

基于广泛靶向代谢组学分析不同成熟度桂葡萄柚 1 号果肉成分差异

刘福平, 廖惠红*, 王 茜, 陈东奎, 韦持章, 黄宏明, 黄其椿, 汪妮娜

广西壮族自治区农业科学院园艺研究所/农业农村部南宁南亚热带果树科学观测实验站/国家种质资源武鸣观测实验站/广西柑橘黄龙病防控工程技术研究中心, 广西南宁 530007

摘 要: 广西种植的桂葡萄柚 1 号葡萄柚丰产、稳产性好, 其果肉多汁、酸甜适宜。为了解其不同成熟度果肉成分差异, 测定其不同成熟度果肉广泛靶向代谢组, 筛选差异代谢物并进行代谢通路分析。结果显示: 从桂葡萄柚 1 号中共检测到 529 种代谢物, 其中黄酮 159 种, 氨基酸及其衍生物和酚酸类各 64 种, 其他类包含糖、醇类和维生素共 53 种, 脂质 51 种, 木脂素和香豆素 40 种, 核苷酸及其衍生物 34 种, 生物碱 29 种, 有机酸 28 种, 萜类 5 种, 鞣质 2 种。不同成熟度果肉差异代谢物主要有黄酮、酚酸类、氨基酸及其衍生物、脂质、木脂素和香豆素, 且大多下调。随着果实成熟度上升, 下调的酚酸、氨基酸及其衍生物、脂质等种类增加, 且大部分呈持续下调趋势; 大部分下调黄酮的相对含量在果实成熟初期大幅下降, 到果实成熟后期又有增加趋势, 下调黄酮种类先增加后减少, 在果实成熟中期最多; 辛弗林、亚精胺、甜菜苷、诺米林酸、(-)-莽草酸的相对含量持续降低; 柠檬苦素的相对含量在果实成熟初期增加, 在成熟中后期显著下调。在果实成熟初期, 差异代谢物富集最显著的是类黄酮生物合成通路, 但在整个成熟过程中, 差异代谢物富集最显著的是苯丙烷生物合成通路。G₂ 果实口感最佳, 可溶性固形物达 12%, 固酸比为 23.24, 适宜鲜食, 但该时期咖啡酸、阿魏酸等酚酸类物质, 以及异槲皮苷、金丝桃苷等黄酮显著下降。研究表明, 桂葡萄柚 1 号果肉代谢物种类多、营养和功能成分丰富, 鲜食适宜采摘时间为 10 月下旬至 12 月上旬, 用于保健或药用的果实应根据功效需求提前采摘。该研究为桂葡萄柚 1 号葡萄柚的营养及功能成分研究提供一定的理论基础, 为不同用途的果实最佳采摘成熟度提供参考。

关键词: 桂葡萄柚 1 号; 成熟度; 代谢组学; 果肉成分; 果实品质

中图分类号: S666.3 文献标志码: A

Differential Analysis of Flesh Compounds of Grapefruit of Guipuyou No. 1 at Different Maturation Stages Based on Widely Targeted Metabolomics

LIU Fuping, LIAO Huihong*, WANG Xi, CHEN Dongkui, WEI Chizhang, HUANG Hongming, HUANG Qichun, WANG Nina

Horticulture Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences / Nanning South Subtropical Fruit Tree Scientific Observation Experimental Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / National Germplasm Resources Observation Experiment Station in Wuming / Guangxi Engineering Technology Research Center of Citrus Huanglongbing Prevention and Control, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract: Grapefruit of Guipuyou No. 1 planted in Guangxi has high and stable yield, and the flesh is juicy, suitably acidic and sweet. The widely targeted metabolisms of flesh was determined, the differential metabolites were screened

收稿日期 2024-05-09; 修回日期 2024-07-26

基金项目 广西重点研发计划项目(桂科 AB18294036); 广西农业科学院基本科研业务专项(桂农科 2021YT051); 广西特色作物试验站——容县沙田柚试验站项目(No. TS202122)。

作者简介 刘福平(1985—), 女, 硕士, 高级农艺师, 研究方向: 柑橘育种与栽培。*通信作者(Corresponding author): 廖惠红(LIAO Huihong), E-mail: liaohuihong2001@163.com。

and the metabolic pathway was analyzed to understand the difference of flesh composition at different maturity stages. A total of 529 metabolites were detected from grapefruit of Guipuyou No. 1, including 159 flavonoids, 64 Phenolic acids, 64 amino acids and derivatives, 53 others (saccharides and alcohols, vitamin, others), 51 lipids, 40 lignans and coumarins, 34 nucleotides and derivatives, 29 alkaloids, 28 organic acids, 5 terpenoids and 2 tannins. The differential metabolites at different maturity stages mainly included flavonoids, phenolic acids, amino acids and their derivatives, lipids, lignans and coumarins, and most of them were down-regulated. The down-regulated types of phenolic acids, amino acids and their derivatives, lipids and other types increased, and most of them showed a continuous downward trend with the increase of fruit ripeness. Most of the down-regulated flavonoids showed a sharp decline in the early stage of fruit ripening, and then increased in the late stage of fruit ripening. The types of down-regulated flavonoids first increased and then decreased, with the most in the middle stage of fruit ripening. The relative contents of synephrine, spermidine, betaine, shikimic acid were consistently decreasing. The relative content of limonin increased in the early stage of fruit ripening, and decreased significantly in the middle and late stage of fruit ripening. The most significant enrichment pathway of differential metabolites was flavonoid biosynthesis in the early stage of fruit ripening, but it was phenylpropanoid biosynthesis during the whole ripening process. The fruit of G₂ had the best taste, with soluble solids of 12% and solid-acid ratio of 23.24, which was suitable for fresh eating. However, phenolic acids such as caffeic acid and ferulic acid, flavonoids such as isoquercitrin and hyperoside decreased significantly during this period. There were many kinds of metabolites in the pulp of grapefruit of Guipuyou No. 1, which was rich in nutritional and functional components. The best picking time for fresh food is from late October to middle November. Fruits used for health care or medicinal purposes should be picked in advance according to the efficacy requirements. This study would provide a theoretical basis for the study on the nutritional and functional components of grapefruit of Guipuyou No.1, and provide a reference for the best harvest maturity of its different uses.

Keywords: grapefruit of Guipuyou No. 1; maturity; metabolomic; fruit compounds; fruit quality

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.12.001

葡萄柚 (*Citrus paradisi* Macf.) 属芸香科柑橘属, 果实风味独特, 不仅富含维生素、有机酸、糖、蛋白质、矿质元素、膳食纤维等营养物质, 还含有类黄酮、柠檬苦素类化合物等生物学活性物质, 具有特殊的医疗保健功能, 是一种鲜食和加工兼用的重要水果, 备受欧美发达国家青睐^[1-2]。葡萄柚在广东、福建、四川、云南、广西等地已有规模栽培^[3-4]。前人在国内葡萄柚种质资源、性状遗传变异、生物学特性、栽培技术与果实品质等方面开展了较多的研究, 但对葡萄柚的健康功效研究较少, 且与国外差距较大^[2]。国外科学家发现葡萄柚汁能增加如非洛地平、达泊西汀、布南色林等某些药物的生物利用率^[5-7], 葡萄柚能够平衡小鼠胰岛素和葡萄糖水平^[8]等。王琦等^[9]也发现葡萄柚果汁具有明显延缓果蝇衰老的作用。但是随着葡萄柚果实的发育成熟, 柠檬苦素类化合物和柚皮苷、枸橼甙、新橙皮苷、新橙皮素等类黄酮物质含量逐渐下降^[10]。基于广泛靶向代谢组学技术分析不同成熟度葡萄柚果实中的代谢成分及差异尚未见报道。桂葡柚 1 号葡萄柚在广西种植丰产、稳产性好, 其果肉多汁、酸甜适中^[11], 本研究旨在通过测定其不同成熟度果实的品质和果肉广泛靶向代谢组, 分析其不同成熟度果肉成

分和果实的品质, 为其营养及功能成分的研究奠定基础, 同时为鲜食、保健等不同用途桂葡柚 1 号果实的采摘成熟度和采摘时间提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以广西南宁市上林县白圩镇桂葡柚 1 号基地果实为供试材料, 该基地桂葡柚 1 号砧木为酸柚, 2019 年为第三年挂果。从基地中选取树势、果实生长发育时期一致的具有代表性的 3 棵树, 自 2019 年 9 月 28 日 (果实成熟初期) 开始采样, 之后每隔 24 d 取 1 次样, 共取 4 次, 最后一次采样时间为 2019 年 12 月 9 日 (果实成熟后期)。采样时从每棵树东、南、西、北方向各采摘果实大小、成熟度一致的 2 个果, 每棵树 8 个果, 3 棵树即 3 个重复。采摘当天运回实验室, 样品信息见表 1。

