

## 基于无机元素结合偏最小二乘判别与聚类分析的柚品种比较

吴振<sup>1</sup>, 李红<sup>2\*</sup>, 陈岗<sup>1</sup>, 杨勇<sup>1,3</sup>, 汪敏<sup>2</sup>, 田圆<sup>2</sup>, 刘元<sup>2</sup>

1(重庆市中药研究院, 中药健康学重庆市重点实验室, 重庆, 400065)

2(重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆, 401121)

3(重庆市中药大健康工程技术研究中心, 重庆, 400065)

**摘要** 探讨无机元素结合偏最小二乘判别分析(partial least-squares discriminant analysis, PLS-DA)和聚类分析(clustering analysis, CA)在柚子品种综合评价中的应用。采用电感耦合等离子体原子发射光谱(inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, ICP-AES)对我国5种柚子(沙田柚、玉环柚、脆香甜柚、琯溪蜜柚和梁平柚)共计67份柚果肉样品的17种元素含量测定。柚果肉中Cd、Pb、As、Hg均未检出, Ca、K、Fe、Mg、Mn等有益元素含量丰富; PLS-DA可将5种柚子区分, 其前3个主因子( $F_1$ - $F_3$ )的累积方差贡献率为99.065%,  $F_2$ 与B、V相关,  $F_3$ 与Mg、Mn相关, 其余均与 $F_1$ 相关。通过相关性分析和聚类分析将17种元素聚为四大类, 说明了各个元素的内在联系。无机元素结合多元统计分析能够对我国5种柚子品种进行有效区分, 该研究为我国柚子品种特性比较、种质资源调查及其综合利用提供了基础依据。

**关键词** 柚(*Citrus grandis* L. Osbeck); 品种; 元素; 偏最小二乘判别分析; 相关性; 聚类分析

柚(*Citrus grandis* L. Osbeck)俗称抛子、团圆果、文旦等, 属芸香科(Rutaceae)柑橘属(*Citrus*)植物, 素有“天然水果罐头”之称。柚原产中国, 其栽培历史悠久, 变异类型及品种甚多, 我国柚类品种、品系、类型和株系多达200个以上<sup>[1]</sup>。柚果肉富含矿物质与微量元素<sup>[2-3]</sup>, 关于柚子中元素含量的研究未见详细报道。食品中必需宏量元素和微量元素的含量对其营养价值及其活性机理有重要影响, 甚至发挥着关键作用; 果蔬中元素摄入与机体的健康、生长发育和疾病预防有着密切关系, 对体内多种活性酶和免疫过程也有直接或间接作用<sup>[4-6]</sup>。

目前, 无机元素指纹分析已广泛应用于果蔬、农产品及其他食品原料的品质评价及其质量控制<sup>[7-12]</sup>, 而化学计量学方法为无机元素指纹数据解析发挥了不可替代的作用<sup>[13]</sup>, 因为化学计量学方法能够发现食品原料与化学成分之间的内在联系<sup>[14]</sup>。无机元素测定结合化学计量学方法已经逐渐用于红枣、辣椒、柠檬、番茄的品质评价与产地溯源<sup>[15-17]</sup>。偏最小二乘判别分析(partial least-squares discriminant analysis, PLS-DA)和聚类分析(clustering analysis, CA)作为经典的

化学计量学中“无监督分类”方法, 常用于食品及其原料的品质评价、产地识别、掺假鉴别<sup>[15, 18]</sup>。本实验采用电感耦合等离子体原子发射光谱法(inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, ICP-AES)测定不同品种柚果肉中Al、B、Ba、Ca、Co、Cu、Na、K、Fe、Mg、Mn、Zn、Ni、Se、Cr、V、Sr 17种无机元素的含量, 建立柚五类品种果肉中无机元素的PLS-DA和CA模型, 为我国柚品种特性比较、品种划分及其综合利用提供了基础依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

试验材料为完全成熟的柚水果(柚子种质资源共67份): 沙田柚( $n=13$ )、玉环柚( $n=14$ )、脆香甜柚( $n=13$ )、琯溪蜜柚( $n=12$ )、梁平柚( $n=15$ ), 具体见表1(每种柚取样3次, 分别测定3次); 各品种均由重庆市中药研究院专家鉴定。Al、B、Ba、Ca、Co、Cd、Cu、Na、K、Fe、Mg、Mn、Zn、Ni、As、Pb、Se、Hg、Cr、V和Sr标准储备液(100 mg/L)国家有色金属及电子材料分析测试中心;  $\text{HNO}_3$ 、高氯酸均为优级纯; 所用溶液均利用去离子水自行配制; 其他化学试剂均为国产分析纯。

