

张亚杰,徐亚伟,李春美.不同地域和品种柿果单宁含量及组成分析[J].华中农业大学学报,2022,41(5):179-189.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2022.05.022

不同地域和品种柿果单宁含量及组成分析

张亚杰,徐亚伟,李春美

华中农业大学食品科学技术学院/环境食品学教育部重点实验室,武汉 430070

摘要 为探究不同地域条件下不同品种柿果有效成分组成、含量及活性差异,以湖北武汉地区种植的19个柿品种、陕西杨凌地区种植的33个柿品种为试材,探讨不同地域及品种间可溶性单宁含量及组成、不溶性单宁含量及清除DPPH·自由基能力的差异。结果显示:湖北武汉与陕西杨凌的柿果单宁含量及组成存在差异;柿果可溶性单宁的单体成分主要有没食子酸(gallic acid, GA)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)、表儿茶素(epicatechin, EC)和儿茶素(catechin, C);湖北武汉种植的完全甜柿(pollination content non-astringent, PCNA)可溶性单宁的总酚含量及组成整体上高于其在陕西杨凌的完全甜柿(PCNA)中的含量;绝大多数非完全甜柿(non-PCNA)品种的总酚含量和没食子酸含量显著高于甜柿品种。甜柿和涩柿品种中的不溶性单宁的含量没有显著差异,但湖北武汉的非完全甜柿和完全甜柿中不溶性单宁含量整体上高于其在陕西杨凌的涩柿和完全甜柿中的含量;且涩柿中不溶性单宁清除DPPH·和羟基自由基的能力高于甜柿中的不溶性单宁。这表明地区差异和品种差异均是影响柿果中单宁含量及组成的重要因素,

关键词 柿; 单宁; 多酚; 抗氧化

中图分类号 S665.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2022)05-0179-11

柿隶属柿科(Ebenaceae)柿属(*Diospyros* L.),多为热带、亚热带植物,原产于我国长江流域及其以南地区,在我国有2500年以上的栽培历史。柿的种类繁多,根据甘涩性状可将其划分为完全甜柿(pollination content non-astringent, PCNA, 简称“甜柿”)、不完全甜柿(pollination variant non-astringent, PVNA)、完全涩柿(pollination content astringent, PCA)和不完全涩柿(pollination variant astringent, PVA)类型^[1]。后三者合称“非完全甜柿”(non-PCNA, 本文称“涩柿”)。通常认为,甜柿在树上能够完成自然脱涩,而涩柿需要采后进行脱涩处理才可食用。

与其他水果相比,柿含有高出其他水果十多倍甚至几十倍的单宁,大量研究表明,柿单宁具有抗氧化^[2-3]、抑菌^[4]、降脂^[5]、提高人体免疫力^[6]、抗炎^[7]、吸附异味等生理活性。根据其在醇中的溶解度可分为可溶性单宁和不溶性单宁。可溶性单宁分子质量较小,通常以游离或者酯化的状态存在;不溶性单宁主要为高聚体,分子质量较大,可与其他物质以结合状态存在^[8],其中可溶性单宁是决定柿果实涩味的主要物质。

不同地域环境、天气条件都可对柿果中单宁的含量和组成产生影响,目前报道的柿多酚单体主要有没食子酸(gallic acid, GA)、儿茶素(catechin, C)、表儿茶素(epicatechin, EC)、没食子儿茶素、表没食子儿茶素等,但是不同研究报道的柿多酚组成和含量有差异,且鲜少有关于不同地域及品种柿果中可溶性单宁和不溶性单宁含量的比较研究。本研究以湖北武汉种植的19个柿品种和陕西杨凌种植的33个柿品种为试材,对其果实中的可溶性单宁组成及总酚含量、不溶性单宁含量进行测定和对比,同时探究不同地域及品种柿果中不溶性单宁清除DPPH·和羟基自由基的能力,旨在为柿果实的综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试柿果来自陕西杨凌种植的33个柿品种和湖北武汉种植的19个柿品种,详见表1。

收稿日期: 2022-05-10

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项(2662020SPPY013)

张亚杰, E-mail: zyjie@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 李春美, E-mail: lichmyl@126.com

