

4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分分析

钟文彬¹, 岳建强², 张碧蓉², 闫素云², 段敏仙², 史文斌², 罗心平^{2*}, 周先艳^{2*}

(¹云南大学资源植物研究院, 昆明 650000; ²云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所, 云南保山 678000)

摘要:【目的】系统比较4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分并筛选差异特征挥发性成分, 对利用枸橼类柑橘种质资源及促进柑橘精油产业开发具有重要意义。【方法】采用溶剂萃取结合气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬和香橼果皮的挥发性成分进行测定。【结果】在云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬和香橼果皮中共检测出85种挥发性成分, 依次检测出72种、57种、58种、58种; 从总挥发性成分含量看, 云柠1号柠檬>香水柠檬>红柠檬>香橼。通过偏最小二乘法判别分析(PLS-DA), 可将4种枸橼类柑橘品种有效区分; 以VIP≥1, $p<0.05$ 为基准, 筛选得到12种差异特征挥发性成分, 其中云柠1号柠檬果皮中 γ -松油烯、 β -桧烯、柠檬醛、 β -蒎烯、 α -蒎烯、橙花醛的含量显著积累; 红柠檬果皮中(Z)- α -佛手柑油烯、 α -金合欢烯的含量显著积累, 其中 α -金合欢烯是红柠檬果皮中所特有的; 香水柠檬果皮中D-柠檬烯、香茅醛含量显著积累; 香橼果皮中香叶醇、紫苏醛含量显著积累。【结论】不同枸橼类柑橘果皮的挥发性成分种类和含量差异显著, 其中D-柠檬烯、 γ -松油烯、 β -桧烯、香茅醛、柠檬醛、香叶醇、(Z)- α -佛手柑油烯、 β -蒎烯、 α -蒎烯、 α -金合欢烯、紫苏醛、橙花醛可作为这4种枸橼类柑橘果皮的差异特征挥发性成分。云柠1号柠檬和香水柠檬香气成分丰富, 可作为优异的柑橘香气资源。

关键词: 枸橼; 果皮; GC-MS; 挥发性成分; 分析

中图分类号:S666

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2024)02-0266-16

Analysis of volatile substances in peels of four citron varieties

ZHONG Wenbin¹, YUE Jianqiang², ZHANG Birong², YAN Suyun², DUAN Minxian², SHI Wenbin², LUO Xinpingle^{2*}, ZHOU Xianyan^{2*}

(¹Institute of Plant Resources, Yunnan University, Kunming 650000, Yunnan, China; ²Institute of Tropical and Subtropical Cash Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Baoshan 678000, Yunnan, China)

Abstract:【Objective】Systematic comparative analysis of the volatile components in the peel of four main cultivated citron, screening of the characteristic volatile components in the four citrons and analyzing their differences in aroma substances from the perspective of metabolism are of great significance for better utilization of the germplasm resource of citron citrus and promoting the development of citrus essential oil industry. 【Methods】The volatile components of YN 1 lemon, Red lemon, Xiangshui lemon and Citron peels were detected by low temperature ultrasonic solvent extraction combined with GC-MS, and compounds were identified with the Xcalibur software and NIST mass spectrometry database for compound matching, combined with artificial spectrum analysis and comparison with relevant literature. The content of volatile components was determined by the internal standard method, and the data were statistically analyzed by WPS Office 2020 software. SPSS 26.0 software was used to analyze the variance and difference significance of means. Origin 2021 software was used for constructing graphs with the data, and Simca14.1 for multivariate statistical analysis to screen the characteristic volatile components. Partial least square discriminant analysis (PLS-DA) was used to predict the stability and re-

收稿日期:2023-10-26 接受日期:2023-12-19

基金项目:国家自然科学基金(32060563); 云南省科技厅科技人才与平台计划(202105AD160049); 云南省科技厅重大科技专项(202102AE090054); 德宏州英才兴边计划(2022RC010)

作者简介:钟文彬,男,在读硕士研究生,研究方向为采后生物学与技术。E-mail:2913930878@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail:rjslxp@126.com; E-mail:lyfzhouxianyan@163.com

liability of the data. 【Results】 There were significant differences in the types and contents of volatile components in the peel of the four citrons. A total of 85 volatile components were detected in the peels of YN 1 lemon, Red lemon, Xiangshui lemon and Citron, and 72, 57, 58 and 58 were detected respectively, which fell into 11 classes, including monothenes, sesquiterpenes, monoterpene alcohols, sesquiterpene alcohols, monothene aldehydes, aldehydes, esters, alcohols, etc. Monothene substances accumulated significantly, accounting for more than 80% of the total volatile components, among which *D*-limonene was the highest volatile substance in the peels of the four citrons. Among the 85 volatile components detected, 34 were common to the four varieties and they were the typical volatile components of citrons. The peel of YN 1 lemon contained 9 unique volatile components, and the peel of Red lemon contained 7 unique volatile components, while no unique volatile components were detected in the peels of Xiangshui lemon and Citron. YN 1 lemon peel had the highest total volatile component content ($24\ 554.42\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), followed by Xiangshui lemon peel with $22\ 004.48\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, Red lemon peel with $9\ 677.24\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, and Citron peel with the lowest content ($6\ 671.86\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Further, by partial least square discriminant analysis (PLS-DA), the established PLS-DA model could effectively distinguish the volatile components of the four citron varieties. The largest contribution to principal component 1 (PC1) was *D*-limonene, followed by citronellal, citral, neral, etc., and the largest contribution to principal component 2 (PC2) was β -pinene, followed by γ -perpinene, α -pinene, β -myrcene, etc. With $\text{VIP} \geq 1$, $p < 0.05$ as the basis, 12 volatile components with different characteristics were screened. Among them, *D*-limonene, γ -terpinene, β -pinene, citral, β -myrcene, α -pinene and neral were significantly accumulated in the peel of YN 1 lemon. (*Z*)- α -bergamotene and α -farnesene accumulated significantly in the peel of Red lemon, in which (*Z*)- α -bergamotene was 61.14 times that of YN 1 lemon, 5.11 times that of Xiangshui lemon and 281.27 times that of Citron, and α -farnesene was unique to the peel of Red lemon. *D*-limonene and citronellal accumulated significantly in the peel of Xiangshui lemon, especially citronellal, which was 111.77 times that of YN 1 lemon, 37.35 times that of Red lemon and 814.44 times that of Citron. Geraniol and perillal accumulated significantly in Citron peel, in which geraniol was 10.57 times that of YN 1 lemon, 6.17 times that of Xiangshui lemon, and perillal was 3.66 times that of YN 1 lemon, and 16.01 times that of Xiangshui lemon. The contents of *D*-limonene, citral and neral in the peel of YN 1 lemon and Xiangshui lemon were significantly higher than those of Red lemon and Citron. 【Conclusion】 There were significant differences in the types and contents of volatile components in different citron citrus peel. Monopetene compounds were the most important volatile components in the peel of the four kinds of citron varieties. The content and types of volatile components in the peel of YN 1 lemon were the highest, and the content and types of volatile components in the peel of citron were the least. Based on the PLS-DA result, γ -terpinene, β -pinene, α -pinene and β -myrcene might be the characteristic volatile components of YN 1 lemon peel; (*Z*)- α -bergamotene and α -farnesene were characteristic volatile components of Red lemon peel; citronellal might be used as the characteristic volatile component of Xiangshui lemon peel, and geraniol and perillal might be used as the distinctive volatile components of Citron peel. YN 1 lemon and Xiangshui lemon had rich aroma components and might be excellent citrus aroma resources.

Key words: Citron; Pericarp; The gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); Volatile components; Analyze

枸橼类(citron-like)是芸香科(Rutaceae)柑橘属(*Citrus*)植物中的一类,与柚类(*cephalocitrus*)、

蜜柑类(acrumen)和橘亚类(microacrumen)并列为柑橘重要的栽培类型^[1-2]。枸橼(*C. medica* L.)又名香橼,

1753年林奈把枸橼命名为(*C. medica* L.)、与柠檬(*C. limon* Burm.)、黎檬(*C. limonia* Osbeck.)、梾檬(*C. qurantifolia* Swingle.)以及佛手(*C. medica* 'Fingered')共同构成枸橼类(citron-like),主要分布在印度东北部、我国西藏东南部、云南西部、西南部。枸橼类柑橘原发中心位于云南的西部和西南部,在我国长江以南的热带亚热带气候类型的地区均有栽培^[3-4]。枸橼类柑橘果实含有丰富的酚类、黄酮类、生物碱类、香豆素类、维生素类等多种功效性成分,具有理气、舒郁、消痰、利膈等药用和食用价值^[5]。气味物质是人们通过嗅觉可以感觉到的挥发性成分,其果皮挥发性成分对果实香气有决定作用,是果实最重要的风味指标之一^[6],不同柑橘果实具有独特气味^[7]。

笔者课题组前期已在云南129份枸橼和柠檬种质资源果皮中鉴定到49种挥发性成分,在西藏的50份枸橼果皮中可鉴定到52种成分,*D*-柠檬烯含量占总挥发性物质含量50%以上,主要包括单萜、单萜醇、单萜醛、单萜酯、倍半萜、倍半萜醇、醛、酮等物质,其中单萜的含量最高^[8]。不同种植区和不同种质资源的柑橘果实挥发性成分存在差异。涂勋良等^[9]对8个不同柠檬品种果皮香气成分进行检测分析,发现8个柠檬品种所含成分种类和相对含量存在品种间差异;张海朋等^[10]分析了7种柑橘108份材料果皮和汁囊的挥发性特征,β-蒎烯和桧烯在5个柠檬种质中的4个中特异积累。此外,不同提取方法、植株不同组织部位及果实不同成熟度的香气成分也存在较大差异。庄晓伟等^[11]通过顶空固相微萃取(HS-SPME)、水蒸气蒸馏法(SD)与气质联用仪(GC-MS)在香橼果皮中分别检测出68种、56种香气成分,发现不同提取方法对挥发性成分检测结果产生一定的影响^[12-14]。冼伟光等^[15]对香橼叶片和果

皮挥发性成分进行研究,尤桂春等^[16]对8种柠檬花精油挥发性成分进行研究,揭示了不同部位的挥发性成分情况及差异性。李春秀等^[17]对不同成熟期泰国柠檬和香水柠檬果皮挥发性成分进行研究,发现不同成熟期的香水柠檬和泰国柠檬果实挥发性成分存在较大差异。

