

文章编号:1001-1498(2016)05-0770-08

避光对麻竹笋苦涩味及单宁含量、 形态与分布的影响

章志远, 丁兴萃*, 崔逢欣, 蔡函江

(国家林业局竹子研究开发中心, 浙江省竹子高效加工重点实验室, 浙江 杭州 310012)

摘要: [目的] 探讨不同避光处理对麻竹笋苦涩味强度及单宁含量、形态与分布影响的机理。 [方法] 运用感官评定、光学显微镜、电子显微镜透射技术和磷钨酸-钨酸钠比色法, 采用覆土(EP)、双层不透光套袋(CLPB)和自然生长(CK)3种不同处理, 对麻竹鲜笋的口感品质进行感官评定, 分析测定麻竹笋笋体单宁物质含量、形态和分布。 [结果] (1) 不同处理的麻竹鲜笋的口感不仅均呈苦涩味, 且苦涩味强度均表现为由麻竹笋的基部到笋尖逐渐增强的趋势, 其苦涩味强度整体大小顺序为: CK > CLPB > EP。 (2) 麻竹竹笋壁中含有单宁物质的细胞(CWT)可被2%氯化亚铁溶液染成黑色, 与不含单宁物质的细胞区别明显。 (3) 单宁大量分布在薄壁细胞内, 少量在纤维细胞内, 维管束中的筛管和导管细胞中无单宁分布。 (4) 单宁在薄壁细胞中主要分布于细胞质内, 少量分布在液泡中, 电镜下CWT中积累的单宁可分为絮状、颗粒状和块状3种类型。 (5) 不同处理的麻竹笋单宁含量为 CK: 1.15~2.67 mg·g⁻¹, CLPB: 1.03~1.43 mg·g⁻¹, EP: 0.36~1.13 mg·g⁻¹, 其相应的CWT密度大小顺序为: CK > CLPB > EP, 3种处理不同部位的单宁含量与CWT密度大小均为笋尖 > 中部 > 基部。 [结论] 避光显著降低麻竹竹笋壁的苦涩味强度及单宁含量, 自然光照下生长的麻竹笋苦涩味强度及单宁含量显著高于避光处理; 光与竹笋中单宁物质分布和形态相关不显著, 单宁形态仅与竹笋部位密切相关。覆土、套袋等避光措施可显著降低笋体单宁物质的含量, 降低苦涩味, 改善竹笋的口感品质, 为培育低苦涩味麻竹笋提供科学的理论依据。

关键词: 麻竹笋; 避光处理; 单宁; 苦涩味

中图分类号: S795.5

文献标识码: A

Impact of Avoiding Light on Bitterness and Astringency, Tannin Content, Morphology and Distribution of *Dendrocalamus latiflorus*

ZHANG Zhi-yuan, DING Xing-cui, CUI Feng-xin, CAI Han-jiang

(China National Bamboo Research Center, Zhejiang Province Bamboo High-valued Use Key Laboratory, Hangzhou 310012, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] Probing into the mechanism of different avoiding light patterns on the bitterness and astringency, tannin content, distribution and morphology of *Dendrocalamus latiflorus*. [Method] The distribution and morphology of tannin cells as well as the concentration of tannin in bamboo shoot of *D. latiflorus* were investigated on the three treatments of Mulching with soil (EP), Double-layer light-proof bagging (CLPB), and Natural growth (CK) by means of sensory evaluation, optical microscopy, transmission electron microscopy (TEM) and phosphotungstic acid-sodium tungstate colorimetry. [Result] (1) The results of three treatments showed the bitterness and astringency were increasingly enhanced from base to top of bamboo shoot and the bitterness and astringency of three

收稿日期: 2016-02-25

基金项目: 浙江省“十二·五”农业重大成果转化工程“毛竹林高效生态可持续经营技术示范推广”(2012T201-02); 联合国77国集团佩罗基金项目“Assessment of bamboo shoot development for food in Africa and Latin America”(L-063/2011)

作者简介: 章志远(1989—), 男, 安徽芜湖人, 硕士研究生, 主要从事竹笋品质和竹林培育研究。

* 通讯作者: 丁兴萃, 研究员. E-mail: dxc01@hotmail.com

treatments was: CK > CLPB > EP. (2) The cells with tannins (CWT) of *D. latiflorus* could be dyed black by 2% FeCl₂ solution method which made a clear distinguishing between CWT and non-tannin cells and proved to be effective. (3) Most of the tannin was distributed inside the parenchyma cells, a little was found in fiber cells, but none was detected in the sieve tube and the vessel cell of vascular bundles. (4) Most of the tannin was located inside the cytoplasm and a little distributed in vacuole, the morphology of tannin were flocculent, granular and plate-like under the electron microscope. (5) The tannin content range of the bamboo shoot under different treatment are as follows: CK: 1.15 ~ 2.67 mg · g⁻¹, CLPB: 1.03 ~ 1.43 mg · g⁻¹, and EP: 0.36 ~ 1.13 mg · g⁻¹, and the order of CWT distribution density of three treatments was: CK > CLPB > EP, both the order of tannin content and CWT of three treatments in different parts were: top > middle > bottom. [Conclusion] The bitterness and astringency intensity and tannin content of bamboo shoots had a positive relationship with light, and was much higher in natural light condition than in light-proof one; while the CWT distribution and morphology of bamboo shoots had no relationship with light, the tannin cell morphology was just closely related to the position of bamboo shoot. Such light-proof measures as EP and CLPB significantly reduced the tannin content of bamboo shoot, improved its edible taste quality, therefore it can provide scientific theoretical basis for the cultivation of low bitter and astringent taste of *D. latiflorus*.

