

蛋白质组学和代谢组学技术在蜂产品中的应用研究进展

林聪聪, 赵妍, 刘睿, 鲁群

Research Progress in the Application of Proteomics and Metabolomics in Bee Products

LIN Congcong, ZHAO Yan, LIU Rui, and LU Qun

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020136>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

组学技术在茶学研究中的应用研究进展

Progress of researches in tea science by omics technologies

食品工业科技. 2017(18): 333-340 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.18.063>

蛋白质组学在葡萄发育及非生物胁迫中的研究进展

Research progress of proteomics in grapes during grape berry development and under abiotic stress

食品工业科技. 2017(16): 330-334 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.16.062>

非标记定量蛋白质组学研究干燥方式对牡丹花差异蛋白质的影响

Effect of Dry Methods on Differential Protein of Peony Peta Based on the Analysis of Label-Free Quantitative Proteomics

食品工业科技. 2021, 42(9): 136-144 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020110094>

蜂产品中黄酮类化合物的提取工艺及功能活性的研究进展

Advance in studies on extraction process and biological activity of flavonoids in bee products

食品工业科技. 2017(13): 339-343 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.13.064>

代谢组学技术在葡萄生理研究中的应用

Application of metabolomics techniques in grape physiology

食品工业科技. 2018, 39(3): 338-342,352 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.03.065>

代谢组学在个性化功能性食品研究中的应用

Applications of metabolomics method in the study of personalized functional food

食品工业科技. 2017(01): 386-390 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.01.069>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

林聪聪, 赵妍, 刘睿, 等. 蛋白质组学和代谢组学技术在蜂产品中的应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 377–386. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020136

LIN Congcong, ZHAO Yan, LIU Rui, et al. Research Progress in the Application of Proteomics and Metabolomics in Bee Products [J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(22): 377–386. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020136

· 专题综述 ·

蛋白质组学和代谢组学技术在蜂产品中的应用研究进展

林聪聪^{1,2}, 赵 妍^{1,2}, 刘 睿^{1,2}, 鲁 群^{1,2,*}

(1. 华中农业大学食品科学技术学院, 湖北武汉 430070;
2. 武汉市蜂产品质量控制工程技术研究中心, 湖北武汉 430070)

摘要: 蜂产品因其具有丰富的营养成分和多种生物活性, 受到越来越多消费者的欢迎。但蜂产品掺假造假的问题日益突出, 且其生物活性的机制尚未充分阐明。蛋白质组学和代谢组学技术可以完整、全面地描述蛋白质和小分子代谢物的整体特征, 近年来在蜂产品领域的应用较为广泛, 已成为解决蜂产品掺假造假问题和阐明其生物活性机制的有力手段。本文综述了蛋白质组学和代谢组学技术在蜂产品中的应用研究进展, 在概述蛋白质组学和代谢组学具有同时鉴定全组分和筛选特征标志物等优势的基础上, 针对其在蜂产品成分鉴定、鉴别和鉴伪、生物活性机制研究中的应用进行了详细阐述, 并对存在的问题进行了分析, 对后续研究方向进行了展望, 以期为组学技术在蜂产品研究中的广泛深入应用提供参考。

关键词: 蜂产品, 蛋白质组学, 代谢组学, 鉴别, 生物活性

中图分类号: S896.8 文献标识码: A 文章编号: 1002-0306(2023)22-0377-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020136

本文网刊: 

Research Progress in the Application of Proteomics and Metabolomics in Bee Products

LIN Congcong^{1,2}, ZHAO Yan^{1,2}, LIU Rui^{1,2}, LU Qun^{1,2,*}

(1. College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
2. Wuhan Bee Products Quality Control Engineering Technology Research Center, Wuhan 430070, China)

Abstract: Bee products are gaining increasing popularity among consumers for their high nutritional value and various biological activities. However, adulteration is becoming a prominent problem in the production and sale of bee products, and the mechanisms underlying their biological activities have not been fully elucidated. Proteomics and metabolomics can provide complete and comprehensive descriptions on the overall characteristics of proteins and small-molecular metabolites. In recent years, these two omics approaches have been widely used in the field of bee products, and become a powerful means to solve the problem of adulteration in bee products and elucidate the mechanisms underlying their biological activities. This paper reviews the research progress in the application of proteomics and metabolomics in bee products. Based on an overview of the advantages of proteomics and metabolomics in simultaneous identification of whole components and screening of characteristic markers, the paper also summarizes their applications in the identification of components, discrimination and authentication, and elucidation of mechanisms for biological activities of bee products in detail. In addition, the existing problems are analyzed and the future research directions are proposed. The paper is expected to provide a reference for extensive and in-depth application of omics technologies in the research of bee products.

收稿日期: 2023-02-15

基金项目: 湖北省自然科学基金项目 (2021CFB485); 国家重点研发计划项目 (2022YFD1600204)。

作者简介: 林聪聪 (1999-), 男, 博士研究生, 研究方向: 蜂产品质量安全与精深加工, E-mail: lincongcong@webmail.hzau.edu.cn。

* 通信作者: 鲁群 (1987-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 蜂产品质量安全与精深加工, E-mail: luqun@mail.hzau.edu.cn。

Key words: bee products; proteomics; metabolomics; discrimination; biological activity

蜂产品指的是蜜蜂在生殖繁衍过程中形成的有用物质,包括蜜蜂的采集物、分泌物和生殖繁衍物^[1]。蜜蜂的采集物包括蜂蜜、蜂花粉和蜂胶,蜜蜂的分泌物包括蜂毒、蜂王浆、蜂蜡,蜜蜂自身生殖繁衍物包括蜂蛹和蜂王幼虫。蜂产品具有丰富的营养成分,如糖类、蛋白质和氨基酸、有机酸、维生素和多酚类物质。此外,蜂产品具有多种生物活性,如抗菌、抗氧化、抗炎、保护肠道、调节机体免疫和神经系统等^[2-3]。近年来随着人们越来越重视健康,蜂产品作为优质的营养补充品,其消费量显著增加,其中蜂蜜的年消费量能达到 30 万吨^[4]。在巨大的商业利益面前,不法商家通过以次充好、混淆蜂产品的地理源和植物源等掺假造假的方式牟利,这些行为严重损害了消费者的利益^[5]。蜂产品的成分极其复杂,还受到地理环境、蜜源植物、蜂种等多种因素的影响,并且市面上的蜂产品掺假造假手段层出不穷,导致蜂产品的鉴别和鉴伪难度不断加大。单一的理化检测技术和传统的仪器分析技术只能检测蜂产品中的一类或几类成分,不能对蜂产品的成分进行全面、整体的分析,难以解决蜂产品掺假造假的问题。在蜂产品的生物活性研究方面,虽然蜂产品已被证明具有多种生物活性,但其生物活性的机制还需要进一步深入阐明。

组学技术是近几十年来发展起来的新学科,主要基于高通量测序、凝胶电泳、质谱、核磁共振技术对成千上万的 DNA、RNA、蛋白质、代谢小分子等物质进行研究和分析^[6]。组学技术具有高通量、高分辨率、灵敏度高、特异性强等特点^[7],能够实现待测物成分的多目标、全组分的同时鉴定,特别是传统检测技术难以检测到的微量成分。组学技术不仅可以用于蜂产品的成分鉴定,还能通过挖掘其中的特征标志物实现蜂产品的鉴别和鉴伪,此外,组学技术还能系统深入地阐明蜂产品中活性成分的生物活性机制,在蜂产品研究过程中发挥着越来越重要的作用。近年来,组学技术中的蛋白质组学和代谢组学技术用于蜂产品领域的研究明显增多,本文综述了蛋白质组学和代谢组学技术在蜂产品成分鉴定、鉴别和鉴伪、生物活性机制研究中的应用,以期为组学技术在蜂产品研究中的进一步发展提供参考。