而枸橼类柑橘是云南主要栽培或特色的地方柑橘品种,是云南巩固脱贫攻坚成果同乡村振兴有效衔接的主要产业之一。云南的枸橼类柑橘由于特殊的香气越来越受到消费者的喜爱,尤其香水柠檬等广泛应用于新兴的茶饮行业。但关于不同的枸橼类柑橘果实果皮挥发性成分的研究还未见系统的报道。因此笔者在本研究中以4种枸橼类柑橘果实为材料,采用溶剂超声萃取结合GC-MS技术检测云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬及香橼果皮的挥发性成分,系统比较4种主要栽培的枸橼类柑橘果皮挥发性成分并筛选差异特征性挥发成分,从代谢角度解释4种枸橼类柑橘果实香气差异的原因,对更好地利用枸橼类柑橘种质资源及柑橘精油产业开发具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料

云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果实材料均来源于云南柠檬综合试验站柑橘种质资源圃,其中云柠1号柠檬是从尤力克柠檬芽变中选育的品种,广泛种植于云南产区。于2023年1月18日17:00,采集资源圃中处于商品上市期的4种枸橼类果实样品(图1),每个品种选择树龄相同、长势一致的成年健康挂果树3株,每株分别从东南西北中5个方向随机采摘成熟度相同、大小均匀、无病虫害的果实3个,每株树共15个果,作为1次重复,随后带回实验

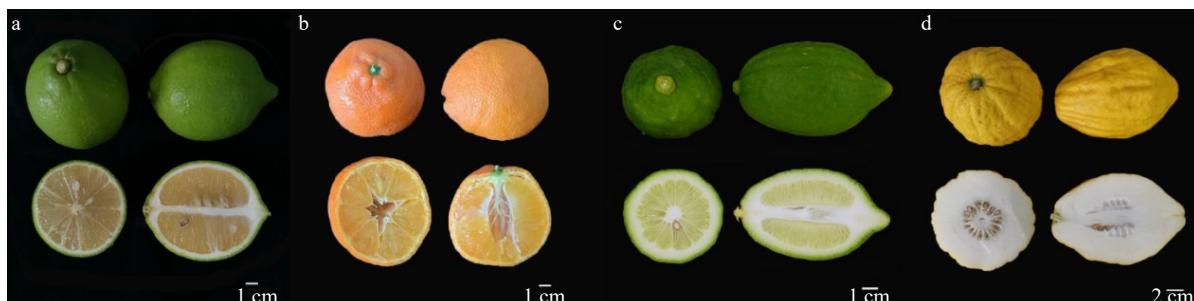


图1 云柠1号柠檬(a)、红柠檬(b)、香水柠檬(c)和香橼(d)的果实

Fig. 1 The fruits of Yunnan No. 1 lemon (a), Red lemon (b), Xiangshui lemon (c) and Citron (d)

室洗净擦干,削取每个样果赤道面黄皮层一圈,立即置于液氮下充分冻干、混匀,封袋标记,置于-80 °C保存备用。

1.2 方法

1.2.1 样品处理及萃取(参考周先艳^[8]的方法略有修改) (1)样品前处理:将制备好的样品从-80 °C低温冰箱取出,取适量样品液氮下充分研磨,称取0.30 g置于2 mL离心管中,做好标记。

(2)萃取:往装好样品的离心管内添加500 μL纯水,500 μL含壬酸甲酯(methyl nonanoate, 98%, Sigma-Aldrich)87.50 μg·mL⁻¹的MTBE液(甲基叔丁基醚methyl tert-butyl ether, ≥99.8%, 色谱纯,Sigma-Aldrich),盖好混匀后置于4 °C低温下超声萃取1 h后取出,12 000 r·min⁻¹离心12 min,小心吸取上清液,过滤膜后置于进样瓶中,使用 Thermo TRACE 1600-ISQ 7610GC-MS联用仪(购买于美国赛默飞世尔科技有限公司)测定。

1.2.2 GC-MS 条件 色谱柱:TC-5MS石英毛细柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm);载气:高纯氦气(纯度>99.999%),恒流模式,流量2 mL·min⁻¹;进样口温度250 °C;进样量1 μL,分流模式,分流比50:1;升温程序:初始温度40 °C保持3 min,以2 °C·min⁻¹升至160 °C,保持1 min,以5 °C·min⁻¹升至200 °C,保持1 min,以8 °C·min⁻¹升至240 °C,保持3 min。MS传输线温度280 °C;离子源温度260 °C;EI(电子轰击)为离子源,电子轰击能量70 eV;Scan正离子全扫描模式,扫描开始时间为进样后3 min,扫描质量范围45~400 amu。

1.2.3 定性定量分析 定性方法为挥发性物质经气相色谱分离,形成由各成分色谱峰组成的总离子流色谱图,通过Xcalibur软件处理及NIST质谱数据库的化合物匹配,结合人工图谱解析及相关文献进行比对,确定挥发性成分。

定量方法:采用内标法^[18]进行定量,以壬酸甲酯作为内标。计算公式如下:

$$C_i = \frac{A_i \times C_{is} \times V}{A_{is} \times M_i}$$

其中C_i表示样品中该挥发性成分的质量分数(μg·g⁻¹),A_i表示该挥发性成分在质谱图上的峰面积,C_{is}表示内标物(壬酸甲酯)在质谱图上的峰面积,C_{is}表示内标物(壬酸甲酯)的质量浓度(87.50 μg·mL⁻¹),M_i表示称取样品质量(g),V表示加入MTBE液的体

积(mL)。

1.2.4 数据处理及分析 利用WPS Office 2020软件对试验数据进行统计分析整理;采用SPSS 26.0数据分析软件进行方差、差异显著性分析;利用Origin 2021软件对试验数据进行作图;利用Simca14.1进行PLS-DA多元统计分析。

2 结果与分析

2.1 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分GC-MS总离子流图

4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分经过提取、GC-MS测定,得到GC-MS总离子流图谱,如图2所示。从图上可以看出,香橼和红柠檬的峰相对较少,检测出的物质较少,同一出峰时间点峰面积较小,同一成分的含量较低,说明这4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分的种类以及含量存在较大差异。

2.2 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分种类与总含量分析

从云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中共检出85种挥发性成分(表1),其中依次检出72、57、58、58种,可分为单萜烯、倍半萜烯、单萜烯醇、倍半萜烯醇、单萜烯醛、醛类、酯类、酮类等共十一大类。根据这85种挥发性成分作upset图(图3),发现4种枸橼类柑橘果皮中含有共有挥发性成分34种,是枸橼类柑橘果皮典型挥发性成分;云柠1号柠檬果皮中含有9种特有挥发性成分,分别为三环烯、α-檀香烯、对薄荷-1(7),8(10)-二烯-9-醇、白菖醇、庚醛、异胡薄荷酯、异丁酸芳樟酯、樟脑、胡椒酮,其含量(w,后同)累计为21.01 μg·g⁻¹,占总挥发性成分的0.086%,所占比例非常低;红柠檬果皮中含有7种特有挥发性成分,分别为α-毕澄茄烯、β-毕澄茄烯、α-金合欢烯、δ-杜松烯、己醛、5-乙基-2(5H)-呋喃酮、5,8-二乙基十二烷,其含量累计为52.74 μg·g⁻¹,占总挥发性成分的0.54%;而在香水柠檬和香橼两种枸橼类柑橘果皮中并未检测到特有挥发性成分。

在果皮挥发性成分的总含量方面,云柠1号柠檬果皮检出挥发性成分总含量最高,为24 554.42 μg·g⁻¹;香橼果皮中总含量最低,为6 671.86 μg·g⁻¹;红柠檬果皮中为9 677.24 μg·g⁻¹;香水柠檬果皮中为22 004.48 μg·g⁻¹。4种枸橼类柑橘品种间差异显著(p<0.05),变异系数为56.39%,云柠1号柠檬含量最高,其次为香水柠檬,香橼的含量最低。

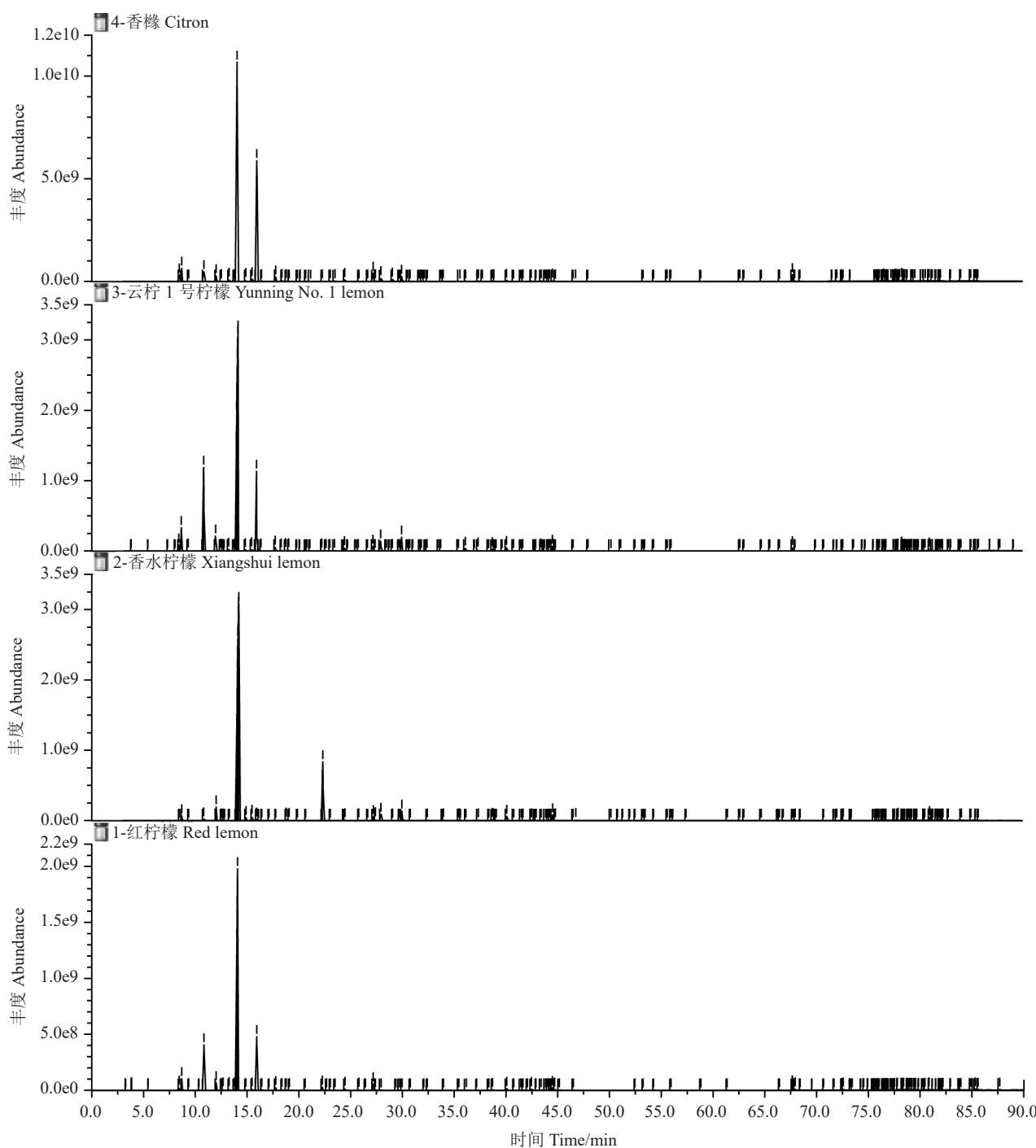


图 2 4 种枸橼类柑橘果皮挥发性成分 GC-MS 总离子流图谱

Fig. 2 The GC-MS total ion chromatogram of volatile components in the peels of four citrons

