

# 基于电子鼻与 HS-SPME/GC-MS 技术的香芋南瓜果实香气物质解析

李俊星<sup>1,2</sup>, 钟玉娟<sup>1,2</sup>, 罗剑宁<sup>1</sup>, 王雯雯<sup>3</sup>, 黄文洁<sup>4</sup>, 史敬芳<sup>4</sup>, 黄河勋<sup>1</sup>

(1. 广东省农业科学院蔬菜研究所, 广东广州 510640)(2. 广东省蔬菜新技术研究重点实验室, 广东广州 510640)  
(3. 安捷伦科技(中国)有限公司, 北京 100102)(4. 广东省农业科学院农业生物基因研究中心, 广东广州 510640)

**摘要:** 为了解香芋南瓜果实香气挥发性成分, 以及香味主要贡献物在不同发育时期的变化特征, 本研究采用电子鼻方法和顶空固相萃取结合气相色谱-质谱联用(HS-SPME/GC-MS)技术对香芋南瓜和非香芋南瓜资源进行分析。电子鼻检测结果显示, 香芋南瓜和非香芋南瓜整体风味差异明显。采用 HS-SPME/GC-MS 技术对香芋南瓜成熟果实挥发性成分进行鉴定, 共定性挥发性物质 31 种。利用 mass profiler professional 软件鉴定香芋南瓜与 2 类非香芋南瓜成熟果实之间的挥发性成分差异, 结果表明不同资源间挥发性成分差异显著, 这一结果与电子鼻分析相吻合。并且从 2 组比较中获得共有差异化合物 2-乙酰基-1-吡咯啉(2-AP)。最后, 以香芋南瓜未授粉、授粉后 25 d、授粉后 55 d 果实为研究对象, 比较了 2-AP 在不同发育时期的变化趋势。2-AP 在未授粉及授粉 25 d 的果实中含量相似, 而在成熟后期果实中呈现显著下降。本研究结果将为后续香芋南瓜香气性状的研究提供参考。

**关键词:** 香芋南瓜; 果实; 香气物质; 电子鼻; 顶空固相萃取; 气相色谱-质谱; 化学计量学

文章编号: 1673-9078(2018)09-244-250

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.9.034

## Analysis of Aroma Compounds in Xiangyu Pumpkin using Electronic Nose and Head Space-Solid phase Microextraction/Gas Chromatography-Mass Spectrometry

LI Jun-xing<sup>1,2</sup>, ZHONG Yu-juan<sup>1,2</sup>, LUO Jian-ning<sup>1</sup>, WANG Wen-wen<sup>3</sup>, HUANG Wen-jie<sup>4</sup>, SHI Jing-fang<sup>4</sup>, HUANG He-xun<sup>1</sup>

(1. Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)(2. Guangdong Key Laboratory for New Technology Research of Vegetables, Guangzhou 510640, China)(3. Agilent Technologies (China) Co. Ltd. Beijing 100102, China)(4. Agro-biological Gene Research Center, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** To understand the volatile aroma compounds in Xiangyu pumpkin fruit, and the characteristics of the main aroma contributors at different development stages of fruit, this study used electronic nose and head space solid-phase micro-extraction (HS-SPME) combined with gas chromatography (GC)-mass spectrometry (MS) to analyze the volatile compositions in both Xiangyu pumpkin and non-Xiangyu pumpkin resources. Significant differences in aroma trait were found by electronic nose between Xiangyu pumpkin and non-Xiangyu pumpkin. A total of 31 volatile aroma compounds were identified in mature fruit of Xiangyu pumpkin using HS-SPME/GC-MS. Subsequently, GC-MS and mass profiler professional were used to analyse the differences in volatile compounds between Xiangyu pumpkin and two kinds of mature non-Xiangyu pumpkin, and the obtained results revealed significant differences in volatile compounds (which was consistent with those obtained by electronic nose analysis). And 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) was the unique volatile compound in Xiangyu pumpkin as compared with the two sets of control samples (non-Xiangyu pumpkins). Finally, the changing trends of 2-AP at different fruit development stages of

收稿日期: 2018-04-06

基金项目: 广东省科技计划项目(2017A030303047; 2015A020209059; 2017B020201001; 2017A050501023; 2017B030314111); 广东省蔬菜新技术重点实验室开放课题基金项目(03); 东莞市社会科技发展项目(2016108101017)

作者简介: 李俊星(1985-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 南瓜品质分析及遗传育种

通讯作者: 黄河勋(1960-), 男, 研究员, 硕士, 研究方向: 南瓜遗传育种

unpollinated fruit, fruits collected at the 25th day and 55th day, respectively, after pollination. And unpollinated fruit and fruit obtained at the 25th day after pollination had a similar amount of 2-AP, while the 2-AP content decreased significantly in fruit at late maturity stage. This study has laid the foundation for future studies on aroma trait in Xiangyu pumpkin.

