANG Wen'e, PAN Xuejun. Analysis of the composition and content difference of polyphenols in different organs of walnut[J]. Economic Forest Research, 2020, 38(2): 104-113.
- [26] 万政敏, 郝艳宾, 杨春梅, 齐建勋, 赵丽芹, 王克建. 核桃仁种皮中的多酚类物质高压液相色谱分析[J]. 食品工业科技, 2007(7): 212-213.
- WAN Zhengmin, HAO Yanbin, YANG Chunmei, QI Jianxun, ZHAO Liqin, WANG Kejian. High pressure liquid chromatography analysis of polyphenols in walnut seed coat[J]. Food Industry Science and Technology, 2007(7): 212-213.
- [27] CAO Q Q, ZOU C, ZHANG Y H, DU Q Z, YIN J F, SHI J, XUE S, XU Y Q. Improving the taste of autumn green tea with tannase[J]. Food Chemistry, 2019, 277: 432-437.
- [28] 程福建, 吴芹瑶, 高水练, 杨江帆. 茶叶苦涩味影响因素研究进展[J]. 中国茶叶, 2020, 42(2): 24-31.
- CHENG Fujian, WU Qinyao, GAO Shuilian, YANG Jiangfan. Research progress on the factors affecting the bitterness and astringency of tea[J]. Chinese Tea, 2020, 42(2): 24-31.
- [29] 唐琴, 孙威江, 陈志丹, 沈诗钰, 周喆, 陈佳佳, 陈翠翠. 尤溪苦茶资源苦涩味物质测定与分析[J]. 食品科学, 2019, 40(18): 242-247.
- TANG Qin, SUN Weijiang, CHEN Zhidan, SHEN Shiyu, ZHOU Zhe, CHEN Jiajia, CHEN Cuicui. Determination and analysis of bitter and astringent substances in Youxi bitter tea resources[J]. Food Science, 2019, 40(18): 242-247.
- [30] XU Y Q, ZHANG Y N, CHEN J X, WANG F, DU Q Z, YIN J F. Quantitative analyses of the bitterness and astringency of catechins from green tea[J]. Food Chemistry, 2018, 258: 16-24.
- [31] 舒畅, 赵韩栋, 焦文晓, 范新光, 姜微波. 植物单宁的生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2018, 39(17): 328-334.
- SHU Chang, ZHAO Handong, JIAO Wenxiao, FAN Xinguang, JIANG Weiwei. Research progress on the biological activity of plant tannins[J]. Food Industry Science and Technology, 2018, 39(17): 328-334.
- [32] SOARES S, ELSA BRANDÃO, GUERREIRO C, SÓNIA SOARES, FREITAS V D. Tannins in Food: Insights into the molecular perception of astringency and bitter taste[J]. Molecules, 2020, 25(11): 2590.