1.2 方法

1.2.1 果实品质测定 使用游标卡尺测量果实纵、横径。用电子天平测量单果质量。用手持折光仪测定果汁可溶性固形物含量。用酸碱滴定法测定果汁可滴定酸含量。分别采用 SPSS Statistics 23 软件和 LSD 法开展方差分析和差异显著性分

表 1 样品信息
Tab. 1 Sample information

采摘日期 Picking date	样本编号 Sample numbers	组 Group
2019.09.28	GPY1-1-1	CK
2019.09.28	GPY1-2-1	
2019.09.28	GPY1-3-1	
2019.10.22	GPY1-1-2	G ₁
2019.10.22	GPY1-2-2	
2019.10.22	GPY1-3-2	
2019.11.15	GPY1-1-3	G ₂
2019.11.15	GPY1-2-3	
2019.11.15	GPY1-3-3	
2019.12.09	GPY1-1-4	G ₃
2019.12.09	GPY1-2-4	
2019.12.09	GPY1-3-4	

析，差异显著性水平为 0.05。

1.2.2 代谢组样品准备与分析 分析果实品质时，每个样品的果肉各用 5 mL 冻存管取样，装好样品后，将其快速放入液氮中，然后移至−80 ℃超低温冰箱保存。代谢组学分析样品的提取流程参照钱瑞^[12]的方法，将提取好的样品保存于进样瓶中，利用超高效液相色谱（UPLC）（Shim-pack UFLC SHIMADZU CBM30A）和串联质谱（MS/MS）（Applied Biosystems 4500 QTRAP）对样本进行物质分离和鉴定^[13-14]。

1.2.3 代谢组质控样本与数据分析 质控样本（QC）为 4 组分析样品提取物的等量混合物。检测分析时，每 10 个分析样本中插入 1 个质控样本。代谢组数据分析基于 KEGG 化合物数据库和 MetWare 数据库，以及多反应监测（MRM）开展样品代谢物的定性和定量质谱分析，代谢物鉴定^[15]MS 容差和 MS2 容差设置为 20 mg/kg，保留时间非常

接近的同分异构体，广靶无法区分，根据购买的标品提供取代基位点参考，没有标品的则参考文献^[16]的中位点，代谢物的定量利用三重四级杆质谱的多反应监测模式分析完成^[17]。获得不同样本的代谢物质谱分析数据后，对所有物质质谱峰进行峰面积积分，并对其中同一代谢物在不同样本中的质谱出峰进行积分校正^[18]，利用 Analyst 1.6.3 软件处理质谱数据，每个色谱峰的峰面积代表对应物质的相对含量。采用多元统计分析，对 4 组样品进行主成分分析（PCA）^[19-20]、聚类分析，根据正交偏最小二乘法判别分析（OPLS-DA）法预测模型的可靠性。采取将 fold change 和 OPLS-DA 模型的 VIP 值相结合的方法筛选差异代谢物，fold change 值为 2 倍以上或 0.5 倍以下，POLs-DA 的 VIP≥1 则认为差异显著^[21]。对差异显著的代谢物采用 unit variance scaling（UV）归一化处理，通过 R 软件 pheatmap 包绘制热图^[22]。利用 KEGG 数据库^[23]对差异代谢物通路类型进行分类、KEGG 富集分析。

2 结果与分析

2.1 不同成熟度桂葡萄柚 1 号果实品质

由表 2 可知，G₂、G₃ 的单果质量、果实纵、横径均与 CK 差异显著，G₁ 与各比较组差异均不显著；G₃ 的果皮厚度最厚，与 CK、G₁、G₂ 差异显著，CK、G₁、G₂ 之间差异不显著，原因可能是在 2019 年 12 月 9 日采摘 G₃ 样品时，果实出现浮皮现象；G₂ 的可溶性固形物最高，G₃ 与 G₁、G₂ 差异显著，G₁、G₂ 之间差异不显著。原因可能是 2019 年 10 月 21 日至 2019 年 11 月 14 日为可溶性固形物快速上升期，但在 2019 年 12 月 9 日前果实可溶性固形物已开始下降；可滴定酸从高到低依次是 CK、G₁、G₂、G₃，且差异显著，说

表 2 各比较组果实生理指标
Tab. 2 Basic physiological indexes of fruit in each comparison group

组别 Groups	单果质量 Fruit mass/kg	纵径 Vertical diameter/mm	横径 Transverse diameters/mm	果形指数 Fruit shape index	果皮厚度 Pericarp thickness/mm	可溶性固形物 Soluble solids /%	可滴定酸 Titratable acidity/%	固酸比 TSS-Acid ratio
CK	0.52±0.03 ^b	88.71±2.22 ^b	107.48±0.68 ^b	0.83±0.02 ^a	3.49±0.30 ^b	10.48±0.07 ^c	0.64±0.02 ^a	16.38±0.57 ^c
G ₁	0.57±0.03 ^{ab}	89.93±2.01 ^{ab}	109.13±2.02 ^{ab}	0.82±0.02 ^a	3.58±0.10 ^b	10.52±0.06 ^c	0.58±0.01 ^b	18.04±0.27 ^b
G ₂	0.63±0.07 ^a	94.43±1.93 ^a	114.60±4.19 ^a	0.82±0.01 ^a	4.10±0.21 ^b	12.00±0.10 ^a	0.52±0.02 ^c	23.24±0.77 ^a
G ₃	0.65±0.07 ^a	94.41±4.12 ^a	113.95±5.04 ^a	0.83±0.00 ^a	4.88±0.47 ^a	11.41±0.11 ^b	0.49±0.02 ^d	23.47±0.94 ^a

注：同列不同小写字母表示不同组间差异显著（ $P<0.05$ ）。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between different groups ($P<0.05$).

明 2019 年 9 月 28 日至 12 月 9 日期间果实可滴定酸持续下降; CK、G₁、G₂ 的固酸比逐渐上升, 且差异显著, G₂ 与 G₃ 差异不显著。此外, 各比较组果形指数差异不显著。

2.2 代谢组样本质控及统计分析

采用多元统计对样本(含质控样品)开展主成分(PCA)分析(图 1), PCA 结果显示检测分析样品之间代谢组有分离趋势, 其中 CK、G₁、G₂ 各比较组之间在主成分 PC1 上分离明显, G₂ 与 G₃ 在 PC1 上分离不明显, 但在 PC2 上存在显著分离, 因此, 各样品数据处理结果可信, 能从总体上反映出不同采收时期桂葡萄柚 1 号果肉之间的代谢物差异。建立 PLS-DA、OPLS-DA 模型的 R² 和 Q² 模型进行分析(表 3), PLS-DA 模型各比较组的 R²X≥0.780, R²Y≥0.999, Q²≥0.956; OPLS-DA 模型各比较组的 R²X≥0.710, R²Y=1, Q²≥0.982。2 个模型 Q² 均大于 0.9, 为出色模型。同时对模型进行 200 次排列实验验证, 结果显示 R²Y' 和 Q²' 都小于原始模型 R²Y 和 Q², 因此该模型有意义, 可根据 VIP 值来分析筛选差异代谢物。

2.3 桂葡萄柚 1 号代谢物成分总体分析

从桂葡萄柚 1 号中共检测出 529 种代谢物, 根据种类从多到少, 依次为黄酮 159 种, 种类占比 30%; 氨基酸及其衍生物和酚酸类各 64 种, 种类占比均为 12%; 其他类(其中糖及醇类 42 种, 维生素 9 种) 53 种, 占比 10%; 脂质 51 种, 占比 9.6%; 木脂素和香豆素 40 种, 占比 7.5%; 核苷

表 3 样品分组比较的 R² 值和 Q² 值
Tab. 3 Calculated R² and Q² values of different groups

组别 Groups	模型 Model	R ² X	R ² Y	Q ²
CK vs G ₁	PLS-DA	0.811	1	0.995
	OPLS-DA	0.780	1	0.987
CK vs G ₂	PLS-DA	0.797	1	0.990
	OPLS-DA	0.838	1	0.993
CK vs G ₃	PLS-DA	0.890	1	0.998
	OPLS-DA	0.851	1	0.994
G ₁ vs G ₂	PLS-DA	0.825	0.999	0.956
	OPLS-DA	0.795	1	0.982
G ₂ vs G ₃	PLS-DA	0.780	0.999	0.996
	OPLS-DA	0.710	1	0.986

酸及其衍生物 34 种, 占比 6.4%; 生物碱 29 种, 占比 5.4%; 有机酸 28 种, 占比 5.2%; 萜类和鞣质种类最少(图 2)。

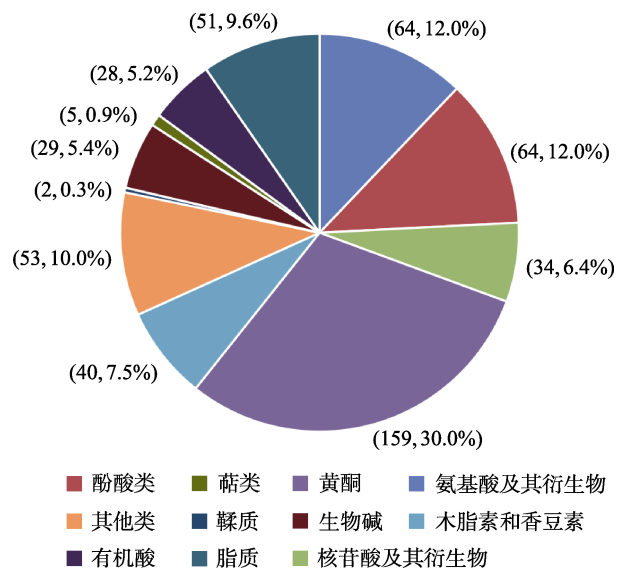


图 2 果肉代谢物一级分类种类占比
Fig. 2 Composition chart of primary metabolites of Guipuyou No.1 flesh

