

顶空气相色谱-质谱法分析3种柚子果皮精油成分

李俭¹, 钟八莲^{1,2}, 姚锋先^{1,2}, 刘桂东^{1,2}, 刘璐¹, 钟余¹, 彭婷^{1,2,*}

(1. 赣南师范大学 生命科学学院, 江西 赣州 341000; 2. 国家脐橙工程技术研究中心, 江西 赣州 341000)

摘要: 研究江西南康3种柚子“水晶柚”、“练家柚”和“沙田柚”果皮精油的挥发性成分和含量差异, 为南康甜柚品种改良及鉴定提供参考。以相似种植环境的3种柚子品种的果皮为材料, 利用蒸馏法提取精油, 使用顶空气相色谱质谱联用仪(headspace gas chromatography-mass spectrometer, HS-GC-MS)对精油成分进行鉴定和分析, 并使用SIMCA14.0对试验数据进行预处理、主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘法-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)分析, 结合使用SPSS22.0进行t检验和聚类分析。结果表明: 3种柚子果皮精油成分和含量存在较大差异。3种柚子果皮精油共检测到49种物质; 沙田柚果皮精油检出47种成分; 水晶柚和练家柚有46种成分。化合物类型主要为烯类(11种)、醇类(13种)、酯类(9种)和醛类(5种)。通过t检验($P < 0.05$)和OPLS-DA分析发现, 练家柚与沙田柚、水晶柚与练家柚均存在10种差异成分, 而水晶柚与沙田柚存在8种差异成分, 从3种柚子精油PCA分析和聚类分析上看, 水晶柚划分为一类, 练家柚划分为一类, 沙田柚划分为一类。

关键词: 主成分分析; 顶空气相色谱-质谱法; 差异成分; 正交偏最小二乘法-判别分析; 聚类分析

Headspace Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Essential Oils from Three Grapefruit Peels

LI Jian¹, ZHONG Ba-lian^{1,2}, YAO Feng-xian^{1,2}, LIU Gui-dong^{1,2},
LIU Lu¹, ZHONG Yu¹, PENG Ting^{1,2,*}

(1. College of Life Science, Gannan Normal University, Ganzhou 341000, Jiangxi, China; 2. National Navel Orange Engineering Technology Research Center, Ganzhou 341000, Jiangxi, China)

Abstract: The volatile constituents and content differences of peel oils from three types of grapefruit “Crystal pomelo”, “Lianjia pomelo” and “Shatian pomelo” in Jiangxi Nankang were studied to provide a reference for the improvement and identification of Nankang sweet pomelo varieties. Using the peels of three grapefruit varieties grown in the same habitat as materials, the essential oil was extracted by distillation, and the components of the essential oil were identified and analyzed using headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS). The experimental data were pre-processed, principal component analysis (PCA) analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) analysis, combined with SPSS 22.0 for t test and cluster analysis. The results showed that there were significant differences in the composition and content of the essential oils of the three grapefruit peels. A total of 49 substances were detected in three types of grapefruit peel essential oils, 47 components were detected in Shatian pomelo peel essential oils, and crystal grapefruit and Lianjia pomelo had 46 components. The main types of compounds were terpenes (11 species), alcohols (13 species), esters (9 species), and aldehydes (5 species). By t test ($P < 0.05$) and OPLS-DA analysis, it was found that there were 10 different components in Lianjia pomelo and Shatian pomelo, Crystal pomelo and Lianjia pomelo, and 8 different components in Crystal pomelo and Shatian pomelo. From the per-

基金项目: 国家自然科学基金(31760563); 江西省自然科学基金(20171BAB204024)

作者简介: 李俭(1994—), 男(汉), 硕士研究生, 研究方向: 柑桔遗传育种与生理。

* 通信作者: 彭婷, 女, 副教授, 博士, 研究方向: 柑桔逆境生理及分子机理和遗传育种。

spective of PCA analysis and cluster analysis of grapefruit essential oil, Crystal grapefruit was divided into one category, Lianjia grapefruit was divided into one category, and Shatian grapefruit was divided into one category.

Key words: principal component analysis; headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS); differential components; orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-D); cluster analysis

引文格式:

李俭,钟八莲,姚锋先,等.顶空气相色谱-质谱法分析3种柚子果皮精油成分[J].食品研究与开发,2020,41(24):173-180

LI Jian, ZHONG Balian, YAO Fengxian, et al. Headspace Gas Chromatography-Mass Spectrometry Analysis of Essential Oils from Three Grapefruit Peels[J]. Food Research and Development, 2020, 41(24): 173-180

柚子(*Citrus grandis* [L.] Osbeck)是芸香科植物柚的果实,主要在江西、广东、福建等南方地区种植。目前柚子主要用来鲜食,而柚子的果皮约占果实重量的30%以上,柚子皮一般直接丢弃或加工为饲料,如此不仅浪费资源,而且污染环境。柚子果表皮细胞中含有较多的芳香物质,经过提取得到具有芳香气味的油状液体,称为精油^[1]。果皮中精油含量约占果皮鲜重的1%~3%^[2]。

