

基于UHPLC-QE-MS代谢组学分析云南不同产地深纹核桃仁品质差异

雷舒雯, 赵红, 付晓萍, 龚加顺, 彭春秀

Quality Analysis of *Juglans sigillata* Kernel from Different Producing Areas in Yunnan Province by UHPLC-QE-MS Metabolomics

LEI Shuwen, ZHAO Hong, FU Xiaoping, GONG Jiashun, and PENG Chunxiu

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024050360>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同产地稻花香水稻代谢产物差异分析

Analysis on the Difference of Daohuaxiang Rice Metabolites in Different Producing Areas

食品工业科技. 2022, 43(1): 10-20 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021050103>

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

Comparative Analysis of Black Tea Metabolites from Different Origins Based on Extensively Targeted Metabolomics

食品工业科技. 2022, 43(2): 9-19 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021040110>

基于非靶向代谢组学分析不同品种新疆大果沙棘代谢物的差异

Differences in Metabolites of Different Varieties from Xinjiang Large-fruit Sea Buckthorn as Analyzed by Non-targeted Metabolomics

食品工业科技. 2025, 46(4): 19-29 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024050420>

基于电子舌和非靶向代谢组学分析不同灵芝菌株滋味和差异代谢物

Analysis of Taste and Differential Metabolites of Different *Ganoderma lucidum* Strains Based on Electronic Tongue and Non-targeted Metabolomics

食品工业科技. 2024, 45(20): 1-13 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024010242>

基于非靶向代谢组学分析不同包装方式预制烤鱼代谢物的差异

Characterization and Discrimination of Prefabricated Grilled Fish with Different Packaging Methods Using Non-targeted Metabolomics

食品工业科技. 2024, 45(9): 288-295 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023100168>

基于代谢组学分析工夫红茶发酵过程中代谢物的变化

Metabolomics Analysis of Changes in Metabolites During the Fermentation Process of Congou Black Tea

食品工业科技. 2021, 42(21): 8-16 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030361>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

雷舒雯, 赵红, 付晓萍, 等. 基于 UHPLC-QE-MS 代谢组学分析云南不同产地深纹核桃仁品质差异 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(9): 275–285. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024050360

LEI Shuwen, ZHAO Hong, FU Xiaoping, et al. Quality Analysis of *Juglans sigillata* Kernel from Different Producing Areas in Yunnan Province by UHPLC-QE-MS Metabolomics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(9): 275–285. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024050360

· 分析检测 ·

基于 UHPLC-QE-MS 代谢组学分析云南 不同产地深纹核桃仁品质差异

雷舒雯¹, 赵红¹, 付晓萍¹, 龚加顺^{1,2,*}, 彭春秀^{3,*}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201;

2. 云南省农业科学院农产品加工研究所, 云南昆明 650233;

3. 云南农业大学园林园艺学院, 云南昆明 650201)

摘要: 采用非靶向代谢组学方法, 探究云南不同产地深纹核桃仁代谢产物的差异性。运用超高效液相色谱-串联质谱 (UHPLC-QE-MS), 通过主成分分析、正交偏最小二乘判别分析、聚类分析、代谢物及代谢通路差异性分析对云南深纹核桃仁的代谢组学特征进行研究。结果共鉴定出 305 种代谢物, 其中脂肪酸、莽草酸和苯丙酸、氨基酸和多肽占比较高, 主要参与苯丙氨酸代谢, 黄酮和黄酮醇、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成等代谢途径。8 个产地深纹核桃仁中差异代谢物有 185 种 (VIP>1 且 $P<0.05$), 筛选到吡啶乙酸、黄腐酚、酮亮氨酸等为大理州永平县核桃仁潜在标志物, 丁香酸、邻苯二甲酸二异癸酯、癸酸等为丽江市古城区核桃仁潜在标志物, 4-羟基-3-甲氧基肉桂醛为迪庆州香格里拉市核桃仁潜在标志物, 异土木香内酯、山奈酚、胆绿素等为大理州漾濞县核桃仁潜在标志物, 香兰素为普洱市景东县核桃仁潜在标志物, 山奈素、亮氨酸、异亮氨酸等为楚雄州大姚县核桃仁潜在标志物, N-乙酰苯丙氨酸、丙二酸、天冬酰胺等为保山市昌宁县核桃仁潜在标志物, 多巴黄质、7-乙酰氧基-4-甲基香豆素、十一烷酸等为临沧市凤庆县核桃仁潜在标志物, 这些差异可能会对核桃仁的抗氧化活性产生一定的影响。本研究通过指纹图谱和相似度分析有效实现了不同产地核桃仁区分, 提供了云南不同产地深纹核桃仁代谢物信息, UHPLC-QE-MS 技术对云南不同产地深纹核桃仁的鉴别具有可行性。