**Key words:** Xiangyu pumpkin; fruit; flavor compounds; electronic nose; head space solid-phase micro-extraction; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); chemometrics

南瓜为葫芦科(*Cucurbitaceae*)南瓜属(*Cucurbita*)的一类重要的园艺经济作物,中国南瓜(*Cucurbita moschata*)、印度南瓜(*Cucurbita maxima*)和美洲南瓜(*Cucurbita pepo*)是3个常见的具有经济价值的栽培种。尽管南瓜种类较多,但是绝大多数南瓜果实风味不太吸引人。近年来,育种者选育出一类具有浓郁香味特征的南瓜品种-香芋南瓜,在田间或蒸煮过程中能散发出令人愉悦的类似芋香味,因此,香芋南瓜是进行南瓜香味性状研究的理想材料。果实香气成分的综合分析能客观地反映不同果实的风味特点,是果实特征品质的重要指标<sup>[1]</sup>,目前,国内外针对南瓜新鲜果实、南瓜汁、南瓜籽以及南瓜籽油的香气物质研究已见报道,由于供试材料的差异,香气组分结果也不尽相同<sup>[2-6]</sup>。中国南瓜(蜜本)果实共鉴定44种化合物,主要由烯类、醇类、酯类和醛类等物质构成,而印度南瓜(锦栗)果实共鉴定51种化合物,以羧基类、醇类、烷烃类为主,还有部分杂环类物质<sup>[5]</sup>。因此,针对不同的供试材料,要充分了解其香气挥发物的组成和含量,才能夯实香芋南瓜风味性状的基础工作。

对于香气物质研究的主要手段有电子鼻、气相色谱以及气质联用技术。电子鼻是上世纪90年代发展起来的一种实现快速分析气味的仪器,具有检测速度快、操作简单、灵敏度高、重现性好等优点,是用于快速判断气味状况的便携装置<sup>[7,8]</sup>。电子鼻的分析结果呈现“模糊评价”特征,是对样本整体香味特征进行比较,但是无法明晰具体的挥发性物质成分。对于具体挥发性成分的鉴定,挥发性物质的分离提取以及定性定量分析是其关键所在。目前香气研究常采用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱技术(Headspace-solid phase micro/extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)。HS-SPME提取技术已在柑橘<sup>[9,10]</sup>、草莓<sup>[11]</sup>等果实的香气研究中得到了广泛应用。挥发性物质的鉴定由定性和定量分析组成,通过GC-MS可以有效鉴别大量挥发性物质,同时进行定性和定量分析,极大地推动了香气研究。近年来GC-MS已广泛用于苹果<sup>[12]</sup>、芒果<sup>[13]</sup>以及桃<sup>[14]</sup>等果实香气物质的检测与鉴别研究。尽管GC-MS技术能够对样本中的挥发性物质进行定性和定量分析,但不能分析这些物质作为一个整体时对样本风味的贡

献。因此,通过电子鼻和GC-MS的配合利用有利于从宏观和微观上全面研究供试样本的风味特征<sup>[15]</sup>。

因此,本研究以香芋南瓜成熟果实为研究材料,以非香芋南瓜为对照材料,首先利用电子鼻技术从整体风味进行比较分析;其次利用HS-SPME结合GC-MS对其挥发性物质种类以及含量进行分析,通过不同南瓜材料的差异化合物分析初步明确香芋南瓜特有香气组分,并分析了特有香气成分在香芋南瓜果实不同发育阶段含量变化。研究结果对香芋南瓜香味种质资源挖掘和精准鉴定、优良品种选育以及南瓜产品的深加工均有重要的指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

本研究所用的植物材料都为本课题组自行选育,种植于广东省农业科学院蔬菜研究所白云基地。香芋南瓜材料编号为YJ,2类非香芋南瓜编号分别为EY和278,都为中国南瓜类型。化学试剂:C7~C40饱和正构烷烃混合标准品,美国Supleco公司;3-壬酮,Alfa Aesar公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

PEN3电子鼻,德国AIRSENSE公司;50/30 μm DVB/CAR/PDMS萃取头,美国Supleco公司;20 mL螺口顶空瓶,7890B气相色谱串联7000D质谱仪,7890A气相色谱串联5975C质谱仪,美国安捷伦公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 样本采集及预处理

供试南瓜品种于成熟期(授粉后约45 d)各3次生物学重复取样,成熟果实取材于2016年11月。香芋南瓜不同发育阶段果实取材于2017年5~7月,在YJ未授粉(W)、授粉后25天(25 d)以及授粉后55天(55 d)三个阶段进行取样,各个取样时间3次生物学重复。取样切片后立即液氮冷冻,放置-80℃保存。将-80℃保存的果实样本进行冷冻干燥。待干燥充分后,将样本研磨成粉,得到样本干燥的粉样,用于后期检测。