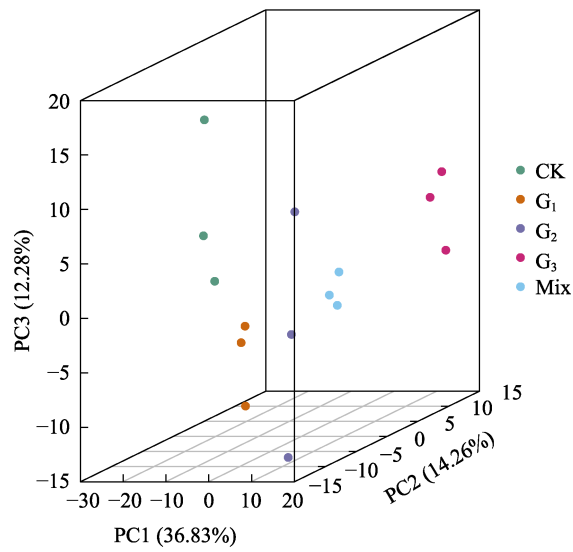


图 1 4 组样品及质控的 PCA 结果
Fig. 1 PCA results of four groups of samples and quality control

2.4 不同成熟度桂葡萄柚 1 号差异代谢物分析

对所检样品的代谢物进行聚类分析, 结果显示(图 3), 随着果实逐渐成熟, 代谢物的相对含量发生变化。总体上, 相对含量减少的代谢物较多(代谢物在图上标注的颜色从绿色变为红色, 即相对含量逐渐增加, 代谢物在图上标注的颜色从红色变为绿色, 即相对含量逐渐减少)。

2.4.1 差异代谢物筛选分析 各比较组总体差异代谢物以下调为主, 按照物质一级分类, 下调的

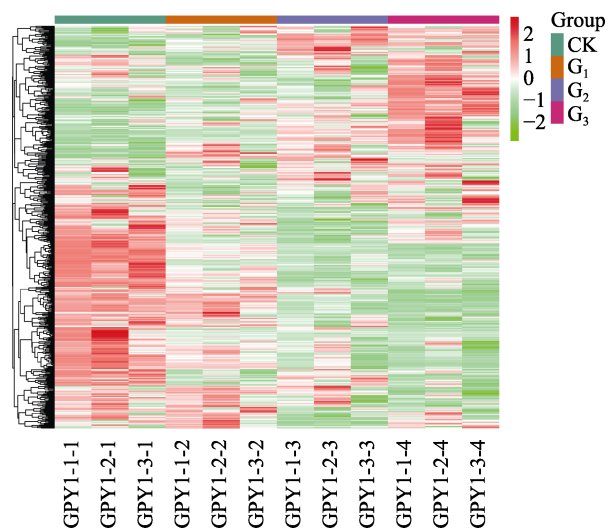


图 3 样品代谢物聚类图

Fig. 3 Heatmap map of sample metabolites

代谢物较多的种类主要有氨基酸及其衍生物、脂质、酚酸类、其他类、核苷酸及其衍生物、生物碱等,上调代谢物较多的主要为木脂素和香豆素,萜类、有机酸的上调和下调种类均较少。CK vs G₁ 差异代谢物主要是黄酮,且以下调种类为主,其中金圣草黄素等 3 种上调,异槲皮苷等 9 种下调;

G₂ vs CK 差异代谢物增多,下调代谢物有 N-丙酰甘氨酸、L-天冬酰胺、咖啡酸、阿魏酸、绿原酸、单棕榈酸甘油酯、溶血磷脂酰胆碱 14:0 (2n 异构)、异槲皮苷、绣线菊苷、辛弗林、甜菜苷、莽草酸、异欧前胡素等 49 种,其中下调代谢物以黄酮、脂质、酚酸、氨基酸及其衍生物为主,上调的代谢物有对-香豆醇、松柏醇、金圣草黄素、橙皮素 O-丙二酰己糖苷、松脂醇、去乙酰诺米林、琥珀酸等 19 种,上调代谢物以木脂素、香豆素和酚酸为主; G₃ vs CK 下调代谢物增加至 59 种,包括乙酰色氨酸、烟胺、原儿茶酸、胞嘧啶、佛手柑素、柠檬苦素、诺米林酸、石榴酸等,上调代谢物增加至 23 种,包括 L-脯氨酸、异甜橙素等,相对于 G₂ vs CK,下调的黄酮种类减少,上调的黄酮种类有所增加。

2.4.2 差异代谢物变化趋势分析 从表 4 可以看出,各组的氨基酸及其衍生物差异代谢物共 13 种,其中 L-谷氨酸、DL-谷氨酸、L-天冬酰胺、组胺、氨基乙酰基苯丙氨酸等 12 种均下调,仅 L-脯氨酸上调;脂质差异代谢物共 14 种,其中溶血磷脂酰胆碱 15:0、溶血磷脂酰胆碱 17:0、

表 4 不同成熟期果实中氨基酸及其衍生物和脂质差异代谢物相对含量

Tab. 4 Relative contents of differential metabolites of amino acids and their derivatives and lipid in fruits at different maturity stages

物质 Compound	相对含量 Relative content				物质 Compound	相对含量 Relative content			
	CK	G ₁	G ₂	G ₃		CK	G ₁	G ₂	G ₃
组胺	221.63	205.18	117.24	79.35	石榴酸	12.87	10.12	6.45	4.67
N-丙酰甘氨酸	281.14	159.58	83.32	76.79	9-羟基十八碳三烯酸	1.80	1.36	0.82	0.51
L-天冬酰胺	4412.60	3723.45	1806.65	956.05	9-羟基-10,12-十八碳二烯酸	4.52	3.42	2.23	1.97
L-谷氨酸	5405.10	3439.55	2232.30	1538.60	9S-羟基-10E,12E-十八碳二烯酸	4.25	3.13	2.08	1.84
DL-谷氨酸	4373.25	3290.95	2464.80	1566.35	9,10-环氧十八碳二烯酸	15.04	11.31	6.76	4.87
3-羟基-3-甲基谷氨酸	752.87	257.46	282.87	302.25	13-氧代-9-羟基-10-十八酸	3.11	2.28	1.12	0.71
半胱氨酰甘氨酸	11.85	6.45	2.47	3.01	单棕榈酸甘油酯	0.49	0.51	0.21	0.00
2,6-二氨基庚二酸	30.95	23.60	23.50	12.19	甘油亚油酸酯	0.49	0.23	0.11	0.09
氨基乙酰基苯丙氨酸	214.33	163.15	92.31	89.96	溶血磷脂酰胆碱 14:0(2n 异构)	7.15	4.69	3.31	2.79
乙酰色氨酸	42.08	25.32	23.55	15.38	溶血磷脂酰胆碱 15:0	194.15	106.24	69.08	35.29
N-乙酰-DL-色氨酸	8.62	8.59	6.11	3.06	溶血磷脂酰胆碱 17:0	40.17	26.66	17.94	13.66
烟胺	22.28	20.92	12.58	4.23	2,3-二羟基丙基-9,12,15-十八碳三酸酯-己糖	19.32	12.03	7.95	8.56
L-脯氨酸	2170.35	3001.95	4317.85	4783.90	溶血磷脂酰胆碱 18:4	0.53	0.34	0.26	0.28
					二十碳二烯酸	4.80	4.80	13.18	13.04

注：表中各代谢物相对含量值等于原测定相对含量值×10⁻⁴后，保留小数点后 2 位的数值；相对含量即各代谢物质对应的色谱峰的峰面积。

Note: The relative content value of each metabolite in the table is equal to the original measured relative content value×10⁻⁴, and then keep two digits after the decimal point. The relative content of each metabolite is the peak area of its corresponding chromatographic peak.

