

王祖权, 谭玉龙, 郭银楠, 等. 代谢组学分析揭示成熟前后小粒咖啡果皮黄酮和类胡萝卜素差异 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(7): 32–41. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024080277

WANG Zuquan, TAN Yulong, GUO Yinnan, et al. Metabolomic Analysis Reveals Differences in Flavonoids and Carotenoids in the Peel of *Coffea arabica* L. before and after Ripeness[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(7): 32–41. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024080277

·特邀主编专栏—咖啡、可可、茶等特色饮料作物加工（客座主编：董文江、许勇泉、付才力）·

代谢组学分析揭示成熟前后小粒咖啡 果皮黄酮和类胡萝卜素差异

王祖权^{1,2}, 谭玉龙^{1,2,*}, 郭银楠^{1,2}, 谢纯^{1,2}, 李学俊^{1,2}, 杜华波^{1,2}, 俞思莹^{1,2}, 张传利^{1,2,*}

(1. 云南农业大学热带作物学院, 云南普洱 665099;

2. 云南省咖啡重点实验室, 云南普洱 665099)

摘要: 探究小粒种咖啡果皮在成熟前后黄酮和类胡萝卜素代谢产物的变化及其在着色机制中的作用。采用超高效液相色谱-串联高分辨质谱代谢组学分析方法, 并结合主成分分析、正交偏最小二乘判别分析和聚类分析, 对成熟前后果皮中的黄酮和类胡萝卜素代谢产物进行特征分析。共鉴定出 234 种黄酮类代谢物和 40 种类胡萝卜素代谢物, 其中黄酮醇 (81 种) 和叶黄素 (34 种) 分别为主要类型。成熟后果皮中类胡萝卜素含量显著下降, 总黄酮含量变化不大, 但花色苷积累模式相反。叶黄素和 β -类胡萝卜素在早期积累与绿色着色相关, 而矢车菊素衍生物则促进成熟果皮的红色着色。此外, 八氢番茄红素和六氢番茄红素在成熟果皮中特有积累。本研究解析了小粒种咖啡果皮成熟前后黄酮和类胡萝卜素积累与着色之间的关系, 为咖啡果皮着色机制提供了新视角, 并为咖啡副产品的加工利用及健康功能食品的开发提供了理论依据。

关键词: 小粒种咖啡, 咖啡果皮代谢组学, 代谢物积累, 黄酮类化合物, 类胡萝卜素积累

中图分类号: S571.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)07-0032-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024080277

本文网刊:



Metabolomic Analysis Reveals Differences in Flavonoids and Carotenoids in the Peel of *Coffea arabica* L. before and after Ripeness

WANG Zuquan^{1,2}, TAN Yulong^{1,2,*}, GUO Yinnan^{1,2}, XIE Chun^{1,2}, LI Xuejun^{1,2}, DU Huabo^{1,2},
YU Siying^{1,2}, ZHANG Chuanli^{1,2,*}

(1. College of Tropical Crops, Yunnan Agricultural University, Pu'er 665099, China;

2. Yunnan Provincial Key Laboratory of Coffee, Pu'er 665099, China)

Abstract: This study examined the changes in flavonoid and carotenoid metabolites in the peel of *Coffea arabica* L. in mature and immature stages and their roles in coloration. Ultra-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was employed to analyze the metabolite profiles, in combination with principal component analysis (PCA), orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), and clustering analysis. A total of 234 flavonoid metabolites and 40 carotenoid metabolites were detected, with flavonols (81 species) and lutein (34 species) being the most abundant. The total carotenoid content in the peel decreased significantly after ripening, while the total flavonoid content remained relatively stable, although anthocyanin accumulation showed the opposite pattern. Lutein and β -carotene accumulation in unripe peels were linked to green coloration, while cyanidin derivatives contributed to red

收稿日期: 2024-08-23 +并列第一作者

基金项目: 云南省科技厅农业联合专项 (202101BD070001-072); 云南省科技厅重大科技专项 (202102AA100010-003); 云南省科技厅重大科技专项 (202102AA310045-003); 云南省专家工作站 (202305AF150125); 2024 年大学生创新创业训练计划省级重点领域支持项目 (S202410676006)。

作者简介: 王祖权 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 咖啡果实品质成分分析与产品内在机制研究, E-mail: 2602416578@qq.com。

谭玉龙 (1995-), 男, 本科, 研究方向: 咖啡果实品质成分分析, E-mail: 17889101804@163.com。

* 通信作者: 张传利 (1980-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 热带作物品质形成机制及产品内在机理研究, E-mail: 2007078@ynau.edu.cn。

coloration in ripe peels. Furthermore, unique accumulations of phytoene and phytofluene were observed in the ripe peels. This study elucidates the relationship between flavonoid and carotenoid accumulation and peel coloration during the ripening of *Coffea arabica* L. and provides new insights into the mechanisms underlying coffee peel coloration, offering a theoretical foundation for the utilization of coffee by-products and the development of functional foods.

Key words: *Coffea arabica* L.; coffee peels metabolomics; metabolite accumulation; flavonoids; carotenoid accumulation

咖啡植物属于茜草科 (Rubiaceae) 咖啡属 (*Coffea*), 有 130 多个公认的品种^[1]。在国际市场中, 小粒咖啡 (*Coffea arabica* L.) 和中粒咖啡 (*Coffea canephora* L.) 占据主导地位^[2]。小粒种咖啡 (*Coffea arabica* L.) 品种起源于埃塞俄比亚高原的热带雨林中^[1], 其含有丰富生物活性的化学物质^[3], 例如绿原酸^[4]、咖啡因^[5]、三尖杉碱^[6]等。云南咖啡产业经过多年发展, 已基本形成完整的产业链, 种植面积、产量、农业产值均占全国的 98% 以上, 面积和产量分别占全球 0.82% 和 1.08%, 成为中国第一大咖啡产区^[7]。果皮作为初级副产物, 约占咖啡鲜果的 45%^[8]。云南小粒种咖啡大部分采取湿法加工法生产水洗咖啡, 据调查, 一般加工 1 吨咖啡鲜果产生 0.5 吨皮渣(包括果皮、果肉), 云南咖啡种植区每年咖啡鲜果处理加工产生皮渣约 39.68 万吨, 加工后易造成浪费和污染^[9-10]。咖啡果皮里面含有丰富的营养成分, 其主要成分是纤维素、蛋白质和总糖, 脂肪酸含量占咖啡果皮的 5.411%~6.752%^[11]。成熟状态下小粒种咖啡的果皮呈鲜红色, 所以又称“樱桃”^[12]。在采摘小粒种咖啡果实时, 绿色果实会产生涩味, 直接影响饮料的质量^[13], 而“樱桃”果实颜色是成熟度良好的标志, 与咖啡饮料中优质风味的发展相关, 并且成熟咖啡果实都具有影响最终产品的数量和质量上的特定特征^[14]。植物呈现出丰富的色泽主要为花青素、类胡萝卜素、生物碱等色素决定^[15]。外部颜色不同的特定咖啡品种的副产品有可能被用作独特生物活性化合物的来源, 包括花青素和类胡萝卜素, 对人体健康有益^[16]。因此, 了解小粒种咖啡成熟前后果皮着色和相关代谢产物积累机制, 不仅对改进咖啡加工和提高产品质量具有重要意义, 还能为开发高附加值的咖啡副产品提供科学依据。

代谢组学是生物组学中新发展起来的一门重要学科, 在植物代谢产物的分析和鉴定领域广泛应用^[17], 可以系统阐明咖啡内生物活性物质的重要性。例如 Li 等^[18]采用液相色谱-串联质谱联用技术 (Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, LC-MS/MS) 方法研究了四个果实成熟期的黄酮类化合物的研究。Shen 等^[19]利用代谢组学研究不同初级加工方法对小粒种咖啡风味的影响。Hu 等^[20]利用核磁共振氢谱 (1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 1H NMR) 检测与偏最小二乘判别分析 (Partial Least Squares Discriminant Analysis, PLS-DA) 相结合, 分析八种不同成熟度的咖啡青豆和果肉中成熟度标记物的含量, 阐明咖啡果成熟

