

三种不同类型的丝瓜果实香气物质解析与比较

李俊星^{1,2}, 吴海滨^{1,2}, 罗剑宁¹, 陈俊秋¹, 赵钢军^{1,2}, 刘小茜^{1,2}, 郑晓明¹, 龚浩¹

(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)

摘要: 为全面了解丝瓜果实香气挥发性成分, 以及不同类型丝瓜的香气物质差异, 本研究采用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术对三种不同类型丝瓜(普通丝瓜类型 SG、大肉丝瓜类型 DR、双青丝瓜类型 YL)的挥发性成分进行分析。结果表明, 在三类丝瓜的商品果实中共定性挥发性物质 55 种, 其中烃类化合物最多, 为 15 种。YL、DR 和 SG 中分别检出 43、52 和 47 种化合物, 其中相对含量最高的化合物分别是苯甲醛、壬醛和芳樟醇。经主成分分析和层次聚类分析表明, 55 种化合物能够清晰区分 SG 与 DR、YL, 而 DR 和 YL 之间挥发性物质差异相对较小, 这与三类丝瓜的生物学分类相关。通过单因素方差分析, 三类丝瓜中两两比较检出 30 种差异显著化合物($p < 0.05$), 并且 20 种差异化合物在 SG 中的含量高于 DR 和 YL。己醛、反-2-己烯醛可能是丝瓜果实青味的主要贡献化合物, 而苯乙醛可能是大肉丝瓜类型 DR 甜香的主要贡献物。本研究将为后续丝瓜香味性状的研究以及品质育种提供参考。

关键词: 丝瓜; 果实; 香气物质; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱

文章编号: 1673-9078(2021)07-228-237

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.7.0020

Detection and Comparison of Volatiles in Fruit from Three Different Kinds of Loofah

LI Jun-xing^{1,2}, WU Hai-bin^{1,2}, LUO Jian-ning¹, CHEN Jun-qi¹, ZHAO Gang-jun^{1,2}, LIU Xiao-xi^{1,2}, ZHENG Xiao-ming¹, GONG Hao¹

(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)

Abstract: To fully identify the volatile compounds of loofah fruit aroma, and understand the variation features in different types of loofah, head space solid-phase micro-extraction (HS-SPME) combined with gas chromatography (GC)-mass spectrometry (MS) was used to analyze the volatile profiles of three kinds of loofah (SG, DR and YL). A total of 55 volatiles were identified in three kinds of materials, in which 15 kinds of hydrocarbon compounds were identified and showed the most species. The 43, 52 and 47 volatiles were detected in the YL, DR and SG, respectively, in which benzaldehyde, nonanal and linalool with the highest relative content, respectively. The principal component analysis and hierarchical cluster analysis based on the 55 compounds were used. It indicated that SG was clearly distinguished from DR and YL, and the volatiles in DR and YL were similar. These results was consistent with the biological classification of three types of resources. The 30 distinct volatiles ($p < 0.05$) were detected in two groups of three types of loofah through one-factor ANOVA. The 20 variant volatiles were displayed the higher contents compared to these of DR and YL. Hexanal and (E)-2-Hexenal were mainly related to the green aroma characteristics, while benzeneacetaldehyde might result in the sweet aroma in DR. The results of this work will provide the reference for the research of flavor traits

引文格式:

李俊星,吴海滨,罗剑宁,等.三种不同类型的丝瓜果实香气物质解析与比较[J].现代食品科技,2021,37(7):228-237

LI Jun-xing, WU Hai-bin, LUO Jian-ning, et al. Detection and comparison of volatiles in fruit from three different kinds of loofah [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(7): 228-237

收稿日期: 2021-01-07

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2018B020202007, 2020B020220003); 广东省科技计划项目(2019A050520002); 省级现代农业产业技术体系建设果菜产业技术体系创新团队(2019KJ110); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-25-G-36); 广东省农业科学院农业优势产业学科团队建设项目(202102TD); 广州市科学研究计划重点项目(201904020012)

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

通讯作者: 龚浩(1973-), 男, 研究员, 研究方向: 瓜类蔬菜遗传育种

and quality breeding of loofah.

Key words: loofah; fruit; flavor compounds; head space solid-phase micro-extraction; GC-MS

丝瓜为葫芦科(Cucurbitaceae)丝瓜属(*Luffa* Mill.)蔬菜作物,嫩瓜可食用,具有较高的营养和药用价值,老瓜中的丝瓜络可作为工业原料^[1],在我国的南北各地均有广泛的种植面积。根据前期报道丝瓜分布有普通丝瓜(*L.cylindrica* Roem.)和有棱丝瓜(*L.acutangula* Roxb.) 2个栽培种^[2],其中有棱丝瓜依据果实的果形皮色又主要分为长棒绿青色的双青类型和短棒绿白色的大肉类型,是我国主要的瓜类蔬菜^[3,4]。广东、广西、海南等以栽培有棱丝瓜为主,其他地区以栽培普通丝瓜为主^[5]。有棱丝瓜和普通丝瓜之间存在显著的性状差异,并且具备多种互补的优良性状^[4],前期研究者更多的关注于两者的农艺性状。目前,随着产业快速发展和消费者对蔬菜营养品质要求的增长,蔬菜产品的品质性状得到越来越密切的关注。有棱丝瓜和普通丝瓜在品质性状方面同样存在较大的差异,黎炎等分析比较了9个丝瓜品种多糖含量,发现普通丝瓜的多糖含量比有棱丝瓜的多糖含量高,并且丝瓜的各营养器官多糖含量差异较大,其中商品瓜中含量最高^[6]。因此,对普通丝瓜和有棱丝瓜的品质性状开展更深入的研究,有益于丝瓜整体育种水平的提高。

