

转光膜对贝贝南瓜挥发性风味及代谢组学影响研究

邢维海¹, 彭冠², 谢秀兰¹, 杨悠悠^{1*}, 陈芳芳^{2*}

(1. 中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193; 2. 中国科学院赣江创新研究院, 赣州 341000)

摘要: **目的** 研究阴雨或光照不足情况下转光膜对贝贝南瓜挥发性风味物质及代谢产物的影响。**方法** 采用顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱法(headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)和高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(high performance liquid chromatography-quadrupole/time of flight-mass spectrometry, HPLC-Q/TOF-MS)对贝贝南瓜进行挥发性物质及非靶向代谢产物的测定。**结果** 转光膜栽培条件下, 贝贝南瓜的单位产量、 β -胡萝卜素及淀粉都有不同程度的增加; 在贝贝南瓜中共鉴定出 120 种挥发性化合物, 包括醇、醛、酮、酯及含硫、含氮等化合物; 代谢产物共鉴定到 453 个, 包括氨基酸、糖、脂质等化合物; 转光膜培育的贝贝南瓜中挥发性醛类、呋喃类及酮类化合物呈现上调趋势, 与磷脂类代谢产物呈现较显著正相关性。**结论** 本研究使用转光膜作为贝贝南瓜栽培方式优化技术, 不仅提高了产量, 避免阴雨天气造成的减产减收, 还通过对其挥发性风味物质及代谢产物的检测, 提供了进一步优化果实品质的基础数据。

关键词: 转光膜; 贝贝南瓜; 挥发性化合物; 代谢物

Study on the effects of light conversion film on volatile flavor and metabolomics of Beibei pumpkin

XING Wei-Hai¹, PENG Guan², XIE Xiu-Lan¹, YANG You-You^{1*}, CHEN Fang-Fang^{2*}

(1. Institute of Animal Science, China Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China;
2. Ganjiang Innovation Academy, Chinese Academy of Science, Ganjiang 341000, China)

ABSTRACT: Objective To study the effects of light conversion film on the volatile flavor substances and metabolites of Beibei pumpkin under rainy or insufficient light conditions. **Methods** Headspace-solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) and high performance liquid chromatography-quadrupole/time of flight-mass spectrometry (HPLC-Q/TOF-MS) were used to determine the volatile substances and non-targeted metabolites of Beibei pumpkin. **Results** The results showed that the unit yield, β -carotene and starch of Beibei pumpkin increased in different degrees under the condition of light conversion film cultivation. A total of 120 volatile

基金项目: 江西省“双千计划”项目(jxsq2020101046)、中国科学院重点部署项目(ZDRW-CN-2021-3)、中国科学院赣江创新研究院自主部署项目(E055A001)

Fund: Supported by the Jiangxi “Double Thousand Plan” (jxsq2020101046), the Key Research Program of the Chinese Academy of Sciences (ZDRW-CN-2021-3), and the Self-deployed Projects of Ganjiang Innovation Academy, Chinese Academy of Sciences (E055A001)

*通信作者: 杨悠悠, 博士, 副研究员, 主要研究方向为色谱质谱技术与功能成分分析。E-mail: yangyou229@126.com

陈芳芳, 博士, 研究员, 主要研究方向为转光材料及其应用。E-mail: ffchen@gia.cas.cn

*Corresponding author: YANG You-You, Ph.D, Associate Professor, Institute of Animal Science, China Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China. E-mail: yangyou229@126.com

CHEN Fang-Fang, Ph.D, Professor, Ganjiang Innovation Academy, Chinese Academy of Science, Ganjiang 341000, China. E-mail: ffchen@gia.cas.cn

compounds were identified in Beibei pumpkin, including alcohols, aldehydes, ketones, esters, sulfur-containing and nitrogen-containing compounds and so on. A total of 453 metabolites were identified, including amino acids, sugars, lipids and other compounds. The aldehydes, furans and ketones in pumpkins cultivated with light conversion film were up-regulated, positively correlated with the phospholipids content. **Conclusion** In this study, the use of light conversion film as an optimization technique for the cultivation of Beibei pumpkin not only increases the yield and avoids the reduction of yield and income caused by rainy weather, but also provides basic data for further optimization of fruit quality by detecting its volatile flavor substances and metabolites.

KEY WORDS: light conversion film; Beibei pumpkin; volatile compounds; metabolites

0 引言

贝贝南瓜肉质粉糯、口感香甜,且营养价值高,由此深受消费者喜爱,种植面积逐年扩大,不仅可以作为蔬菜烹饪,还可以作为主食代餐,逐渐成为增收致富的高价值农产品。近年多采用设施栽培方式进行生产培育,不仅利于防御自然危害,还可以保证食品安全和质量^[1-2]。越冬种植及阴雨天气会导致光照不足,影响作物生长发育,使用添加转光剂的转光膜,可以转换光质为更适宜植物生长的红橙光,解决开花到坐果期间光照不足问题,进一步提高作物对营养物质的吸收利用,促进作物生长及品质提升^[3-5]。例如刘杨等^[6]和高亚新等^[7]均在草莓和黄瓜的研究中得到转光膜对农作物植物学性状和营养品质指标的积极影响。

果实的挥发性风味物质能够反映果实的风味特点,是品质的重要指标,主要由醛、酯、酮、醇、烃、含氮以及含硫化合物组成^[8-10]。目前风味分析主要基于气相色谱-离子迁移谱法(gas chromatography-ion mobility spectrometry, GC-IMS)或质谱法(mass spectrometry, MS),实现复杂样品的分离分析^[11-12]。目前该技术已应用于大蒜、花椒及橙汁等农产品和食品的地理鉴定与质量评价^[13-15],结合统计学分析,对特征风味物质及其在加工过程中的变化情况进行了深入研究。例如陈敏敏等^[16]对来自中国和印度的 5 个南瓜品种进行了挥发性成分分析,共检出 68 种成分,以醛类和醇类为主,并确定了各品种的标志性风味物质,揭示了不同品种间的风味差异。风味物质组成及含量的影响因素十分复杂;陈华峰等^[17]论述了品种、生长时期以及环境对风味的代谢基础和调控机制方面的影响。