### 1.2 主要仪器设备

Optima 7000DV型全谱直读电感耦合等离子体原子发射光谱仪, 美国Perkin Elmer公司; DFY-500D高速粉碎, 机上海新诺仪器设备有限公司; DHG-9240A

第一作者: 博士研究生, 副研究员(李红高级工程师为通讯作者, E-mail: hong198596@163.com)。

基金项目: 重庆市集成示范计划项目(cstc2015jcsf-kjfp80014); 重庆市重点产业共性关键技术创新专项项目(csc2017zdcy-zdy-fx0013)

收稿日期: 2019-02-21, 改回日期: 2019-06-10

电热恒温鼓风干燥箱,上海齐欣科学仪器有限公司。

表 1 柚子样品编号及其产地

Table 1 The sample number and origin of pomelo

柚子品种	编号	产地
沙田柚 ( <i>C. grandis</i> cv Shatanyu)	1-13	重庆市长寿区
玉环柚 ( <i>C. grandis</i> cv Yuhuanyou)	14-27	浙江台州玉环县
脆香甜柚 ( <i>C. grandis</i> cv Cuixiangtianyou)	28-40	四川南充南部县
琯溪蜜柚 ( <i>C. grandis</i> cv Guanximiyu)	41-52	重庆市合川区
梁平柚 ( <i>C. grandis</i> L. vs Liangpingyou)	53-67	重庆市梁平县

### 1.3 方法

#### 1.3.1 柚采摘方法及其果肉预处理方法

分别选树龄一致、生长正常、结果量基本相同的柚树 3 株,于成熟期挑选外观颜色和果实大小相当、果面无明显机械伤的正常果;样品用纯净水冲洗干净,剥皮,去籽,取其中鲜果肉阴干后,于 50 ℃ 干燥箱中烘干至恒重,粉碎后过 60 目筛。

#### 1.3.2 消化方法

所用玻璃器皿均用 1% HNO<sub>3</sub> 浸泡 12 h,再用去离子水冲洗 2~3 遍,烘干备用。将干燥柚果肉粉末(5.00 g)置于洁净的 250 mL 玻璃圆底烧瓶,加入一定量的 HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub> (体积比 4:1)加热消化完全(注意及时补加混酸,当溶液变为清亮无色并伴有白烟时,继续加热至近干,向圆底烧瓶中加入少量超纯水继续加热以赶尽多余的高氯酸,蒸发至近干),冷却至室温,加 HNO<sub>3</sub> 10 mL 及适量水并定容于 50 mL 容量瓶中成为待测液。

#### 1.3.3 柚果肉中无机元素测定方法及条件

采用 ICP-AES 技术测定,具体参考姚鑫等方法<sup>[19]</sup>。仪器参数:射频功率 1 350 W;检测器 CID 的高波段(>265 nm)积分时间 5 s,低波段(<265 nm)积分时间 15 s;进样雾化器氩气压力 28 psi;进样蠕动泵转速:100 r/min;辅助气流量 1.0 L/min,载气流速 1.12 L/min;测定波长范围:188.979~396.153 nm。标液质量浓度分别为 10、20、40、80、100 μg/L,测定并计算各柚果肉样品中无机元素含量。

#### 1.3.4 化学计量学分析方法

显著性分析采用 SAS 8.2 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 的 LSD (least significant difference) 方法,  $P < 0.05$  表示差异显著。采用 SIMCA-P (SIMCA-P 13.0; Umetrics, Umea, Sweden) 对已标准化处理的无机元素矩阵数据进行分析,建立其 PLS-DA 和 CA 模型,并计算其特征值和贡献率。

## 2 结果与分析

### 2.1 柚果肉中 17 种主要无机元素含量测定及其分布分析

目前 ICP-AES 方法广泛应用于食品及其原料中多种无机元素测定,已经成为元素分析和测定的主流方法<sup>[20]</sup>。采用 ICP-AES 测定了柚果肉中 21 种主要的无机元素含量,结果见表 2,其中所有样品中 Cd、Pb、As、Hg 均未检出;柚果肉中富含有益元素 Ca、K、Fe、Mg、Mn,其平均含量分别达到 341.54、844.45、11.54、197.85、6.76 μg/g。同时研究发现不同品种柚果肉常量元素和微量元素差异较大,但均为低 Na 和高 K 水果。重金属均符合 GB 2762—2017《食品安全国家标准食品中污染物限量》中“水果及其制品”的限量要求。柚果肉无机元素差异主要与品种、产地土壤环境、测定方法等因素相关,柚果肉的重金属元素含量较低,说明所采集各产区柚基本无重金属污染,并且其植物果肉重金属富集和迁移率较低,对于我国整体柚资源的重金属情况,具有一定的参考价值。