表1 柿品种及来源
Table 1 Persimmon varieties and source

编号 Serial number	生物学名 Scientific name	材料名称 Material	脱涩类型 Astringent type	来源 Source
1	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	刀根早生 Tonewase	PVA	
2	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	四沟柿 Yotsumizo	PCA	
3	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	舟山长柿 Zhoushangchangshi	PCA	
4	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	海安小方柿 Haianxiaofangshi	PCA	
5	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	沙谷1号 Sagoksi 1	PCA	
6	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	小四瓣 Xiaosiban	PCA	
7	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	尖顶小面糊 Jiandingxiaomianhu	PCA	
8	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	无核托 Wuhetuo	PCA	
9	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	平核无 Hiratanenashi	PVA	
10	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	永济青柿 Yongjiqingshi	PCA	
11	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	小面糊 Xiaomianhu	PCA	
12	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	平山高桩柿 Pingshanggaozhuangshi	PCA	
13	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	玉环长柿(芽变)Yuhuanchangshi (bud mutation)	PCA	
14	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	圃柿1号 Pushi 1	PCA	
15	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	粘眼窝 Zhanyanwo	PCA	陕西杨凌国家柿种质资源圃 National Persimmon Germplasm Resource Nursery, Yangling, Shaanxi
16	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	大面糊 Damianhu	PCA	
17	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	沙河大方柿 Shahedafangshi	PCA	
18	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	圃柿3号 Pushi 3	PCA	
19	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	车串柿 Chechuanshi	PCA	
20	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	大荔七月黄 Daliqiyuehuang	PCA	
21	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	饶天红 Raotianhong	PCA	
22	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	贡柿 Gongshi	PCA	
23	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	伏尖顶 Fujianding	PCA	
24	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	富平板柿 Fupingbanshi	PCA	
25	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	胎里红 Tailihong	PCA	
26	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	黑柿 Heishi	PCA	
27	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	秋蒸饼 Qiuzhengbing	PCA	
28	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	前川次郎 Maekawa-Jiro	PCNA	
29	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	新秋 Shinshuu	PCNA	
30	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	禅寺丸 Zenjimaru	PVNA	
31	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	爱知早生 Aichiwasefuyuu	PCNA	
32	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	西村早生 Nishimura-wase	PVNA	
33	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	甜宝盖 Tianbaogai	PCNA	
37	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	诏安元宵柿 Shaoanyuanxiaoshi	PCA	湖北省武汉市华中农业大学柿圃
38	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	玉环长柿 Yuhuanchangshi	PCA	
39	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	黄边小鸡心 Huangbianxiaojinxin	PCA	Persimmon repository,
40	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	磨盘柿 Mopanshi	PCA	Huazhong Agricultural
41	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	阳朔牛心柿 Yangshuonixinshi	PCA	University, Wuhan City,
42	<i>Diospyros kaki</i> Thumb.	恭城水柿 Gongchengshuishi	PCA	Hubei Province

续表1 Continued Table 1

编号 Serial number	生物学名 Scientific name	材料名称 Material	脱涩类型 Astringent type	来源 Source
43	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	肉柿 Roushi	PCA	
46	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	怀胎柿 Huaitaishi	PCA	
47	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	罗田甜柿 Luotiantianshi	PCNA	
48	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	小宝盖柿 Xiaobaogaishi	PCNA	
49	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	鄂柿 1号 Eshi 1	PCNA	湖北省武汉市华中 农业大学柿圃
50	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	上西早生 Uenishi-wase	PCNA	Persimmon repository,
51	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	小果甜柿 Xiaoguotianshi	PCNA	Huazhong Agricultural University, Wuhan City,
52	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	松本早生 Matsumoto-wase	PCNA	
34	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	四方甜柿 Sifangtianshi	PCNA	Hubei Province
35	<i>D.</i> spp.	德阳柿 Deyangshi	—	
36	<i>E. oleifera</i> Cheng.	油柿 Youshi	—	
44	<i>D.</i> sp.	金枣柿 Jinzaoshi	—	
45	<i>E. lotus</i> L.	君迁子 Date plum	—	

注:PCNA:完全甜柿;PCA:完全涩柿;PVNA:不完全甜柿;PVA:不完全涩柿;采样时期为9—10月,果面呈橙色,所有柿果采摘后立即置于-20℃保藏。Note:PCNA: Pollination-constant non-astringent; PCA: Pollination-constant astringent; PVNA: Pollination-variant non-astringent; PVA: Pollination-variant astringent. The sampling period was from September to October, and the fruit surface was orange. All persimmon were stored at -20℃ immediately after picking.

1.2 测定方法

柿可溶性单宁单体组成采用LC-10AT岛津高效液相色谱仪测定;可溶性单宁总酚含量及不溶性单宁含量采用Folin-Denis方法测定;不溶性单宁抗氧化活性以其清除DPPH·自由基能力表示。

1.3 柿可溶性单宁和不溶性单宁提取

柿可溶性单宁的提取参考陈多多^[9]的方法并略作修改,取冻干后的柿子粉,采用超声波辅助提取法,提取溶剂为甲醇,80℃冷凝回流3次,每次30 min,料液比1:8(m/V)合并滤液,定容备用。将提取完可溶性柿单宁的果渣收集,采用1%盐酸-甲醇提取不溶性柿单宁,料液比1:8(m/V),60℃回流提取3次,每次30 min,合并滤液,定容备用。

1.4 柿不溶性单宁的纯化

取本文“1.3”提取的不溶性单宁滤液于旋转蒸发仪浓缩至一定体积,取浓缩液于AB-8大孔树脂上吸附40 min,用蒸馏水洗至无糖检出(苯酚硫酸法),之后用10%乙醇洗至无色,除去小分子酚酸,然后用95%乙醇洗脱,收集95%乙醇洗脱液,35℃真空旋转蒸发,冷冻干燥,即得不溶性单宁。

1.5 柿可溶性单宁单体组成分析

以没食子酸、儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯为标准品,采用LC-10AT岛津高效液

相色谱仪检测可溶性柿单宁提取液的单体组成。

色谱条件:色谱柱为Agilent ZORBAX SB-Aq (4.6 mm×250 mm, 5 μm),流动相A为0.13%三氟乙酸溶液,B为含0.1%的三氟乙酸的甲醇/乙腈(1/1,V/V)。梯度洗脱程序:0~10 min, 0~20% B; 11~20 min, 20% B; 21~25 min, 20%~30% B; 26~30 min, 30%~70% B; 31~38 min, 70% B; 39~40 min, 70%~0 B。柱温:30℃;流速0.8 mL/min,进样量10 μL,光电二极管阵列检测器,检测波长280 nm。所有样品进样前用0.22 μm滤膜过滤。

1.6 柿可溶性单宁总酚含量测定

配制1 mg/mL的没食子酸溶液,依次稀释至0.1、0.2、0.25、0.4、0.5 mg/mL,分别吸取100 μL于具塞试管中,加入500 μL福林酚溶液,摇匀,5~8 min后加入500 μL的10% NaCO₃溶液,摇匀,室温下避光放置1 h后,用蒸馏水定容至5 mL,760 nm处测定其吸光度。采用相同的方法测定每个品种可溶性单宁提取液的总酚含量。