品质育种是目前作物优良品种选育的重要方向,其中香味是风味内在品质构成的重要指标之一。果实香气成分的综合分析能客观地反映不同果实的香味特点,是果实特征品质的重要指标,也是越来越多育种者重点关注的焦点。目前,国内外针对丝瓜叶、果实的香气成分已有少量研究报道。Maamoun等利用丝瓜种 *Luffa aegyptiaca* 为实验材料,共鉴定到53个挥发性物质,主要包括醛类、醇类和酮类物质,3-辛酮含量最高,其次为1-辛烯-3-醇、2-己烯醛^[7]。徐正分析了丝瓜果实的挥发性成分,丝瓜香味来源主要是醛类和醇类物质,且醛类物质占绝大部分,其中1-己醛、2-己烯醛、3-辛酮、1-己醇、1-辛烯-3-醇是构成丝瓜香味的主要物质^[8]。此外,李培源等对丝瓜叶挥发油进行分析,含量最多的为植醇,其次为二十烷^[9]。任立云等对普通丝瓜不同部位叶片挥发性成分进行分析,嫩叶主要挥发性成分有(Z)-3-己烯-1-醇和植醇,成熟叶挥发性成分主要为(Z)-3-己烯-1-醇,老叶挥发性成分主要为植醇^[10]。以上研究为丝瓜香味性状的研究奠定了基础,然而目前对丝瓜果实香味的研究还非常薄弱,特别是对国内较常见的不同类型丝瓜的香味综合比较研究还未见报道,不利于丝瓜品质育种特别是风味育种的发展。因此,充分了解不同类型的丝瓜的果

实香气挥发物的组成和含量,才能夯实丝瓜风味性状的基础工作。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(head space solid-phase micro-extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME/GC-MS)。该技术在蔬菜、水果、茶叶等园艺作物的香气研究中广泛使用^[11-14],技术成熟,为本研究的开展奠定了技术基础。

因此,为了初步相对全面、系统的解析丝瓜的挥发性物质,本研究以三种不同类型丝瓜(普通丝瓜类型、大肉丝瓜类型、双青丝瓜类型)的商品果实为研究材料,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,通过三种不同类型丝瓜果实的差异化合物比较分析探究不同类型丝瓜的主要香气物质。研究结果对丝瓜优良品种选育尤其是风味育种有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂



图1 丝瓜果实示意图

Fig.1 Loofah fruits

注:左:SG;中:DR;右:YL。

针对国内主要分布的具有代表性的2个栽培种三种类型的丝瓜资源,本研究采用了普通丝瓜类型(编号SG),双青丝瓜类型(编号YL)和大肉丝瓜类型(编号DR)共三种类型(图1),这三种类型丝瓜在生物学特性方面包括果实特征存在较大差异。本研究所用的实验材料为本课题组自行选育的核心育种材料,对于国内的三种不同类型丝瓜而言本实验所用材料具有一定的代表性,双青类型丝瓜YL果实为长棒形,果皮色墨绿,有明显棱沟,果实较硬。大肉类型丝瓜DR果实为短棒形,果皮色绿白有花点,有明显

棱沟,果实较硬。普通丝瓜类型 SG 果实为短圆柱形,果皮绿色,无棱沟,果实较软。SG 与 YL、DR 相比较,抗病性、抗逆性较强,熟性较迟。2019 年春季种植于广东省农业科学院蔬菜研究所白云基地,同期播种,采用相同的田间栽培管理方式。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

50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头,美国 Supleco 公司;20 mL 螺口顶空瓶,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

于结瓜盛期,采集供试材料的商品瓜(授粉后 8 d),各 3 次生物学重复取样。取样切片后立即液氮冷冻,放置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。将 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 顶空固相微萃取

准确称取 0.30 g 粉状样品,放入 20 mL 顶空瓶中,加入 1 μL 3-壬酮(16 ng)作为内标,迅速拧紧顶空瓶盖。萃取前平衡温度为 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$,平衡时间 2 min,萃取温度为 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$,萃取时间为 35 min。

1.2.3 香气物质的 GC-MS 检测

萃取后,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 $270\text{ }^{\circ}\text{C}$,解吸附时间为 4.5 min。

气相条件:气相色谱柱 DB-5MS (60 m \times 0.32 mm \times 0.25 μm);载气为氦气,流速为 1.0 mL/min;进样模式为 SPME 自动进样;进样口温度为 $270\text{ }^{\circ}\text{C}$;程序化升温: $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 3 min,随后以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率上升至 $250\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 5 min。

质谱条件:EI 离子源;电离电压 70 eV;离子源温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$;四级杆温度 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$;扫描模式为全扫, m/z 35~450。

1.2.4 挥发性化合物定性定量

利用 Masshunter 工作站中的未知物分析软件(Unknowns Analysis, Version 10.0, 美国 Agilent 公司)进行处理,在 NIST 17 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) NIST 17 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 17 库。挥发性化合物的相对含

量,采用基峰面积进行定量^[15]。

1.2.5 数据处理

为了更直观的统计各类丝瓜果实中检出的化合物数量及分布异同,利用 R 语言(Version 3.6.1)环境中通过 UpSetR (Version 1.4.0)程序包实现 UpSet 图分析。随后,通过 Metaboanalyst (Version 4.0)基于所有定性化合物执行主成分分析(PCA)和层次聚类分析(HCA),综合反映三类丝瓜果实的挥发性化合物差异。为了进一步筛选三类丝瓜果实中的差异挥发性化合物,基于 3 组样品的所有挥发性化合物开展单因素方差分析。分析前,对数据进行两步前处理:(1) LoD 缺失值填充(1/5 最低值)和(2) Auto scaling 归一化(Z-score 归一化)。采用 Fisher's LSD 多重比较,以校正 p 值(FDR)小于 0.05 为阈值,筛选显著差异化合物。最后以筛选到的显著差异化合物为分析对象,进行 HCA 和 PCA 分析。HCA 采用欧式距离(Euclidian distance)计算样品间距,以离差平方和法(Ward's method)衡量类间距离。以 PCA 分析中载荷值和单因素方差分析中校正 p 值 <0.05 为标准,筛选差异标志物。ANOVA 通过 Metaboanalyst (Version 4.0)实现。