### 2.2 PLS-DA 模型分析柚果肉中 17 种主要的无机元素

#### 2.2.1 PLS-DA 模型主因子(F)提取过程分析

PLS-DA 是一种基于偏最小二乘回归算法的线性分类方法,该模型适用于多自变量并且线性强情况的分析和预测,该技术已成为化学计量建模中的一种成熟工具,因为它通常可以从内部本质角度来解释所提取的主因子<sup>[21]</sup>。对柚果肉无机元素采用 PLS-DA 分析,所提取的 4 因子模型的特征值(Ev)分别为 500.284、102.306、26.087、5.937,对应的方差贡献率分别为:78.833%、16.121%、4.111% 和 0.936%;其中前 3 个主因子(即 F1、F2 和 F3)的累计方差贡献率达到 99.065%,远远大于 85%,说明该 PLS-DA 模型能够完整和准确反映不同品种柚果肉中无机元素的分布情况。F2 与 B、V 的变化相关,F3 与 Mg、Mn 的相关性非常强,而其余的无机元素均与 F1 相关性较高。因此我们将 PLS-DA 模型的前 3 个主因子作为评价不同品种柚子中 17 种主要无机元素及柚品质的代表性变量。

#### 2.2.2 基于 PLS-DA 模型的柚不同品种的分类分析

分别以 PLS-DA 模型的主因子 F1 为 X 轴、F2 为 Y 轴(或以 F1 为 X 轴、F3 为 Y 轴),将 67 份柚样品分别标入二维坐标系中,即得到主因子得分的二维图,具体见图 1。由图 1-a 和图 1-b 可知,该模型明确将 67 份柚样品分为五类,说明该 PLS-DA 模型可以作为不同品种柚分类的识别方法。由图 1-a 可知,脆香甜柚和沙田柚分别位于 PLS-DA 模型分类图的上方和下方,梁平柚和琯溪蜜柚分别位于 PLS-DA 模型分类