Keywords: *Dendrocalamus latiflorus*; avoiding light treatment; tannin; bitterness and astringency

植物单宁是一类化学结构和生物活性复杂的酚类化合物,广泛存在于植物的皮、根、叶、果中^[1],与食物中的蛋白质、淀粉结合影响营养物质吸收,与口腔中的唾液蛋白结合产生收敛性,即苦涩味,降低口感品质^[2]。目前,单宁等次生代谢物质对果蔬品质的影响日益受到重视^[3],口感已成为影响果蔬品质的重要因素之一^[4]。

我国是世界竹笋资源及生产、消费和出口第一大国,2013年笋用竹林和笋材两用竹林面积近2 × 10⁶ hm²,年产竹笋量约8 × 10⁶ t,其中,竹笋加工1.66 × 10⁶ t,出口1 × 10⁶ t,竹笋产业年总产值300亿元,从业农民数量达到200万;但是竹笋出土见光后苦涩味强度迅速加重是一个普遍现象,大大降低了竹笋的食用口感品质和经济价值,是长期制约竹笋产业发展的一个重要瓶颈。据前期研究,占我国竹笋产量80%以上的毛竹(*Phyllostachys edulis* (Carr.) H. de Lehaie)、麻竹(*Dendrocalamus latiflorus* Munro)两大当家竹笋品种,其对光反应更为敏感,口感品质受光影响更为严重^[5]。

目前,对植物单宁的生物合成机制^[6-7]、化学结构分析^[8]及其与环境的关系^[9]已开展了大量研究。关于竹笋的苦涩味仅在单宁含量测定以及对单宁、类黄酮等次生代谢物质与光的关系进行了初步的少量研究^[10-12],特别是有关光对竹笋单宁物质形态、分布及与单宁含量相关性研究还是空白。本文选择笋产量高、笋期长的麻竹^[13]作为材料,采用覆土(EP)、双层不透光套袋(CLPB)和自然生长(CK)的

3种处理,分析测定麻竹笋笋体单宁物质含量、形态和分布,探讨避光对竹笋苦涩味、单宁含量、分布和形态影响的机理,为培育低苦涩味麻竹笋提供科学的理论依据。

1 试验地概况

试验地点位于福建省华安县奇石村人工笋用麻竹林,竹林生长良好,1~3年生。地处117°54'E, 25°00'N,为南亚热带向中亚热带过渡型气候,高温多雨,年均气温21.3℃,年均降水量为1600 mm,无霜期320 d,沙壤土。

2 研究方法

2.1 试验处理及材料

CLPB处理:选择未出土或出土高度(5 ± 2) cm的麻竹笋,竹笋周围插入3根长度为60 cm的竹签,套上规格38 cm × 70 cm双层不透光纸质套袋,纸袋底部用泥土覆盖压实,营造不见光环境。试验所用的纸袋经紫外分光光度计法测试,在200~800 nm可见光波段范围内透光率为0,套袋可达到完全不透光效果。EP处理:在麻竹出笋前对麻竹竹丛垒土形成“小山包”,高度(50 ± 5) cm,直径(40 ± 5) cm。CK处理为自然条件生长的竹笋。每处理布置10个重复。按照竹笋生长高到(50 ± 5) cm于秆基处截断挖取采样,每种处理选取3株无病虫害、无机械损伤的壮笋,洗净并按笋节将竹笋横切分开。电镜和光镜观察样品取样:竹笋第2、6和9节(以竹笋基部

第1个笋节为第1节)分别代表竹笋基部、中部和笋尖,对各处理各节竹笋离笋表皮约1 cm处横向或纵向取样,样品大小2 mm×2 mm×2 mm。感官评定及单宁含量测定样品:单宁物质观察样品取样之后,将横切分开的新鲜竹笋壁采用豆浆机粉碎对应编号,一部分立即进行感官评定,另一部分放入-20℃冰箱中保存待测。

2.2 感官评定方法

感官小组培训方法参照国家标准^[14],感官小组人员18人,由国家林业局竹子研究开发中心科研人员和研究生组成,经过感官实验筛选和培训,最终形成11个人(5男6女,25~48岁)的感官评定小组。

感官评定人员实验前1 h禁食,感官评定前用清水漱口,评定时取待测物(麻竹鲜笋)于一次性杯子里,并放在口中停留15~30 s品尝。感官评定麻竹鲜笋的苦涩味强度时,先与已知苦、涩标准液中的苦丁茶和乳酸锌^[15-16]为参照(表1),进行滋味判别,然后根据相邻参照液的滋味强度,采用量值法得出具体的滋味强度值。

表1 苦、涩标准液

苦丁茶浓度/ (mg·L ⁻¹)	苦味 描述	苦味值	乳酸锌浓度/ (mg·L ⁻¹)	涩味 描述	涩味值
300	极苦	10	1 500	极涩	10
200	苦	8	1 000	涩	8
150	较苦	6	700	较涩	6
100	中度苦	4	400	中度涩	4
25	微苦	2	150	微涩	2
0	无苦味	0	0	无涩味	0

2.3 光镜石蜡切片制作

参照崔凯等^[17]方法。样品经4%戊二醛缓冲液固定48 h,取出并用磷酸缓冲液冲洗,用30%、50%、70%、85%、90%、95%和100%酒精逐级脱水,二甲苯透明,石蜡包埋后切片,石蜡切片厚度约10 μm。二甲苯脱蜡后分别进行100%、95%、90%、85%、70%、50%、30%酒精和去离子水复水,30%、50%、70%、85%、90%、95%和100%酒精逐级脱水,二甲苯透明和中性树胶封片,OLYMPUS-BX53光学显微镜下观察成像。样品2%氯化亚铁溶液染色处理在去离子水复水后进行,固绿衬染处理在95%酒精脱水之后进行。