1 蛋白质组学技术在蜂产品研究中的应用

蛋白质组学是以蛋白质组为研究对象,分析其结构、性质与功能、表达水平与修饰状态,了解蛋白质之间相互作用,并在整体水平上研究蛋白质调控规律^[8]。蛋白质组学研究策略分为“自下而上”和“自上而下”型,其中“自下而上”型是在多肽水平上对蛋白质进行分析研究;而“自上而下”型是从复杂样品中分离出完整蛋白质,再用质谱进行分析(图 1)。蛋白定量常用非标记定量技术和标记定量技术^[9],前者成本较低,后者准确度更高。

1.1 蛋白质组学在蜂产品成分鉴定中的应用

蜂产品中含有多种蛋白质,特别是蜂毒、蜂王浆和蜂花粉中蛋白质的含量和种类丰富,其中仍有很多蛋白质未被鉴定。在蛋白质组学出现前,传统的蛋白鉴定方法包括蛋白质微量测序和氨基酸组成分析等,但是这些方法灵敏度较差、低通量且耗时费力,鉴定出的蛋白质有限,而蛋白质组学依托高分辨质谱,具有高通量和高灵敏度的优势。蛋白质组学技术在蜂产品研究中的应用见表 1。早在 2005 年就有研究人员用蛋白质组学的方法对蜂毒中的蛋白质进行研究,鉴定出了 Api m6、Api m2 和 Api m1 等 6 种过敏原以及 3 种新的蜂毒蛋白,但是由于技术限制,一些小分子量的蛋白质因低于设备检出限而未被检出^[10]。随着蛋白质组学技术的不断改进和先进检测设备的出现,通过纳米液相色谱串联质谱分析法可以鉴定出蜂毒中 33 种蛋白质,包括 4 种新的蜂毒蛋白^[11]。Resende 等^[12]鉴定了非洲化意大利蜜蜂和另外两个意大利蜜蜂亚种蜂毒的蛋白质组成,发现检出的 51 个蛋白质中,共有的蛋白质为 42 个。此外,基质辅助激光解吸结合电喷雾电离可以检测到蜂毒中 269 种蛋白质和多肽,通过傅里叶变换离子回旋共振质谱发现了 102 种蛋白质和多肽,且其中的 83 种以前从未在蜂毒样本中被分析过,这些研究扩宽了人们对蜂毒成分的认识^[13-14]。蜂王浆主蛋白(major royal jelly proteins, MRJPs)占蜂王浆总蛋白质的 80% 以上,主要包括 MRJP1~MRJP9^[15],此外蜂王浆中还有其它蛋白质。通过基于凝胶和无凝胶技术对意大利蜜蜂所产的蜂王浆进行蛋白质组学研究,发现了 19 个新蛋白质,这些新蛋白质与蛋白质生物合成、碳水化合

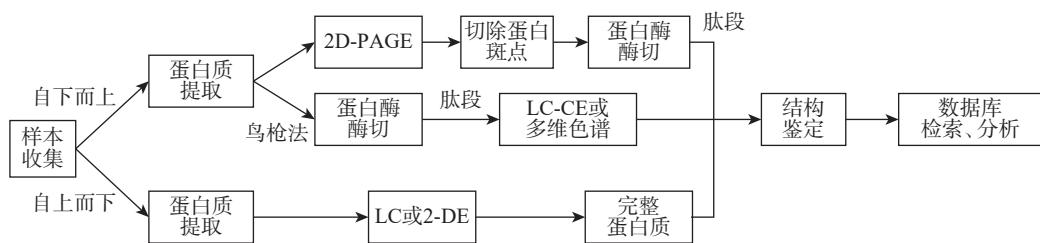


图 1 “自下而上”和“自上而下”型蛋白质组学研究途径

Fig.1 "Bottom-up" and "top-down" approaches to proteomics

表 1 蛋白质组学技术在蜂产品研究中的应用
Table 1 Application of proteomics technology in bee products research

蜂产品类别	样品来源	分析目的	方法	主要研究结果	参考文献
蜂毒	意大利蜜蜂蜂群	蛋白质鉴定	MALDI TOF/TOF-MS, LC-MS/MS	鉴定出6种已知蜂毒蛋白和3种新的蜂毒蛋白	[10]
蜂毒	波兰波兹南医科大学养蜂场蜜蜂	蛋白质鉴定	nano-LC/MALDI-TOF/TOF-MS	鉴定出4种新的蜂毒蛋白LOC408666, LOC725074, LOC725163, LOC100577054	[11]
蜂毒	非洲化意大利蜜蜂、意大利蜜蜂	蛋白质鉴定	LC-MS/MS	鉴定出51种蛋白质, 其中共有的蛋白质有42种	[12]
蜂毒	意大利蜜蜂蜂群	蛋白质鉴定	LC-MALDI-TOF/TOF-MS, LC-ESI-QTOF-MS, nano-LC-FT-ICR-MS/MS, LC-ESI-LTQ-ICR-MS/MS	鉴定出蜂毒中蛋白质有酯酶类、蛋白酶类、蛋白酶抑制剂类、碳水化合物降解酶类、生长因子类、MRJPs类和抗菌肽类等	[13-14]
蜂毒	中国福建农林大学蜂群	抗类风湿性关节炎活性机制	MALDI-TOF/TOF-MS	发现了蜂毒中的细胞骨架蛋白、物质运输相关蛋白、炎症相关蛋白、代谢功能相关蛋白与抗类风湿性关节炎相关	[30]
蜂王浆	意大利蜜蜂	蛋白质鉴定	HPLC-Chip/ESI-QTOF-MS	鉴定出蜂王浆中与蛋白质生物合成、碳水化合物代谢、氧化还原过程相关的19个新蛋白质	[16]
蜂王浆	不同储存条件蜂王浆	品质评价	MALDI-TOF/TOF-MS	证明了MRJP5、MRJP4可以作为蜂王浆质量和新鲜度的评价指标	[21-23]
蜂王浆	意大利蜜蜂、中华蜜蜂	昆虫源鉴别	MALDI-TOF-MS	发现意大利蜜蜂和中华蜜蜂产的蜂王浆中的MRJP2和MRJP3在分子量和等电点上存在显著差异	[24]
蜂王浆	中国不同植物源蜂王浆	植物源鉴别	UHPLC-MS/MS	发现MRJP5和9个低丰度蛋白可以区分不同植物源蜂王浆	[25]
蜂王浆	意大利蜜蜂	蛋白质鉴定	MALDI-TOF/TOF-MS	发现从蜂王浆中纯化的apalbumin2a具有抑菌活性	[32]
蜂蜜	不同植物源蜂蜜	植物源鉴别	MALDI-TOF-MS/MS	发现几丁质酶的酶谱分析可以用于鉴定蜂蜜植物源	[26]
蜂蜜	新西兰麦卢卡蜂蜜	蛋白质鉴定	nanoLC-QqTOF-MS/MS	鉴定出麦卢卡蜂蜜中的50种昆虫源蛋白质以及17种植物源蛋白质, 并发现12个多肽可以作为麦卢卡蜂蜜的标记物	[28]
蜂蜜	不同植物源、地理源蜂蜜	真实性鉴别	UPLC-TQMS	发现YNGVPSSLNVISK、TLQMIAGMK、LTVAGESFTVK三个多肽可以分别作为MRJP1~MRJP3的特异性标记, 基于此测定并计算70份天然蜂蜜中MRJP1~MRJP3含量的数据库, 用于蜂蜜真实性鉴别	[29]
蜂蜜	不同植物源蜂蜜	蛋白质鉴定	nLC-MS/MS	鉴定出蜂蜜中的hymenoptaecin和防御素-1、葡萄糖脱氢同工酶、毒液蛋白、蜂王浆主蛋白等具有抗菌特性的蛋白质	[34]
蜂蜜	麦卢卡蜂蜜	抗菌活性机制	LC-MS/MS	发现麦卢卡蜂蜜引起金黄色葡萄球菌的DLD、EF-Tu、UspA蛋白下调, CspC上调	[35-36]
蜂蜜	马来西亚Tualang蜂蜜	抗癌活性机制	UPLC-Q-TOF-MS	发现Tualang蜂蜜通过调节与非小细胞肺癌发展相关的信号通路的关键蛋白来干预癌症	[37]
蜂花粉	油菜蜂花粉	蛋白质鉴定, 抗ACE活性的肽段	RPLC-MS/MS	鉴定出AGFAGDD-APR、AELDIVLALF、LAVNLIPFP、IIIALLLYK等具有ACE抑制活性的肽段	[17]
蜂花粉	斯洛文尼亚蜂花粉	蛋白质鉴定	nLC-MS/MS	鉴定出195个多肽, 其中26个组分显示出ACE抑制活性	[18]
蜂花粉	甘蓝型油菜蜂花粉	蛋白质鉴定	Easy-nLC1000-LTQ-Orbitrap Elite-MS	鉴定出甘蓝型油菜蜂花粉中含有谷氨酰蛋白和油质蛋白B2这两种潜在的过敏原	[19]
蜂花粉	白菜型油菜蜂花粉	蛋白质鉴定	Easy-nLC1000-LTQ-Orbitrap Elite-MS	鉴定出白菜型油菜蜂花粉中潜在的5种过敏原, 包括抑制蛋白、胱抑素、醇溶谷蛋白、扩张蛋白和醇脱氢酶	[20]
蜂胶	巴西红蜂胶	诱导细胞凋亡机制	LC-MS/MS	发现蜂胶引起Hep-2细胞中GRP78、PRDX2、LDHB、VIM、TUBA1A蛋白下调, RPLP0、RAD23B蛋白上调	[38]

