

桶柑果實生長期間可溶性醣類及有機酸之變化¹

張錦興 林宗賢²

摘 要

張錦興、林宗賢·1995·桶柑果實生長期間可溶性醣類及有機酸之變化。台南農業改良場研究彙報 32：67~75。

本研究利用高效能液相層析儀，測定桶柑果實發育期間果汁中可溶性醣類及有機酸含量變化。主要的可溶性醣類以蔗糖、果糖和葡萄糖三種為分析對象，蔗糖在醣類成分中最佔優勢，隨著果實成長而顯著增加，由每 100 ml 果汁中含有 1.04 克增加至 6.62 克。果糖及葡萄糖的含量較少，且在各個時期二者幾近相等，成熟時，二者含量遠不如蔗糖。測出的有機酸有：葡萄糖醛酸、草酸、酒石酸、蘋果酸、異枸橼酸、抗壞血酸、乳酸、醋酸、草醋酸、 α -酮戊二酸、枸橼酸、烏頭酸和延胡索酸等酸，在整個果實生長過程中，以枸橼酸的變化最顯著，次為蘋果酸，而其它的有機酸變化較不明顯。由枸橼酸與蘋果酸的比率在十二月降至低平緩狀態，得知成熟期的到達，但延後採收，則有較高糖度。

關 鍵 詞：桶柑、高效能液相層析法、可溶性醣類、有機酸。

接受日期：1995年2月20日。

前 言

糖酸含量的多寡及比率被認為是決定食味品質最重要的因子，在美國柑桔販賣標準，更以糖的含量多寡來決定市場價格⁽²⁴⁾。

不同果品果汁內的糖酸成分各異，醣類以果糖、葡萄糖和蔗糖三類為主，這三種醣類的含量、比率在各果樹品種間各有差異，其中柑桔、鳳梨、香蕉等大多數果實的果汁內以蔗糖為主；有機酸方面，種類更為繁多，如枸橼酸、蘋果酸、酒石酸和草酸等多種，如蘋果、梨等薔薇科大都以蘋果酸為主，葡萄等以酒石酸為主，柑桔類多以枸橼酸為主⁽¹⁷⁾。

在果實成長發育過程，果肉中各種醣酸類的生理生化代謝相互關連，在質、量等方面皆隨時間、空間的不同而變得相當複雜。了解其糖酸成分的時間變化，可據以推測果實發育中生理生化反應，依此決定果實品質及成熟度，以利採收標準的建立。比較各種醣酸類的分析方法、方式各異，且靈敏度不同^(18,19,25)，高效能液相層析法 (high performance liquid chromatography, HPLC) 是一項靈敏，且快速有效的檢驗方法⁽¹⁸⁾。本實驗即以 HPLC，測定桶柑果實內可溶性醣

1. 本文為第一作者碩士論文之部分資料。

2. 作者依序為台南區農業改良場助理、國立台灣大學園藝研究所教授。

類及有機酸成分的季節性消長，並藉以探討桶柑果實的成熟度。

材料與方法

一、實驗材料：

本實驗所用之桶柑果實來自台北新店許氏向南坡面的果園，三月間開花著果；自民國八十年七月十一日起，至八十一年元月三十一日止，每隔二週採樣一次，樣品為向南坡面之果實，每次逢機採取二十個樣品，立即帶回實驗室測試、榨汁。榨汁後樣品儲存於 -20°C 冷藏庫。