关键词: 深纹核桃, 代谢组学, 不同产地, 差异代谢物, 指纹图谱

中图分类号: TS225.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)09-0275-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024050360



本文网刊:

Quality Analysis of *Juglans sigillata* Kernel from Different Producing Areas in Yunnan Province by UHPLC-QE-MS Metabolomics

LEI Shuwen¹, ZHAO Hong¹, FU Xiaoping¹, GONG Jiashun^{1,2,*}, PENG Chunxiu^{3,*}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Agro-products Processing Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650233, China;

3. College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: Non-targeted metabolomics method was used to investigate the differences of metabolites of *Juglans sigillata* kernel from different regions in Yunnan. The metabolomic profiles of *Juglans sigillata* kernel were investigated by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-QE-MS) with principal component analysis, orthogonal partial least squares discriminant analysis, cluster analysis and metabolite and metabolic pathway difference analysis. The results showed that a total of 305 metabolites were detected, with the highest proportion of fatty acids,

收稿日期: 2024-05-28

基金项目: 云南省科技特派团项目 (202204BI090014); 云岭学者专项 (YNWR-YLXZ-2018-026)。

作者简介: 雷舒雯 (1996-), 女, 博士研究生, 研究方向: 营养与食品安全研究, E-mail: 610252271@qq.com。

* 通信作者: 龚加顺 (1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学与茶叶化学, E-mail: gong199@163.com。

彭春秀 (1977-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 植化及功效, E-mail: 1045418854@qq.com。

shikimates, phenylpropanoids, amino acids and peptides, which were mainly involved in the metabolic pathways of phenylalanine metabolism, flavone and flavonol biosynthesis, valine, leucine and isoleucine biosynthesis. A total of 185 differential metabolites were screened in the *Juglans sigillata* kernel from 8 producing areas ($VIP > 1$ and $P < 0.05$). Indolelactic acid, xanthohumol and ketoleucine were identified as signature compounds of walnut kernel in Yongping county of Dali prefecture. Syringic acid, dIDP and capric acid were found to be signature compounds of walnut kernel in Gucheng town of Lijiang city. Coniferaldehyde was the signature compound of walnut kernel in Shangri-La city of Diqing prefecture. Isoalantolactone, kaempferol, biliverdin were found to be signature compounds of walnut kernel in Yangbi county of Dali prefecture. Vanillin was identified to be signature compound of walnut kernel in Jingdong county of Pu'er city. Kaempferide, leucine and isoleucine were identified as signature compounds of walnut kernel in Dayao county of Chuxiong prefecture. N-acetylphenylalanine, malonic acid and asparagine were the signature compounds of walnut kernel in Changning county of Baoshan city. Dopaxanthin, 4-methylumbelliferyl acetate and undecanoic acid were found to be signature compounds of walnut kernel in Fengqing county of Lincang city. These differences might have certain effects on the antioxidant activity of walnut kernels. Similarity analysis from fingerprints showed effective distinction among *Juglans sigillata* kernel from different producing areas. This study has provided information about the metabolites of *Juglans sigillata* kernel from different producing areas in Yunnan province, and demonstrated that UHPLC-QE-MS technology is feasible for the identification of *Juglans sigillata* kernel.