精油是评价柑橘果实品质的重要指标之一,是影响柑橘鲜食风味和口感的重要因素,同时柑橘果皮中含有多种生物活性物质,具有如抗菌消炎^[3]和去除自由基^[4]的作用。大量关于精油在癌症防治作用的研究已开展^[5-6]。据报道,柠檬烯对胰腺、乳腺和前列腺肿瘤具有化疗活性^[7],能有效阻止乳腺癌和肝癌的发生和发展^[8]。除了医药方面的作用,精油在食品、化妆品、化工等行业也有重要应用。翟芳芳等研究发现采用含茶树精油的水性丙烯酸树脂可较好的保持牡丹切花的品质,延长切花、插花的寿命^[9]。研究柑橘果皮的精油有利于了解果实风味形成,促进精油有效成分挖掘和果皮深加工等产业的发展。

赣州市南康区种植甜柚的历史已有1500多年,被誉为“中国甜柚之乡”。数据显示,2007年南康甜柚种植面积占南康柑橘种植面积的65%^[10]。练家柚为南康当地特有品种,果实成熟后果皮变成金黄色,香味浓郁,采摘后香味持久,当地人一般用作去味之用,关于其香味的研究鲜有报道。洪鹏等对广西平乐县的沙田柚果皮挥发性成分进行鉴定,检测到25种挥发性成分^[11]。对广东梅州市的沙田柚果皮挥发性成分进行鉴定,检测到35种物质^[12],而容县沙田柚果皮挥发性成分检测到52种^[13]。说明同一品种在不同地方种植会有果皮挥发性成分的差异。

精油的提取方法有多种,主要为冷磨法、溶剂萃

取法、微波萃取法、超临界萃取法等。因蒸馏法成本低,出油率较高,此法应用最为成熟。本研究先利用蒸馏法提取柚子果皮精油,后采用顶空气质联用仪(headspace gas chromatography-mass spectrometer, HS-GC-MS)对赣州南康地区的水晶柚、练家柚和沙田柚3种果皮精油进行分析测定。

在同一产地,对水晶柚、练家柚和沙田柚3种柚子的果皮挥发性成分进行研究。研究3种柚子精油成分的区别并寻找3种柚子的差异性香味贡献物质,明确3种柚子精油所含成分,分析3种柚子精油间差异成分,为3种柚子果皮深加工和有效成分的利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验所用材料均采自江西省赣州市南康区三江乡伍氏果园,水晶柚、练家柚和沙田柚采摘时间均为2018年11月20日,按代表性采样原则,每种柚子所选柚子树均为10年以上,长势相近,健康植株3株。于树冠中部外围随机挑选大小基本一致,无病虫害的果实(每个品种挑选3个),采后当天送到实验室4℃保存,后进行精油提取试验。成熟期的沙田柚、练家柚、水晶柚的果实对比图见图1。

氯化钠(分析纯):国药集团化学试剂有限公司;无水硫化钠(分析纯):天津玉福泰化学试剂有限公司;超纯水:由超纯水器(四川优普超纯科技有限公司)制备;石油醚(分析纯):西陇科学股份有限公司。

1.2 仪器与设备

7890B气相色谱仪、5977B质谱仪、NIST数据库、DB-Wax型色谱柱(30 m×250 μm×0.25 μm):美国Agilent公司;RE 52-99型旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂;1000 mL蒸馏烧瓶、冷凝管、承接管、250 mL分



A 沙田柚;B 练家柚;C 水晶柚。

图1 成熟期的沙田柚、练家柚、水晶柚

Fig.1 Matured Shatian pomelo, Lianjia pomelo and Crystal pomelo

液漏斗、500 mL 锥形瓶:蜀牛玻璃仪器有限公司;ZN-HW 型智能恒温电热套:邦西仪器科技(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 精油提取方法

本试验采用水蒸馏法:将果实洗净,剥皮。称取切碎至约 0.5 cm×0.5 cm 的柚子皮约 300 g,置于1 000 mL 圆底烧瓶中,然后加入 4%氯化钠溶液 800 mL 没过柚子皮,使用超声波处理 20 min,使用蒸馏装置加热回流 3 h 后得到水油混合液,水油混合液用石油醚进行萃取,精油溶解在石油醚中,加适量无水硫酸钠去除多余水分,经旋转蒸发器旋转蒸发干净石油醚,得到透明无色精油,转至棕色瓶避光保存,待 HS-GC-MS 分析。

1.3.2 HS-GC-MS 分析

1.3.2.1 进样处理

取样本 100 μ L,用乙醇稀释 100 倍,取 10 μ L 于 20 mL 顶空瓶中,再加入 10 μ L 2-辛醇为内标。

1.3.2.2 气相色谱条件

DB-Wax 色谱柱(30 m×250 μ m×0.25 μ m),在 CTC (自动进样系统)轨道系统的全自动固相微萃取(solid phase micro extraction,SPME)循环中。预热时间 15 min,孵育温度为 60 $^{\circ}$ C,孵育时间 30 min,解吸时间为 4 min。使用配有 5977B 质谱仪的 Agilent 7890 气相色谱系统进行 HS-GC-MS 分析。该系统使用 DB-Wax (注入不分流模式)。使用氦气作为载气,前入口吹扫流量为 3 mL/min,通过柱子的气体流量为 1 mL/min。将初始温度保持在 40 $^{\circ}$ C 1 min,然后以 5 $^{\circ}$ C/min 的速率升温至 240 $^{\circ}$ C,保持 5 min。前进样口、传输线、离子源和四级杆温度分别为 240、240、230、150 $^{\circ}$ C。电子轰击模式下的能量为-70 eV,质谱数据以扫描模式获得,质量范围为 m/z 20~500,溶剂延迟时间为 4.5 min。