2 结果与讨论

2.1 丝瓜果实挥发性物质的鉴定

利用 GC-MS 对三类丝瓜果实的挥发性成分进行数据采集和分析。经 NIST 数据库检索和保留指数计算,从三类供试丝瓜类型果实中共定性鉴别获得了挥发性物质 55 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,55 种化合物中 15 种为烃类,14 种为酯类,12 种为醛类,10 种为醇类,3 种为酮类以及 1 种为杂环化合物。YL、DR 和 SG 中分别检出 43、52 和 47 种化合物,YL 中烃类化合物 15 种,合计相对含量为 296.51 ng/g;酯类化合物 9 种,合计相对含量为 120.07 ng/g;醛类化合物 9 种,合计相对含量为 390.37 ng/g;醇类化合物 8 种,合计相对含量为 259.64 ng/g;酮类化合物与杂环化合物分别为 1 种,各相对含量分别为 3.37 和 31.70 ng/g。DR 中烃类化合物 15 种,合计相对含量为 278.30 ng/g;酯类化合物 14 种,合计相对含量为 214.54 ng/g;醛类化合物 12 种,合计相对含量为 637.29 ng/g;醇类化合物 7 种,合计相对含量为 188.21 ng/g;酮类化合物 3 种,合计相对含量为 17.38 ng/g;杂环化合物相对含量为 21.13 ng/g。SG 中烃类化合物 15 种,合计相对含量为 391.63 ng/g;酯类化合物 11 种,合计相对含量为 325.93

ng/g; 醛类化合物 11 种, 合计相对含量为 594.35 ng/g; 醇类化合物 8 种, 合计相对含量为 567.41 ng/g; 酮类化合物与杂环化合物分别为 1 种, 各相对含量分别为 6.13 和 57.37 ng/g。由此可见, 三类丝瓜果实的挥发性化合物中, 醛类化合物的相对含量最高。从单个化合物相对含量而言, YL、DR 和 SG 三类丝瓜果实中相对含量最高的化合物分别是苯甲醛、壬醛和芳樟醇。本研究的结果与前期报道存在差异。前期报道表明, 丝瓜果实中主要的化合物种类为醛、醇类^[7,8], 而本研究则发现烃类、酯类是丝瓜中种类最多的化合物, 而醛类化合物的相对含量在三类丝瓜果实中都是最高的, 除了 DR 外, 醇类化合物含量在 YL 和 SG 中次之。Maamoun 和徐正的报道中, 丝瓜果实都有检测到 3-辛酮, 并且是丝瓜果实主要的香气化合物, 而本研究中该化合物未检出。Maamoun 所采用的材料为 *Luffa aegyptiaca* 果实, 而本研究所采用的是 *L.acutangula*

与 *L.cylindrica*, 所用实验材料为丝瓜属不同种。此外, Maamoun 采用的气相质谱设备为 Shimadzu 品牌, 挥发性物质萃取条件为 50 °C 吸附 30 min, 进样口解吸附温度为 220 °C, 解吸附 2 min, 色谱柱为 DB-5 (30 m×0.25 mm×0.25 μm), 气相程序化升温参数为: 40 °C 保持 3 min, 随后以 12 °C/min 的速率上升至 180 °C, 保持 5 min, 最后以 40 °C/min 的速率上升至 240 °C 并保持 5 min。该研究所用试验样本、设备仪器、挥发性物质萃取参数、气相条件等都与本研究存在很大差异。因此, 综上所述, 本研究所得结果与前期报道结果的异同可能与所采用的挥发物提取过程、供试材料、仪器设备、测试参数等相关。尽管与前期报道相比较, 化合物存在检出或者含量的差异, 但是一些已报到的丝瓜果实重要挥发性化合物例如己醛、2-己烯醛、1-己醇、1-辛烯-3-醇等都有检出, 说明不同类型的丝瓜果实香气成分存在相似之处。

表 1 3 类丝瓜果实中挥发性成分概括表

Table 1 The volatile compounds in fruit of three loofah resources

保留时间/min	化合物名称	保留指数	相对含量/(ng/g)		
			YL	DR	SG
8.64	己醛	804	-	15.63±1.27	25.17±9.73
10.16	反-2-己烯醛	854	48.47±4.90	143.57±15.71	172.50±17.16
13.71	苯甲醛	966	131.87±7.03	141.87±7.32	36.75±5.59
14.97	辛醛	1004	4.60±0.14	15.85±0.21	10.40±1.31
15.26	反, 反-2,4-庚二烯醛	1013	-	4.40±0.36	6.70±2.78
16.37	苯乙醛	1047	17.67±1.78	35.87±4.38	20.10±4.92
18.24	壬醛	1105	93.00±7.15	173.77±56.27	122.97±11.13
19.74	反, 顺-2,6-壬二烯醛	1154	36.23±1.18	29.93±7.58	69.87±47.82
19.96	反-2-壬烯醛	1161	40.67±1.61	34.37±8.60	101.53±83.38
21.34	癸醛	1206	16.13±0.90	21.10±2.45	24.43±5.06
21.89	β-环柠檬醛	1225	1.73±0.15	2.33±0.29	3.93±1.50
23.24	α-亚乙基-苯乙醛	1272	-	18.60±2.82	-
醛类合计			390.37	637.29	594.35
10.59	1-己醇	868	7.60±2.01	-	35.80±14.96
14.19	1-辛烯-3-醇	980	103.40±12.79	53.70±8.71	158.37±31.07
14.83	2-(2-乙氧基乙氧基)乙醇	999	12.13±2.31	9.17±1.89	-
15.99	苯甲醇	1035	-	-	75.57±6.49
17.01	反-2-辛烯-1-醇	1067	-	-	10.43±1.51
17.11	1-辛醇	1070	15.30±1.41	18.87±3.72	26.57±4.91
18.10	芳樟醇	1100	64.77±2.14	73.57±10.53	211.00±157.63
18.55	苯乙醇	1115	33.37±2.37	17.83±2.95	33.50±2.39
20.25	1-壬醇	1170	21.37±0.90	11.57±1.38	16.17±0.83
22.01	异香叶醇	1230	1.70±0.28	3.50±0.62	-
醇类合计			259.64	188.21	567.41

