

牟蛟琳, 卢杨, 张哲惠, 等. 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.  
DOI: 10.13300/j.cnki.hnlkxb.2024.01.013

## 柑橘果实成熟过程中氨基酸、维生素E和脂质的动态分析

牟蛟琳<sup>1,2</sup>, 卢杨<sup>2</sup>, 张哲惠<sup>2</sup>, 叶俊丽<sup>2</sup>, 邓秀新<sup>2</sup>

1. 湖北民族大学生物资源保护与利用湖北省重点实验室/湖北民族大学林学院园艺学院, 恩施 445000;  
2. 华中农业大学园艺林学学院/果蔬园艺作物种质创新与利用全国重点实验室, 武汉 430070

**摘要** 为评价柑橘的抗氧化能力, 利用GC-MS、UPLC和LC-MS/MS分别检测了6个柑橘品种果实在成熟过程中三类代谢物的相对含量。结果显示, 柑橘果实以积累丝氨酸、脯氨酸和天冬氨酸为主, 苏氨酸在柑橘青果时期的积累尤为丰富, 且青果时期本地早橘汁胞中9种氨基酸的总含量最高; 对维生素E而言,  $\alpha$ -生育酚是柑橘中的主要异构形式, 在成熟期柑橘的有色层中积累丰富; 同时, 柑橘不积累 $\delta$ -生育酚且 $\gamma$ -生育酚只在柑橘有色层中积累; 共鉴定到的8大类176种脂质, 在柑橘果实中呈现出明显的时空分布特征, 且卵磷脂为柑橘的主要脂质形式。通过柑橘果实中三类物质含量间的相关性分析发现, 部分氨基酸与脂质存在高度正相关。

**关键词** 柑橘; 抗氧化活性; 氨基酸; 维生素E; 脂质; 积累特征

**中图分类号** S666 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2024)01-0115-09

柑橘(*Citrus*)是芸香科柑橘亚科的多年生被子植物, 广泛分布于季风气候区<sup>[1-2]</sup>。绝大多数商业栽培柑橘品种均属于柑橘属, 常见的经济柑橘类型有甜橙(*Citrus sinensis*)、宽皮柑橘(*C. reticulata*)、柠檬(*C. limon*)、金柑(*C. japonica*)、葡萄柚(*C. paradisi*)和柚(*C. grandis*)<sup>[3]</sup>。近年来, 全球柑橘类水果产量显著增加, 2021年其年产量已超7 500万t(<https://www.fao.org/faostat/zh/#data/QCL>)。

随着生活水平的提高, 人们越来越关注健康。有研究指出, 每天保证水果和蔬菜的充足摄入量有助于预防某些慢性疾病<sup>[4]</sup>。柑橘是我国南方第一大水果, 其果实富含多种与人体健康密切相关的营养物质, 包括糖类、蛋白质、维生素以及生物活性成分, 例如黄酮类、萜类、香豆素类等<sup>[5]</sup>。其中, 氨基酸、维生素、酚类化合物、萜类和脂类等具有较高的抗氧化活性, 在促进健康、预防和治疗各类慢性疾病方面表现出极为重要的药理学价值<sup>[6-7]</sup>。

氨基酸具有诸多生理功能, 由于其直接或间接地在环境与人类健康的相互作用中发挥重要作用而成为评价果实综合品质和营养价值的重要指标<sup>[8-9]</sup>。氨基酸在生物系统中含量丰富, 可作为主要抗氧化剂通过多种途径抑制氧化过程<sup>[10-11]</sup>。李文云等<sup>[9]</sup>对

柠檬和宽皮柑橘的汁胞进行了氨基酸组成特征分析, 共检测到9种氨基酸, 且发现柠檬汁胞中氨基酸种类和含量高于宽皮柑橘。陈源等<sup>[12]</sup>测定了茂谷橘橙、夏橙和柠檬3个柑橘品种果实不同部位的氨基酸含量, 发现柑橘果实中富含天冬氨酸、脯氨酸、谷氨酸, 果皮检测到的17种氨基酸总量及药效氨基酸总量均呈现有色层高于汁胞的特征, 说明柑橘不同部位的氨基酸组分和含量有较大差异。

$\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\delta$ -和 $\gamma$ -生育酚是4种天然脂溶性抗氧化化合物, 它们统称为维生素E<sup>[13]</sup>, 是人体正常代谢所必需的微量营养素。在4种生育酚中,  $\alpha$ -生育酚对人体健康是最重要的, 因为它具有较高的活性<sup>[14]</sup>。维生素E作为外源性和膳食来源的抗氧化剂能有效地清除自由基, 在预防自由基介导的氧化应激反应中起着关键作用<sup>[15-16]</sup>。Jorge等<sup>[17]</sup>对4个甜橙品种种子中的生育酚进行了提取和检测, 发现 $\alpha$ -生育酚的含量高达135.65 mg/kg。

脂类在能量、碳储备、信号转导以及胁迫应答中起着尤为重要的作用<sup>[18]</sup>。植物中的脂类包括甘油三酯、卵磷脂、半乳糖脂和鞘脂几类<sup>[19]</sup>。其中, 卵磷脂因具备较强的抗氧化能力且兼具毒副作用小、来源丰富、价格适中等特点, 有望成为植物新型抗氧化因

收稿日期: 2022-10-26

基金项目: 国家现代农业柑橘产业技术体系(CARS-26)

牟蛟琳, E-mail: moujiaolin@hbmzu.edu.cn

通信作者: 邓秀新, E-mail: xxdeng@mail.hzau.edu.cn

子<sup>[20]</sup>。Güney等<sup>[21]</sup>比较了5个金柑品种中的脂质、脂肪酸和挥发性成分。Wan等<sup>[22]</sup>利用纽荷尔脐橙的1对蜡质突变体进行了脂质组学的研究,结合转录组学分析,挖掘到了多个与柑橘蜡质和膜脂合成相关的酶和转录因子。