二、實驗方法：

- (一) 果徑、果重、果球率、總可溶性固形物和酸含量：果實除去果皮後所剩之果球重，所佔整果實重量的比率，稱之為果球率 (percentage of pulp ball)。總可溶性固形物是以手持曲折計 (hand refractometer) 測定。酸含量是取果汁 2 g 加水至 20 ml，以 0.1 N 氫氧化鈉滴定，換算成為枸橼酸含量的百分比。
- (二) 醣類分析：果汁榨汁後，取其混合汁液，先以濾紙過濾，取汁液以 3500 rpm 離心 35 分鐘後，再以 $0.4\ \mu\text{m}$ 薄膜過濾，取 $10\ \mu\text{l}$ 注入高效能液相層析儀 (HPLC) 中分析，HPLC 的條件如下^(1,2)：
1. 分離管柱：Lichrosorb 100 NH_2 column ($25\ \text{cm}\times 4.6\ \text{mm}$ ，粒子大小 $5\ \mu\text{m}$)。
 2. 移動相 (mobile phase)：氰甲烷/去離子水 = 82/18 (v/v)。
 3. 移動相流速：1.0 ml/min。
 4. 檢測器：Waters 410 Differential Refractometer。
- (三) 有機酸分析：前處理同醣類分析。其 HPLC 條件如下^(1,2)：
1. 分離管柱：Lichrosorb RP-18 column ($18\ \text{cm}\times 4.6\ \text{mm}$ ，粒子大小 $5\ \mu\text{m}$)。
 2. 移動相 (mobile phase)：2% KH_2PO_4 溶液，以 H_3PO_4 調 pH 值至 2。
 3. 移動相流速：1.0 ml/min。
 4. 檢測器：Zn 燈、214 mm 的濾光片及感光器，機型為 Waters 441 Absorbance Detector。

結 果

採樣期間，果實直徑、重量的成長呈穩定增加，直至十二月下旬達到最高點；果球率的成長量在十月中旬至十一月下旬達最高峰，而後稍降至平穩狀態 (圖一)。

在可溶性醣類成分中，測出的三種主要醣類為蔗糖、果糖和葡萄糖，這三者的含量皆隨果實成長而增加，但果糖與葡萄糖的量較少，且在整個果實生長過程中，二者的量幾乎相近；蔗糖是桶柑果實內主要的醣類，在整個總糖量的變化過程中，幾乎由蔗糖的含量變化所左右，其變化曲線，在十一月前的上升較緩，之後快速增加，與圖一對照，此時正是果球率成長變化量的最高峰，而果重、果實大小趨近於固定階段。就佔總糖量的百分比而言，開始測量時，果糖及葡萄糖可達到約 30%，蔗糖僅有 40% 左右；在成熟期時，前二者降到約 15%，蔗糖則佔約 70% (圖二)，除了三種主要的醣類外，早期尚發現有二種未確知的“糖”，且隨著果實成熟而逐漸消失 (圖三)。

在有機酸成分中，本實驗檢示出十三種，依在 HPLC 出現的順序分別為：葡萄糖醛酸 (glucuronic acid)、草酸 (oxalic acid)、酒石酸 (tartaric acid)、蘋果酸 (malic acid)、異枸橼酸 (isocitric acid)、抗壞血酸 (ascrobic acid)、乳酸 (lactic acid)、醋酸 (acetic acid)、草醋酸 (oxaloacetic acid)、 α -酮戊二酸 (α -ketoglutaric acid)、枸橼酸 (citric acid)、烏頭酸 (aconitic acid) 和延胡索酸 (fumaric acid) 等有機酸，在整個果實生長過程中，以枸橼酸的量居多，其次為蘋果酸，異枸橼酸及乳酸二者只在部分時期出現；另外烏頭酸及延胡索酸二者量甚少，以 HPLC 測示只能顯示波峰，而無法測出其含量 (圖四，圖五)。

大部分的有機酸含量在測試期間皆隨果實成長而減少，枸橼酸的含量變化，如同蔗糖在醣類的地位，是主導總酸量變化的主角。早期枸橼酸的含量高且穩定，到十月上旬，快速降低，而後下降較緩；在佔總酸量的比率方面，枸橼酸佔的比率逐漸上升，在九月下旬至十月上旬達到高峰，約有 90%，相對的，蘋果酸此時下降至最低百分比，約 4% (圖四 A)。成熟時期枸橼酸與蘋果酸分別佔 61% 及 23% 左右，因此二者比值的變化曲線，亦在九月下旬至十月上旬出現高峰 (約 23:1)，之後二者比值約降到 2.6:1 (圖四 B)。草酸，草醋酸和 α -酮戊二酸三者在整個生長期較為恒定；抗壞血酸的量在成熟時稍微提高 (圖五)。