2,3-二羟基丙基-9,12,15-十八碳三酸酯-己糖、9,10-环氧十八碳二烯酸、石榴酸等 13 种均下调,仅二十碳二烯酸上调,且各比较组下调氨基酸及其衍生物和脂质的相对含量大多为 CK>G₁>G₂>G₃,即随着果实的成熟度增加,代谢物相对含量持续下降。总体上两类下调差异代谢物的相对含量均大于上调差异代谢物相对含量,在桂葡萄柚 1 号成熟度上升时,果肉中氨基酸及其衍生物和脂质的总含量均下降。

由表 5 可见,各组的差异代谢物中,属酚酸类的有 18 种,期间有下调表达的为 11 种,有上调表达的为 7 种。各组的原儿茶酸、香草酸、咖啡酸、阿魏酸、1-O-[(E)-咖啡酰]-β-D-吡喃葡萄

糖、阿魏酰葡萄糖、β-D-呋喃果糖基-α-D-(6-芥子酰基)葡萄糖苷等 7 种酚酸相对含量均为 CK>G₁>G₂>G₃;阿魏酰苹果酸、新绿原酸*、隐绿原酸等 3 种酚酸相对含量为 CK>G₁>G₂, G₃ 组的相对含量略大于 G₂,但远小于 G₁ 组;阿魏酰芥子酰酒石酸相对含量为 G₁ 组最高,CK 和 G₃ 组相当, G₂ 最低。各组的对-香豆醇、利波腺苷、松柏醇、3-O-对香豆酰奎宁酸、顺-3-对香豆酰奎宁酸、芥子酸吡喃葡萄糖酯等 6 种酚酸相对含量 G₃>G₂>G₁>CK,二-O-没食子酸甲酯 G₁ 和 G₂ 组较高,CK 和 G₃ 组较低。随着果实的成熟,酚酸差异代谢物大部分相对含量逐渐减少,呈下调趋势。

表 5 不同成熟期果实中酚酸类差异代谢物相对含量
Tab. 5 Relative contents of differential metabolites of phenolic acids in fruits at different maturity stages

物质 Compound	相对含量 Relative content				物质 Compound	相对含量 Relative content			
	CK	G ₁	G ₂	G ₃		CK	G ₁	G ₂	G ₃
1-O-[(E)-咖啡酰]-β-D-吡喃葡萄糖	732.66	495.50	392.66	304.13	β-D-呋喃果糖基-α-D-(6-芥子酰基)葡萄糖苷	30.25	27.07	20.41	14.26
原儿茶酸	12.26	10.11	6.82	4.84	阿魏酰芥子酰酒石酸	1.19	1.37	0.44	1.19
香草酸	17.16	14.84	7.57	7.16	对-香豆醇	0.00	0.00	1.35	3.06
咖啡酸	93.55	80.47	40.14	31.90	利波腺苷	0.51	0.56	0.89	1.65
阿魏酸	34.20	34.16	13.40	8.69	松柏醇	2.92	5.03	7.89	8.89
阿魏酰苹果酸	3.63	1.57	0.39	0.66	3-O-对香豆酰奎宁酸	0.76	1.17	2.22	4.19
新绿原酸*	39.13	30.69	16.66	18.06	顺-3-对香豆酰奎宁酸	1.47	2.99	5.71	7.62
隐绿原酸	16.02	10.76	6.58	7.26	芥子酸吡喃葡萄糖酯	626.18	804.40	1312.20	1700.30
阿魏酰葡萄糖	135.57	110.32	78.16	60.60	二-O-没食子酸甲酯	0.54	1.16	1.30	0.56

注:表中各代谢物相对含量值等于原测定相对含量值×10⁻⁴后,保留小数点后 2 位的数值;相对含量即各代谢物质对应的色谱峰的峰面积。
Note: The relative content value of each metabolite in the table is equal to the original measured relative content value×10⁻⁴, and then keep two digits after the decimal point. The relative content of each metabolite is the peak area of its corresponding chromatographic peak.

黄酮差异代谢物变化趋势见表 6。各组的黄酮差异代谢物共 20 种,其中 7,8-二羟基-5,6,4'-三甲氧基黄酮、槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷(金丝桃苷)*、绣线菊苷、橙皮素 5-O-葡萄糖苷、槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)-半乳糖苷、槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷(异槲皮苷)*、槲皮素-7-O-(6"-O-丙二酰基)-β-D-葡萄糖苷、异鼠李素半乳糖-鼠李糖、柚皮黄素 3-O-(3-羟基-3-甲基戊二酸)-葡萄糖苷)、山奈酚-3-O-(6"-O-乙酰)-葡萄糖苷等 10 种黄酮相对含量均在成熟初期至中期持续降低,CK>G₁>G₂,尤其在 CK 至 G₁ 时期大幅下降。成熟后期(G₃)相对含量又开始增加,即随着果实成熟度增加,10 种黄酮相对含量呈先下降后上升趋势。槲皮

素-O-乙酰基己糖苷相对含量在 G₁ 急剧下降至最低水平。槲皮素-3-O-(2"-O-乙酰基)-β-D-葡萄糖醛酸相对含量在 G₂ 最低, G₃ 又有上升。2'-羟基-3,4,5,4'6'-五甲氧基查耳酮相对含量在 G₃ 最低。异甜橙素、橙皮素 O-丙二酰己糖苷等 2 种黄酮在各时期的相对含量为 G₃>G₂>G₁>CK,持续增加。CK 至 G₃,五羟黄酮相对含量先下降,后上升又下降;金圣草黄素、山奈酚-3-O-β-(2"-O-乙酰基-β-D-葡萄糖醛酸)的相对含量先上升,后下降又上升;6,7,8-三羟基-5-甲氧基黄酮先持续上升后下降。

本研究还发现,辛弗林、亚精胺、甜菜苷、诺米林酸、(-)-莽草酸相对含量为 CK>G₁>G₂>

表 6 不同成熟期果实中黄酮差异代谢物相对含量
Tab. 6 Relative contents of differential metabolites of flavonoids in fruits at different maturity stages

物质 Compound	相对含量 Relative content				物质 Compound	相对含量 Relative content			
	CK	G ₁	G ₂	G ₃		CK	G ₁	G ₂	G ₃
7,8-二羟基-5,6,4'-三甲氧基黄酮	3.22	1.82	1.25	3.56	异鼠李素 半乳糖-鼠李糖	591.07	383.41	285.82	420.12
槲皮素-3-O-(2"-O-乙酰基)-β-D-葡萄糖醛酸	197.12	89.75	50.17	125.11	柚皮黄素 3-O-(3-羟基-3-甲基戊二酸)-葡萄糖苷	36.43	26.46	17.39	43.46
槲皮素-3-O-β-D-半乳糖苷(金丝桃苷)*	242.52	92.71	78.62	179.07	2'-羟基-3,4,5,4'6'-五甲氧基查耳酮	2.97	2.27	2.97	0.01
绣线菊苷	139.14	48.48	27.47	82.73	山奈酚-3-O-(6"-O-乙酰)-葡萄糖苷	18.99	5.31	2.87	4.39
橙皮素 5-O-葡萄糖苷	123.05	46.89	23.48	67.11	五羟黄酮	26.73	12.11	16.51	10.40
槲皮素-O-乙酰基己糖苷	21.02	0.01	0.01	0.01	金圣草黄素	0.70	4.19	2.85	3.55
槲皮素-3-O-(6"-O-乙酰)-半乳糖苷	34.69	11.64	7.28	7.49	6,7,8-三羟基-5-甲氧基黄酮	0.64	3.16	4.00	2.83
槲皮素-3-O-β-D-葡萄糖苷(异槲皮苷)*	22.56	23.85	9.97	16.77	异甜橙素	148.98	210.67	224.00	351.85
槲皮素-7-O-(6"-O-丙二酰基)-β-D-葡萄糖苷	285.19	73.68	58.19	60.88	山奈酚-3-O-β-(2"-O-乙酰基-β-D-葡萄糖醛酸)	6.64	12.83	12.42	21.28
槲皮素-3-O-(6"-O-丙二酰)-半乳糖苷	139.12	45.70	23.36	21.69	橙皮素 O-丙二酰己糖苷	14.27	44.92	110.09	185.24