目前,植物性食品的抗氧化能力已被视为对人体健康有益的指标<sup>[23]</sup>,但对植物抗氧化能力的研究仍未建立科学系统的评价体系。代谢组学的兴起为柑橘类水果抗氧化活性的科学评价提供了新思路。本研究分别从6大类柑橘中各选取1个代表性品种为研究对象,利用靶向代谢组学的检测方法,采用3种不同的代谢检测手段对不同柑橘品种发育过程中的有色层和汁胞进行重要抗氧化性代谢物的综合分析;对3类具有抗氧化活性物质(氨基酸、维生素E和脂类)时空积累特征进行表征,以期建立精准评价柑橘抗氧化活性的代谢方法和解析柑橘抗氧化代谢物的生理机制奠定基础,为消费者选择抗氧化活性的天然膳食以及育种工作者培育高抗氧化活性柑橘新品种提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料及取样

从柚类、酸橙类、甜橙类、柑类、橘类、柠檬枸橼类中分别选取高班柚(*C. grandis* cv. 'Gaoban')、代代酸橙(*C. aurantium* cv. 'Daidai')、夏橙(*C. sinensis* cv. 'Valencia')、稻叶温州蜜柑(*C. unshiu* cv. 'Daoye')、本地早橘(*C. chuana* cv. 'Bendizao')、尤力克柠檬(*C. limon* cv. 'Eureka') 6个柑橘品种(种植于华中农业大学国家柑橘育种中心),分别于2019年各品种的花后90和210 d采集未成熟(青果)和成熟(黄果)果实,每个样品均有3个生物学重复。用无菌手术刀将果实分割成有色层和汁胞2个部分。用冻干机(美国, Labconco FreeZone)将所有样品冷冻干燥,用液氮研磨成粉末,然后储存在-80℃超低温冰箱中,备用。

### 1.2 试剂和药品

色谱级的甲醇、MTBE、乙腈均购于Merck(德国,达姆施塔特);ddH<sub>2</sub>O取自Milli-Q ULTRA纯化系统(Millipore, Vimodrone, 意大利);核糖醇、MST-FA、 $\alpha$ -生育酚、 $\delta$ -生育酚和 $\gamma$ -生育酚的标准品购自Sigma公司(美国,密苏里州圣路易斯);其他试剂:盐酸羟胺、吡啶、BHT、无水乙醇、氢氧化钾、正己烷、BNT、TEA、醋酸胺、异丙醇均购自国药集团。

### 1.3 氨基酸的提取与GC-MS检测分析

利用华中农业大学气相色谱-质谱联用仪(GC-MS, Thermo, ISQ II, 美国),参照宋鑫等<sup>[24]</sup>方法提取和检测氨基酸成分。GC-MS得到的结果与Wiley Registry和NIST数据库中的标准谱图进行比对以确定不同氨基酸种类。对于匹配度小于90%的离子峰,依据碎片信息和保留时间进一步比较分析。

### 1.4 维生素E的提取和UPLC检测分析

利用超高效液相色谱仪(UPLC, Waters, 美国),参照Chander等<sup>[13]</sup>方法提取和检测维生素E。维生素E的定量采用六点标准曲线的外标法。维生素E的定性根据保留时间和光电二极管检测器上的吸收光谱与标准品进行比较而确定。

### 1.5 脂质的提取与LC-MS检测分析

利用5600 plus Accurate Mass Q-TOF(AB SCIEX, 美国)质谱仪系统,参照Wan等<sup>[22]</sup>方法提取和检测脂质组分。数据采用Analyst TF 1.7(美国SCIEX公司)和Multi Quant TM获取,使用软件Peak View 2.0进行处理。利用软件Lipid View 2.0获取准确的分子质量和碎片化离子信息,生成1个内部的数据库。根据前期的研究,基于保留时间、准确的 $m/z$ 和碎片离子模式鉴定脂类物质。