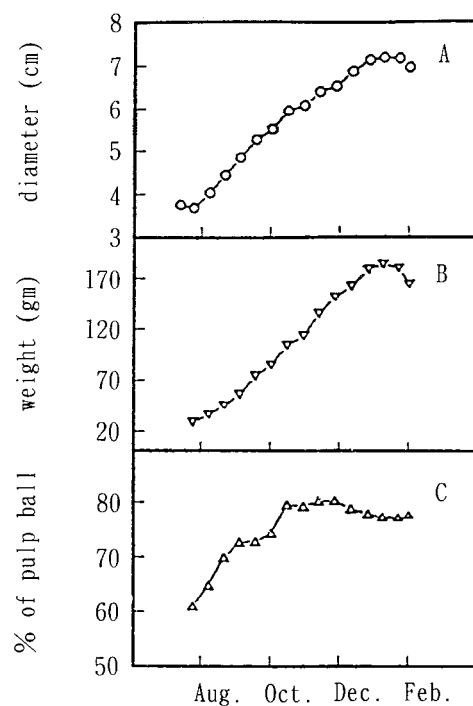


圖 1. 桶柑果實生長重量、橫徑和果球率的變化曲線。

Fig. 1. Developmental changes in fruit diameter [A], weight [B] and percentage of pulp ball [C] in tankan fruits.

又以 HPLC 測定的總糖量與手持曲折計所測的糖度比較：手持曲折計所測的 $^{\circ}$ Brix，在七月時稍高，而後漸降至平緩的階段，十二月後又開始上升，至一月下旬時為 10.6° Brix.；相對 HPLC 所測定的總糖量，在任何時期皆比手持曲折計測的糖度還低，尤以早期特別明顯（圖二）；同樣比較滴定所得的酸度與 HPLC 所得的總酸量，亦可發現幾乎任何時期滴定所得的酸度都小於 HPLC 所得的總酸量，但與枸橼酸的量相近，尤其是十一月下旬後（圖四A）。

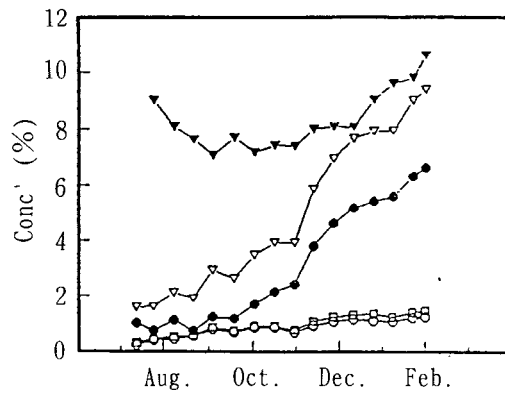


圖 2. 桶柑果汁中總可溶性固性物、葡萄糖、果糖、蔗糖和總糖的季節變化曲線。
Fig. 2. Seasonal levels of total soluble solids ($^{\circ}$ Brix) (▼), glucose (○), fructose (□), sucrose (●) and total sugar content (▽) in juice of taken fruits.

