

基于UPLC-MS/MS和GC-IMS技术分析采前套袋与未套袋油棕果实品质差异

林炎娟, 周丹蓉, 方智振, 陈文光, 叶新福*
(福建省农业科学院果树研究所, 福建 福州 350013)

摘 要: 采用超高效液相色谱-串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 和气相-离子迁移谱 (gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS) 技术结合多元统计分析方法, 分析采前套袋对油棕果实代谢产物、代谢途径以及挥发性成分的影响。结果表明, 采前套袋后油棕果皮和果肉着黄色。基于UPLC-MS/MS技术鉴定到604个油棕果实代谢物, 采前套袋改变果实代谢特征和代谢途径, 筛选出显著差异代谢物58个, 上调物质22个, 下调物质36个; 其中, 与滋味相关的糖类和有机酸等物质含量差异不显著, 而与滋味相关的氨基酸部分差异显著。基于GC-IMS技术鉴定到油棕果实含有醛类14种、酯类5种、醇类4种、酮类3种和其他1种共27个挥发性物质, 多数酯类物质在未套袋果实中含量较高, 多数醇类物质在套袋果实中含量较高。采前套袋与未套袋油棕果实挥发性成分具有不同的指纹图谱。基于中药数据库和已鉴定代谢物查询到199个活性成分, 根据筛选标准得到37个关键活性成分, 其中, 采前套袋果实的槲皮素含量下调。由此说明, 采前套袋可提高油棕果实外观品质, 对果实滋味、香气和功效成分等部分有影响。

关键词: 油棕; 套袋; 超高效液相色谱-串联质谱技术; 气相-离子迁移谱技术; 品质

Comparative Analysis of the Effect of Pre-Harvest Bagging and Non-Bagging Treatment on Fruit Quality of 'Younai' Plum by UPLC-MS/MS and GC-IMS

LIN Yanjuan, ZHOU Danrong, FANG Zhizhen, CHEN Wenguang, YE Xinfu*
(Fruit Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, China)

Abstract: In this study, ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) and gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS) combined with multivariate statistical analysis were used to analyze the effect of pre-harvest bagging on metabolites, metabolic pathways and volatile composition in 'Younai' plum fruit. The results showed that the peel and pulp of 'Younai' plum subjected to pre-harvest bagging treatment were yellow. By UPLC-MS/MS, 604 metabolites were identified, pre-harvest bagging changed the metabolic characteristics and pathways, and 58 significantly differential metabolites were selected, 22 and 36 of which were up-regulated and down-regulated, respectively. Among them, the contents of taste-related substances such as sugars and organic acids were not significantly different, and the contents of taste-active amino acids taste were significantly different between the bagging and non-bagging groups. By GC-IMS, 27 volatile substances were identified, including 14 aldehydes, 5 esters, 4 alcohols, 3 ketones and 1 other compounds. Most esters were more abundant in non-bagged fruits, while most alcohols were more abundant in bagged fruits. The fingerprints of volatile components in 'Younai' plum with pre-harvest bagging and non-bagging treatment were different. By searching against the Traditional Chinese Medicine System Pharmacology Database and comparing them with identified metabolites, 199 active ingredients were identified, and 37 key active ingredients were obtained according to the

收稿日期: 2022-04-11

基金项目: 福建省属公益类科研项目 (2020R10280016); 福建省自然科学基金项目 (2021J01142299);
农业农村部热带作物种质资源保护项目 (18200034);
农业高质量发展超越“5511”协调创新工程项目 (KXXYJBG2021006);
福建省农业科学院农业科技专项 (GJYS202202)

第一作者简介: 林炎娟 (1990—) (ORCID: 0000-0003-0295-3334), 女, 硕士, 研究方向为水果品质与采后处理。

E-mail: linyanjuan916@126.com

*通信作者简介: 叶新福 (1967—) (ORCID: 0000-0002-7001-0824), 男, 研究员, 博士, 研究方向为作物遗传育种。

E-mail: yexinfu@126.com

screening criteria. Among them, only quercetin was down-regulated in 'Younai' plum after pre-harvest bagging treatment. In conclusion, pre-harvest bagging can improve the appearance quality, but it may also have an effect on the taste-active, aroma-active and functional components of 'Younai' plum.

Keywords: 'Younai' plum; bagging; ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; gas chromatography-ion mobility spectrometry; quality

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220411-118

中图分类号: TS255.11

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 08-0247-10

引文格式:

林炎娟, 周丹蓉, 方智振, 等. 基于UPLC-MS/MS和GC-IMS技术分析采前套袋与未套袋油棕果实品质差异[J]. 食品科学, 2023, 44(8): 247-256. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220411-118. <http://www.spkx.net.cn>

LIN Yanjuan, ZHOU Danrong, FANG Zhizhen, et al. Comparative analysis of the effect of pre-harvest bagging and non-bagging treatment on fruit quality of 'Younai' plum by UPLC-MS/MS and GC-IMS[J]. Food Science, 2023, 44(8): 247-256. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220411-118. <http://www.spkx.net.cn>

油棕 (*Prunus salicina* Lindl.) 是福建省的名特优产品之一, 因极佳的风味及丰富的营养和保健价值, 备受消费者青睐^[1]。随着人民生活水平提高, 消费者对水果品质有着更高的要求, 果实外观、风味、保健功效和安全健康等多方面需求日渐突出。油棕果实自然成熟采摘果皮呈黄绿色, 且在生长和成熟过程中易受病虫害侵染和机械损伤等, 为了提高油棕果实外观品质、防治病虫害和降低农药残留等, 生产优质无公害水果, 套袋是果树生产上常用栽培措施, 套袋后油棕果实呈现诱人亮黄色, 可促进消费者购买意愿^[2-4]。套袋处理虽有安全、环保、高效等诸多优点, 但其对果实内在品质可能产生的负面影响不容忽视^[5]。

有研究报道, 采前套袋会降低果实质量^[6], 降低果实总糖、总酚和类黄酮等含量^[7-8]。大量研究表明, 套袋主要是通过改变果实发育过程中光质、温度等微环境因素影响果实的内外在品质形成^[9-10]。Jing Chenjuan^[11]和Liu Yulian^[12]等为评估发育环境对苹果果实品质影响, 比较了套袋与未套袋苹果色泽及滋味品质差异, 结果发现套袋降低了果实叶绿素和类胡萝卜素积累和果皮花青素积累的同时, 也降低了糖和有机酸含量。不同果袋类型、摘袋方式和时间也会影响套袋对果实品质的影响。有研究报道选用外黄内黑双层袋相较于其他果袋, 可有效避免猕猴桃果实因套袋处理而导致的果糖和葡萄糖含量发生下降^[13]。Huang Chunhui等^[14]研究认为套袋后要获得外观和内在品质好的梨果实应至少在采前10 d完成摘袋。因此, 选用适宜果袋和套袋时间可减少套袋处理对果实所产生的负面影响, 且套袋对不同果种及不同品种的影响也存在一定差异。目前, 关于套袋对油棕果实内在品质的影响研究鲜见报道。限于检测技术, 过去研究很难将内在品质相关成分进行较为全面定性和定量。超高效液相色谱-串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/