转下页

接上页					
14.56	β -香叶烯	991	15.33±0.85	15.33±1.18	32.93±20.83
15.95	柠檬烯	1034	85.23±7.81	87.37±11.99	140.80±20.79
16.87	γ -蒎品烯	1062	3.47±0.25	4.23±0.42	9.40±0.42
21.16	十二烷	1200	19.33±0.84	15.47±2.00	19.23±2.54
24.04	十三烷	1300	23.30±0.44	21.97±2.62	18.17±4.51
25.97	3-甲基十三烷	1371	17.77±0.57	16.07±1.50	18.50±0.36
26.10	2,6,10-三甲基十二烷	1376	15.50±0.36	14.97±0.98	21.50±7.97
26.75	十四烷	1400	51.10±1.51	48.33±4.47	55.47±7.13
29.30	十五烷	1500	10.77±0.90	8.77±0.78	11.57±2.29
30.39	4-乙基十四烷	1544	4.20±0.26	3.80±0.53	5.23±0.58
31.03	3-甲基十五烷	1571	12.67±0.55	12.30±0.82	14.23±0.60
31.72	十六烷	1600	15.07±0.95	12.33±0.81	19.90±6.65
32.80	2,6,10-三甲基十五烷	1647	9.93±0.65	7.20±0.60	10.33±1.39
34.08	2,6,10,14-四甲基十五烷	1703	10.37±1.00	7.93±1.01	11.47±2.19
35.56	3-甲基十七烷	1771	2.47±0.15	2.23±0.21	2.90±0.26
烃类合计			296.51	278.30	391.63
14.77	己酸乙酯	998	-	9.80±2.97	-
14.93	3-己烯酸乙酯	1002.5	-	17.97±0.51	-
20.34	苯甲酸乙酯	1173	-	3.80±0.52	2.70±0.87
20.98	辛酸乙酯	1194	9.43±0.81	14.87±1.36	21.00±2.55
21.08	水杨酸甲酯	1197	6.57±0.23	15.20±3.25	4.75±1.77
22.25	己二酸二甲酯	1238	4.63±0.45	4.60±0.42	6.55±0.92
22.42	苯乙酸乙酯	1244	-	1.13±0.35	-
22.57	乙酸芳樟酯	1249	4.87±0.06	5.40±1.40	22.50±19.08
23.84	壬酸乙酯	1293	6.30±1.27	20.47±6.30	37.43±4.91
31.51	月桂酸乙酯	1591	-	1.53±0.25	4.53±0.76
35.99	十四酸乙酯	1791	6.27±1.80	5.37±0.78	7.40±0.75
40.04	棕榈酸乙酯	1991	53.70±18.36	72.20±7.23	134.70±19.11
43.18	亚油酸乙酯	2158	16.93±9.40	24.13±3.31	41.50±9.61
43.29	α -亚麻酸乙酯	2165	11.37±6.45	18.07±5.27	42.87±2.72
酯类合计			120.07	214.54	325.93
17.89	3,5-辛二烯-2-酮	1094	-	6.45±0.92	-
27.99	香叶基丙酮	1448	-	6.13±0.12	-
28.91	反- β -紫罗酮	1484	3.37±0.15	4.80±0.40	6.13±1.63
酮类合计			3.37	17.38	6.13
22.15	苯并噻唑	1234	31.70±1.81	21.13±1.10	57.37±14.00
杂环化合物			31.70	21.13	57.37

注：“-”表示化合物在样品组内未检出（组内出现频次 $\leq 1/3$ ），相对含量为平均值 \pm 标准差（ $n=3$ ）。

此外，为了更直观地了解样本间的共有或者特有的挥发性化合物，通过 UpSet 图示（图 2），三种类型丝瓜果实中共有的挥发性成分共有 40 中，DR 和 SG 中共有的挥发性物质有 4 种，DR 和 YL 中共有的挥发性物质有 2 种，SG 和 YL 中共有的挥发性物质

有 1 种，在 DR、SG 中特有的挥发性物质分别为 6 种和 2 种。由此可见，三种类型丝瓜果实存在很多相同类别的挥发性物质，说明样本间挥发性物质组成基本相似，同时挥发性物质在不同样本间也存在少量组成差异。