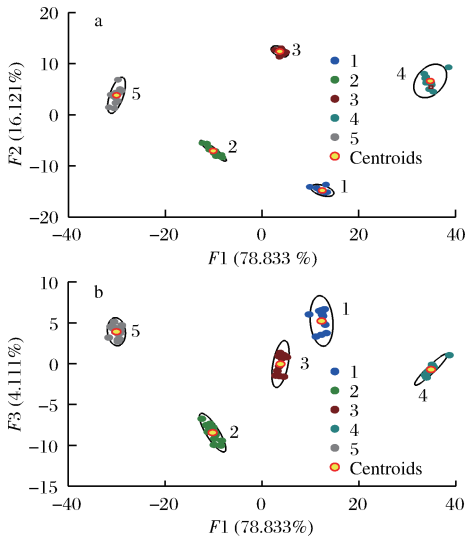
表 2 不同品种柚子中无机元素含量

单位:μg/g

Table 2 Element concentrations of pomelo of different varieties (n = 3)		Al	B	Ba	Ca	Co	Cu	Na	K	Fe	Mg	Mn	Zn	Ni	Se	Cr	V	Sr
沙田柚 (n = 13)	Max	1.62 <sup>f</sup>	2.46 <sup>a</sup>	0.94 <sup>a</sup>	370.84 <sup>e</sup>	0.03 <sup>e</sup>	1.62 <sup>e</sup>	6.03 <sup>b</sup>	675.28 <sup>f</sup>	13.89 <sup>bc</sup>	217.36 <sup>e</sup>	9.40 <sup>c</sup>	4.22 <sup>b</sup>	0.15 <sup>c</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.08 <sup>a</sup>	0.03 <sup>ef</sup>	0.01 <sup>e</sup>
	Min	0.42 <sup>h</sup>	1.18 <sup>e</sup>	0.70 <sup>d</sup>	292.38 <sup>f</sup>	0.01 <sup>f</sup>	0.51 <sup>h</sup>	1.96 <sup>e</sup>	602.31 <sup>g</sup>	11.05 <sup>d</sup>	153.31 <sup>f</sup>	7.62 <sup>e</sup>	1.76 <sup>e</sup>	0.04 <sup>d</sup>	0.02 <sup>c</sup>	0.04 <sup>bc</sup>	0.01 <sup>f</sup>	0.00 <sup>f</sup>
	Mean	0.97	1.60	0.79	315.61	0.02	1.15	3.23	628.64	12.70	194.33	8.54	3.16	0.09	0.03	0.05	0.02	0.01
	S. D.	0.48	0.37	0.07	22.58	0.01	0.33	1.17	24.40	0.82	18.57	0.48	0.73	0.04	0.01	0.01	0.01	0.00
玉环柚 (n = 14)	Max	16.83 <sup>a</sup>	1.81 <sup>d</sup>	0.52 <sup>f</sup>	395.82 <sup>d</sup>	0.05 <sup>d</sup>	0.93 <sup>f</sup>	4.76 <sup>e</sup>	831.22 <sup>e</sup>	11.32 <sup>d</sup>	180.74 <sup>e</sup>	8.45 <sup>d</sup>	1.62 <sup>f</sup>	0.57 <sup>a</sup>	0.06 <sup>ab</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.10 <sup>a</sup>	0.36 <sup>ab</sup>
	Min	3.83 <sup>e</sup>	0.57 <sup>h</sup>	0.13 <sup>h</sup>	221.51 <sup>h</sup>	0.01 <sup>f</sup>	0.01 <sup>i</sup>	1.80 <sup>e</sup>	500.01 <sup>h</sup>	2.78 <sup>e</sup>	108.64 <sup>g</sup>	0.14 <sup>h</sup>	0.09 <sup>i</sup>	0.06 <sup>d</sup>	0.01 <sup>d</sup>	0.02 <sup>de</sup>	0.02 <sup>f</sup>	0.06 <sup>e</sup>
	Mean	10.33	0.91	0.37	306.55	0.03	0.52	3.02	625.99	6.19	138.73	2.84	0.82	0.31	0.03	0.04	0.06	0.22
	S. D.	4.18	0.38	0.11	49.57	0.01	0.28	0.99	106.97	2.46	24.72	2.46	0.49	0.15	0.02	0.01	0.02	0.08
脆香甜柚 (n = 13)	Max	3.17 <sup>d</sup>	1.92 <sup>c</sup>	0.82 <sup>b</sup>	403.34 <sup>d</sup>	0.11 <sup>b</sup>	1.75 <sup>b</sup>	6.12 <sup>b</sup>	1 126.01 <sup>b</sup>	18.23 <sup>a</sup>	252.13 <sup>b</sup>	10.50 <sup>b</sup>	2.32 <sup>d</sup>	0.54 <sup>a</sup>	0.05 <sup>ab</sup>	0.01 <sup>ef</sup>	0.09 <sup>ab</sup>	0.29 <sup>bc</sup>
	Min	1.20 <sup>g</sup>	0.89 <sup>f</sup>	0.63 <sup>e</sup>	227.31 <sup>h</sup>	0.08 <sup>e</sup>	1.55 <sup>d</sup>	2.76 <sup>d</sup>	931.35 <sup>d</sup>	14.57 <sup>b</sup>	209.96 <sup>cd</sup>	7.52 <sup>e</sup>	1.11 <sup>h</sup>	0.46 <sup>b</sup>	0.03 <sup>c</sup>	0.01 <sup>ef</sup>	0.07 <sup>bcd</sup>	0.22 <sup>cd</sup>
	Mean	2.47	1.28	0.67	297.93	0.09	1.54	4.20	952.04	15.57	218.54	8.72	1.65	0.48	0.04	0.01	0.08	0.24
	S. D.	0.89	0.43	0.17	86.37	0.02	0.37	1.41	251.28	3.98	58.64	2.06	0.47	0.10	0.01	0.00	0.02	0.05
琯溪蜜柚 (n = 12)	Max	2.85 <sup>d</sup>	0.79 <sup>g</sup>	0.91 <sup>a</sup>	490.18 <sup>a</sup>	0.09 <sup>e</sup>	1.54 <sup>d</sup>	6.02 <sup>b</sup>	1 264.51 <sup>a</sup>	18.71 <sup>a</sup>	219.70 <sup>c</sup>	13.10 <sup>a</sup>	2.84 <sup>c</sup>	0.08 <sup>d</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.06 <sup>b</sup>	0.08 <sup>abc</sup>	0.45 <sup>a</sup>
	Min	1.36 <sup>fg</sup>	0.26 <sup>j</sup>	0.76 <sup>c</sup>	435.80 <sup>b</sup>	0.05 <sup>d</sup>	0.68 <sup>g</sup>	2.50 <sup>d</sup>	1 100.07 <sup>bc</sup>	13.77 <sup>c</sup>	185.72 <sup>de</sup>	10.28 <sup>b</sup>	1.19 <sup>gh</sup>	0.04 <sup>d</sup>	0.02 <sup>cd</sup>	0.03 <sup>cd</sup>	0.05 <sup>de</sup>	0.33 <sup>abc</sup>
	Mean	2.14	0.54	0.81	449.31	0.07	1.13	4.23	1145.35	16.06	197.08	11.52	2.05	0.06	0.03	0.04	0.07	0.39
	S. D.	0.44	0.13	0.04	14.15	0.01	0.23	0.99	43.28	1.52	9.12	0.84	0.55	0.01	0.01	0.01	0.01	0.05
梁平柚 (n = 15)	Max	4.67 <sup>b</sup>	2.24 <sup>b</sup>	0.42 <sup>g</sup>	420.54 <sup>c</sup>	0.13 <sup>a</sup>	1.99 <sup>a</sup>	8.81 <sup>a</sup>	1 079.30 <sup>c</sup>	11.13 <sup>d</sup>	289.18 <sup>a</sup>	5.90 <sup>f</sup>	4.62 <sup>a</sup>	0.56 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.05 <sup>b</sup>	0.06 <sup>cd</sup>	0.31 <sup>abc</sup>
	Min	2.45 <sup>e</sup>	0.47 <sup>i</sup>	0.07 <sup>i</sup>	255.36 <sup>g</sup>	0.08 <sup>e</sup>	1.07 <sup>e</sup>	5.73 <sup>b</sup>	692.81 <sup>f</sup>	2.80 <sup>e</sup>	198.11 <sup>cde</sup>	0.71 <sup>g</sup>	1.27 <sup>g</sup>	0.13 <sup>e</sup>	0.02 <sup>cd</sup>	0.02 <sup>de</sup>	0.03 <sup>ef</sup>	0.10 <sup>de</sup>
	Mean	3.96	1.35	0.24	331.69	0.10	1.57	7.80	845.07	7.56	225.82	2.96	3.46	0.35	0.04	0.04	0.04	0.23
	S. D.	0.62	0.47	0.10	46.59	0.02	0.27	0.95	111.20	2.10	22.64	1.55	0.94	0.12	0.01	0.01	0.01	0.06