物代谢和氧化还原过程相关^[16]。蜂花粉中也含有丰富的蛋白质, 运用蛋白质组学可以更全面分析其蛋白质组成, 有研究报道采用蛋白质组学从蜂花粉中鉴定出 195 个多肽, 并从中筛选出具有抗血管紧张素转化酶活性的多肽^[17-18]。此外, 蛋白质组学技术还鉴定出蜂花粉中 7 种蛋白质是潜在的过敏原^[19-20]。

1.2 蛋白质组学在蜂产品鉴别和鉴伪中的应用

利用蛋白质组学筛选出蜂产品中的特征标志性蛋白或多肽, 不仅可以用于蜂产品的品质评价, 还可用于蜂产品的昆虫源、植物源鉴别, 帮助解决蜂产品的掺假造假问题。蜂王浆的质量容易受到储存条件的影响, 研究发现, 在室温下保存 1 年的蜂王浆, 其中的 MRJP4、MRJP5 和葡萄糖氧化酶等会明显减少,

应用双向聚丙烯酰胺凝胶电泳和基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱法研究 MRJPs 在不同条件下储藏 6 个月的变化, 结果表明 MRJP5 可以作为蜂王浆产品新鲜度的标记物^[21-22]。此外, 也有研究表明 MRJP4 对温度更为敏感, 可以作为蜂王浆新鲜度的标志物^[23]。中华蜜蜂和意大利蜜蜂产的蜂王浆中的 MRJP2 和 MRJP3 在分子量和等电点上存在显著差异, 可以用于蜂王浆的昆虫源鉴别^[24]。此外, 蜂王浆的蛋白质组成也可以用于植物源的鉴别, 研究表明 MRJP5 和 9 种低丰度蛋白对蜂王浆植物源的区分有显著贡献^[25]。通过凝胶蛋白质组学技术对枇杷蜜和油菜蜜等不同植物源蜂蜜的蛋白质进行分析, 发现几丁质酶的酶谱分析可以用于鉴定蜂蜜植物源^[26]。世

界著名的麦卢卡蜂蜜因具有显著的抗菌、促进伤口愈合、改善口腔及胃肠道健康等功能, 被批准为医用级蜂蜜, 由于其价格高昂, 所以市场上常有麦卢卡蜂蜜造假的现象^[27]。Bong 课题组采用“自上而下”的蛋白质组学方法, 利用高分辨质谱鉴定了麦卢卡蜂蜜中 50 种昆虫源蛋白质以及 17 种植物源蛋白质, 从中筛选出 12 种多肽作为潜在的标志物, 建立了一种麦卢卡蜂蜜真假鉴别的方法^[28]。此外, 也有研究通过定量 MRJPs 并筛选特异性肽段来验证蜂蜜的真实性^[29]。

1.3 蛋白质组学在蜂产品生物活性机制研究中的应用

蛋白质是一切生命活动的直接承担者和表现者, 也是药物治疗的作用靶点。蛋白质组学可以了解疾病发生机制、寻找治疗靶点和解释功能蛋白的生物活性作用途径。蜂产品富含多种生物活性成分, 但是发挥活性的机制暂未充分阐明, 蛋白质组学可以用于明确其生物活性机制。通过蜂毒干预关节炎小鼠模型的蛋白质组学研究, 揭示了蜂毒发挥抗类风湿性关节炎的作用机理^[30]。将功能蛋白质组学应用在蜂王浆生物活性研究中, 揭示出 MRJP1 与抗高血压活性相关^[31], MRJP2 的次要同系物 apalbamin2a 与抗菌活性相关^[32]。10-羟基-2-癸烯酸 (10-hydroxy-2-decanoic acid, 10-HDA) 是仅存在于蜂王浆中的一种不饱和羟基脂肪酸, 可以保护细胞和组织, 蛋白质组学技术揭示了 10-HDA 通过上调被·OH 抑制的广谱蛋白而保护血管平滑肌细胞, 因而具有维护血管健康的潜力^[33]。Erban 等^[34] 对 13 种不同植物源蜂蜜的蛋白质组进行了分析, 挖掘出蜂蜜中具有抗菌特性的潜在蛋白质, 如防御素-1、丝氨酸蛋白酶抑制剂等。采用二维凝胶电泳与液相色谱质谱联用相结合的方式对麦卢卡蜂蜜处理过的金黄色葡萄球菌进行研究, 发现麦卢卡蜂蜜会引起细菌的 DLD、EF-Tu、UspA 蛋白下调, CspC 蛋白上调, 揭示了麦卢卡蜂蜜对金黄色葡萄球菌的抑制作用机制^[35-36]。Tualang 蜂蜜的抗癌作用被广泛报道, Amran 等^[37] 用 Tualang 蜂蜜对非小细胞肺癌细胞系的 H23 和 A549 细胞进行干预, 通过蛋白质组学技术发现该蜂蜜能调节与非小细胞肺癌发展相关的信号通路的关键蛋白, 且 ELAVL1、H3F3A 和 PCNA 可能是作用靶点。在蜂胶中, 蛋白质组学证明了其诱导细胞凋亡的机制与调控 GRP78、PRDX2、LDHB 等蛋白质有关^[38]。

2 代谢组学技术在蜂产品研究中的应用

代谢组学是对某一生物或细胞在某一特定生理时期内所有小分子代谢产物进行分析的一门学科。近年来, 代谢组学的检测方法和分析思路被广泛用于食品和农产品研究领域, 通过分析食品和农产品中的小分子物质来进行溯源和品质评价。代谢组学按研究目的可以分为靶向代谢组学和非靶向代谢组学。靶向代谢组学具有偏向性, 仅对某个或一类目标代谢物进行定性定量分析, 而非靶向代谢组学则具有无偏

向性, 其目的是最大限度覆盖代谢物, 无偏向性地对所有代谢小分子进行检测分析^[39]。代谢组学一般分析流程包括实验设计、样本采集与处理、数据采集、数据处理、统计发现、定性鉴定、通路分析及生物学阐释(图 2)。目前常用的数据库包括 HMDB、KEGG、Mass Bank 和 NIST 等, 在代谢物鉴定过程中, 可以结合多个数据库进行分析, 以便代谢物信息更全面、准确。