2.3 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分含量分析

通过对在4种枸橼类柑橘果皮检出的85种挥发性成分进行分类统计,可分为11类(表1),其类别数量及相对含量如图4和图5所示。

2.3.1 单萜烯类 单萜烯类是这4种枸橼类柑橘果皮中最主要的挥发性成分。在云柠1号柠檬果皮中检测出15种;在红柠檬、香水柠檬、香橼果皮

中检测出13种。其中4个品种共有挥发性成分12种,分别为 α -侧柏烯、 α -蒎烯、莰烯、桧烯、 β -月桂烯、 α -松油烯、D-柠檬烯、(E)- β -罗勒烯、罗勒烯、 γ -松油烯、异松油烯、波斯菊萜;三环烯只在云柠1号柠檬中检测到;红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中未检测出特有成分。4种枸橼类柑橘果皮中单萜烯类中最主要的成分都是D-柠檬烯,都占总挥发性成分含量的50%以

表1 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分的含量
Table 1 The content of volatile components in the peels of four citrongs

编号 Number	挥发性成分 Volatile	w/(μg·g ⁻¹)				变异系数 Variable coefficient/%	p 值 p-value	解释度 VIP
		云籽1号柠檬 Yuning No. 1 lemon	红柠檬 Red lemon	香水柠檬 Xiangshui lemon	香橼 Citron			
1	三环烯 Tricyclene	1.62±0.02	—	—	—	200.00	1.39E-13	0.08
2	α-侧柏烯 α-thujene	126.83±2.69 a	43.93±0.64 c	2.20±0.04 d	72.77±0.46 b	85.22	3.24E-11	0.81
3	α-蒎烯 α-pinene	527.06±9.43 a	182.53±2.52 b	119.21±0.69 d	159.74±0.88 c	76.25	2.64E-11	1.21
4	莰烯 Camphene	15.66±0.25 a	5.01±0.04 b	1.00±0.03 d	1.44±0.01 c	118.23	1.96E-12	0.26
5	桧烯 Sabinene	2.817.25±49.97 a	984.53±7.05 b	71.13±0.27 c	147.95±1.27 c	127.03	2.89E-12	3.80
6	β-蒎烯 β-pinene	381.90±4.31 a	137.27±0.79 b	—	77.78±1.18 c	110.55	1.59E-13	1.22
7	β-月桂烯 β-myrcene	12.92±0.63 a	5.83±0.03 c	9.71±0.09 b	4.67±0.04 d	45.51	3.09E-07	0.13
8	3-蒈烯 3-carene	0.99±0.17 b	—	1.94±0.02 a	—	127.08	5.16E-07	0.07
9	α-松油烯 α-terpinolene	49.93±3.15 a	27.00±0.25 b	0.97±0.05 c	28.23±0.28 b	75.50	1.79E-07	0.41
10	D-柠檬烯 D-limonene	15.962.54±338.00 b	6.555.06±45.8 c	17.535.08±271.70 a	3.717.33±34.67 d	62.45	1.35E-10	4.82
11	(E)-β-罗勒烯 (E)-β-ocimene	27.21±0.45 b	7.25±0.12 c	89.25±1.37 a	26.2±0.45 b	95.29	4.97E-12	0.73
12	β-罗勒烯 β-ocimene	56.54±0.60 b	17.67±0.31 d	131.14±1.98 a	37.89±0.49 c	81.40	6.16E-12	0.79
13	γ-松油烯 γ-terpinene	2.647.82±51.54 a	1.152.25±11.54 c	45.46±0.62 d	1.960.66±33.21 b	77.09	4.50E-11	3.96
14	异松油烯 Terpinolene	112.94±3.84 a	51.19±0.49 c	5.42±0.03 d	69.01±1.02 b	74.61	2.02E-09	0.67
15	波斯菊脑 Cosmene	0.88±0.02 b	2.09±0.1 a	0.92±0.03 b	0.40±0.01 c	66.96	1.40E-07	0.25
16	单帖烯 Monoterpene (15)	22.742.09±444.42 a	9.171.61±52.84 c	18.013.41±276.43 b	6.304.05±72.99 d	54.34	2.62E-10	
17	δ-榄香烯 δ-elemene	—	2.09±0.11 b	25.38±0.61 a	1.93±0.04 b	164.03	2.24E-11	0.29
18	α-毕澄茄烯 α-cubebene	—	4.67±0.21	—	—	200.00	2.21E-09	0.42
19	β-毕澄茄烯 β-cubebene	—	2.42±0.23	—	—	200.00	6.94E-07	0.30
20	石竹烯 Caryophyllene	88.13±1.27 a	24.37±0.73 c	54.17±0.32 b	7.50±0.15 d	81.39	5.33E-12	0.42
21	(Z)-α-佛手柑油烯 (Z)-α-bergamotene	0.63±0.06 c	42.19±1.21 a	8.25±0.54 b	0.15±0.01 c	155.41	1.81E-10	1.28
22	(E)-α-佛手柑油烯 (E)-α-bergamotene	2.39±0.05 a	—	—	—	200.00	7.14E-12	0.10
23	葫芦烯 Humulene	121.10±1.59 b	—	173.11±1.85 a	15.13±0.38 c	108.03	2.87E-13	0.84
24	β-檀香烯 β-santalene	6.04±0.18 a	1.81±0.13 c	4.39±0.12 b	0.65±0.01 d	75.77	6.46E-09	0.10
25	(Z)-β-金合欢烯 (Z)-β-farnesene	4.63±0.13 b	2.03±0.14 c	5.91±0.13 a	0.74±0.03 d	71.00	3.84E-09	0.09
26	D-大根香叶烯 Germacrene D	8.67±0.35 a	1.78±0.11 b	9.23±0.15 a	0.87±0.01 c	86.05	1.96E-09	0.13
27	(E)-β-金合欢烯 (E)-β-farnesene	—	37.20±1.14 a	20.00±0.20 b	10.72±0.26 c	92.83	4.93E-10	0.95
		8.90±0.87 a	1.44±0.07 c	6.40±0.14 b	0.46±0.01 c	93.53	2.32E-06	0.14

注:同行不同小写字母表示差异显著($p<0.05$)。

Note: Different small letters in the same row indicate significant differences ($p<0.05$).

表1 (续) Table 1 (Continued)

编号 Number	挥发性成分 Volatile	w/(μg·g ⁻¹)				变异系数 Variable coefficient/%	p值 p-value	解释度 VIP
		云柠 I 号柠檬 Yunnan No. 1 lemon	红柠檬 Red lemon	香水柠檬 Xiangshui lemon	香橼 Citron			
28	γ-榄香烯 γ -elemene	32.39±0.60 a	4.91±0.11 b	4.24±0.06 b	4.53±0.13 b	120.82	7.99E-12	0.33
29	β-榄香烯 β -elemene	—	1.42±0.21 b	6.69±0.11 a	1.59±0.15 b	120.85	3.26E-09	0.15
30	α-雪松烯 α -himachalene	12.88±0.35 b	4.40±0.11 c	17.37±0.17 a	1.32±0.04 d	82.51	3.94E-11	0.16
31	β-红没药烯 β -bisabolene	170.75±2.24 b	61.99±1.50 c	233.09±3.59 a	20.63±0.53 d	80.27	1.02E-11	0.58
32	α-金合欢烯 α -farnesene	—	28.53±0.91	—	—	200.00	1.26E-10	1.05
33	牛儿烯 Bicyclogermacrene	2.10±0.07 b	—	28.40±0.49 a	2.18±0.03 b	165.51	1.47E-12	0.34
34	δ-杜松烯 δ -cadinene	—	4.92±0.06	—	—	200.00	1.06E-13	0.44
35	α-红没药烯 α -bisabolene	3.57±0.18 b	—	4.99±0.10 a	0.46±0.01 c	107.19	1.17E-09	0.14
36	α-愈创木烯 α -guaiene	—	—	36.20±0.39 a	2.79±0.06 b	181.44	3.13E-14	0.38
37	倍半萜烯 Sesquiterpenes(21)	462.24±7.75 b	226.19±6.37 c	637.83±8.32 a	71.67±1.69 d	71.68	2.77E-11	—
38	(Z)- β -松油醇 (Z)- β -terpineol	22.05±0.33 a	9.62±0.30 b	1.22±0.07 d	5.10±0.12 c	95.26	2.27E-11	0.31
39	(E)-4-侧柏醇 (E)-4-thujanol	27.42±0.42 a	11.25±0.17 b	—	11.74±0.20 b	89.43	6.31E-12	0.31
40	芳樟醇 Limanol	41.51±0.63 b	11.70±0.23 d	44.75±0.63 a	6.39±0.10 c	76.05	1.07E-11	0.27
41	(E)-对薄荷-2,8-二烯 (E)-p-mentha-2,8-dienol	1.86±0.11 a	—	1.49±0.06 b	0.47±0.00 c	90.55	6.54E-08	0.12
42	2-莰醇 Bornanol	4.54±0.04 a	1.61±0.04 b	—	—	139.28	1.10E-13	0.17
43	4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	11.82±0.33 a	3.73±0.18 c	—	8.12±0.05 b	86.98	4.19E-10	0.30
44	(E)-马鞭草醇 (E)-verbanol	2.71±0.08 a	—	1.26±0.05 b	—	129.92	2.83E-10	0.09
45	α-松油醇 α -terpineol	100.29±1.13 a	40.59±0.87 b	23.84±0.35 c	26.36±1.80 c	74.91	1.52E-10	0.55
46	对薄荷-1(7),8(10)-二烯-9-醇 P-mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	1.23±0.05	—	—	—	200.00	5.05E-10	0.07
47	(Z)-对薄荷-2,8-二烯-1-醇 (Z)-p-mentha-2,8-dien-1-ol	1.34±0.10 a	—	0.93±0.09 b	0.71±0.03 b	75.28	5.19E-06	0.15
48	(R)-香茅醇 (R)-citronellol	—	4.47±0.25 c	55.57±0.51 a	7.24±0.82 b	154.60	2.37E-12	0.45
49	香叶醇 Geraniol	5.86±0.17 c	—	10.05±0.12 b	61.95±1.49 a	147.04	2.84E-11	1.32
50	(Z)-对-薄荷-1(7),8-二烯-2-醇 (Z)-mentha-1(7),8-dien-2-ol	1.27±0.10 a	—	—	0.53±0.02 b	133.78	2.76E-07	0.12
51	(E)-驱蛔脑二醇 (E)-escaridol Glycol	3.56±0.28 a	1.77±0.09 bc	2.42±0.32 b	1.56±0.08 c	38.68	8.23E-04	0.08
52	单萜烯醇 Monoterpene alcohols(14)	225.46±2.07 a	84.74±2.00 d	141.53±1.69 b	130.17±1.99 c	40.35	1.78E-10	—
53	D-4-大根香叶醇 Germacrene D-4-ol	5.87±0.56 a	—	—	0.62±0.01 b	175.57	1.01E-06	0.17
54	(E)-倍半萜烯水合物 (E)-sesquisabinenhydrate	3.51±0.26 b	—	6.53±0.23 a	—	125.50	9.69E-09	0.14
55	白菖醇 Shyobunol	1.18±0.08	—	—	—	200.00	5.20E-08	0.07
56	(Z)-倍半萜烯水合物 (Z)-sesquisabinenhydrate	1.46±0.12 b	1.64±0.07 b	2.56±0.38 a	—	74.88	1.49E-04	0.17
57	异长叶醇 Isolongifolol	4.35±0.09 b	2.08±0.09 c	6.55±0.30 a	0.55±0.00 d	77.63	2.64E-08	0.11
58	α-红没药醇 α -bisabolol	6.21±0.19 b	—	8.40±0.20 a	0.79±0.06 c	106.48	2.46E-10	0.19
59	倍半萜烯Sesquiterpene alcohols (6)	22.58±0.91 a	3.72±0.14 b	24.04±0.90 a	1.96±0.07 b	90.68	9.33E-09	—
60	香茅醛 Citronellal	22.07±0.46 b	66.05±1.27 b	2.466.85±42.85 a	3.03±0.08 b	190.54	1.14E-12	2.81
61	橙花醛 Nerol	329.16±4.61 a	3.04±0.14 c	232.26±2.75 b	—	117.62	5.84E-13	1.01