1.7 柿不溶性单宁含量测定

参考中国药典方法^[10]并略作修改。参考董晓倩^[3]的方法制备PT40单宁为标准品,配制0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mg/mL标准品溶液,参考本文“1.6”步骤测定光密度。采用相同的方法测定不同品种柿

果中不溶性单宁的含量,760 nm处下测定光密度 A_1 ;取对应的柿果不溶性单宁提取液3 mL于具塞试管中,加入1.2 g干酪素,30 ℃水浴,每隔10 min摇匀1次,吸附60 min,1 000 r/min离心5 min,取上清液同上步骤测定光密度为 A_2 ,同时设定干酪素对照,测定光密度 A_3 ;将 $A_4=A_1-A_2-A_3$ 代入标准曲线中,即得柿果中不溶性单宁的含量。

1.8 柿不溶性单宁清除DPPH·自由基能力的测定

参考田燕^[11]的方法测定柿不溶性单宁清除DPPH·能力,选取不同区域甜柿和涩柿纯化后的不溶性单宁,以甲醇为溶剂配制成不同浓度的溶液。在具塞试管中分别加入2 mL样品和 2×10^{-4} mol/L的DPPH·溶液2 mL,混匀,室温下避光反应30 min,517 nm处测定光密度,空白组以等体积的甲醇代替DPPH·溶液,对照组以等体积的甲醇代替样品溶液,平行测定3次,清除率=[$A_0-(A_i-A_j)$]/ $A_0 \times 100\%$,式中, A_0 为对照组光密度; A_i 为样品组光密度; A_j 为空白组光密度。

1.9 柿不溶性单宁清除羟基自由基能力的测定

采用田燕^[11]的方法进行,选取不同区域甜柿和涩柿纯化后的不溶性单宁,以甲醇为溶剂配制成不同浓度的溶液。在离心管中依次加入1 mL不同浓度的样品溶液,8.0 mmol/L硫酸亚铁,20 mmol/L过氧化氢0.25 mL,3.0 mmol/L水杨酸1.0 mL。将离心管置于37 ℃反应30 min,流水冷却,各管中分别加入0.45 mL蒸馏水,混匀,2 000 r/min离心10 min,取上清于510 nm下测定值。清除率=[$A_0-(A_1-A_2)$]/ $A_0 \times 100\%$,式中, A_0 为未加清除剂的光密度; A_1 为加入清除剂的光密度; A_2 为试剂空白的光密度。

1.10 数据处理及分析

不同样品测定均为3次重复,采用Excel 2019和GraphPad Prism 8.0.1进行数据处理,试验结果以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 柿可溶性单宁总酚含量及单体组成

供试52个品种柿可溶性单宁的总酚含量及组成见表2,总酚主要为没食子酸(GA)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素(EC)和儿茶素(C)。总酚含量中没食子酸的标准曲线为: $Y=1.3192X+$

0.0517,相关系数为0.999 1;可溶性单宁组成中没食子酸的标准曲线为: $Y=1 \times 10^7 X+474.34$,相关系数为0.999 7;表没食子儿茶素没食子酸酯的标准曲线为: $Y=6 \times 10^6 X-2088.3$,相关性系数为0.999 3;表儿茶素的标准曲线为: $Y=3 \times 10^6 X-500.24$,相关系数为0.999 8;儿茶素的标准曲线为: $Y=3 \times 10^6 X-367.64$,相关系数为0.999 6。

可溶性单宁中没食子酸的分布最广,在已测定的52个品种中均有检测到,新秋含量最低,只有(0.188 ± 0.016) mg/100 g,邵安元宵柿含量最高,达(132.947 ± 7.29) mg/100 g。

在甜柿品种中,湖北武汉的小宝盖柿总酚含量最高,为(2.943 ± 0.136) g/100 g;四方甜柿EC和C含量最高,分别为(8.356 ± 0.452) mg/100 g和(21.039 ± 0.497) mg/100 g;小果甜柿EGCG含量最高,为(2.786 ± 0.250) mg/100 g;陕西杨凌的西村早生的GA含量最高,为(38.427 ± 1.124) mg/100 g,湖北武汉完全甜柿品种小果甜柿、上西早生、松本早生、四方甜柿、罗田甜、鄂柿1号、小宝盖柿可溶性单宁中的总酚含量和组成整体上高于陕西杨凌完全甜柿品种甜宝盖、前川次郎、新秋、爱知早生可溶性单宁中的含量。在涩柿品种中,湖北武汉的黄边小鸡心总酚和儿茶素(C)含量最高,分别为(9.283 ± 0.328)、(64.389 ± 0.735) mg/100 g,邵安元宵柿GA含量最高,为(132.947 ± 7.29) mg/100 g,金枣柿EGCG含量最高,为(3.603 ± 0.274) mg/100 g,陕西的小面糊EC含量最高,为(6.200 ± 0.124) mg/100 g。PVNA中没食子酸含量显著高于其在PCNA中的含量。近缘种君迁子、金枣柿、油柿、德阳柿,君迁子总酚、EC、EGCG含量最高,分别为(10.564 ± 0.742) g/100 g、(9.084 ± 1.032) mg/100 g、(4.265 ± 0.484) mg/100 g,德阳柿GA含量最高,为(32.598 ± 0.854) mg/100 g,金枣柿C含量最高,为(24.533 ± 0.168) mg/100 g。综合比较发现,不同地区的柿果可溶性单宁含量和组成存在差异。涩柿品种的总酚含量和没食子酸含量绝大多数高于甜柿品种,可能因为各品种中EGCG、EC和C的含量很少,所以甜柿和涩柿品种相比较无显著差异;湖北武汉完全甜柿品种中可溶性单宁的总酚含量及组成整体上高于陕西杨凌的完全甜柿品种,涩柿品种整体上无显著差异。