过程中糖类、5-咖啡酰奎宁酸 (5-Caffeoylquinic Acid, 5-CQA)、咖啡因和葫芦巴碱的变化, 并进一步讨论它们可能具有的生物学功能以及对杯测评分的影响。尽管目前采用代谢组学技术对咖啡的研究越来越多, 但小粒咖啡果皮成熟前后的着色及其代谢产物的差异、动态变化和关键代谢途径的报道较少。在小粒种咖啡果皮副产品开发应用上, 对果皮代谢调控机制的全面了解, 为深度开发果皮营养和品质提供一定的参考价值。

因此, 本研究采用超高效液相色谱串联质谱 (Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, UPLC-MS/MS) 代谢组学技术, 以卡蒂姆 (*Catimor*) 品系 PT 品种的小粒种咖啡果皮为材料, 系统分析了绿熟期时的绿果皮 (Green Peel, GP) 和完熟期时的红紫果皮 (Red-Purple Peel, RPP) 的黄酮和类胡萝卜素代谢特征。本研究通过揭示不同成熟阶段果皮着色机制及其代谢物积累的动态变化, 旨在为咖啡果皮的高效利用、食品加工及健康功能食品开发提供科学依据, 同时为果皮色泽定向遗传育种提供理论支持和数据支撑。这一研究不仅能够丰富咖啡副产品的应用价值, 还能为推动食品领域的咖啡技术创新和副产品多样化提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

本研究以卡蒂姆 (*Catimor*) 品系 PT 品种咖啡鲜果果皮为材料, 绿果皮标记为 GP (GP-1, GP-2, GP-3), 红紫果皮标记为 RPP (RPP-1, RPP-2, RPP-3); 样本种植于云南农业大学热带作物学院咖啡种质资源圃 (101°04'30.26" E, 22°45'08.52" N), 样品的采集遵循生物学重复 3 次的原则。采集的样品立刻放置液氮中, 带回实验室分离果皮, 保存在 -80 °C 冰箱中备用, 一部分用于理化指标测定, 一部分用于代谢组学测定。甲醇、乙腈、乙醇 色谱级, 德国 Merk 公司; 甲酸、2,6-二叔丁基对甲酚 (BHT) 上海 Aladdin 公司; 丙酮 国药集团化学试剂有限公司; 氯化钠 上海易恩化学技术有限公司; 氢氧化钾 上海沪试实验室器材股份有限公司; 甲基叔丁基醚、正己烷 CNW 公司; 二氯甲烷 ThermoFisher 公司。

Scientz-100F 冻干机 中国宁波新芝生物科技股份有限公司; MM 400 Retsch 研磨仪 弗尔德 (上海) 仪器设备有限公司; ExionLC™ AD 超高效液相色谱 SCIEX 上海爱博才思分析仪器贸易有限公司; Applied Biosystems 4500 QTRAP 三重四级杆质

谱仪 赛默飞世尔(上海)科技公司; Agilent SB-C₁₈ 色谱柱(1.8 μm , 2.1 mm $\times$ 100 mm) 安捷伦科技(中国)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 总类胡萝卜素、总叶绿素、总花色苷和总黄酮的测定 参考杜永梅等^[21]的方法测定总类胡萝卜素含量,参考 NY/T 3082-2017《水果、蔬菜及其制品中叶绿素含量的测定 分光光度法》^[22]测定总叶绿素含量,采用 pH 示差法测定总花色苷含量,参考陈蓬凤等^[23]的方法测定总黄酮含量。

1.2.2 代谢物的测定 数据采集仪器系统由超高效液相色谱(Ultra performance liquid chromatography, UPLC)和串联质谱(Tandem mass spectrometry, MS/MS)组成。

1.2.2.1 类胡萝卜素测定样品前处理 将保存的样本进行研磨后用 0.5 mL 含 0.01% BHT(g/mL)的正己烷/丙酮/乙醇混合溶液(1:1:1, v/v/v)进行提取;室温下涡旋 20 min 后,4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,12000 r/min,离心 5 min,取上清,重复提取一次后离心合并上清液;将得到的提取液浓缩后,用 100 μL 二氯甲烷复溶,过 0.22 μm 滤膜后进行超高效液相色谱和串联质谱的上机检测^[24-26]。

1.2.2.2 类胡萝卜素代谢物测定液相色谱条件 色谱柱: YMC C₃₀(3 μm , 100 mm $\times$ 2.0 mm i.d.); 流动相: A 相, 甲醇/乙腈(1:3, v/v)加入 0.01% BHT 和 0.1% 甲酸; B 相, 甲基叔丁基醚加入 0.01% BHT; 梯度洗脱程序: 0 min A/B 为 100:0(V/V), 3 min 为 100:0(V/V), 5 min 为 30:70(V/V), 9 min 为 5:95(V/V), 10 min 为 100:0(V/V), 11 min 为 100:0(V/V); 流速 0.8 mL/min; 柱温 28 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 2 μL 。

1.2.2.3 类胡萝卜素代谢物测定质谱条件 大气压化学离子源(Amospheric Pressure Chemical Ionization Source, APCI)温度 350 $^{\circ}\text{C}$, 气帘气(Curtain Gas, CUR)25 psi。在 Q-Trap 6500+中,每个离子对是根据优化的去簇电压(Declustering Potential, DP)和碰撞能(Collision Energy, CE)进行扫描检测^[25,27-28]。

1.2.2.4 类胡萝卜素的标准曲线和样本含量测定 配制 0.001、0.005、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50、100、250、400 $\mu\text{g/mL}$ 浓度的类胡萝卜素标准品溶液,获取各个浓度标准品的对应定量信号的色谱峰强度数据;以标准品浓度(Concentration)为横坐标,标准品峰面积(Area)为纵坐标,绘制不同物质的标准曲线。将检测到的所有样本的积分峰面积代入标准曲线线性方程进行计算,进一步代入公式计算后,最终得到实际样本中该物质的含量数据。

$$W = \frac{c \times V \times 0.001}{m}$$

式中: W: 样本中类胡萝卜素的含量($\mu\text{g/g}$); c: 样

本中积分峰面积代入标准曲线得到的浓度值($\mu\text{g/mL}$); V: 复溶时所用溶液的体积(μL), 0.001 是将 V 从 μL 转换为 mL 的换算系数; m: 称取的样本质量(g)。

1.2.2.5 黄酮类代谢物测定样品前处理 研磨后的样本加入 1200 μL -20 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 70% 甲醇水内标提取液,每 30 min 涡旋一次,每次持续 30 s,共涡旋 6 次。离心(转速 12000 r/min, 3 min)后,吸取上清,用微孔滤膜(0.22 μm pore size)过滤样品,并保存于进样瓶中,用于 UPLC-MS/MS 分析。

1.2.2.6 黄酮类代谢物测定液相条件 流动相 A 相为超纯水(加入 0.1% 的甲酸), B 相为乙腈(加入 0.1% 的甲酸);洗脱梯度: 0 min 时 B 相比比例为 5%, 9.00 min 内 B 相比比例线性增加到 95%,并维持在 95% 1 min, 10.00~11.10 min, B 相比比例降为 5%,并以 5% 平衡至 14 min; 流速 0.35 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量 4 μL 。

1.2.2.7 黄酮类代谢物测定质谱条件 电喷雾离子源(Electrospray Ionization, ESI)温度 550 $^{\circ}\text{C}$; 离子喷雾电压(IS)5500 V(正离子模式)/-4500 V(负离子模式); 离子源气体 I(GSI), 气体 II(GSII)和气帘气(CUR)分别设置为 50、60 和 25 psi, 碰撞诱导电离参数设置为高。QQQ 扫描使用 MRM 模式,并将碰撞气体(氮气)设置为中等。通过进一步的去簇电压(Declustering Potential, DP)和碰撞能(Collision Energy, CE)优化,完成了各个 MRM 离子对的 DP 和 CE。根据每个时期内洗脱的代谢物,在每个时期监测一组特定的 MRM 离子对^[29]。