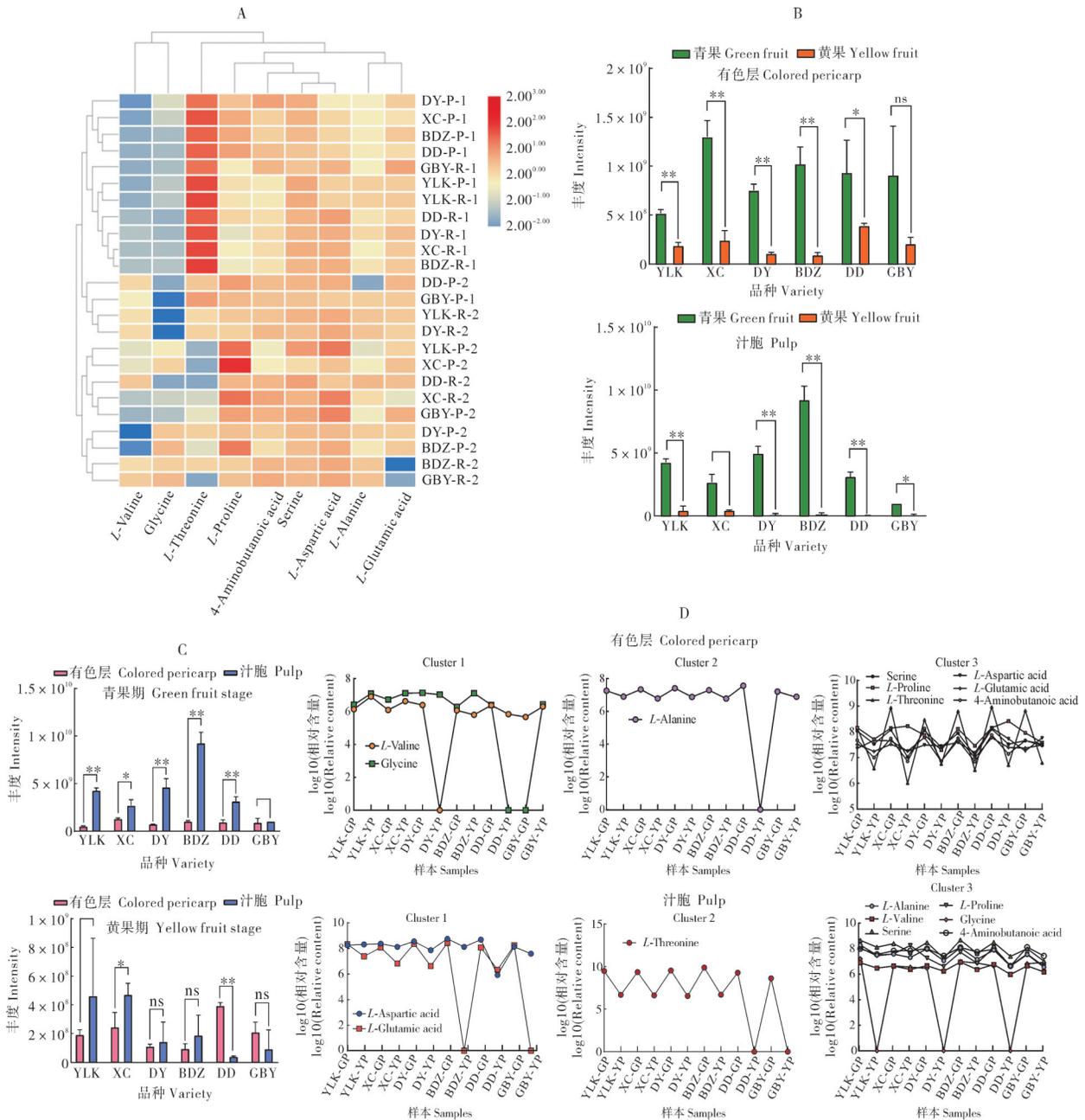
### 1.6 数据处理

文中数据均为除去空白对照或内标后的原始数据。本文所生成的代谢数据集共包括12 784个相对含量值(6个品种×3个生物学重复×188个代谢物×2个时期×2个组织,其中青果时期的高班柚汁胞为1个重复,青果时期的尤力克有色层和汁胞均为2个重复)。氨基酸的总相对含量即为9种氨基酸相对含量数值的总和。氨基酸的K均值聚类分析利用软件MeV,在欧式距离水平上进行。显著性分析和图形绘制使用软件GraphPad Prism 9,热图和主成分分析图形绘制使用软件TBtools。

## 2 结果与分析

### 2.1 氨基酸在柑橘果实发育过程中的积累特征

运用GC-MS对6个柑橘品种果实(有色层和汁胞)成熟过程中的氨基酸含量进行了检测,共鉴定到9种氨基酸,其中以丝氨酸、脯氨酸和天冬氨酸积累为主。苏氨酸在柑橘青果时期的积累尤为丰富,且氨基酸在柑橘中的积累特征呈现出较强的发育时期特异性,这种特异性强于空间和品种特异性(图1A)。



A: 氨基酸相对含量的热图和聚类分析。P-1 表示青果有色层, P-2 表示黄果有色层, R-1 表示青果汁胞, R-2 表示黄果汁胞; B: 不同时期 9 种氨基酸总相对含量的比较; C: 不同组织 9 种氨基酸总相对含量的比较; D: 不同氨基酸含量变化的 K 均值分析。GP 表示青果有色层, GR 表示青果汁胞, YP 表示黄果有色层, YR 表示黄果汁胞。\* 表示在 0.05 水平具有显著差异, \*\* 表示在 0.01 水平具有显著差异, ns 表示没有显著差异。DY 表示稻叶温州蜜柑, BDZ 表示本地早橘, YLK 表示尤力克柠檬, GBY 表示高班柚, DD 表示代代酸橙, XC 表示夏橙。下同。A: The heat map and clustering analysis in relative content of amino acids. P-1 represents colored pericarp in green fruit period, P-2 represents colored pericarp in yellow fruit period, R-1 represents pulp in green fruit period, R-2 represents pulp in yellow fruit period; B: In different periods, the comparison in total relative content of nine amino acids; C: In different tissues, the comparison in total relative content of nine amino acids; D: K-means analysis on change in content of different amino acids. GP represents colored pericarp in green fruit period, GR represents pulp in green fruit period, YP represents colored pericarp in yellow fruit period, YR represents pulp in yellow fruit period. \* represents significant difference at 0.05 level; \*\* represents significant difference at 0.01 level; ns represents no significant difference; DY represents *C. unshiu* cv. 'Daoye', BDZ represents *C. chuana* cv. 'Bendizao', YLK represents *C. limon* cv. 'Eureka', GBY represents *C. grandis* cv. 'Gao-ban', DD represents *C. aurantium* cv. 'Daidai', XC represents *C. sinensis* cv. 'Valencia'. The same as follows.

图 1 6 个柑橘品种青果和黄果的氨基酸积累特征

Fig.1 The accumulation characteristic of amino acids of green fruit and yellow fruit of six *Citrus* varieties

在时间维度上,9种氨基酸的总含量在柑橘各品种间的变化趋势几乎一致,不论是在有色层还是汁胞中,含量均随着果实的成熟而下降,且在除高班柚以外的5个品种中下降趋势显著(图1B)。在空间维度上,9种氨基酸的总含量在青果时期的汁胞中均高于在有色层中的含量(图1C)。总体上,9种氨基酸的总含量在青果时期的本地早橘汁胞中最高,在黄果时期代酸橙的汁胞中最低。

为进一步分析各氨基酸含量的变化趋势,根据相对含量的变化规律,通过K均值聚类将有色层和汁胞中所检测到的9种氨基酸各聚成3个簇。在有色层中,Cluster 1为缬氨酸和甘氨酸,Cluster 2为丙氨酸,另外6种氨基酸在Cluster 3中;在汁胞中,Cluster 1为天冬氨酸和谷氨酸,Cluster 2为苏氨酸,Cluster 3为其余6种氨基酸。缬氨酸与甘氨酸、天冬氨酸与谷氨酸在柑橘果实发育过程中变化趋势一致。另外,汁胞中9种氨基酸含量的变化趋势与9种氨基酸