代谢组学是研究生物体小分子代谢产物(如氨基酸、脂质、有机酸和糖等)的方法。基于色谱质谱在灵敏度、分辨率及分析速度上的优势^[18],代谢组学在品质特征鉴定、食品安全性及真实性评估、加工贮运过程监控及产品溯源方面都有重要意义^[19-20]。代谢产物不仅是植物生长发育必不可少的基础物质,也是评价果实品质的重要指标^[21]。氨基酸、脂质和糖作为前体物质,通过进一步代谢或热加工生成醛、醇、酯、呋喃及吡嗪等挥发性物质,对风味的形成也起到重要作用^[22-23]。将代谢产物与风味化合物结合分

析,可全面地反映果实的质量和感官品质状况。

目前关于贝贝南瓜的主要研究集中于增产栽培、选种育种、植物学形状等方面,其风味及代谢组学仍未进行深入探究,本研究以转光膜对贝贝南瓜在阴雨天气或光照不足季节的补光效果为切入点,运用顶空-固相微萃取-气相色谱-质谱法(headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, HS-SPME-GC-MS)和高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱法(high performance liquid chromatography-quadrupole/time of flight-mass spectrometry, HPLC-Q/TOF-MS)等现代食品分析技术,对普通农用膜和转光膜种植条件下的贝贝南瓜进行分析,以期为贝贝南瓜的进一步品质提升提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

2-甲基-3-庚酮、C₇~C₄₀ 正构烷烃(色谱纯,美国 Sigma-Aldrich 公司)。

MK350S Premium 手持式分光光谱计(中国台湾 UPRtek 公司);固相微萃取 50/30 μm DVB/CAR/PDMS(美国 Supelco 公司);Q Exactive GC Orbitrap 气相色谱-静电场轨道阱高分辨质谱联用仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);6545 HPLC-Q/TOF-MS 液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用仪、VF-WAXms 毛细管柱(60 m×0.25 mm, 0.25 μm)(美国 Agilent 公司);BEH C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 1.7 μm)(美国 Waters 公司)。

1.2 实验设计

2021 年秋,在江西省赣州市大余县黄龙岗镇进行贝贝南瓜转光膜扣棚种植实验,共 4 个实验大棚,总面积为 4315×4=17260 m²。2022 年 2 月 11 日采收,实验设置普通农膜对照组(PN)及转光膜的实验组(PT)各两个大棚,除农膜外,其他实验条件均一致。

1.3 大棚内光谱测定

采用手持式分光光谱计,采用三脚架固定仪器且使其保持直立,在每块棚膜的中央处进行测定,为了尽量减少阳光背景干扰,选取阴天或者多云天气测定。

1.4 产量及营养成分实验方法

淀粉、维生素 C 及 β -胡萝卜素含量测定参考 GB 5009.9—2016《食品安全国家标准 食品中淀粉的测定》、GB 5009.86—2016《食品安全国家标准 食品中抗坏血酸的测定》及 GB 5009.83—2016《食品安全国家标准 食品中胡萝卜素的测定》中的方法。

1.5 HS-SPME-GC-MS 检测实验

1.5.1 样品前处理及固相萃取条件

采集的南瓜样品以实验室用水清洗干净, 切分为块状, 放入蒸笼蒸制 30 min 后, 取出自然冷却, 称取(3.000±0.0001) g 置于棕色顶空瓶, 加入 5 μ g/mL 2-甲基-3-庚酮甲醇溶液 10 μ L。55°C 孵化 20 min, 使用 DVB/CAR/PDMS (50/30 μ m, supelco) 纤维头 55°C 萃取 40 min, 自动进样器进样口解吸附 3 min。

1.5.2 色谱条件

气相色谱分离条件: 进样口温度 250°C; 不分流进样; 色谱柱: VF-WAXms 毛细管柱(60 m×0.25 mm, 0.25 μ m); 升温程序: 初始温度 40°C, 保持 2.0 min, 以 4°C/min 升温至 230°C, 保持 5 min; 传输线温度 250°C; 载气为高纯氮气(纯度>99.999%), 载气流速为 1 mL/min。

1.5.3 质谱条件

电子轰击(electron impact, EI)离子源, 电子能量 70 eV, 离子源温度 280°C; 传输线温度 250°C; 采用全扫描模式, 质量扫描范围为 30~400 (m/z)。

1.6 HPLC-Q/TOF-MS 检测实验

1.6.1 样品前处理

南瓜样品经冷冻干燥粉碎后, 称取 100 mg 至 EP 管中, 加入 4°C 预冷的 70% 甲醇水溶液 1 mL 提取水溶性代谢物, 涡旋 2 min, 放置过夜提取代谢物, 在 4°C、10000 r/min 条件下离心, 分别取上清液待测。

1.6.2 色谱条件

液相色谱柱 BEH C₁₈ (100 mm×2.1 mm, 1.7 μ m); 流速 0.3 mL/min; 进样体积 10 μ L; 流动相: A 相为 5 mmol 乙酸铵水溶液, B 相为 5 mmol 乙酸铵乙腈溶液; 洗脱梯度: 0~15 min, 5% B, 15~18 min, 95% B。

1.6.3 质谱条件

采集模式: Auto MS/MS; 干燥气温度: 250°C; 干燥气流速: 10 L/min; 鞘气温度: 350°C; 鞘气流速: 12 L/min; 碎裂电压: 120 V。

1.7 数据处理

所有实验均进行 3 次重复, 使用 Microsoft Excel 2019 对数据进行汇总统计, 用平均值表示, 结果使用 Metabo Analyst 5.0 在线进行主成分分析(principal component analysis, PCA)、偏最小二乘回归分析法(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA)及火山图(Volcano Plot)分析, SPSS 25.0 进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同农膜大棚光谱测定

由图 1 可知, 在太阳光照度较弱的天气中, 测试所得转光膜大棚在 600~700 nm 范围内(与植物叶绿素吸收光谱部分重合), 某些波长谱线(如 614 nm 附近)的辐照强度比普通膜大棚有所增强, 而此范围内光照的增强, 正好可以补充植物生长所需光照。