MS) 联用技术是小分子代谢产物定量分析方法, 具有分析速度快、高通量、高灵敏度、高准确度和高稳定性等特点, 气相-离子迁移谱 (gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS) 技术是痕量挥发性有机气体的分析方法, 该技术无需前处理, 检测速度快^[15-19], 这两种技术在探索成分差异方面具有明显优势, 结合化学计量统计方法, 可更好研究套袋与未套袋的油棕果实品质相关代谢产物和挥发性成分的差异。本实验拟通过采用UPLC-MS/MS和GC-IMS等技术分析采前套袋与未套袋的油棕果实代谢产物、代谢途径及挥发性物质差异, 较为全面地探讨套袋处理对油棕果实滋味、气味等风味品质和营养价值的影响, 以期对油棕果实的采前套袋栽培技术应用提供重要理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

于2021年7月中旬 (绿熟期) 选取古田县油棕果园中长势基本一致的5 a生油棕树3棵, 株距为5 m, 行距为6 m。对每棵树上果实一半不做处理 (未套袋, CK), 一半做遮光性套袋处理 (TD), 所选取果袋为外黄内黑双层果袋 (购自四川绿果林制袋有限公司, 规格型号为149 mm×187 mm)。于8月18日 (对照果实成熟时) 采摘果实, 立即运回实验室, 从每棵树套袋和未套袋的果实中各挑选大小一致、无病虫害和机械损伤的果实10个, 每个处理共30个果实, 去皮取果肉切成均匀肉块, 液氮速冻置于-80℃低温保存待测。

1.2 仪器与设备

TMS-PRO食品物性测试仪 (质构仪) 美国FTC公司; JXFSTPRP-24型研磨仪 上海净信科技有限公司; BSA124S-CW型电子天平 德国Sartorius公司; PS-60AL型超声仪 深圳市雷德邦电子有限公司; Heraeus

Fresco17型离心机、Q Exactive HFX型高分辨质谱、Vanquish型UPLC-MS/MS仪 美国Thermo Fisher Scientific公司; FlavourSpec®风味分析仪 德国G.A.S.公司。

1.3 方法

1.3.1 单果质量和果肉硬度测定

单果质量采用称重法测定。果肉硬度采用物性分析仪测定,使用穿刺程序和P/2探头,起始力为0.750 N,量程为50 N,穿刺距离为5.00 mm,实验测试速率为300 mm/min,将果实切去直径为1.0 cm的圆薄片,于圆心处测定,所得最大力值即为果肉硬度值。

1.3.2 UPLC-MS/MS测定

由上海阿趣生物科技有限公司进行数据测定、采集和初步分析,样品寄送采用干冰和冰袋运输。

1.3.2.1 样品制备

将油棕果实冻样称取50 mg进行液氮研磨,加入含同位素标记内标物的甲醇溶液((甲醇-水(3:1, V/V))1 000 μ L。在35 Hz下研磨4 min,超声冰水浴5 min,该步骤重复3次,于-40 $^{\circ}$ C静置1 h,然后将提取液置于4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min离心15 min,最后取上清液上机检测。

1.3.2.2 UPLC-MS/MS条件

使用Vanquish超高效液相色谱仪,通过Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm $\times$ 100 mm, 1.8 μ m)液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。流动相:A为水相(含5 mmol/L乙酸铵和5 mmol/L乙酸),B为乙腈。样品盘温度:4 $^{\circ}$ C;进样体积:3 μ L。洗脱程序:0~0.5 min, 5% A、95% B;0.5~7.0 min, 5%~35% A、95%~65% B;7.0~8.0 min, 35%~60% A、65%~40% B;8.0~9.0 min, 60% A、40% B;9.0~9.1 min, 60%~5% A、40%~95% B;9.1~12.0 min, 5% A、95% B。

Thermo Q Exactive HFX质谱仪由软件(Xcalibur, 版本:4.0.27)控制并进行一级、二级质谱数据采集。参数如下:鞘气流速:30 arb;辅助气体流速:10 arb;毛细管温度:350 $^{\circ}$ C,全质谱分辨率:60 000;MS/MS分辨率:7 500;碰撞能量:碰撞能量归一化模式下10/30/60 eV;喷雾电压:4.0 kV(正离子模式)或-3.8 kV(负离子模式)。

1.3.2.3 数据处理

原始数据经ProteoWizard软件转成mzXML格式后,使用自主编写的R程序包(内核为XCMS)进行峰识别、峰提取、峰对齐和积分等处理,然后与BiotreeDB(V2.1)自建二级质谱数据库匹配进行物质注释,算法打分的Cutoff值设为0.3。

1.3.3 GC-IMS测定

委托山东海能科学仪器有限公司应用实验室完成,样品寄送采用干冰和冰袋运输。

1.3.3.1 样品制备

称取5 g液氮速冻的均匀大小果肉块样品,直接装入20 mL顶空瓶中。

1.3.3.2 GC-IMS条件

GC条件:运行时间为30 min,初始2 mL/min,保持2 min后8 min内升高至10 mL/min,10 min内升至100 mL/min,10 min内升至150 mL/min。

GC-IMS分析条件:分析时间为30 min;色谱柱类型为FS-SE-54-CB-1石英毛细管柱(15 m $\times$ 0.53 mm, 0.5 μ m);柱温60 $^{\circ}$ C;载气/漂移气为氮气;IMS温度45 $^{\circ}$ C。

自动顶空进样条件:孵化温度为40 $^{\circ}$ C;孵化时间为15 min;进样体积为500 μ L;进样针温度85 $^{\circ}$ C;孵化转速500 r/min。

1.3.3.3 数据处理

采用GC-IMS设备自带仪器分析软件对挥发性成分进行定性定量和图谱绘制。

1.4 数据分析

采用Excel软件、SPSS软件和Origin软件等进行数据分析、方差分析和作图。采用SIMCA软件对数据进行正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA),计算导出变量权重值(variable importance in projection, VIP),根据VIP>1与上调代谢物差异倍数(fold change, FC) $\geq$ 2和下调代谢物FC $\leq$ 0.5筛选出具有生物学意义的显著差异代谢物。差异代谢物的代谢途径分析采用MetaboAnalyst 5.0在线数据库(<https://www.metaboanalyst.ca/>)中Pathway Analysis功能板块进行京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)通路富集分析,并用Rstudio软件进行可视化作图。采用中药系统药理学数据库与分析平台(Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database and Analysis Platform, TCMSP)(<http://tcmispw.com/tcmisp.php>)查询代谢物的口服生物利用度(oral bioavailability, OB)和类药性(drug-like properties, DL)。