续表2 Continued Table 2

来源 Source	品种 Varieties	总酚/ (g/100 g) Total phenol	没食子酸/ (mg/100 g) GA	表没食子儿茶 素没食子酸酯/ (mg/100 g) EGCG	表儿茶素/ (mg/100 g) EC	儿茶素/ (mg/100 g) C
	粘眼窝 Zhanyanwo	4.658±0.243	87.628±2.070	2.578±0.108	4.229±0.329	18.034±0.373
	车串柿 Chechuanshi	1.825±0.033	2.931±0.164	1.037±0.081	2.480±0.067	10.207±0.054
	贡柿 Gongshi	3.105±0.105	11.648±1.089	1.994±0.096	5.063±0.414	11.694±0.739
	伏尖顶 Fujianding	4.232±0.759	21.925±3.393	0.765±0.076	1.817±0.294	7.586±0.942
	磨盘柿 Mopanshi	1.519±0.102	6.129±0.673	0.905±0.733	2.906±0.201	5.934±4.064
	德阳柿 Deyangshi	2.512±0.230	32.598±0.854	0.481±0.069	3.290±0.128	9.553±0.162
	君迁子 Date plum	10.564±.742	9.947±1.344	4.265±0.484	9.084±1.032	1.748±0.156
	黄边小鸡心 Huangbianxiaojixin	9.283±0.328	108.58±0.047	1.569±0.019	0.507±0.027	64.389±0.735
	油柿 Youshi	0.393±0.084	21.658±0.157	0.447±0.044	4.815±0.110	1.006±0.026
湖北省武汉市华中 农业大学柿圃 Persimmon reposi- tory, Huazhong Ag- ricultural Universi- ty, Wuhan City, Hubei Province	玉环长柿 Yuhuanchangshi	0.997±0.077	18.096±0.146	—	0.464±0.032	19.519±0.165
	怀胎柿 Huaitaishi	2.644±0.123	5.143±0.405	1.279±0.095	5.019±0.247	12.894±0.31
	金枣柿 Jinzaoshi	7.367±0.137	24.919±0.03	3.603±0.274	2.123±0.052	24.533±0.168
	邵安元宵柿 Shaoanyuanxiaoshi	2.264±0.111	132.947±7.29	1.009±0.034	5.927±0.159	14.422±1.992
	小果甜柿 Xiaoguotianshi	0.307±0.016	2.786±0.250	3.981±0.189	3.695±0.226	17.494±1.105
	上西早生 Uenishi-wase	1.182±0.034	0.584±0.044	0.952±0.733	—	11.181±8.591
	松本早生 Matsumoto-wase	0.206±0.002	0.854±0.022	1.155±0.130	—	12.844±0.093
	小宝盖柿 Xiaobaogaishi	2.943±0.136	1.892±0.185	1.937±0.072	2.759±0.071	16.112±0.634
	四方甜柿 Sifangtianshi	2.039±0.027	0.880±0.031	3.555±0.153	8.356±0.452	21.039±0.497
	罗田甜柿 Luotiantianshi	0.548±0.016	3.101±0.128	1.031±0.039	2.033±0.058	8.024±0.324
	鄂柿1号 Eshi 1	0.179±0.012	0.839±0.123	0.778±0.008	2.176±0.271	9.840±0.551

注：“—”未检测到。Note: “—” indicates not detected.

2.2 柿不溶性单宁含量的测定

以PT40作为标准品,标准曲线为 $Y=0.8297X+0.0592$,相关系数为0.998,如表3所示,在甜柿品种中,湖北武汉小果甜柿的不溶性单宁含量最高,为(14.281±1.635) g/100 g,松本早生不溶性单宁含量最低,为(2.034±0.075) g/100 g。引自日本的甜柿品种中不完全甜柿品种(西村早生、禅寺丸)不溶性单宁含量高于完全甜柿新秋、上西早生、松本早生、前川次郎、爱知早生中不溶性单宁的含量。中国本土的完全甜柿品种甜宝盖、小果甜柿、四方甜柿、鄂柿1号、罗田甜柿、小宝盖柿中不溶性单宁的含量显著高于日本完全甜柿中不溶性单宁的含量。湖北武汉完全甜柿不溶性单宁含量整体上高于陕

西杨凌完全甜柿。在涩柿品种中,陕西杨凌的富平板柿不溶性单宁含量最高,为(28.224±0.672) g/100 g,大荔七月黄不溶性单宁含量最低,为(2.809±0.143) g/100 g。湖北武汉近缘种德阳柿不溶单宁含量最高,为(49.946±0.546) g/100 g,金枣柿不溶单宁含量最低,为(3.068±0.478) g/100 g。综合以上数据可知,不同地区的柿果不溶性单宁含量存在差异。甜柿和涩柿品种在不溶性单宁的含量方面不存在显著差异。湖北武汉的涩柿和完全甜柿(PCNA)中不溶性单宁含量整体上高于陕西杨凌的涩柿和完全甜柿(PCNA)中的含量。