表1(续) Table 1 (Continued)

编号 Number	挥发性成分 Volatile	w/(μg·g ⁻¹)				变异系数 Variable coefficient/%	p值 p-value	解释度 VIP
		云柠1号柠檬 Yunnan No. 1 lemon	红柠檬 Red lemon	香水柠檬 Xiangshui lemon	香橼 Citron			
59	紫苏醛 Perillal	10.39±0.12 b	—	2.39±0.05 c	38.10±1.71 a	137.54	4.12E-09	1.04
60	柠檬醛 α-citral	473.16±6.74 a	2.57±0.18 d	349.66±5.87 b	92.65±2.36 c	95.47	4.84E-12	1.72
	单帖烯醛 Monoterpen aldehydes(4)	834.79±11.86 b	71.66±1.56 c	3051.16±51.15 a	133.78±3.14 c	136.46	1.98E-12	
61	3-己烯醛 3-hexenal	3.32±0.31 b	13.49±0.60 a	—	—	151.92	7.54E-09	0.72
62	己醛 Hexanal	—	7.37±0.20	—	—	200.00	3.25E-11	0.53
63	(E)-2-己烯醛 (E)-2-hexenal	1.42±0.08 b	6.35±0.42 a	—	—	155.06	7.91E-08	0.49
64	庚醛 Heptanal	1.23±0.06	—	—	—	200.00	6.64E-09	0.07
65	辛醛 Octanal	7.14±0.51 b	21.83±0.12 a	7.87±0.09 b	—	99.17	6.58E-11	0.93
66	壬醛 Nonanal	33.75±0.50 a	6.09±0.19 c	30.47±0.55 b	0.91±0.02 d	93.84	9.76E-12	0.25
67	4-葵烯醛 4-decenal	2.34±0.11 a	—	—	1.82±0.06 b	117.31	5.92E-09	0.22
68	癸醛 Decanal	4.48±0.04 b	19.04±0.61 a	18.18±0.17 a	0.48±0.00 c	89.73	2.01E-10	0.75
69	十一醛 Undecanal	6.69±0.13 b	1.24±0.02 c	13.12±0.24 a	0.49±0.02 d	108.67	1.08E-11	0.17
	醛 Aldehydes(9)	60.38±1.29 c	75.39±1.66 a	69.64±0.94 b	3.69±0.06 d	63.08	2.72E-10	
70	香叶酸 Geranic acid	—	—	0.76±0.09 b	2.40±0.03 a	143.44	8.02E-10	0.26
	酸 Acids(1)	—	—	0.76±0.09 b	2.40±0.03 a	143.44	8.02E-10	
71	麝香草酚 Thymol	0.84±0.12 a	—	—	0.77±0.04 b	115.71	1.34E-05	0.14
	酚酚 Phenols(1)	0.84±0.12 a	—	—	0.77±0.04 a	115.71	1.34E-05	
72	2-甲基辛酸甲酯 Octanoic Acid, 2-methyl-, methyl ester	7.79±0.19 a	4.73±0.11 c	5.32±0.09 b	3.99±0.03 d	30.24	7.94E-08	0.10
73	异胡薄荷酮 Isopulegol acetate	5.26±1.15	—	—	—	200.00	3.97E-04	0.17
74	甲酸香茅酯 Citronellyl formate	6.23±0.12 b	3.76±0.19 c	20.01±0.13 a	—	116.30	3.28E-13	0.21
75	乙酸橙花醋 Neryl acetate	91.87±1.50 a	—	4.55±0.09 b	5.89±0.18 b	173.06	8.84E-13	0.64
76	乙酸香叶醋 Geranyl acetate	58.94±0.97 a	—	23.63±0.48 b	6.23±0.16 c	119.19	4.20E-12	0.52
77	异丁酸芳樟酯 Linalyl isobutyrate	4.81±0.10	—	—	—	200.00	2.96E-12	0.14
	酯 Esters(6)	174.91±1.59 a	8.49±0.28 d	53.50±0.38 b	16.10±0.31 c	121.73	2.59E-14	
78	5-乙基-2(5h)-呋喃酮 2(5h)-5-ethyl- Furanone	—	1.91±0.18	—	—	200.00	7.18E-07	0.27
79	樟脑 Camphor	3.29±0.07	—	—	—	200.00	4.87E-12	0.11
80	胡椒酮 Piperitone	1.45±0.05	—	—	—	200.00	4.22E-10	0.08
81	7-甲氧基香豆素 7-methoxycoumarin	4.25±0.30 b	3.78±0.07 b	5.20±0.16 a	0.86±0.01 c	53.04	6.05E-07	0.22
	酮 Ketones(4)	8.99±0.31 a	5.70±0.24 b	5.20±0.16 b	0.86±0.01 c	64.34	2.90E-08	
82	邻-伞花烃 O-cymene	2.62±0.05 a	2.28±0.08 b	1.63±0.12 c	—	71.28	3.57E-08	0.24
83	5,8-二乙基十二烷 5,8-diethylidodecane	—	2.92±0.25	—	—	200.00	2.85E-07	0.33
84	6-甲基十八烷 6-methyl- octadecane	4.71±0.21 b	2.00±0.24 c	5.78±0.43 a	1.17±0.08 c	64.03	5.76E-06	0.09
85	2-甲基十九烷 2-methyl- nonadecane	14.80±0.24 b	22.56±0.80 a	—	5.24±0.04 c	94.18	1.09E-09	0.76
	其他 Others(4)	22.14±0.13 b	29.75±0.68 a	7.41±0.32 c	6.40±0.07 c	69.59	2.00E-10	0.08
合计 Total(85)		24.554.42±469.27 a	9.677.24±65.01 c	22.004.48±338.40 b	6.671.86±78.06 d	56.39	1.77E-10	0.81