2.4 透射电镜切片制作

参照吴继林等^[18]方法,HRTEM晶格法参照Angela等^[19]方法。样品经4%戊二醛缓冲液固定48 h

取出,0.1 mol·L⁻¹、pH值7.0的磷酸缓冲液漂洗样品3次,1%的锇酸溶液固定样品1~2 h,0.1 mol·L⁻¹、pH7.0的磷酸缓冲液漂洗3次。30%、50%、70%、80%、90%、95%和100%7个梯度浓度乙醇溶液脱水处理,100%丙酮处理,最后Epon 812包埋。LEICAEMUC7型超薄切片机制片,切片经柠檬酸铅溶液和醋酸双氧铀50%乙醇饱和溶液分别染色,Hitachi H-7650型透射电镜进行观察。对超薄切片中观察到的“单宁物质”和植物单宁提取物(灰色粉状固体)用FEI G20型电子显微镜观察,若“单宁物质”与植物单宁提取物是晶体物质,则计算晶体粒子间距,并进行比对。

2.5 单宁含量测定

采用磷钨酸-钨酸钠比色法^[20]测定。准确称取麻竹鲜笋匀浆2.0 g,用80 mL去离子水洗入100 mL容量瓶中,放入沸水浴中提取40 min,取出、冷却、定容,吸取2.0 mL样品提取液,8 000 r·min⁻¹离心5 min,上清液备用;测定时取上清液1.0 mL至10 mL刻度试管,加入5.0 mL水,再加入1.0 mL F-D试剂,3.0 mL Na₂CO₃溶液,混匀并加水至刻度,避光显色2 h后在765 nm波长下用分光光度计测定吸光度,根据标准曲线求出试样溶液的单宁浓度,计算单宁含量,实验重复3次。

$$\text{单宁含量: } W = p \times A \times 10 \times m^{-1}$$

式中:W:单宁含量(mg·g⁻¹);p:测定液中没食子酸浓度(mg·L⁻¹);10:测定液定容体积(mL);A:样品稀释倍数;m:试样的质量(g)。

2.6 CWT密度计算

含单宁物质的细胞(CWT)密度的计算方法参考张继澎等^[21]方法。用计数器计算显微镜放大100倍情况下的一视野内含单宁物质的细胞数目,即为CWT密度,实验重复6次,取平均值。

2.7 数据统计分析

数据收集或测定后用Excel 2007软件进行整理,并对不同处理竹笋壁单宁含量及CWT进行标准偏差(STDEV)分析;采用SPSS19.0软件对不同处理竹笋壁单宁含量及CWT密度用Duncan法进行差异显著性分析,不同处理笋节竹笋壁单宁含量数据用Origin 7.5软件进行绘图。

3 结果与分析

3.1 不同处理的麻竹鲜笋口感评定结果

感官评定小组对3种不同处理的麻竹鲜笋进行

定性和定量感官评定,结果见表2。定性感官评定结果为:3种不同处理下麻竹鲜笋均主要呈苦涩味。定量感官评定结果表明:不同处理的麻竹鲜笋苦涩味强度差异明显,自然生长的麻竹笋苦涩味强度从第6节开始达到极苦涩,套袋处理在笋尖部位才达苦涩,而覆土笋尖仅达到中度苦涩且基部均处于微苦涩味强度。因此,3种不同处理苦涩味整体强度大小顺序为:CK > CLPB > EP。从表2还看出:3种不同处理均表现为由竹笋壁的基部到笋尖苦涩味强度逐渐增强。

表2 不同处理的麻竹鲜笋口感品质

笋节	CK		CLPB		EP	
	苦味	涩味	苦味	涩味	苦味	涩味
第1节	3.7±0.5	2.4±0.3	3.4±1.1	3.7±0.6	1.5±0.2	1.0±0.2
第2节	3.8±0.8	3.8±0.7	3.2±0.7	3.3±0.3	1.8±0.3	2.0±0.5
第3节	5.9±1.2	6.4±1.4	5.6±1.3	5.6±1.3	2.3±0.8	2.4±0.4
第4节	5.6±1.3	5.8±1.2	5.4±0.5	5.2±0.9	2.4±0.5	2.5±0.8
第5节	6.6±0.9	7.8±2.4	4.8±1.7	6.3±1.6	3.2±0.9	3.4±0.8
第6节	7.7±1.5	8.9±1.3	6.6±2.0	6.8±1.2	3.5±0.4	3.6±0.5
第7节	9.2±1.8	9.7±1.5	7.2±1.3	7.9±0.8	4.3±1.0	4.2±0.9
第8节	8.6±0.4	9.5±0.4	7.6±1.2	8.1±2.1	4.3±1.3	4.2±1.2
第9节	9.3±0.9	9.6±0.6	8.0±1.5	8.8±2.2	5.6±0.5	6.0±1.9

3.2 竹笋壁基本结构特征

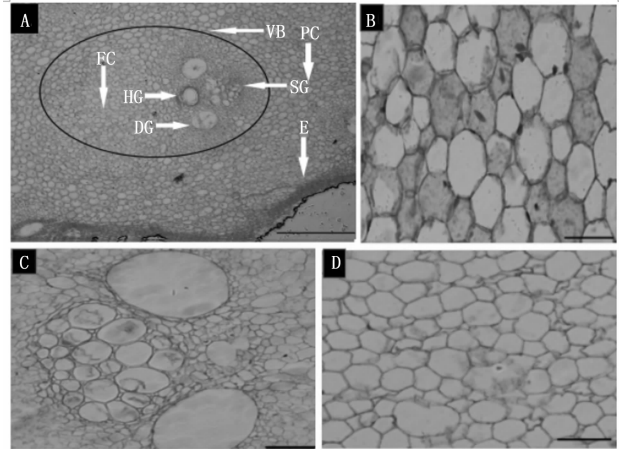
由图1、2可看出:CWT是不显色的,不同于其它植物单宁细胞仅在固绿衬染下显现颜色,如橡胶树(*Hevea brasiliensis* Muell Arg.)树皮中单宁细胞呈红褐色,很容易分辨^[22]。图1A和图2B表明:竹笋壁中基本组织所占比例最大,它是一种薄壁组织,由薄壁细胞组成(图1B和图2C);而维管束散布于基本组织中,主要由纤维、筛管和导管细胞组成(图1C),其中,以纤维细胞数量(图1D)最多,导管细胞管径最大。维管束在竹笋中横切面的分布规律是由表皮到笋心为从密到疏(图2A)。