2 结果与分析

2.1 套袋对果实色泽、单果质量和果肉硬度的影响

由图1可知,套袋后油棕果皮和果肉着黄色色泽,与对照直观观察的绿色色泽明显不同。套袋后果实的单果质量和果肉硬度与未套袋果实无显著差异。这说明套袋处理可提高果实外观品质。

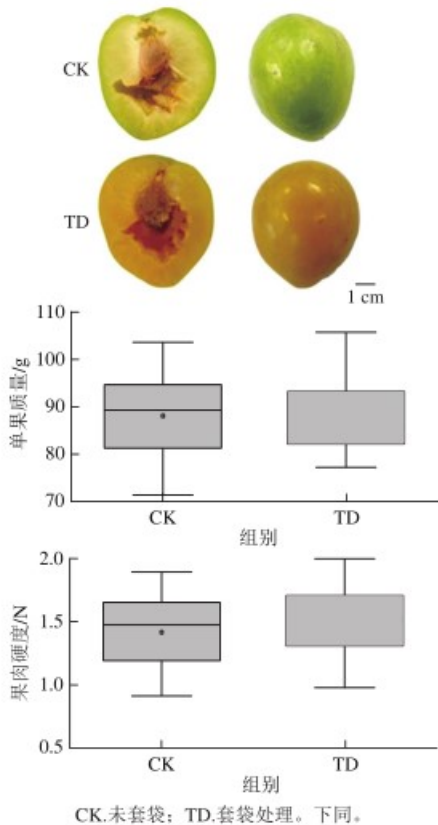


图1 采前套袋对油棕果实色泽、单果质量和果肉硬度的影响
Fig.1 Effect of bagging on color, fruit mass and pulp firmness of 'Younai' plum

2.2 基于UPLC-MS/MS的代谢产物差异分析

2.2.1 代谢物鉴定

采用UPLC-MS/MS技术进行定性定量分析，共鉴定到代谢物604个，主要包括脂质类、氨基酸、有机杂环化合物、有机酸及其衍生物、糖类、生物碱及衍生物、芳香类化合物、苯丙素类、黄酮类等（表1）。其中，糖类、有机酸及衍生物、脂质类和氨基酸等物质具有较高的相对含量；而脂质类、氨基酸和有机杂环化合物等物质的种类较丰富。

表1 油棕果实代谢物统计

Table 1 Statistics of metabolites in 'Younai' plum

序号	类别	数量	相对定量值	
			未套袋	套袋
1	脂质类	109	0.015 768 150	0.013 213 480
2	氨基酸及衍生物	59	0.012 948 357	0.014 020 286
3	有机杂环化合物	50	0.005 272 581	0.004 756 336
4	有机酸及衍生物	38	0.028 284 202	0.026 381 489
5	糖类	36	0.057 240 432	0.047 386 413
6	生物碱及衍生物	29	0.002 582 520	0.001 821 940
7	芳香类化合物	25	0.001 658 260	0.001 379 546
8	苯丙素类	24	0.000 905 328	0.001 255 039
9	黄酮类	19	0.000 300 515	0.000 449 368
10	有机氧化合物	9	0.000 648 041	0.000 540 291
11	其他	206	0.055 442 325	0.052 154 404

2.2.2 代谢物分析

为了解两组样本之间代谢物的总体差异以及同组内样

本代谢物变异情况，通过对两组样本鉴定到的所有代谢物进行主成分分析（principal component analysis, PCA）和层次聚类热图分析，将累计贡献率达66.4%的2个PC的PCA得分图和层次聚类热图进行展示（图2）。由图2A可看出，处理组和对照组分别落在垂直中心轴的两侧，组间具有明显的分离趋势，结合层次聚类热图（图2B），结果显示套袋处理对油棕果实的代谢特征有一定影响。同时PCA得分图和层次聚类热图可看出组内具有一定程度上的聚集和相近性，体现该数据具有良好的可靠性和重复性。

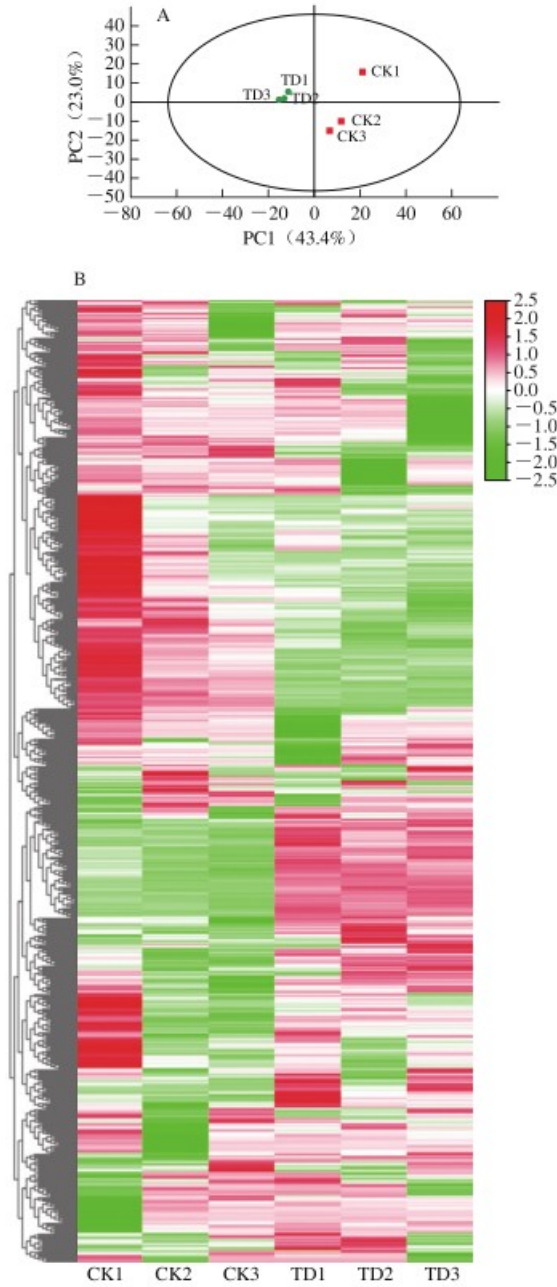


图2 油棕果实代谢物PCA得分图（A）和层次聚类热图（B）
Fig.2 PCA score plot (A) and cluster heatmap (B) of metabolites in 'Younai' plum