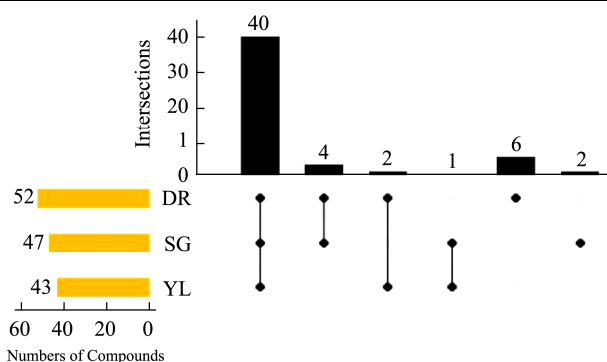


图2 基于3类丝瓜果实间55种挥发性化合物的UpSet图

Fig.2 The UpSet based on the 55 VOCs of the fruits from three loofah resources

2.2 不同类型丝瓜果实的挥发性物质综合差异

异

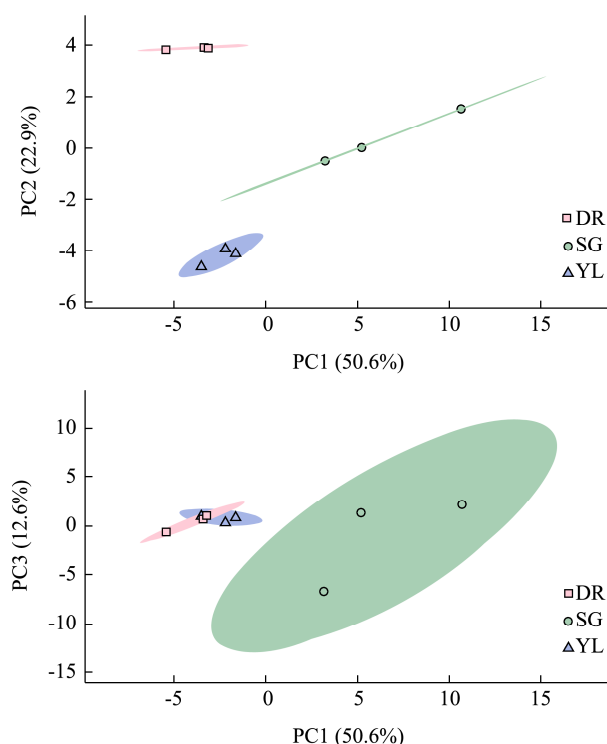


图3 不同样本挥发性化合物主成分分析

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

利用三种类型丝瓜果实的定性挥发性物质进行PCA主成分分析,结果表明,前三个主成分(PC1、PC2和PC3)的累计方差贡献率达86.10%(图3),主成分能够较好的概括了样品的原始数据信息。PC1、PC2和PC3的贡献率分别为50.60%、22.90%和12.60%(图3),DR、SG、YL在PC2方向上均能被清晰区分,在PC1方向上普通丝瓜SG与两类有棱丝瓜DR、YL能很好地区分,而DR和YL在PC1和PC3方向

上存在重叠,区分不显著。总体而言,通过挥发性成分的PCA分析三类型丝瓜能够区分,说明三类型丝瓜果实之间存在挥发性物质差异,但是DR和YL之间挥发性物质差异可能较小,这可能与DR和YL都归属于有棱丝瓜有关。

此外,基于定性的挥发性化合物进行层次聚类分析,结果如谱系图所示(图4)。9个样本按照三类丝瓜各自聚成一类。从聚类顺序上看,DR和YL最先聚为一类,其次是SG。既反映出DR和YL两类丝瓜果实挥发性化合物相似度最高,SG其次,这与主成分分析的结果一致。

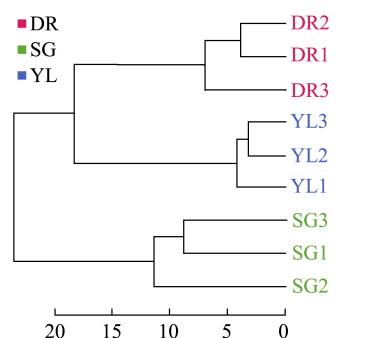


图4 不同样本挥发性化合物层次聚类分析谱系图

Fig.4 The sample-wise HCA dendrogram

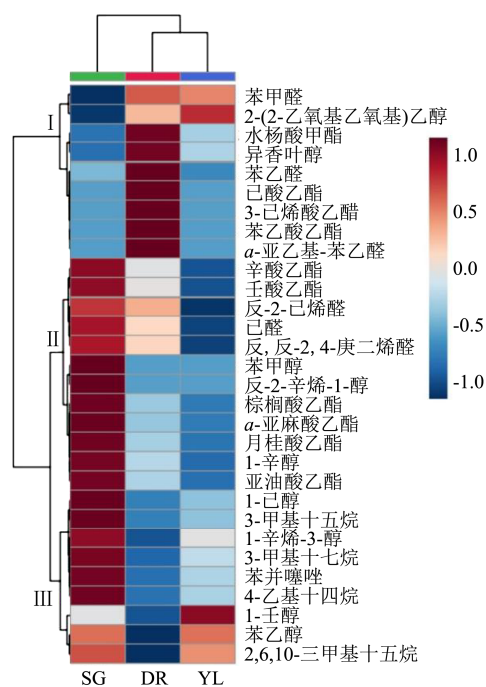


图5 差异香气化合物在不同丝瓜资源果实间相对含量的热图及谱系图

Fig.5 The heat map and feature-wise HCA dendrogram of the significantly-varied VOCs in three resources

通过单因素方差分析,以显著性($p < 0.05$)为依据,三类丝瓜两两比较共有30种化合物表现出显著差异(校正 p 值 < 0.05)(表2),其中6种醛类、9种醇

类、10种酯类、4种烃类、1种杂环类化合物。结合表1结果,三类丝瓜果实间的差异化合物以含量差异化合物为主(18种),组成差异化合物其次(12种)。根据多重比较结果所示,30种差异化合物中,6种化合物在全部三类丝瓜果实中呈现显著差异,包括反-2-

己烯醛、1-壬醇、月桂酸乙酯、辛酸乙酯、壬酸乙酯、1-辛烯-3-醇。为了进一步分析三类丝瓜果实的香气成分差异,对30种差异化合物做层次聚类分析,并辅以基于化合物相对含量的热度图(图5),分析具有相近变化趋势的挥发性化合物。

表2 3类丝瓜资源果实中差异性挥发性成分

Table 2 The significant-different volatile compounds in fruit of three loofah resources