### 1.2.2 电子鼻检测

实验采用 PEN3 电子鼻采集 YJ 和 EY 两类南瓜资源的仿生嗅觉数据。传感器阵列包含 10 个对不同类型气体挥发物敏感的金属氧化物气敏传感器,使得电子鼻系统能够检测不同的气味。电子鼻采样前,将每个重复 10 g 量放入 100 mL 烧杯中,密封,静置 1.5 h 后采用电子鼻对其顶空气体进行进样。烧杯使用前均用超声波清洗仪洗净,放置阴凉、无异味的室内环境晾干。电子鼻的采样参数设置为:采样时间间隔 1 s,传感器自动清洗时间 100 s,传感器归零时间 3 s,分析采样时间 100 s,进样准备时间 3 s,进样流量 190 mL/min。随后提取电子鼻各传感器特征值,利用 PEN3 传感器配套的 Winmuster 软件对数据进行主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 和线性判别分析 (Linear Discriminant Analysis, LDA)。

### 1.2.3 GC-MS 检测的香气物质的提取

准确称取 1 g 粉状样品,放入 20 mL 顶空瓶中,加入 1  $\mu$ L 3-壬酮 (0.04  $\mu$ g/ $\mu$ L) 作为内标,迅速拧紧顶空瓶瓶盖,放入 70  $^{\circ}$ C 水浴中。迅速插入固相微萃取装置,平衡 2 min,70  $^{\circ}$ C 吸附 35 min。

### 1.2.4 香气物质的 GC-MS 检测

吸附后,把萃取头插入 GC-MS 的色谱仪的进样口进行解吸附,进样口温度为 270  $^{\circ}$ C,解吸附时间为 4.5 min。香芋南瓜成熟果实香气物质分析利用 7890B 气相色谱串联 7000D 质谱仪对样品挥发性成分进行数据采集。不同发育阶段果实香气物质采集和分析利用 7890A 气相色谱串联 5975C 质谱仪。

气相条件:气相色谱柱 DB-5MS;载气为氦气 (99.999%),流速为 1.0 mL/min;进样模式为 SPME 手动进样;进样口温度为 270  $^{\circ}$ C;程序化升温:50  $^{\circ}$ C 保持 3 min,随后以 5  $^{\circ}$ C/min 的速率上升至 250  $^{\circ}$ C,保持 5 min。质谱条件:EI 离子源;电离电压 70 eV;离子源温度 230  $^{\circ}$ C;四级杆温度 150  $^{\circ}$ C;接口温度 280  $^{\circ}$ C;扫描模式为全扫, $m/z$  35~450。

### 1.2.5 GC-MS 数据分析

首先利用 Masshunter 定性分析软件对香芋南瓜成熟果实采集到的全扫数据进行解卷积,在 NIST 14 标准谱库中进行检索,并根据烷烃标准品 (C7-C40) 提供的可靠信息计算保留指数,对鉴定得到的挥发性成分进行定性分析,标准为:(1) NIST14 库比对,质谱匹配得分总分在 70 分以上;(2) 保留指数偏差在 10 以内,各化合物理论保留指数来自 NIST 14 库。获得香芋南瓜成熟果实的挥发性组分,挥发性化合物的相对含量,即通过各物质峰面积与内标物峰面积比值计算的半定量估值。

香芋南瓜与非香芋南瓜果实中挥发性化合物的差异分析按如下步骤分析。首先利用 Masshunter 定性分析软件进行解卷积。解卷积条件:保留时间窗口比例系数:100;信噪比阈值:2.0;剔除  $m/z$  为 28 的化合物。解卷积后的数据保存为 .cef 文件导入分析软件 Mass Profiler Professional (MPP) 中进行分析,MPP 化学计量学分析软件对香芋南瓜和非香芋南瓜的果实 GC-MS 数据进行过滤和统计分析。利用过滤后的挥发性化合物通过 MPP 软件进行主成分分析 (Principle Component Analysis, PCA),综合反映不同样本间的挥发性物质差异。通过统计分析获得差异化合物,对差异化合物进行定性,鉴定香芋南瓜成熟果实中的特有化合物。MPP 过滤参数:最小绝对丰度:5000;组内化合物最小出现频率:60%;组内最大变异系数:30%;统计分析参数: $p < 0.05$ ;最小差异倍数:2。