1.4 数据分析

使用 Chroma TOF 软件(V 4.3x, LECO)和 NIST 库对质谱数据进行峰提取、基线校正、解卷积、峰积分、峰

对齐、质谱匹配等分析。选出相似度大于 900 的物质,并结合有关文献进行人工图谱解析,确定其香气成分,通过内标归一化法计算得出各化学成分的相对含量。所有样品均重复 3 次,测定结果取其平均值。

2 结果与分析

2.1 果皮精油成分 HS-GC-MS 分析

HS-GC-MS 分析沙田柚、练家柚、水晶柚 3 种柚子皮香气成分的总离子流 (total ion chromatography, TIC)见图 2。

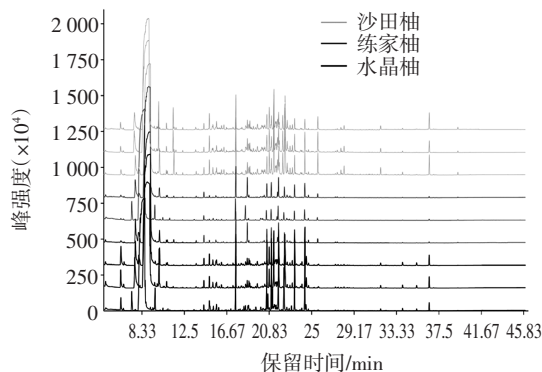


图2 3种柚子果皮精油成分的总离子流

Fig.2 Total ion current of three pomelo peel essential oil components

在本次试验中 3 种柚子共检出了 527 个峰,其中水晶柚检出 379 个峰,练家柚检出 327 个峰,沙田柚检出 434 个峰。

2.2 柚子果皮精油成分

2.2.1 3 种果皮精油主要成分与相对含量

3 种柚子精油主要成分及相对含量见表 1。

当物质相似度 ≥ 900 时,从 3 种柚子皮精油共筛选出 49 种物质。主要为萜烯类(11 种),醇类(13 种),酯类(9 种)和醛类(5 种),同时检测出酚类 4 种、苯类 2 种、氧化物 2 种、烷烃 1 种、酮类 1 种等。3 种柚子皮精油中成分相差较小,沙田柚果皮精油检出 47 种成分,水晶柚和练家柚均有 46 种成分。