2.2.3 差异代谢物筛选与分析

为进一步研究采前套袋对油棕代谢产物的影响,筛选关键的潜在差异代谢物,采用OPLS-DA进行有监督的判别分析统计,过滤掉与分类信息无关的噪音,最大化地表现出组别间的差异^[20](图3)。同时对所建立OPLS-DA模型进行检验,在该模型中, R^2_X 和 R^2_Y 分别表示模型对X和Y矩阵的解释率, Q^2 表示模型的预测能力。验证结果显示, R^2_X 为0.948, R^2_Y 为1.000, Q^2 为0.991,3个值均大于0.9,说明该模型有效、可靠,可用于差异代谢物筛选。VIP值用于衡量代谢物的表达模式及其对各组样本分类判别的影响强度和解释能力,可挖掘具有生物学意义的差异代谢物^[21],FC是样本质表达达量的FC。基于OPLS-DA结果,根据VIP>1和FC≥2或FC≤0.5,得到物质的火山图(图4),结果显示,显著差异代谢物58个,其中上调物质22个,下调物质36个,物质类别和数目如表2所示。其中,上调代谢物表示套袋后含量显著高于对照,下调代谢物表示套袋后含量显著低于对照。从表2可知,主要差异代谢物为脂质类、氨基酸及衍生物、有机杂环化合物、黄酮类和生物碱及衍生物。

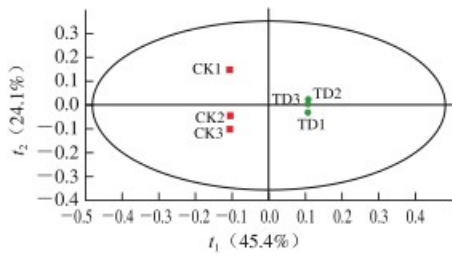


图3 油棕果实代谢物OPLS-DA图

Fig. 3 OPLS-DA score plot of metabolites in 'Younai' plum

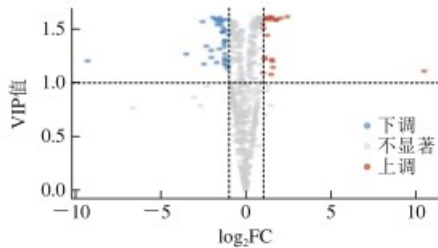


图4 油棕果实代谢物火山图

Fig. 4 Volcano map of metabolites in 'Younai' plum

表2 差异代谢物数目统计

Table 2 Statistics of differential metabolites

类别	综述数目	上调数目	下调数目
脂质类	12	6	6
氨基酸及衍生物	9	3	6
有机杂环化合物	5	0	5
黄酮类	4	3	1
生物碱及衍生物	3	1	2
苯丙素类	2	1	1
芳香类化合物	1	0	1
其他	22	8	14
总计	58	22	36

2.2.4 代谢途径差异分析

为分析套袋处理对油棕果实代谢途径的影响,将对照与套袋处理的油棕果实鉴定到关键的差异代谢物进行KEGG富集分析,获得25条详细的通路信息(图5)。KEGG代谢途径分析,可展示差异代谢物的代谢通路富集情况,反映出各种细胞合成和降解过程,有利于代谢物的网络分析与研究。结果表明,两者代谢途径差异变化主要集中在缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成、氨基氨基酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢、氨酰-tRNA生物合成、谷胱甘肽代谢和甘油磷脂代谢等25条通路,通路中差异代谢物的富集数量由点的大小表示,超几何分析结果显示缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成、氨基氨基酸代谢、精氨酸和脯氨酸代谢3条代谢通路的富集分析结果差异显著。氨基酸种类和含量是决定果实滋味的重要因素^[22]。由此推测,套袋处理主要是通过氨基酸代谢途径影响果实风味形成。

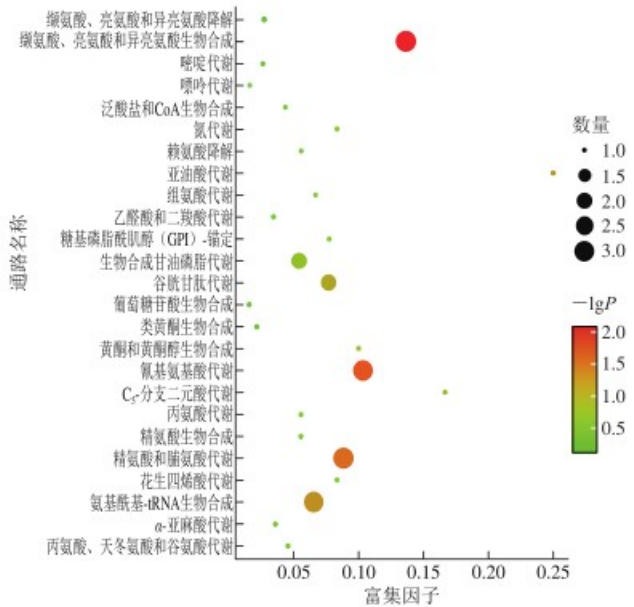


图5 差异代谢物通路分析图

Fig. 5 Pathway analysis of differential metabolites

2.2.5 滋味品质成分差异分析

果实的甜酸口味和涩味主要取决于糖类、有机酸和氨基酸的组成和丰度^[22]。为了分析套袋处理对果实滋味品质的影响,在油棕果实中鉴定出34种糖类、34种有机酸及衍生物、59种氨基酸及衍生物。基于VIP值>1和上调代谢物FC≥2和下调代谢物FC≤0.5的筛选标准,仅检索到9种氨基酸及衍生物为差异积累的代谢物,其中缬氨酸、组氨酸、天冬酰胺精氨酸3个物质上调,赖氨酸、天冬酰胺精氨酸和谷氨酰胺等其他6个氨基酸下调,见表3。差异积累上调和下调物质中,含量较高的分别为赖

氨酸和缬氨酸,有研究报道,缬氨酸是苦味氨基酸,赖氨酸是鲜味氨基酸^[23]。由此说明,采前套袋对果实甜酸口味影响不显著,但有可能会使果实鲜味降低和苦涩味增强。

表3 滋味品质相关的显著差异代谢物

物质类别	差异代谢物	未套袋	套袋	VIP	FC	类型
氨基酸及衍生物	缬氨酸	2.5301×10^{-4}	8.8265×10^{-4}	1.59	3.49	上调
	组氨酸	2.3041×10^{-5}	6.3014×10^{-5}	1.58	2.73	上调
	赖氨酸	7.0313×10^{-4}	2.5377×10^{-4}	1.54	0.36	下调
	天冬酰胺精氨酸	3.6564×10^{-6}	1.0971×10^{-5}	1.14	3.00	上调
	谷氨酰胺	6.2509×10^{-5}	2.9867×10^{-5}	1.59	0.48	下调
	4-乙酰氨基丁酸	2.0793×10^{-4}	6.5468×10^{-5}	1.57	0.31	下调
	(2R,3R,4R)-2-氨基-4-羧基-3-甲基戊酸	4.0461×10^{-5}	1.7244×10^{-5}	1.39	0.43	下调
	5-氨基戊酸	2.88796×10^{-5}	1.2325×10^{-5}	1.33	0.43	下调
	2-氨基环丁烷羧酸	2.8580×10^{-4}	7.1205×10^{-5}	1.23	0.25	下调