1.3 质控分析

质控样本是由 2 组成熟前后小粒种咖啡果皮的提取物等量混合制备而成,3 个重复,与分析样本采用相同的方法处理和检测。在仪器检测的过程中,每 10 个检测分析样本中插入 1 个质控样本,以考察整个分析过程的重复性。

1.4 数据处理

数据使用 Excel 2016、GraphPad Prism 10、R(v4.3.1)SPSS 26.0 整理分析和作图。显著性分析采用且 t 检验(t -test)的 P 值(P -value)小于 0.05。利用软件 Analyst 1.6.3 处理质谱数据。基于迈维代谢自建数据库(Metware Database, MWDB),对样本的代谢物进行了质谱定性定量分析。通过三重四级杆筛选出每个物质的特征离子,在检测器中获得特征离子的信号强度(CPS),用 MultiQuant 软件打开样本下机质谱文件,进行色谱峰的积分和校正工作,每个色谱峰的峰面积(Area)代表对应物质的相对含量,最后导出所有色谱峰面积积分数据保存。差异代谢物的筛选采用正交偏最小二乘法判别分析(Orthoonaal Partial Least Squares-Discriminant Analysis, OPLS-DA)模型的变量投影重要性(Variable Importance in the Projection, VIP)和差异倍数筛选

(Fold Change, FC)。差异代谢物的筛选标准: $VIP \geq 1$ 、 $FC \geq 2$ 或 ≤ 0.5 。

2 结果与分析

2.1 成熟前后小粒种咖啡鲜果皮色泽变化分析

小粒种咖啡在成熟前后果皮的色泽差异显著,从 GP 阶段到过熟期 RPP 阶段发生了明显变化(图 1)。这种色泽转变与其内部的代谢变化密切相关,小粒种咖啡红紫果为绿果的成熟后期,本研究通过检测成熟前后的果皮色素含量(mg/g)如图 1 所示,发现总叶绿素、总类胡萝卜素含量显著($P < 0.05$)下降,尤其是叶绿素 a,表明其在 GP 到 RPP 阶段的光合作用能力逐步减弱,这一现象可能与果实发育和能量储存方式转变相关。总花青素和总黄酮含量在 RPP 相对于 GP 显著上升,说明果实成熟时果皮的抗氧化物质合成代谢增强。

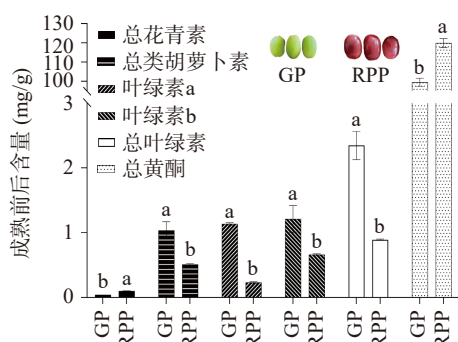


图 1 小粒种咖啡鲜果皮样品与相关理化指标含量变化

Fig.1 Changes in the content of fresh *Coffea arabica* peel samples and related physicochemical indicators

注: 小写英文字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 质控样本

质控样本总离子流图(图 2)结果显示代谢物检测总离子流的曲线重叠性高,即保留时间和峰强度均一致,表明质谱对同一样品不同时间检测时,信号稳定性较好。仪器的高稳定性为数据的重复性和可靠性提供了重要的保障。

2.3 样本相关性分析

使用皮尔逊相关系数 r 对组间和组内样本数据进行整体性分析如图 3 所示,组间相关系数在 0.13~0.22,而组内关系在 0.87~0.99,组内相关系数大于 0.87,通常认为系数 r 在 0.8 以上具有相关性。红紫果皮为绿果皮的成熟期,从两种果皮的相关系数也可以看出两种果皮间差异性大,并且组内样本重复性好。

2.4 成熟前后小粒种咖啡果皮代谢物组成分析

基于 MWDB 数据库对代谢物进行定量和定性分析。如表 1、图 4A 所示,成熟前后的小粒种咖啡果皮黄酮和类胡萝卜素正离子模式检测共检测到 274 种代谢物。其中包括 81 种黄酮醇、58 种黄酮、34 种叶黄素、25 种黄烷醇类、20 种二氢黄酮、12 种二氢黄酮醇、11 种查耳酮、10 种花青素、10 种其他

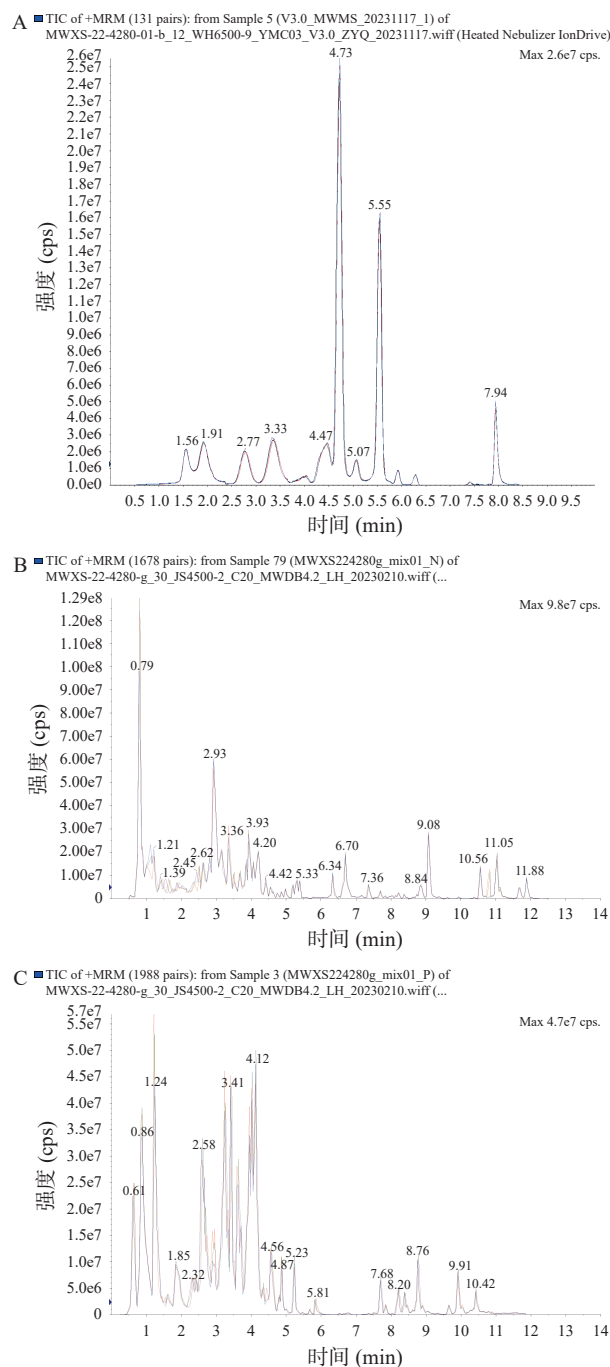


图 2 质控样本类胡萝卜素与黄酮类代谢物的总离子流图的叠加图

Fig.2 Overlay plot of total ion current (TIC) for carotenoid metabolites and flavonoid metabolites in quality control samples
注: A 类胡萝卜素总离子流图的叠加图; B 黄酮类代谢物(-)总离子流图重叠图; C (+)总离子流图。

类黄酮、7 种异黄酮和 6 种胡萝卜素。结果表明小粒种咖啡成熟前后类黄酮中主要以黄酮醇、黄酮类物质为主,黄烷醇类和二氢黄酮次之,花青素和异黄酮等其他类黄酮最少,而类胡萝卜素中主要以胡萝卜素为主。利用 R(v4.3.1)的 stats 3.5.1 程序包通过 UV 标准化的方法进行主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)。结果如图 4B 所示,成熟前后(GP、RPP)以及质控样本 QC 置信椭圆在 PCA 图上分离得较远,且椭圆内部的数据点相对集中,说明组间分