香芋南瓜果实的特有化合物在果实不同发育阶段中的相对含量分析,以内标峰面积为参考,计算其相对含量 (mg/kg 干重)。

## 2 结果与分析

### 2.1 电子鼻对香芋南瓜和非香芋南瓜果实香味品质分析

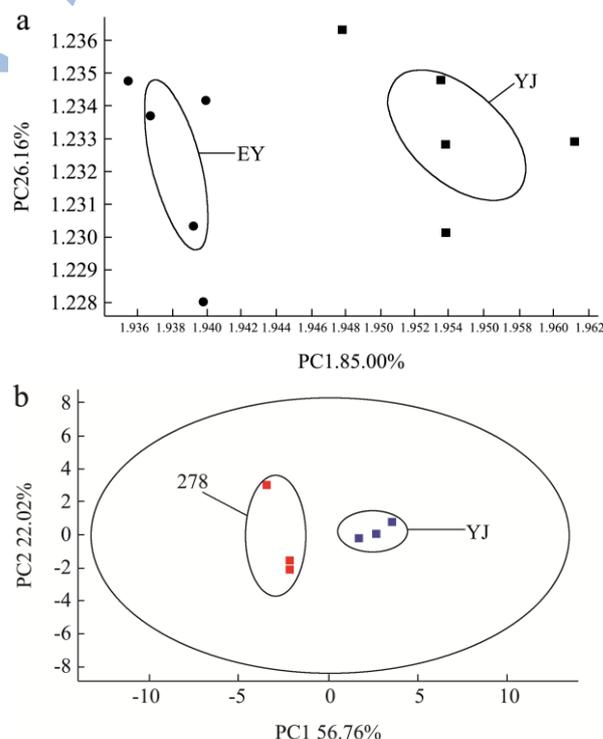


图 1 电子鼻对香芋南瓜和非香芋南瓜识别的 PCA 和 LDA 分析

Fig.1 Electronic nose detection for Xiangyu pumpkin and non-Xiangyu pumpkin based on PCA and LDA

利用电子鼻从整体香味水平上对香芋南瓜和非香芋南瓜进行模糊评价。图1为电子鼻对不同南瓜香味识别的PCA和LDA分析结果,通过PCA分析,其中第一主成分(PC1)的贡献率85.00%,第二主成分(PC2)的贡献率为6.16%,前两个主成分的累计贡献率达到91.16%。随后LDA分析结果显示第1线性判别因子LD1的贡献率为99.67%,第2线性判别因子LD2的贡献率为0.04%,第1、2线性判别因子的累积贡献率为99.71%。香芋南瓜YJ和非香芋南瓜EY样本数据点之间无重叠,可以较好地进行识别分类。

### 2.2 香芋南瓜成熟果实挥发性物质的鉴定

利用GC-MS对香芋南瓜种质YJ成熟果实的挥发性成分进行数据采集和分析,总离子色谱图如图2所示。经NIST数据库检索和保留指数计算,共定性鉴别获得了香气物质31种,其保留指数、相对含量、定性结果均列于表1。

从化合物分类上看,31种化合物主要包括醛、醇、酮、酯、含氮化合物、内酯、苯及烯类等物质,其中

醛类物质最多达到12种,总相对含量为0.0398 mg/kg干重,其次为酮类、含氮化合物和醇类,分别为6种、4种和4种,总相对含量分别为0.0044、0.0163和0.0050 mg/kg干重。

从单个化合物含量上来看,反式-2-己烯醛含量最高为0.0182 mg/kg干重,其次为2-乙酰基-1-吡咯啉,相对含量为0.0133 mg/kg干重。

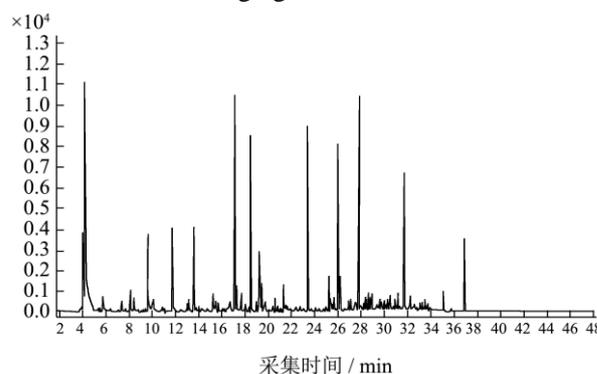


图2 香芋南瓜果实挥发性物质总离子流图

Fig.2 Representative GC-MS total ion chromatograms of volatile compounds from Xiangyu pumpkin