2.1 代谢组学在蜂产品成分鉴定中的应用

蜂产品的化学成分复杂, 除了蛋白质等大分子物质, 还含有氨基酸、多酚、有机酸、维生素等小分子物质。蜂产品中的小分子物质不仅种类繁多, 并且有很多微量成分。传统的检测技术难以实现蜂产品中多成分的全面鉴别, 而代谢组学具有高通量、高灵敏度等优势, 能够实现蜂产品中多目标、全组分的高通量同时鉴别, 特别是传统检测技术无法检测到的微量成分。张丽翠等^[40] 对蜂王浆的代谢组学分析条件进行了优化, 通过比较分析不同溶剂提取的蜂王浆代谢物, 发现 80% 甲醇或 80% 乙醇是最佳的提取溶剂, 并证明反相液相色谱和亲水作用色谱分别联合高分辨质谱可以较全面地检测蜂王浆中的小分子化合物。通过代谢组学分析蜂王浆中的代谢物, 发现其中的 77 个小分子代谢物及其丰度随蜂王浆产量和收获时间的增加而变化, 可用于蜂王浆的收获时间评估和品质评价^[41]。代谢组学在蜂毒和蜂花粉成分鉴定研究中的应用还处于初步阶段, 最近一项研究通过非

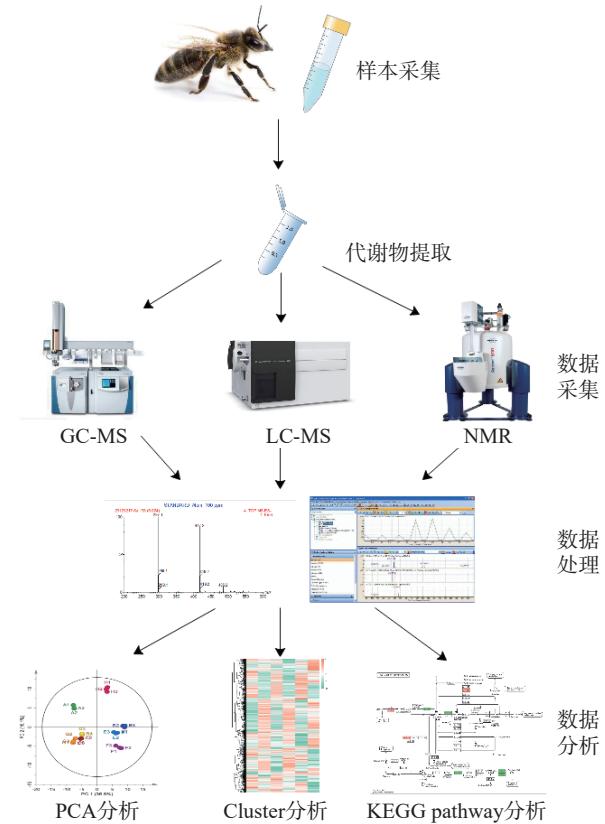


图 2 代谢组学分析流程

Fig.2 Metabolomics analysis workflow

靶向代谢组学技术较全面地鉴定了蜂毒中的 214 个代谢物, 并通过靶向代谢组学技术定量了 138 个代谢物, 证实了蜂毒中氨基酸、碳水化合物和有机酸的存在, 还提供了以前研究中未报到的核苷、核苷酸、嘌呤衍生物的信息^[42]。通过非靶向代谢组学技术对不同品种蜂花粉中的 467 种多酚进行注释, 可以发现黄酮类物质是其含量最多的化合物, 其次是酚酸、木脂素等^[43]。发酵蜂花粉也是近年来蜂产品领域的研究热点, 通过广靶代谢组学发现经过发酵后蜂花粉中的氨基酸、多不饱和脂肪酸、有机酸和酚酸等成分的含量显著升高, 表明发酵能提高蜂花粉的营养价值^[44]。

2.2 代谢组学在蜂产品鉴别和鉴伪中的应用

蜂产品的化学成分受到昆虫源、植物源、地理源等因素的影响, 不同来源的蜂产品的化学成分、品质、生物活性存在差异, 因此需要对蜂产品的昆虫源、植物源、地理源进行鉴别。代谢组学依托高精度的现代分析仪器, 能够获得庞大的数据量, 再通过多元统计分析对数据进行处理和提取, 可以实现特征标志物的筛选和鉴定, 而特征标志物可用于蜂产品的昆虫源、植物源、地理源鉴别。

通过非靶向代谢组学技术分析意大利蜜蜂产的蜂蜜和中华蜜蜂产的蜂蜜, 从 141 个代谢物中筛选出 3 个化合物作为中华蜜蜂所产蜂蜜的标志物, 可用于区分中蜂蜂蜜和意蜂蜂蜜, 实现了蜂蜜的昆虫源鉴别^[45]。此外, 代谢组学技术用于意大利蜂蜜的研究结果表明内源性双甘油醚可以作为意蜂蜂蜜的关键标志物^[46]。

目前, 代谢组学在蜂蜜的植物源鉴别中应用最多。利用基于超高效液相色谱串联四级杆飞行时间质谱的代谢组学分析单花蜂蜜, 发现羟基红花黄色素 A 可以作为新疆特色红花蜂蜜的特征标志物^[47], 水苏碱可以作为米团花蜂蜜的特征标记物^[48]。利用基于超高效液相色谱串联四级杆静电场轨道阱质谱的代谢组学对中国不同地区不同植物源蜂蜜进行研究, 发现香叶醛和脱落醛可以作为荔枝蜜的标记物, 刺桐碱可以作为金合欢蜜的标志物, 异樱花素可以作为辽宁和陕西金合欢蜜的标志物^[49]。利用基于核磁共振的代谢组学技术可以区分芬兰不同植物源的蜂蜜, 并筛选出 2-羟基-3-甲基丁酸、2-羟基-3-甲基戊酸等可以作为蒲公英蜜的特征标记物^[50]。此外, 代谢组学也开始被用于蜂胶和蜂花粉的植物源鉴别。研究发现苯丙烷衍生物、类黄酮、高良姜素和白杨素等特征标志物可用于蜂胶植物源的鉴别^[51], 蜂花粉中的花青素、咖啡酸等 35 种酚类化合物可以用于蜂花粉的植物源鉴别^[43]。

代谢组学还被用于蜂蜜的地理源鉴别中, 通过基于核磁共振的代谢组学技术筛选出白杨素、松属素、短叶松素、脱落酸和山姜酮可以作为欧洲不同地区金合欢蜜的标志物, 并且利用这些标志物对欧洲金

合欢蜜的地理源鉴别准确率可以达到 100%^[52]。蜂胶的化学组成受地理源的影响较大, 有研究表明白杨素、高良姜素和芹菜素等化合物可以作为区分中国不同气候地区蜂胶的标志物^[53], 高良姜素、白杨素、木犀草素等标志物可以实现中国蜂胶和希腊蜂胶的产地鉴别^[54]。基于核磁共振的代谢组学技术也可以用于追溯蜂王浆产品的地理源^[55]。

蜂产品中最容易出现掺假造假问题是蜂蜜。蜂蜜的掺假造假方式主要分为两类, 一类是添加糖浆, 一类是以次充好, 包括以低劣蜂蜜冒充高品质蜂蜜、以加热浓缩蜜冒充成熟蜂蜜等。利用基于核磁共振的代谢组学技术可以区分无刺蜂蜂蜜和添加 C3、C4 糖浆的掺假蜂蜜^[56], 利用代谢组学方法在人工加热浓缩的金合欢蜜中检测出 N-(1-脱氧-1-果糖) 苯丙氨酸, 它是美拉德反应初始阶段形成的产物, 常见于热加工处理中, 该化合物可以用于区分金合欢蜜是天然成熟还是人工加热浓缩而成^[57]。