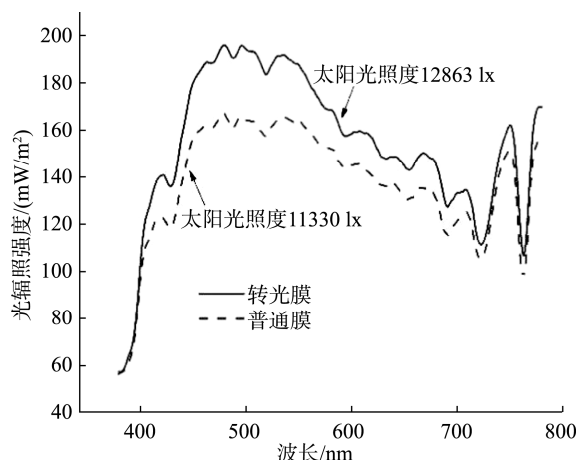


图 1 转光膜和普通膜大棚光谱对比

Fig.1 Spectral comparison of light conversion film and common film greenhouse

2.2 不同农膜的产量及营养成分

由表 1 可知, 在本研究中, PT 组的平均单位产量增长了 5.9%, 总产量增加 1140 kg; β -胡萝卜素由 PN 组的 1470 μ g/100 g 增加至 PT 组的 1920 μ g/100 g, 增长了 30.6%; 淀粉和维生素 C 也有一定程度的增加, 转光膜生产的贝贝南瓜在各项指标均优于普通农膜。

表 1 不同农用膜产量及营养成分

Table 1 Yield and nutrient composition of different agricultural films

处理	总产量 /kg	单位产量 /(kg/m^2)	β -胡萝卜素 /($\mu\text{g}/100\text{g}$)	淀粉 /($\text{g}/100\text{g}$)	维生素 C /($\text{mg}/100\text{g}$)
PN-1	10200	2.36	1470	15.5	33.2
PN-2	9600	2.22			
PT-1	10500	2.43	1920	16.2	33.8
PT-2	10440	2.42			

2.3 不同农用棚膜南瓜的挥发性风味化合物

2.3.1 挥发性风味化合物组成及含量

在 1.5 实验条件下将蒸煮南瓜进行 SPME-GC-MS 检测分析, 数据采用 TraceFinder 进行峰提取和解卷积, 并通过 NIST 2017 谱库和实验室自建库检索, 基于质谱图匹配度和保留指数(retention index, RI)匹配度对未知化合物进

行鉴定, 定性依据为质谱图匹配度大于 750 以及保留指数差值小于 50。其中, RI 以 C₇~C₄₀ 的正构烷烃在相同实验条件下计算得到。化合物含量采用内标法计算。南瓜样品中共鉴定出 120 种挥发性化合物(表 2), 包括烃类 20 种(其中芳香烃化合物 16 种)、醇类 18 种、酚类 3 种、醛类 30 种、酮类 20 种、酯类 7 种、含硫化合物 8 种、含氮化合物 7 种和其他 7 种。

表 2 两种栽培条件下贝贝南瓜风味化合物组成及含量
Table 2 Composition and content of flavor compounds in Beibei pumpkin under 2 kinds of cultivation conditions

序号	种类	化合物	CAS#	浓度/($\mu\text{g/g}$)	
				PT	PN
烃类					
1		双戊烯	138-86-3	0.00814	0.00640
2		环庚三烯	544-25-2	0.13407	0.14323
3		6,6-二甲基富烯	2175-91-9	4.38751	4.62680
4		贝壳杉烯	562-28-7	0.00161	0.00105
5		2-苯基-1-丙烯	98-83-9	0.03682	0.03028
6		2,4-二甲基苯乙烯	2234-20-0	0.00329	0.00313
7		反- β -乙基苯乙烯	1005-64-7	0.00429	0.00522
8		间二甲苯	108-38-3	1.47890	1.83974
9		均三甲苯	108-67-8	0.01900	0.01870
10		反-2-苯基-2-丁烯	768-00-3	0.00322	0.00391
11		4-异丙基甲苯	99-87-6	0.03513	0.02715
12		苯乙烯	100-42-5	0.01439	0.01302
13		苯	71-43-2	0.04789	0.07467
14		乙基苯	100-41-4	1.44725	1.52332
15		联三甲苯	526-73-8	0.01675	0.01691
16		1,3-二叔丁基苯	1014-60-4	0.01224	0.03471
17		1-乙基-2,4-二甲基苯	874-41-9	0.00928	0.00940
18		1,2,3,5-四甲基苯	527-53-7	0.00445	0.00523
19		1-乙基-2-甲基苯	611-14-3	0.05519	0.05181
20		邻二甲苯	95-47-6	4.03925	4.29664
醇类					
21		邻甲基苯醇	89-95-2	0.00323	0.00322
22		2-丙基-1-戊醇	58175-57-8	0.12485	0.13961
23		异戊烯醇	556-82-1	0.03300	0.03706
24		反,顺-3,6-壬二烯-1-醇	56805-23-3	0.06313	0.04144
25		3-辛醇	589-98-0	0.01772	0.01820
26		2-庚醇	543-49-7	0.01341	0.01778
27		1-辛烯-3-醇	53907-72-5	0.17803	0.20743
28		1-己醇	111-27-3	0.54937	0.58512
29		十二醇	112-53-8	0.00376	0.00234
30		叶醇	928-96-1	0.15540	0.24239
31		顺-3-壬烯醇	31502-19-9	0.20224	0.08403

表 2(续)