表3 柿不溶性单宁含量
Table 3 Content of insoluble tannin in persimmon

来源 Source	品种 Varieties	含量/(g/100 g) Content
陕西杨凌国家柿种质资源圃 National Persimmon Germplasm Resource Nursery, Yangling , Shaanxi	甜宝盖 Tianbaogai	6.968±0.412
	前川次郎 Maekawa-Jiro	3.224±0.102
	新秋 Shinshuu	2.501±0.097
	禅寺丸 Zenjimaru	13.254±0.723
	爱知早生 Aichiwasefuyuu	3.410±0.074
	西村早生 Nishimura-wase	12.796±0.205
	秋蒸饼 Qiuzhengbing	15.867±0.283
	刀根早生 Tonewase	6.539±0.301
	黑柿 Heishi	22.486±2.863
	饶天红 Raotianhong	12.874±0.656
	圃柿1号 Pushi 1	3.941±0.366
	无核托 Wuhetuo	15.637±0.210
	沙谷1号 Sagoksi 1	5.083±0.143
	四沟柿 Yotsumizo	18.694±0.403
	平山高桩柿 Pingshangaozhuangshi	7.332±0.142
	小面糊 Xiaomianhu	3.959±0.216
	舟山长柿 Zhoushanchangshi	12.339±1.633
	阳朔牛心柿 Yangshuoniuxinshi	23.406±0.052
	肉柿 Roushi	15.766±1.07
	尖顶小面糊 Jiandingxiaomianhu	16.250±1.621
	沙河大方柿 Shahedafangshi	10.098±0.241
	富平板柿 Fupingbanshi	28.224±0.672
	平核无 Hiratanenashi	9.459±0.287
	海安小方柿 Haianxiaofangshi	11.027±0.256
	小四瓣 Xiaosiban	18.344±0.578
	恭城月柿 Gongchengyueshi	6.276±0.057
	玉环长柿(芽变) Yuhuanchangshi(bud mutation)	18.600±0.62
	永济青柿 Yongjichangshi	11.126±1.636
	胎里红 Tailihong	5.185±0.224
	圃柿3号 Pushi 3	15.464±0.645
	大荔七月黄 Daliqiyuehuang	2.809±0.143
	大面糊 Damianhu	3.090±0.227
	粘眼窝 Nianyanwo	24.213±0.414
	车串柿 Chechuanshi	6.572±0.154
	贡柿 Gongshi	7.779±0.392
	伏尖顶 Fujianting	7.055±0.206

续表3 Continued Table 3

来源 Source	品种 Varieties	含量/(g/100 g) Content
磨盘柿 Mopanshi	17.507±0.264	
德阳柿 Deyangshi	49.946±0.546	
君迁子 Date plum	24.365±1.427	
黄边小鸡心 Huangbianxiaojixin	7.965±0.765	
油柿 Youshi	15.666±1.301	
玉环长柿 Yuhuanchangshi	23.421±0.599	
怀胎柿 Huaitaishi	12.999±0.792	
金枣柿 Jinzaoshi	3.068±0.478	
邵安元宵柿 Shaoanyuanxiaoshi	27.918±1.106	
小果甜柿 Xiaoguotianshi	14.281±1.635	
上西早生 Uenishi-wase	2.177±0.043	
松本早生 Matsumoto-wase	2.034±0.075	
小宝盖柿 Xiaobaogaishi	5.647±0.791	
四方甜柿 Sifangtianshi	7.264±0.320	
罗田甜柿 Luotiantianshi	11.004±0.595	
鄂柿1号 Eshi 1	13.947±0.285	

2.3 柿不溶性单宁清除DPPH·自由基的能力

选取陕西杨凌的爱知早生、前川次郎,涩柿粘眼窝甜柿和湖北武汉的罗田甜柿和涩柿磨盘柿,比较不溶性单宁清除DPPH·自由基的能力。从图1中可以看出,在5~30 μg/mL的质量浓度范围内,5种不溶性单宁都有清除羟基自由基的能力,且涩柿高于甜柿;湖北武汉的甜柿高于陕西杨凌的甜柿,武汉的涩柿低于陕西杨凌的涩柿。

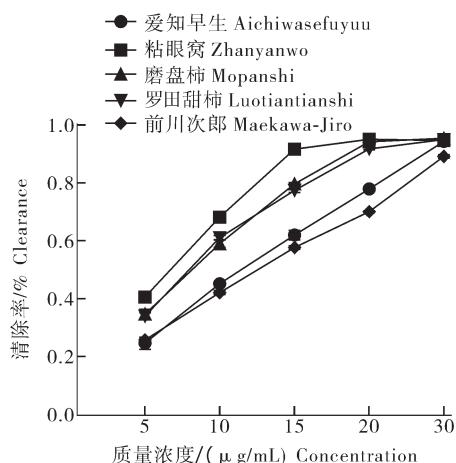


图1 柿不溶性单宁清除DPPH·自由基能力

Fig.1 Determination of DPPH· radical scavenging ability of insoluble tannin in Persimmon

2.4 柿不溶性单宁清除羟基自由基的能力

选取陕西杨凌的甜柿爱知早生、前川次郎、涩柿粘眼窝,湖北武汉的甜柿罗田甜柿和涩柿磨盘柿,比较不溶性单宁清除羟基自由基的能力。从图2中可以看出,在0.2~1.2 mg/mL的质量浓度范围内,5种不溶性单宁都有清除羟基自由基的能力,且涩柿高于甜柿,湖北武汉的甜柿高于陕西杨凌的甜柿,武汉的涩柿低于陕西杨凌的涩柿。