2.3 代谢组学在蜂产品生物活性机制研究中的应用

蜂产品具有多种生物活性, 通过收集体内实验或体外实验的代谢物并进行代谢组学分析, 可以用于阐明蜂产品的生物活性机制。代谢组学技术在蜂产品研究中的应用见表 2。Mustafa 等^[58] 通过基于核磁共振的代谢组学结合逆转录聚合酶链反应发现无刺蜂蜂蜜中的苯丙氨酸通过上调脑源性神经营养因子基因而改善小鼠的空间记忆能力。结合代谢组学技术和生物活性评价, 可以发现埃及和巴西不同地区蜂胶的酚类物质与抗氧化活性之间存在着很强的相关性, 且香豆酰乙酰甘油、高良姜素、棕榈酸等可以作为抗氧化和黄嘌呤氧化酶抑制活性的标志物^[59-60]。蜂胶还具有抗菌活性, 利用代谢组学揭示了蜂胶对金黄色葡萄球菌和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的作用机制^[61], 阐明了蜂胶通过提高能量代谢和破坏氧化还原稳态而起到抗结核分歧杆菌的作用^[62]。此外, 还有代谢组学研究结果表明蜂胶提取物具有抗癌作用^[63] 以及减轻 D-半乳糖诱导的小鼠骨骼肌衰老作用^[64]。蜂王浆的主要成分 MRJPs 可以缓解非酒精性脂肪肝疾病, 广靶代谢组学揭示了 MRJPs 通过调节 α -亚麻酸、亚油酸、花生四烯酸和其它不饱和脂肪酸的生物合成来调控脂质代谢、氧化应激和炎症, 实现对非酒精性脂肪肝疾病的介导^[65]。MRJPs 还可以通过半胱氨酸和牛磺酸代谢及能量代谢途径改善老年大鼠的空间记忆能力, 具有预防认知障碍的潜力^[66]。此外, 还有研究表明蜂王浆中的功能活性成分 10-HDA 可以通过上调 2 型糖尿病小鼠肝脏中 PI3K/AKT/GSK3 β 信号通路来提高胰岛素敏感性, 促进糖原合成, 为蜂王浆应用于糖尿病治疗提供理论支持^[67]。代谢组学用于蜂毒和蜂花粉生物活性的研究也有少量报道。已有研究表明蜂毒可以引起与三羧酸循环及脂代谢有关的标志物回调, 从而对类风湿性关节炎起到良好的治疗效果^[68]。蜂花粉中丰富的酚类物质使

表 2 代谢组学技术在蜂产品研究中的应用
Table 2 Application of metabolomics technology in bee products research

蜂产品类别	样品来源	分析目的	方法	主要研究结果	参考文献
蜂蜜	中国蜂蜜、意大利蜂蜜	昆虫源鉴别	HS-GC-IMS	鉴定出1-壬醇、1-庚醇和乙酸苯乙酯可以作为中蜂蜂蜜的标志物, 苯甲醛、庚醛、苯乙醛可以作为意蜂蜂蜜的标志物	[45]
蜂蜜	不同蜂种的厄瓜多尔蜂蜜	昆虫源鉴别	NMR	鉴定出内源性双甘油醚可以作为意蜂蜂蜜的标志物	[46]
蜂蜜	新疆红花蜂蜜及其它单花蜂蜜	植物源鉴别	UHPLC-Q-TOF-MS	鉴定出羟基红花黄色素A可以作为新疆红花蜂蜜的特征标志物	[47]
蜂蜜	云南米团花蜂蜜及其它单花蜂蜜	植物源鉴别	UHPLC-Q-TOF-MS	鉴定出水苏碱可以作为云南米团花蜂蜜的特征标志物	[48]
蜂蜜	不同地理源、植物源蜂蜜	植物源、地理源鉴别	UHPLC-Q-Orbitrap	鉴定出香叶醛和脱落醛可以作为荔枝蜜的标志物, 刺桐碱可以作为金合欢蜜的标志物, 异櫟花素可以作为区分辽宁和陕西地区金合欢蜜的标志物	[49]
蜂蜜	芬兰不同植物源蜂蜜	植物源鉴别	NMR	鉴定出2-羟基-3-甲基丁酸、2-羟基-3-甲基戊酸、3-甲基-2-氧代戊酸和4-甲基-2-氧代戊酸可以作为蒲公英蜜的标志物	[50]
蜂蜜	欧洲不同地区金合欢蜜	地理源鉴别	NMR	鉴定出自杨素、松属素、短叶松素、脱落酸和山姜酮等可以作为区分意大利地区和东欧地区金合欢蜜的标志物	[52]
蜂蜜	无刺蜜蜂蜂蜜(SBHs)和C3、C4糖浆掺假蜂蜜	真实性鉴别	NMR	发现 ¹ H NMR代谢物指纹建立的三级预测模型能够对真实的SBHs、C3糖浆掺假的SBHs和C4糖浆掺假的SBHs进行分类	[56]
蜂蜜	自然成熟和人工浓缩的金合欢蜜	真实性鉴别	UHPLC-Q-TOF-MS, NMR	鉴定出N-(1-脱氧-1-果糖)苯丙氨酸可以作为区分自然成熟金合欢蜜与人工浓缩金合欢蜜的标志物	[57]
蜂蜜	无刺蜜蜂蜂蜜	改善空间记忆活性机制	NMR	发现蜂蜜可以使小鼠的空间工作记忆和空间参考记忆能力明显改善, 并且发现蜂蜜中的苯丙氨酸在脑源性神经营养因子受体中发挥作用	[58]
蜂胶	不同海拔高度、植物源蜂胶	植物源鉴别	NMR	鉴定出苯丙烷衍生物、对香豆酸苄酯等可以作为海拔500米以上优势树种欧洲山杨源蜂胶的标志物, 高良姜素、白杨素等可以作为海拔400米以下优势树种欧洲黑杨、欧美杨源蜂胶的标志物	[51]
蜂胶	中国不同地区蜂胶	地理源鉴别	NMR	发现白杨素、高良姜素和芹菜素可作为区分中温带和暖温带的地理源指标	[53]
蜂胶	中国、希腊蜂胶	地理源鉴别	UHPLC-HRMS	鉴定出高良姜素、白杨素、木犀草素等物质可以用于区分中国蜂胶和希腊蜂胶	[54]
蜂胶	巴西地区绿色蜂胶和棕色蜂胶	抗菌及抗氧化活性相关代谢物鉴定	GC-MS	鉴定出的代谢物中, 32个只在绿色蜂胶中发现, 12个只在棕色蜂胶提取物中发现; 蜂胶的酚类物质和维甲酸甲酯与抗氧化能力呈正相关, 十四醛、 γ -棕榈内酯和肉桂酸乙酯与抗氧化能力呈负相关; 抗菌活性很大程度上取决于微生物的类型	[59]
蜂胶	埃及不同地区蜂胶	抗氧化和抑制黄嘌呤氧化酶活性相关代谢物鉴定	UPLC-MS/MS	鉴定出香豆酰乙酰甘油、高良姜素、棕榈酸等具有抗氧化活性和抑制黄嘌呤氧化酶活性的标志物	[60]
蜂胶	中国红蜂胶	抗菌活性机制	LC-QQQ-MS/MS	发现经过红蜂胶提取物干预后, 金黄色葡萄球菌12个代谢途径中有7个代谢物发生显著变化, 耐甲氧西林金黄色葡萄球菌9个代谢途径中有11个代谢物发生显著变化	[61]
蜂胶	尼泊尔蜂胶	抗菌活性机制	LC-Q-TOF-MS	发现蜂胶提取物的抗结核分歧杆菌机制是通过提高其能量代谢和破坏氧化还原稳态	[62]
蜂胶	澳大利亚蜂胶	抗癌活性相关代谢物鉴定	UPLC-Q-TOF-MS	鉴定出澳大利亚蜂胶提取物中的5个戊烯基二苯乙烯代谢物与抗癌有关	[63]
蜂胶	中国杨树蜂胶	延缓骨骼肌衰老活性机制	LC-ESI-MS/MS	发现蜂胶可以增加Ala-Ile等来影响骨骼肌中的蛋白质代谢, 通过影响亚油酸代谢降低衰老骨骼肌中的15(R)-前列腺素E1等代谢物水平等途径来延缓骨骼肌衰老	[64]
蜂王浆	中国蜂王浆	代谢物鉴定	RPLC-MS, HILIC-MS	鉴定出蜂王浆中70种高丰度的代谢物	[40]
蜂王浆	意蜂蜂群和高产蜂王浆蜂群的蜂王浆	代谢物鉴定、品质评价	UHPLC-HRMS	发现蜂王浆中的77个小分子代谢物及其丰度随产量和收获时间的增加而变化, 且相较于意蜂蜂群所产的蜂王浆, 高产蜂王浆蜂群所产的蜂王浆中代谢组分丰度基本不变, 甚至更高	[41]
蜂王浆	意大利、中国蜂王浆	地理源鉴别	NMR	鉴定出中国蜂王浆产品中柠檬酸和赖氨酸较高、10-HDA较低	[55]
蜂王浆	新鲜蜂王浆	缓解非酒精性脂肪肝疾病活性机制	UPLC-ESI-MS/MS	发现MRJPs通过调节 α -亚麻酸、亚油酸、花生四烯酸和其它不饱和脂肪酸的生物合成等途径来调控非酒精性脂肪肝疾病	[65]
蜂王浆	新鲜蜂王浆	改善空间记忆活性机制	UPLC-Q-TOF-MS	发现MRJPs可能通过半胱氨酸和牛磺酸代谢及能量代谢途径改善老年大鼠的空间记忆能力, 并具有预防认知障碍的潜力	[66]
蜂毒	意大利蜜蜂蜂毒	代谢物鉴定	LC-Q-Orbitrap, LC-QQQ-MS/MS	鉴定出蜂毒中的214个代谢物	[42]
蜂毒	意大利蜜蜂蜂毒	干预类风湿性关节炎活性机制	GC-MS	发现蜂毒干预的类风湿性关节炎小鼠血清中与三羧酸循环及脂代谢有关的标志物上调	[68]