表1 3种柚子精油主要成分及相对含量
Table 1 Main components and related contents of three pomelo

序号	分类	化合物名称	相对含量		
			水晶柚	练家柚	沙田柚
1	烯类	α -蒎烯	0.624±0.12 ^{aA}	0.572±0.11 ^{aA}	0.295±0.09 ^{aA}
2		桉烯	0.404±0.06 ^{aA}	0.187±0.05 ^{bA}	0.226±0.05 ^{abA}
3		DL-柠檬烯	0.728±0.40 ^{aA}	0.228±0.12 ^{aA}	0.283±0.07 ^{aA}
4		β -罗勒烯	0.169±0.13 ^{aA}	0.097±0.07 ^{aA}	0.027±0.003 ^{aA}
5		萜品油烯	0.171±0.02 ^{aA}	0.161±0.02 ^{aA}	0.068±0.04 ^{aA}
6		(E)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯	0.130±0.02 ^{bA}	0.356±0.01 ^{bA}	2.299±0.95 ^{aA}
7		(E,Z)-2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯	0.027±0.005 ^{aA}	0.026±0.004 ^{aA}	0.015±0.001 ^{aA}
8		石竹烯	0.162±0.005 ^{bB}	0.527±0.054 ^{aA}	—
9		吉马烯 D	1.790±0.090 ^{bB}	0.026±0.002 ^{cC}	3.367±0.45 ^{aA}
10		3,7-二甲基-1,3,5,7-辛四烯	0.039±0.02 ^{aA}	0.033±0.01 ^{aA}	0.025±0.001 ^{aA}
11	醇类	双环大牻牛儿烯	0.280±0.002 ^{bAB}	—	0.473±0.094 ^{aA}
12		1-己醇	0.028±0.003 ^{aA}	0.015±0.002 ^{bB}	0.033±0.002 ^{aA}
13		芳樟醇	1.43±0.02 ^{bB}	1.688±0.16 ^{bAB}	2.273±0.15 ^{aA}
14		1-辛醇	0.075±0.004 ^{aA}	0.023±0.002 ^{bB}	0.017±0.004 ^{bB}
15		松油醇	0.192±0.012 ^{aA}	0.087±0.009 ^{bA}	0.213±0.044 ^{aA}
16		香茅醇	0.068±0.008 ^{bB}	0.066±0.007 ^{bB}	0.275±0.040 ^{aA}
17		橙花醇	2.764±0.211 ^{aA}	1.225±0.111 ^{bB}	1.385±0.273 ^{bB}
18		(1S,5S)-2-甲基-5-(1-甲基乙炔基)-2-环己烯-1-醇	0.187±0.004 ^{aA}	0.045±0.005 ^{bB}	0.094±0.016 ^{bB}
19		香叶醇	3.927±0.089 ^{aA}	1.676±0.139 ^{bB}	1.988±0.480 ^{bB}
20		(1R,5S)-2-甲基-5-(1-甲基乙炔基)-2-环己烯-1-醇	0.084±0.000 5 ^{aA}	0.115±0.010 ^{aA}	0.092±0.020 ^{aA}
21		紫苏醇	0.013±0.000 2 ^{bB}	0.035±0.003 ^{abAB}	0.064±0.015 ^{aA}
22		反-橙花叔醇	0.047±0.000 5 ^{bB}	0.026±0.002 ^{bB}	0.294±0.054 ^{aA}
23		4-异丙烯基-1-甲基-1,2-环己二醇	0.009±0.003 ^{aA}	0.009±0.001 ^{aA}	0.014±0.001 ^{aA}
24		法尼醇	0.298±0.01 ^{aA}	0.053±0.005 ^{cC}	0.176±0.032 ^{bB}
25	醛类	3,7-二甲基-3,6-辛二烯醛	0.054±0.003 ^{aA}	0.036±0.003 ^{bA}	0.047±0.007 ^{abA}
26		香橙醛	1.536±0.119 ^{aA}	0.849±0.082 ^{bB}	1.058±0.141 ^{bAB}
27		柠檬醛	3.667±0.298 ^{aA}	2.144±0.204 ^{bA}	2.555±0.493 ^{abA}
28		紫苏醛	—	0.076±0.007 ^{aA}	0.121±0.023 ^{aA}
29	酯类	2,6,10-三甲基-2,6,10-十二烷三烯醛	0.022±0.002 ^{aAB}	0.011±0.001 ^{bB}	0.026±0.004 ^{aA}
30		乙酸三烯基己酯	0.016±0.002 ^{bB}	0.0341±0.003 ^{bB}	0.147±0.01 ^{aA}
31		丁酸己酯	0.046±0.005 ^{aA}	0.002±0.000 2 ^{bB}	0.044±0.004 ^{aA}
32		2-甲基丁酸己酯	0.018±0.001 ^{aA}	—	0.016±0.000 7 ^{aA}
33		(3Z)-3-己烯酸己酯	0.057±0.007 ^{bB}	0.027±0.003 ^{bB}	0.411±0.055 ^{aA}
34		乙酸香茅酯	—	0.012±0.001 ^{bB}	0.049±0.006 ^{aA}
35		乙酸香叶酯	1.163±0.079 ^{bA}	0.926±0.097 ^{bA}	2.097±0.379 ^{aA}
36		水杨酸甲酯	0.021±0.008 ^{bB}	0.046±0.010 ^{bB}	0.381±0.070 ^{aA}
37		邻苯二甲酸二异丁酯	0.029±0.004 ^{aA}	0.036±0.007 ^{aA}	0.035±0.001 ^{aA}
38		邻苯二甲酸二丁酯	0.047±0.012 ^{cC}	0.142±0.022 ^{bB}	0.513±0.014 ^{aA}
39	酚类	2-仲丁基苯酚	—	0.033±0.002 ^{bB}	0.075±0.009 ^{aA}
40		甲基异丁香酚	0.003±0.000 1 ^{aA}	—	—
41		2,6-二叔丁基对甲酚	0.076±0.003 ^{bB}	0.464±0.045 ^{bB}	2.138±0.368 ^{aA}
42	苯类	2,4-二叔丁基苯酚	0.013±0.001 ^{bB}	0.009±0.002 ^{bB}	0.028±0.003 ^{aA}
43		邻伞花烃	0.178±0.02 ^{aA}	0.159±0.02 ^{aA}	0.144±0.02 ^{aA}
44	酮类	4-异丙烯基甲苯	0.064±0.005 ^{aA}	0.059±0.004 ^{abA}	0.045±0.005 ^{bA}
45		诺卡酮	0.179±0.006 ^{bB}	0.027±0.004 ^{cC}	0.322±0.008 ^{aA}
46		十二甲基环六硅氧烷	0.059±0.002 ^{bB}	0.088±0.02 ^{bB}	0.208±0.02 ^{aA}
47	氧化物	反式芳樟醇氧化物	0.32±0.02 ^{bA}	0.056±0.004 ^{bB}	0.455±0.04 ^{aA}
48	烷烃	十四烷	0.041±0.005 ^{bB}	0.051±0.004 ^{bB}	0.110±0.004 ^{aA}
49	其它	吡啶	0.410±0.017 ^{aaA}	0.037±0.004 ^{bB}	0.085±0.001 ^{bB}

注:—代表未检出;同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。

从表 1 可知,3 种果皮精油成分以醇类物质相对含量最大,水晶柚相对含量最高为 9.12,其次为练家柚 6.918,沙田柚中只有 5.063。烯类在沙田柚相对含量最高(7.078),在练家柚中含量最低(2.213)。练家柚中醛类物质相对含量最低(3.116),在水晶柚中相对含量最高(5.279),沙田柚次之。沙田柚精油酯类相对含量最高为 3.693,其次为水晶柚,练家柚与水晶柚相差较小。沙田柚中酚类物质相对含量为 2.241,其它两品种的酚类物质相对含量小于 1,其它种类物质在 3 种柚子的相对含量均小于 1。3 种柚子果皮精油成分存在较大差异。