注:Max、Min、Mean 和 S. D. 分别表示最大值、最小值、平均值和相对标准偏差;不同小写字母(a~j)表示各无机元素最大值、最小值之间具有显著性差异(P<0.05);“-”表示无。每个指标重复测定 3 次。

图左侧和右侧,而玉环柚分布略微居中。此外,脆香甜柚和沙田柚样品分布更加聚集,说明其个体差异较小;玉环柚、琯溪蜜柚和梁平柚分布略微分散,说明其个体差异和栽培环境等因素影响较大。因此,PLS-DA 模型结合无机元素分布可应用于不同品种柚的分类分析。



a-基于主因子 F1 和 F2 的分布图;b-基于主因子 F1 和 F3 的分布图

图 1 基于 PLS-DA 模型的不同品种柚样品分布散点图

Fig. 1 Scatter plots based on PLS-DA model of pomelo from different varieties

注:图中数字 1~5 分别表示沙田柚、玉环柚、脆香甜柚、琯溪蜜柚、梁平柚;Centroids 表示每一类的中心

图 2 为 PLS-DA 模型分析的 17 个主要无机元素载荷图,图 2 中柚果肉的 17 个无机元素向量长短代表其能解释原始矩阵变量的程度,无机元素向量方向表示其与主因子 F1 和 F2(或 F1 和 F3)的相关性;图 2 中 2 个不同柚果肉无机元素向量夹角 < 90°代表它们之间有正相关,如 Fe 与 Mn 之间;当 2 个无机元素向量之间相互垂直时,则它们属性之间相关性很弱,说明互不影响<sup>[22]</sup>;不同柚果肉的无机元素向量方向相反代表其存在负相关,如 Co 与 Cr 之间。郭爱民等<sup>[23]</sup>采用系统聚类法对柚 14 个品种果实综合性状数量指标进行分析,结果发现柚类果实品质数量性状指标聚类分析在品质分析中更具客观性和准确性;李先信等<sup>[24]</sup>研究发现柚类特有的果实性状和花器官性状可作为划分柚类种质资源的依据;刘勇等<sup>[25]</sup>采用主成分分析从柚类 33 个品种 65 个形态学性状中筛选出了影响柚品种的核心性状,并揭示了柚类品种重要特征;SÂRBU 等<sup>[26]</sup>采用聚类分析、主成分分析、线性判别分析等多元数据分析方法结合 HPLC-Ms 建立了柚子不同品种的鉴别技术;YAN 等<sup>[27]</sup>采用线性判别分析(LDA)和主成分分析评价了不同产地柚无机元素(Ca、Mg、Zn、Cu、Fe、Mn、K 和 Na)差异,LDA 法具有较好的分类评价效果。目前,生产商、贸易商和消费者对水果及果汁产品的原产地和可追溯性非常

感兴趣,水果品种的优劣和原产地真实性的确定是水果原料质量控制和安全评价的重要环节,对于上游的品种选育与改良、栽培和下游的食品加工及其综合利用都具有重要的意义<sup>[28]</sup>,在这方面多元素指纹图谱结合化学计量学方法体现了明显的优势。我们的试验结果将有利于今后更好地利用无机元素指标评定柚类品种,根据分类结果更好地利用这些无机元素矩阵数据及其模型。