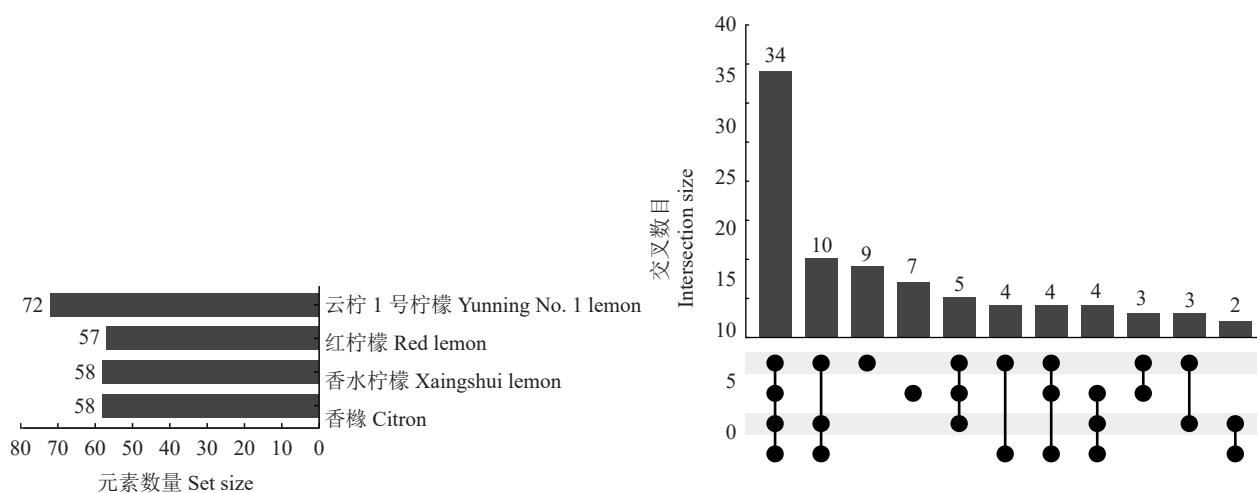


图 3 4 种枸橼类柑橘果皮挥发性成分 upset 图

Fig. 3 The upset pilot of volatile components in the peels of four citrons

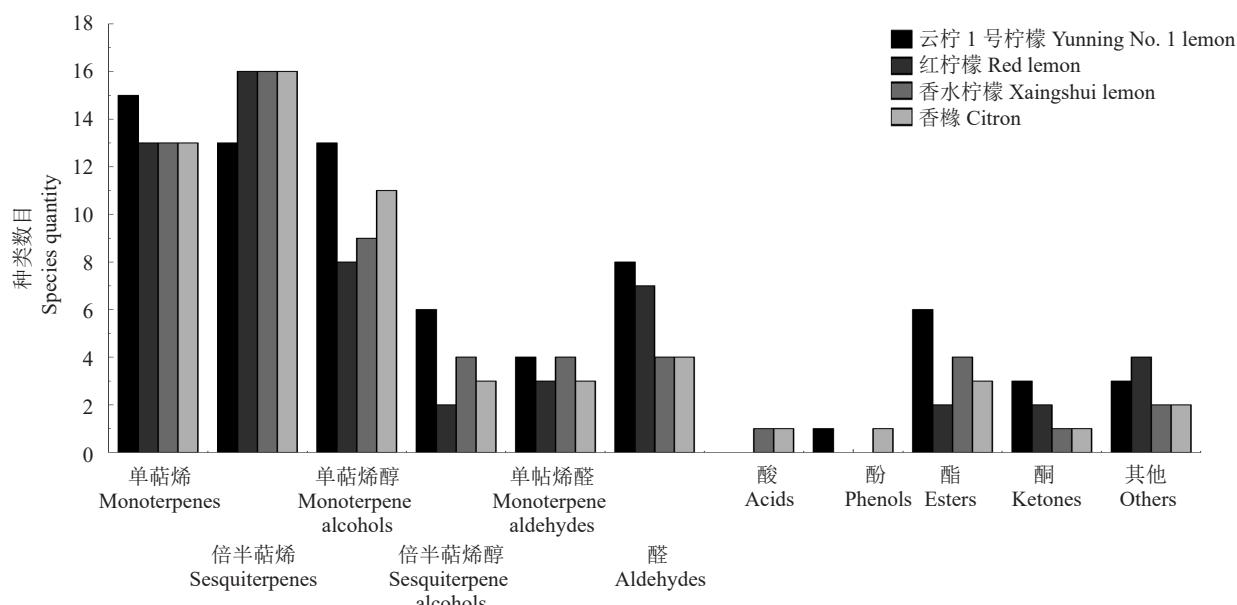


图 4 4 种枸橼类柑橘果皮挥发性成分种类

Fig. 4 The types of volatile components in the peels of four citrons

上。从含量方面看,云柠 1 号柠檬果皮中单萜烯含量最高,为 $22\ 742.09\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,其次是香水柠檬果皮中为 $18\ 013.41\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,红柠檬果皮中为 $9\ 171.61\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,最少是香橼果皮中为 $6\ 304.05\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。从占总挥发性成分含量的比例上看,红柠檬(94.78%)>香橼(94.49%)>云柠 1 号柠檬(92.62%)>香水柠檬(81.86%),品种间变异系数为 54.34%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.2 倍半萜烯类 在云柠 1 号柠檬果皮中检测出 13 种倍半萜烯类挥发性成分;在红柠檬、香水柠檬、

香橼果皮中均检测出 16 种。其中 4 个品种共有挥发性成分有 9 种,为石竹烯、(*Z*)- α -佛手柑油烯、葫芦烯、 β -檀香烯、(*Z*)- β -金合欢烯、(*E*)- β -金合欢烯、 γ -榄香烯、 α -雪松烯、 β -红没药烯; α -檀香烯仅在云柠 1 号柠檬果皮中检测到; α -毕澄茄烯、 β -毕澄茄烯、 α -金合欢烯、 δ -杜松烯仅在红柠檬果皮中检测到;香橼、香水柠檬果皮中并未检测出特有挥发性成分。从含量方面看,倍半萜烯类在香水柠檬果皮中的含量最高,为 $637.83\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第三大类别成分;其次是在云柠 1 号柠檬果皮中为 $462.24\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第三大类别

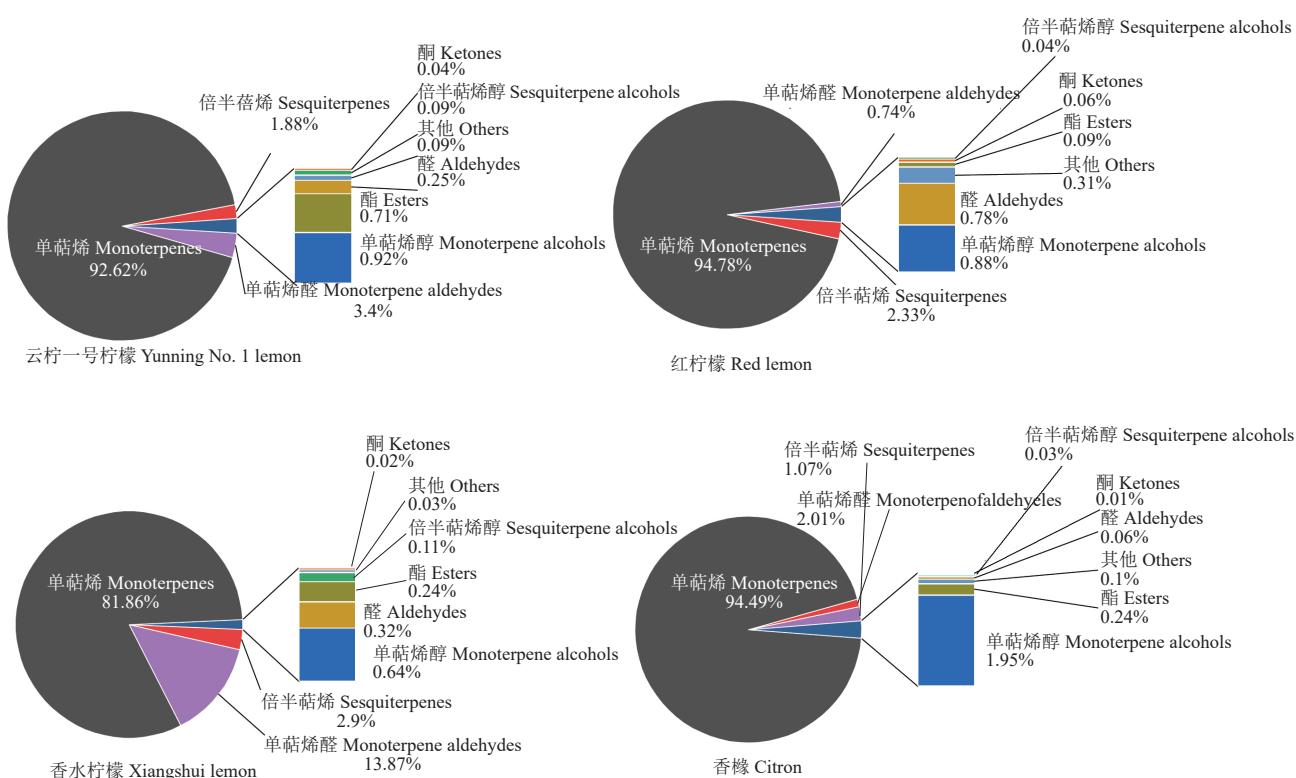


图5 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分种类相对含量

Fig. 5 The relative contents of volatile components in the peels of four citrons

成分;红柠檬果皮中为 $226.19 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第二大类别成分;最低的是香橼果皮中为 $71.67 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第四大类别成分。从占总挥发性成分含量的比例上看,香水柠檬(2.90%)>红柠檬(2.33%)>云柠1号柠檬(1.88%)>香橼(1.07%)。变异系数为71.68%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.3 单萜烯醇类 在云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中依次检测出13、8、9、11种单萜烯醇类挥发性成分。其中4个品种共有成分有4种,为(*Z*)- β -松油醇、芳樟醇、 α -松油醇、(*E*)-驱蛔脑二醇;对薄荷-1(7),8(10)-二烯-9-醇仅在云柠1号柠檬果皮中检测到;红柠檬、香橼、香水柠檬果皮中未检测出特有挥发性成分。从含量方面看,单萜烯醇类在云柠1号柠檬果皮中含量最多,为 $225.46 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第四大类别成分;其次是香水柠檬果皮中为 $141.53 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第四大类别成分;香橼果皮中为 $130.17 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第三大类别成分;最少是红柠檬果皮中为 $84.74 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,是其第三大类别成分。从占总挥发性成分含量的比例上看,香橼(1.95%)>云柠1号柠檬(0.92%)>红柠檬(0.88%)>香水柠檬(0.64%)。变异系数为40.35%,品种间差异显著

($p<0.05$)。

2.3.4 倍半萜烯醇类 4种枸橼类柑橘果皮中含倍半萜烯醇较少,占挥发性成分总量的0.03%~0.11%。在云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中依次检测出6、2、4、3种倍半萜烯醇类。其中4个品种共有成分1种,为异长叶醇;白菖醇只在云柠1号柠檬果皮中检测到;红柠檬、香橼、香水柠檬果皮中并未检出特有挥发性成分。从含量方面看,倍半萜烯醇类在香水柠檬果皮中含量最高,为 $24.04 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;其次是云柠1号柠檬果皮中为 $22.58 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;红柠檬果皮中为 $3.72 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;最低是香橼果皮中为 $1.96 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。从占总挥发性成分含量的比例上看,香水柠檬(0.11%)>云柠1号柠檬(0.09%)>红柠檬(0.04%)>香橼(0.03%)。变异系数为90.68%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.5 单萜烯醛类 单萜烯醛类在这4种枸橼类柑橘果皮中含量较多,占挥发性成分总量的0.74%~13.87%。在云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中依次检测出4、3、4、3种单萜烯醛类。其中4个品种共有成分2种,为香茅醛和柠檬醛;云柠1号柠檬、红柠檬、香橼、香水柠檬果皮并未检出特

有挥发性成分。从含量方面看,单萜烯醛类在香水柠檬果皮中含量最高,为 $3\ 051.16\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的13.87%,是香水柠檬区别于其他3个品种的主要挥发性成分,是其第二大类别成分;其次是云柠1号柠檬果皮中为 $834.79\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的3.40%,是其第二大类别成分;香橼果皮中为 $133.78\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的2.01%,是其第二大类别成分;最低是红柠檬果皮中为 $71.66\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.74%,是其第五大类别成分;其中香茅醛在香水柠檬果皮中含量特异性累积,高达 $2\ 466.85\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占香水柠檬果皮总挥发性成分含量的11.21%,属于第二大挥发性成分,远超于云柠1号柠檬、红柠檬、香橼果皮中的含量,是云柠1号柠檬的111.77倍、红柠檬的37.35倍、香橼的814.44倍。变异系数为136.46%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.6 醛类 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分中含醛类物质较少,占挥发性成分总量的0.06%~0.78%。在云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中依次检测出8、7、4、4种醛类。其中4个品种共有挥发性成分3种,为壬醛、癸醛、十一醛;庚醛只在云柠1号柠檬果皮中检测到;己醛只在红柠檬果皮中检测到;香橼、香水柠檬果皮中并未检测出特有挥发性成分。从含量方面看,醛类在红柠檬果皮中含量最高,为 $75.39\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.78%;其次是在香水柠檬果皮中为 $69.64\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.32%;在云柠1号柠檬果皮中为 $60.38\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分的0.25%;最低是在香橼果皮中为 $3.69\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.06%。变异系数为60.08%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.7 酸类 香叶酸是唯一检测出来的挥发性有机酸,仅在香水柠檬、香橼果皮中检出,含量微少。在香水柠檬果皮中为 $0.76\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.003 5%;在香橼果皮中为 $2.40\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.036%。变异系数为143.44%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.8 酚类 麝香草酚是唯一检测出来的挥发性有机酚,只在云柠1号柠檬、香橼果皮中检出,含量微少。在云柠1号柠檬果皮中为 $0.84\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.003 4%;在香橼果皮中为 $0.77\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.012%。变异系数为