从品种上看,在水晶柚中的香叶醇相对含量最高为 3.927,其次为柠檬醛,相对含量为 3.667。练家柚中的柠檬醛相对含量最高为 2.144,其次为芳樟醇,相对含量为 1.688,吉马烯 D 在沙田柚中的相对含量最高达到 3.367,其次为柠檬醛,相对含量 2.555。可见 3 种果皮精油在成分和相对含量上有区别。

从品种间看,1-辛醇、橙花醇、(1S,5S)-2-甲基-5-(1-甲基乙烯基)-2-环己烯-1-醇、法尼醇、吲哚和香叶醇在水晶柚的相对含量要极显著高于其它两个品种。水晶柚中的丁酸己酯、反式芳樟醇氧化物、香橙醛、1-己醇、吉马烯 D 和诺卡酮的相对含量要极显著高于练家柚中的;同时桉烯、3,7-二甲基-3,6-辛二烯、柠檬醛和松油醇要显著高于练家柚。练家柚的石竹烯相对含量极显著高于水晶柚,邻苯二甲酸二丁酯显著高于水晶柚。乙酸三烯基己酯、十二甲基环六硅氧烷、十四烷、(3Z)-3-己烯酚己酯、乙酸香茅酯、吉马烯 D、香茅醇、水杨酸甲酯、2,6-二叔丁基对甲酚、橙花醇、2-仲丁基苯酚、2,4-二叔丁基苯酚、诺卡酮、邻苯二甲酸二丁酯,这 14 种化合物在沙田柚中的相对含量极显著高于其它两种物质。沙田柚中的 1-己醇、丁酸己酯、法呢醛、法尼醇、反式芳樟醇氧化物要极显著高于练家柚;紫苏醇同时要极显著高于水晶柚。(E)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯、乙酸香叶酯在沙田柚中的相对含量显著高于其它两种柚子,同时松油醇、(1S,5S)-2-甲基-5-(1-甲基乙烯基)-2-环己烯-1-醇和吲哚要显著高于练家柚。沙田柚中的双环大牻牛儿烯的相对含量显著高于水晶柚。

2.2.2 果皮精油中共有的成分

3 种柚子精油成分关系图见图 3。

从图 3 可以看出 3 种柚子精油成分的相互关系,检出的 49 种物质中,有 42 种共有物质。但在 3 种柚子中某些成分含量差异较大,如蒎烯在水晶柚的相对含量为 2.12,而在练家柚和沙田柚中的相对含量分别为

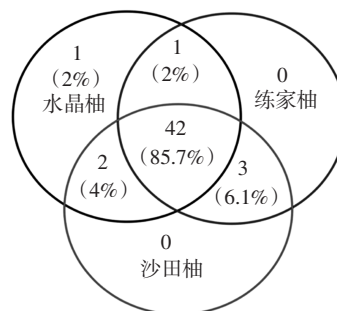


图 3 3 种柚子精油成分关系图

Fig.3 Three pomelo essential oil composition diagram

0.26、0.93。从图 3 中看到水晶柚与练家柚之间存在 43 种共有的精油成分,水晶柚与沙田柚之间存在 44 种共有的精油成分,练家柚与沙田柚之间存在 45 种共有的精油成分。从共有成分看,3 种柚子的成分重合率达到 85.71%。

2.2.3 3 种柚子果皮精油特征挥发成分分析

特征挥发成分物质定义为对所分析的来自相同地理起源的所有样品中当某种物质仅在某一个基因型中含有或缺失,则这种物质就是该基因型的标识性物质。经过 HS-GC-MS 检测,如图 3 所示,发现水晶柚存在 1 种物质是其它两种柚子不具有,其它两种柚子不存在特征挥发成分。

2.2.4 主成分分析(principal component analysis,PCA)

主成分分析能总体上反映 3 种柚子品种之间的柚子果皮精油成分差异和 3 种柚子之间的变异度大小。使用 SIMCA 14 软件对数据进行对数转换加中心化格式化处理后,进行自动建模分析见图 4。

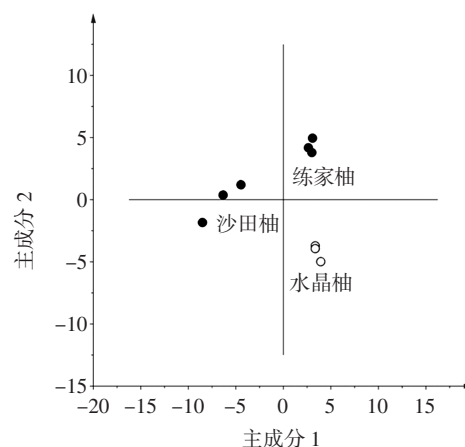


图 4 3 种柚子精油成分 PCA 分析

Fig.4 PCA analysis of three pomelo essential oil components

分析结果如图 4 所示, $R_2X=0.869$, $Q_2=0.648$, $Q_2 \geq 0.5$,说明模型拟合度较好。PCA 模型能从总体上反映各组样本之间的总体代谢差异和样本之间的变异度大小^[14-15]。故 PCA 可用做分析 3 种柚子的聚集、离散程