序号	种类	化合物	CAS#	浓度/($\mu\text{g/g}$)	
				PT	PN
32		顺-6-壬烯醇	35854-86-5	0.03266	0.01916
33		4-甲基-苾醇	589-18-4	0.00338	0.00341
34		苯甲醇	100-51-6	0.03255	0.03863
35		苯乙醇	60-12-8	0.01377	0.01460
36		苏合香醇	98-85-1	0.00244	0.00430
37		桉叶油醇	470-82-6	0.02483	0.00736
38		雪松醇	77-53-2	0.00334	0.00247
酚类					
39		2,4-二叔丁基苯酚	96-76-4	0.10288	0.11904
40		苯酚	108-95-2	0.01714	0.01569
41		间甲酚	108-39-4	0.44616	0.42089
醛类					
42		己醛	66-25-1	0.27100	0.34994
43		顺-4-庚醛	6728-31-0	0.05458	0.06124
44		反-2-戊烯醛	1576-87-0	0.26585	0.07256
45		辛醛	124-13-0	0.06638	0.04799
46		壬醛	124-19-6	0.66687	0.58183
47		癸醛	112-31-2	0.02456	0.02459
48		反,反-壬-2,4-二烯醛	5910-87-2	0.03197	0.00692
49		反-2-庚烯醛	18829-55-5	0.10801	0.02188
50		2-辛烯醛	2363-89-5	0.03969	0.01408
51		反-2-壬烯醛	18829-56-6	0.06546	0.03300
52		反,反-2,4-癸二烯醛	25152-84-5	0.01869	0.00465
53		反-2-己烯醛	6728-26-3	0.14281	0.39665
54		反-柠檬醛	141-27-5	0.00585	0.00403
55		反,反-2,4-庚二烯醛	4313-03-5	0.61393	0.23422
56		反-2-十一烯醛	53448-07-0	0.00303	0.00147
57		庚醛	111-71-7	0.20037	0.17590
58		反-2-癸烯醛	3913-81-3	0.00556	0.00248
59		3-甲基-2-丁烯醛	107-86-8	0.03118	0.03874
60		反,反-2,6-壬二醛	17587-33-6	0.05475	0.05555
61		β -环柠檬醛	432-25-7	0.54639	0.09996
62		4-乙基苯甲醛	4748-78-1	0.00567	0.00596
63		2-甲基苯甲醛	529-20-4	0.00234	0.00263
64		苯甲醛	100-52-7	2.89528	0.64886
65		苯乙醛	122-78-1	0.00568	0.02159
66		2,4-二甲基苯甲醛	15764-16-6	0.00205	0.00118
67		对甲基苯甲醛	104-87-0	0.00662	0.00585
68		3,4-二甲基苯甲醛	5973-71-7	0.00859	0.00721
69		藏红花醛	116-26-7	0.03145	0.03361
70		α -环柠檬醛	432-24-6	0.00829	0.00414
71		5-乙基-1-环戊烯-1-甲醛	36431-60-4	0.04406	0.01109

表 2(续)

序号	种类	化合物	CAS#	浓度/($\mu\text{g/g}$)	
				PT	PN
酮类					
72		β -二氢紫罗兰酮	17283-81-7	0.00511	0.00183
73		3-壬酮	925-78-0	0.01239	0.01151
74		2-癸酮	693-54-9	0.00391	0.00509
75		6-甲基-2 庚酮	928-68-7	0.01881	0.00459
76		3-十一酮	2216-87-7	0.01164	0.01166
77		3-辛酮	106-68-3	0.01126	0.01215
78		6-甲基-5-庚烯-2-酮	110-93-0	0.10504	0.06846
79		橙化基丙酮	3879-26-3	0.00766	0.00428
80		3-辛烯-2-酮	1669-44-9	0.00870	0.00145
81		α -紫罗兰酮	127-41-3	0.19491	0.04200
82		β -紫罗兰酮	79-77-6	0.24615	0.03508
83		乙偶姻	513-86-0	0.04108	0.02961
84		2,5-辛二酮	3214-41-3	0.21659	0.06745
85		β -异佛尔酮	471-01-2	0.00917	0.00509
86		异佛尔酮	78-59-1	0.03708	0.02628
87		2,6-二(叔丁基)-4-羟基-4-甲基-2,5-环己二烯-1-酮	10396-80-2	0.80897	0.54944
88		4-氧代异佛尔酮	1125-21-9	0.51982	0.20146
89		4-甲基苯乙酮	122-00-9	0.00590	0.00388
90		3-乙基-4-甲基-吡咯-2,5-二酮	20189-42-8	0.07805	0.05152
91		环氧紫罗兰酮	23267-57-4	0.29115	0.07145
酯类					
92		棕榈酸甲酯	112-39-0	0.00497	0.00333
93		肉豆蔻酸甲酯	124-10-7	0.00066	0.00070
94		乙酸异龙脑酯	125-12-2	0.00586	0.01548
95		油酸甲酯	112-62-9	0.00067	0.00081
96		二氢猕猴桃内酯	15356-74-8	0.05821	0.01676
97		丙位壬内酯	104-61-0	0.01098	0.00461
98		丙二酸二乙酯	126-73-8	0.02098	0.00744
含硫化物					
99		二甲基亚砷	67-68-5	0.00339	0.00558
100		5-甲基-2-噻吩甲醛	13679-70-4	0.00537	0.00117
101		2-戊基噻吩	4861-58-9	0.00729	0.00438
102		2-噻吩甲醛	98-03-3	0.06948	0.06063
103		二硫化碳	75-15-0	0.07677	0.27720
104		3-甲硫基丙醛	3268-49-3	0.05012	0.04422
105		噻唑	288-47-1	0.01272	0.00993
106		苯并噻唑	95-16-9	0.01049	0.00873

表 2(续)

序号	种类	化合物	CAS#	浓度/($\mu\text{g/g}$)	
				PT	PN
含氮化合物					
107		吡嗪	290-37-9	0.03085	0.01930
108		2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪	24168-70-5	0.02891	0.00105
109		2-甲基吡嗪	109-08-0	0.01443	0.01136
110		2,6-二乙基吡啶	935-28-4	0.02105	0.01896
111		2-乙基吡啶	100-71-0	0.01321	0.00440
112		N,N-二丁基甲酰胺	761-65-9	0.01709	0.00981
113		N,N-二乙基甲酰胺	617-84-5	0.00534	0.00217
其他					
114		己酸	142-62-1	0.00427	0.00414
115		2-戊基-咪喃	3777-69-3	1.73632	0.46292
116		2-丁酮基-5-甲基咪喃	90673-55-5	0.01094	0.00232
117		1-甲基萘	90-12-0	0.00633	0.00703
118		萘	91-20-3	0.02835	0.03422
119		反-2-(2-戊烯基)-咪喃	70424-14-5	0.02136	0.01007
120		2,4,6-三甲基苯甲醚	4028-66-4	0.11611	0.02534