注：表中各代谢物相对含量值等于原测定相对含量值×10⁻⁴后，保留小数点后两位的数值；相对含量即各代谢物质对应的色谱峰的峰面积。

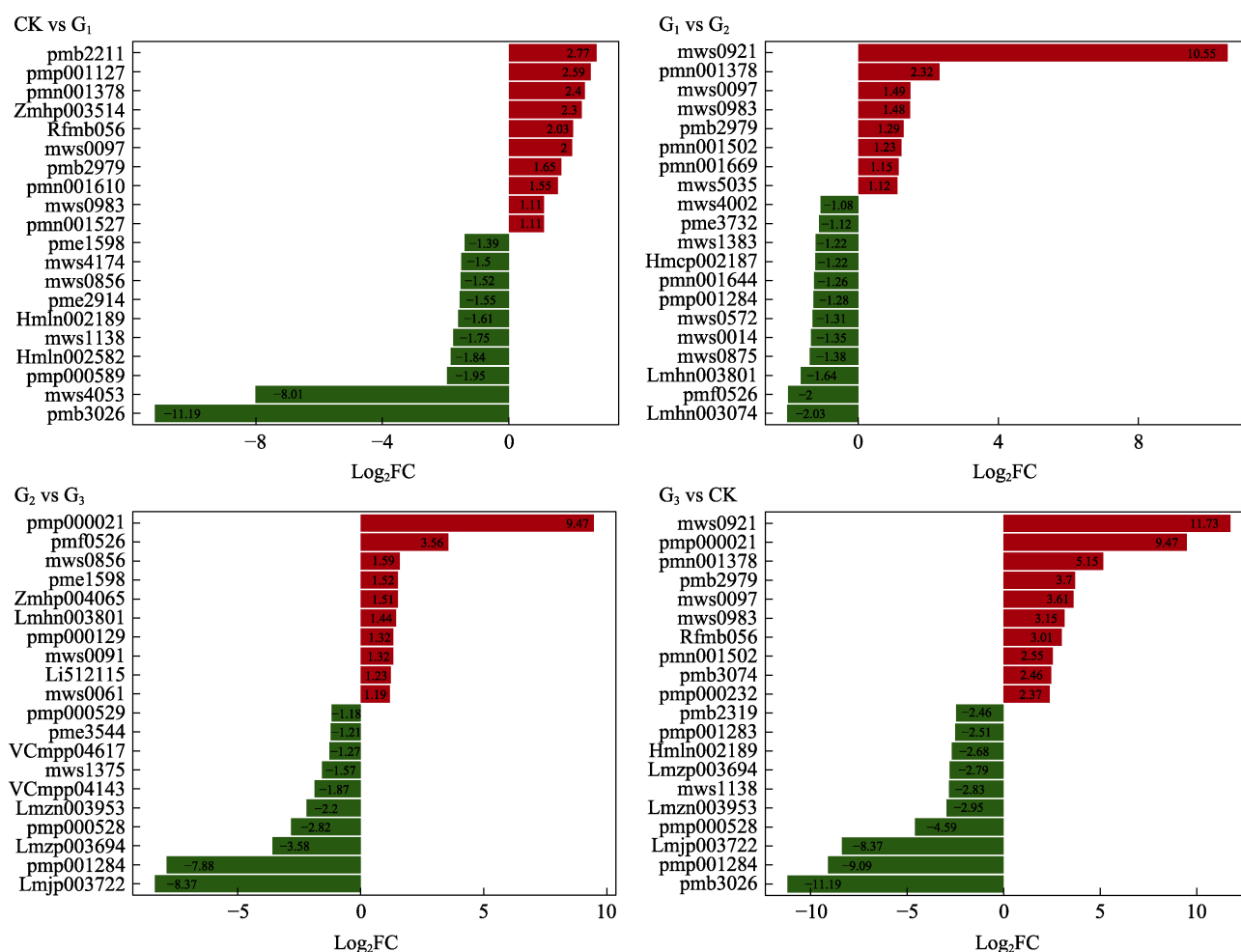
Note: The relative content value of each metabolite in the table is equal to the original measured relative content value×10⁻⁴, and then keep two digits after the decimal point. The relative content of each metabolite is the peak area of its corresponding chromatographic peak.

G₃, 呈持续下降趋势; 柠檬苦素的相对含量在 CK 至 G₁ 时增加, G₁ 至 G₃ 时逐渐减少, 呈先上升后下降趋势。

2.4.3 主要差异代谢物成分分析 CK vs G₁、G₁ vs G₂、G₂ vs G₃、CK vs G₃ 对比差异倍数图列出了差异倍数排在前 20(上调和下调)的代谢物(图 4)。结果显示, 在不同成熟阶段的桂葡萄柚 1 号葡萄柚中, 上调和下调的主要差异代谢物不尽相同。CK vs G₁ 中, 下调倍数从大到小依次是黄酮类物质槲皮素-O-乙酰基己糖苷 (pmb3026) 11.19 倍, 萜类物质熊果酸 (mws4053) 8.01 倍, 黄酮类物质槲皮素-7-O-(6"-O-丙二酰基)-β-D-葡萄糖苷 (pmp000589) 1.95 倍等, 上调倍数从大到小依次是生物碱椰油酰胺丙基甜菜碱 (pmb2211) 2.77 倍, 黄酮类物质金圣草黄素 (pmp001127) 2.59 倍, 木脂素松脂醇单葡萄糖苷 (pmn001378) 2.4 倍等, 主要差异代谢物为黄酮类、萜类、生物碱、木脂素; G₁ vs G₂ 中, 下调倍数从大到小依次是酚酸类物质阿魏酰苹果酸 (Lmhn003074) 2.03 倍, 香豆素异欧前胡素 (pmf0526) 2.0 倍, 酚酸类物质阿魏酰芥子酰酒石酸 (Lmhn003801) 1.64 倍等, 上调倍数较大的有酚酸类物质对-香豆醇 (mws-0921) 10.55 倍, 木脂素松脂醇单葡萄糖苷 (pmn-

001378) 2.32 倍、松脂醇 (mws0097) 1.49 倍, 主要差异代谢物为酚酸类、香豆素、木脂素; G₂ vs G₃ 中, 下调倍数从大到小依次是黄酮类物质 2'-羟基-3,4,5,4'6'-五甲氧基查耳酮 (Lmjp003722) 8.37 倍, 脂质单棕榈酸甘油酯 (pmp001284) 7.88 倍, 其他类黄柏酸 (Lmzp003694) 3.58 倍, 上调倍数较大的有香豆素异氧化前胡内酯 (pmp-000021) 9.47 倍、异欧前胡素 (pmf0526) 3.56 倍, 黄酮类物质绣线菊苷 (mws0856) 4.59 倍, 主要差异代谢物为黄酮类、脂质、其他类、香豆素。从整个成熟期来看, 下调倍数从高到低依次是黄酮类物质槲皮素-O-乙酰基己糖苷 11.19 倍, 脂质单棕榈酸甘油酯 9.09 倍, 黄酮类物质 2'-羟基-3,4,5,4'6'-五甲氧基查耳酮 8.37 倍; 上调倍数从高到低依次是黄酮类物质对-香豆醇 11.73 倍, 香豆素异氧化前胡内酯 9.47 倍, 木脂素松脂醇单葡萄糖苷 5.15 倍等, 主要差异代谢物为黄酮类、脂质、酚酸类、香豆素、木脂素。

2.4.4 差异代谢物通路分析 将差异代谢物进行 KEGG 通路富集, 结果显示(图 5), CK vs G₁ 中鉴定出的 30 种显著差异代谢物主要分布在 8 条代谢途径中, 差异代谢物富集最显著的是类黄酮生物合成通路 (flavonoid biosynthesis), 其次是



红色代表差异表达代谢物上调, 绿色代表差异表达代谢物下调。

Red colour represents the up-regulation of differentially expressed metabolites, and green represents the down-regulation of differentially expressed metabolites.

图 4 差异倍数变化前 20 的代谢物柱状图

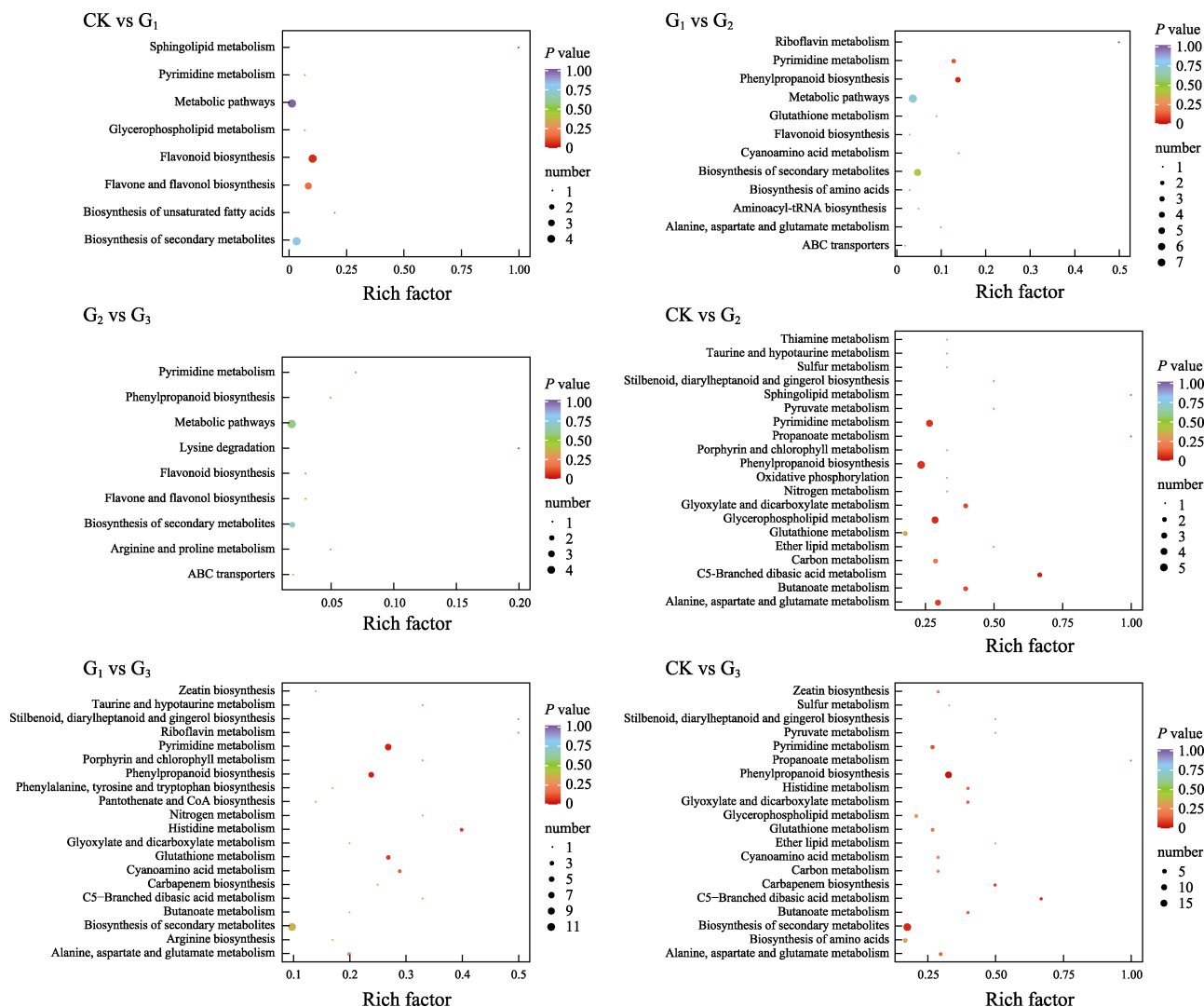
Fig. 4 Metabolite histogram of first 20 compounds of fold change