度。从图4可以明显看出3组柚子分布区间距离,品种间区别明显,说明中3种柚子精油所含有的组成和浓度差异较大。

2.3 不同柚子精油中的差异成分分析

采用OPLS-DA模型的主成分1的变量投影重要度(variable importance in the projection, VIP)大于1并

结合 t 检验的 P 值($P \leq 0.05$)寻找差异成分。3种柚子精油差异成分见表2。

如表2所示,水晶柚精油中存在5种差异成分,练家柚存在6种差异成分,沙田柚存在4种差异成分。通过计算同一种物质在3种柚子中的相对含量比值,能直观从表2中看出同一物质在3种柚子中相对含量差

表2 3种柚子精油差异成分

Table 2 Comparison of different components of three pomelo essential oils

编号	L×S	J×S	J×L
1	2,6-二叔丁基对甲酚	2,6-二叔丁基对甲酚	2,6-二叔丁基对甲酚
2	1-异丙基-4,7-二甲基-1,2,3,4,5,6-六氢萘	1-异丙基-4,7-二甲基-1,2,3,4,5,6-六氢萘	-
3	邻苯二甲酸二丁酯	邻苯二甲酸二丁酯	-
4	水杨酸甲酯	水杨酸甲酯	-
5	吉马烯D	-	吉马烯D
6	石竹烯	-	石竹烯
7	反式芳樟醇氧化物	-	反式芳樟醇氧化物
8	-	香叶醇	香叶醇
9	-	橙花醇	橙花醇
10	-	吲哚	吲哚
11	双环大牻牛儿烯	-	-
12	乙酸香叶酯	-	-
13	诺卡酮	-	-
14	-	芳樟醇	-
15	-	-	法尼醇
16	-	-	柠檬醛
17	-	-	香橙醛

注:L表示练家柚;J表示水晶柚;S表示沙田柚。L×S表示该化合物在练家柚与沙田柚相比时存在的差异物质;J×S表示该化合物在水晶柚与沙田柚相比时存在的差异物质;J×L表示该化合物在水晶柚与练家柚相比时存在的差异物质;-表示不符合条件。

异程度。

2.4 层次聚类图

运用聚类分析进一步分析3种柚子果皮精油成分差异,见图5。

将组间距离小于10的物质划分为一类,组间距离大于10划分为一类,如图5所示,在组间距离为5时,存在3条直线连接所有成分,因此3种柚子精油可划分为三类,第一类成分水晶柚区别与其它两种柚子的成分。第二类为沙田柚区别于其它两种柚子的成分。第3个成分为练家柚子区别于其它两种柚子的成分。但聚类分析能把练家柚和沙田柚区分开来。说明练家柚与沙田柚的精油成分差异较小。

3 讨论与结论

有研究认为,柑橘精油含量和成分与多方面相关,如地理环境,遗传型、成熟度,温度和是否患病等^[16-19],有研究发现,红/蓝组合光质比为3:1时可以通过调节酶的活性和产生相关基因来间接改善番茄果实的挥

发性物质,与白光相比具有显著性差异^[20]。吴磊等研究发现不同栽培模式会对桃子挥发性物质的含量产生影响^[21]。同时岳钉伊等发现增施CO₂与LED补光明显地提高了番茄特征挥发性芳香物质的含量,使番茄果实香味浓郁丰富^[22]。同时能通过柑橘含量和成分揭示不同品种的遗传差异及遗传背景^[23-24]。果实中存在某挥发性物质可以作为衡量果实健康和营养价值高低的重要指标^[25]。从以上结果可以发现,3种柚子果皮精油含量和成分存在较大差异,能在一定程度反映3种柚子的遗传差异和遗传背景。

从果皮气味上看,沙田柚风味较为清淡,水晶柚和练家柚具有较为浓郁的香味,练家柚为南康当地特有品种,其相关研究尚且欠缺。沙田柚果皮精油鉴定出47种成分,洪鹏等研究发现沙田柚精油成分数量25种^[11],数量存在较大差异。水晶柚和练家柚的精油研究尚未有报道。