2.3.2 挥发性风味化合物差异性分析

为进一步确定风味化合物对两组南瓜总体风味的影响, 对表 2 中定性的化合物进行无监督下的 PCA, 这是一种可以对大量相关数据进行降维分析的多变量统计方法。图 2a 显示了 PCA 得分图, 两种主成分 PC-1 为 93.5%、PC-2 为 3.6%, 总变量达到了 97.1%, 表征了原始数据的大部分信息, 且由图 2a 可知两组南瓜之间差异显著。基于有监督模式的 PLS-DA 及变量投影重要性(variable importance in project, VIP), 确定各样品间的差异化合物, 如图 2b 所示。前两个变量分别占到总变量的 93.5%和 3.3%, 可以直接反映样本间的差异性, 且差异越大, 样本在 PLS-DA 得分图中的相对位置就越远, 两组南瓜的分离情况也符合 PCA 的分析结果, 相互印证下, 表明样本分离程度较好。通过计算 VIP 得分(图 2c)来评估每个化合物对样本分类和判别的影响强度, VIP 分数越大, 则组间风味成分的差异越大。在本研究中, 筛选到 VIP 得分大于 1 的化合物共 7 个, 分别是苯甲醛、2-戊基咪喃、 β -环柠檬醛、反,反-2,4-庚二烯醛、邻二甲苯、4-氧代异佛尔酮、6,6-二甲基富烯。基于火山图分析($FC \geq 2, P \leq 0.05$), 确定了 PT 组与 PN 组之间差异化合物的种类及变化趋势。相较于对照 PN 组, 实验 PT 组有 34 个上调化合物, 3 个下调化合物, 见表 3。上调化合物主要为醛类、酮类、咪喃类和含硫化物等, 这些化合物普遍阈值较低, 且带有香气, 如反,反-2,4-壬二烯醛有花果香气, 共同影响了南瓜的整体风味形成。其中醛类、酮类和咪喃类多为脂质氧化降解产物^[24], 含硫化物则为含硫氨基酸等通过美拉德反应以及 Strecker 降解反应等生成^[25-26]。

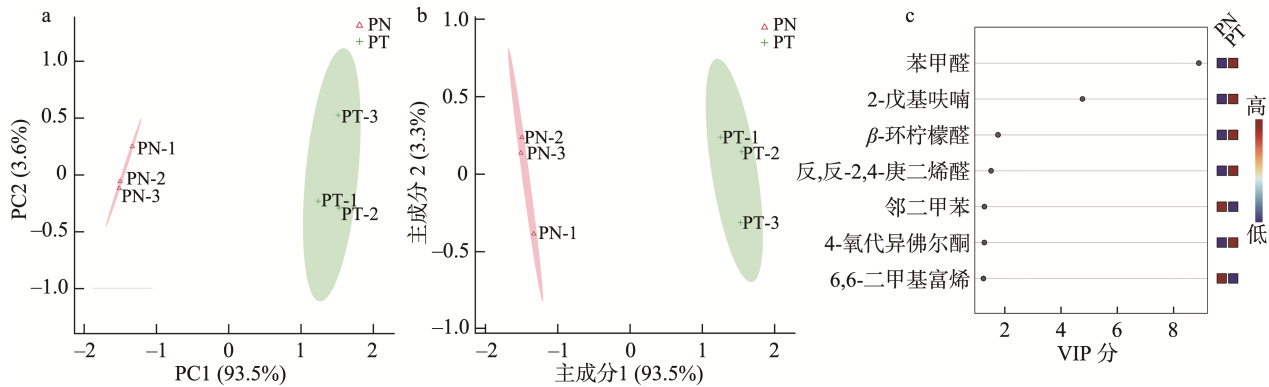


图 2 挥发性化合物的 PCA、PLS-DA、VIP 图
Fig.2 PCA, PLS-DA and VIP plots of volatile compounds

表 3 两组南瓜风味物质火山图差异化化合物
Table 3 Two groups of pumpkin flavor compounds with volcano map differences

下调	上调
(E)-2-己烯醛、苯乙醛、1,3-二叔丁基苯	2-甲氧基-3-仲丁基吡嗪、二氢猕猴桃内酯、苯并呋喃酮、反-2-戊烯醛、反,反-2,4-壬二烯醛、2-丁酮基-5-甲基呋喃、2-乙基吡啶、5-乙基-1-环戊烯-1-甲醛、2-戊基呋喃、苯甲醛、环氧紫罗兰酮、丙位壬内酯、β-环柠檬醛、β-紫罗兰酮、反,反-2,4-癸二烯醛、反,反-2,4-庚二烯醛、2,4,6-三甲苯甲醚、α-环柠檬醛、(E)-2-庚烯醛、α-紫罗酮、反-2-癸烯醛、2-辛醛、顺-3-壬烯醇、反-2-(2-戊烯基)呋喃、5-甲基-2-噻吩甲醛、3-辛烯-2-酮、4-氧代异佛尔酮、反-2-壬醛、反-2-十一烯醛、β-二氢紫罗兰酮、2,5-辛二酮、桉叶油醇、6-甲基-2-庚酮、丙二酸二乙酯

2.4 不同农用棚膜南瓜的代谢产物组成及差异分析

在 1.6 实验条件下进行 HPLC-Q/TOF-MS 检测分析, 共检出 453 个化合物, 其中正模式检出 217 个化合物, 负模式检出 236 个化合物, 包括氨基酸及其衍生物、核苷酸及其衍生物、有机酸、糖类、醇类、脂类等代谢物。将两组南瓜代谢产物进行 PCA, 主成分 PC-1 和 PC-2 分别为 63.1%和 14.6%, 总变量达到了 77.7%, 可表征原始数据的大部分信息, 如图 3a 所示, 两组南瓜差异明显。运用有监督模式的 PLS-DA 及 VIP, 在图 3b 中, 前两个变量分别占到总变量的 63.0%和