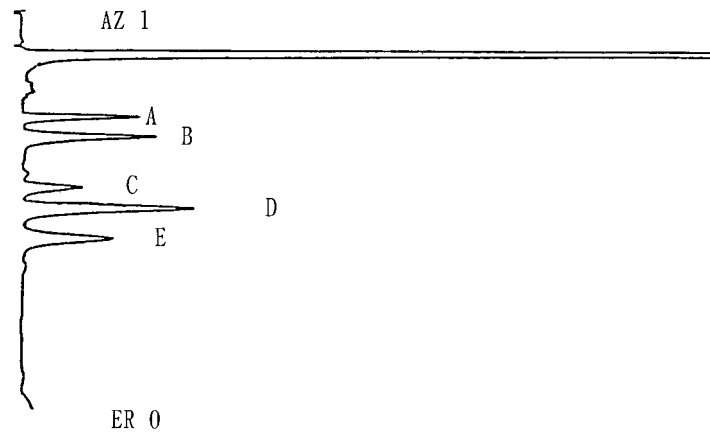


圖 3. 桶柑果汁中早期可溶性醣類之高性能液相層析圖。
Fig. 3. HPLC chromatograms of sugars in the juice of tankan fruits. Showing peaks of different sugars and retention times (min.) : A: fructose (7.90). B: glucose (9.41). C: unknown 1 (13.31). D: sucrose (14.88). E: unknown 2 (17.18).

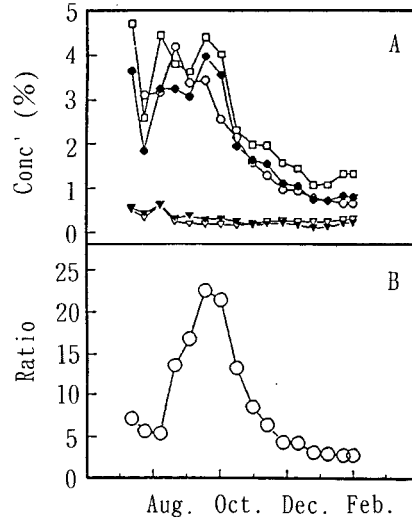


圖 4. 桶柑果汁中酸度、枸橼酸、蘋果酸、總酸量和枸橼酸與蘋果酸的比之季節變化曲線。
 Fig. 4. Changes in acidity (○), citric acid (●), malic acid (▽), others (▼) and total acid contents (□) [A] and citric acid/malic acid [B] in juice of tankan fruits.

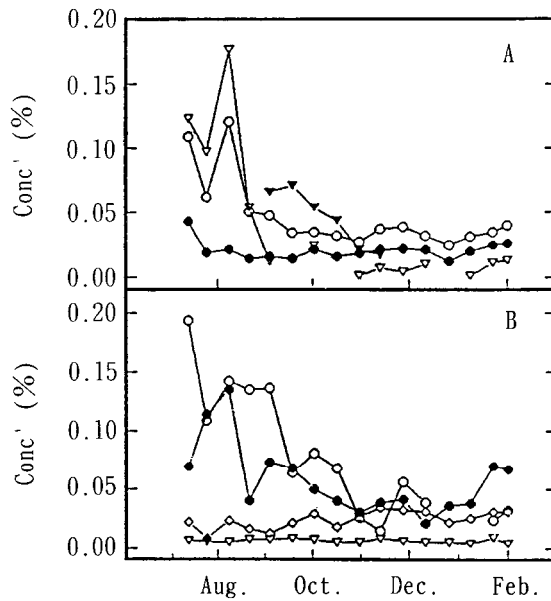


圖 5. 桶柑果汁中微量有機酸的季節變曲線。
 Fig. 5. Changes in glucuronic acid (○), oxalic acid (●), tartaric acid (▽), and isocitric acid (▼) [A] and ascorbic acid (◇), lactic acid (◆), acetic acid (○) and α -ketoglutaric acid (▽) [B] content in juice of tankan fruits.