水晶柚精油中的桉烯、1-己醇、1-辛醇、松油醇、橙花醇、(1S,5S)-2-甲基-5-(1-甲基乙炔基)-2-环己

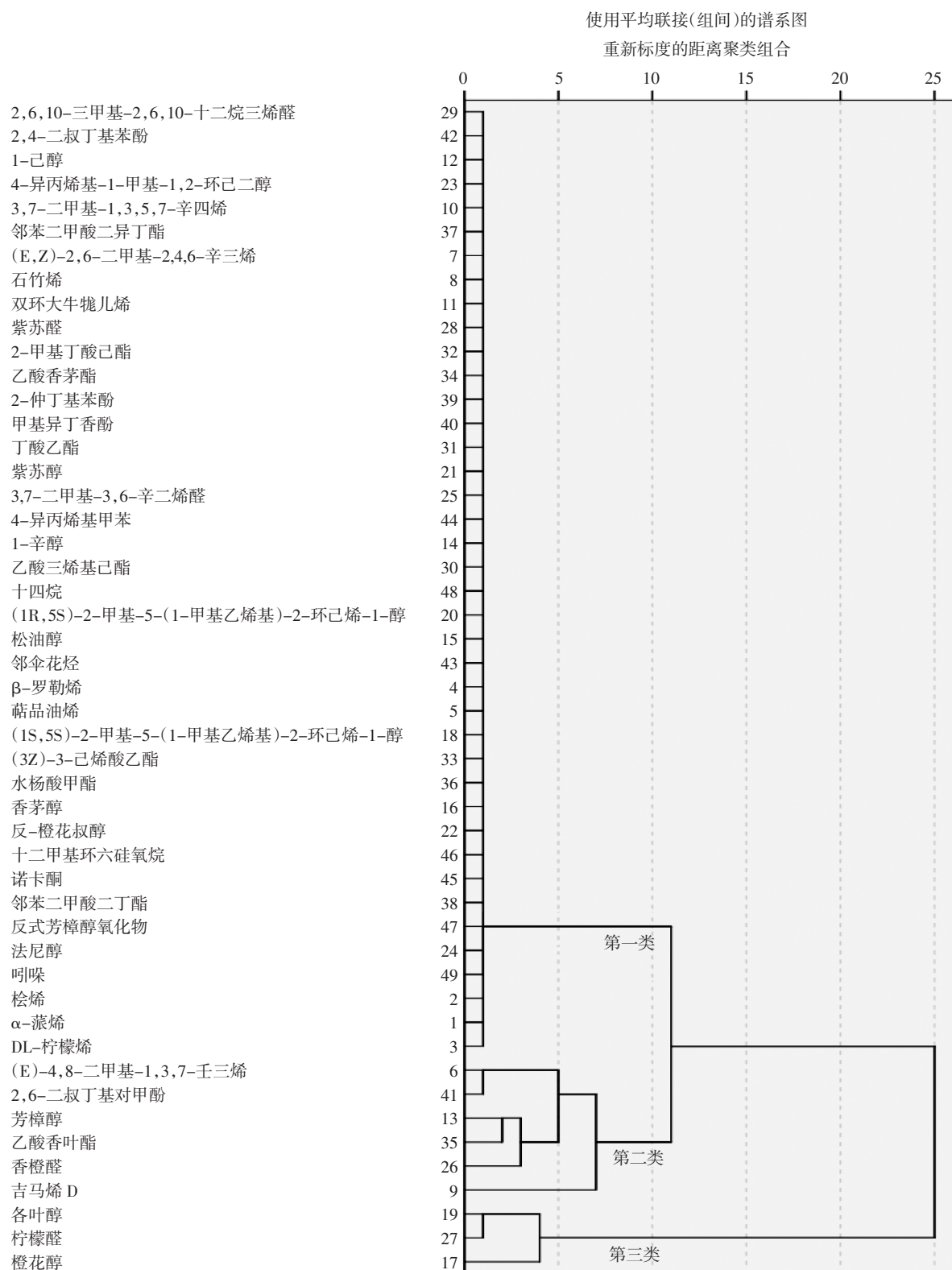


图5 3种柚子精油成分聚类分析图

Fig.5 Cluster analysis of the essential oil components of three pomelos

烯-1-醇、香叶醇、香橙醛和吲哚相对含量均要显著高于其它两个品种,且这些物质均会挥发出不同相同的香气,桉烯和芳樟醇发出花香味,松油醇发出松油味,可能会对精油香气有影响^[26],橙花醇发出过熟味,香叶

醇为玫瑰花香,香橙醛为柠檬香气。练家柚中的石竹烯具有淡的丁香似香味,且相对含量极显著高于其它两个品种。吉马烯 D、芳樟醇、香茅醇、紫苏醇、反-橙花叔醇、乙酸香茅酯、乙酸香叶酯、水杨酸甲酯、圆柚酮

和(3Z)-3-己烯酸己酯芳香醇具有香味,且相对含量显著高于其它两个品种。芳香醇是无色液体,具有铃兰香气;但随着来源不同而有所差异,同时是柑橘果实香气的重要贡献者^[27],芳香醇广泛用于香料,制作香水、香精等^[28]。香茅醇具有甜玫瑰香;紫苏醇具有温暖的草香,稍有木香和花香;(3Z)-3-己烯酸己酯具有嫩茱萸刀豆香气和生水果香味。有研究表明乙酸香叶酯对琯溪蜜柚和沙田柚的果皮香味造成影响,乙酸香叶酯带有薄荷的味道^[29]。在本研究中其相对含量有差异,乙酸香叶酯在水晶柚、练家柚和沙田柚中相对含量分别为:1.063、0.926、2.097。沙田柚中乙酸香叶酯的相对含量要显著高于其它两个品种。结合差异成分分析结果,推测水晶柚果实香味区别其它两个品种主要是因为香叶醇、吡嗪、橙花醇的影响;吉马烯D、石竹烯和反式芳樟醇氧化物是练家柚子有别于其它两种柚子的成分;水杨酸甲酯和邻苯二甲酸二丁酯是沙田柚有别于其它两个品种的成分。因为3种柚子精油成分及含量存在区别,综合表现在香气上,形成柚子特有的风味。

根据果皮精油成分对3种柚子进行化学分类,结果表明水晶柚和练家柚亲缘关系较近,沙田柚作为南康当地种植多年的品种,从精油成分数量上看,要比水晶柚和练家柚更为复杂,但水晶柚和练家柚具有浓郁的香气,可见柚子风味并不由精油成分数量决定,而是由成分的相对含量和成分本身的性质决定。综上所述,水晶柚、练家柚和沙田柚的精油成分及含量具有一定的差异,为我国柚子的精深加工提供了理论参考。