总量的变化趋势均保持一致。但对于有色层而言,存在相对含量随果实成熟而上升的氨基酸类型,例如脯氨酸、天冬氨酸和谷氨酸(图1D)。

## 2.2 维生素E在柑橘果实发育过程中的积累特征

利用UPLC测定了6个柑橘品种果实(有色层和汁胞)发育过程中3种生育酚( $\alpha$ -生育酚、 $\delta$ -生育酚、 $\gamma$ -生育酚)的相对含量,其中 $\delta$ -生育酚在上述柑橘品种中均未被检测到。2个时期的柑橘汁胞中均未检测到 $\gamma$ -生育酚; $\gamma$ -生育酚在本地早橘、稻叶温州蜜柑和尤力克柠檬的未成熟有色层中也仅有少量积累。随着果实的成熟,各柑橘品种有色层中均检测到高积累的 $\gamma$ -生育酚,品种间差异较大,稻叶温州蜜柑成熟有色层中的含量是尤力克柠檬成熟有色层中含量的11.36倍。 $\alpha$ -生育酚是柑橘中含量最高的维生素E异构体形式,主要在成熟时期的有色层中积累,其含量随着果实的成熟呈上升趋势,与总生育酚含量变化趋势保持一致(表1)。

表1 维生素E在不同时期有色层和汁胞中的相对含量

Table 1 Relative content of vitamin E in colored pericarp and pulp at different periods

样本 Samples	$\alpha$ -Tocopherol-R	$\alpha$ -Tocopherol-P	$\gamma$ -Tocopherol-R	$\gamma$ -Tocopherol-P
BDZ-1	54 524.67 $\pm$ 15 836.55a	77 224.33 $\pm$ 22 356.72a	0.00	9 567.67 $\pm$ 3 136.16a
BDZ-2	236 720.67 $\pm$ 67 284.12b	460 623.33 $\pm$ 199 791.80b	0.00	373 672.33 $\pm$ 151 666.89b
DD-1	28 274.67 $\pm$ 2 315.24a	14 892.67 $\pm$ 5 114.03a	0.00	0.00a
DD-2	42 655.00 $\pm$ 21 052.50a	761 058.67 $\pm$ 114 371.10b	0.00	569 369.33 $\pm$ 103 310.56b
GBY-1	0.00a	33 743.67 $\pm$ 14 128.68a	0.00	0.00a
GBY-2	52 737.67 $\pm$ 9 737.53b	428 137.33 $\pm$ 110 596.34b	0.00	324 608.67 $\pm$ 188 866.22b
DY-1	36 318.67 $\pm$ 4 917.68a	189 454.33 $\pm$ 41 911.88a	0.00	75 671.67 $\pm$ 47 754.87a
DY-2	243 016.67 $\pm$ 135 515.83b	790 518.33 $\pm$ 128 851.29b	0.00	835 939.00 $\pm$ 48 062.67b
XC-1	38 192.00 $\pm$ 2 597.16a	73 557.67 $\pm$ 16 917.96a	0.00	0.00a
XC-2	128 729.00 $\pm$ 146 733.27b	433 099.33 $\pm$ 15 346.55b	0.00	285 507.67 $\pm$ 32 343.27b
YLK-1	58 179.50 $\pm$ 884.50a	86 130.50 $\pm$ 1 037.50a	0.00	6 582.00 $\pm$ 977.00a
YLK-2	173 230.33 $\pm$ 97 735.53b	1 029 413.67 $\pm$ 94 067.81b	0.00	73 567.33 $\pm$ 18 520.92b

注:“-1”:青果时期,“-2”:黄果时期;“R”:汁胞,“P”:有色层;差异显著性比较为同一品种2个时期之间的比较( $P < 0.05$ )。Note:“-1”represents the period of green fruits;“-2” represents the period of yellow fruits;“R” represents pulp;“P” represents colored pericarp. The comparison of significant difference was conducted between the same variety at two periods ( $P < 0.05$ ).

## 2.3 脂类物质在柑橘果实发育过程中的积累特征

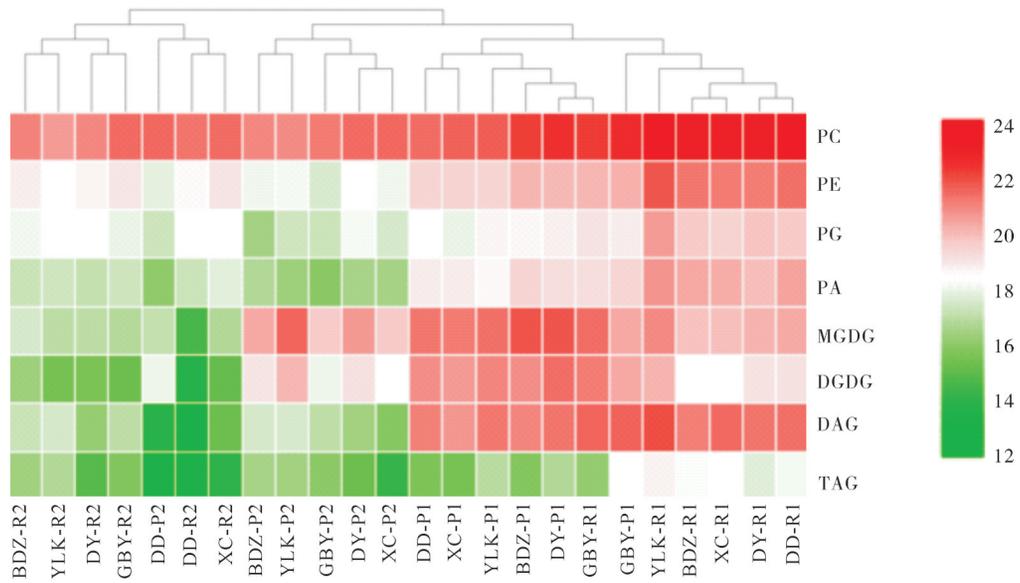
通过UPLC-MS/MS检测,共鉴定到8大类176种脂类物质,脂类物质相对总含量的变化规律与氨基酸类似,随着果实的成熟而含量降低。脂类物质相对总含量的热图和聚类分析结果显示:卵磷脂(PC)是柑橘中主要的脂类物质;甘油三酯(TAG)在柑橘果实中含量较少;甘油二酯(DAG)在2个发育时期的柑橘果实中呈现的差异积累特征较其他脂质更为明显;单半乳糖甘油二酯(MGDG)和双半乳糖甘油二酯(DGDG)在柑橘果实成熟时期仅在有色层