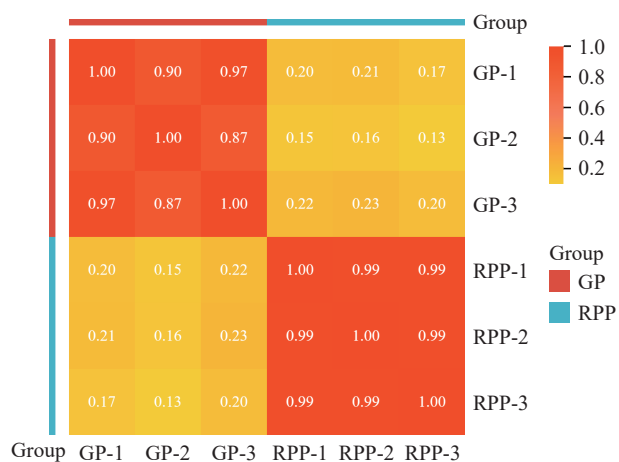


图3 样本相关性分析

Fig.3 Sample correlation analysis

离明显, 组内差异小。这可能是由于 GP 和 RPP 是成熟度不一致, 导致差异代谢物有所差别。随后对样本代谢物的相对含量进行 R(v4.3.1) 中 Complex-Heatmap 2.12.0 程序包绘制聚类热图进行层次聚类分析 (Hierarchical Clustering Analysis, HCA), 如图 4C 所示。聚类结果与 PCA 结果一致, GP、RPP 明显分为两簇, 表明成熟前后样本的代谢物存在显著

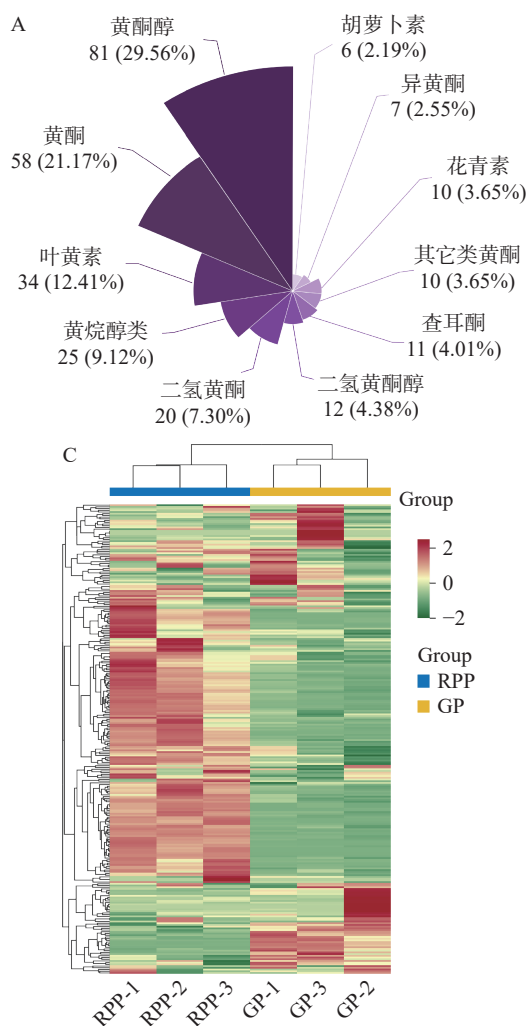


图4 小粒种咖啡成熟前后果皮中代谢物的组成

Fig.4 Composition of metabolites in the peel of *Coffea arabica* before and after maturation

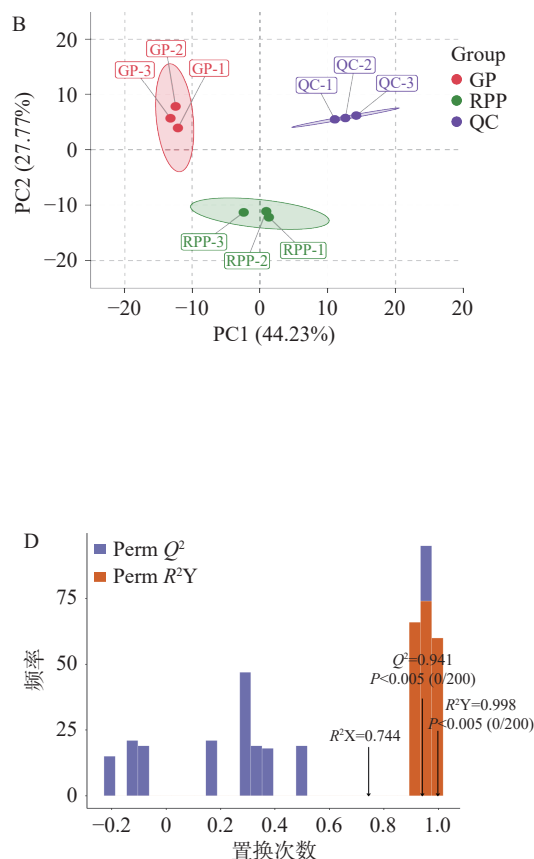
表1 果皮中代谢物鉴定

Table 1 Verification of metabolites in peel

代谢物类别	模式	代谢物数量	鉴定级别			
			Level 1	Level 2	Level 3	Level
黄酮类代谢物	正离子	234	40	40	154	N/A
类胡萝卜素代谢物	正离子	40	N/A	N/A	N/A	40

注: Level 1: 样本物质二级质谱(物质所有碎片离子)、RT与数据库物质匹配得分0.7分以上; Level 2: 样本物质二级质谱(物质所有碎片离子)、RT与数据库物质匹配得分0.5~0.7分; Level 3: 样本物质Q1、Q3、RT、DP、CE与数据库物质核对一致; N/A代表不适用。

差异。果皮中代谢物的组成表现出其代谢物的总体情况, 为了具体了解成熟前后的具体差异代谢物。通过 R(v4.3.1) 用 MetaboAnalystR 1.0.1 进行正交偏最小二乘法判别分析(Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis, OPLS-DA)多元统计方法筛选差异变量和去除不相关的差异。 R^2X 、 R^2Y 和 Q^2 分别表示所建模型对 X 和 Y 矩阵的解释率、模型的预测能力, R^2Y 和 Q^2 越接近 1 说明模型越稳定。由图 4D 可知小粒种咖啡成熟前后的果皮 R^2Y 为 1, Q^2 为 0.941。说明本研究模型是高稳定性和强预测性的模型, 可以通过 OPLS-DA 得到的 VIP 值进行差异代谢物的筛选。



2.5 成熟前后小粒种咖啡果皮中的差异代谢物

通过上述代谢物在不同样本间 PCA 和 HCA 分析结果知道 GP 与 RPP 存在不同的代谢积累模式。本研究基于 OPLS-DA 模型结合差异倍数 (Fold Change, FC) 共同筛选差异代谢物, 具体筛选条件为差异倍数变化 $FC \geq 2$ 和 $FC \leq 0.5$, 且投影中的变量重要性 (Variable Importance in Projection, VIP) ≥ 1 。对小粒种咖啡果皮成熟前后的差异代谢物进行分析, 共有 116 种差异代谢物, 黄酮中占比最高的为 38 种黄酮醇, 类胡萝卜素占比最高的为叶黄素。火山图可以清晰明确地观察代谢物积累程度的差异情况, 如图 5 所示。其中上调 94 种, 下调 22 种, 黄酮醇类代谢物 (38 种) 在上调差异代谢物中占比最高。查耳酮、二氢黄酮、二氢黄酮醇、花青素和黄酮醇都在上调代谢物中, 而胡萝卜素都为下调代谢物。在上调代谢物差异倍数前五中花青素类就占了 4 种, 分别是矢车菊素-3-O-芸香糖苷 ($|\log_2 FC| = 12.60$)、矢车菊素-3-O-半乳糖苷 ($|\log_2 FC| = 11.96$)、矢车菊素-3-O-