討 論

蔗糖是各種植物轉運、能量代謝及其它化合物代謝的基質。本實驗中，桶柑果汁中各種可溶性醣類含量以蔗糖為主，在果實發育的早期，只比其它二種醣類多出少許；就生化的觀點，早期果實發育時，所有的生化反應以合成結構性化合物為主，如果膠、纖維素、蛋白質等，當光合產物（以蔗糖為主）由葉片運至果實內，多用於能量代謝與結構性化合物合成的反應，故早期糖分的累積慢；至後期果實逐漸成熟，果實的發育趨近完全，又枝梢的萌發等各項生長漸趨緩慢，果實可分配到較多的碳水化合物，果實可有效的蓄積醣類，因此在十一月後糖度快速增加，此時的蔗糖含量遠高於果糖、葡萄糖二糖。由圖二看來，果糖、葡萄糖二糖的量在整個時期皆相當平穩，增加量不如蔗糖，二者的量幾近相等，可能在醣類的轉化代謝中，二糖的來源主要是蔗糖經由中性轉化酵素（neutral invertase）的水解而來⁽¹⁴⁾，經此水解後的單糖，再轉為其它代謝的基質而快速降解，故含量少。又七月下旬至一月下旬，三種糖的量皆呈等比例的增加，到後期三者的量都約為早期的六倍左右，因此，在果實整個生長期中，醣類的代謝過程呈一平衡狀態。

另外，我們在早期發現尚有二種未確知的“糖”，其量隨著果實發育而降低，這二種未知的“糖”，可能是醣醣類，亦可能是具有醣類特性的其它化合物。

關於柑桔果肉內有機酸的來源，一般認為有二：一為果實本身以葉片轉運而來的醣類，經呼吸循環反應合成；二為果實本身的二氧化碳固定而來^(13,27)。這二種假說中的反應皆經過 TCA 循環，循環的中間代謝產物，如：蘋果酸、枸橼酸、異枸橼酸、烏頭酸、 α -酮戊二酸、延胡索酸等酸皆可在桶柑果汁內找到；另一中間產物：琥珀酸（succinic acid），在一些柑桔類果汁內可發現^(5,7,8,21,22,23)；又八卷氏⁽⁵⁾以不同柑桔類果汁，甚至同一桶柑品種，以陽離子交換樹脂的分析方法，亦發現有己二酸（adipic acid），戊二酸（glutaric acid），丙酮酸（pyruvic acid），與甲酸（formic acid）等酸，但這些在本實驗中卻未發現。另外，本實驗中尚發現少量的酒石酸，是一些報告所未提出的。以上種種差異，可能是由於不同的實驗方法及品種間的差異所造成的。

對於有機酸含量變化的原因，早期酸含量高，是由於果實尚在發育，呼吸作用旺盛，各種代謝酸含量豐富，後期果實成熟，果實肥大後的稀釋作用⁽²⁵⁾，加上各種代謝降低，一些有關有機酸合成酵素活性逐漸降低^(20,27)，且有機酸亦能行糖合成反應⁽¹⁵⁾，更加速有機酸含量的消退；因此，在果實成熟過程中，酸的含量會下降。柑桔類的有機酸以枸橼酸為主，次為蘋果酸，在桶柑成熟時的含量分別佔 61% 與 23% 左右；各種有機酸含量不同的現象，乃是各種有機酸的合成與降解酵素的活性無法同步所造成的⁽²⁷⁾。本實驗中的桶柑果實，可溶性醣類總量隨果實生長而增加，有機酸總量隨之減少的變化曲線，與多數柑桔相似^(6,7,8)。

比較 HPLC 與手持曲折計及滴定所測的糖、酸成分含量：手持曲折計測定的原理是利用折射，所有能改變折射率的成分，皆可干擾測定數值，尤以有機酸為然⁽¹⁶⁾。果實發育早期，各種生理生化反應能力甚強，化合物含量甚豐，醣類只佔一部分；在後期果實成熟，水分含量比例提高，糖分大量蓄積，醣類佔大部分，因此 HPLC 早期所測的值遠小於手持曲折計所測的值，後期二者的差距較小，故稱手持曲折計所測的值為“總可溶性固形物”，更能襯出二者的差別。有機酸存在的可能型式有游離酸和結合酸二種，滴定法只能測出游離酸，在柑桔類中，結合酸的含量佔總有機酸的比率可達 30% 左右^(3,4)，果實發育早期，結合酸的含量更高⁽¹⁰⁾，HPLC 所測可能包含二種酸類，故幾乎在任一時期 HPLC 所測的值皆大於滴定法所測的值。