2.2.6 活性成分分析

表4 采前套袋对油棕果实关键活性成分的影响

类别	关键活性成分	分子编号	DL	OB/%	未套袋	套袋	VIP	FC	类型
黄酮类	圣草酚	MOL005190	0.24	71.79	2.9976×10^{-6}	4.9476×10^{-6}	1.51	1.65	
	表儿茶素	MOL006505	0.24	28.93	2.5012×10^{-5}	3.1220×10^{-5}	1.44	1.25	
	儿茶素	MOL000492	0.24	54.83	9.5221×10^{-6}	1.4327×10^{-5}	1.55	1.50	
	槲皮素	MOL000098	0.28	46.43	5.9539×10^{-6}	1.7600×10^{-6}	1.59	0.30	下调
	山奈酚	MOL000422	0.24	41.88	1.4017×10^{-5}	1.0583×10^{-5}	0.38	0.75	
	桑梓素	MOL001696	0.76	11.52	2.7646×10^{-6}	1.9354×10^{-6}	0.63	0.70	
	木犀草素	MOL000006	0.25	36.16	2.5182×10^{-6}	3.8865×10^{-6}	0.77	1.54	
	原花青素B ₁	MOL000004	0.66	67.87	9.3860×10^{-5}	1.1019×10^{-4}	1.27	1.17	
	十八碳四烯酸	MOL010622	0.15	45.78	4.4032×10^{-6}	2.5075×10^{-6}	1.00	0.57	
	α -亚麻酸	MOL000432	0.15	45.01	1.6263×10^{-5}	1.8820×10^{-5}	1.22	1.16	
脂类	蓖麻油酸	MOL008143	0.16	32.57	6.8100×10^{-6}	4.3198×10^{-6}	0.79	0.63	
	棕榈酸	MOL000069	0.10	19.30	2.5290×10^{-1}	1.5117×10^{-1}	1.23	0.60	
	油酸乙酯	MOL008599	0.19	32.40	6.9385×10^{-6}	6.2998×10^{-6}	0.19	0.91	
	二十二碳三烯酸	MOL013146	0.30	43.23	1.9683×10^{-5}	1.6110×10^{-5}	0.65	0.82	
	花生四烯酸	MOL005320	0.20	45.57	6.5008×10^{-7}	5.7452×10^{-7}	0.18	0.88	
	2-羟基硬脂酸	MOL006083	0.17	21.02	4.7403×10^{-6}	4.5380×10^{-6}	0.21	0.96	
	苹果酸	MOL000511	0.75	16.77	2.4726×10^{-5}	2.0750×10^{-5}	1.00	0.84	
	山楂酸	MOL005559	0.74	15.54	1.5220×10^{-6}	2.5606×10^{-6}	1.53	1.68	
	白苏苷C	MOL006229	0.19	25.19	8.9438×10^{-6}	1.2546×10^{-5}	0.57	1.40	
	异海松酸	MOL002039	0.28	36.20	5.2748×10^{-6}	4.7268×10^{-6}	0.18	0.90	
萜类	莰烯	MOL004257	0.15	34.11	1.1928×10^{-6}	1.7057×10^{-6}	0.63	1.43	
	甘草宁I	MOL005004	0.39	21.90	2.2242×10^{-7}	2.9950×10^{-7}	0.46	1.35	
	绿原酸	MOL003871	0.31	13.61	1.4902×10^{-4}	2.1720×10^{-4}	1.50	1.46	
	松柏苷	MOL002649	0.27	10.28	2.7374×10^{-6}	3.8136×10^{-6}	1.44	1.39	
	有机杂环化合物	吗啡	MOL003092	0.27	14.80	3.9812×10^{-5}	2.3395×10^{-5}	0.87	0.59
糖苷类	黄酮素B	MOL007939	0.70	43.01	9.0770×10^{-6}	7.7883×10^{-6}	1.39	0.86	
	水杨苷	MOL012219	0.16	7.15	1.6908×10^{-5}	2.8488×10^{-5}	1.61	1.68	
	蔗糖	MOL000842	0.23	7.17	3.1347×10^{-5}	2.0833×10^{-5}	1.21	0.66	
核苷	肌苷	MOL006948	0.18	11.17	6.2819×10^{-6}	1.5063×10^{-5}	0.92	2.40	
	腺苷	MOL011099	0.18	18.32	4.7410×10^{-5}	6.4521×10^{-5}	1.33	1.36	
异黄酮类	光果甘草酮	MOL004912	0.50	52.51	1.6813×10^{-4}	1.9944×10^{-4}	0.79	1.19	
	VB ₆	MOL002730	0.50	6.79	3.1932×10^{-6}	4.3102×10^{-6}	1.56	1.35	
	生物碱	MOL002346	0.55	24.80	1.7068×10^{-3}	1.5767×10^{-3}	0.62	0.92	
酯类	甜菜碱	MOL002467	0.16	35.64	1.8969×10^{-5}	1.5799×10^{-5}	1.44	0.83	
	姜辣素	MOL002467	0.16	35.64	1.8969×10^{-5}	1.5799×10^{-5}	1.44	0.83	
有机杂环化合物	3-O-对香豆酰基奎宁酸	MOL001368	0.29	37.63	5.9504×10^{-6}	7.9400×10^{-6}	1.18	1.33	
其他	掌叶大戟二萜醇A	MOL000762	0.65	35.36	6.1498×10^{-6}	9.4463×10^{-6}	1.57	1.54	
	鹅去氧胆酸	MOL000842	0.69	27.17	2.9669×10^{-6}	5.6133×10^{-6}	1.59	1.89	