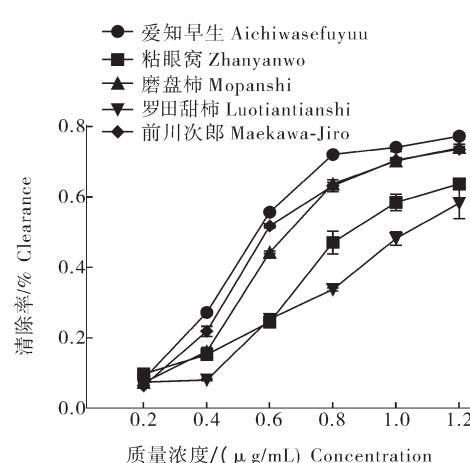


图2 柿不溶性单宁清除羟基自由基能力

Fig.2 Determination of hydroxyl radical scavenging ability of insoluble tannin in Persimmon

3 讨 论

本研究结果表明,不同地域及品种柿中单宁的含量和组成存在差异,可溶性单宁中单体组成主要为没食子酸(GA)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素(EC)和儿茶素(C),并未检测出EGC,这与前人的报道^[12]有所区别。有研究发现在22个柿品种检测到的没食子酸含量存在差异,检测到的最低含量只有1.75 mg/kg,最高含量可达221 mg/kg^[13-14],还有研究者测定了17个不同品种柿果中的儿茶素(C)含量,发现‘磨盘柿’儿茶素(C)含量最高(58.1 mg/kg),‘刀根早生’儿茶素含量最低(1.8 mg/kg)^[15-16]。韩振诚等^[17]研究了水城磨盘柿和兴义磨盘柿中缩合单宁的含量,分别为(27.37±0.05) mg/g和(17.29±0.04) mg/g,本文测得武汉磨盘柿中不溶性单宁含量为(17.507±0.264) g/100 g,表明不同区域柿果中不溶性单宁含量存在差异。费学谦等^[18]比较了不同品种甜柿和涩柿在成熟过程中单宁组成成分的差异,发现甜柿在果实发育早期儿茶素(C)含量很高,涩柿在果实发育过程中没食子酸(GA)含量明显高于甜柿。因此,在成熟过程中甜柿和涩柿品种中可溶性单宁的组成及含量会发生动态变化。Chen等^[19]利用盐酸甲醇提取柿总酚,结果显示,永济青柿、禅寺丸和胎里红总酚含量分别为(11.04±0.12)、(6.74±0.26)和(18.44±0.28) mg/g,而本研究测定永济青柿、禅寺丸和胎里红总酚含量分别为(0.816±0.069)、(0.295±0.004) g/100 g和(5.663±0.202) g/100 g,总酚含量存在差异,可能是因为提取溶剂和柿果成熟度不同而导致的。但是2种提取方式都表明完全涩柿的总酚含量高于不完全甜柿的总酚含量。不同地区气候、生态环境、栽培条件都是影响柿果中多酚类化合物含量的重要因素^[20]。湖北武汉柿果与陕西杨凌柿果单宁在含量及组成存在差异,湖北武汉完全甜柿(PCNA)可溶性单宁的总酚含量及组成整体上高于其在陕西杨凌的完全甜柿(PCNA)中的含量,这可能与两地的气候及生态环境等相关。An等^[21]等从磨盘柿残渣中提取柿单宁,发现不溶性单宁含量最高可达221.8 mg/g。孟明佳等^[22]提取河北保定的磨盘柿残渣,发现不溶性单宁含量达221.57 mg/g。与本试验检测的(17.507±0.264) g/100 g无明显差异。由于柿果涩味的产生主要是可溶性单宁,在测定的52种柿果中,发现涩柿中的总酚和没食子酸含量高于完全甜柿中的含量。Tessmer等^[23]利用光学显微镜(LM)观察

发现,与甜柿相比,成熟早期涩柿果肉中的可溶性单宁含量更高,且随着涩柿成熟过程的推进,可溶性单宁的含量会急剧下降。可能因为在柿果发育的早期阶段,与单宁合成相关的基因(通过类黄酮生物合成途径)在甜柿和涩柿类型中均高水平表达,在成熟时,甜柿中这些基因的表达会下调,从而导致单宁积累的终止和涩味的丧失。但涩柿即使在成熟后期也会保持高水平的基因表达,含有高浓度的单宁^[24]。还有研究指出,完全甜柿在发育早期阶段就停止了单宁细胞的发育,由于单宁的含量不会随着果实的生长而增加,因此其浓度会随着其他化合物的增加而逐渐降低,即“稀释效应”。其他类型的柿果(不完全甜柿、完全涩柿、不完全涩柿)果实的单宁细胞发育时间较长,在成熟末期浓度较高^[25]。另外,有研究用乙醇处理未成熟的中国完全甜柿,发现乙醇处理可加速可溶性单宁向不溶性单宁转化,认为柿果脱涩不仅涉及单宁物质的“稀释效应”,还可能存在单宁的“凝固”^[26]。综合上述数据可知,甜柿因为“稀释效应”,可溶性单宁含量略低;涩柿因为在成熟早期,可溶性单宁含量较高,在成熟后期,可能因为可溶性单宁的“自然凝固”,导致不溶性单宁含量增高,去除了涩味^[27]。因此,涩柿和甜柿中不溶性单宁的含量无显著性差异。