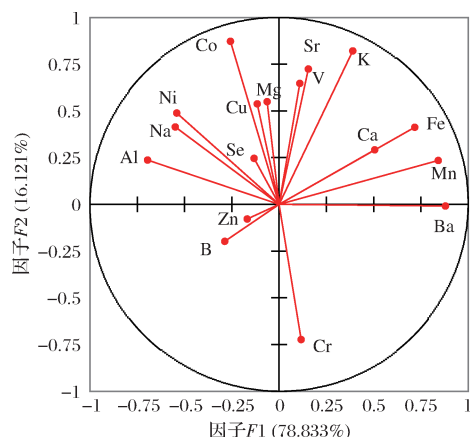


图2 基于 PLS-DA 模型的柚无机元素载荷图  
Fig. 2 The loading plot of element of pomelo based on PLS-DA model

### 2.3 柚子无机元素含量相关性及其聚类分析

采用 SAS 8.2 软件对柚子果肉中 17 种主要的无机元素进行相关性分析,相关性用皮尔逊(Pearson)相关系数表示,聚类分析按相近或相似程度分组,相似性的度量是基于欧氏距离平方,最小的距离表示其关系程度最高,因此,这些对象被认为属于同一组<sup>[29]</sup>。相关性和聚类结果如图 3 所示。显著性分析发现,柚果肉中有 2 对元素(Fe 与 Ba、Fe 与 Mn)间呈现极显著正相关( $P < 0.01$ ),42 对元素间呈显著正相关( $P < 0.05$ ),虽然不同元素的吸收与富集机理不尽相同,但各元素间可能存在相互协同或促进吸收的关系;并且柚在富集以上元素时表现出较强的协同作用,可能与柚子植物吸收代谢、土壤元素状态等因素相关;已知植物的微量元素含量受植物品种、土壤条件、气候、肥料的使用和收获时植物的成熟状态等因素的影响<sup>[30]</sup>。柚果肉中有 1 对元素(Al 与 Ba)之间呈现极显著负相关( $P < 0.01$ ),25 对元素间呈显著负相关( $P < 0.05$ ),表现出元素间可能具有相互拮抗吸收的关系;其余各元素之间多存在正相关趋势,但均未达到显著性水平。聚类分析发现,17 个无机元素基本聚为四大类:Na、Co、Se、Mg、Cu 和 Zn 聚为第一类(其

中 Na、Co、Se 与 Mg、Cu、Zn 分别来于 2 个小类),Cr 和 B 聚于第二类,V、Ni 和 Al 聚为第三类,Sr、K、Ca、Mn、Ba 和 Fe 聚为第四类(Sr、K、Ca 与 Mn、Ba、Fe 分别来于两个小类),在一定程度上说明了各个元素在果肉中积累过程中的内在联系。陈巍等<sup>[31]</sup>研究发现柚叶片与果实之间矿质元素协同吸收作用较弱,而柚子果实与果皮之间作用较强。一般根据特征成分、生物学特征等分析变量与种质之间的相互关系,为柚类种质资料调查、品种分类系统的建立、品种溯源与划分、产品的合理开发利用提供科学依据<sup>[32]</sup>。无机元素在这方面体现了其自身优势,表明不同品种的柚子果肉其无机元素产量存在较大差异,这种差异还能够进一步作为不同品种柚子划分的参考依据,进一步揭示了通过测定无机元素,对柚子的种质资源调查、品种划分具有参考价值。该聚类分析在一定程度上解释了柚果肉中无机元素的分布特征和积累的内在联系。该方法为无机元素含量与化学计量学技术相结合作为评价柚子品质和品种鉴定提供了有价值的基础。我们后续将分析柚不同部位(如果皮、柚果实囊衣、种子等)的无机元素组成及其迁移规律,建立指纹图谱,为柚的品种选育、引种栽培、良种繁育、污染防控、柚副产物(花、叶、柚皮等)综合利用提供依据。

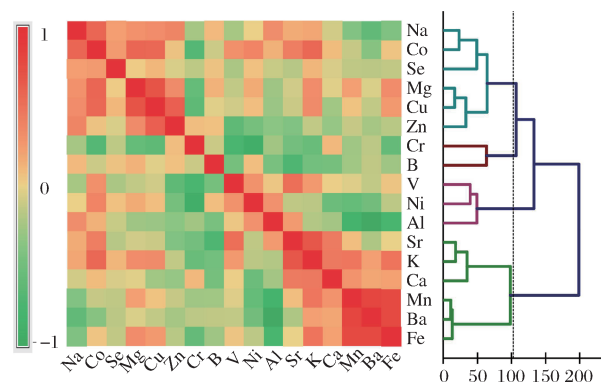


图3 柚无机元素的相关性和聚类结果  
Fig. 3 The correlation and its cluster result of the elements of pomelo