葡萄糖苷 ($|\log_2 FC| = 11.17$) 和矢车菊素-3-O-桑布双糖苷 ($|\log_2 FC| = 7.39$)。在这些下调代谢物中黄酮类的金圣草黄素-7-O-葡萄糖苷 ($|\log_2 FC| = 11.54$) 的下调程度最大, 而下调差异代谢物中占比最高的为叶黄素 (12 种), $|\log_2 FC|$ 大于 2 的类胡萝卜素 16 种, 最高的为玉米黄质-月桂酸酯-肉豆蔻酸酯 ($|\log_2 FC| = 9.64$)。结果表明, 在小粒种咖啡成熟前后果皮中黄酮的黄酮醇类和花青素类以及类胡萝卜素中的叶黄素变化明显, 需要注意的是黄酮类化合物中的花青素上调程度大和叶黄素的下调程度大, 这可能是成熟前后果皮颜色变化的原因, 为了验证这个结果, 本研究对花青素和类胡萝卜素代谢物定量进行深入探讨。

2.6 成熟前后小粒种咖啡果皮花青素分析

在黄酮物质中, 花青素在植物着色中承担着重要的角色。小粒种咖啡果皮所检测的代谢物中, 总共检测到 10 种花青素 (表 2)。在小粒种咖啡成熟前后的果皮中, 6 种花青素都存在差异积累增加。其中通过绿色与红色组间花青素对比, 可以看出, 相比于

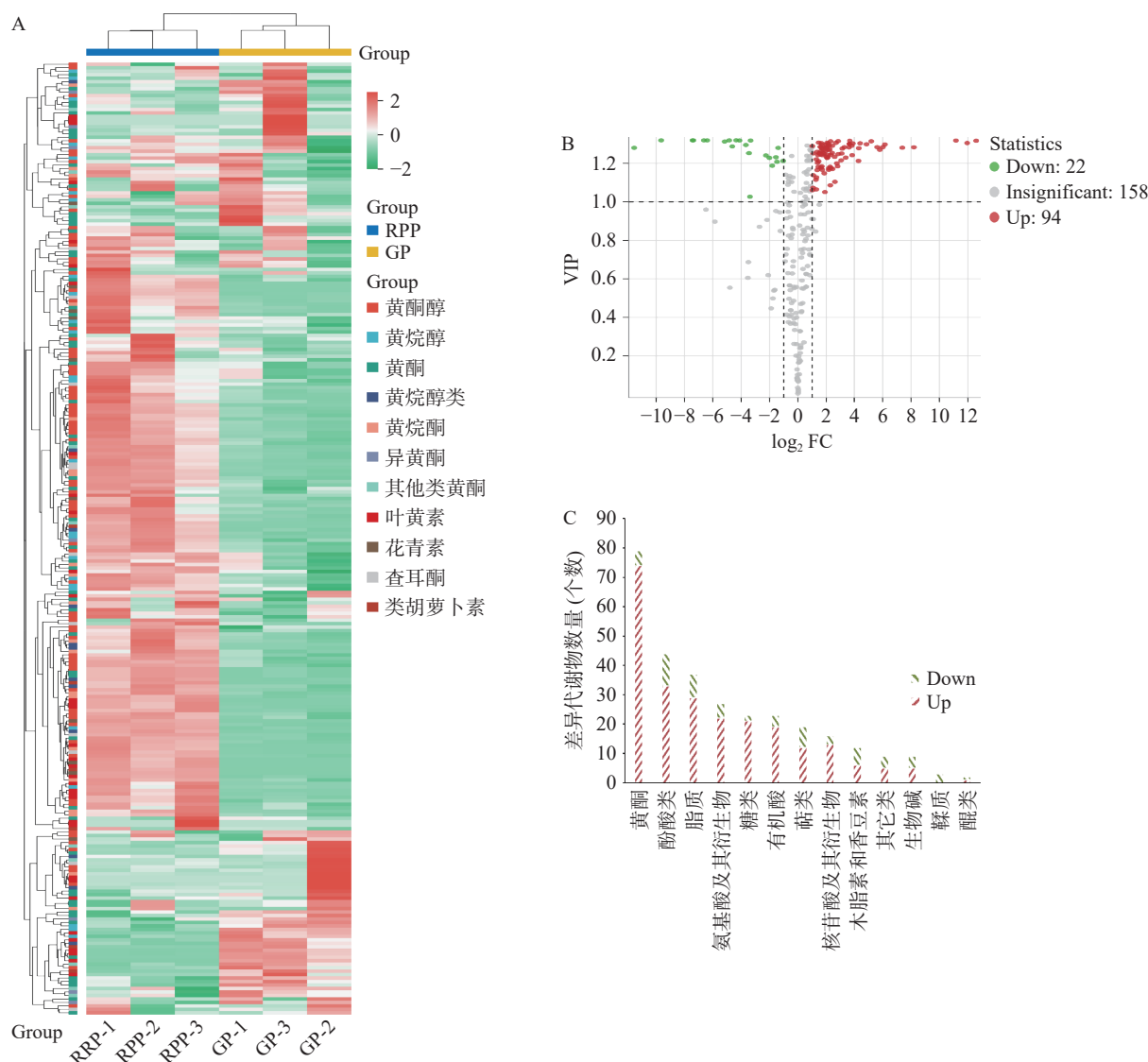


图 5 小粒种咖啡成熟前后差异代谢物概况

Fig.5 Overview of differential metabolites in *Coffea arabica* before and after maturation

GP, RPP 存在 6 种花青素差异积累。其中矢车菊素-3-O-芸香糖苷、矢车菊素-3-O-半乳糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-桑布双糖苷 4 种花青素积累含量和差异倍数最高。

表 2 小粒种咖啡果皮成熟前后花青素的积累差异情况
Table 2 Differences in anthocyanin accumulation before and after ripening pericarp of *Coffea arabica*

代谢物名称	离子丰度		差异倍数(取以2为底的对数)
	GP	RPP	
矢车菊素-3-O-(6"-O-咖啡酰)葡萄糖苷	2204901.67	11069952.46	2.33
矢车菊素-3-O-芸香糖苷	9684.89	59993936.30	12.60
矢车菊素-3-O-半乳糖苷	36528.33	145393702.63	11.96
矢车菊素-3-O-桑布双糖苷	6732.95	1129385.42	7.39
矢车菊素-3-O-(6"-O-对香豆酰)葡萄糖苷	75400.79	363035.33	2.27
矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	59066.24	135489988.70	11.16
飞燕草素-3-O-(6"-O-对香豆酰)葡萄糖苷	2149618.31	1894798.47	0.88
飞燕草素-3-O-(2"-O-对香豆酰)芸香糖苷	47268.74	61083.61	1.29
飞燕草素-3-O-(2"-O-对香豆酰)芸香糖苷-5-O-葡萄糖苷	22505.00	18684.01	0.83
牵牛花素-3-O-(6"-O-对香豆酰)葡萄糖苷	5802263.94	9314823.89	1.60

2.7 成熟前后小粒种咖啡的类胡萝卜素成分定量分析

对成熟前后的类胡萝卜素进行检测,去观测成熟前后的胡萝卜素各种成分之间的变化。本研究中对成熟过程中的类胡萝卜素定量结果中,共检测到 38 种类胡萝卜素成分(表 3)。大部分的类胡萝卜素含量在 GP 中都高于 RPP,而总类胡萝卜素含量为 GP(79.54 μg/g)>RPP(21.28 μg/g)。类胡萝卜素主要有叶黄素和 β-类胡萝卜素组成。在本研究中叶黄素的含量最高,分别为 GP(61.15±6.32 μg/g)、RPP(4.81±0.39 μg/g)。β-胡萝卜素在 GP(3.64±0.58 μg/g)含量高,造成这样的原因可能与果皮发育息息相关。而根据成熟前后的类胡萝卜素总含量的箱线图

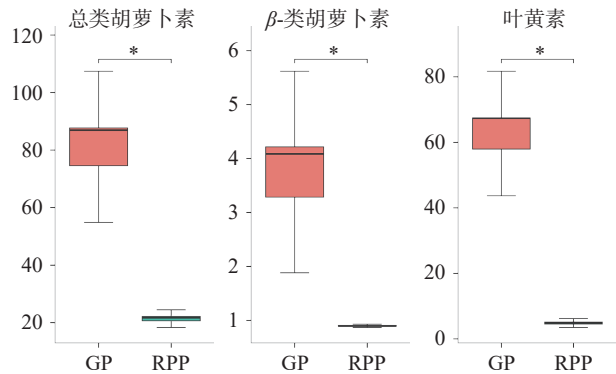


图 6 果皮成熟前后三个类胡萝卜素显著性分析

Fig.6 Significance analysis of three carotenoids in peel before and after maturation