3.3 光镜下单宁物质的分布

由图3可看出:光学显微镜下单宁物质与氯化亚铁溶液发生化学反应后显现黑色,与不含单宁物质的细胞易区分;竹笋中单宁物质大量分布在薄壁细胞中,少量分布于维管束的纤维细胞中,筛管和导管细胞中未见分布。细胞中单宁物质靠近细胞壁周围分布,没有充盈整个细胞,仅占细胞中少量空间,表明竹笋单宁含量低、单宁物质积累量少等特点。

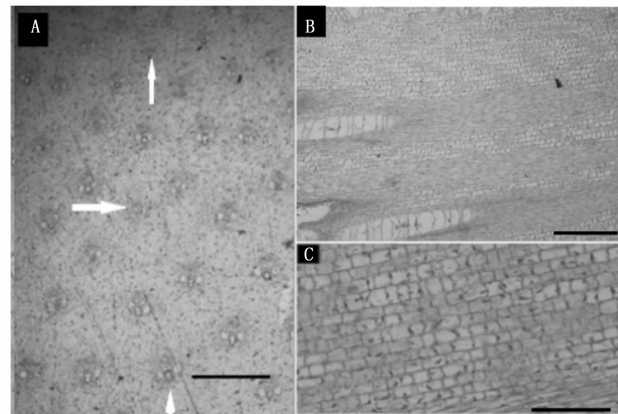
3.4 电镜下单宁物质的分布和形态

由图4可看出:在电镜下单宁物质呈电子致密物质,主要分布在竹笋壁细胞的细胞质内,少量分布



A: 竹笋壁横切面解剖结构; B: 薄壁细胞; C: 维管束结构; D: 纤维细胞。VB: 维管束; FC: 纤维细胞; HG: 原生木皮部; DG: 后生木质部; SG: 原生韧皮部; PC: 薄壁细胞; E: 表皮。标尺: 100 μm

图1 竹笋壁横切面细胞结构观察



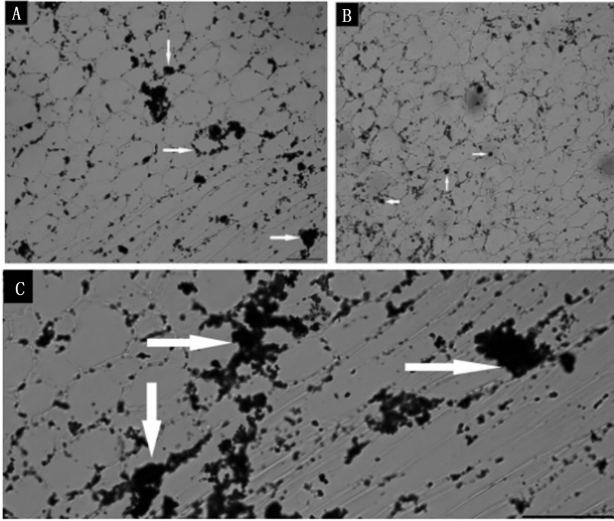
A: 竹笋壁横切面(图片由上到下为竹笋壁由外至内);

B、C: 竹笋壁纵切面。标尺: 100 μm

图2 竹笋壁横切面与纵切面细胞观察

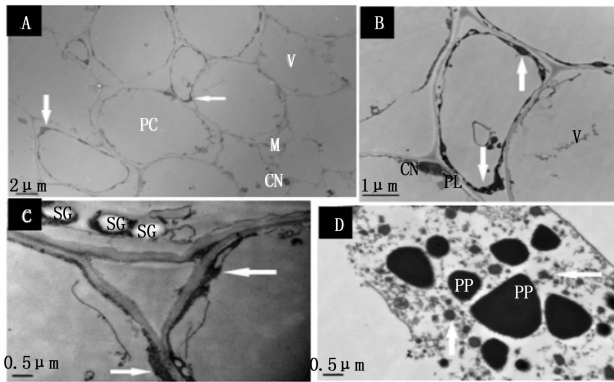
在液泡。这与柿子^[23](*Diospyros kaki* L.)和橡胶树^[22]等典型的单宁含量丰富的植物不同,其单宁物质主要分布在液泡中。竹笋壁细胞的液泡饱满充盈,几乎占据整个细胞,多数单宁物质被液泡挤至液泡膜与细胞质膜之间,靠近细胞壁,导致在电镜下观察整个细胞几乎是空白的。由图5可看出:竹笋基部的竹笋壁细胞中的单宁物质多为小颗粒状,少数为絮状(图5C、D),中部(图5B)和笋尖(图5A)均多为絮状,少数为小颗粒状。竹笋是由基部向笋尖生长发育,发育程度基部高,其次是中部,笋尖最低,表明单宁物质的形态与竹笋部位有关。

由图4、5可看出:笋尖、中部和基部竹笋壁细胞中单宁物质的电子致密程度均很低,单宁物质表现出“黑”和“厚”的特性不明显,表明单宁积累量少。采用HRTEM晶格法对植物单宁提取物与电镜下观



