

灵武长枣多糖含量的变化规律

杨 军¹, 章英才¹, 苏伟东²

(1. 宁夏大学 生命科学院, 宁夏 银川 750021; 2. 宁夏红枣工程技术研究中心, 宁夏 灵武 750400)

摘 要:以 3 a 生灵武长枣树的枣果、当年生茎和叶为试材, 采用分光光度法, 研究不同发育时期灵武长枣果实中多糖的含量变化规律及其多糖动态积累的相关性。结果表明: 不同发育时期叶片中的多糖含量达到极显著差异, 在果实的坐果期达到最高值, 膨果期末降至最低值, 从着色期开始多糖含量有所增加; 茎中多糖含量变化差异不显著; 果实中多糖含量在坐果期、膨果期和着色期变化平稳, 成熟期急剧升高至积累高峰, 含量为 12.33%; 随着果实发育成熟, 外果皮和中果皮中的多糖含量逐渐升高, 并存在极显著差异, 而内果皮中多糖含量呈先上升后下降的趋势。表明, 灵武长枣果实多糖主要在果实的膨果期积累, 成熟期时多糖含量最高, 中果皮为多糖积累的主要部位, 果实中多糖的积累与茎和叶存在一定的相关性。

关键词:灵武长枣; 果实; 多糖; 积累规律

中图分类号:S 665.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)20-0013-04

灵武长枣 (*Zizyphus jujuba* Mill cv. lingwuchangzao) 在灵武已有 1 400 多年的栽培历史, 是宁夏具有地方特色的优良鲜枣品种, 深受人们喜爱, 被誉为“果中瑰宝”、“长寿之果”。灵武长枣果实中富含多种矿物质、维生素和糖类物质, 具有润肺止咳、补五脏, 对高血压、动脉硬化等也有较好功效。目前, 对灵武长枣的研究主要集中于产业化生产及保鲜方面, 喻菊芳等^[1]采用焦锑酸钾沉淀法, 对灵武长枣正常果及不同开裂度果实中的 Ca^{2+} 进行细胞化学定位发现, 正常灵武长枣青果期的外果皮细胞存在大量的钙沉淀颗粒, 红果期外果皮细胞中钙沉淀颗粒特异性地沿细胞壁分布, 具轻微开裂的灵武长枣外果皮细胞中无钙沉淀颗粒, 完全开裂的灵武长枣中钙沉淀颗粒只分布在少数体积较小的外果皮细胞中, 而果肉细胞的细胞壁边缘以及胞间隙中分布有大量的钙沉淀颗粒; 胡云峰等^[3-4]将超声技术应用于灵武长枣三萜类化合物和环磷酸腺苷(cAMP)提取中, 采用响应面分析(RSA)法的 Box-Behnken 进行试验设计, 得出超声波提取灵武长枣三萜类化合物和环磷酸腺苷的最佳条件。灵武长枣果实中富含多种有效成分, 而多糖是灵武长枣果实中

重要的活性成分之一, 但目前对灵武长枣多糖的研究报道较少。现通过分光光度法, 研究不同发育时期果实及其相关组织中多糖含量的变化规律, 探讨果实中多糖的积累动态及其相关性, 旨在为灵武长枣的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

灵武长枣采自宁夏灵武市果业公司农场。根据魏卫东等^[5]关于灵武长枣物候期的观察, 从盛花期开始, 分别在盛花期、坐果期、膨果期每隔 15 d 取样 1 次, 在果实的着色期和成熟期每隔 7 d 取样 1 次。每次取样时分别从果树的同一方向选取大小一致、无腐烂和无机械伤的果实, 分别装入微孔保鲜袋中, 每袋 500 g, 扎紧袋口, 带回实验室经破碎后备用。在盛花期、坐果期、膨果期和着色期分别采集枣树的完整、无病虫害的当年生茎和叶, 处理同上。

苯酚、浓硫酸、无水乙醇、丙酮、石油醚(60~90℃)、氯仿、正丁醇等均为分析纯。

5% 苯酚试剂的配制: 取苯酚 100 g, 加铝片 0.1 g 和 NaHCO_3 0.05 g, 蒸馏, 收集 172~182℃ 馏份, 称取 5 g, 加水 100 mL 溶解, 置棕色瓶内放冰箱备用。

1.2 试验方法

1.2.1 多糖的提取与精制 取过 40 目筛的灵武长枣果实 25 g, 置于烧杯中超声 15 min 后, 80℃ 索氏提取脱脂, 过滤, 滤渣加入 80% 乙醇, 回流提取。取滤渣, 80% 乙醇洗涤 3 次, 挥干溶剂, 加蒸馏水 100 mL 沸水浴提取 2 次, 每次 1.5 h。离心, 取上清液, 滤渣再加蒸馏水 100 mL 沸水浴再提 1 次, 合并上清液, 真空浓缩, 浓缩