表1 香芋南瓜成熟果实中挥发性成分概括表

Table 1 The volatile compounds in mature fruit of Xiangyu pumpkin

保留时间/min	实际保留指数	理论保留指数	化合物鉴定	相对含量 ( $\times 10^2$ mg/kg 干重)
7.384	764	763	甲苯	0.13 $\pm$ 0.03
8.133	799	800	己醛	0.36 $\pm$ 0.03
9.64	850	854	反式-2-己烯醛	1.82 $\pm$ 0.51
10.079	865	868	正己醇	0.18 $\pm$ 0.02
11.296	906	907	甲硫基丙醛	0.06 $\pm$ 0.05
11.749	920	922	2-乙酰基-1-吡咯啉	1.33 $\pm$ 0.13
13.177	964	962	苯甲醛	0.23 $\pm$ 0.03
13.652	978	980	1-辛烯-3-醇	0.08 $\pm$ 0.03
13.789	983	-	反式-5-戊氧基-2-戊烯	0.05 $\pm$ 0.01
14.011	989	993	2-戊基-咪喃	0.06 $\pm$ 0.02
14.434	1002	1003	辛醛	0.03 $\pm$ 0.01
14.741	1012	1012	反,反-2,4-庚二烯醛	0.03 $\pm$ 0.02
15.49	1035	1036	苯甲醇	0.16 $\pm$ 0.05
15.742	1043	1044	$\beta$ -异佛尔酮	0.07 $\pm$ 0.03
15.832	1046	1045	苯乙醛	0.07 $\pm$ 0.01
16.409	1064	1064	2-乙酰基吡咯	0.06 $\pm$ 0.02
16.663	1072	1076	2-吡咯烷酮	0.18 $\pm$ 0.07
17.629	1102	1101	反式-6-壬烯醛	0.12 $\pm$ 0.05
17.698	1104	1104	壬醛	0.24 $\pm$ 0.10
18.001	1114	1112	2,6-二甲基环己醇	0.08 $\pm$ 0.04
18.347	1125	1124	异佛尔酮	0.03 $\pm$ 0.01
19.007	1147	1144	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮	0.09 $\pm$ 0.03

转下页

接上页

19.221	1154	1156	反,顺-2,6-壬二烯醛	0.65±0.19
19.43	1161	1162	反式-2-壬烯醛	0.32±0.05
20.801	1206	1206	癸醛	0.05±0.02
22.349	1259	1253	己内酰胺	0.06±0.004
26.916	1427	1426	α-紫罗酮	0.08±0.03
27.453	1448	1453	香叶基丙酮	0.05±0.01
27.52	1450	1455	酞酸二甲酯	0.04±0.03
28.371	1484	1486	β-紫罗酮	0.12±0.05
29.778	1541	1538	二氢猕猴桃内酯	0.08±0.04

注: 相对含量为平均值±标准差 (n=3)。

### 2.3 香芋南瓜与非香芋南瓜成熟果实挥发性物质差异分析

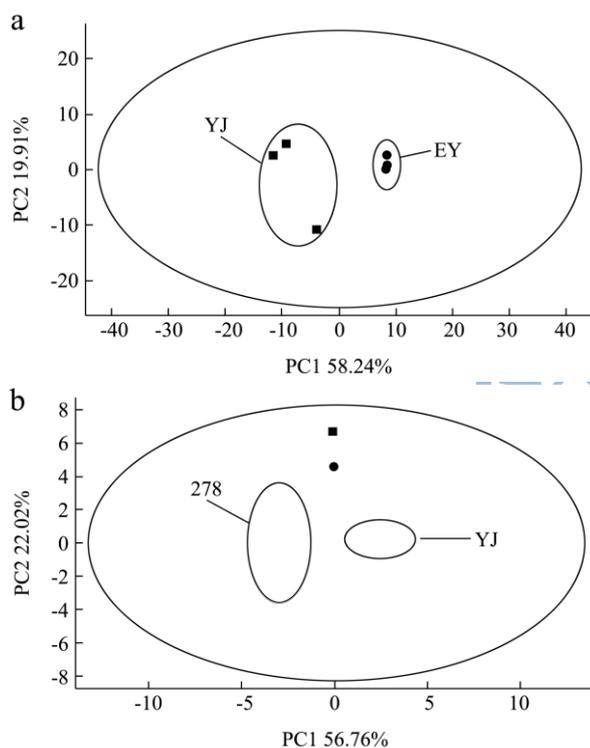


图3 不同样本挥发性化合物主成分分析

Fig.3 Score plot of principal compounds analysis using aroma compounds from different samples

分别收集香芋南瓜 (YJ) 和 2 类非香芋南瓜 (EY 和 278) 成熟果实的挥发性物质, 采集数据通过 MPP 分析软件进行过滤及统计分析, 将所得的差异化合物利用质谱图和保留指数进行定性。结果表明, YJ 与 EY 相比较, 两者之间的挥发性成分通过 PCA 主成分分析, PC1 和 PC2 的贡献率分别为 58.24% 和 19.91% (图 3)。最终获得 15 种差异化合物, 其中能定性 10 种化合物。YJ 与 278 相比较, PCA 结果表明其能解释 78.78% 的变异 (图 3)。获得 6 种差异化合物, 鉴