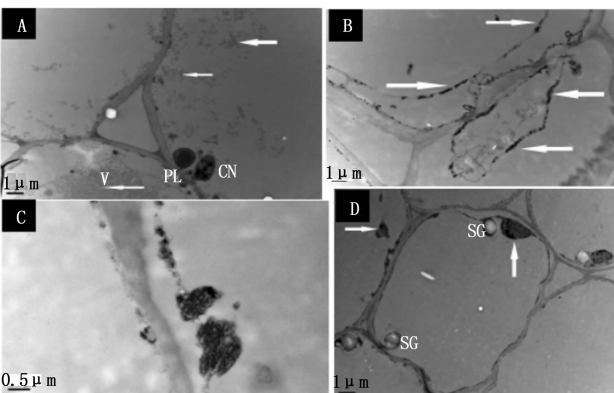
A:竹笋壁纵切面薄壁细胞中的单宁分布;B:竹笋壁横切面纤维细胞中的单宁分布;C:竹笋壁纵切面中的单宁分布。箭头所指为单宁物质。标尺:100 μm

图3 竹笋壁中不同形态单宁分布



PC:薄壁细胞;CN:细胞核;SG:淀粉粒;PP: P 蛋白;PL:胞间连丝;V:液泡;M:线粒体。箭头所指为单宁物质

图4 竹笋细胞内单宁物质的分布



A:笋尖;B:中部;C、D:基部;SG:淀粉粒。箭头所指为单宁物质

图5 电镜下CK处理笋尖、中部和基部单宁的形态

察的“单宁物质”进行晶格衍射,比较植物单宁提取物与电镜下观察的“单宁物质”的晶格间距大小,从

而根据两者之间晶格间距判断是否为同一物质,其观察结果(图6、7)显示:植物单宁标准样品和竹笋壁细胞中黑色物质均为非晶体,排除了电镜下观察的“单宁物质”是蛋白质的可能,进一步验证了黑色致密物质是单宁,同时表明单宁物质呈非晶体结构。