第一作者简介: 杨军(1984-), 男, 硕士, 现主要从事结构植物学的研究。E-mail: ayngjun@163.com。

责任作者: 章英才(1967-), 男, 教授, 硕士生导师, 现主要从事药用植物结构与有效成分关系的研究工作。E-mail: yingcaizh@163.com。

基金项目: 宁夏自然科学基金资助项目(NZ1014)。

收稿日期: 2011-08-04

液与等体积的 Sevag 试剂混合,搅拌、静置、分出氯仿层,除去蛋白质。此过程反复多次,直至多糖溶液在 280 nm 处无紫外吸收。水层采用斐林试剂去除可溶性的还原糖,加入 1% 活性碳脱色,抽滤,滤液中缓慢加入 95% 乙醇,使乙醇浓度达 75%,放置 4℃ 冰箱中过夜,离心,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,冷冻真空干燥至恒重,即得精制灵武长枣多糖。

1.2.2 标准曲线的制作 精密称定 105℃ 干燥至恒重的无水葡萄糖 50 mg,定容于 500 mL 容量瓶中,摇匀,配制成浓度为 100 μg/mL 的标准葡萄糖溶液备用。精密吸取此溶液 1、2、3、4、5、6、7、8 mL 分别置于 8 个 10 mL 棕色容量瓶中,加蒸馏水定容到 10 mL 棕色容量瓶中,摇匀,备用。多糖测定采用罗毅等^[6]的优化方法。用 T6 新世纪型紫外可见分光光度计于 490 nm 波长处比色,测定吸光度,得回归方程: $Y = 0.1138x + 0.1068$ ($R^2 = 0.998$)。

1.2.3 方法学考察及换算因子的计算 稳定性试验:精密移取灵武长枣多糖待测液 2.0 mL,按测定标准曲线的方法每隔 30 min 测定 1 次吸光度,连续 4 h 考察其稳定性,试验结果其 RSD=0.62%,表明样品在 2 h 内显色稳定。加样回收率:精密移取已知含量的粗多糖样品溶液 0.5 mL 5 份,分别置于 5 个试管中,分别加入葡萄糖标准系列溶液 0、0.2、0.3、0.4、0.5 mL,按照测定标准曲线的方法测定其吸光度。测定平均加样回收率为 97.11%,表明该方法的准确度良好,因此该方法适于灵武长枣多糖的测定。换算因子:精密称取干燥至恒重的多糖 10 mg,加水适量溶解,置 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,作为贮备液。精密吸取多糖贮备液 1 mL,加入蒸馏水 1 mL,按标准曲线操作方法测定吸光度,从回归方程中求出供试液中葡萄糖质量浓度(C),按以下公式 $f = W/CD$,计算换算因子,W 为多糖质量(mg),D 为多糖溶液稀释因子,f 为换算因子。测得 $f = 2.85$ ($n = 4$)。

1.2.4 多糖含量的测定 分别取各样品灵武长枣样品 60℃ 烘干。粉碎后过 40 目筛得果肉粉备用;分别精密称取各样品 0.2 g,置于烧杯中超声 10 min,加入石油醚,80℃ 脱脂 1 h。过滤,滤渣挥干溶剂后,加入 80% 乙醇,80℃ 回流提取 2 次,每次 1 h,去滤渣,挥干溶剂,滤渣加蒸馏水 100 mL 沸水浴提取 2 次,每次 1 h,定容 500 mL,备用。按照 1.2.2 标准曲线的制作的方法。测定吸光值 A,根据回归方程计算葡萄糖含量。多糖含量 $W(\%) = (CDf/w) \times 100$,C 为供试液葡萄糖浓度,D 为供试液的稀释因素,f 为换算因素,w 为供试品的重量。

1.2.5 数据分析 每个样品重复测定 3 次。数据以平均数±标准差表示,应用 SAS 8.2 统计软件处理数据;最小显著差数法(LSD)检验显著性;用 Excel 2003 软件作图。