化合物	<i>p</i> 值	校正 <i>p</i> 值 (FDR)	多重比较结果
3-己烯酸乙酯	1.97E-09	1.08E-07	DR-SG; DR-YL
苯甲醇	1.29E-06	3.54E-05	SG-DR; SG-YL
反-2-辛烯-1-醇	2.55E-05	0.000411	SG-DR; SG-YL
α -亚乙基-苯乙醛	3.42E-05	0.000411	DR-SG; DR-YL
苯甲醛	3.73E-05	0.000411	DR-SG; YL-SG
反-2-己烯醛	7.86E-05	0.00072	SG-DR; DR-YL; SG-YL
1-壬醇	9.20E-05	0.000723	SG-DR; YL-DR; YL-SG
月桂酸乙酯	0.000215	0.001478	SG-DR; DR-YL; SG-YL
苯乙醇	0.000438	0.002679	SG-DR; YL-DR
辛酸乙酯	0.000557	0.002822	SG-DR; DR-YL; SG-YL
壬酸乙酯	0.000578	0.002822	SG-DR; DR-YL; SG-YL
α -亚麻酸乙酯	0.000616	0.002822	SG-DR; SG-YL
2-(2-乙氧基乙氧基)乙醇	0.000742	0.003138	DR-SG; YL-SG
己酸乙酯	0.001505	0.005598	DR-SG; DR-YL
苯乙酸乙酯	0.001528	0.005598	DR-SG; DR-YL
异香叶醇	0.001629	0.005598	DR-SG; DR-YL
棕榈酸乙酯	0.001838	0.005945	SG-DR; SG-YL
1-辛烯-3-醇	0.002087	0.006378	SG-DR; YL-DR; SG-YL
水杨酸甲酯	0.00253	0.007128	DR-SG; DR-YL
苯乙醛	0.002592	0.007128	DR-SG; DR-YL
苯并噻唑	0.004206	0.011016	SG-DR; SG-YL
1-己醇	0.006168	0.015421	SG-DR; SG-YL
己醛	0.006731	0.016097	DR-YL; SG-YL
反,反-2,4-庚二烯醛	0.011904	0.02728	DR-YL; SG-YL
2,6,10-三甲基十五烷	0.013275	0.029205	SG-DR; YL-DR
3-甲基十七烷	0.023082	0.046177	SG-DR; SG-YL
亚油酸乙酯	0.023427	0.046177	SG-DR; SG-YL
1-辛醇	0.023508	0.046177	SG-DR; SG-YL
4-乙基十四烷	0.025406	0.048048	SG-DR; SG-YL
3-甲基十五烷	0.026208	0.048048	SG-DR; SG-YL

由图5所示,差异挥发性化合物在三类丝瓜果实中主要变化趋势有3类。第I类:与SG相比较,化合物在YL和DR中含量高,共有9种化合物。第II类:化合物在SG中含量最高,在DR中次之,YL中含量最低,如反-2-己烯醛、1-辛醇等。第III类:化合物在SG中含量最高,在YL中次之,DR中含量最低,如1-己醇、苯并噻唑等。综上,多数差异化合物表现

出DR和YL中含量较低,而在SG中呈现较高含量的现象,这可能是SG表现出更加浓郁气味的的原因。

为了更好地获得区分三类丝瓜的挥发性化合物,对差异化合物进行PCA分析,获得载荷较高的挥发性化合物(表3),筛选对差异贡献较大的化合物。Maamoun等通过PCA载荷值分析发现醛酮类化合物是丝瓜幼果和老果中变异最大的化合物,并且指出2-

己烯醛、黄瓜醛、1-辛烯-3-醇、3-辛酮、芳樟醇等化合物对幼果的香味特征发挥主要作用^[7]。本研究通过对差异化合物载荷值的分析发现, PC1 中苯甲醛、苯甲醇、反-2-辛烯-1-醇、苯并噻唑、3-甲基十七烷、 α -亚麻酸乙酯、3-甲基十五烷、4-乙基十四烷、棕榈酸乙酯、1-己醇的载荷较高, 除了苯甲醛为负值外, 其余均为正值即这些化合物与 PC1 正相关, 这与这些化

合物在 SG 中含量普遍较高的现象相吻合, 除了苯甲醛是在 SG 中含量较低除外(表 1)。PC2 中 1-壬醇、反-2-己烯醛、苯乙醛、3-己烯酸乙酯、 α -亚乙基-苯乙醛、苯乙醇、己酸乙酯、苯乙酸乙酯、反, 反-2,4-庚二烯醛、己醛的载荷较高, 除了 1-壬醇、苯乙醇的载荷为正值外, 其他化合物的载荷均为负值, 这与这些化合物在 YL 中含量普遍偏低的现象相一致(表 1)。

表 3 前两个主成分(PC1 和 PC2) 中载荷值(绝对值) 前 10 的化合物

Table 3 The VOCs with loading value of top 10 (in order of absolute value) in PC1 and PC2

序号	PC1		PC2	
	化合物	载荷值	化合物	载荷值
1	苯甲醛	-0.23	1-壬醇	0.33
2	苯甲醇	0.23	反-2-己烯醛	-0.28
3	反-2-辛烯-1-醇	0.23	苯乙醛	-0.27
4	苯并噻唑	0.22	3-己烯酸乙酯	-0.26
5	3-甲基十七烷	0.21	α -亚乙基-苯乙醛	-0.26
6	α -亚麻酸乙酯	0.21	苯乙醇	0.26
7	3-甲基十五烷	0.21	己酸乙酯	-0.25
8	4-乙基十四烷	0.21	苯乙酸乙酯	-0.24
9	棕榈酸乙酯	0.20	反, 反-2,4-庚二烯醛	-0.23
10	1-己醇	0.20	己醛	-0.21