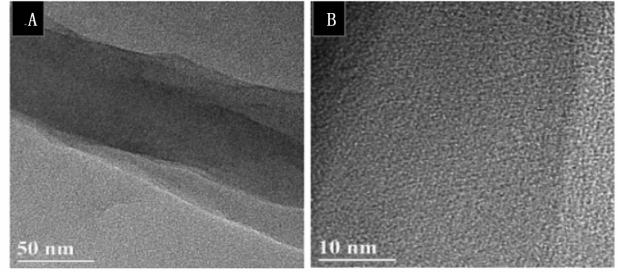


图6 单宁标准样品 HRTEM 晶格结果

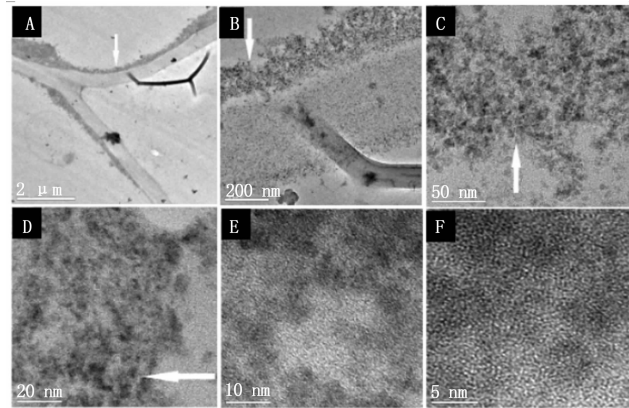


图7 CK处理竹笋“单宁物质”HRTEM 晶格结果

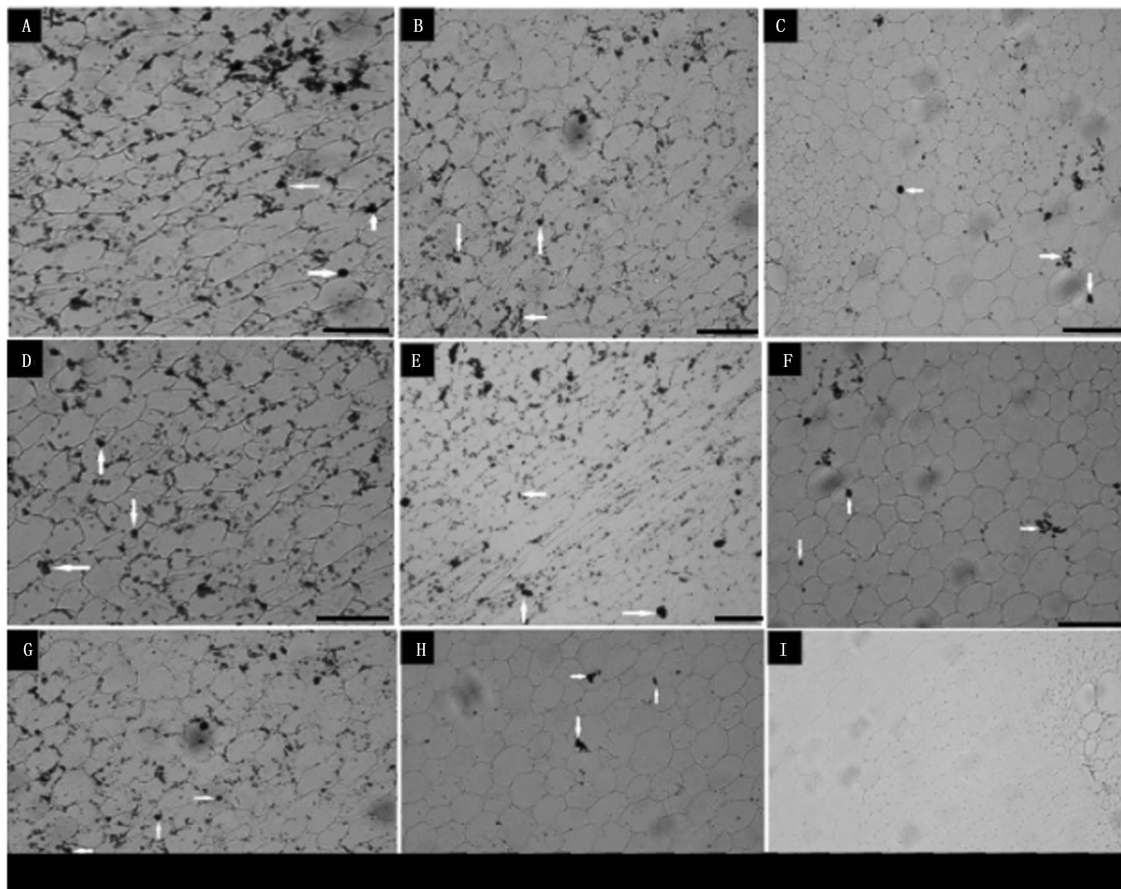
3.5 不同处理麻竹竹笋壁 CWT 密度、分布及形态比较

由表3和图8看出:EP、CLPB和CK3种处理的麻竹竹笋壁组织中的CWT密度差异显著,其不同处理CWT密度大小顺序依次为:CK > CLPB > EP;3种处理不同部位CWT密度大小顺序均为:笋尖 > 中部 > 基部,且3种处理的基部仅有微量CWT分布,这一结果与本研究不同笋节单宁含量水平相吻合(图9),同时与生产实际当中竹笋苦涩味由基部到笋尖递增的事实相吻合,因此,麻竹笋食用当中主要食用基部而少笋尖。EP处理的CWT密度非常低,CK与

表3 3种处理不同笋体部位的CWT密度

处理	CWT 密度		
	笋尖	中部	基部
CK	41Aa ± 6	27Ab ± 3	10Ac ± 1
CLPB	38Aa ± 4	18Bb ± 2	8Ac ± 1
EP	29Ba ± 3	5Cb ± 1	1Bc ± 0

注:每列内大写字母或每行内小写字母不同表示CWT密度差异显著(P < 0.05),字母相同则表示差异不显著(P > 0.05)。



A、B和C分别是CK处理竹笋壁的笋尖、中部和基部;D、E和F分别是CLPB处理竹笋壁的笋尖、中部和基部;G、H和I分别是EP处理竹笋壁的笋尖、中部和基部。箭头所指为单宁物质。标尺:100 μm

图8 3种处理竹笋壁不同部位单宁分布

EP处理差异显著,表明垒土营造的不透光环境下竹笋单宁生物合成量少。生产实际中,地下未出土竹笋口感微甜而不苦涩,是笋中上品,也佐证了EP处理单宁含量低的现象。CLPB处理的竹笋CWT密度虽然比CK处理低,但远高于EP处理,可能因为CLPB处理是选择麻竹笋刚出土5 cm时,套袋仅保证竹笋快速生长期处于黑暗不透光的环境,而从黑暗到出土见光阶段已刺激笋体中单宁合成的光敏感受体物质。作者的其它有关研究表明:单宁合成的光敏感受体是分布在竹笋箨片上(文章未发)。麻竹笋出土5 cm时各笋节上箨片发育好并位于顶端且曝光,只是箨片层层包裹,箨片曝光程度依次降低,因此,竹笋由基部至笋尖单宁含量增加缓慢。

3.6 不同处理的麻竹笋单宁含量比较

由图9可看出:不同光照强度处理的麻竹竹笋从基部到笋尖单宁含量依次为:CK:1.15~2.67 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,CLPB:1.03~1.43 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,EP:0.36~1.13 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。3种处理的单宁含量进行比较:CK与EP处

理相比,从第1~9节即基部到笋尖CK的单宁含量是EP处理的3~4倍,差异显著;CK与CLPB处理相比,第1~4节竹笋壁单宁含量CK的高于CLPB处理,差异不显著,从第4节之后,单宁含量差异显著;CLPB处理与EP处理相比,从第1~9节CLPB处理单宁含量高于EP处理且差异显著。不同处理从基部到笋尖单宁含量变化趋势看,3种处理均表现出逐节递增的趋势,虽然CK和EP处理存在一定范围的波动,但总趋势是逐节递增的。综合分析表明:避光程度与单宁含量呈负相关关系,不同处理单宁含量和苦涩味口感相吻合。由图9还看出:CLPB处理基部1~2节单宁含量较高,但基部到笋尖单宁含量增长幅度很小,即使到第9节单宁含量才达到1.43 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,显著低于CK,可能因为CLPB处理是选择已出土5 cm左右的麻竹笋,基部几节单宁已经开始合成,套袋之后,对中上部竹笋单宁合成起到了较明显的限制作用,导致单宁含量增加缓慢,含量不高;而EP处理,从笋芽分化到竹笋挖取,一直处于不透光的暗环境

下,因此,竹笋单宁含量一直偏低。

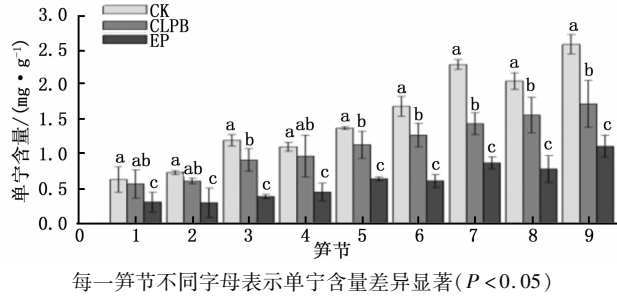


图9 3种处理的麻竹不同笋节单宁含量

4 讨论

4.1 竹笋单宁物质判断研究方法

针对单宁染色的品红、结晶紫和氯化亚铁试剂^[24]3种染色方法,本研究采用2%氯化亚铁溶液染色麻竹笋单宁物质,其染色效果和其它植物一样,光镜下可看到竹笋单宁染成黑色,因此2%氯化亚铁溶液染色适用竹笋单宁染色。但染色效果无柿单宁细胞明显,这可能与竹笋特性相关,因为竹笋出土成笋仅几天到几十天,生长速度快,竹笋水分含量超过90%以上,单宁等次生物质积累少、分布稀疏,因此对微量的单宁染色仍然有效,其可作为竹笋单宁染色方法。