115.71%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.9 酯类 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分中含酯类较少,占挥发性成分总量的0.09%~0.71%。在云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中依次检测出6、2、4、3种酯类。其中4个品种共有成分1种,为2-甲基辛酸甲酯;异胡薄荷酯、异丁酸芳樟酯只在云柠1号柠檬果皮中检出;红柠檬、香橼、香水柠檬果皮中未检出特有挥发性成分。从含量方面看,酯类在云柠1号柠檬果皮中含量最高,为 $174.91\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.71%;其次在香水柠檬果皮中为 $53.50\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.24%;在香橼果皮中为 $16.10\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.24%;最低是在红柠檬果皮中为 $8.49\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占总挥发性成分含量的0.09%。变异系数为121.73%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.10 酮类 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分中含酮类较少,占挥发性成分总量的0.01%~0.06%。在云柠1号柠檬果皮中检测出樟脑、胡椒酮、7-甲氧基香豆素3种,含量为 $8.99\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;在红柠檬果皮中检测出5-乙基-2(5H)-呋喃酮和7-甲氧基香豆素2种,含量为 $5.70\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;在香水柠檬、香橼果皮中只检测出7-甲氧基香豆素1种,含量分别为 $5.20\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 $0.86\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。变异系数为64.34%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.3.11 其他 4种枸橼类柑橘果皮中还检测到其他的挥发性物质,占总量的0.03%~0.31%。在云柠1号柠檬果皮中检出邻-伞花烃、6-甲基十八烷、2-甲基十九烷3种,含量为 $22.14\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;在红柠檬果皮中检出邻-伞花烃、5,8-二乙基十二烷、6-甲基十八烷、2-甲基十九烷4种,含量为 $29.75\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;在香水柠檬果皮中检出邻-伞花烃、6-甲基十八烷2种,含量为 $7.41\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$;在香橼果皮中只检出6-甲基十八烷、2-甲基十九烷2种,含量为 $6.40\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。变异系数为69.59%,品种间差异显著($p<0.05$)。

2.4 4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分含量的差异分析

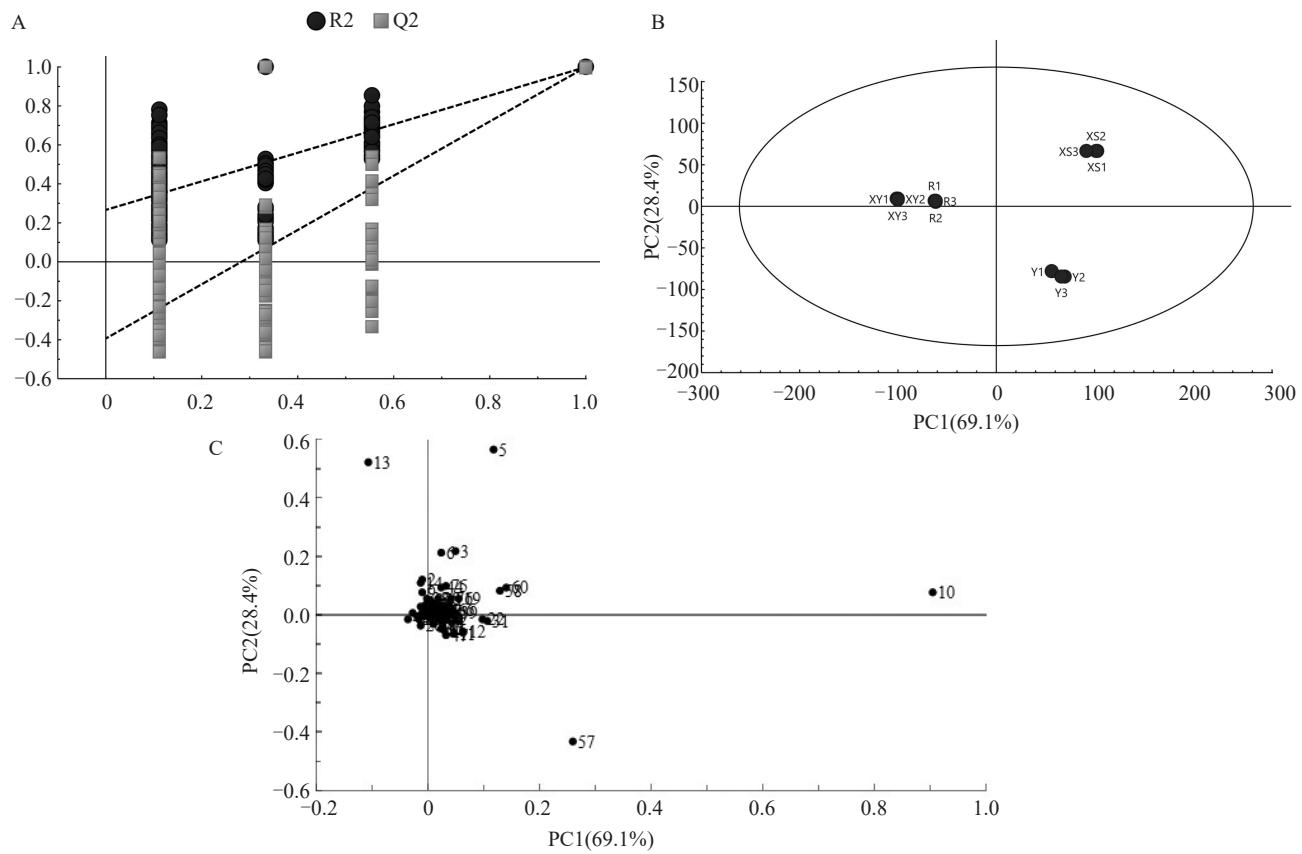
以检出的85种挥发性成分含量作为因变量参数,4种枸橼类柑橘品种作为自变量,通过SIMCA.14.1作偏最小二乘法判别分析(PLS-DA,图6)。本次分析中自变量拟合指数(R_{x2})为1,因变量拟合指数(R_{y2})为0.999,模型预测指数(Q_2)为0.999。 R_{x2} 、 R_{y2} 、 Q_2 均大于0.9,表明该模型对自变

量 X 及因变量 Y 均具有较好的解释能力,也表明该模型具有较强的预测能力,该模型拟合结果可接受^[19]。经过200次置换检验,如图6-A所示,Q2回归线与纵轴的相交点小于0,说明模型不存在过拟合,模型验证有效,认为该结果可用于这4种枸橼类的鉴别分析。

所建立模型中主成分1(PC1)的方差贡献率为69.1%,主成分2(PC2)的方差贡献率为28.4%,累计方差贡献率为97.50%,其能够代表数据整体。以第一主成分和第二主成分为横纵坐标建立样品和挥发性化合物的相关性得分图和载荷图(图6-B~C),发现样品的相似度在95%的置信区间内,各样品表现出明显的聚类趋势,未发现离群样本点,说明建立的PLS-DA模型可对4个品种进行分类。由图6-B可以看出,4个枸橼类柑橘品种的得分点散落在不同的象限,同一个品种的主成分得分散点

重复性良好。在PC1上,4个枸橼类柑橘品种可以明显区分;在PC2上,云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬和香橼具有一定的区分度,香水柠檬和香橼不能完全进行区分。说明4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分存在一定区别,可以实现4个枸橼类柑橘品种样品的有效区分。主成分中某一组分的载荷值越高,说明该组分对该主成分所起作用越大。由图6-C可以看出,对PC1贡献最大的是D-柠檬烯,依次是香茅醛、柠檬醛、橙花醛等,可以认为PC1代表的是D-柠檬烯、香茅醛、柠檬醛、橙花醛等为组合的挥发性成分;对PC2贡献最大的是桧烯,依次是 γ -松油烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯等,因此PC2代表了以桧烯、 γ -松油烯、 α -蒎烯、 β -蒎烯等为组合的挥发性成分。

通过PLS-DA的变量投影重要度(VIP)分析不同挥发性成分对4种枸橼类柑橘果皮香味的贡献率



A: $R_2=(0.0, 0.266)$; $Q_2=(0.0, -0.394)$; 200 permutations 4 components; B: Y. 云柠1号柠檬; R. 红柠檬; XS. 香水柠檬; XY. 香橼。citronEllipse: Hotelling's T2 (95%); 编号同表1。

A: $R_2=(0.0, 0.266)$; $Q_2=(0.0, -0.394)$; 200 permutations 4 components; B: Y. Yunnning No. 1 lemon; R. Red lemon; XS. Xiangshui lemon; XY. Citron. Ellipse: Hotelling's T2 (95%). The number of Fig. C are same Table 1.