## 3 结论

(1)柚果肉样品中 Cd、Pb、As 和 Hg 均未检出,柚果肉中 Ca、K、Fe、Mg 和 Mn 等有益元素含量较高,其平均含量分别达到 341.54、844.45、11.54、197.85、6.76  $\mu\text{g/g}$ ;同时研究发现不同品种柚果肉其常量元素和微量元素差异较大,但均为低 Na 和高 K 水果。

(2)采用化学计量学方法结合 ICP-AES 测定柚

果肉无机元素组成,可区分和评价沙田柚、玉环柚、脆香甜柚、琯溪蜜柚、梁平柚,能够揭示各品种柚无机元素之间的差异、污染状态及其综合品质。

(3)通过 PLS-DA 模型分析不同品种柚的无机元素分布差异,PLS-DA 模型提取的前 3 个主因子所代表的信息可以明显区分各品种的柚果肉,相关性和聚类分析揭示了柚的无机元素之间的协同或拮抗吸收内在的机制,为柚的品种选育、综合利用提供理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] 何天富,中国柚类栽培[M]. 北京:中国农业出版社,1999: 12.
- [2] MÄKYNEN K, JITSAAARDKUL S, TACHASAMRAN P, et al. Cultivar variations in antioxidant and antihyperlipidemic properties of pomelo pulp (*Citrus grandis* [L.] Osbeck) in Thailand[J]. Food Chemistry, 2013, 139(1-4): 735-743.
- [3] 郑美瑜,赵四清,邢建荣,等. 常山胡柚与葡萄柚果实营养品质和功能成分对比研究[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(1): 150-156.
- [4] SRIKUMAR T S. The mineral and trace element composition of vegetables, pulses and cereals of southern India [J]. Food Chemistry, 1993, 46(2): 163-167.
- [5] NAIDU G R K, DENSCHLAG H O, MAUERHOFER E, et al. Determination of macro, micro nutrient and trace element concentrations in Indian medicinal and vegetable leaves using instrumental neutron activation analysis[J]. Applied Radiation and Isotopes, 1999, 50(5): 947-953.
- [6] CAGLAYAN A, KATLAN D C, TUNCER Z S, et al. Evaluation of trace elements associated with antioxidant enzymes in blood of primary epithelial ovarian cancer patients [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2019, 52: 254-262.
- [7] 黎永乐,郑彦婕,汤璐,等. 基于无机元素分析对地理标志五常大米鉴别技术的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(3): 834-837.
- [8] 蒋卉,韩爱芝,蔡雨晴,等. 新疆引进红枣中微量元素和重金属含量的测定与聚类分析[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 199-203.
- [9] BRESSY F C, BRITO G B, BARBOSA I S, et al. Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion[J]. Microchemical Journal, 2013, 109: 145-149.
- [10] KELLY S, HEATON K, HOOGEWERFF J. Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis[J]. Trends in Food Science & Technology, 2005, 16(12): 555-567.
- [11] 杨婷,张夏兰,丁晓雯. 元素形态对食品安全影响的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(10): 295-303.
- [12] 郑彦婕,胡书玉,黎永乐,等. 基于无机元素含量的地理标志食醋分类[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(9): 167-169.
- [13] GRANATO D, DE ARAÚJO CALADO V M, JARVIS B. Observations on the use of statistical methods in food science and technology [J]. Food Research International, 2014, 55: 137-149.
- [14] GRANATO D, NUNES D S, BARBA F J. An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 62: 13-22.
- [15] 张建,杨瑞东,陈蓉,等. 贵州遵义辣椒矿质元素含量与其品质相关性分析[J]. 食品科学, 2018, 39(10): 215-221.
- [16] GAIAD J E, HIDALGO M J, VILLAFANE R N, et al. Tracing the geographical origin of Argentinean lemon juices based on trace element profiles using advanced chemometric techniques[J]. Microchemical Journal, 2016, 129: 243-248.
- [17] FRAGNI R, TRIFIRÒ A, NUCCI A. Towards the development of a multi-element analysis by ICP-oe-TOF-MS for tracing the geographical origin of processed tomato products[J]. Food Control, 2015, 48: 96-101.
- [18] 课净璇,黎杉珊,申光辉,等. 基于双指标分析法和聚类分析法的花椒红外指纹图谱研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(3): 55-61.
- [19] 姚鑫,周桂生,唐于平,等. 采用微波消解-ICP-AES 法对不同产地果用银杏叶无机元素分析与评价[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(3): 808-812.
- [20] 陈恺,李瑾瑜,李琼,等. ICP-AES 法同时测定新疆红枣中的 12 种元素[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 78-81.
- [21] BALLABIO D, CONSONNI V. Classification tools in chemistry. Part 1: Linear models. PLS-DA[J]. Analytical Methods, 2013, 5(16): 3790-3798.
- [22] DE ARAÚJO PADILHA C E, JÚNIOR S D O, DESANTANA SOUZA D F, et al. Baker's yeast invertase purification using Aqueous Two Phase System—Modeling and optimization with PCA/LS-SVM[J]. Food and Bioprocesses Processing, 2017, 101: 157-165.
- [23] 郭爱民,程昌凤,欧毅,等. 应用聚类分析研究柚类果实品质[J]. 西南农业学报, 1995(3): 61-64.
- [24] 李先信,杨迎花,邹学校,等. 湖南柚类种质的数量分类与主成分分析[J]. 浙江农业学报, 2013, 25(6):