续表 2

蜂产品类别	样品来源	分析目的	方法	主要研究结果	参考文献
蜂花粉	不同植物源蜂花粉	代谢物鉴定, 植物源鉴别	UHPLC-ESI-QTOF-MS	鉴定出黄酮类物质是蜂花粉中含量最多的化合物, 其次是酚酸、木脂素等, 且花青素、咖啡酸等35种酚类物质可用于植物源鉴别	[43]
蜂花粉	发酵蜂花粉和未发酵蜂花粉	代谢物鉴定	UPLC-ESI-MS	鉴定出发酵蜂花粉和未发酵蜂花粉间存在668种差异代谢物, 且发酵显著提高了蜂花粉中氨基酸等初级代谢物和酚酸等次级代谢物的含量	[44]
蜂花粉	不同植物源蜂花粉	抗炎活性机制	UPLC-Q-TOF-MS	发现山茶蜂花粉提取物预处理可抑制脂多糖诱导的小鼠肺部炎症, 抑制iNOS、COX-2和NLRP3的产生, 且显著调节甘油磷脂代谢	[69]
蜂花粉	莲花蜂花粉	抗癌活性相关代谢物鉴定	UPLC-Triple-TOF-MS	发现经高静水压力处理后, 莲花蜂花粉中53种与健康相关的生物活性代谢物含量增加, 且其中的毛壳球菌素、广豆根素等与抗前列腺癌PC-3细胞增殖的活性有强相关性	[70]
蜂花粉	茶花蜂花粉	炎症性肠病保护活性机制	UPLC-Q-TOF-MS	发现蜂花粉对葡聚糖硫酸钠诱导的肠屏障损伤具有保护作用, 且蜂花粉能上调抗氧化因子(NQO1、Txnrd1、Nrf2)mRNA表达, 下调炎症因子(TNF- α 、IL-6)mRNA表达, 同时抑制MAPK信号通路	[71]
蜂花粉	不同植物源蜂花粉	抗酪氨酸酶活性相关代谢物鉴定	UPLC-Q-TOF-MS	鉴定出8种蜂花粉提取物存在40种差异代谢物, 其中21种亚精胺衍生物和5种精胺衍生物与抗酪氨酸酶活性有强相关性	[72]

其具有良好的抗炎^[69]、抗癌细胞增殖^[70]及肠屏障保护作用^[71]。通过非靶代谢组学技术结合活性相关性分析, 揭示了蜂花粉中的酚胺类化合物是蜂花粉抑制酪氨酸酶活性的主要成分^[72]。

3 结语与展望

随着组学技术的不断发展和完善, 蛋白质组学和代谢组学技术已在蜂产品成分鉴定、鉴别和鉴伪、生物活性机制等研究中发挥了重要作用。但仍然存在一些问题需要解决: 蛋白质组学存在着大样本量无法快速精准定量的问题; 基于核磁共振技术的代谢组学分析存在灵敏度低的问题, 而基于质谱的代谢组学对于不同种类的代谢物需要不同的色谱分离、样品前处理较复杂; 在化合物鉴定过程中, 不论是代谢组学还是蛋白质组学都存在数据库不完善的问题, 需要比对多个数据库进行鉴定。此外, 其他组学技术在蜂产品研究中的应用还相对较少, 并且单一的组学技术仅能在某一个层面反应生物信息, 今后应将多组学联合技术运用到蜂产品研究中。多组学技术伴随仪器的先进智能化和数据整合分析技术的发展而出现, 它能有机整合多种组学技术获得的多维信息^[73]。在蜂产品的成分鉴定、鉴别和鉴伪方面, 可以采用蛋白质组学、代谢组学、脂质组学的多组学联合技术, 能够更加全面地覆盖蜂产品中的化学成分; 在蜂产品的生物活性机制研究中, 可以采用基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等多组学联合技术, 能够更加全面了解基因调控和代谢因果关系、更加系统阐明生物功能和生理机制。

参考文献

- [1] 赵彤, 王宣, 吴黎明, 等. 发酵蜂产品研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(14): 461–466. [ZHAO T, WANG X, WU L M, et al. Research progress of fermented bee products[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(14): 461–466.]
- [2] NASCIMENTO K S D, GASPAROTTO SATTLER J A, LAUER MACEDO L F, et al. Phenolic compounds, antioxidant capacity and physicochemical properties of Brazilian *Apis mellifera*
- [3] EL-SEEDI H R, KHALIIFA S A M, ABD EL-WAHED A, et al. Honeybee products: An updated review of neurological actions [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 101: 17–27.
- [4] 旬利杰. 我国蜂蜜生产现状及国内外市场形势分析[J]. 南方农业学报, 2021, 52(11): 3174–3184. [XUN L J. Chinese honey production status and the market situation at home and abroad[J]. Journal of Southern Agriculture, 2021, 52(11): 3174–3184.]
- [5] ELMASRY G, MORSY N, AL-REJAEI S, et al. Real-time quality authentication of honey using atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry (APCI-MS) [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 54(11): 2983–2997.
- [6] 静平, 吴振兴, 厉艳, 等. 组学技术在食品安全检测中的应用 [J]. 分析科学学报, 2019, 35(6): 766–770. [JING P, WU Z X, LI Y, et al. The application of omics in food safety detection[J]. Journal of Analytical Science, 2019, 35(6): 766–770.]
- [7] 刘昊天, 李媛媛, 孔保华. 组学技术在鉴定及预测猪肉质量特性生物标志物中的应用 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(13): 381–385. [LIU H T, LI Y Y, KONG B H. Application of omics techniques in identification and prediction of biomarkers of quality attributes of pork: A review[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(13): 381–385.]
- [8] 王洋, 陈孟涵, 张锦锦, 等. 蛋白质组学在食品领域的应用研究进展 [J]. 食品科技, 2022, 47(3): 43–48. [WANG Y, CHEN M H, ZHANG J J, et al. Application research progress of proteomics in food field[J]. Food Science and Technology, 2022, 47(3): 43–48.]
- [9] 田尉婧, 张九凯, 程海燕, 等. 基于质谱的蛋白质组学技术在食品真伪鉴别及品质识别方面的应用 [J]. 色谱, 2018, 36(7): 588–598. [TIAN W J, ZHANG J K, CHENG H Y, et al. Applications of mass spectrometry-based proteomics in food authentication and quality identification[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(7): 588–598.]
- [10] PEIREN N, VANROBAEYS F, DE GRAAF D C, et al. The protein composition of honeybee venom reconsidered by a proteomic approach [J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics, 2005, 1752(1): 1–5.
- [11] MATYSIAK J, HAJDUK J, PIETRZAK L, et al. Shotgun proteome analysis of honeybee venom using targeted enrichment strategies [J]. Toxicon, 2014, 90: 255–264.