图6 4种枸橼类柑橘果皮的挥发性成分PLS-DA分析的模型交叉验证结果(A)、得分图(B)及荷载图(C)

Fig. 6 The results of permutation test (A), score scatter plot (B) and loading scatter plot (C) for PLS-DA analysis of volatile components in the peels of four citrons

(表1)。根据 $p<0.05$ 且VIP ≥ 1 的标准,筛选云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮挥发性成分差异特征挥发性成分,共筛选到12种差异特征挥发性成分(表2),分别是D-柠檬烯、 γ -松油烯、桧烯、 β -蒎烯、 α -蒎烯、(Z)- α -佛手柑油烯、 α -金合欢烯、香叶醇、香茅醛、柠檬醛、紫苏醛、橙花醛,并根据其含量作热图分析。如图7所示,云柠1号柠檬果皮中D-柠檬烯、 γ -松油烯、桧烯、柠檬醛、 β -蒎烯、 α -蒎烯、橙花醛含量显著积累,而不含 α -金合欢烯,表现出强烈的柑橘、柠檬香味;红柠檬果皮中(Z)- α -佛手柑油烯、 α -金合欢烯含量显著积累,特含有 α -金合欢烯而不

含香叶醇、紫苏醛,表现出柑橘清新淡雅、花香、果香;香水柠檬果皮中D-柠檬烯、香茅醛含量显著积累,而不含 β -蒎烯、 α -金合欢烯,表现出柠檬、香茅气味;香橼果皮中香叶醇、紫苏醛含量显著积累,而不含 α -金合欢烯,表现为温和玫瑰、辛香气味。其中D-柠檬烯、柠檬醛、橙花醛在云柠1号柠檬和香水柠檬果皮中含量显著高于红柠檬和香橼; γ -松油烯在云柠1号柠檬和香橼果皮中含量显著高于红柠檬和香水柠檬。上述各品种果皮中的差异特征挥发性成分对构成这4个品种果实独特香味的差异有一定的影响。

表2 4种枸橼类柑橘果皮特征挥发性成分

Table 2 The volatile components of peel characteristics to the four citrons

序号 Number	成分 Compounds	气味描述 ^[20-23] Odor description	解释度 VIP	p值 p-value
1	D-柠檬烯 D-limonene	柑橘、柠檬香气 Citrus, lemon aroma	4.82	1.35E-10
2	γ -松油烯 γ -terpinene	柑橘、柠檬香气 Citrus, lemon aroma	3.96	4.50E-11
3	桧烯 Sabinene	松油、木头香 Turpentine, Wood aroma	3.80	2.89E-12
4	香茅醛 Citronellal	有强烈的香茅气味 Strong citronella smell	2.81	1.14E-12
5	柠檬醛 α -citral	浓郁柠檬香味 Strong lemon scent	1.72	4.84E-12
6	香叶醇 Geraniol	温和、甜的玫瑰花气息 Mild, sweet rose smell	1.32	2.84E-11
7	(Z)- α -佛手柑油烯 (Z)- α -bergamotene	清新的花香、果香 Fresh fragrance, fruit aroma	1.28	1.81E-10
8	β -蒎烯 β -pinene	松木、树脂香气 Pine, resin aroma	1.22	1.59E-13
9	α -蒎烯 α -pinene	木香、甜香气味 Costustoot aroma, sweet smell	1.21	2.64E-11
10	α -金合欢烯 α -farnesene	柑橘香、花香 Citrus, fragrance	1.05	1.26E-10
11	紫苏醛 Perillal	紫苏、辛香香气 Perilla, fragrant aroma	1.04	4.12E-09
12	橙花醛 Neral	浓郁柠檬香味 Intense lemon smell	1.01	5.84E-13

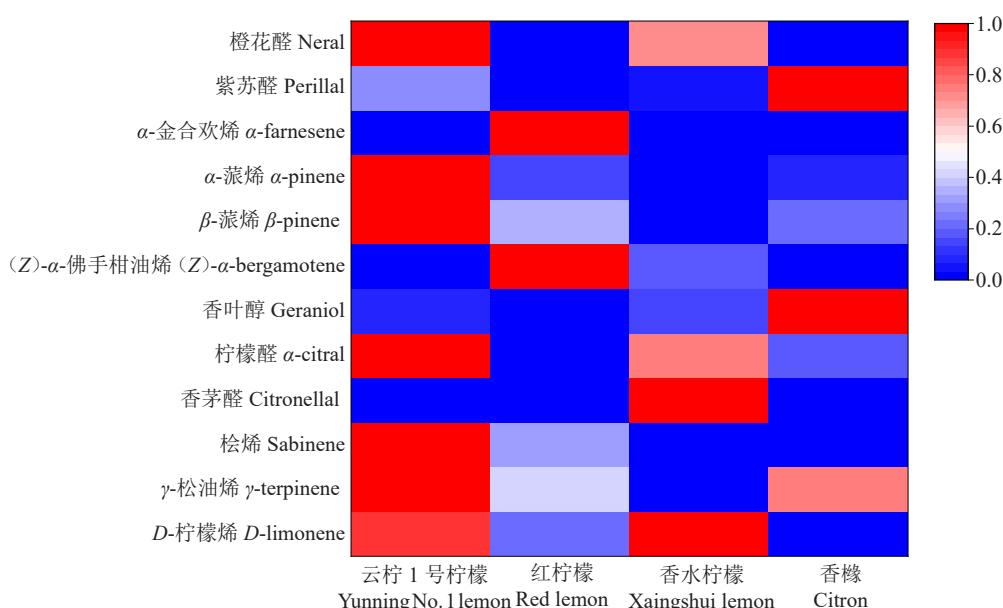


图7 4种枸橼类柑橘果皮特征差异挥发性成分热图

Fig. 7 The heat map of characteristic volatile components in the peels of four citrons

3 讨 论

云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果实果皮中依次检出72、57、58、58种挥发性成分。这一结果与笔者课题组前期研究^[8]、王小柯等^[24]、涂勋良等^[9]前人研究结果存在差异,这与所使用的提取和检测方法不同有关。笔者在本研究中也发现4种枸橼类柑橘果皮挥发性成分中单萜烯类都是最主要的成分,占总挥发性成分含量的80%以上,且云柠1号柠檬、红柠檬、香橼果皮中单萜烯类含量占总挥发性物质含量的90%以上,说明单萜烯类物质在枸橼类柑橘果皮中高含量累积,与张海朋等^[7]研究结果一致。云柠1号柠檬、香水柠檬、香橼果皮中单萜醛类含量较高,红柠檬果皮中单萜醛类物质含量较低,说明单萜醛类物质在枸橼类柑橘果皮中特异性积累,与笔者课题组前期研究结果一致^[8]。其中在香水柠檬果皮中单萜烯醛含量较高,占总挥发性成分含量的13.87%,主要是香茅醛、柠檬醛、橙花醛的含量较高,尤其是香茅醛极显著累积,而在其他3种枸橼类柑橘果皮中含量较低,分别是云柠1号柠檬的111.77倍、红柠檬的37.35倍、香橼的814.44倍,因此可选择研究果皮中单萜醛(尤其香茅醛)含量累积情况作为香水柠檬区别于其他3种枸橼类柑橘的主要特异挥发性成分。在4种枸橼类柑橘果皮挥发性组分中D-柠檬烯的含量都是第一大成分,占总挥发性物质含量50%以上,与DI Rauso Simeone等^[25]研究结果一致。

PLS-DA根据给定的样品分组信息,对样品结构数据进行判别分析,常用于区分各组间代谢轮廓的总体差异,筛选组间的差异代谢物。高歌等^[26]通过PLS-DA实现了国内各种类型的柚子品种的香气特征差异分析。目前并未有人系统地比较多种枸橼类柑橘果皮挥发性成分的差异,而笔者在本研究中通过PLS-DA分析将4种枸橼类柑橘种质资源分开,筛选得到12个差异特征挥发性成分。其中D-柠檬烯、 γ -松油烯、桧烯、柠檬醛、 β -蒎烯、 α -蒎烯、橙花醛在云柠1号柠檬果皮中显著积累;(Z)- α -佛手柑油烯、 β -蒎烯、 α -蒎烯、 α -合金欢烯、紫苏醛、橙花醛可以作为这4种枸橼类柑橘果皮的差异特征挥发性成分。云柠1号柠檬和香水柠檬香气成分丰富,可作为优异的柑橘香气资源。

显著累积导致其果实独特的风味。

以上结果也与前人研究的结果存在差异,这与检测技术方法^[11-14]、品种遗传差异性^[27-28]、种植环境因素^[29]、管理水平^[30],砧木种类^[31]、果实成熟度^[22]、采后操作^[23]等因素有关,后续研究将加大样本量、扩大挥发性成分的研究范围,进一步分析枸橼类柑橘果皮中各特征挥发性成分。而4种枸橼类柑橘果实表现出来的不同芳香气味类型,是果皮挥发性成分在种类和含量上的差异,以及某些特有成分、共有成分共同作用的结果,要探明这4种枸橼类柑橘果实独特的香味来源,不但要研究不同挥发性物质在不同含量条件下互配的混合效果,还要结合研究人员对不同挥发性成分的气味阈值进行判断,这有待进一步深入研究。

4 结 论

4种枸橼类柑橘果皮的挥发性成分种类和含量差异显著。在云柠1号柠檬、红柠檬、香水柠檬、香橼果皮中共检出85种挥发性成分,依次检出72、57、58、58种,共有挥发性成分有34种,云柠1号柠檬、红柠檬果皮中含有特有挥发性成分,香水柠檬和香橼果皮中未检出特有挥发性成分。通过PLS-DA分析,可将4种枸橼类柑橘品种有效区分,其中D-柠檬烯、 γ -松油烯、桧烯、香茅醛、柠檬醛、香叶醇、(Z)- α -佛手柑油烯、 β -蒎烯、 α -蒎烯、 α -合金欢烯、紫苏醛、橙花醛可以作为这4种枸橼类柑橘果皮的差异特征挥发性成分。云柠1号柠檬和香水柠檬香气成分丰富,可作为优异的柑橘香气资源。

参 考 文 献 References:

- [1] 周开隆,叶荫民.中国果树志-柑橘卷[M].北京:中国林业出版社,2010:1-28.
ZHOU Kailong, YE Yinmin. China fruit annals-citrus roll[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2010: 1-28.
- [2] 周志钦,蒋聪强.柑桔属植物若干分类群的分支分析[J].中国柑桔,1994,23(1):3-6.
ZHOU Zhiqin, JIANG Congqiang. Study on the cladistic relationship of the genus *Citrus*[J]. South China Fruits, 1994, 23(1): 3-6.
- [3] 郭天池.中国的枸橼[J].中国柑桔,1993,22(4):3-6.
GUO Tianchi. Citron in China[J]. South China Fruits, 1993, 22 (4):3-6.
- [4] 刘航秀,冯迪,龙春瑞,周先艳,刘红明,杨虹霞,杜玉霞,郭丽娜,付小猛,马兆成,岳建强.枸橼药用植物果实变异及地理分布研究[J].中国中药杂志,2021,46(23):6289-6293.