注:“*”表示在 0.05 水平上差异显著。

表 3 小粒种咖啡成熟后果皮样品类胡萝卜素成分检测
Table 3 Carotenoid composition of the pericarp samples of *Coffea arabica* before and after ripening

类胡萝卜素代谢物	成熟前后类胡萝卜素代谢物(μg/g)	
	GP	RPP
α-胡萝卜素	1.24±0.19	0.26±0.01
γ-胡萝卜素	N/A	0.09±0.00
β-胡萝卜素	3.64±0.58	0.90±0.01
六氢番茄红素	N/A	0.44±0.05
八氢番茄红素	N/A	0.89±0.11
ε-胡萝卜素	0.29±0.03	0.40±0.07
叶黄素癸酸酯	N/A	0.11±0.01
叶黄素月桂酸酯	N/A	0.10±0.02
叶黄素肉豆蔻酸酯	0.30±0.05	3.63±0.37b
叶黄素棕榈酸酯	0.22±0.02	1.08±0.14
叶黄素二月桂酸酯	0.01±0.00	0.82±0.11
5,6-环氧叶黄素-发酸酯-棕榈酸酯	0.05±0.03	0.11±0.01
叶黄素二肉豆蔻酸酯	0.04±0.01	2.05±0.22
叶黄素二棕榈酸酯	0.04±0.04	N/A
叶黄素油酸酯	0.02±0.01	0.02±0.00
紫黄质二丁酸酯	0.05±0.01	0.06±0.00
紫黄质肉豆蔻酸酯	0.46±0.11	2.45±0.32
紫黄质棕榈酸酯	0.38±0.05	0.05±0.05
紫黄质二月桂酸酯	0.01±0.01	N/A
紫黄质-肉豆蔻酸酯-发酸酯	N/A	0.52±0.08
紫黄质-肉豆蔻酸酯-月桂酸酯	0.08±0.01	0.38±0.01
紫黄质二肉豆蔻酸酯	0.05±0.01	0.24±0.05
紫黄质-肉豆蔻酸酯-棕榈酸酯	0.01±0.01	N/A
玉米黄质肉豆蔻油酸酯	0.02±0.0	N/A
玉米黄质棕榈酸酯	N/A	0.02±0.02
玉米黄质-月桂酸酯-肉豆蔻酸酯	N/A	0.01±0.00
玉米黄质二肉豆蔻酸酯	N/A	0.31±0.03
玉米黄质-月桂酸酯-棕榈酸酯	N/A	0.05±0.00
β-隐黄质月桂酸	N/A	0.05±0.00
β-隐黄质肉豆蔻酸酯	N/A	0.08±0.04
花药黄质	2.15±0.25	0.09±0.00
玉米黄质	2.12±0.83	0.20±0.00
紫黄质	1.55±0.22	0.14±0.02
新黄质	4.02±0.27	0.11±0.01
叶黄素	61.15±6.32	4.81±0.39
β-隐黄质	0.25±0.03	0.25±0.02
辣椒红素	0.03±0.03	0.07±0.00
α-隐黄质	1.36±0.20	0.49±0.03
总含量	79.54	21.28

注: N/A代表不适用。

(图 6)可知,GP 的类胡萝卜素总含量、β-类胡萝卜素含量、叶黄素含量均显著高于 RPP(P<0.05),并且含量倍数都是 RPP 的 4 倍及以上。

2.8 成熟前后小粒种咖啡果皮中的差异代谢物通路集分析

为了深入了解小粒种咖啡果皮在成熟前后的代谢物变化,将差异代谢物匹配至京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库中的代谢通路,进行路径富集分析。

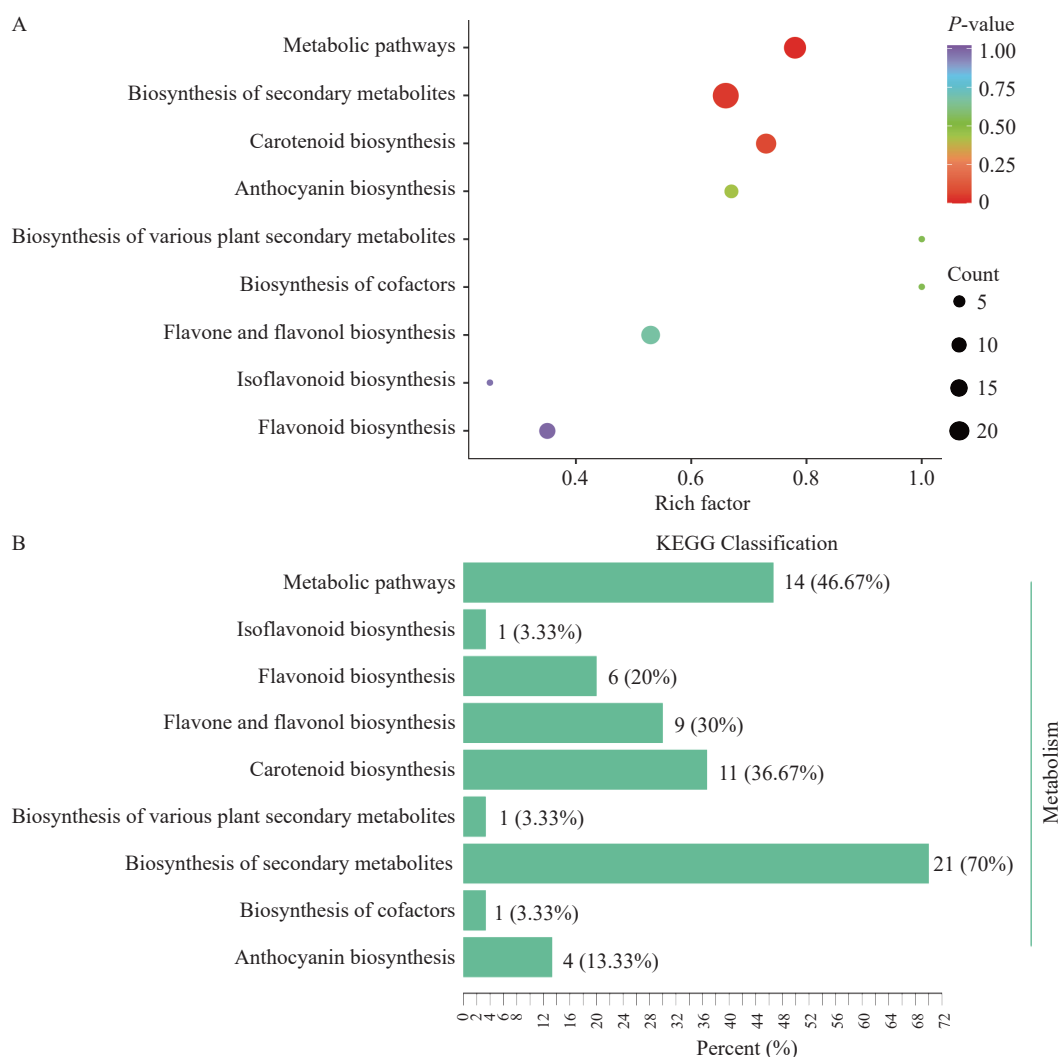


图 7 果皮成熟前后差异代谢物通路富集分析

Fig.7 Pathway enrichment analysis of differential metabolites in peel before and after maturation