2.3 差异挥发性化合物对丝瓜果实香味的影响

香气组分的种类、含量、感觉阈值及其之间的相互作用决定着各类香型, 只有把香气组分作为一个整体时, 才具有特定香型^[16], 这为香味性状的研究带来了一定的难度。在众多香气物质中, 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, 这些成分对风味起主要作用^[17]。通过本课题组专家嗅闻判断, 认为三类丝瓜果实呈现不同的香味特征, 普通丝瓜 SG 呈现青味带有药味、木味, 大肉丝瓜 DR 呈现青味带有甜味、双青丝瓜 YL 表现为青味带有土味。因此, 对三类丝瓜果实中的差异化合物进行香味特征分析, 有助于我们更好地了解丝瓜果实香味形成的代谢基础。根据载荷值获得的对差异贡献较大的化合物进行香味特征分析^[7,15], 能够有助于了解三类丝瓜果实的整体香味特征。

苯甲醇和反-2-辛烯-1-醇只在 SG 中检出, 苯甲醇具有甜香和花香, 反-2-辛烯-1-醇呈现蘑菇气味^[18]。苯并噻唑呈现汽油、橡胶味, 棕榈酸乙酯呈现蜡香、1-己醇呈现松香、花香、青香^[18], 该三个化合物在 SG 中含量要显著高于 DR 和 YL 中的含量。以上化合物可能是 SG 中除了青味之外的其他综合香味的主要贡献物。在 DR 中检测到 4 种呈现差异的特有化合物, 包括己酸乙酯、3-己烯酸乙酯、苯乙酸乙酯、 α -亚乙

基-苯乙醛。前人研究表明, 酯类化合物主要与花香、果香相关, 己酸乙酯具有果香, 苯乙酸乙酯呈现果香和甜香^[18]。此外, 苯乙醛在 DR 中的含量显著高于 YL 和 SG 中的含量, 该化合物呈现甜香的特征^[18], 苯乙醛、己酸乙酯、苯乙酸乙酯这三类化合物可能与 DR 呈现甜香的综合香味特征相关, 并且结合这三个化合物的相对含量, 同时苯乙醛具有较低的香气阈值^[19,20]及与甜香的相关联系^[15], 苯乙醛可能在 DR 呈现甜香中发挥最主要的作用。与 DR 和 SG 相比较, 1-壬醇在 YL 中呈现最高的含量, 该化合物表现为油脂气、柑橘气、青气等香味特征, 这可能是双青丝瓜类型 YL 中不太愉悦气味的重要贡献物。苯甲醛是 PC1 上载荷值(绝对值)最高的化合物, 其呈现杏仁香的特征^[21], 该化合物在 SG 中的含量显著低于 YL 和 DR 中, 推测应该在 YL 和 DR 中发挥重要的作用。青味是丝瓜呈现出的最主要的味道, 并且在三类丝瓜果实中有强弱差异, 其中普通丝瓜青味最浓, 大肉类型丝瓜次之, 双青类型丝瓜青味最淡。通过本研究发现, 己醛、反-2-己烯醛的含量从高到低依次为 SG、DR、YL, 这两种化合物对青香味有重要的贡献^[18,22], 因此, 己醛、反-2-己烯醛是丝瓜果实青味特征的最主要贡献物。此外, 反式-2-己烯醛具有较强的抑菌活性, 是一种重要的植物化学防卫因子^[23,24]。此外, 其还可作为信号分子诱导自身或相邻植株防御相关基因的表达, 在植物

抗病防御反应中发挥着重要作用^[25]。该化合物的在三类丝瓜果实中的含量差异,可能会导致其抗病性的差异,这为后续开展抗性育种奠定了基础。在关联分析香气感官品质和化合物时,除了参考化合物含量的变化外,还应结合阈值考虑其香气活度值(odor activity value),从而判断该香气物质是否对感官有实际贡献,这部分结果的阐释将结合 GC-O/MS 技术有待进一步研究。

3 结论

本研究采用了三种具有代表性且不同类型丝瓜的果实,通过 HS-SPME/GC-MS 技术共鉴定挥发性化合物 55 种,三种不同类型丝瓜可以通过挥发性化合物进行区分,普通丝瓜与有棱丝瓜的香味差异较大,不同类型的有棱丝瓜之间香味差异相对较小。通过单因素方差分析,获得 30 种差异化合物,并且在普通丝瓜中含量普遍较高,可能是普通丝瓜气味浓郁的主要原因。同时发现己醛、反-2-己烯醛可能是丝瓜果实青味的主要贡献化合物,而苯乙醛可能是大肉类型丝瓜甜香的主要贡献物。后续在丝瓜香味育种中,可根据主要香味化合物的含量作为指标进行资源筛选、创新以及品种选育,并且针对某个或者某几个特征香味化合物,进一步分析化合物的代谢分子基础,结合分子标记辅助选择、基因编辑等手段,调控化合物含量,从而实现丝瓜果实香味特征的改变。本研究将为后续丝瓜香味性状的研究以及品质育种提供参考。