中高积累,而磷脂酰乙醇胺(PE)仅在汁胞中高积累(图2)。

进一步利用主成分分析(PCA),发现不同组织和不同生长发育期的柑橘品种基于上述脂类物质可明显区分开,脂类物质在柑橘中呈现出明显的时空特异性。且这6个柑橘品种在青果时期的组织特异性要强于在黄果期(图3)。

## 2.4 柑橘果实发育过程中三类代谢物含量的相关性

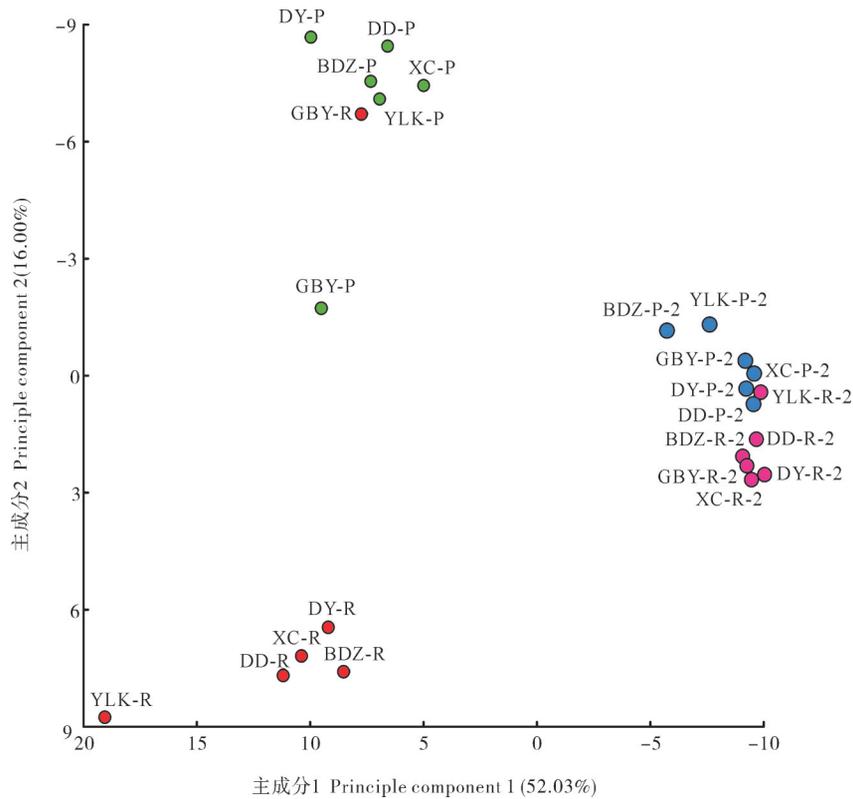
氨基酸、维生素E和脂质在柑橘果实发育过程中



PC: 卵磷脂; PE: 磷脂酰乙醇胺; PG: 磷脂酰甘油; PA: 磷酸; MGDG: 单半乳糖甘油二酯; DGDG: 双半乳糖甘油二酯; DAG: 甘油二酯; TAG: 甘油三酯。R1: 青果时期汁胞, R2: 黄果时期汁胞, P1: 青果时期有色层; P2: 黄果时期有色层。PC: Phosphatidylcholine; PE: Phosphatidylethanolamine; PG: Pphosphatidylglycerol; PA: Pphosphatidic acid; MGDG: Mono-galactosyl diglyceride; DGDG: Di-galactosyl diglyceride; DAG: Diglyceride; TAG: Triglycerides. R1: Pulp in green fruit period; R2: Pulp in yellow fruit period; P1: Colored pericarp in green fruit period; P2: Colored pericarp in yellow fruit period.

图 2 八类脂质的总相对含量在柑橘果实发育过程中的热图和聚类分析

Fig.2 The heat map and cluster analysis of the relative total content of eight types of lipids in developmental citrus



圆点表示青果期, R表示汁胞, P表示有色层。The dot represents the green fruit period, R represents the pulp, P represents the pericarp.

图 3 脂类物质的相对含量在柑橘果实发育过程中的主成分分析

Fig.3 The PCA analysis on relative content of lipids in developmental citrus

的动态变化特征并不完全一致,脂质和氨基酸的相对含量均随着柑橘果实的成熟而下降,而维生素E的变化趋势则与前两者相反。这种变化规律在6种不同类型柑橘中完全一致。三类物质含量间的相关性分析结果显示,部分氨基酸与脂质间存在较高正相

关性,例如:丙氨酸、缬氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸与卵磷脂(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰甘油(PG)和磷脂酸(PA)均具有较高的相关系数 $R(0.61\sim 0.95)$ (图4),表明这两类物质的代谢过程间存在紧密关联。