注: 图 A 是差异代谢物 KEGG 富集图; 图 B 是差异代谢物 KEGG 分类图。

结果显示,有 111 种差异代谢物被注释到 KEGG 数据库中的现有代谢通路中。富集结果如图 7 所示,这些差异代谢物被富集到 9 条主要的代谢通路。包括代谢途径、次生代谢物的生物合成、类胡萝卜素的生物合成、花青素的生物合成、各种植物次生代谢物的生物合成、内酯的生物合成、黄酮和黄酮醇的生物合成、黄酮的生物合成和黄酮类化合物的生物合成。其中,显著富集的通路包括次生代谢物的生物合成(21 个差异代谢物)、代谢物途径(14 个差异代谢物)、类胡萝卜素的生物合成(11 个差异代谢物)和花青素的生物合成(4 个差异代谢物),如图 7A 和 7B 所示。这些结果表明,在不同成熟阶段,小粒种咖啡果皮中的代谢活动发生了显著变化。在类胡萝卜素的生物合成途径中,检测到的差异代谢物包括八氢番茄红素、六氢番茄红素、 α -胡萝卜素、 α -隐黄质、叶黄素、 β -胡萝卜素和 γ -胡萝卜素,这些代谢物在成熟果皮中显著下调。这表明,类胡萝卜素的合成在果皮成熟后期可能受到抑制或其降解速率加快。相反,在花青素的生物合成途径中,矢车菊素-3-O-beta-D-桑

布双糖苷、矢车菊素-3-O-芸香糖苷、矢车菊素-3-O-(6-O-对-香豆酰)葡萄糖苷和矢车菊素-3-O-葡萄糖苷显著上调。这些花青素在果皮成熟过程中积累,赋予果皮红紫色,从而影响咖啡果实的视觉特性。此外,在类胡萝卜素通路中,有三种代谢物(八氢番茄红素、 γ -胡萝卜素和六氢番茄红素)仅在 RPP 中检测到,而在 GP 中未检测到。这些特异性代谢物的存在进一步表明果皮成熟过程中代谢通路的动态变化和调控机制的复杂性。

3 讨论

果皮中的色素,包括类胡萝卜素、黄酮类化合物和花青素,不仅赋予果实丰富的颜色,还具有强大的抗氧化活性和多种健康益处,如延缓衰老、修复神经系统、抗动脉粥样硬化、抗癌和抗炎^[30-32]。Esquivel 等^[16]研究表明,小粒种咖啡黄皮品种的颜色是由类胡萝卜素造成的,而橙皮和红皮品种的颜色则分别由类胡萝卜素以及低含量和高含量的花青素造成的,并且指出果实外部颜色不同的特定咖啡品种的副产品可作为独特生物活性化合物(包括花

青素和类胡萝卜素)的来源,具有保健功效^[16]。但研究并未于指出其这些生物活性化合物的动态变化。

本研究通过代谢组学技术共检测到 274 种代谢物,初步揭示了小粒种咖啡成熟前后果皮的着色代谢物动态变化。黄酮类化合物因其在植物次生代谢和组织的颜色而广为人知的化合物,主要包括黄酮、黄酮醇、儿茶素和花青素等^[33-34]。本研究发现,黄酮类化合物在成熟前后的小粒种咖啡果皮中存在显著差异,花青素在成熟后期显著积累。花青素作为重要的植物色素,在多种水果中导致红色、蓝色和紫色的出现^[35]。之前的研究中也强调花青素在咖啡果实的作用^[16]。本研究检测到 10 种花青素,其中 6 种在成熟前后差异积累,并且有 4 种在 KEGG Pathway 通路富集分析中显著上调(图 1A,图 4A),联系总花色苷研究其动态变化过程(图 2C),结果表明相较于成熟前,在成熟后果皮中显著上升。和前人研究一致,这些花青素确实会引起植物组织变红^[36-37]。Esquivel 等^[16]研究指出橙色浆果中的花青素含量低于红色水果,而黄色水果中没有发现花青素。而本研究在成熟前和成熟后的果皮中都检测出花青素相关物质含量,丰富了花青素这一类生物活性成分在特定咖啡品种的果皮中分布情况,而这些特定花青素(如矢车菊素衍生物)的积累可能与生物合成途径中的关键酶的表达水平变化有关或者花青素的合成可能受到与黄酮醇等其他代谢物之间的互作代谢途径的调控^[33],需要进一步分析是否存在共调控网络。

类胡萝卜素会赋予植物的果实的颜色^[33]。在类胡萝卜素方面,本研究共检测到 38 种类胡萝卜素成分(表 2)。总类胡萝卜素在成熟前大量积累,在成熟后的果皮中显著降低。在 GP 中,叶黄素和 β -胡萝卜素含量最高。类胡萝卜素在 KEGG 通路富集分析中显著富集,尤其是八氢番茄红素、 γ -胡萝卜素和六氢番茄红素只在 RPP 中检测到,而 GP 中主要富集叶黄素和 β -胡萝卜素。GP 中的 8 种类胡萝卜素差异代谢物中,存在被报道过为植物赋色的物质,包括叶黄素、 β -胡萝卜素、花药黄质^[38-39]。但是显著上调和积累的为叶黄素和 β -胡萝卜素。八氢番茄红素、六氢番茄红素据报道表现出优异的紫外线吸收能力和保护皮肤免受光老化作用的能力,其在植物体中含量低且售价昂贵^[40]。通过本研究发现,在果皮成熟后,其显著上调和富集。为提高咖啡加工副产物的高值化利用,咖啡果皮的营养研究趋于热门^[41],未来可以进一步研究这些代谢物在成熟期或完熟期小粒种咖啡果皮中的应用价值。综上,推测在小粒种咖啡果皮成熟前期,叶黄素、 β -胡萝卜素和叶绿素之间的平衡主要影响 GP 颜色的着色,而 RPP 着色过程中主要由 4 种花青素和 3 种类胡萝卜素共同作用。

4 结论

本研究利用代谢组学深入分析了小粒种咖啡成

熟前后的果皮着色物质,揭示了花青素和类胡萝卜素在果皮颜色变化中的关键作用。花青素和类胡萝卜素的共同作用是果皮成熟后期红色着色的主要原因,而在成熟前期,叶绿素和类胡萝卜素共同作用影响果皮颜色。本研究为了解和开发不同成熟阶段咖啡果皮的食用副产品和果皮色泽定向遗传育种提供了科学依据。但具体生物合成途径中酶基因和转录因子的调控机制及其药理学作用仍需进行基因层面与代谢组学的关联研究以解决这些问题。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] AVELINO J, ALLINNE C, CERDA R, et al. Multiple-disease system in coffee: From crop loss assessment to sustainable management[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2018, 56(1): 1545–2107.
- [2] HEEGER A, KOSIŃSKA-CAGNAZZO A, CANTERGIANI E, et al. Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage[J]. *Food Chemistry*, 2017, 221: 969–975.
- [3] VAN DAM R A O, HU F B, WILLETT W C. Coffee, caffeine, and health[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2020, 383(4): 369–378.
- [4] LU H, TIAN Z, CUI Y, et al. Chlorogenic acid: A comprehensive review of the dietary sources, processing effects, bioavailability, beneficial properties, mechanisms of action, and future directions[J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2020, 19(6): 3130–3158.
- [5] MARCUS G M, ROSENTHAL D G, NAH G, et al. Acute effects of coffee consumption on health among ambulatory adults[J]. *N Engl J Med*, 2023, 388(12): 1092–1100.
- [6] NGUYEN V, TAINE E G, MENG D, et al. Pharmacological activities, therapeutic effects, and mechanistic actions of trigonelline[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(6): 3385.
- [7] 黄家雄, 胡发广, 李维锐, 等. 2021 年度云南省咖啡产业发展报告[R]. 昆明: 云南省农业农村厅, 2021. [HUANG Jiaxiong, HU Faguang, LI Weirui, et al. 2021 Yunnan coffee industry development report[R]. Kunming: Yunnan Provincial Agricultural and Rural Affairs Bureau, 2021.]
- [8] ESQUIVEL P, JIMENEZ V M. Functional properties of coffee and coffee by-products[J]. *Food Research International*, 2012, 46(2): 488–495.
- [9] 吴建, 蒋快乐, 时玲, 等. 云南小粒种咖啡初加工工艺发展现状及趋势[J]. *中国农机化学报*, 2021, 42(11): 205–213. [WU Jian, JIANG Kuaile, SHI Ling, et al. Development status and trend of Yunnan *Coffea arabica* primary processing[J]. *Journal of Chinese Agricultural Mechanization*, 2021, 42(11): 205–213.]
- [10] 匡钰, 肖兵, 张洪波, 等. 云南咖啡初加工废弃物利用及排放情况调查[J]. *中国热带农业*, 2018(5): 31–36. [KUANG Y, XIAO B, ZHANG H B, et al. Survey on the utilisation and emission of coffee primary processing waste in Yunnan[J]. *China Tropical Agriculture*, 2018(5): 31–36.]
- [11] 胡荣锁, 董文江, 宗迎, 等. 5 个产区咖啡果皮成分分析与营养评价[J]. *热带作物学报*, 2018, 39(5): 987–992. [HU R S, DONG W J, ZONG Y, et al. Analysis and evaluation of nutritional components of coffee peel from five different growing regions[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2018, 39(5): 987–992.]