2 结果与分析

2.1 叶片和茎多糖含量动态变化

分别对灵武长枣盛花期、坐果期、膨果期、成熟期的叶片和当年生茎中多糖含量分析(图 1)可知,不同时期叶片中的多糖含量存在极显著差异($P < 0.01$),叶片中多糖含量在坐果期达到最高值,在果实的膨果期末降至最低值,与果实中的多糖积累在一定程度成负相关($r = 0.74091$);着色期开始,叶片中的多糖含量有所增加。在果实的不同发育时期,当年生茎中的多糖含量变化差异显著,在盛花期与坐果期,当年生茎中的多糖含量差异达显著水平($P < 0.05$),而在果实的膨果期、着色期和果实的成熟期,未达到显著水平($P < 0.05$)。

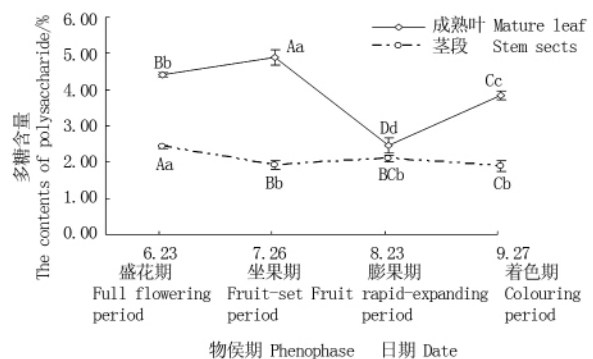


图 1 灵武长枣叶片与当年生茎中多糖含量

Fig. 1 The contents of polysaccharide in leaf and current growth stem of *Zizyphus jujuba* Mill cv. lingwuchangzao

注:不同大小写字母分别表示材料间在 0.01 和 0.05 水平差异显著。下同。

Note: The different capital and normal letter indicate significant difference among materials at 0.01 and 0.05 level respectively. The same as below.

2.2 果实多糖含量动态变化

2.2.1 不同发育时期的果实多糖的动态变化规律

由图 2 可知,坐果期、膨果期、着色期和成熟期果实样品中的多糖含量存在极显著性差异($P < 0.01$),其中成熟期果实中的多糖达到积累高峰,含量为 12.33%。果实中多糖的含量在不同发育时期均呈上升趋势,在坐果期、膨果期和着色期变化平稳,成熟期多糖含量上升趋势加快,并达到积累高峰。

2.2.2 不同发育时期果实的不同组织中长枣多糖的动态变化规律

将坐果期、膨果期、着色期和成熟期采集的灵武长枣果实样品分成外果皮、中果皮、内果皮 3 部分,分别进行多糖含量测定(图 3)。不同发育时期的外果皮和中果皮中的多糖含量随着果实发育逐渐升高,均达到极显著水平($P < 0.01$),外果皮中多糖含量变化较平稳。中果皮与全果中的多糖含量存在正相关性($r = 0.94928$)。而内果皮中多糖含量呈先上升后下降的趋势,在一定时期内,其多糖含量差异均达到极显著水平($P < 0.01$)。

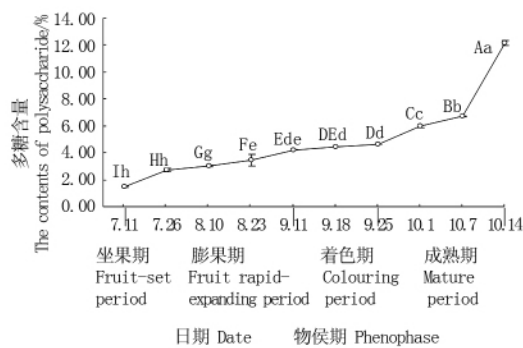


图2 灵武长枣果实中多糖含量

Fig. 2 The contents of polysaccharide in fruit of *Zizyphus jujuba* Mill cv. lingwuchangzao

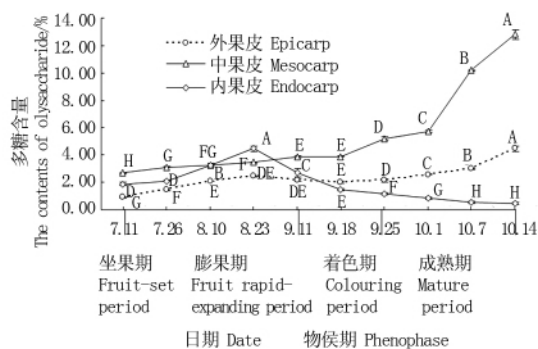


图3 灵武长枣果实不同组织中多糖含量比较

Fig. 3 The contents of polysaccharide in difference tissue of *Zizyphus jujuba* Mill cv. lingwuchangzao