注:类型列数据中,空白表示为非差异代谢物。

TCMSP数据库是一个包含活性成分及其药代动力学特性等信息的药理学分析平台。一般认为,油棕果实具有保健功能的关键活性成分是氨基酸、酚类和维生素类等^[1]。本研究基于UPLC-MS/MS技术鉴定油棕果实的物质成分基础上,通过TCMSP数据库查询代谢物的OB和DL值,从中挖掘潜在的关键活性成分。查询结果发现,油棕果实中604种代谢物有199种是TCMSP中的已知活性成分,通过设置参数OB $\geq 5\%$ 和DL ≥ 0.15 显示,199种潜在活性成分中有37种化学成分符合条件,推断这些成分是油棕果实发挥保健功效的关键活性成分(表4)。其中,37种代谢物主要是由黄酮类化合物、脂类、萜类、苯丙素类、有机杂环化合物、糖类、核苷、醇类、异黄酮类、维生素类、生物碱、酚类及其他物质组成,说明油棕果实中含有多种有益于人体健康的关键活性成分,其中黄酮类和脂类化合物是主要活性成分类别,而套袋处理会导致槲皮素含量出现下降,但对其他活性成分的含量影响不显著。

2.3 基于GC-IMS的挥发性成分差异分析

2.3.1 挥发性成分谱图分析

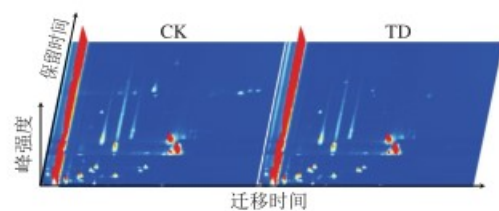


图6 未套袋和采前套袋油棕果实GC-IMS三维图谱

Fig. 6 Three-dimensional GC-IMS spectra of 'Younai' plum subjected to pre-harvest bagging and non-bagging treatments

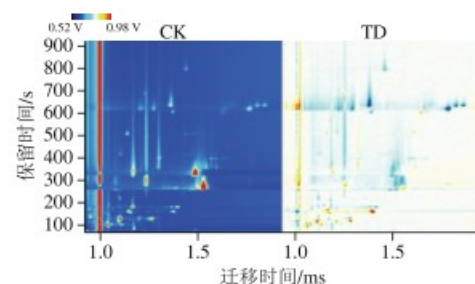


图7 未套袋和采前套袋油棕果实的GC-IMS二维差异对比图谱

Fig. 7 Two-dimensional differential GC-IMS spectra of 'Younai' plum subjected to pre-harvest bagging and non-bagging treatments

为研究套袋对油棕果实挥发性成分的影响,采用GC-IMS技术测定油棕果实在40℃孵化温度下的挥发性成分,该温度可较好地反映果实真实气味特征,测定结果见图6。其中,背景图为蓝色,红色垂直线表示离子峰,离子峰右侧区域每一点代表一种挥发性成分,颜色深浅程度代表挥发性成分含量高低,白色区域代表化合物含量低,红色区域代表化合物含量高。如图6所

分数据库信息不完善未完成定性,这需要结合其他方法和文献报道进一步定性。由图8可知,(*E,E*)-2,4-己二烯醛、反式-2-戊烯醛、(*Z*)-4-庚烯醛、丁醛、庚醛、壬醛、戊醛、乙酸己酯、丁酸异戊酯、甲酸乙酯、异丁酸甲酯、乙酸己酯、1-戊烯-3-醇、1-戊烯-3-酮、乙酮、2-甲基-5-(1-甲基乙基)-1,3-环己二烯等物质在未套袋果实中含量较高,而1-己醇、1-丙醇、乙醇、丙醛、3-甲基丁醛、2-甲基丁醛、2-丙酮等物质在套袋果实中含量较高。采前套袋与未套袋油棕果实挥发性成分具有不同的指纹图谱,套袋处理影响了果实风味形成。

3 讨论

油棕果实自然成熟时一般呈现黄绿色泽,果实色泽可直接影响消费者购买行为,经前期预实验发现,在果实绿熟期采用外黄内黑双层袋进行套袋处理可有效促进油棕果实成熟时呈现出诱人的亮黄色泽。本研究证实采前套袋可有效促进油棕果实着亮黄色,姜新等^[25]研究不同果袋对桃色泽的影响发现,采用外黄内黑果袋的果皮叶绿素含量显著低于单白袋、单黄袋和透白袋等其他3种果袋,这与本结果相似,这可能是完全遮光会抑制果实叶绿素的合成并加速果实内叶绿素的分解^[26]。张修德等^[27]在“金冠”果皮上的套袋研究也有类似结论,发现透光率较高的蓝色果袋和红色果袋有利于果皮叶绿素的积累,而透光率低的绿色果袋和小林袋抑制了叶绿素积累。本研究发现套袋对油棕果肉硬度和单果质量无显著影响,这与宋廷宇等^[28]采前1个月套袋对甜瓜大小无显著影响的研究结果相似。套袋对果实品质的影响,不同研究有不同结论,张振铭等^[29]在花后30 d进行套袋研究发现所有果袋都改善了黄金梨的外观品质但果实单果质量显著降低。根据此结果推测,为减少套袋处理对果实大小的影响,在果实发育后期进行套袋是较好的选择。

果实滋味取决于果实内糖类、有机酸和氨基酸等味觉物质的组成和丰度。本研究结果发现采前套袋对油棕果实糖类和有机酸含量影响不显著,对部分氨基酸含量影响显著。这与谢婧蕻等^[30]在马家柚上研究发现套袋处理对果实糖酸含量无显著影响的结果相同,与Shan Nan等^[24]在黄瓜和李芳芳等^[31]在香梨中的研究结果相似,与樊进补等^[32]研究发现套袋改变鸭梨果肉中氨基酸含量的结果相似。但与前人在苹果^[27,33]、桃^[34]和早熟梨^[35]等的研究结果不同。一方面可能是套袋通过改变果实周围的光照、温度、水分和气体等微环境影响果实的光合能力和物质代谢,从而影响果实相关物质积累,不同果种和果袋的影响程度不同^[35-37]。另一方面可能是由于套袋对果树

叶片造成的遮挡情况不同,有研究报道套袋会通过遮挡叶片影响和限制光合作用,以致减少转运到果实的光合产物量,从而影响果实物质含量^[38-40]。

果实气味取决于挥发性成分等嗅觉物质的组成和丰度。本研究发现酯类物质在未套袋果实中积累较多,醇类物质在套袋果实中积累较多。套袋显著影响了油棕果实中戊醛单体、己醛二聚体、丁醛单体、2-甲基丁醛单体及二聚体、乙酸己酯单体、己醇单体、乙酸叶醇酯单体及二聚体和丙醇等多种挥发性成分含量。这和冯帅帅等^[41]在苹果上的研究结论相似,该研究发现风味物质的改变归因于乙烯合成减少导致MdLOX和MdADH基因下调。乙烯是果实采后成熟品质形成途径中重要的内源激素,可调控芳香生物合成途径,套袋通过改变微环境使果实乙烯释放受到限制,从而影响果实风味物质形成^[42-47]。姜启航等^[48]研究发现套袋对马家柚果肉挥发性成分的影响不显著,与本结果不同,这可能是果种、果袋及套袋时间的不同而有所差异。