- [12] WINTGENS J N. Coffee-growing, processing, sustainable production: A guidebook for growers, processors, traders and researchers[M]. John Wiley & Sons, 2012: 1040.
- [13] KAZAMA E H, DA SILVA R P, TAVARES T D O, et al. Methodology for selective coffee harvesting in management zones of yield and maturation[J]. *Precision Agriculture*, 2021, 22: 711–733.
- [14] OSORIO PÉREZ V, MATA LLANA PÉREZ L G, FERNANDEZ-ALDUENDA M R, et al. Chemical composition and sensory quality of coffee fruits at different stages of maturity[J]. *Agronomy*, 2023, 13(2): 341.
- [15] LIU L, ZHANG L Y, WANG S L, et al. Analysis of anthocyanins and flavonols in petals of 10 *Rhododendron* species from the Sygera Mountains in Southeast Tibet[J]. *Plant Physiol Biochem*, 2016, 104: 250–256.
- [16] ESQUIVEL P, VIÑAS M, STEINGASS C B, et al. Coffee (*Coffea arabica* L.) by-products as a source of carotenoids and phenolic compounds—Evaluation of varieties with different peel color[J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2020, 4: 590597.
- [17] 王梦迪, 雍旭红, 印敏, 等. 代谢组学技术在植物次生代谢调控研究中的应用[J]. *植物科学学报*, 2023, 41(2): 269–278.
- [18] WANG M D, YONG X H, YIN M, et al. Application of metabolomics in regulation study of plant secondary metabolites[J]. *Plant Science Journal*, 2023, 41(2): 269–278.
- [19] LI X, JIANG J, CHEN Z, et al. Transcriptomic, proteomic and metabolomic analysis of flavonoid biosynthesis during fruit maturation in *rubus chingii* Hu[J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 706667.
- [20] SHEN X, ZI C, YANG Y, et al. Effects of different primary processing methods on the flavor of *coffea arabica* beans by metabolomics[J]. *Fermentation*, 2023, 9(8): 717.
- [21] HU G L, PENG X R, WANG X, et al. Excavation of coffee maturity markers and further research on their changes in coffee cherries of different maturity[J]. *Food Research International*, 2020, 132: 109121.
- [22] 杜咏梅, 张怀宝, 王晓玲, 等. 光度法测定烟草中总类胡萝卜素的方法研究[J]. *中国烟草科学*, 2003(3): 28–29.
- [23] DU Yongmei, ZHANG Huaibao, WANG Xiaoling, et al. Determination of total carotenoids in tobacco by photometric method[J]. *China Tobacco Science*, 2003(3): 28–29.
- [24] 全国果品标准化技术委员会. NY/T 3082-2017 水果、蔬菜及其制品中叶绿素含量的测定 分光光度法[S]. 中国科学出版社, 2017.
- [25] National Technical Committee for the Standardisation of Fruit Products. NY/T 3082-2017 Determination of chlorophyll content in fruits, vegetables and their products Spectrophotometric method[S]. China Science Press, 2017.
- [26] 陈蓬凤, 梅新, 黄师荣, 等. 不同品种薯尖的总酚、总黄酮含量及抗氧化活性比较[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(3): 132–138, 115.
- [27] CHEN Pengfeng, MEI Xin, HUANG Shirong, et al. Comparison of the total phenolics, total flavonoids and antioxidant activities in potato tips of different varieties[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(3): 132–138, 115.
- [28] BARTLEY G E, SCOLNIK P A. Plant carotenoids: Pigments for photoprotection, visual attraction, and human health[J]. *The Plant Cell*, 1995, 7: 1027.
- [29] INBARAJ B S, LU H, HUNG C, et al. Determination of carotenoids and their esters in fruits of *Lycium barbarum* Linnaeus by HPLC–DAD–APCI–MS[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2008, 47: 812–818.
- [30] KRINSKY N I, MAYNE S T, SIES H. Carotenoids in health and disease[M]. Boca Raton: CRC Press, 2004: 576.
- [31] RIVERA S M, CHRISTOU P, CANELA – GARAYOA R. 2014. Identification of carotenoids using mass spectrometry[J]. *Mass Spectrometry Reviews*, 2014, 33: 353–372.
- [32] RODRIGUES D B, MARIUTTI L R B, MERCADANTE A Z. Two-step cleanup procedure for the identification of carotenoid esters by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2016, 1457: 116–124.
- [33] 林洁鑫, 王鹏杰, 金珊, 等. 基于广泛靶向代谢组学的不同产地红茶代谢产物比较分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(2): 9–19.
- [34] LIN Jiexin, WANG Pengjie, JIN Shan, et al. Comparative analysis of black tea metabolites from different origins based on extensively targeted metabolomics[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(2): 9–19.
- [35] CHEN C. Pigments in fruits and vegetables: Genomics and dietetics[M]. New York: Springer, 2015: 31–67.
- [36] BABY B, ANTONY P, VIJAYAN R. Antioxidant and anti-cancer properties of berries[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, 58(15): 2491–2507.
- [37] YOUNG A J, LOWE G L. Carotenoids—antioxidant properties[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2018, 7(2): 28.
- [38] XU W, DUBOS C, LEPINIEC L. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB–bHLH–WDR complexes[J]. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(3): 176–185.
- [39] SHEN N, WANG T F, GAN Q, et al. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity[J]. *Food Chem*, 2022, 383: 132531.
- [40] KAY C D, PEREIRA-CARO G, LUDWIG I A, et al. Anthocyanins and flavanones are more bioavailable than previously perceived: A review of recent evidence[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2017, 8: 155–180.
- [41] XU R, LUO M, XU J W, et al. Integrative analysis of metabolomic and transcriptomic data reveals the mechanism of color formation in corms of *pinellia ternata*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(9): 7990.
- [42] LIANG Z X, LIANG H R, GUO Y Z, et al. Cyanidin 3-O-galactoside: A natural compound with multiple health benefits[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(5): 2261.
- [43] 何静娟, 范燕萍. 观赏植物花色相关的类胡萝卜素组成及代谢调控研究进展[J]. *园艺学报*, 2022, 49(5): 1162–1172.
- [44] HE Jingjuan, FAN Yanping. Progress in composition and metabolic regulation of carotenoids related to floral color[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2022, 49(5): 1162–1172.
- [45] 张丽, 陈丰艳, 王红霞, 等. 甘薯类胡萝卜素的代谢调控研究进展[J]. *农业生物技术学报*, 2023, 31(8): 1719–1729.
- [46] ZHANG Li, CHEN Fengfeng, WANG Hongxia, et al. Research progress on metabolic regulation of carotenoids in sweetpotato (*Ipomoea batatas*) [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2023, 31(8): 1719–1729.
- [47] 李丽莹. 番茄粉中八氢番茄红素、六氢番茄红素加工稳定性及抗皮肤光老化作用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2023.
- [48] LI Liying. Study on the processing stability and anti-skin photoaging effect of phytoene and phytoopene in tomato powder[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2023.
- [49] 邓筱语, 江虹锐, 刘华南, 等. 湿法球磨对咖啡果皮不溶性膳食纤维组成、结构及功能性质的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(20): 77–84.
- [50] DENG Xiaoyu, JIANG Hongrui, LIU Huanan, et al. Effects of wet ball milling on composition, structure and functional properties of coffee peel insoluble dietary fiber[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(20): 77–84.