11.7%, 其结果与 PCA 相似。通过计算 VIP 得分(图 3c)来评估每个化合物对样本分类和判别的影响强度, 在本研究中, 筛选到 VIP 得分大于 1 的化合物共 50 个, 排在前十的分别是 DG (22:6/20:5)、PA (18:1/18:1)、DG (20:4/22:6)、PA (18:0/20:5)、11,12,13-trihydroxy-9-octadecenoic acid、PI (22:1/12:0)、PA (14:1/22:2)、eudesobovitol A、halstoctacosanolide A、(±)9-HODE。基于火山图分析($FC \geq 2, P \leq 0.05$), 相较于对照 PN 组, 实验 PT 组中有 20 个上调化合物, 35 个下调化合物, 分别涉及氨基酸、有机酸、磷脂等化合物, 具体见表 4。

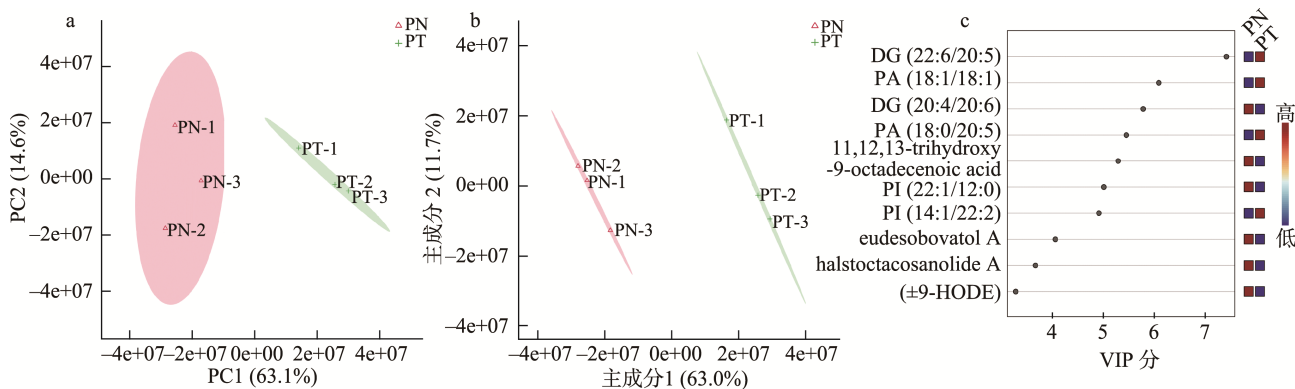


图 3 代谢产物 PCA、PLS-DA、VIP 图
Fig.3 PCA, PLS-DA and VIP plots of metabolites

表 4 两组南瓜代谢物火山图差异化合物
Table 4 Two groups of pumpkin metabolites with volcano map differences

下调	上调
11,13-dihydrotaraxinic acid glucosyl ester、penciclovir、 9S,10S,11R-trihydroxy-12Z-octadecenoic acid、N-jasmonoylisoleucine、ginsenoside Rh4、N-(1-deoxy-1-fructosyl)isoleucine、8-HpODE、dimethomorph、[7]-paradol、 1-naphthylacetylspermine、(Z)-N-(2-hydroxyethyl)hexadec-7-enamide、 gingerglycolipid C、terminaline、MG (18:1/0/0/0)、PE-NMe2 (16:0/16:0)、 3-cis-hydroxy-b,e-caroten-3'-one、2-hydroxy pelargonic acid、Glu Trp Glu、 kaempferol 4'-methyl ether 3-(2glc-glucosylrutinoside)、luteolin 3'-methyl ether 7,4'-diglucoside、2,4-dichlorophenoxyacetic acid、11,12,13-trihydroxy-9-octadecenoic acid、PE-Cer (d15:2/18:0(2OH))、2,3-dihydroxy stearic acid、(\pm)9-HODE、 mayolene-16、PG (18:0/0:0)、montecristin、erythrasinate A、palmityl linoleate、 sorbitan palmitate、PI (22:2/14:1)、PA (22:2/15:0)、PI (22:4/20:1)、PE (20:0/22:6)	(3b,6b,8a,12a)-8,12-epoxy-7(11)-eremophilene-6,8, 12-trimethoxy-3-ol、arnamiol、tetranor-PGF1alpha、 PA (18:1/20:5)、PA (14:0/22:6)、8Z-heptadecenoic acid、PA (22:6/15:0)、alpha-licanic acid、PG (18:3/18:3)、PA (14:1/22:2)、PE (17:2/22:4)、PA (20:3/0:0)、11beta-hydroxy-5beta-cholan-24-oic acid、PI (18:3/18:3)、PA (20:3/15:0)、PC (20:5/12:0)、PA (16:0/20:5)、PE (20:2/15:1)、PE (18:3/0:0)、benzyl b-L-arabinopyranoside

2.5 南瓜风味物质与代谢产物相关性分析

代谢产物的变化可能引起风味物质的特征变化,为观察代谢产物与风味形成之间可能存在的相互关系,将风味物质与代谢产物中 VIP>1 以及火山图上调和下调的化合物分别进行 K-S 检验后筛除不符合条件的化合物,分别使用 Pearson 相关性分析进行数据处理, $P<0.05$ 为相关性显著。VIP>1 的风味化合物共 7 个,代谢产物共 50 个,运用 K-S 检验,有 1 个风味化合物和 7 个代谢产物不符合正态分布,不适用 Pearson 相关性分析,将其剔除后对剩余化合物进行相关性分析;上调的风味化合物共 34 个、代谢产物共 20 个,下调的风味化合物共 3 个、代谢产物共 35 个,运用 K-S 检验,全部符合正态分布,均可进行 Pearson 相关性分析。结果显示,风味化合物中,醛、醇类物质数量较多,其多数与代谢产物中大量存在的脂质化合物相关性显著,不饱和醛类通常是由含有不饱和脂肪酸的脂质氧化代谢产生,在本研究中也发现相同的趋势,上调的风味化合物及代谢产物中,不饱和醛与带有不饱和脂肪酸的脂质呈现正相关,如反,反-2,4-壬二烯醛与 PG (18:3/18:3)、PI (18:3/18:3)等含有亚麻酸的脂质,而亚油酸相关化合物的典型氧化产物是己醛、2-辛醛和 1-辛烯-3-醇^[27]; 2-戊基呋喃与脂质之间的关系很密切,与 n-6 脂肪酸呈显著正相关^[28]。