黄酮和黄酮醇生物合成通路 (flavone and flavonol biosynthesis); G₁ vs G₂ 中鉴定出的 24 种显著差异代谢物主要分布在 12 条代谢途径中, 差异代谢物富集最显著的是苯丙烷生物合成通路 (phenylpropanoid biosynthesis), 其次是嘧啶代谢通路 (pyrimidine metabolism); G₂ vs G₃ 中鉴定出来的 25 种显著差异代谢物主要分布在 9 条代谢途径中, 差异代谢物富集最显著的是赖氨酸降解通路 (lysine degradation), 其次是嘧啶代谢通路; CK vs G₂ 中鉴定出的 68 种显著差异代谢物主要分布在 20 条代谢途径中, 差异代谢物富集最显著的是苯丙烷生物合成通路, 其次是甘油磷脂代谢通路 (glycerophospholipid metabolism); G₁ vs G₃ 中鉴定出的 52 种显著差异代谢物主要分布在 20 条代谢途径中, 差异代谢物富集最显著的是苯丙烷生物合成通路, 其次是嘧啶代谢通路; CK vs G₃

中鉴定出的 82 种差异代谢物, 差异代谢物富集最显著的是苯丙烷生物合成通路, 其次是次级代谢产物的生物合成通路 (Biosynthesis of secondary metabolites)。

3 讨论

黄酮类化合物是柑橘中重要的生物活性物质, 不仅是柑橘植株重要的抗逆物质, 也是柑橘果实发挥抗氧化、抗炎症等食用和药用价值的重要原因; 对柑橘黄酮类物质进行组分鉴别和定量研究, 有助于延长柑橘产业链, 为开发柑橘食药产品建立基础^[24]。类黄酮是葡萄柚主要功能成分之一^[25], 具有抗氧化、抗炎、降低胆固醇、抗菌及抗癌等功效。葡萄柚具有较强的生物活性, 鸡尾葡萄柚所含类黄酮种类明显多于普通柚类品种^[26]。基于广泛靶向代谢组学技术检测到的桂葡萄柚 1 号



P value 越接近 0, 表示富集越显著。点的大小代表显著差异代谢物个数。

The closer the P value is to 0, the more significant the enrichment is. The size of the point represents the number of significantly different metabolites enriched.

图 5 差异代谢物 KEGG 富集图

Fig. 5 KEGG enrichment map of different metabolites

黄酮多达 159 种, 包括柚皮苷、枸橼苷、橙皮苷、新橙皮苷、芸香柚皮苷、忍冬苷、木犀草苷、柚皮素、橙皮素、异槲皮苷、金丝桃苷等, 具有很好的保健价值。检测到氨基酸及其衍生物 64 种, 包括赖氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、亮氨酸、苏氨酸、缬氨酸等 8 种人体必需氨基酸, 和人体半必需氨基酸精氨酸, 以及多种非必需氨基酸和氨基酸衍生物。氨基酸种类较齐全, 营养丰富, 兼具食用和药用价值, 其中蛋氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、精氨酸、天冬氨酸、谷氨酸是评价食品及中药材品质的重要指标^[27], 天冬氨酸和谷氨酸是鲜味氨基酸, 苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸和丝氨酸是甜味氨

基酸, 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸是芳香族氨基酸^[28]。此外, 谷胱甘肽还原型能明显改善原发性肝癌介入治疗引起的肝功能损害, 有很好的临床应用价值^[29]。研究发现酚酸类化合物具有抗氧化、抗炎、抑菌、抗糖尿病、抗癌等多种生物活性, 因此酚酸类化合物可以应用于传统药物或作为膳食补充剂应用于现代营养制品中^[30]。动物和人自身不能合成酚酸, 主要通过食物获得, 水果、蔬菜、豆类、谷物等都是很好的酚酸来源, 此外果汁、茶、啤酒、咖啡等饮品中酚酸含量也很丰富^[31]。桂葡萄柚 1 号中检测到酚酸类化合物 64 种, 包括有抗炎作用的阿魏酸、绿原酸、咖啡酸等, 有抗氧化作用的咖啡酸、绿原酸、阿魏酸、芥子

酸、原儿茶酸、香草酸、丁香酸等,有抑菌作用的原儿茶酸、香草酸、咖啡酸等,有对乳腺癌、肝癌、肺癌、血癌、宫颈癌等具有抗癌活性的绿原酸、咖啡酸、阿魏酸等^[30]。由此可见,桂葡柚 1 号代谢物功能成分多,可对其健康功效开展相关研究,并加以利用。

本研究中,桂葡柚 1 号果实不同成熟度果肉代谢物表达存在差异。随着果实的成熟,果肉中上调差异代谢物和下调差异代谢物种类均呈上升趋势,到成熟后期,增速有所下降,但总体上,下调差异代谢物种类多于上调差异代谢物种类,且下调差异表达显著的代谢物中,包含诸多功能成分代谢物。不同成熟阶段的主要差异代谢物不尽相同,成熟初期为黄酮类、萜类、生物碱、木脂素,中期为酚酸类、香豆素、木脂素,后期黄酮类、脂质、其他类、香豆素。随着果实成熟度增加,果肉中下调差异表达显著的氨基酸及其衍生物、脂质种类增加,只有脯氨酸、二十碳二烯酸上调,这与前人的研究结果基本相符。牟蛟琳等^[32]对高班柚、代代酸橙、夏橙、稻叶温州蜜柑、本地早橘、尤力克柠檬 6 个柑橘品种检测发现,氨基酸的总含量、脂类物质含量均随着果实的成熟而降低,有色层中脯氨酸的相对含量随着果实的成熟而增加。董昕颖^[33]研究发现尤力克柠檬果皮和果肉中 17 种氨基酸的总含量均随着成熟度的增加而下降。同时,随着果实的成熟,果肉中酚酸类物质下调差异表达显著的种类增加,成熟中后期包括原儿茶酸、香草酸、咖啡酸、阿魏酸、新绿原酸*、隐绿原酸等,这与前人研究结果较一致。徐贵华等^[34]对不同成熟期蜜桔中酚酸的研究表明,果肉中绿原酸、咖啡酸、阿魏酸、原儿茶酸、香草酸等酚酸含量随成熟度提高而减少。前人通过对东风早柚等品种的研究,发现同一品种、同一部位筛查出的酚酸种类数量无明显变化,但柚果实不同成熟期的生物活性成分含量有差异,随着果实成熟度的上升,测定的酚酸含量大多降低^[35]。黄酮差异代谢物下调种类多于上调,且先增加后减少,在成熟中期最多。大部分下调黄酮代谢物相对含量在成熟初期大幅下降,在成熟后期又有上升,其中异槲皮苷、绣线菊苷、金丝桃苷等仅在成熟初期至中期下调差异表达显著,这与对四季柚、文旦(授粉和未授粉)和早香柚 4 种柚的研究结果相同,随着果实成熟度的增加,果肉中的黄酮类物质含量多数在下降,并且初期