3 讨论与结论

植物叶片产生的光合产物,经韧皮部长途运输后,卸载到发育过程中的果实内,在有关酶的催化作用下,进行一系列的糖代谢及跨膜运输,最终以不同糖的类型积累在果实中^[7]。灵武长枣不同发育时期的叶片和当年生茎中多糖含量分析结果表明,不同发育时期叶片中的多糖含量达到极显著差异,并且呈现先高后低再高的变化趋势,与果实中多糖积累存在一定的相关性;在灵武长枣果实的坐果期、膨果期、着色期和成熟期,当年生茎中的多糖含量差异不显著,可见,茎叶在灵武长枣多糖积累过程中充当源与运输途径的角色。

崔瀚元等^[8]的试验表明,灵武长枣果实在成熟期,果实中的淀粉含量降低,而果实中的糖分含量随着果实的成熟逐渐增加,到完全成熟后期剧增。另外, Yamaki S^[9]研究发现,在果实发育期细胞内各种糖的区域分布是不同的,未成熟的果实贮藏细胞将糖积累到液泡中保持其较高的膨压而使自身膨大,而在成熟期由于在自由空间和胞质中大量积累了糖分,致使卸载到果实中的糖减少,贮藏细胞停止膨大。因此认为,灵武长枣果实多糖主要积累时期是果实的膨果期,而成熟期多糖含量升高,主要原因是由于前期积累的不

溶性多糖水解生成可溶性多糖。而对于灵武长枣果实中多糖种类,与多糖积累的关系以及果实中糖积累相关酶的活性,有待进一步研究。

不同发育时期灵武长枣果实中多糖的含量在整个果实发育期内呈上升趋势,且均存在极显著差异。多糖含量在果实发育前期变化平稳,在成熟期多糖含量上升趋势加快,并达到积累高峰。赵智慧^[10]研究不同发育时期的金丝小枣、冬枣等枣品种的果实中多糖含量试验表明,果实发育的前期,多糖含量较低,在果实发育的大部分时期多糖含量处于缓慢增长状态,果实近成熟期多糖含量急速增加至最高,与该研究结果一致。林玲等^[11]研究4种毛叶枣品种果实发育过程中可溶性糖分的组成及其变化时,也得到了相同的结论,并发现,不同枣品种间的果实中糖分的积累速度和种类存在差异。对灵武长枣不同组织中多糖含量的测定结果表明,完全成熟果实的外果皮和中果皮中的多糖含量达最高值,而内果皮中的多糖含量降至最低值。在整个果实的发育期中,灵武长枣多糖含量差异达到极显著水平,其中外果皮和中果皮的多糖含量均呈升高趋势,内果皮中多糖含量呈先上升后下降的趋势,这主要是由于果实发育后期,其内果皮木质化变硬,多糖含量下降。果实中多糖主要积累在外果皮和中果皮,中果皮是果实中多糖积累的主要组织。

研究表明,成熟期灵武长枣果实中的多糖平均含量为12.33%,略低于梁惠花等^[12]对大枣多糖含量的研究结果,这是由于不同品种的枣果实多糖含量存在差异的结果。

参考文献

- [1] 喻菊芳,魏天军,陈卫军. 灵武长枣种质资源调查和品种选优研究[J]. 中国果树, 2008(1):56-57.
- [2] 杨淑娟,郑国琦,章英才. 灵武长枣正常果及裂果中 Ca^{2+} 的细胞化学定位研究[J]. 西北植物学报, 2011(1):84-88.
- [3] 胡云峰,姜晓燕,崔翰元. 响应面法优化超声波提取灵武长枣中三萜类化合物的研究[J]. 食品工业科技, 2010(5):260-263.
- [4] 胡云峰,姜晓燕,刘维维. 响应面法确定超声波提取灵武长枣中环磷酸腺苷(cAMP)的最佳条件[J]. 食品科技, 2010(7):213-216.
- [5] 魏卫东,雍文,杜玉泉. 灵武长枣物候期观察[J]. 宁夏农林科技, 2005(1):29-30.
- [6] 罗毅,潘细贵,刘刚. 苯酚-硫酸法测定多糖含量显色方式的优选[J]. 中国中医药信息杂志, 2005(1):45-46.
- [7] 吕英民,张大鹏. 果实发育过程中糖的积累[J]. 植物生理学通讯, 2000(3):258-265.
- [8] 崔瀚元,张宏霞,张晓波. 灵武长枣成熟特征分析[J]. 农产品加工(学刊), 2009(2):73-74.
- [9] Yamaki S. Alteration of cellular compartmentation and membrane permeability to sugars in immature and mature apple fruit[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1992, 117(6):951-954.
- [10] 赵智慧. 枣水溶性多糖的研究[D]. 保定:河北农业大学, 2006.
- [11] 林玲,谢江辉,孙光明. 毛叶枣果实发育过程中糖分的积累规律[J]. 热带作物学报, 2009(2):126-130.
- [12] 梁惠花,刘晓河. 大枣多糖的含量测定[J]. 张家口医学院学报, 1999(1):19-21.