3 结论

本研究中贝贝南瓜的栽培期处于中国南方冬季,由于气温持续较低,加之阴雨天气连续不断,造成南瓜的整体产量较低,但转光膜模式下产量及 β -胡萝卜素仍明显高于普通农用膜的效果。这得益于转光膜起到的特殊作用,可以将太阳光中植物不能吸收的紫外光或者阴雨天中仍然存在的紫外线转化为适宜光合作用及叶绿素吸收的红橙光,通过生长素、赤霉素等激素水平实现植物体的调节^[29]。根据 LI 等^[30]对叶菜类在转光膜影响下生

长发育所监测到的数据发现,转光膜提高了大棚内空气及土壤温度、光合有效辐射和 CO_2 浓度,结果表明温度每升高 1°C 产量可增加 1.008 kg,其中光合有效辐射的大幅度提升,对于作物产量及品质的积极影响十分明显,维生素 C 和可溶性蛋白含量都有增加。 CO_2 浓度的提升保障了植物固定 CO_2 的原料稳定,在拟南芥的研究中^[31],转光膜强烈的促进了其叶片的扩张,使 CO_2 同化的效率提高了 37.7%,加速了生物量的积累,从而引起其他代谢过程的改变。

对本研究中代谢产物及挥发性化合物数据进行统计学分析,代谢产物 PCA 得到主成分总变量为 77.7%,挥发性化合物得到主成分总变量为 97.1%,均具有代表意义并实现不同样品有效区分,在 VIP 分析中得到主要的代谢差异化合物有 50 个,挥发性差异化合物有 7 个,其中具有特有香味的苯甲醛、2-正戊基呋喃、 β -环柠檬醛、反,反-2,4-庚二烯醛、4-氧代异佛尔酮在 PT 组中含量较高,邻二甲苯及带有不愉快气味的 6,6-二甲基富烯在 PN 组中存在较高。在火山图分析数据中得到,上调的代谢产物多为磷脂类物质,其主要的降解产物为挥发性醛类,其阈值相对较低,大多体现为脂肪香味,这可能是转光膜培养的贝贝南瓜具有较浓郁香味的主要原因。由此,本研究对使用转光膜和普通农用膜进行栽培的贝贝南瓜在检测挥发性物质和代谢产物的基础上进行综合分析,得到不同栽培方式下挥发性物质及代谢产物的信息,并通过 PCA 等统计学分析得到其差异化合物情况,为使用转光膜进一步优化栽培技术及果实风味提升提供了基础数据。

参考文献

- [1] 马坤, 苗辰, 龚静, 等. 迷你南瓜花粉生活力的鉴定及最佳授粉时间的检测[J/OL]. 分子植物育种: 1-10. [2023-03-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220628.0845.002.html>
- MA K, MIAO C, GONG J, et al. Identification of pollen activity and