定出 3 种差异化合物。

总体而言, 主成分能够充分保存样品的原始数据信息, 通过挥发性成分的 PCA 分析香芋南瓜和 2 类非香芋南瓜能够较好地区分, 说明香芋南瓜和非香芋南瓜果实之间存在挥发性物质差异。YJ 与 EY 之间 10 种差异化合物中有 6 种挥发性物质仅在香芋南瓜果实中被检测到, 包括 2-乙酰基-1-吡咯啉、2-乙酰基吡咯、β-紫罗酮、反式 6-壬烯醛、2,6-二甲基环己醇和 α-紫罗酮 (表 2), 而 YJ 与 278 之间的 3 种差异化合物有 2 种香芋南瓜特有的挥发性物质, 包括 2-乙酰基-1-吡咯啉和苯甲醛。综上分析, 在两组比较分析中, 2-乙酰基-1-吡咯啉(2-AP)是两个比较组中共有的差异香气成分。

表 2 香芋南瓜与非香芋南瓜相比特有的挥发性物质

Table 2 The unique volatile compounds in Xiangyu pumpkin compared with non-Xiangyu pumpkin

比较组	香芋南瓜果实特有香气物质
YJ/EY	2-乙酰基-1-吡咯啉
	2-乙酰基吡咯
	β-紫罗酮
	反式 6-壬烯醛
	2,6-二甲基环己醇
YJ/278	α-紫罗酮
	2-乙酰基-1-吡咯啉 苯甲醛

### 2.4 不同发育时期果实香气特征成分变化

以 3 个果实不同发育时期样本为试验材料, 分析了 2-乙酰基-1-吡咯啉在不同发育阶段的含量。结果表明, 随着果实成熟, 2-乙酰基-1-吡咯啉呈下降趋势, 该物质在 W 和 25 d 的果实中含量相差不显著, 分别为 0.0500 和 0.0500 mg/kg 干重, 但是在果实成熟后期 55 d, 该物质含量降低显著, 为 0.0200 mg/kg 干重 (图 4)。

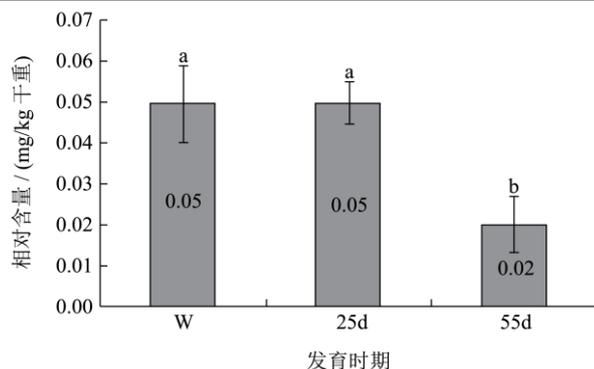


图4 果实不同发育阶段 2-乙酰基-1-吡咯啉含量变化示意图

Fig.4 The abundance of 2-AP in the different development stage of fruit

注: 不同小写字母表示显著差异 ( $p < 0.05$ )。

### 3 结论

3.1 香芋南瓜具有特殊的浓郁香味, 是一类适宜进行南瓜香味性状分析的试验材料。本研究利用了电子鼻技术的模糊评价特征, 以及 GC-MS 技术对挥发性物质精确鉴定的特性, 综合两者的检测结果, 客观判定香芋南瓜果实与非香芋南瓜果实的香味性状差异。在前人研究中, 利用电子鼻技术也能够较好的区分中国南瓜、印度南瓜和美洲南瓜这三类南瓜资源<sup>[5]</sup>, 说明其是一种比较有效的区分南瓜资源不同香味的分析手段。本研究的电子鼻 PCA 分析中, 两样本间数据点无重叠(图 1), 充分说明两者之间整体风味有显著差异, 电子鼻技术对于香芋南瓜与非香芋南瓜的区分效果是明显的。