Key words: *Juglans sigillata*; metabolomics; different producing areas; differential metabolites; fingerprint

核桃是胡桃科(Juglandaceae)胡桃属(*Juglans*)植物,我国核桃种植面积和产量均居世界首位^[1]。核桃既可作为油料作物又可作为坚果食用,其核仁富含脂肪、蛋白质、微量元素等多种营养物质,具有抗氧化、提高记忆力和免疫力等多方面的功效^[2-4]。云南作为我国核桃生产的第一大省,深纹核桃因果大、薄皮、肉厚、味香的优良品质深受消费者的喜爱。核桃代谢成分是其品质形成的重要物质基础,因此,开展云南深纹核桃代谢组学研究,深入挖掘云南深纹核桃品质特征显得尤为重要。

代谢组学是一种基于高通量技术对整个生物体内小分子代谢物进行研究的方法^[5],能够检测生物体代谢物并筛选出显著差异代谢物,在此基础上研究相应的代谢通路及其变化机制^[6]。方贤胜等^[7]利用广泛靶向代谢组学的方法测定并比较相同生境下浅黄色和紫色核桃内种皮的代谢物质成分,推测内种皮中花青素积累的差异可能是影响核仁颜色差异的因素之一。时羽杰等^[8]基于代谢组学技术的核桃内种皮苦涩味形成机理,发现 2 种无性系核桃内种皮代谢物差异以及苦涩味标志物。许海峰等^[9]基于代谢组学分析‘秋香’核桃贮藏期间脂肪酸的变化,低温贮藏可抑制 α -亚麻酸和亚油酸氧化减少,并提高角质含量适应低温环境。指纹图谱是指某些复杂物质经适当处理后,采用一定的分析手段,得到的能够标示其化学特征的色谱图或光谱图。该技术在食品领域可用于产地溯源、营养评价、品种鉴别、加工工艺判定等方面,进而作为食品鉴定及质量分级的判断依据^[10-12]。李鑫等^[13]建立山核桃仁鞣质的 HPLC 指纹图谱,用于山核桃仁鞣质的质量评价。汪文静等^[14]通过指纹图谱结合化学计量学的方法寻找质量差异性标志物,为核桃分心木的质量标准与评价体系的建立提供依据。目前针对云南不同产地深纹核桃的研究主要集中在蛋白质、脂肪、矿质元素、脂肪酸

等营养成分分析与综合评价方面^[15-16],但运用代谢组学方法分析云南不同产地深纹核桃仁的代谢成分及其差异,并建立指纹图谱的研究尚鲜见报道。

因此,本研究采用超高效液相色谱-串联质谱(UHPLC-QE-MS)的非靶向代谢组学的方法,对云南 8 个不同产地(大理州永平县、大理州漾濞县、临沧市凤庆县、普洱市景东县、丽江市古城区、迪庆州香格里拉市、楚雄州大姚县、保山市昌宁县)深纹核桃仁的代谢物进行检测。大理州是云南核桃种植规模最大和产量最高的州市,截止 2022 年底,大理州核桃种植面积 1015 万亩,干果产量 53 万吨,而永平县作为大理州的主要核桃种植地之一,其核桃种植面积达 158.7 万亩,干果产量为 19.84 万吨,位居大理州第一。故本研究将大理州永平县的核桃仁作为对照组,与其他产地核桃仁进行比较分析差异代谢物以及挖掘潜在的特征代谢物,同时构建云南不同产地深纹核桃仁的指纹图谱,以期找出不同产地深纹核桃仁之间的成分差异,并有效区分不同产地的深纹核桃仁,实现对不同产地深纹核桃仁的快速准确鉴别,进而为云南深纹核桃的品质控制提供新的思路及方法依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

甲醇、乙腈、异丙醇(均为色谱级) CNW Technologies 公司;乙酸(色谱级) Sigma-Aldrich 公司。

Vanquish 超高效液相、Qbitrap Exploris 120 高分辨质谱、Heraeus Fresco17 离心机 Thermo Fisher Scientific 公司;BSA124S-CW 分析天平 Sartorius 公司;PS-60AL 超声仪 深圳市雷德邦电子有限公司;JXFSTPRP-24 匀浆机 上海净信科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品收集 本实验共收集 8 份深纹核桃,于 2023 年 10 月采自大理州永平县(DLYP)、大理州漾