- LIU Hangxiu, FENG Di, LONG Chunrui, ZHOU Xianyan, LIU Hongming, YANG Hongxia, DU Yuxia, GUO Lina, FU Xiaomeng, MA Zhaocheng, YUE Jianqiang. Fruit variation and geographical distribution of citron[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2021, 46(23): 6289-6293.
- [5] CHHIKARA N, KOUR R, JAGLAN S, GUPTA P, GAT Y, PANGHAL A. *Citrus medica*: Nutritional, phytochemical composition and health benefits- A review[J]. Food & Function, 2018, 9(4): 1978-1992.
- [6] 肖作兵,蒋新一,牛云蔚. 水果香气物质分析研究进展[J]. 食品科学技术学报,2021,39(2):14-22.
- XIAO Zuobing, JIANG Xinyi, NIU Yunwei. Research progress on analysis of aroma compounds in fruits[J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 39(2): 14-22.
- [7] 张海朋,彭昭欣,石梅艳,温欢,张红艳,徐娟. 柑橘果实风味组学研究进展[J]. 华中农业大学学报,2021,40(1):32-39.
- ZHANG Haipeng, PENG Zhaoxin, SHI Meiyuan, WEN Huan, ZHANG Hongyan, XU Juan. Advances on citrus flavoromics[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(1): 32-39.
- [8] 周先艳. 云南和西藏地区枸橼资源香气评价及柠檬果实外观缺陷的成因研究[D]. 武汉:华中农业大学,2020.
- ZHOU Xianyan. Study on the aroma evaluation of citron resources in Yunnan and Tibet region of China and the causes of lemon fruit appearance defects[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.
- [9] 涂勋良,阳姝婷,李亚波,张利,吕秀兰. 8个不同柠檬品种果皮香气成分的GC-MS分析[J]. 植物科学学报,2016,34(4): 630-636.
- TU Xunliang, YANG Shuting, LI Yabo, ZHANG Li, LÜ Xiulan. Analysis of aromatic components from the peels of eight lemon varieties by GC-MS[J]. Plant Science Journal, 2016, 34(4): 630-636.
- [10] ZHANG H P, XIE Y X, LIU C H, CHEN S L, HU S S, XIE Z Z, DENG X X, XU J. Comprehensive comparative analysis of volatile compounds in citrus fruits of different species[J]. Food Chemistry, 2017, 230: 316-326.
- [11] 庄晓伟,李斌,朱利文. 不同前处理方法对提取香橼果皮中挥发性成分的影响[C]//第十一届中国香料香精学术研讨会论文集. 上海:中国香料香精化妆品工业协会,2016:16-22.
- ZHUANG Xiaowei, LI Bin, ZHU Liwen. Effect of different pretreatment methods on extraction of Volatile components from citron peel[C]//Proceedings of the 11th China Fragrance and Fragrance Symposium. Shanghai: China Fragrance and Fragrance Cosmetics Industry Association, 2016:16-22.
- [12] 夏彬,马小攀,张明,宋俊蓉,潘卫东,林昌虎. 不同提取方法对芸香科柑橘属植物佛手和柠檬挥发性成分研究[J]. 中国食品添加剂,2018(4):66-73.
- XIA Bin, MA Xiaopan, ZHANG Ming, SONG Junrong, PAN Weidong, LIN Changhu. Different extractions methodson the volatile constituents of Rutaceae citrus bergamot and lemon[J]. China Food Additives, 2018(4): 66-73.
- [13] 贺红宇,朱永清,李敏,王自鹏,刘培,曾晓丹. 3种方法提取柠檬精油挥发性成分的差异[J]. 贵州农业科学,2018,46(2):124-128.
- HE Hongyu, ZHU Yongqing, LI Min, WANG Zipeng, LIU Pei, ZENG Xiaodan. Difference in volatile components of lemon essential oil extracted by three different methods[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2018, 46(2): 124-128.
- [14] 邓红梅,乐敏柔,王春. 不同方法提取的柠檬精油挥发性成分比较及其抑菌性研究[J]. 中国食品添加剂,2018(9):56-61.
- DENG Hongmei, LE Minrou, WANG Chun. Comparison of different extraction methods on volatile components and antimicrobial activities of lemon essential oil[J]. China Food Additives, 2018(9): 56-61.
- [15] 洪伟光,袁瑜贵,扎西罗布,张立永,央宗,郑丽霞,陈文胜. 香橼叶片和果实挥发性香气成分研究[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版),2022,40(4):73-80.
- XIAN Weiguang, YUAN Yugui, ZHAXILUOBU, ZHANG Liyong, YANG Zong, ZHENG Lixia, CHEN Wensheng. Study on volatile aroma components from *Citrus wilsonii* leave and fruit[J]. Journal of Foshan University (Natural Science Edition), 2022, 40(4): 73-80.
- [16] 尤桂春,林文忠,陈品品,武竞超,蔡锦玲,姚文,蓝波妙. 柠檬花精油挥发性成分的GC-MS分析[J]. 南方农业学报,2020, 51(12):3020-3029.
- YOU Guichun, LIN Wenzhong, CHEN Pinpin, WU Jingchao, CAI Jinling, YAO Wen, LAN Bomiao. Volatile components in essential oil of lemon flower by GC-MS[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(12): 3020-3029.
- [17] 李春秀,李勋兰,梁国鲁,向素琼,韩国辉. 不同成熟阶段柠檬果皮挥发物和酚类成分分析[J]. 食品科学,2022,43(4):215-224.
- LI Chunxiu, LI Xunlan, LIANG Guolu, XIANG Suqiong, HAN Guohui. Analysis of volatile components and phenols from peels of two lemon cultivars during fruit ripening[J]. Food Science, 2022, 43(4): 215-224.
- [18] 张海朋. 不同柑橘种类挥发性物质谱分析及相关基因挖掘和验证[D]. 武汉:华中农业大学,2019.
- ZHANG Haipeng. Volatile profiling of various citrus germplasms in combination with mining and characterization of volatile biosynthetic genes[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019.
- [19] YUN J, CUI C J, ZHANG S H, ZHU J J, PENG C Y, CAI H M, YANG X G, HOU R Y. Use of headspace GC/MS combined with chemometric analysis to identify the geographic origins of black tea[J]. Food Chemistry, 2021, 360: 130033.
- [20] 周如隽,赵雯琪,张越,张圣航. 基于GC-MS与GC-O法分析两种橘子油中特征性香气成分[J]. 香料香精化妆品,2021(3): 1-5.

- ZHOU Rujuan, ZHAO Wenqi, ZHANG Yue, ZHANG Shenghang. Study on characteristic aroma components in two tangerine oils by GC-MS and GC-O[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2021(3): 1-5.
- [21] 李丽,蒋景龙,胡佳乐,师一璇,黄佩,丁德宽.不同品种柑橘果皮精油关键香气物质筛选[J].食品工业科技,2023,44(24):259-269.
- LI Li, JIANG Jinglong, HU Jiale, SHI Yixuan, HUANG Pei, DING Dekuan. Screening of key aroma components in essential oils from *Citrus* peels of different cultivars[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(24):259-269.
- [22] 牛丽影,郁萌,刘夫国,李大婧,刘春泉.香橼精油的组成及香气活性成分的GC-MS-O分析[J].食品与发酵工业,2013,39(4):186-191.
- NIU Liying, YU Meng, LI Fuguo, LI Dajing, LIU Chunquan. Composition and aroma-active components determination of Xiangyuan (*Citrus wilsonii* Tanaka) essential oil by GC-MS-O[J]. Food and Fermentation Industries, 2013, 39(4): 186-191.
- [23] 陈婷婷.柑橘果实香气活性物质的确定及香气品质评价模型的建立[D].重庆:西南大学,2018.
- CHEN Tingting. Identification of aroma-active compounds and modeling of aroma quality evaluation of citrus fruits[D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [24] 王小柯,罗怿,郑乾明,林乾,韩秀梅,李金强,蔡永强,李文云.5个柠檬品种果皮挥发性物质差异分析[J].中国南方果树,2021,50(1):25-30.
- WANG Xiaoke, LUO Yi, ZHENG Qianming, LIN Qian, HAN Xiumei, LI Jinqiang, CAI Yongqiang, LI Wenyun. Analysis of difference on volatile substances in the peel of 5 lemon varieties[J]. South China Fruits, 2021, 50(1):25-30.
- [25] DI RAUSO SIMEONE G, DI MATTEO A, RAO M A, DI VAI C. Variations of peel essential oils during fruit ripening in four lemon [*Citrus limon* (L.) Burm. F.] cultivars[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(1):193-200.
- [26] 高歌,庞雪莉,刘海华,邹辉,廖小军.基于GC-MS-O香气成分分析和多元统计分析的柚子品种鉴别[J].中国食品学报,2020,20(5):283-292.
- GAO Ge, PANG Xueli, LIU Haihua, ZOU Hui, LIAO Xiaojun. Volatiles identification of pomelo based on GC-MS-O and multivariate statistical analysis[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(5):283-292.
- [27] 刘子记,刘维侠,牛玉,杨衍.绿色樱桃番茄果实挥发性风味物质分析[J].中国瓜菜,2022,35(1):37-41.
- LIU Ziji, LIU Weixia, NIU Yu, YANG Yan. Analysis of volatile flavor compounds in green cherry tomato fruit[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2022, 35(1):37-41.
- [28] 黄小忠,卢阳月,林远至,张旭湜,许丽萍,张曼.不同瓤色西瓜果肉挥发性物质检测与分析[J].中国瓜菜,2023,36(11):33-39.
- HUANG Xiaozhong, LU Yangyue, LIN Yuanzhi, ZHANG Xu-hao, XU Lifeng, ZHANG Man. Headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry analysis of volatile components of watermelon fruits with different flesh color[J]. China Cucurbits and Vegetables, 2023, 36(11):33-39.
- [29] 罗振玲,陈红波,林刚健,夏慧丽.浙江省4个产区红美人柑橘果皮中香气成分的测定及差异性分析[J].食品安全质量检测学报,2021,12(16):6674-6679.
- LUO Zhenling, CHEN Hongbo, LIN Gangjian, XIA Huili. Determination and comparative analysis of aroma components of Hongmeiren citrus peel from 4 producing areas in Zhejiang[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(16):6674-6679.
- [30] 徐丽红,赖金平,郭家乾,管冠.柑橘果实香气品质影响因素研究进展[J].赣南师范大学学报,2019,40(6):85-88.
- XU Lihong, LAI Jinping, GUO Jiaqian, GUAN Guan. Research progress on factors influencing *Citrus* fruit aroma and quality[J]. Journal of Gannan Normal University, 2019, 40(6):85-88.
- [31] 刘振.不同砧木对砂糖橘果肉香气的影响[D].广州:仲恺农业工程学院,2018.
- LIU Zhen. Effect of different rootstocks on the aroma of 'Shatangju' mandari[D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2018.
- [32] 彭思.品种、发育时期和贮藏方式对柠檬挥发性成分的影响[D].武汉:华中农业大学,2016.
- PENG Si. Effects of cultivar, ripening stages and storage methods on volatile components of lemon[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016.
- [33] 康明丽,潘思轶,范刚,王蕾娜.HS-SPME-GC-MS法测定不同成熟度蜜柑果汁挥发性成分[J].食品工业科技,2014,35(19):326-330.
- KANG Mingli, PAN Siyi, FAN Gang, WANG Leina. Changes of aroma compounds in *Satsuma* mandarin orange juice in different maturity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(19):326-330.