3.2 南瓜果实香气物质是由不同挥发性物质组成的混合物, 主要包括酯类、醛类、醇类、酸类、萜类和酮类等化合物<sup>[5]</sup>。本试验采用 HS-SPME-GC-MS 技术对香芋南瓜成熟果实中挥发性风味物质进行分析, 共鉴定出 31 种挥发性物质。其中醛类物质种类及含量均为最高, 醛类物质具有较低的阈值, 对风味影响较大。醛类物质中含量最高的为反式-2-己烯醛, 具有清香味 (<http://www.flavornet.org/>), C6 以及 C9 的醇醛类物质是清香型化合物的代表<sup>[16]</sup>。醛类物质中的反,顺-2,6-壬二烯醛是黄瓜特征香气的最重要物质<sup>[17]</sup>, 具有强烈的紫罗兰和黄瓜似香气。含氮化合物中最重要的是 2-乙酰基-1-吡咯啉, 该化合物为香稻的特征香气成分<sup>[18]</sup>, 其在较低的含量时就能体现出强烈的风味, 呈现典型的花香、甜香, 也有报道描述为典型的爆米花气味。该物质在南瓜子油中也被检测到, 并且呈现最高的风味稀释因子 (flavor dilution factor)<sup>[3]</sup>, 这说明在 2-乙酰基-1-吡咯啉是这类特定南瓜子油的主要香味贡献物。香芋南瓜果实挥发性物质的种类与含量鉴

定结果与前人研究结果相比较有比较大的差异, 周春丽等<sup>[5]</sup>对中国南瓜(蜜本南瓜)的香气物质分析发现含量最高的为酯类和醇类化合物, 且并没有检测到含氮化合物, 这可能是与香芋南瓜独特的浓郁香味有关在果实众多香气物质中, 一种或几种关键挥发性化合物赋予特殊的香味属性, 称之为香味主要贡献物, 这些成分对果实风味其主要作用<sup>[19]</sup>。因此, 从诸多挥发性物质中鉴定出香芋南瓜成熟果实香味主要贡献物, 对后续香芋南瓜香味性状的解析至关重要。本研究通过比较香芋南瓜和非香芋南瓜成熟果实的挥发性成分, 利用化学计量学首先对二者的化合物进行数据过滤和统计分析, 得到香芋南瓜果实中特有的挥发性化合物。该技术的运用对数据进行严格的过滤, 保证了最终用于分析数据的准确性和可重复性, 并且相较前人研究减轻了化合物定性分析的工作量, 只需对差异化合物进行定性。另外, 主成分分析 (PCA) 的结果表明挥发性化合物能很好的将香芋南瓜和非香芋南瓜进行区分(图 3), 并且贡献率接近或达到 80%, 主成分能够充分保存样本的原始数据信息。GC-MS 技术是对样品中挥发性风味物质的具体种类和含量进行检测和比较, 也显示两者之间挥发性物质的种类和含量呈现显著性不同, 这一结果与电子鼻分析结果基本一致, GC-MS 的分析结果有利于对电子鼻分析的结果解释。

3.3 通过 2 组比较(表 2), 我们获得 2-乙酰基-1-吡咯啉为香芋南瓜果实特有的香气物质, 我们推测其为香芋南瓜的香味主要贡献物。该物质在非香芋南瓜成熟果实中都没有检测到, 并且该化合物在香芋南瓜成熟果实的挥发性成分中含量非常高(表 1)。此外, 通过该化合物在果实不同发育时期研究发现, 其在未授粉果实中含量最高, 在授粉 25 d 该化合物的含量基本不变, 保持在较高的水平, 这与大部分香气物质出现在果实发育后期的结论有差异<sup>[20]</sup>。在大部分水果果实香气研究中发现, 在果实发育的不同时期, 主要香气物质含量存在显著差异<sup>[21-24]</sup>。另外, 本研究中发现, 2-乙酰基-1-吡咯啉在授粉后 55 d 果实成熟后期中含量急剧降低, 这与田间嗅觉经验相匹配。2-乙酰基-1-吡咯啉在香芋南瓜果实中的变化趋势, 与该物质在香稻叶片中的研究结果一致, 其在香稻叶片中表现为叶尖含量高于叶片基部, 嫩叶含量明显高于老叶含量<sup>[25]</sup>。这可能是由于伴随着果实衰老, 该化合物合成减少而挥发增加导致的。通过了解香芋南瓜果实中 2-AP 在不同发育阶段的含量, 可为果实采摘时机的选择提供理论基础。