电镜透射观察结果表明,笋尖、中部和基部3种部位竹笋壁细胞中单宁物质形态有颗粒状和絮状两种状态,主要被液泡挤至细胞壁边的细胞质中。为进一步确认电镜下观察到“单宁物质”,采用HR-TEM晶格法对“单宁物质”和单宁标准样品进行分析比对,旨在通过测定粒子晶格间距确认为单宁,然而结果显示标准单宁样品和“单宁物质”均为非晶体结构物质,因此无法采用HRTEM晶格法确认为单宁物质;而蛋白质是晶体物质,因此,推断黑色物质不是蛋白质而是单宁物质。

4.2 竹笋单宁物质分布、形态等特点

竹笋单宁物质主要集中在薄壁细胞中,少量分布在纤维细胞。在薄壁细胞中,单宁物质被大液泡挤至细胞壁附近的细胞质中,仅少量进入液泡,积累量少、分布稀疏,形态主要以絮状和颗粒状2种为主,据此认为竹笋中仅有薄壁细胞中合成少量的单宁,即没有专门功能上合成单宁或单宁呈块状集中分布的单宁细胞。夏宏义等^[25]提到柿子中柿单宁在一种大型特殊细胞中积累,这种特殊细胞被称为单宁细胞,柿子果肉和橡胶树树皮中有上述专门的单宁细胞,单宁物质主要集中在大液泡中,与竹笋壁

的区别明显。因此,竹笋CWT分布、形态可能与竹子本身生长特性有关:竹笋生长速度快,在生长季节每天生长速度达到30~100 cm^[26],2~3个月时间竹高能达到20 m^[27],因此,竹笋壁中主要以水分为主,单宁物质积累少,聚合度低。单宁物质是植物长期进化过程中与环境相互作用的结果,在植物提高自身保护和生存竞争能力、协调与环境关系上充当重要角色^[28-29],是一个长期积累的过程。因此,柿子、橡胶树等多年生木本植物,形成了有专门合成单宁物质的细胞,单宁物质含量高、积累量高、分布密而集中在液泡中。

4.3 避光处理下单宁物质形态、含量和苦涩味强度的关系

3种处理的麻竹笋体基部、中部和笋尖单宁形态呈相同规律:即笋尖主要呈絮状,少量颗粒状;中部和基部笋以颗粒状为主,少量为絮状。单宁含量按照部位均为笋尖>中部>基部,可见避光能够改变单宁物质密度,但不能影响单宁形态。单宁含量按照处理为CK>CLPB>EP,笋体苦涩味强度的感官评定结果为笋尖>中部>基部,表明避光与单宁含量和苦涩味强度均呈负相关。因此,可通过避光降低单宁含量即CWT密度,影响CWT在竹笋壁细胞中的比例,从而改变竹笋苦涩味强度。

生产中广泛运用竹笋避光降低单宁含量,改善竹笋品质^[30-31],提高经济效益。如毛竹笋“黄泥笋”是早春竹笋仍在地下未出土时采收,麻竹笋未出土时覆土垒成“小山包”不透光生长,适时采收,竹笋鲜美,仅带微涩,竹笋市场价格较自然笋高出5~10倍,且市场供不应求。

4.4 竹笋单宁与环境因子光的相关性

CK的单宁含量分别约是CLPB处理和EP处理的1.6倍和4倍,而CLPB处理选择的竹笋出土高度为5 cm,是采样高度的1/10,它们的单宁合成与竹笋高度或光照量不是简单的线性关系,因为竹笋从黑暗到出土至5 cm仅不到半天的初始、少量“曝光”和从5 cm高到50 cm高3~6 d的长时间、大量光照过程中,前者单宁生成幅度远比后者高得多,表明竹笋对光的反应机理有点类似摄影胶卷对光反应的模式,即它的光敏感度非常强,且初始少量的曝光便几乎完成了胶卷整个曝光过程,以后的曝光对其感光不起作用。可见竹笋单宁合成的光反应能力或感应能力非常强,也即光反应阈值很低;同时阈值与竹种有关,进一步表明这个过程是受环境外因和基因

内因双重调控,且外因比内因作用更大些。此现象是由竹子生物学特性决定的,因为笋是竹鞭或秆基上的芽萌发形成,属于无性繁殖:竹笋在地下阶段完成了以细胞分裂为主的发育过程,而竹笋出土生长主要为细胞伸长生长过程,仅仅几天;而柿子从开花到结实是有性繁殖过程,柿子成熟需3~4个月,可见竹笋的单宁合成比柿子受光等环境因子的影响更大,也即竹笋对光的敏感比柿子更强,或者环境因子外因比基因内因的作用更大。

5 结论

综合分析不同栽培模式(套袋、覆土及对照)下的麻竹笋口感品质、单宁含量、CWT分布及形态的影响,结果表明:不同栽培模式麻竹鲜笋的口感均呈苦涩味,避光能显著降低麻竹鲜笋的苦涩味强度;2%氯化亚铁溶液染色竹笋CWT呈黑色,与不含单宁细胞区别明显,染色方法可行;避光显著降低竹笋中的单宁含量,但对CWT分布和形态无显著影响,CWT形态仅与竹笋壁的部位密切相关。运用覆土、套袋等避光措施可显著降低笋体单宁物质的含量,降低苦涩味,改善竹笋的口感品质,为培育低苦涩味麻竹笋提供了科学的理论依据。

参考文献:

[1] 孟昭军,周永泉,严善春,等.外源茉莉酸类化合物对2种落叶松针叶内单宁含量的影响[J].林业科学,2010,46(3):96-104.