原花青素的抗氧化能力来源于分子中存在的大量酚羟基,其自由基清除能力与酚羟基有关。柿单宁是由几种低分子质量的化合物通过C—C键连接而成的一类高分子化合物,研究发现聚合度大的柿单宁级分清除DPPH·和羟基自由基能力更强^[11]。柿果中的不溶性单宁主要为高聚体,在体外可表现出显著的抗氧化能力^[28-29]。Yonemori等^[30]报道甜柿中小分子质量组分占优势,而涩柿中高分子质量组分占优势。Yildiz等^[31]发现非完全甜柿(non-PCNA)柿果酚类的总抗氧化能力是完全甜柿(PCNA)品种的2.3倍和1.9倍。本研究在对甜柿和涩柿中不溶性单宁清除DPPH·和羟基自由基能力的对比中发现,涩柿抗氧化能力高于甜柿,这可能与其独特的结构密切相关,推测可能是涩柿中不溶性单宁的聚合度高于甜柿中的不溶性单宁聚合度。

近年来我国柿总产量和种植面积稳居第一,但柿果易腐烂、不耐贮运,给加工利用带来了不便和限制,造成大量柿果被丢弃。在中国、日本、西班牙和意大利,柿常被加工成果酒和醋^[32],含有大量不溶性单宁的残留物被浪费,导致环境安全问题。本研究

测定了52个柿品种可溶性单宁组成和含量以及不溶性单宁的含量和抗氧化能力,但柿果在成熟过程中可溶性单宁和不溶性单宁的含量和结构是动态变化的,关于不同时期单宁的含量变化及峰值有待进一步研究。

参考文献 References

- [1] GEORGE A, MOWAT A, COLLINS R, et al. The pattern and control of reproductive development in non-astringent persimmon (*Diospyros kaki* L.): a review [J]. *Scientia horticulturae*, 1997, 70(2/3): 93-122.
- [2] SALAZAR-BERMEJO J, MORENO-CHAMBAB M, MARTÍNEZ-MADRIDI M C, et al. Potential of persimmon dietary fiber obtained from byproducts as antioxidant, prebiotic and modulating agent of the intestinal epithelial barrier function[J/OL]. *Antioxidants*, 2021, 10 (11) : 1668 [2022-05-10]. <https://doi.org/10.3390/antiox10111668>.
- [3] 董晓倩.柿单宁含量测定及肠道菌群对其代谢的研究[D].武汉:华中农业大学,2014.DONG X Q. Determination of persimmon tannin and its metabolism by rats' intestinal flora[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese with English abstract).
- [4] MATHEUS J R V, DE BRITO NOGUEIRA T B, PEREIRA A P A, et al., Antibacterial films made with persimmon (*Diospyros kaki* L.), pectin, and glycerol: an experimental design approach[J]. *Journal of food science*, 2021, 86(10): 4539-4553.
- [5] KAUR N, KUMARI A, AGARWAL A , et al., Utilisation of *Diospyros kaki* L. (persimmon) as a functional ingredient to produce functional foods: a review [J]. *Nutrition & food science*, 2022, 0120 [2022-05-10]. <https://doi.org/10.1108/NFS-11-2021-0337>.
- [6] FERRARA L. Persimmon (*Diospyros kaki* L.): nutritional importance and potential pharmacological activities of this ancient fruit[J]. *Journal of software engineering*, 2021, 7: 1-4.
- [7] KITABATAKE M, MATSUMURA Y, OUJI-SAGESHIMA N, et al. Persimmon-derived tannin ameliorates the pathogenesis of ulcerative colitis in a murine model through inhibition of the inflammatory response and alteration of microbiota[J]. *Scientific reports*, 2021, 11(1): 1-13.
- [8] SUN B, RICARDO-DA-SILVA J M, SPRANGER I, Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 1998, 46(10): 4267-4274.
- [9] 陈多多.“胃柿石”形成风险初探[D].武汉:华中农业大学, 2018. CHEN D D. Preliminary study on the formation risk of “gastric persimmon stone” [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2018(in Chinese with English abstract).
- [10] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[M].北京:中国医药科技出版社, 2015, National Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of the Peoples Republic of China: Fourth part* [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Publishing House, 2015 (in Chinese).
- [11] 田燕.柿子单宁体内外抗氧化活性及结构研究[D].武汉:华中农业大学, 2012. TIAN Y. Antioxidant activity and structure of persimmon tannins *in vitro* and *in vivo* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012 (in Chinese with English abstract).
- [12] SUZUKI T, SOMEYA S, HU F, et al. Comparative study of catechin compositions in five Japanese persimmons (*Diospyros kaki*) [J]. *Food chemistry*, 2005, 93(1): 149-152.
- [13] GORINSTEIN S, ZACHWIEJA Z, FOLTA M, et al. Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples [J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2001, 49(2): 952-957.
- [14] JUNG S T, PARK Y S , ZACHWIEJA Z, et al. Some essential phytochemicals and the antioxidant potential in fresh and dried persimmon [J]. *International journal of food sciences and nutrition*, 2005, 56(2): 105-113.
- [15] CHEN X, FAN J , YUE X , et al. Radical scavenging activity and phenolic compounds in persimmon (*Diospyros kaki* L.cv.Mopan) [J]. *Journal of food science*, 2008, 73(1): C24-C28.
- [16] VEBERIC R, JURHAR J , MIKULIC-PETKOVSEK M, et al. Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.) [J]. *Food chemistry*, 2010, 119(2): 477-483.
- [17] 韩振诚,潘学军,安华明,贵州柿地方品种果实品质及发育动态研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2017,45(7): 97-106.HAN Z C, PAN X J, AN H M. Study on fruit quality and development dynamics of guizhou persimmon cultivars [J]. *Journal of Northwest A&F University (natural science edition)* , 2017, 45(7): 97-106 (in Chinese with English abstract).
- [18] 费学谦,周立红,龚榜初,不同甘、涩类型柿果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 X Q, ZHOU L H, GONG B C. Tannin composition of persimmon fruits of different sweet and astringent types and tannin characteristics of Luotian sweet persimmon[J]. *Journal of forestry research*, 1999, 12 (4) : 369-373 (in Chinese with English abstract).
- [19] CHEN J, DU J, GE Z Z, et al. Comparison of sensory and compositions of five selected persimmon cultivars (*Diospyros kaki* L.) and correlations between chemical components and processing characteristics [J]. *Journal of food science and technology*, 2016, 53(3): 1597-1607.
- [20] 孙化鹏,张珉,钟晓红.柿叶总黄酮超声辅助提取工艺研究[J].湖南林业科技,2014,41(5): 18-21.SUN H P, ZHANG M M, ZHONG X X., Study on ultrasonic assisted extraction technology of total flavonoids from persimmon leaves [J]. *Hunan forestry science and technology*, 2014, 41 (5) : 18-21 (in Chinese with English abstract).
- [21] AN X , FENG R, YANG J, et al. Tannin extraction and changes in content during the maturation of Mopan persimmon fruits [J]. *Journal of food measurement and characterization*, 2021, 15(5): 3985-3993.
- [22] 孟明佳,凌敏,张金闯.柿渣中不溶性单宁分析及其抗氧化活性 [J]. *食品科技*, 2017 (1) : 100-106. MENG M J, LING M, ZHANG J C., Analysis of insoluble tannin in persimmon residue and its antioxidant activity [J]. *Food science and technology*, 2017(1): 100-106(in Chinese with English abstract).
- [23] TESSMER M A, BESADA C, HERNANDOI, et al., Micro-