當以糖酸成分和含量來決定桶柑果實的成熟度，確知採收期時，手持曲折計是一項簡單的測量儀器，但在早期醣類只佔一小部分，較不適用於應用；對糖度而言，HPLC 所測的總糖量，依圖二曲線逐漸上升的傾向，愈晚採收應有愈高的糖度；再以酸度而言，總酸量在十二月後降至 1% 以下，具有營養價值的維生素 C（即 ascorbic acid）卻隨著果實成熟期緩慢增加，以枸橼酸與蘋果酸的比率而言（圖四 B），在十月的高峰後，二者的比例達到最低點而呈平穩狀態，在十二月後，可能是二者相關的酵素活性的降低，而達成另一新的平衡；在成熟的指標上，多以枸橼酸與蘋果酸的比率下降且呈平穩時視為成熟期^(6,22,23,25)。綜合上論，十二月以後酸度，枸橼酸與蘋果酸的比率降低，即可採收，然而考慮有更高的糖度與糖酸比，更高的營養價值，愈晚採收愈有利，再配合市場的需求，將有較大的利潤。

果實品質的糖酸成分，在代謝過程中關係密切，而各種柑桔果汁內所含的種類與含量各不相同，除了可藉雜交方式來改變⁽¹²⁾ 品種外，栽培管理技術如修剪、果實著生位置^(8,9)、藥劑處理（如砷酸鉛）等^(11,27) 亦可影響果汁的糖酸含量。調查果實果汁糖酸成分的季節消長，有助於果實成熟生理的了解，亦可供栽培管理的參考，以生產高糖低酸品質的果實。由實驗顯示（圖二、四），十月酸度急降，十一月糖度遽升，十~十一月是一個重要的時期，若能使此期提早，並使往後的時段加長，將有足夠的時間讓糖度提高，酸度降低，而提高品質；除了品種的改良，如何利用栽培方式加以控制，將是重要的課題。

引用文獻

1. 方義明・1991・椪柑與柳橙果實檸檬苦素類成分之分佈與降低椪柑果汁苦味之研究。臺灣大學園藝學研究所碩士論文。
2. 游若筱、王武彰・1987・楊桃之品質成分與加工利用之研究。中華農業研究 36：196~206。
3. 八卷良和・1987・數種ミカンの果汁における全酸，遊離酸，ならびに結合酸濃度間の相關關係。園學雜 56：263~267。
4. 八卷良和・1988・ミカン類果汁酸度の種類間差異および酸濃度間，酸濃度-カリウム濃度間の關係。園學雜 56：457~469。
5. 八卷良和・1989・カンキツ類果汁中の有機酸組成。園學雜 58：587~594。
6. 八卷良和・1990・カンキツ類果汁中の有機酸の季節的消長。園學雜 58：895~898。
7. 大東宏、佐藤義彦・1985・ウンシュミカン果實の成熟に伴う糖，有機酸の變化。園學雜 54：155~162。
8. 大東宏、富永茂人・1981・ウンシュミカンの異なる樹形における著果部位別の果實品質，特に糖，有機酸およびアミノ酸組成について。園學雜 50：143~156。
9. 泉秀實、伊東卓爾、吉田保治・1990・樹冠内，外層の著果位置別にみたウンシュミカン果實の發育中における糖とアスコルビン酸含量について。園學雜 58：877~883。
10. 崎山亮三・1970・數種の果汁における發育中の酸含量の變化。園學雜 39：124~129。
11. Buslig, B. S., R. D. Carter, and G. E. Good. 1971. Short term scening for acidity reduction. Proc. Fla. State Hort. Soc. 84：236~238.