- [12] FERREIRA RESENDE V M, VASILJ A, SANTOS K S, et al. Proteome and phosphoproteome of Africanized and European honeybee venoms[J]. *Proteomics*, 2013, 13(17): 2638–2648.
- [13] MATYSIAK J, HAJDUK J, MAYER F, et al. Hyphenated LC-MALDI-TOF/TOF and LC-ESI-QTOF approach in proteomic characterization of honeybee venom[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016, 121: 69–76.
- [14] VAN VAERENBERGH M, DEBYSER G, DEVREESE B, et al. Exploring the hidden honeybee (*Apis mellifera*) venom proteome by integrating a combinatorial peptide ligand library approach with FTMS[J]. *Journal of Proteomics*, 2014, 99: 169–178.
- [15] SCHOENLEBEN S, SICKMANN A, MUELLER M J, et al. Proteome analysis of *Apis mellifera* royal jelly[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 389(4): 1087–1093.
- [16] HAN B, LI C X, ZHANG L, et al. Novel royal jelly proteins identified by gel-based and gel-free proteomics[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(18): 10346–10355.
- [17] 郭静, 晏嘉泽, 郭明, 等. 反相液相色谱-串联质谱法鉴定油菜蜂花粉中的蛋白质及活性肽[J]. *色谱*, 2014, 32(3): 284–289.
- [GUO J, YAN J Z, GUO M, et al. Application of reversed-phase liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the identification of protein and bioactivity peptides from rape bee pollen[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2014, 32(3): 284–289.]
- [18] MAQSUDLOU A, MAHOONAK A S, MORA L, et al. Peptide identification in alcalase hydrolysed pollen and comparison of its bioactivity with royal jelly[J]. *Food Research International*, 2019, 116: 905–915.
- [19] YIN S T, TAO Y X, JIANG Y S, et al. A combined proteomic and metabolomic strategy for allergens characterization in natural and fermented *Brassica napus* bee pollen[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 822033.
- [20] TAO Y X, YIN S T, FU L L, et al. Identification of allergens and allergen hydrolysates by proteomics and metabolomics: A comparative study of natural and enzymolytic bee pollen[J]. *Food Research International*, 2022, 158: 111572.
- [21] ZHAO F Y, WU Y J, GUO L L, et al. Using proteomics platform to develop a potential immunoassay method of royal jelly freshness[J]. *European Food Research and Technology*, 2013, 236(5): 799–815.
- [22] LI J K, FEN M, ZHANG L, et al. Proteomics analysis of major royal jelly protein changes under different storage conditions[J]. *Journal of Proteome Research*, 2008, 7(8): 3339–3353.
- [23] HU H, WEI Q H, SUN Z H, et al. Development of a freshness assay for royal jelly based on the temperature- and time-dependent changes of antimicrobial effectiveness and proteome dynamics of royal jelly proteins[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(36): 10731–10740.
- [24] QU N, JIANG J, SUN L X, et al. Proteomic characterization of royal jelly proteins in Chinese (*Apis cerana cerana*) and European (*Apis mellifera*) honeybees[J]. *Biochemistry-Moscow*, 2008, 73(6): 676–680.
- [25] MA C, MA B B, LI J K, et al. Changes in chemical composition and antioxidant activity of royal jelly produced at different floral periods during migratory beekeeping[J]. *Food Research International*, 2022, 155: 111091.
- [26] SONG Y Q, MILNE R I, ZHOU H X, et al. Floral nectar chitinase is a potential marker for monofloral honey botanical origin authentication: A case study from loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) [J]. *Food Chemistry*, 2019, 282: 76–83.
- [27] 严丽娟, 徐敦明, 薛晓锋, 等. 基于液相色谱-高分辨质谱的代谢组学技术用于麦卢卡蜂蜜的甄别[J]. *色谱*, 2019, 37(6): 589–596. [YAN L J, XU D M, XUE X F, et al. Authenticity identification of manuka honey using liquid chromatography-high resolution mass spectrometry based metabolomic technique[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2019, 37(6): 589–596.]
- [28] BONG J, MIDDLEITCH M, LOOMES K M, et al. Proteomic analysis of honey. Identification of unique peptide markers for authentication of NZ manuka (*Leptospermum scoparium*) honey[J]. *Food Chemistry*, 2021, 350: 128442.
- [29] JIANG W J, YING M R, ZHANG J J, et al. Quantification of major royal jelly proteins using ultra performance liquid chromatography tandem triple quadrupole mass spectrometry and application in honey authenticity[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2021, 97: 103801.
- [30] 孙杰. 蜂毒干预胶原诱导型关节炎小鼠模型的蛋白质组学研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2014. [SUN J. Proteomics research on effect of bee venom in type II collagen-induced arthritis mice model[D]. Fuzhou: Fujian Agricultural and Forestry University, 2014.]
- [31] FAN P, HAN B, FENG M, et al. Functional and proteomic investigations reveal major royal jelly protein 1 associated with anti-hypertension activity in mouse vascular smooth muscle cells[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30230.
- [32] BILIKOVA K, MIRGORODSKAYA E, BUKOVSKA G, et al. Towards functional proteomics of minority component of honeybee royal jelly: The effect of post-translational modifications on the antimicrobial activity of apalbumin2[J]. *Proteomics*, 2009, 9(8): 2131–2138.
- [33] FAN P, SHA F F, MA C, et al. 10-Hydroxydec-2-enoic acid reduces hydroxyl free radical-induced damage to vascular smooth muscle cells by rescuing protein and energy metabolism[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 873892.
- [34] ERBAN T, SHCHERBACHENKO E, TALACKO P, et al. The unique protein composition of honey revealed by comprehensive proteomic analysis: Allergens, venom-like proteins, antibacterial properties, royal jelly proteins, serine proteases, and their inhibitors[J]. *Journal of Natural Products*, 2019, 82(5): 1217–1226.
- [35] PACKER J M, IRISH J, HERBERT B R, et al. Specific non-peroxide antibacterial effect of manuka honey on the *Staphylococcus aureus* proteome[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2012, 40(1): 43–50.
- [36] JENKINS R, BURTON N, COOPER R. Effect of manuka honey on the expression of universal stress protein A in meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2011, 37(4): 373–376.
- [37] AMRAN N, ABDUL-RAHMAN P S. Differential proteome and functional analysis of NSCLC cell lines in response to Tualang honey treatment[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2022, 293: 115264.
- [38] FROZZA C O D S, RIBEIRO T D S, GAMBATO G, et al. Proteomic analysis identifies differentially expressed proteins after red propolis treatment in Hep-2 cells[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2014, 63: 195–204.
- [39] 赖博文, 刘玢, 梁永康. 基于高分辨质谱的非靶向代谢组学在食品造假鉴定中的研究进展[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(2): 192–197. [LAI B W, LIU B, LIANG Y K. Research progress on