Study on the Content Change Laws of Polysaccharide Accumulation with Fruit Growth in *Zizyphus jujuba* Mill cv. lingwuchangzao

YANG Jun¹, ZHANG Ying-cai¹, SU Wei-dong²

(1. College of Life Science, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021; 2. Ningxia Jujube Engineering Technology Research Center, Lingwu, Ningxia 750400)

Abstract: Using spectrophotometer, 3 years old Jujuba fruits, annual stems and leaves as materials, the *Zizyphus jujuba* Mill cv. lingwuchangzao fruit polysaccharide accumulation in different period of fruit growth were studied. The results showed that the polysaccharide content of the leaves at different developmental stages showed significant differences, but the content of the stem was not significant differences. The content of 'Lingwu changzao' polysaccharide was at lower in the earlier stage, and with the development of the fruit, it increased slowly. Near the mature stage, it increased sharply to the highest. The content was 12.33%. With the development of the fruit, the polysaccharide content in the exocarp and mesocarp was increased always. And it showed significant differences. The trends of the polysaccharide content in the endocarp both increased firstly and then decreased. It showed that the polysaccharide of 'Lingwuchangzao' was increased when fruit grew and expanded quickly, the content was highest when fruit was mature. The mesocarp were chief issues which store and accumulate polysaccharide. The leaves and stem was important in the process of accumulating polysaccharide.

Key words: *Zizyphus jujuba* Mill cv. lingwuchangzao; fruit; polysaccharide; accumulation laws

欢迎订阅 2012 年《中国农业科学》中、英文版

《中国农业科学》中、英文版由农业部主管、中国农业科学院主办。主要刊登农牧业基础科学和应用基础科学研究论文、综述、简报等。设有作物遗传育种; 耕作栽培·生理生化; 植物保护; 土壤肥料·节水灌溉·农业生态环境; 园艺; 园林; 贮藏·保鲜·加工; 畜牧·兽医等栏目。读者对象是国内外农业科研院(所)、农业大专院校的科研、教学人员。

《中国农业科学》中文版影响因子、总被引频次连续多年居全国农业科技期刊最前列或前列位次。1999 年起连续 10 年获“国家自然科学基金重点学术期刊专项基金”资助; 2001 年入选中国期刊方阵双高期刊; 1999 年获“首届国家期刊奖”, 2003、2005 年获“第二、三届全国国家期刊奖提名奖”; 2004~2006 年连续荣获第四、五届全国农业优秀期刊特等奖; 2002 年起 7 次被中信所授予“百种中国杰出学术期刊”称号; 2008 年获中国科技信息研究所“精品科技期刊”称号, 及武汉大学中国科学评价中心“权威期刊”称号; 2010 年荣获“第二届中国出版政府奖期刊提名奖”。在北京大学《中文核心期刊要目总览(2008 年版)》中位居“农业综合类核心期刊表”首位。2010 年 1 月起中文版改为半月刊, 将有更多最新农业科研成果通过《中国农业科学》及时报道。

《中国农业科学》英文版(Agricultural Sciences in China)2002 年创刊, 2006 年 1 月起正式与国际著名出版集团 Elsevier 合作, 海外发行由 Elsevier 全面代理, 全文数据在 ScienceDirect 平台面向世界发行。2010 年 1 月起英文版页码增至 160 页。2010 年 Agricultural Sciences in China 被 SCIE 收录, 拟于 2012 年 1 月更名为 Journal of Integrative Agriculture。

《中国农业科学》中文版大 16 开, 每月 1、16 日出版, 国内外公开发行。每期 224 页, 定价 49.50 元, 全年定价 1188.00 元, 国内统一刊号: CN11-1328/S, 国际标准刊号: ISSN0578-1752, 邮发代号: 2-138, 国外代号: BM43。

《中国农业科学》英文版大 16 开, 每月 20 日出版, 国内外公开发行。每期 160 页, 国内订价 36.00 元, 全年 432.00 元, 国内统一刊号: CN11-4720/S, 国际标准刊号: ISSN1671-2927, 邮发代号: 2-851, 国外代号: 1591M。

邮编: 100081; 地址: 北京 中关村南大街 12 号《中国农业科学》编辑部

电话: 010-82109808, 82106280, 82106281, 82106282, 传真: 010-82106247

网址: www.ChinaAgriSci.com E-mail: zgnykx@mail.caas.net.cn