12. Cameron, J. W., and R. K. Soost. 1977. Acidity and total solids in *Citrus Hybrids* and advanced crosses involving acidless orange and acidless pummelo. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102 : 198~201.
13. Clark, R. B., and A. Wallace. 1963. Dark CO₂ fixation in organic acid synthesis and accumulation in citrus fruit vesicles. Pro. Amer. Soc. Hort. Sci. 83 : 322~332.
14. Echeverria, E., and J. Valich. 1988. Carbohydrate and enzyme distribution in protoplasts from Valencia orange juice sacs. Phytochemistry. 27 : 73~76.
15. Echeverria, E., and J. Valich. 1989. Enzymes of sugar and acid metabolism in stored 'Valencia' oranges. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114 : 445~449.
16. Higby, W. K., and A. A. Ricke. 1963. Refractometric measurement of soluble solids in orange juice. Food Techn. 648 : 138~141.
17. Hulme, A. C. 1970. The Biochemistry of Fruits and their Products. Academic Press, London. p. 1~118.
18. Hurst, W. J., R. A. Martin Jr., and B. L. Zoumas. 1979. Application of HPLC to characterization of individual carbohydrates in foods. J. Food Sci. 44 : 892.
19. Li, B. W., and P. J. Schuhmann. 1983. Sugar analysis of fruit juices : content and method. J. Food Sci. 48 : 633.
20. Matsumoto, A., and S. Shiraishi. 1981. Seasonal changes in organic acid levels in satsuma mandarin fruit. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 49 : 519~522.
21. Monselise, S. P., and D. Galily. 1979. Organic acids in grape-fruit fruit tissues. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 104 : 895~897.
22. Sasson, A., and S. P. Monselise. 1977. Organic acid composition of 'Shamouti' oranges at harvest and during prolonged post-harvest storage. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102 : 331~336.
23. Shaked, A., and D. Hasdai. 1985. Organic acids in the juice of developing nucellar and oldline clone Shamouti oranges. J. Hort. Sci. 60 : 563~568.
24. Soule, J., W. Grierson, and J. G. Blair. 1967. Quality tests for citrus fruits: What every grower should know. Agricultural Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences. Univ. of Florida, Gainesville, Circular 315, 27pp.
25. Ting, S. V., and H. M. Vines. 1966. Organic acids in the juice vesicles of Florida 'Hamlin' orange and 'Marsh Seedless' grapefruit. Pro. Amer. Soc. Hort. Sci. 88 : 297~297.
26. White, D. R., Jr., and W. W. Widmer. 1990. Application of high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection to sugar analysis in citrus juices. J. Agric. Food Chem. 38 : 1918~1921.
27. Yen, C. R. 1987. Assimilate partitioning and enzymes of organic acid metabolism in fruit of calamondin and low-acid grapefruit. Ph.D. Diss., Univ. of Florida, Gainesville.

Changes in Soluble Sugars and Organic Acids during the Growth of Tankan (*Citrus tankan*) Fruits¹

Chang, C. H. and T. S. Lin²

Summary

Changes of soluble sugar and organic acid components of tankan fruits juice were investigated by means of high performance liquid chromatography (HPLC). The predominant sugars detected in the fruit juice were sucrose, fructose and glucose. Sucrose concentration increased from 1.04 gm to 6.62 gm per 100 ml juice during fruit growth and maturation. The concentrations of fructose and glucose were less than that of sucrose and didn't vary significantly during fruit growth and maturation.

The organic acids detected in tankan fruits were oxalic, tartaric, malic, isocitric, ascorbic, lactic, acetic, oxaloacetic, α -ketoglutaric, citric, aconitic and fumaric acid. Citric acid and malic acid were the organic acids showed pronounced changes during fruit growth and maturation, while other acids were present only in minute amounts throughout maturation.

Fruits were mature when the citrate/malate ratio reached low levels in December even sugar contents were still increasing.

Key words: tankan (*Citrus tankan Hayata*), high performance liquid chromatography (HPLC), soluble sugars, organic acids.

Accepted for publication: Feb. 20, 1995.

-
1. This paper is a part of master thesis of the senior author.
 2. Assistant of Tainan District Agriculture Improvement Station, professor of Nation Taiwan University, respectively.