参考文献:

- [1] 王羽梅.中国芳香植物[M].北京:科学出版社,2008: 4
- [2] 石桂凤,朱玉昌.柑桔皮综合利用的实用技术[J].食品工业科技, 1989, 10(5): 41-46
- [3] 关文强,李淑芬.天然植物提取物在果蔬保鲜中应用研究进展[J].农业工程学报, 2006, 22(7): 200-204
- [4] 肖崇厚,陆蕴如,凌罗铭.中药化学[M].上海:上海科学技术出版社,1987: 33-51
- [5] Adorjan B, Buchbauer G. Biological properties of essential oils: an updated review[J]. Flavour and Fragrance Journal, 2010, 25(6): 407-426
- [6] Chidambaram Murthy K N, Jayaprakasha G K, Mantur S M, et al. Citrus monoterpenes: potential source of phytochemicals for cancer prevention[M]//ACS Symposium Series. Washington: American Chemical Society, 2012: 545-558
- [7] CROWELL P L, AYOUBI A S, BUEKE Y D. Antitumorigenic Effects of Limonene and Perillyl Alcohol Against Pancreatic and Breast Cancer[J]. Advances in Experimental Medicine & Biology, 1996, 401(7): 131
- [8] Gould M N. Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes[J]. Environmental Health Perspectives, 1997, 105: 977
- [9] 翟芳芳,朱文学,于斌,等.水性丙烯酸树脂与茶树精油喷涂处理对牡丹切花观赏品质的影响[J].园艺学报, 2016, 43(4): 796-806
- [10] 黄宗俊,赖锋生.南康甜柚产业的现状与发展[J].现代园艺, 2009(3): 2-4
- [11] 洪鹏,陈峰,杨远帆,等.三种柚子精油的香味特征及挥发性成分[J].现代食品科技, 2014, 30(10): 274-281
- [12] 郭畅,傅曼琴,唐道邦,等.梅州4种柚子精油GC-MS分析[J].广东农业科学, 2018, 45(1): 87-93
- [13] 周永红,乔红运,王立升,等.容县沙田柚果皮挥发油成分的GC-MS分析[J].广西大学学报(自然科学版), 2004, 29(1): 70-72
- [14] 阿基业,何骏,孙润彬.代谢组学数据处理——主成分分析十个要点问题[J].药学报, 2018, 53(6): 929-937
- [15] 阿基业.代谢组学数据处理方法——主成分分析[J].中国临床药理学与治疗学, 2010, 15(5): 481-489
- [16] Caccioni D R L, Guizzardi M, Biondi D M, et al. Relationship between volatile components of Citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*[J]. International Journal of Food Microbiology, 1998, 43(1/2): 73-79
- [17] VEKIARI S A, PROTOPAPADAKIS E E, PAPADOPOULOU P, et al. Composition and Seasonal Variation of the Essential Oil from Leaves and Peel of a Cretan Lemon Variety[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(1): 147-153
- [18] 冯桂蓉,谢姣,邓丽莉,等.柑橘果实萜烯类挥发性物质研究进展[J].食品与机械, 2017, 33(10): 200-204
- [19] 王强,陈金印,徐明生,等.黄龙病对纽荷尔脐橙品质的影响[J].食品科学, 2019, 40(9): 48-53
- [20] 董飞,王传增,孙秀东,等.基于蛋白质组学研究光质对番茄果实挥发性物质的影响机理[J].园艺学报, 2019, 46(2): 280-294
- [21] 吴磊,柳洪入,陈妙金,等.避雨栽培对桃果实挥发性物质形成的影响[J].园艺学报, 2015, 42(3): 535-544
- [22] 岳钉伊,张静,赵建涛,等.增施CO₂与LED补光对番茄果实品质及挥发性物质的影响[J].食品科学, 2018, 39(1): 124-130
- [23] Hosni K, Zahed N, Chrif R, et al. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian Citrus species: Evidence for the genotypic influence[J]. Food Chemistry, 2010, 123(4): 1098-1104
- [24] 靖丽.柑橘精油的代谢图谱及其主要成分d-柠檬烯对糖脂代谢紊乱的防治作用研究[D].重庆:西南大学, 2014
- [25] Goff S A. Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value?[J]. Science, 2006, 311(5762): 815-819
- [26] Liu C H, Cheng Y J, Zhang H Y, et al. Volatile constituents of wild Citrus Mangshanyegan (*Citrus nobilis* Lauriro) peel oil[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(10): 2617-2628
- [27] Ohta H, Tonohara K, Watanabe A, et al. Flavor specificities of Satsuma mandarin juice extracted by a new-type screw press extraction system[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1982, 46(5): 1385-1386
- [28] 林翔云.天然芳樟醇与合成芳樟醇[J].化学工程与装备, 2008(7): 21-26
- [29] Cheong M W, Chong Z S, Liu S Q, et al. Characterisation of calamansi (*Citrus microcarpa*). Part I: Volatiles, aromatic profiles and phenolic acids in the peel[J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 686-695

收稿日期:2020-01-09