急剧下降^[35]。柠檬苦素和诺米林酸在成熟后期下调差异显著,这与有关文献报道较符合。但俊峰^[36]对不同生长期柚果中功能性成分的分析显示,多数情况下,柠檬苦素类物质的含量是随成熟度上升而下降。张耀海等^[35]对柚果实不同成熟期生物活性成分开展了分析,结果表明柠檬苦素含量大多呈现下降趋势。张念^[37]开展了柚果实不同成熟期主要营养功能成分的变化规律研究,发现东风早柚、琯溪蜜柚、梁平柚、长寿沙田柚、丰都红心柚和龙安柚 6 种柚果类柠檬苦素的总含量均随着成熟期的延长呈现降低的趋势。有机酸甲基马来酸、莽草酸相对含量持续下降,琥珀酸相对含量持续上升。刘淑桢等^[38]研究发现,国庆 1 号温州蜜柑果实随着成熟度上升,多种有机酸呈现出不同的变化趋势,但多数有机酸含量逐渐降低。本研究还发现辛弗林、亚精胺、甜菜苷等代谢物的相对含量在果实成熟度上升时持续减少。

不同成熟阶段,富集差异代谢物通路不同。果实成熟初期富集最显著的为类黄酮生物合成通路,其次是黄酮和黄酮醇生物合成通路类,与此时期黄酮类差异代谢物大部分相对含量大幅下降,黄酮类生物合成降低有关。果实成熟中期富集最显著的为苯丙烷生物合成通路,后期为赖氨酸降解通路。整个成熟期差异代谢物富集最显著的是苯丙烷生物合成通路。黄酮类化合物是来源于植物的一类重要的次生代谢产物,具有抗癌、抗氧化、抗炎、降低血管脆性等多种药理作用^[39]。苯丙烷代谢作为植物重要的次级代谢途径之一,在调控植物适应性生长的过程中发挥着重要功能,还与众多药用活性成分的合成息息相关^[40]。因此,随着果实成熟度上升,果肉中诸多生物活性物质含量下降。

根据对桂葡柚 1 号生长发育习性的观测,其果汁含量在 7—8 月份急剧增加,之后增速缓慢,10 月底后不再增加,其果实口感一般在 9 月底(CK)已较好,随着果实逐渐成熟,可溶性固形物增加,固酸比提高,口感变好,12 月上旬(G₃)果实开始出现可溶性固形物开始下降、浮皮等现象。因此,应根据用途确定桂葡柚 1 号果实采摘成熟度。

4 结论

桂葡柚 1 号果肉代谢物种类多,营养和功能成分丰富,生物活性较强,具有很好的食用和保

健价值, 本研究为其营养和健康功效研究奠定基础。随着果实的成熟, 果肉代谢物种类、含量及果实品质均在发生变化。在广西南部地区, 桂葡萄柚 1 号果实从 9 月底进入成熟期, 在 10 月下旬至 12 月上旬口感均佳, 适宜鲜食, 但至 10 月下旬, 果肉中少量黄酮等功能成分下调差异显著, 至 11 月中旬, 下调差异显著的黄酮、酚酸、氨基酸及其衍生物、脂质等功能成分物质种类大量增加, 用于保健或药用的果应根据功效需求提前采摘。

参考文献

- [1] 杨杰. 葡萄柚研究现状与前景展望[J]. 广西农学报, 2016, 31(2): 61-63.
YANG J. Research status and prospect of grapefruit[J]. Journal of Guangxi Agriculture, 2016, 31(2): 61-63. (in Chinese)
- [2] 朱春华, 周先艳, 李进学, 高俊燕, 杜玉霞, 多建祖, 岳建强. 葡萄柚果实营养及健康功效研究进展[J]. 中国医药导报, 2019, 16(15): 29-32.
ZHU C H, ZHOU X Y, LI J X, GAO J Y, DU Y X, DUO J Z, YUE J Q. Research progress of nutrient components and health benefits of grapefruit[J]. China Medical Herald, 2019, 16(15): 29-32. (in Chinese)
- [3] 董美超, 李进学, 周东果, 杨帆, 郭莉娜, 刘红明, 高俊燕. 葡萄柚品种及遗传育种研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2018, 47(2): 194-198.
DONG M C, LI J X, ZHOU D G, YANG F, GUO L N, LIU H M, GAO J Y. Reviews on varieties and genetic breeding of grapefruit[J]. Subtropical Plant Science, 2018, 47(2): 194-198. (in Chinese)
- [4] 刘福平, 王茜, 陈东奎, 廖惠红, 黄宏明, 汪妮娜, 黄其椿, 张兰, 曾少兰. 套袋对“桂葡萄柚 1 号”果实色泽和品质的影响[J]. 中国南方果树, 2021, 50(5): 64-67.
LIU F P, WANG X, CHEN D K, LIAO H H, HUANG H M, WANG N N, HUANG Q C, ZHANG L, ZENG S L. Effects of bagging on fruit color and quality of 'Grapefruit of Guipuyou No.1'[J]. South China Fruits, 2021, 50(5): 64-67. (in Chinese)
- [5] BAILEY D G, SPENCE J D, EDGAR B, BAYLIFF C D, ARNOLD J M. Ethanol enhances the hemodynamic effects of felodipine[J]. Clinical and Investigative Medicine, 1989, 12(6): 357-362.
- [6] KHALED S A, AHMED M D, FAWZY E. Effects of grapefruit and pomegranate juices on the pharmacokinetic properties of dapoxetine and midazolam in healthy subjects[J]. European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 2017, 42(3): 397-405.
- [7] SHANG D W, WANG Z Z, HU H T, ZHANG Y F, NI X J, LU H Y, ZHANG M, HU J Q, QIU C, PENG H, SHERN L F, WEN Y G. Effects of food and grapefruit juice on single-dose pharmacokinetics of blonanserin in healthy Chinese subjects[J]. European Journal of Clinical Pharmacology, 2018, 74(1): 61-67.
- [8] MURUNGA A N, MIRUKA D O, DRIVER C, NKOMO F S, COBONGELA SNAZO Z Z, OWIRA PETER M O. Grapefruit derived flavonoid naringin improves ketoacidosis and lipid peroxidation in type 1 diabetes rat model[J]. PloS One, 2016, 11(4): 1-16.
- [9] 王琦, 郑亚凤, 高慧颖, 余亚白. 葡萄柚果汁延缓果蝇衰老作用的研究[J]. 福建农业学报, 2013, 28(12): 1263-1266.
WANG Q, ZHENG Y F, GAO H Y, YU Y B. Effects of grapefruit juice on anti-aging for drosophila melanogaster[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2013, 28(12): 1263-1266. (in Chinese)
- [10] CHAUDHARY P R, BANG H, JAYAPRAKASHA G K, PATIL B S. Variation in key flavonoid biosynthetic enzymes and phytochemicals in 'Rio Red' grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) during fruit development[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(47): 9022-9032.
- [11] 廖惠红, 黄宏明, 王茜, 徐宁, 李一伟, 刘福平, 朱建武, 张尧良, 李果果, 汪妮娜, 陈东奎. “桂葡萄柚 1 号”在武鸣、扶绥和容县的种植表现及栽培技术[J]. 中国南方果树, 2018, 47(2): 154-155.
LIAO H H, HUANG H M, WANG X, XU N, LI Y W, LIU F P, ZHU J W, ZHANG Y L, LI G G, WANG N N, CHEN D K. Planting performance and cultivation techniques of 'Grapefruit of Guipuyou No. 1' in Wuming, Fusui and Rongxian[J]. South China Fruits, 2018, 47(2): 154-155. (in Chinese)
- [12] 钱瑞. 竹黄菌 (*Shiraia bambusicola* P. Hennings) veA 基因功能初步研究及代谢组学分析[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.
QIAN R. Function analysis of veA gene and metabonomics study of *Shiraia bambusicola* P. Hennings[D]. Guiyang: Guizhou University, 2019. (in Chinese)
- [13] 胡芯. 黑藻对铅胁迫的响应及其代谢组学研究[D]. 重庆: 西南大学, 2020.
HU X. Response of *Hydrilla verticillata* to the stress of lead and zinc and studies on its metabolomics[D]. Chongqing: Southwest University, 2020. (in Chinese)
- [14] CHEN W, GONG L, GUO Z L, WANG W S, ZHAN H Y, LIU X Q, YU S B, XIONG L Z, LUO J. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics[J]. Molecular Plant, 2013, 6(6): 1769-1780.
- [15] 李亚洁, 温志新, 孟楠, 李学军, 米锐, 都兴范. 柞蚕蛹培养蛹虫草不同时间后的代谢组分析[J]. 菌物学报, 2021,