随着人们对食物健康功能的认知和需求的提升,保健功能成为食品的一大卖点。本研究结果显示,604个代谢物中挖掘出37个关键活性成分,在这37个成分中套袋仅使果实槲皮素含量显著下降。但目前关于套袋如何影响果实槲皮素含量的研究鲜见报道,槲皮素主要涉及类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成、次生代谢物的生物合成等代谢途径^[49],套袋通过光照、温度或其他因素等如何影响槲皮素含量还有待进一步研究。

4 结论

采前套袋有助于油棕果实着黄色,并采用UPLC-MS/MS和GC-IMS技术对采前套袋与未套袋的油棕果实内在品质成分进行了系统分析,共鉴定出604种代谢物和27种挥发性成分,挖掘出37个关键的活性成分。套袋与未套袋果实滋味和气味等风味成分差异分别通过糖、酸、氨基酸和挥发性成分的组成和丰度变化解释。本研究可为油棕果实套袋品质提升提供重要理论依据。

参考文献:

- [1] 姜翠翠,孙文鹏,方智振,等.福建省3个主栽棕品种果实采后品质和生物活性物质含量变化[J].热带作物学报,2015,36(4):713-718. DOI:10.3969/j.issn.1000-2561.2015.04.013.
- [2] 曾志芳.套袋对油木奈果实品质的影响[J].东南园艺,2018,6(3):22-24.
- [3] ALI M M, ANWAR R, YOUSEF A F, et al. Influence of bagging on the development and quality of fruits[J]. Plants, 2021, 10(2): 358. DOI:10.3390/plants10020358.

- [4] SHARMA R R, REDDY S V R, JHALEGAR M J. Pre-harvest fruit bagging a useful approach for plant protection and improved post-harvest fruit quality: a review[J]. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 2014, 89(2): 101-113. DOI:10.1080/14620316.2014.11513055.
- [5] 何平, 李林光, 王海波, 等. 遮光性套袋对桃果实转录组的影响[J]. *中国农业科学*, 2017, 50(6): 1088-1097. DOI:CNKI:SUN:KJ SJ.0.2018-03-008.
- [6] GRINAN I, MORALES D, GALINDO A, et al. Effect of preharvest fruit bagging on fruit quality characteristics and incidence of fruit physiopathies in fully irrigated and water stressed pomegranate trees[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 99(3): 1425-1433. DOI:10.1002/jsfa.9324.
- [7] 冯健君, 陈俊伟, 徐红霞, 等. 果袋透光性对宁海白枇杷果实品质及抗氧化能力的影响[J]. *果树学报*, 2009, 26(1): 66-70. DOI:CNKI:SU N:GSKK.0.2009-01-017.
- [8] WANG Y L, ZHANG X F, WANG R, et al. Differential gene expression analysis of 'Chili' (*Pyrus bretschneideri*) fruit pericarp with two types of bagging treatments[J]. *Horticulture Research*, 2017, 4(5): 1-10. DOI:10.1038/hortres.2017.5.
- [9] 孔佳君, 曹鹏, 吴潇, 等. 不同颜色遮光膜套袋对'砀山酥梨'果实品质及矿质元素含量的影响[J]. *园艺学报*, 2018, 45(6): 1173-1184. DOI:10.16420/j.issn.0513-353x.2017-0861.
- [10] CAO Z, ALI M M, ZHANG J, et al. Effect of paper and aluminum bagging on fruit quality of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.)[J]. *Plant-Basel*, 2021, 10(12): 1-15. DOI:10.3390/plants10122704.
- [11] JING C J, FENG D P, ZHAO Z Y, et al. Effect of environmental factors on skin pigmentation and taste in three apple cultivars[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2020, 42(5): 67-79. DOI:10.1007/s11738-020-03039-7.
- [12] LIU Y L, ZHANG X J, ZHAO Z Y. Effects of fruit bagging on anthocyanins, sugars, organic acids, and color properties of 'Granny Smith' and 'Golden Delicious' during fruit maturation[J]. *European Food Research and Technology*, 2013, 236(2): 329-339. DOI:10.1007/s00217-012-1896-3.
- [13] 陈成, 王依, 宋思言, 等. 套袋对海沃德猕猴桃果实品质及叶绿素代谢的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2022, 50(7): 138-146. DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.
- [14] HUANG C H, YU B, TENG Y W, et al. Effects of fruit bagging on coloring and related physiology, and qualities of red Chinese sand pears during fruit maturation[J]. *Scientia Horticulturae*, 2009, 121(2): 149-158. DOI:10.1016/j.scienta.2009.01.031.
- [15] WANG D D, ZHANG L X, HUANG X R, et al. Identification of nutritional components in black sesame determined by widely targeted metabolomics and traditional Chinese medicines[J]. *Molecules*, 2018, 23(5): 1180-1192. DOI:10.3390/molecules23051180.
- [16] 王雅慧, 刘晓宏, 雍明丽, 等. 基于代谢组学分析丝瓜果肉褐变过程酚酸类物质变化[J]. *中国农业科学*, 2021, 54(22): 4869-4879. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2021.22.013.
- [17] 金文刚, 赵萍, 金晶, 等. 基于气相-离子迁移色谱分析大靛不同可食部位挥发性成分指纹差异[J]. *食品科学*, 2022, 43(2): 303-309. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20201102-010.
- [18] 李湘, 江靖, 李高阳, 等. GC-IMS结合化学计量学分析不同采后处理对柑橘果皮挥发性化合物的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(20): 128-134. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200808-110.
- [19] WANG Z R, SONG M Y, WANG Z, et al. Metabolome and transcriptome analysis of flavor components and flavonoid biosynthesis in fig female flower tissues (*Ficus carica* L.) after bagging[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1). DOI:10.1186/s12870-021-03169-1.
- [20] 张桂云, 朱静雯, 孙明法, 等. 盐胁迫条件下长白10号水稻籽粒中差异代谢物的分析[J]. *中国农业科学*, 2021, 54(4): 675-683. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2021.04.001.
- [21] 许海峰, 陈新, 张士刚, 等. 基于代谢组学分析'秋香'核桃贮藏期间脂肪酸的变化[J]. *园艺学报*, 2021, 48(11): 2161-2170. DOI:10.16420/j.issn.0513-353x.2020-0731.
- [22] ZOU S C, WU J C, MUHAMMAD Q S, et al. Identification of key taste components in loquat using widely targeted metabolomics[J]. *Food Chemistry*, 2020, 323: 126822. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126822.
- [23] 林媚, 张伟清, 王天玉, 等. 15个杂交柑橘品种的果实游离氨基酸组成及其对风味品质的影响[J]. *果树学报*, 2022, 39(3): 352-365. DOI:10.13925/j.cnki.gsx.20210449.
- [24] SHAN N, GAN Z Y, NIE J, et al. Comprehensive characterization of fruit volatiles and nutritional quality of three cucumber (*Cucumis sativus* L.) genotypes from different geographic groups after bagging treatment[J]. *Foods*, 2020, 9(3): 1-16. DOI:10.3390/foods9030294.
- [25] 姜新, 罗瑞鸿, 李一伟, 等. 不同类型果袋对秋蜜桃1号果实品质形成和果皮色素变化的影响[J]. *西南农业学报*, 2021, 34(11): 2473-2481. DOI:10.16213/j.cnki.scjas.2021.11.023.
- [26] 陈勤操, 戴伟东, 简志远, 等. 代谢组学解析遮阴对茶叶主要品质成分的影响[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(6): 1066-1077. DOI:CNKI:SU N:ZNYK.0.2019-06-010.
- [27] 张修德, 宋成秀, 厉恩茂, 等. 不同颜色果袋对'金冠'果皮叶绿素含量及品质的影响[J]. *新疆农业科学*, 2016, 53(10): 1801-1809. DOI:10.6048/j.issn.1001-4330.2016.10.005.
- [28] 宋廷宇, 陈赫楠, 吴春燕, 等. 套袋对薄皮甜瓜果实指数的影响[J]. *北方园艺*, 2015(23): 10-13. DOI:10.11937/bfy.201523003.
- [29] 张振铭, 胡化广, 吴生才. 不同果袋套袋对黄金梨果实品质的影响[J]. *江苏农业科学*, 2010, 38(3): 216-218. DOI:10.3969/j.issn.1002-1302.2010.03.086.
- [30] 谢婧蕻, 杨莉, 旦世浩, 等. 套袋对马家柚果实外观及内在品质的影响[J]. *核农学报*, 2021, 35(1): 229-237. DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2021.01.0229.
- [31] 李芳芳, 张虎平, 何子顺, 等. 套袋对'库尔勒香梨'果实糖酸组分与香气成分的影响[J]. *园艺学报*, 2014, 41(7): 1443-1450. DOI:10.16420/j.issn.0513-353x.2014.07.020.
- [32] 樊进补, 张苏玲, 马敏, 等. 套袋对'鸭梨'果实中游离氨基酸和水解氨基酸含量的影响[J]. *果树学报*, 2020, 37(2): 204-214. DOI:10.13925/j.cnki.gsx.20190256.
- [33] 王少敏, 高华君, 张骁兵. 套袋对红富士苹果色素及糖、酸含量的影响[J]. *园艺学报*, 2002, 29(3): 263-265.
- [34] 马瑞娟, 张斌斌, 蔡志翔, 等. 不同类型黄色果袋对'晚湖景'桃果实品质的影响[J]. *西南农业学报*, 2013, 26(6): 2466-2470. DOI:10.16213/j.cnki.scjas.2013.06.078.
- [35] 李刚波, 赵林, 张婷, 等. 不同纸袋套袋对早熟梨果实生长特性及糖酸的影响[J]. *江西农业学报*, 2022, 30(2): 38-41. DOI:10.19386/j.cnki.jxnyxb.2018.02.09.