[2] Muir A D, Gruber M Y, Hinks C F, et al. Effect of condensed tannins in the diets of major crop insects[M] // Cross G G, Hemingway R W, Yoshida T. Plant polyphenols 2. Chemistry, biology, pharmacology, ecology. New York: Kluwer, 1999: 867-881.

[3] 罗晓文,刘敏,齐晓花,等.果实涩味分子研究进展[J].分子植物育种,2013,11(5):647-656.

[4] Rita M, Sheryl B. Improvement of flavor and viscosity in hot and cold break tomato juice and sauce by peel removal[J]. J Food Sci, 2015, 80(1): 171-179.

[5] 李雪蕾,丁兴萃,张闪闪,等.不同光强下麻竹笋不同部位苦涩味物质含量的变化[J].南京林业大学学报:自然科学版,2015,39(3):161-166.

[6] Akagi T, Katayama-Ikegami A, Yonemori K. Proanthocyanidin biosynthesis of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb) fruit[J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130(21): 373-380.

[7] Akagi T, Katayama-Ikegami A, Kobayashi S, et al. Seasonal abscisic acid signal and a basic leucine zipper transcription factor, DkbZIPS, regulate proanthocyanidin biosynthesis in persimmon fruit[J]. Plant Physiology, 2012, 158(2): 1089-1102.

[8] 张亮亮,汪咏梅,徐曼,等.植物单宁化学结构分析方法研究进展[J].林产化学与工业,2012,32(3):107-116.

[9] 张立华,林益明,叶功富,等.环境因素对植物单宁形成的影响[J].鲁东大学学报:自然科学版,2012,26(4):366-372.

[10] 顾小平.几种竹笋单宁含量的分析比较[J].林业科学研究,1989,2(1):98-99.

[11] 费建枫,谢佳妮,刘娟娟,等. Folin-Ciocalteu 比色分光光度法测定鲜笋中的单宁[J].粮油食品科技,21(4):84-87.

[12] 赵晓虹,刘广平,马泽芳.竹子中单宁含量的测定及其对大熊猫采食量的影响[J].东北林业大学学报,2001,29(2):67-71.

[13] 邱尔发,洪伟,郑郁善,等.麻竹山地笋用林笋期叶片光合及呼吸形状研究[J].林业科学,2001,30(1):148-153.

[14] GB/T 12312-2012. 感官分析 味觉敏感度的测定方法[S].

[15] 崔明明.几种典型食品苦涩味控制方法的研究[D].广州:华南理工大学,2013:1-72.

[16] 罗鹏,王越,李雅婷,等.碱性蛋白酶-风味蛋白酶协同对葵花籽蛋白水解度和苦味值的影响[J].农业机械,2013(26):42-45.

[17] 崔凯,何彩云,张建国,等.毛竹茎秆组织速生的时空发育特征[J].林业科学研究,2012,25(4):425-431.

[18] 吴继林,郝秉中.巴西橡胶乳管分化的超微结构研究[J].植物学报,1990,32(5):350-354.

[19] Angela W, Walid A D, Hanhua L, et al. The effect of aging and precursor concentration on room-temperature synthesis of nanocrystalline anatase TiO₂[J]. Materials Letters, 2014, 117: 82-85.

[20] NY/T1600-2008. 水果蔬菜及其制品中单宁含量的测定分光光度法[S].

[21] 张继澎,傍岛善次,石田雅士.不同品种柿树果实发育中期的单宁细胞观察[J].西北农业大学学报,1993,21(1):41-45.

[22] 史敏晶,吴继林,郝秉中,等.巴西橡胶树树皮单宁细胞结构和发育[J].林业科学,2014,50(8):45-52.

[23] 张宝善,张有林.涩柿生长脱涩及返涩单宁细胞形态的变化[J].西北植物学报,2000,20(2):303-308.

[24] 杨勇,阮小凤,王仁梓,等.柿单宁细胞形态特征及发育动态研究[J].西北农林科技大学学报,2003,31(6):93-99.

[25] 夏宏义,杨勇,杨婷婷,等.柿果实单宁细胞特征与总酚和缩合单宁含量的关系[J].林业科学,2014,50(10):164-172.

[26] Gao Z M, Li C L, Peng Z H. Generation and analysis of expressed sequence tags from a normalized cDNA library of young leaf from Ma bamboo (*Dendrocalamus latiflorus* Munro)[J]. Plant Cell Rep, 2011, 30(11):2045-2057.

[27] Lin C S, Liang C J, Hsiao H W, et al. In vitro flowering of green and albino *Dendrocalamus latiflorus*[J]. New For, 2007, 34(2):177-186.

[28] Shao H, Chu L, Lu Z H, et al. Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells[J]. International Journal of Biological Sciences, 2009, 4(1):8-14.

[29] Shao H, Chu L, Jaleel C A, et al. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants[J]. Comptes Rendus Biologies, 2008, 331(3):215-225.

[30] 白瑞华,丁兴萃,杜旭华,等.套袋栽培对高节竹笋品质的影响[J].浙江林业科技,2011,31(1):64-67.

[31] 郭子武,江志标,陈双林,等.覆土栽培对高节竹笋品质的影响[J].广西植物,2015,35(4):515-519.