- detection of optimal pollination time of mini pumpkin (*cucurbita*) [J/OL]. *Mol Plant Breeding*: 1–10. [2023-03-15]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220628.0845.002.html>
- [2] 刘宝敬, 周庆强. 山东地区“贝贝”南瓜大棚高效栽培技术[J]. *北方园艺*, 2021, (3): 171–174.
- LIU BJ, ZHOU QQ. High efficiency cultivation techniques of ‘Beibe’ Pumpkin in greenhouse in Shandong Province [J]. *North Hortic*, 2021, (3): 171–174.
- [3] 路芳, 麦裕良, 史华红. 含饱和配位铈(III)配合物转光膜的制备及其性能研究[J]. *塑料科技*, 2018, 46(7): 76–80.
- LU F, MAI YL, SHI HH. Preparation and performance of light conversion film containing saturable coordination complexes of europium(III) [J]. *Plast Sci Technol*, 2018, 46(7): 76–80.
- [4] 寇尔丰, 邓沛生, 宋世威, 等. 转光膜在设施园艺生产中应用的研究进展[J]. *北方园艺*, 2018, (1): 155–159.
- KOU ERF, DENG PS, SONG SW, *et al.* Research progress on spectrum conversion film application in facility production [J]. *North Hortic*, 2018, (1): 155–159.
- [5] JIANG YP, YAN CP, ZHANG H, *et al.* Biodegradable polylactide/rare earth complexes in light conversion agricultural films [J]. *Coatings*, 2021, 11(2): 139.
- [6] 刘杨, 刘琪, 卫慧波, 等. 转光膜对草莓生长及品质的影响[J]. *中国蔬菜*, 2019, (9): 62–68.
- LIU Y, LIU Q, WEI HB, *et al.* Effects of light conversion film on growth and quality of strawberry [J]. *China Veget*, 2019, (9): 62–68.
- [7] 高亚新, 李恭峰, 马万成, 等. 新型稀土转光膜对日光温室黄瓜生长发育及产量的影响[J]. *河北农业大学学报*, 2022, 45(3): 56–62.
- GAO YX, LI GF, MA WC, *et al.* Effects of new rare earth light conversion film on growth, development and yield of cucumber in solar greenhouse [J]. *J Hebei Agric Univ*, 2022, 45(3): 56–62.
- [8] SHENG XF, HUANG MZ, LI TT, *et al.* Characterization of aroma compounds in *Rosa roxburghii* Tratt using solvent-assisted flavor evaporation headspace-solid phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry [J]. *Food Chem*, 2023, 1: 18.
- [9] METRANI R, SINGH J, JAYAPRAKASHA GK, *et al.* Multi-location evaluation of cantaloupe (*Cucumis melo* L.) cultivars for their aroma and flavor related volatile composition using a metabolomics approach [J]. *Food Chem Adv*, 2023, 1: 2.
- [10] ZHAO YX, CHEN YC, GAO M, *et al.* Comparative investigation of key aroma terpenoids of *Litsea cubeba* essential oil by sensory, chromatographic, spectral and molecular studies [J]. *LWT*, 2023, 1: 176.
- [11] GAO LL, ZHANG LH, LIU J, *et al.* Analysis of the volatile flavor compounds of pomegranate seeds at different processing temperatures by GC-IMS [J]. *Molecules*, 2023, 28: 2717.
- [12] YU MG, LI T, SONG HL. Characterization of key aroma-active compounds in four commercial oyster sauce by SGC/GC×GC-O-MS, AEDA, and OAV [J]. *J Food Comp Anal*, 2022, 107: 104368.
- [13] MI S, ZHANG XN, WANG YH, *et al.* Geographical discrimination and authentication of Chinese garlic based on multi-element, volatile and metabolomics profiling combined with chemometrics [J]. *Food Control*, 2021. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.108328
- [14] FENG XY, WANG HW, WANG ZR, *et al.* Discrimination and characterization of the volatile organic compounds in eight kinds of Huajiao with geographical indication of China using electronic nose, HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS [J]. *Food Chem*, 2022, 1: 375.
- [15] SUN RX, XING RR, ZHANG JK, *et al.* Authentication and quality evaluation of not from concentrate and from concentrate orange juice by HS-SPME-GC-MS coupled with chemometrics [J]. *LWT*, 2022, 1: 162.
- [16] 陈敏氨, 王彬, 刘建汀, 等. 南瓜 5 个品种果肉的挥发性成分分析[J]. *热带亚热带植物学报*, 2020, 28(6): 633–643.
- CHEN MD, WANG B, LIU JT, *et al.* Volatile components in flesh of five pumpkin varieties [J]. *J Trop Subtrop Botany*, 2020, 28(6): 633–643.
- [17] 陈华峰, 唐玉情, 潘亚婕, 等. 果实风味的代谢基础及其调控机制研究进展[J]. *植物研究*, 2021, 41(3): 474–480.
- CHEN HF, TANG YQ, PAN YJ, *et al.* Progress on the metabolic basis and regulation mechanism of fruit flavor [J]. *Bull Bot Res*, 2021, 41(3): 474–480.
- [18] 李璞钰, 剧柠, 罗玉龙, 等. 基于 UPLC-Q-TOF-MS 技术分析原料乳冷藏过程中脂类代谢组学[J]. *食品科学*, 2021, 42(20): 120–127.
- LI PY, JU N, LUO YL, *et al.* Lipidomic analysis of raw milk during refrigerated storage using ultra-high performance liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2021, 42(20): 120–127.
- [19] 赵丹, 杜仁鹏, 刘鹏飞, 等. 代谢组学技术在植物源性食品研究中的应用研究进展[J]. *食品科学*, 2015, 36(3): 212–216.
- ZHAO D, DU RP, LIU PF, *et al.* A review of applications of metabolomics techniques in plant-derived food research [J]. *Food Sci*, 2015, 36(3): 212–216.
- [20] LIOUPI A, MARINAKI M, VIRGILIOU C, *et al.* Probing the polar metabolome by UHPLC-MS [J]. *Trend Anal Chem*, 2023, 1: 161.
- [21] 张琴, 黄世安, 林欣, 等. 基于 UPLC-MS/MS 的 3 个李品种果实初生代谢物分析[J]. *食品科学*, 2022, 43(16): 226–234.
- ZHANG Q, HUANG SAN, LIN X, *et al.* Analysis of primary metabolites in three plum varieties using ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2022, 43(16): 226–234.
- [22] 王博, 李昕昕, 李经纬, 等. 采后苯并噻重氮处理对‘玉金香’甜瓜氨基酸代谢酯类香气物质及其代谢机理的影响[J]. *食品科学*, 2018, 39(17): 212–220.
- WANG B, LI JX, LI JW, *et al.* Effect of postharvest benzothiadiazole treatment on aroma esters derived from amino acid metabolism and metabolic mechanism in ‘Yujinxiang’ melon [J]. *Food Sci*, 2018, 39(17):

- 212–220.
- [23] 李芋萱, 曾凯芳, 王宝刚, 等. 不同处理对采后果实糖代谢过程影响研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(5): 283–288.
- LI YX, ZENG KF, WANG BG, *et al.* Advances in regulation of sugar metabolism in postharvest fruits by different treatments [J]. Food Sci, 2015, 36(5): 283–288.
- [24] CHU YM, DING ZY, WANG JF, *et al.* Exploration of the evolution and production of volatile compounds in grouper (*Epinephelus coioides*) during cold storage [J]. Food Biosci, 2023, 1: 52.
- [25] STAROWICZ Z. How Maillard reaction influences sensorial properties (color, flavor and texture) of food products? [J]. Food Rev Int, 2019. DOI: 10.1080/87559129.2019.1600538
- [26] SHAKOOR A, ZHANG CP, XIE JC, *et al.* Maillard reaction chemistry in formation of critical intermediates and flavour compounds and their antioxidant properties [J]. Food Chem, 2022, 1: 393.
- [27] LIU XJ, WANG YL, LIU L, *et al.* Potential regulation of linoleic acid and volatile organic compound contents in meat of chickens by PLCD1 [J]. J Integr Agric, 2023, 22(1): 13.
- [28] 张迪, 吉宏武, 陈浩, 等. 脂质对凡纳滨对虾热风干制品香气特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 189–196.
- ZHANG D, JI HW, CHEN H, *et al.* Effect of lipids on the aroma attributes of hot-air-dried shrimp (*Penaeus vannamei*) [J]. Food Ferment Ind, 2021, 47(7): 189–196.
- [29] MIEKE DW, VINICIUS CG, CHRISTIAN F. Light-mediated hormonal regulation of plant growth and development [J]. Annu Rev Plant Biol, 2016, 67(1): 902.
- [30] LI JJ, ZHANGZHONG LL, ZHANG X, *et al.* Effects of light conversion film on the growth of leafy vegetables in facilities under haze weather [J]. Agronomy, 2022, 12(10): 1–5.
- [31] LI Y, TU WF, LIU C, *et al.* Light conversion film promotes CO₂ assimilation by increasing cyclic electron flow around photosystem I in *Arabidopsis thaliana* [J]. Int J Hydrogen Energy, 2017, 42(12): 1–6.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介

邢维海, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: oceanxwh@foxmail.com

杨悠悠, 博士, 副研究员, 主要研究方向为质谱质谱技术与功能成分分析。

E-mail: yangyou229@126.com

陈芳芳, 博士, 研究员, 主要研究方向为转光材料及其应用。

E-mail: ffchen@gia.cas.cn