- structural changes while persimmon fruits mature and ripen: comparison between astringent and non-astringent cultivars [J]. Postharvest biology and technology, 2016, 120: 52-60.
- [24] IKEGAMI A, YONEMORI K, KITAJIMA A, et al. Expression of genes involved in proanthocyanidin biosynthesis during fruit development in a chinese pollination-constant, nonastringent (PCNA) persimmon, 'Luotiantianshi' [J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2005, 130(6): 830-835.
- [25] YONEMORI K, IKEGAMI A, KANZAKI S, et al. Unique features of tannin cells in fruit of pollination constant non-astringent persimmons [J]. Acta horticulturae, 2003, 601: 31-35.
- [26] 王燕.中国原产完全甜柿自然脱涩机理研究[D].武汉:华中农业大学, 2010. WANG Y. Study on natural deastringent mechanism of completely sweet persimmon in China [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010(in Chinese with English abstract).
- [27] GUO X H, FANG S Z, WANG J, et al. Study on the infection of the Mopan persimmon quality by carbon dioxide [J]. Food research developments, 2006, 27: 156-159.
- [28] ZHOU C, MAOK M, LI J, et al. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory capacity of nonextractable polyphenols in Mopan persimmon [J]. Food science & nutrition, 2020, 8(10): 5729-5737.
- [29] 崔翠, 侯文元, 王波. 同聚合度柿子单宁的体内外抗氧化作用 [J]. 现代园艺, 2015(14): 12. CUI C, HOU W Y, WANG B. Antioxidant effects of persimmon tannins with different polymerization degrees *in vitro* and *in vivo* [J]. Modern horticulture, 2015 (14): 12(in Chinese with English abstract).
- [30] YONEMORI K, MATSUSHIMA J, SUGIURA A. Differences in tannins of non-astringent and astringent type fruits of Japanese persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) [J]. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 1983, 52(2): 135-144.
- [31] YILDIZ, E., M. KAPLANKIRAN, Changes in sugars content and some biochemical substances during fruit development in different persimmon cultivars [J]. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2016, 23(1): 12-23.
- [32] ZOU B, XIAO G S, XU Y J, et al., Persimmon vinegar polyphenols protect against hydrogen peroxide-induced cellular oxidative stress via Nrf2 signalling pathway [J]. Food chemistry, 2018, 255: 23-30.

Content and composition of tannins in persimmon fruit from different regions and varieties

ZHANG Yajie, XU Yawei, LI Chunmei

College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education, Wuhan 430070, China

Abstract Nineteen persimmon varieties grown in Wuhan, Hubei Province and thirty-three persimmon varieties grown in Yangling, Shanxi Province, were used to investigate the differences in the content and composition of soluble tannins, the content of insoluble tannins and the free radical scavenging ability of DPPH[·] among different regions and varieties to study the effects of factors including geography and variety on the composition, the content and the activity of active ingredients in persimmon fruit. The results showed that there were differences in the content and composition of tannins in the persimmon fruits from Wuhan, Hubei Province and Yangling, Shaanxi Province. The monomer components of soluble tannins in persimmon fruits were mainly gallic acid (GA), epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin (EC) and catechin (C). The content of total phenol and the composition of soluble tannins in the pollination content non-astringent (PCNA) grown in Wuhan, Hubei Province were generally higher than those in the PCNA in Yangling, Shaanxi Province. There was no significant difference in the content of insoluble tannins between non-astringent persimmon varieties and astringent persimmon varieties. However, the content of insoluble tannins in astringent varieties and PCNA from Wuhan was generally higher than that from Yangling. The scavenging ability of DPPH[·] and hydroxyl radical by insoluble tannins in astringent varieties was higher than that in non-astringent varieties. It is indicated that the differences in regions and varieties are important factors affecting the content and composition of tannins in the persimmon fruits.

Keywords persimmon fruits; tannins; polyphenol; anti-oxidation

(责任编辑:张志钰)