- [36] 张建光, 王惠英, 王梅, 等. 套袋对苹果果实微域生态环境的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(5): 1082-1087. DOI:10.3321/j.issn:1000-0933.2005.05.020.
- [37] 李刚波, 樊继德, 赵林, 等. 五种套袋对早熟梨果实糖酸和毒死蜱农药残留的影响[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(8): 1363-1368.
- [38] HIEKE S, MENZEL C M, P LÜDDERS. Effects of leaf, shoot and fruit development on photosynthesis of lychee trees (*Litchi chinensis*)[J]. Tree Physiology, 2002, 22(13): 955-961. DOI:10.1093/treephys/22.13.955.
- [39] YEN C R, KOCH K E. Developmental changes in translocation and localization of ^{14}C -labeled assimilates in grapefruit: light and dark CO_2 fixation by leaves and fruit[J]. Journal of the American society for Horticultural Science, 1990, 115(5): 815-819. DOI:10.21273/JASHS.115.5.815.
- [40] RAPPARINI F, ROTONDI A, BARALDI R. Blue light regulation of the growth of *Prunus persica* plants in a long term experiment: morphological and histological observations[J]. Trees, 1999, 14(3): 169-176. DOI:10.1007/PL00009760.
- [41] 冯帅帅, 闫成太, 张天皓, 等. 套袋对‘瑞雪’苹果香气成分的影响及相关基因表达分析[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 185-192. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190320-253.
- [42] LI T, XU Y X, ZHANG L C, et al. The jasmonate-activated transcription factor MdMYC2 regulates ethylene response factor and ethylene biosynthetic genes to promote ethylene biosynthesis during apple fruit ripening[J]. The Plant Cell, 2017, 29(6): 1316-1334. DOI:10.1105/tpc.17.00349.
- [43] ROBERT J S, ELLEN N F, EDWIGE J F, et al. A genomics approach reveals that aroma production in apple is controlled by ethylene predominantly at the final step in each biosynthetic pathway[J]. Plant Physiology, 2007, 144(4): 1899-1912. DOI:10.1104/pp.106.093765.
- [44] LI T, JIANG Z Y, ZHANG L C, et al. Apple (*Malus domestica*) MdERF2 negatively affects ethylene biosynthesis during fruit ripening by suppressing *MdACS1* transcription[J]. The Plant Journal, 2016, 88(5): 735-748. DOI:10.1111/tpj.13289.
- [45] YANG X T, SONG J, DU L N, et al. Ethylene and 1-MCP regulate major volatile biosynthetic pathways in apple fruit[J]. Food Chemistry, 2016, 194(1): 325-336. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.08.018.
- [46] LI D P, XU Y F, XU G M, et al. Molecular cloning and expression of a gene encoding alcohol acyltransferase (*MdAAT2*) from apple (cv. Golden Delicious)[J]. Phytochemistry, 2006, 67(7): 658-667. DOI:10.1016/j.phytochem.2006.01.027.
- [47] LI D P, XU Y F, SUN L P, et al. Salicylic acid, ethephon, and methyl jasmonate enhance ester regeneration in 1-MCP-treated apple fruit after long-term cold storage[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(11): 3887-3895. DOI:10.1021/jf060240j.
- [48] 姜启航, 朱凯杰, 吴方方, 等. 套袋处理对‘马家柚’果实挥发性物质积累的影响[J]. 果树学报, 2020, 37(11): 1701-1710. DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20190491.
- [49] HANDE G U, NEVIN S. A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(19): 3290-3303. DOI:10.1080/10408398.2019.1683810.