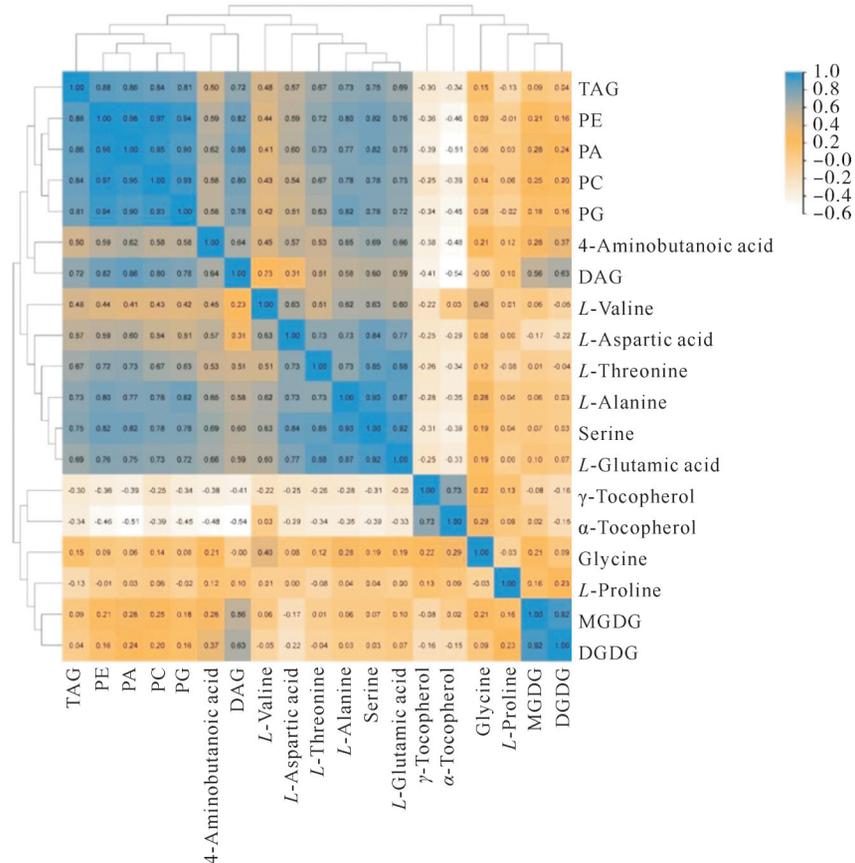


图4 三类代谢物相对含量在柑橘样品中的相关性分析

Fig.4 Correlation analysis in the relative content of three types of metabolites in citrus samples

### 3 讨论

氨基酸、维生素E和脂质是植物体中三类重要代谢物,它们均具有抗氧化活性且相互之间紧密相关。氨基酸作为初级代谢物之一,是一系列次级代谢物合成的前体。酪氨酸经一系列酶促反应后即可合成维生素E,而氨基酸和脂类物质之间也可通过丙酮酸和乙酰CoA等中间物质进行相互转换<sup>[25-26]</sup>。这三类物质在植物生长发育过程中不仅具有供能、信号转导和胁迫响应等功能,其较强的抗氧化活性也一直备受关注。

本研究中,不同柑橘品种果实均检测到丰富的氨基酸积累,分析其积累特征对评价柑橘的抗氧化活性具有重要意义。柑橘未成熟果和成熟果中的氨基酸积累存在明显差异,氨基酸的总含量随着果实

的成熟而降低,这与前人对发育过程中柑橘氨基酸含量的检测分析结果基本一致。董昕颖<sup>[27]</sup>对尤力克柠檬全年生长发育阶段进行氨基酸检测,发现果皮和果肉中17种氨基酸的总含量均随着成熟度的增加而下降。宿明月<sup>[28]</sup>对南丰蜜桔整个成熟过程中的氨基酸进行了定量测定,发现果肉和果皮中必需氨基酸含量在成熟过程中先呈下降趋势,成熟中期含量有所升高,最后随着蜜桔成熟度增加而显著下降。由于本研究只选取了青果和黄果2个时期,中间发育过程中氨基酸含量的变化趋势并不能得出准确结果。青果时期,苏氨酸的相对含量在果实中所占比重较高;而当果实成熟,有色层中的脯氨酸和汁胞中的天冬氨酸则占据较高比重。该结果与前人对不同柑橘品种汁胞中氨基酸的检测分析结果一致<sup>[29-30]</sup>。同时,本研究还发现,青果期汁胞中的氨基酸相对含

量均高于有色层,这与刘淑桢等<sup>[31]</sup>在国庆一号温州蜜柑中的研究结果一致。有色层中脯氨酸的相对含量随着果实的成熟而增加,这可能与保持细胞渗透压有关。一般认为,脯氨酸在植物抵抗盐胁迫和水分胁迫中发挥着重要的生理调节作用<sup>[32]</sup>。因此,它可能在参与果皮响应外界生物和非生物胁迫过程中发挥着重要作用。

$\alpha$ -生育酚通常是活性最高且在人体内优先转运的天然维生素 E 组分<sup>[33]</sup>。本研究在 6 个柑橘品种的果实中均检测到  $\alpha$ -生育酚, $\alpha$ -生育酚为含量最高的维生素 E 异构体形式,存在于柑橘多个组织中。较高含量的  $\alpha$ -生育酚有助于柑橘果实更好地参与抗氧化过程,同时也提高了柑橘在人体营养方面的利用价值。由于  $\alpha$ -生育酚在柑橘果实中主要分布于有色层,因此,该物质在柑橘中可能更多地是作为一种外源抗氧化剂、而非膳食性抗氧化剂发挥其功能。生育酚除在光合膜中发挥抗氧化功能外,还可能影响着植物多种生理过程。前期研究表明,缺乏生育酚的植物在光合同化产物的合成和运输、叶片衰老以及对非生物胁迫的反应等方面都会受到影响<sup>[34]</sup>。不同的维生素 E 异构体(尤其是  $\alpha$ -生育酚和  $\gamma$ -生育酚)有着特定的功能。例如,CAM 植物在缺水状态下能诱导叶片中  $\gamma$ -生育酚的积累<sup>[35]</sup>。柑橘中的  $\alpha$ -生育酚和  $\gamma$ -生育酚有着不同的积累模式, $\gamma$ -生育酚只在有色层中积累,因此,它极有可能承担响应生物和非生物胁迫的生理功能。