### 参考文献

- [1] Pandit S S, Kulkarni R S, Chidley H Q, et al. Changes in volatile composition during fruit development and ripening of alphonso mango [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2009, 89(12): 2071-2081
- [2] Procida G, Stancher B, Cateni F, et al. Chemical composition and functional characterization of commercial pumpkin seed oil [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2013, 93: 1035-1041
- [3] Poehlmann S, Schieberle P. Characterization of the aroma signature of styrian pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *Styriaca*) by molecular sensory science [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61: 2933-2942
- [4] Bowman T, Barringer S. Analysis of factors affecting volatile compound formation in roasted pumpkin seeds with selected ion flow tube-mass spectrometry (SIFT-MS) and sensory analysis [J]. *Journal of Food Science*, 2012, 71(1): 51-60
- [5] 周春丽,刘伟,陈冬,等.基于电子鼻与 SPME-GC-MS 法分析不同南瓜品种中的挥发性风味物质[J].现代食品科技, 2015,31(7):293-301  
ZHOU Chun-li, LIU Wei, CHEN Dong, et al. Detection of volatile flavor compounds in pumpkin species using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(7): 293-301
- [6] 李瑜.新鲜南瓜和南瓜汁挥发性风味物质的成分比较[J].食品科学,2010,31(2):208-210  
LI Yu. Solid phase microextraction followed by GC-MS analysis of volatile flavor compounds in fresh pumpkin and pumpkin juice [J]. *Food Science*, 2010, 31(2): 208-210
- [7] Gomez A H, Hu G, Wang J, et al. Evaluation of tomato maturity by electronic nose [J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2006, 54(1): 44-52
- [8] 陈晓明,马明辉,李景明,等.电子鼻在天然苹果香精检测中的应用[J].食品科学,2007,28(3):261-265  
CHEN Xiao-ming, MA Ming-hui, LI Jing-ming, et al. Application of electronic nose equipment on identification of natural apple essence [J]. *Food Science*, 2007, 28(3): 261-265
- [9] Gonzalez-Mas M C, Rambla J L, Alamar M C, et al. Comparative analysis of the volatile fraction of fruit juice from different citrus species [J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): 1-11
- [10] Liu C, Cheng Y, Zhang H, 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
- [11] Vandendriessche T, Nicolai B M, Hertog M. Optimization of HS SPME Fast GC-MS for high-throughput analysis of strawberry aroma [J]. *Food Analytical Methods*, 2013, 6(2): 512-520
- [12] Echeverria G, Grill J, Lara I, et al. Physicochemical measurements in 'Mondial Gala' apples stored at different atmospheres: Influence on consumer acceptability [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2008, 50: 135-144
- [13] Pino J A, Mesa J, Munoz Y, et al. Volatile components from mango (*Mangifera indica* L.) cultivars [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(6): 2213-2223
- [14] Zhang B, Shen J Y, Wei W W, et al. Expression of genes associated with aroma formation derived from the fatty acid pathway during peach fruit ripening [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(10): 6157-6165
- [15] Cheng H, Qin Z H, Guo X F, et al. Geographical origin identification of propolis using GC-MS and electronic nose combined with principal component analysis [J]. *Food Research International*, 2013, 51(2): 813-822
- [16] Hatanaka A. The biogenesis of green odour by green leaves [J]. *Phytochemistry*, 1993, 34(5): 1201-1218
- [17] Fross D A, Dunstone E A, Ramshaw E H, et al. The flavor of cucumbers [J]. *Journal of Food Science*, 1962, 27(1): 90-93
- [18] Buttery R G, Ling L C, Juliano B O, et al. Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1983, 31(4): 823-826
- [19] Chen X S, Feng T, Zhang Y M, et al. Genetic diversity of volatile components in Xinjiang wild apple (*Malus sieversii*) [J]. *Journal of Genetic and Genomics*, 2007, 34(2): 171-179
- [20] 张海英,韩涛,许丽,等.果实的风味构成及其调控[J].食品科学,2008,29(4):464-469  
ZHANG Hai-ying, HAN Tao, XU Li, et al. Flavor constituents of fruits and its regulation [J]. *Food Science*, 2008, 29(4): 464-469
- [21] Aubert C, Gunata A, Ambid C, et al. Changes in physicochemical characteristics and volatile constituents of yellow- and white- fleshed nectarines during maturation and artificial ripening [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(10): 3083-3091
- [22] 陈美霞,陈学森,周杰,等.杏果实不同发育阶段的香味组分及其变化[J].中国农业科学,2005,38(6):1244-1249  
CHEN Mei-xia, CHEN Xue-sen, ZHOU Jie, et al. Changes of aroma constituents in apricot during fruit development [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(6): 1244-1249
- [23] 谭皓,廖康,涂正顺.金魁猕猴桃发育过程中香气成分的动态变化[J].果树学报,2006,23(2):205-208

- TAN Hao, LIAO Kang, TU Zheng-shun. Dynamic changes of aroma components of Jinkui kiwifruit during fruit development [J]. Journal of Fruit Science, 2006, 23(2): 205-208
- [24] 张序,姜远茂,彭福田,等.‘红灯’甜樱桃果实发育进程中香气成分的组成及其变化[J].中国农业科学,2007,40(6):1222-1228
- ZHANG Xu, JIANG Yuan-mao, PENG Fu-tian, et al. Changes of aroma components in ‘Hongdeng’ sweet cherry during fruit development [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(6): 1222-1228
- [25] Lorieux M, Petrov M, Huang N, et al. Aroma in rice: genetic analysis of quantitative trait [J]. Theoretical & Applied Genetics, 1996, 93(7): 1145-115

现代食品科技