- 40(5): 1023-1038.
- LI Y J, WEN Z X, MENG N, LI X J, MI R, DU X F. Metabolomic analyses of tussah pupa-cultivated cordyceps militaris at different growth stages[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(5): 1023-1038. (in Chinese)
- [16] ZHU G T, WANG S C, HUANG Z J, ZHANG S B, LIAO Q G, ZHANG C Z, LIN Tao, QIN M, PENG M, YANG C K, CAO X, HAN X, WANG X X, KNAAP E V D, ZHANG Z H, XIA CUI, HARRY K, ALISDAIR R F, LUO J, HUANG S W. Rewiring of the fruit netabolome in tomato breeding[J]. *Cell*, 2018, 172: 249-261.
- [17] 刘青. 营养液配方对盆栽水芹生长和品质的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2021.
- LIU Q. Effects of nutrient solution formula on growth and quality of the potted water dropwort (*Oenanthe stolonifera* (Roxb) Wall.)[D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2021. (in Chinese)
- [18] FRAGA C G, CLOWERS B H, MOORE R J, ZINK E M. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics[J]. *Analytical Chemistry*, 2010, 82(10): 4165-4173.
- [19] ERIKSSON I, JOHANSSON E, KETTANEH-WOLD N, WOLD S. Multi- and megavariate data analysis[J]. *Journal of Chemometrics*, 2002, 16(5): 261-262.
- [20] CHEN Y H, ZHANG R P, SONG Y M, HE J M, SUN J H, BAI J F, AN Z L, DONG L JK, ZHAN Q M, ABLIZ Z. RRLC-MS/MS-based metabonomics combined with in-depth analysis of metabolic correlation network: finding potential biomarkers for breast cancer[J]. *The Analyst*, 2009, 134(10): 2003-2011.
- [21] 赵玮, 赵利, 张建平, 齐燕妮, 王利民, 谢亚萍, 李闻娟, 党照, 袁明璐, 张艳萍. 转录组及代谢组联合解析胡麻根部对盐胁迫的响应机制[J]. *草业科学*, 2022, 39(6): 1151-1164.
- ZHAO W, ZHAO L, ZHANG J P, QI Y N, WANG L M, XIE Y P, LI W J, DANG Z, YUAN M L, ZHANG Y P. Conjoint transcriptome and metabolome analysis of the response mechanism of flax root to salt stress[J]. *Pratacultural Science*, 2022, 39(6): 1151-1164. (in Chinese)
- [22] 唐康, 李桂花, 郭巨先, 罗文龙, 骆善伟, 姜诗政, 符梅. 基于代谢组学的红菜薹和菜心茎部色泽差异成分比较[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(9): 137-143.
- TANG K, LI G H, GUO J X, LUO W L, LUO S W, JIANG S Z, FU M. Metabolomics-based comparison of color difference components in the stems of Hong Caitai and Caixin [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2023, 39(9): 137-143. (in Chinese)
- [23] OGATA H, GOTO S, SATO K, FUJIBUCHI W, BONO H, KANEHISA M. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27(1): 29-34.
- [24] 王岳, 钱井, 曹锦萍, 孙崇德. 柑橘 35 个品种果实黄酮类物质组分和含量分析[C]//中国园艺学会. 中国园艺学会 2018 年学术年会, 2018.
- WANG Y, QIAN J, CAO J P, SUN C D. Analysis of flavonoids composition and content in the fruits of 35 citrus varieties[C]//Chinese Horticultural Society. Abstracts of the 2018 Annual Academic Conference of the Chinese Horticultural Society, 2018. (in Chinese)
- [25] 万建. 柑橘果实中代谢产物的分布与自然变异[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- WAN J. Distribution and natural variation of metabolites in citrus fruits[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [26] 方波. 中国特有柚类资源类黄酮含量变化及抗氧化活性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- FANG B. The change of flavonoid composition and antioxidant activity of the endemic pummelos and grapefruits fruits cultivated in China[D]. Chongqing: Southwest University, 2013. (in Chinese)
- [27] 赵方杰, 廉喜红, 胡小平, 苏景文, 王启明, 赵平, 范三红, 商文静. 不同产地西洋参氨基酸种类及含量分析[J]. *西北农业学报*, 2020, 29(7): 1051-1058.
- ZHAO F J, LIAN X H, HU X P, SU J W, WANG Q M, ZHAO P, FAN S H, SHANG W J. Analysis of amino acid types and quantity of American ginseng in different planting areas[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2020, 29(7): 1051-1058. (in Chinese)
- [28] 李文云, 罗恽, 柏自琴, 王小柯, 李金强. 柠檬和宽皮柑橘果肉的氨基酸组成特征分析[J]. *贵州农业科学*, 2019, 47(7): 100-104.
- LI W Y, LUO Y, BAI Z Q, WANG X K, LI J Q. Study on composition characteristics of amino acids in pulp of lemon and loose-skin mandarin[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2019, 47(7): 100-104. (in Chinese)
- [29] 方林, 魏宁, 徐浩, 祖茂衡, 顾玉明, 张庆桥, 许伟, 崔艳峰, 张梦琦. 还原型谷胱甘肽在原发性肝癌介入治疗后保肝作用中的临床应用[J]. *介入放射学杂志*, 2017, 26(2): 169-172.
- FANG L, WEI N, XU H, ZU M H, GU Y M, ZHANG Q Q, XU W, CUI Y F, ZHANG M Q. Application of reduced glutathione in protecting liver function in HCC patients after interventional therapy: a clinical study[J]. *Journal of Interventional Radiology*, 2017, 26(2): 169-172. (in Chinese)
- [30] 何雅静, 张群琳, 谷利伟, 孙志高, 马亚琴. 柑橘中酚酸类化合物及其生物活性与机理的研究进展[J]. *食品与发*

- 酵工业, 2020, 46(15): 301-306.
- HE Y J, ZHANG Q L, GU L W, SUN Z G, MA Y Q. Research progress on phenolic acids in citrus and their biological activities and mechanisms[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(15): 301-306. (in Chinese)
- [31] 高媛, 马帅, 代敏, 王蒙, 冯晓元. 果蔬酚酸生物合成及代谢调控研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 286-293.
- GAO Y, MA S, DAI M, WANG M, FENG X Y. Progress in research on the biosynthesis pathway and metabolic regulation of phenolic acids[J]. Food Science, 2018, 39(9): 286-293. (in Chinese)
- [32] 牟蛟琳, 卢杨, 张哲惠, 叶俊丽, 邓秀新. 柑橘果实成熟过程中氨基酸、维生素 E 和脂质的动态分析[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(1): 115-123.
- MOU J L, LU Y, ZHANG Z H, YE J L, DENG X X. Analyzing dynamics of amino acid, vitamin E and lipids during fruit ripening in citrus[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2024, 43(1): 115-123. (in Chinese)
- [33] 董昕颖. 不同采收期尤力克柠檬果实营养品质及其抗氧化活性评价研究[D]. 重庆: 西南大学, 2019.
- DONG X Y. Evaluation of nutritional quality and antioxidant activity of Eureka lemon [*Citrus limon* (L.) Burm.f.] fruit in different harvest stages[D]. Chongqing: Southwest University, 2019. (in Chinese)
- [34] 徐贵华, 关荣发, 叶兴乾, 陈健初, 刘东红. 不同成熟期蜜桔中酚酸的组成与分布[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 137-141.
- XU G H, GUAN R F, YE X Q, CHEN J C, LIU D H. Composition and distribution of phenolic acids in Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) during maturity[J]. Food Science, 2008, 29(2): 137-141. (in Chinese)
- [35] 张耀海, 张念, 王成秋, 李晶, 赵希娟, 焦必宁. 基于超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱技术的柚果实不同成熟期生物活性成分的靶向筛查与定量[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(15): 279-287.
- ZHANG Y H, ZHANG N, WANG C Q, LI J, ZHAO X J, JIAO B N. Targeted screening and quantification of bioactive components of pomelo fruits at different maturity stages based on ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole-tandem mass spectrometry[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(15): 279-287. (in Chinese)
- [36] 但俊峰. 不同生长期柚果中功能性成分的分析研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- DAN J F. Research of the functional components in pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) fruits during growth periods[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008. (in Chinese)
- [37] 张念. 柚果实不同成熟期主要营养成分的变化规律[D]. 重庆: 西南大学, 2022.
- ZHANG N. Study on the change of nutrition and functional components in pummelo (*Citrus grandis* Osbeck) fruits during maturity Chongqing[D]. Chongqing: Southwest University, 2022. (in Chinese)
- [38] 刘淑桢, 韩静雯, 云泽, 王金秋, 徐娟, 张红艳, 邓秀新, 程运江. 国庆 1 号温州蜜柑果实成熟过程中极性代谢物的变化[J]. 中国农业科学, 2012, 45(21): 4437-4446.
- LIU S Z, HAN J W, YUN Z, WANG J Q, XU J, ZHANG H Y, DENG X X, CHENG Y J. Changes of polar metabolites in Guoqing No.1 satsuma mandarin during fruit Ripening[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(21): 4437-4446. (in Chinese)
- [39] 邹丽秋, 王彩霞, 匡雪君, 李滢, 孙超. 黄酮类化合物合成途径及合成生物学研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(22): 4124-4128.
- ZOU L Q, WANG C X, KUANG X J, LI Y, SUN C. Advance in flavonoids biosynthetic pathway and synthetic biology[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(22): 4124-4128. (in Chinese)
- [40] 尚军, 吴旺泽, 马永贵. 植物苯丙烷代谢途径[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2022, 38(11): 1467-1476.
- SHANG J, WU W Z, MA Y G. Phenylpropanoid metabolic pathway in plants[J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2022, 38 (11): 1467-1476. (in Chinese)