目前对柑橘果实脂质的研究主要集中在其对采后品质的影响。本试验探究了柑橘果实成熟过程中不同部位脂类物质的积累和变化规律,发现不同柑橘品种果实中脂类物质含量均随着果实成熟而显著降低。脂类物质合成的前体脂肪酸通常在水果、蔬菜和某些谷物中参与类胡萝卜素的酯化反应<sup>[36]</sup>。而柑橘果实成熟过程中类胡萝卜素大量积累,该过程可能伴随着脂肪酸的消耗,从而导致脂质代谢流合成下降。同时,本研究发现在柑橘青果时期,汁胞中脂类物质的相对总含量高于有色层;而到黄果时期,则出现相反趋势。因此,柑橘果实成熟过程中是否存在脂类物质由汁胞向有色层的转移以满足有色层抵抗环境胁迫或类胡萝卜素酯化合成的需求也值得后续探究。

## 参考文献 References

- [1] ASAI T, MATSUKAWA T, KAJIYAMA S. Metabolomic analysis of primary metabolites in *Citrus* leaf during defense responses[J]. Journal of bioscience and bioengineering, 2017, 123(3): 376-381.
- [2] WU G A, TEROL J, IBANEZ V, et al. Genomics of the origin and evolution of *Citrus* [J]. Nature, 2018, 554(7692): 311-316.
- [3] WANG X, XU Y T, ZHANG S Q, et al. Genomic analyses of primitive, wild and cultivated *Citrus* varieties provide insights into asexual reproduction [J]. Nature genetics, 2017, 49(5): 765-772.
- [4] DE LUCA I, DI MARI C, MORTARA M, et al. Effectiveness of nutritional counselling to increase fruit and vegetable daily intake and make dietary changes long term habits: an observational study on the population afferent in the nutritional outpatient of the Food Hygiene and Nutrition Unit of Department of Prevention Local Health Authority n. 5-Turin 2018 [J]. Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases, 2020, 30(3): 535-536.
- [5] 刘圣超, 孙志栋, 陈山乔. 采后柑橘营养成分代谢组学研究进展[J]. 宁波农业科技, 2019(4): 18-22. LIU S C, SUN Z D, CHEN S Q. Advances in metabolomics of postharvest citrus nutrients[J]. Ningbo agricultural science and technology, 2019(4): 18-22(in Chinese).
- [6] ZOU Z, XI W P, HU Y, et al. Antioxidant activity of *Citrus* fruits[J]. Food chemistry, 2016, 196: 885-896.
- [7] 程勇杰, 陈小伟, 张沙沙, 等. 柘树植物醇素中氨基酸分析及抗氧化性能研究 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(6): 1-12. CHENG Y J, CHEN X W, ZHANG S S, et al. Analysis of amino acids and *in vitro* antioxidant activity of *Cudrania tricuspidata* Jiaosu [J]. Food industry science and technology, 2018, 39(6): 1-12 (in Chinese with English abstract).
- [8] KUMAR V, SHARMA A, KAUR R, et al. Differential distribution of amino acids in plants[J]. Amino acids, 2017, 49(5): 821-869.
- [9] 李文云, 罗怿, 柏自琴, 等. 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, et al. 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 with English abstract).
- [10] PEIXOTO J A B, ÁLVAREZ-RIVERA G, ALVES R C, et al. Comprehensive phenolic and free amino acid analysis of rosemary infusions: influence on the antioxidant potential [J/OL]. Antioxidants, 2021, 10(3): 500 [2022-10-26]. <https://doi.org/10.3390/antiox10030500>.
- [11] GUIDEA A, ZĂGREAN-TUZA C, MOT A C, et al. Comprehensive evaluation of radical scavenging, reducing power