- food fraud using non-targeted metabolomics based on high-resolution mass spectrometry[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(2): 192–197.]
- [40] 张丽翠, 马川, 冯毛, 等. 基于高分辨质谱和代谢组学技术评估和优化蜂王浆代谢物提取方法[J]. *中国农业科学*, 2020, 53(18): 3833–3845. [ZHANG L C, MA C, FENG M, et al. Evaluation and optimization of metabolite extraction protocols for royal jelly by high resolution mass spectrometry and metabolomics[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(18): 3833–3845.]
- [41] MA C, ZHANG L C, FENG M, et al. Metabolic profiling unravels the effects of enhanced output and harvesting time on royal jelly quality[J]. *Food Research International*, 2021, 139: 109974.
- [42] KLUPCZYNSKA A, PLEWA S, DEREZINSKI P, et al. Identification and quantification of honeybee venom constituents by multiplatform metabolomics[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 21645.
- [43] ROCCHETTI G, CASTIGLIONI S, MALDARIZZI G, et al. UHPLC-ESI-QTOF-MS phenolic profiling and antioxidant capacity of bee pollen from different botanical origin[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2019, 54(2): 335–346.
- [44] ZHANG H F, LU Q, LIU R. Widely targeted metabolomics analysis reveals the effect of fermentation on the chemical composition of bee pollen[J]. *Food Chemistry*, 2022, 375: 131908.
- [45] WANG X R, ROGERS K M, LI Y, et al. Untargeted and targeted discrimination of honey collected by *Apis cerana* and *Apis mellifera* based on volatiles using HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(43): 12144–12152.
- [46] ZUCCATO V, FINOTELLO C, MENEGAZZO I, et al. Entomological authentication of stingless bee honey by H-1 NMR-based metabolomics approach[J]. *Food Control*, 2017, 82: 145–153.
- [47] ZHAO L W, REN C J, XUE X F, et al. Safflomin A: A novel chemical marker for *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) monofloral honey[J]. *Food Chemistry*, 2022, 366: 130584.
- [48] YAN S, WANG X, ZHAO H M, et al. Metabolomics-based screening and chemically identifying abundant stachydrine as quality characteristic of rare *Leucosceptrum canum* Smith honey[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2022, 114: 104759.
- [49] LI Y, JIN Y, YANG S P, et al. Strategy for comparative untargeted metabolomics reveals honey markers of different floral and geographic origins using ultrahigh-performance liquid chromatography-hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2017, 1499: 78–89.
- [50] KORTESNIEMI M, SLUPSKY C M, OLLIKKA T, et al. NMR profiling clarifies the characterization of Finnish honeys of different botanical origins[J]. *Food Research International*, 2016, 86: 83–92.
- [51] ANDELKOVIC B, VUJISIC L, VUCKOVIC I, et al. Metabolomics study of *Populus* type propolis[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2017, 135: 217–226.
- [52] SCHIEVANO E, STOCCHERO M, ZUCCATO V, et al. NMR assessment of European acacia honey origin and composition of EU-blend based on geographical floral markers[J]. *Food Chemistry*, 2019, 288: 96–101.
- [53] WANG T T, LIU Q H, WANG M, et al. Metabolomics reveals discrimination of Chinese propolis from different climatic regions[J]. *Foods*, 2020, 9(4): 491.
- [54] STAVROPOULOU M I, TERMENTZI A, KASIOOTIS K M, et al. Untargeted ultrahigh-performance liquid chromatography-hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry (UHPLC-HRMS) metabolomics reveals propolis markers of Greek and Chinese origin[J]. *Molecules*, 2021, 26(2): 456.
- [55] MAZZEI P, PICCOLO A, BRESCIA M, et al. Assessment of geographical origin and production period of royal jelly by NMR metabolomics[J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2020, 7(1): 24.
- [56] YONG C H, MUHAMMAD S A, AZIZ F A, et al. Detecting adulteration of stingless bee honey using untargeted H-1 NMR metabolomics with chemometrics[J]. *Food Chemistry*, 2022, 368: 130808.
- [57] YAN S, WANG X, WU Y C, et al. A metabolomics approach revealed an Amadori compound distinguishes artificially heated and naturally matured acacia honey[J]. *Food Chemistry*, 2022, 385: 132631.
- [58] MUSTAFA M Z, ZULKIFLI F N, FERNANDEZ I, et al. Stingless bee honey improves spatial memory in mice, probably associated with brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and inositol 1, 4, 5-triphosphate receptor type 1 (Itpr1) genes[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 2019: 8258307.
- [59] BITTENCOURT M L F, RIBEIRO P R, FRANCO R L P, et al. Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: Use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds[J]. *Food Research International*, 2015, 76: 449–457.
- [60] GHALLAB D S, MOHYELDIN M M, SHAWKY E, et al. Chemical profiling of Egyptian propolis and determination of its xanthine oxidase inhibitory properties using UPLC-MS/MS and chemometrics[J]. *LWT*, 2021, 136: 110298.
- [61] ZHANG W W, MARGARITA G E, WU D, et al. Antibacterial activity of Chinese red propolis against *Staphylococcus aureus* and MRSA[J]. *Molecules*, 2022, 27(5): 1693.
- [62] SAWICKI R, WIDELSKI J, OKINCZYK P, et al. Exposure to Nepalese propolis alters the metabolic state of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 929476.
- [63] ALSHERBINY M A, BHUYAN D J, RADWAN I, et al. Metabolomic identification of anticancer metabolites of Australian propolis and proteomic elucidation of its synergistic mechanisms with doxorubicin in the MCF7 cells[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(15): 7840.
- [64] TIAN S H, ZHAO H T, LIU J J, et al. Metabolomics reveals that alcohol extract of propolis alleviates D-gal-induced skeletal muscle senescence in mice[J]. *Food Bioscience*, 2022, 49: 101885.
- [65] ZHU Y Y, MENG X C, ZHOU Y J, et al. Major royal jelly proteins alleviate non-alcoholic fatty liver disease in mice model by regulating disordered metabolic pathways[J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2022, 46(9): e14214.
- [66] CHEN D, LIU F, WAN J B, et al. Effect of major royal jelly proteins on spatial memory in aged rats: Metabolomics analysis in urine[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(15): 3151–3159.
- [67] HU X Y, LIU Z G, LU Y T, et al. Glucose metabolism enhancement by 10-hydroxy-2-decenoyc acid via the PI3K/AKT signaling pathway in high-fat-diet/streptozotocin induced type 2 diabetic mice[J]. *Food & Function*, 2022, 13(19): 9931–9946.
- [68] 高虹. 基于 GC-MS 的蜂毒干预类风湿性关节炎小鼠模型

的代谢组学研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2014. [GAO H. Metabolomics study based on gas chromatography mass spectrometry of rheumatoid arthritis in mice intervened by bee venom[D]. Fuzhou: Fujian Agricultural and Forestry University, 2014.]

[69] LI Q Q, SUN M H, WANG Z R, et al. Bee pollen extracts modulate serum metabolism in lipopolysaccharide-induced acute lung injury mice with anti-inflammatory effects[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(28): 7855–7868.

[70] TUOHETI T, RASHEED H A, MENG L, et al. High hydrostatic pressure enhances the anti-proliferative properties of lotus bee pollen on the human prostate cancer PC-3 cells via increased metabolites[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2020, 261: 113057.

[71] LI Q Q, LIANG X W, GUO N N, et al. Protective effects of

bee pollen extract on the Caco-2 intestinal barrier dysfunctions induced by dextran sulfate sodium[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 117: 109200.

[72] ZHANG X X, YU M H, ZHU X L, et al. Metabolomics reveals that phenolamides are the main chemical components contributing to the anti-tyrosinase activity of bee pollen[J]. *Food Chemistry*, 2022, 389: 133071.

[73] 刘景芳, 李维林, 王莉, 等. 多组学技术及其在生命科学研究中应用概述[J]. 生物工程学报, 2022, 38(10): 3581–3593. [LIU J F, LI W L, WANG L, et al. Multi-omics technology and its applications to life science: A review[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2022, 38(10): 3581–3593.]