1 243 - 1 249.

- [25] 刘勇, 孙中海, 刘德春, 等. 部分柚类品种数值分类研究[J]. 果树学报, 2006, 23(1): 35 - 40.
- [26] SÂRBU C, NAŞCU-BRICIU R D, KOT-WASIK A, et al. Classification and fingerprinting of kiwi and pomelo fruits by multivariate analysis of chromatographic and spectroscopic data[J]. Food Chemistry, 2012, 130(4): 994 - 1 002.
- [27] YAN J, LIU J, XIONG Y, et al. Identification of the geographical origins of pomelos using multielement fingerprinting[J]. Journal of Food Science, 2015, 80(2): C228-C233.
- [28] 程加迁, 王俊平. 蔬菜水果重金属膳食暴露评估中风险权重的确定方法[J]. 食品科学, 2018, 39(1): 47 - 52.
- [29] TOKALIOĞLU Ş, DOKAN F K, KÖPRÜ S. ICP-MS

multi-element analysis for determining the origin by multivariate analysis of red pepper flakes from three different regions of Turkey[J]. LWT - Food Science and Technology, 2019, 103: 301 - 307.

- [30] EKHOLM P, REINIVUO H, MATTILA P, et al. Changes in the mineral and trace element contents of cereals, fruits and vegetables in Finland [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20(6): 487 - 495.
- [31] 陈巍, 郭秀珠, 黄品湖, 等. 四季柚生育期叶片和果实中矿质元素含量变化的研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(3): 664 - 669.
- [32] 胡安华, 窦万福, 祁静静, 等. 柚类种质资源表型多样性分析及综合评价[J]. 分子植物育种, 2019. DOI: 10.14188/j. ajsh. 2019. 02. 001.

## The comparison analysis of different varieties pomelo based on inorganic elements combined with partial least squares discrimination and cluster analysis

WU Zhen<sup>1</sup>, LI Hong<sup>2\*</sup>, CHEN Gang<sup>1</sup>, YANG Yong<sup>1,3</sup>,  
WANG Min<sup>2</sup>, TIAN Yuan<sup>2</sup>, LIU Yuan<sup>2</sup>

1(Chongqing Academy of Chinese Materia Medica, Chongqing Key Laboratory of Chinese medicine & Health Science, Chongqing 400065, China) 2(Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China)  
3(Chongqing Engineering Technology Research Center of Materia Medica Health, Chongqing 400065, China)

**ABSTRACT** This study investigated the application of partial least-squares discriminant analysis (PLS-DA) and clustering analysis (CA) techniques associated with inorganic element concentrations for evaluation of different varieties of pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck). The contents of 17 inorganic elements of 67 pomelo samples from 5 different varieties (Shatianyu, Yuhuanyou, Cuixiangtianyou, Guanximiyu and Liangpingyou) were determined by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES). The results showed that Cd, Pb, As and Hg were not detected in all pomelo pulp samples and pomelo pulp was rich in Ca, K, Fe, Mg and Mn. PLS-DA could distinguish 5 different varieties and its cumulative variance contribution rate of three-factor ( $F1-F3$ ) was 99.065%, revealing that  $F2$  was related to B and V,  $F3$  related to Mg and Mn, and  $F1$  related to all others. 17 elements were clustered to 4 classes by correlation analysis and CA, indicating internal relations of inorganic elements in pomelo fruits. The elements coupling chemometrics could be successfully used to identify and distinguish these 5 kinds of pomelo in China. This study provides a basis for the comparison of variety characteristics, germplasm resources investigation and comprehensive utilization of pomelo.

**Key words** Pomelo (*Citrus grandis* L. Osbeck); varieties; element; partial least-squares discriminant analysis (PLS-DA); correlation; clustering analysis (CA)