- and chelating capacity of free proteinogenic amino acids using spectroscopic assays and multivariate exploratory techniques [J/OL]. *Spectrochimica acta part A: molecular and biomolecular spectroscopy*, 2020, 233: 118158 [2022-10-26]. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118158>.
- [12] 陈源, 余亚白, 钱爱萍, 等. 柑橘果实不同部位氨基酸的测定与分析[J]. *山地农业生物学报*, 2012, 31(5): 389-392. CHEN Y, YU Y B, QIAN A P, et al. Determination of amino acids in different parts of *Citrus* fruit [J]. *Journal of mountain agriculture and biology*, 2012, 31(5): 389-392 (in Chinese with English abstract).
- [13] CHANDER S, GUO Y Q, YANG X H, et al. Genetic dissection of tocopherol content and composition in maize grain using quantitative trait loci analysis and the candidate gene approach [J]. *Molecular breeding*, 2018, 22: 353-365.
- [14] KAMAL-ELDIN A, APPELQVIST L Å. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols [J]. *Lipids*, 1996, 31(7): 671-701.
- [15] SHALABY A. Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action [J]. *African journal of pharmacy and pharmacology*, 2013, 7(10): 528-539.
- [16] MALIK A, EGGERSDORFER M, TRILOK-KUMAR G. Vitamin E status in healthy population in Asia: a review of current literature [J]. *International journal for vitamin and nutrition research*, 2021, 91(3/4): 356-369.
- [17] JORGE N, SILVA A C, ARANHA C P M. Antioxidant activity of oils extracted from orange (*Citrus sinensis*) seeds [J]. *Anais da academia brasileira de ciencias*, 2016, 88 (2): 951-958.
- [18] 姚楠. 植物脂质生物学进展[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(12): 1747. YAO N. Advances in plant lipid biology [J]. *Plant physiology journal*, 2018, 54(12): 1747 (in Chinese).
- [19] SUH M C, HAHNE G, LIU J R, et al. Plant lipid biology and biotechnology [J]. *Plant cell reports*, 2015, 34(4): 517-518.
- [20] 宫璇, 齐筱莹, 赵志康, 等. 卵磷脂及复合物的功能活性研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(6): 295-299. GONG X, QI X Y, ZHAO Z K, et al. Research progress on the functional activity of lecithin and lecithin complex [J]. *Food and fermentation industries*, 2021, 47(6): 295-299 (in Chinese with English abstract).
- [21] GÜNEY M, OZ A T, KAFKAS E. Comparison of lipids, fatty acids and volatile compounds of various kumquat species using HS/GC/MS/FID techniques [J]. *Journal of the science of food and agriculture*, 2015, 95(6): 1268-1273.
- [22] WAN H L, LIU H B, ZHANG J Y, et al. Lipidomic and transcriptomic analysis reveals reallocation of carbon flux from cuticular wax into plastid membrane lipids in a glossy "Newhall" navel orange mutant [J/OL]. *Horticulture research*, 2020, 7: 41 [2022-10-26]. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-0262-z>.
- [23] PRIOR R L, WU X L. Diet antioxidant capacity: relationships to oxidative stress and health [J]. *American journal of biomedical sciences*, 2013, 5(2): 126-139.
- [24] 宋鑫, 谭丰全, 张苗, 等. '纽荷尔'脐橙与'尤力克'柠檬间体细胞杂种的代谢特征分析[J]. *园艺学报*, 2019, 46(1): 37-46. SONG X, TAN F Q, ZHANG M, et al. Metabolic characteristics of interspecific allotetraploid somatic hybrid between 'Newhall' navel orange and 'Eureka' lemon [J]. *Acta horticulturae sinica*, 2019, 46(1): 37-46 (in Chinese with English abstract).
- [25] GARCIA I, RODGERS M, PEPIN R, et al. Characterization and subcellular compartmentation of recombinant 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase from *Arabidopsis* in transgenic tobacco [J]. *Plant physiology*, 1999, 119(4): 1507-1516.
- [26] MIRET J A, MUNNÉ-BOSCH S. Plant amino acid-derived vitamins: biosynthesis and function [J]. *Amino acids*, 2014, 46(4): 809-824.
- [27] 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 with English abstract).
- [28] 宿明月. 基于色谱质谱联用技术探究不同生长时期南丰蜜桔成分的变化及桔皮茶的工艺研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2022. SU M Y. Studies on the change of different growth stages about the components of Nanfeng tangerine based on chromatography-mass spectrometry technology and the processing craft of orange peel tea [D]. Nanchang: Nanchang University, 2022 (in Chinese with English abstract).
- [29] 何莎莎. 不同类型柑橘果实氨基酸组成分析及“三度”法营养价值评价[D]. 重庆: 西南大学, 2018. HE S S. The analysis of amino acid composition of different types of *Citrus* fruits and evaluation of nutritional value with "three degree" method [D]. Chongqing: Southwest University, 2018 (in Chinese with English abstract).
- [30] 张迪, 谢鸿根, 潘鹤立, 等. 不同品种柑橘果肉中氨基酸的测定与分析[J]. *亚热带植物科学*, 2018, 47(4): 322-326. ZHANG D, XIE H G, PAN H L, et al. Determination and analysis of amino acids in pulp of different *Citrus* cultivars [J]. *Subtropical plant science*, 2018, 47(4): 322-326 (in Chinese with English abstract).
- [31] 刘淑枫, 韩静雯, 云泽, 等. 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, et al. Changes of polar metabolites in guoqing No. 1 Satsuma mandarin during fruit ripening [J]. *Scientia agricultura sinica*, 2012, 45(21): 4437-4446 (in Chinese with English abstract).
- [32] SCHAUER N, ZAMIR D, FERNIE A R. Metabolic profiling of leaves and fruit of wild species tomato: a survey of the *Sola-*

- nun lycopersicum* complex[J]. Journal of experimental botany, 2005, 56(410): 297-307.
- [33] FALK J, MUNNÉ-BOSCH S. Tocochromanol functions in plants: antioxidation and beyond [J]. Journal of experimental botany, 2010, 61(6): 1549-1566.
- [34] CHUN J, LEE J S, YE L, et al. Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet [J]. Journal of food composition and analysis, 2006, 19(2): 196-204.
- [35] CELA J, ARROM L, MUNNÉ-BOSCH S. Diurnal changes in photosystem II photochemistry, photoprotective compounds and stress-related phytohormones in the CAM plant, *Aptenia cordifolia* [J]. Plant science, 2009, 177(5): 404-410.
- [36] WATKINS J L, LI M, MCQUINN R P, et al. A GDSL esterase/lipase catalyzes the esterification of lutein in bread wheat [J]. The plant cell, 2019, 31(12): 3092-3112.

## Analyzing dynamics of amino acid, vitamin E and lipids during fruit ripening in *Citrus*

MOU Jiaolin<sup>1,2</sup>, LU Yang<sup>2</sup>, ZHANG Zhehui<sup>2</sup>, YE Junli<sup>2</sup>, DENG Xiuxin<sup>2</sup>

1. Hubei Key Laboratory of Biologic Resources Protection and Utilization, Hubei Minzu University/  
College of Forestry and Horticulture, Hubei Minzu University, Enshi 445000, China;

2. National Key Laboratory for Germplasm Innovation and Utilization of Horticultural Crops/  
College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** Amino acids, vitamin E and lipids are three classes of metabolites with antioxidant activity. GC-MS, UPLC, and LC-MS/MS were used to detect the relative content of three types of metabolites in the fruits of six *Citrus* varieties during the ripening process to analyze the dynamic changes of amino acids, vitamin E, and lipids during the ripening process of citrus fruits and evaluate the antioxidant activity of citrus. The results showed that citrus fruits mainly accumulated serine, proline, and aspartic acid, while threonine was particularly abundant during the green fruit stage of citrus. The total content of nine amino acids in green pulp of *C. chuana* 'Bendizao' (BDZ) during the green fruit stage was the highest. For vitamin E,  $\alpha$ -tocopherol is the main isomeric form in citrus, which accumulates abundantly in mature colored pericarp. Additionally, citrus fruits did not accumulate  $\delta$ -tocopherol, and  $\gamma$ -tocopherol only accumulated in the colored pericarp of citrus. A total of 8 major categories (176 species) of lipids were identified and showed significant characteristics of spatiotemporal distribution in citrus fruits, with phosphatidylcholine being the main form of lipids in citrus. It was found that some amino acids are highly positively correlated with lipids through correlation analysis of the content of three types of metabolites in citrus fruits. It will have a guiding significance for the improvement of quality in citrus varieties.

**Keywords** *Citrus*; antioxidant activity; amino acids; vitamin E; lipids; characteristics of accumulation

(责任编辑: 张志钰)