参考文献

- [1] 苏小俊.普通丝瓜种质资源评价体系及主要农艺性状遗传规律研究[D].南京:南京农业大学,2009
SU Xiao-jun. Studies on evaluation system of main agronomic characters and its inheritance of luffa (*Luffa cylindrical* (L.) Roem) [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2009
- [2] 苏小俊,徐海,陈龙正,等.丝瓜种质资源亲缘关系的 ISSR 分析[J].南京农业大学学报,2010,33(3):42-46
SU Xiao-jun, XU Hai, CHEN Long-zheng, et al. Analysis on the phylogenetic relationship of luffa (*Luffa cylindrical* (L.) Roem.) germplasm based on ISSR [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2010, 33(3): 42-46
- [3] 王辉,王成,娄丽娜,等.丝瓜果肉耐褐变种质资源的筛选及初步应用[J].长江蔬菜,2013,14:20-22
WANG Hui, WANG Cheng, LOU Li-na, et al. Selection and preliminary application of anti-browning *Luffa* germplasm resources [J]. Journal of Changjiang Vegetables, 2013, 14: 20-22
- [4] Song B, Chen L Z, Xu H, et al. Analysis of genetic differences between *Luffa acutangula* (L.) Roxb. and *Luffa cylindrica* (L.) Roem. by ISSR markers [J]. Agricultural Science & Technology, 2015, 16(11): 2437-2440
- [5] 罗少波,罗剑宁,郑晓明.我国丝瓜育种研究进展与展望[J].广东农业科学,2006,1:15-17
LUO Shao-bo, LUO Jian-ning, ZHENG Xiao-ming. Research progress and prospect of *Luffa* breeding in China [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2016, 1: 15-17
- [6] 黎炎,王益奎,李文嘉,等.丝瓜不同品种多糖含量分析[J].作物杂志,2009,5:28-30
LI Yan, WANG Yi-kui, LI Wen-jia, et al. Analysis on polysaccharide contents of different cultivars of *Luffa* spp. [J]. Crops, 2009, 5: 28-30
- [7] Maamoun A A, El-akkad R H, Farag M A. Mapping metabolome changes in *Luffa aegyptiaca* Mill fruits at different maturation stages via MS-based metabolomics and chemometrics [J]. Journal of Advanced Research, 2021, 29: 179-189
- [8] 徐正.瓜实蝇对葫芦科植物选择性偏好研究[D].福州:福建农林大学,2018
XU Zheng. Studies on the selective preference of *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) to *cucurbitaceae* plants [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2018
- [9] 李培源,卢汝梅,霍丽妮,等.丝瓜叶挥发性成分研究[J].亚太传统医药,2010,6(9):15-26
LI Pei-yuan, LU Ru-mei, HUO Li-ni, et al. Studies on the volatile constituents from loofah leaves [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2010, 6(9): 15-26
- [10] 任立云,黄克建,覃爱枝,等.普通丝瓜叶片成分和物理结构对黄足黑守瓜取食和定位的影响[J].基因组学与应用生物学,2009,28(5):934-940
REN Li-yun, HUANG Ke-jian, QIN Ai-zhi, et al. Effect of Ingredients and physics structure of towel gourd leaves on feeding and orientation of *Aulacophora lewisii* [J]. Genomics and Applied Biology, 2009, 28(5): 934-940
- [11] 李俊星,钟玉娟,罗剑宁,等.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[J].现代食品科技,2018, 34(9):244-250
LI Jun-xing, ZHONG Yu-juan, LUO Jian-ning, et al. Analysis of aroma compounds in xiangyu pumpkin using electronic nose and head space-solid phase microextraction/gas chromatography-mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(9): 244-250

- [12] 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
- [13] Qi D D, Miao A Q, Cao J X, et al. Study on the effects of rapid aging technology on the aroma quality of white tea using GC-MS combined with chemometrics: in comparison with natural aged and fresh white tea [J]. Food Chemistry, 2018, 265: 189-199
- [14] 陈维, 祁丹丹, 王雯雯, 等. 黄化变异对英红九号红茶香气的影响[J]. 现代食品科技, 2018, 34(10): 231-239
CHEN Wei, QI Dan-dan, WANG Wen-wen, et al. The effect of chlorina on the aroma of yinghong 9 black tea [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(10): 231-239
- [15] 陈维, 曾斌, 苗爱清, 等. 基于化学计量学分析堆青时间对白茶香气的影响[J]. 现代食品科技, 2018, 34(5): 242-251
CHEN Wei, ZENG Bin, MIAO Ai-qing, et al. Effect of pile-up processing duration on the white tea aroma analyzed by chemometrics approaches [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(5): 242-251
- [16] 魏长宾, 刘胜辉, 臧小平, 等. 果实香气成分及其形成研究进展[J]. 热带农业科学, 2009, 29(3): 59-64
WEI Chang-bin, LIU Sheng-hui, ZANG Xiao-ping, et al. Advances on synthesis of fruit aromatic constituents [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2009, 29(3): 59-64
- [17] 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
- [18] Acree T, Am H. Flavornet and human odor space [DB/OL]. 2004. <http://www.flavornet.org/flavornet.html>
- [19] Joshi R, Gulati A. Fractionation and identification of minor and aroma-active constituents in Kangra orthodox black tea [J]. Food Chemistry, 2015, 167: 290-298
- [20] Schuh C, Schieberle P. Characterization of the key aroma compounds in the beverage prepared from Darjeeling black tea: quantitative differences between tea leaves and infusion [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(3): 916-924
- [21] Fan W, Qian M C. Identification of aroma compounds in Chinese 'Yanghe Daqu' liquor by normal phase chromatography fractionation followed by gas chromatography [sol] olfactometry [J]. Flavour Fragrance Journal, 2006, 21(2): 333-342
- [22] 陈迎春, 张晶莹, 宫磊, 等. 六个早熟鲜食葡萄品种果实香气成分分析[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2021, (1): 24-30, 35
CHEN Ying-chun, ZHANG Jing-ying, GONG Lei, et al. Analysis on fruit aromatic compounds of six early ripening table grape cultivars [J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2021, (1): 24-30, 35
- [23] 董玉鹏, 孙萍, 李永才, 等. 反式-2-己烯醛对梨果黑斑病菌 *Alternaria alternata* 的抑菌作用及其机理[J]. 食品科学, 2020, 41(7): 191-197
DONG Yu-peng, SUN Ping, LI Yong-cai, et al. Inhibitory effect and mechanism of trans-2-hexenal against inoculated *Alternaria alternata* on pear fruit [J]. Food Science, 2020, 41(7): 191-197
- [24] 段腾飞, 李昭, 岳田利, 等. 反式-2-己烯醛对猕猴桃贮藏过程扩展青霉生长的抑制作用[J]. 农业工程学报, 2019, 35(2): 293-301
DUAN Teng-fei, LI Zhao, YUE Tian-li, et al. Study on inhibitory effect of trans-2-hexenal on growth of *P. expansum* at kiwi fruit storage [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2019, 35(2): 293-301
- [25] Farmer E E. Surface-to-air signals [J]. Nature, 2001, 411: 854-856