潯县(DLYB)、临沧市凤庆县(LCFQ)、普洱市景东县(PEJD)、丽江市古城区(LJGC)、迪庆州香格里拉市(DQXGLL)、楚雄州大姚县(CXDY)、保山市昌宁县(BSCN)8个核桃主产区。样品在每个主产区内至少选取5个具有代表性的栽培技术统一的果园或种植区域,每个果园或种植区域选取30~40株树(树龄一致),单株采样距离50 m以上,采样地概况见表1。各点取样约5 kg,壳果混样后放在45℃烘箱中干燥至含水量6.5%以下,最后将所有核桃手工去除外壳,取核桃仁样品装入自封袋中备用。

表1 深纹核桃采样地概况
Table 1 General status of *Juglans sigillata* sampling site

采样地	经度 (°)	纬度 (°)	海拔 (m)	气温 (℃)	降水量 (mm)	无霜期 (d)
大理州永平县	99.58	25.26	1905	18	830	258
大理州漾濞县	99.97	25.66	2200	20.6	1055.6	250
临沧市凤庆县	99.77	24.31	1700	16.5	1506	292
普洱市景东县	100.83	24.45	2083	18.3	1086.7	355
丽江市古城区	100.27	26.75	2232	14.6	950	220
迪庆州香格里拉市	99.66	27.37	1904	13.3	650	240
楚雄州大姚县	101.08	26.01	2150	14	631.9	215
保山市昌宁县	99.56	24.93	1748	16	1100	253

1.2.2 样品制备 称取25 mg核桃仁样品于EP管中,放入匀浆珠,加1000 μ L提取液(甲醇:乙腈:水=2:2:1(V/V)),含内标L-2-氯苯丙氨酸1 μ g/mL,涡旋混匀30 s,匀浆仪匀浆(35 Hz,4 min),再转移到冰水浴超声5 min,重复步骤3次,-40℃静置1 h,将样品4℃,13000 r/min离心15 min,取上清后过0.22 μ m滤膜于进样瓶中上机检测。所有样品另取等量上清混合成QC样品上机检测。

1.2.3 UHPLC-QE-MS 代谢组学分析 色谱条件:使用Vanquish(Thermo Fisher Scientific)超高效液相色谱仪,通过Phenomenex Kinetex C₁₈(2.1 mm×50 mm,2.6 μ mol/L)液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。液相色谱A相为水相,含0.01%乙酸,B相为异丙醇:乙腈(1:1,V/V)。采用梯度洗脱:0~0.5 min,95% B;0.5~7 min,95%~65% B;7~8 min,65%~40% B;8~9 min,40% B;9~9.1 min,40%~95% B;9.1~12 min,95% B。流动相流速:0.5 mL/min,柱温:25℃,样品盘温度:4℃,进样体积2 μ L。

质谱条件:采用Orbitrap Exploris 120质谱仪能够在控制软件(Xcalibur,版本:4.4,Thermo)控制下进行一级、二级质谱数据采集。详细参数如下:鞘层气体流量:50 Arb,辅助气体流量:15 Arb,毛细管温度:320℃,扫描模式:fullscan+ddms2,扫描范围:70~1200,全ms分辨率:60000,ms/ms分辨率:15000,NCE模式下碰撞能量:20/30/40,喷雾电压:3.8 kV(正离子模式)、-3.4 kV(负离子模式)。

数据处理:原始数据经ProteoWizard软件转成mzXML格式后,使用自主编写的R程序包(内核为

XCMS)进行峰识别、峰提取、峰对齐和积分等处理,再与BiotreeDB(V2.1)自建二级质谱数据库匹配进行物质注释,算法打分的Cutoff值设为0.3。

1.2.4 指纹图谱的建立及相似度评价 以深纹核桃仁中已定性的代谢物为研究对象,采用主成分分析(principal component analysis,PCA),正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis,OPLS-DA)及单变量统计分析方法,筛选出变量投影重要度(variable importance for the projection,VIP)>1且P<0.05的差异代谢物,再以这些差异代谢物作为特征指纹峰构建云南不同产地深纹核桃仁指纹图谱。深纹核桃仁相似度计算采用夹角余弦法。

1.3 数据处理

对XCMS程序包提取得到的数据运用SIMCA 14.1程序进行PCA和OPLS-DA分析;将得到的差异代谢物数据运用京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)通路数据库进行代谢通路富集分析。图谱绘制采用Origin软件,相似度计算使用Excel软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同产地深纹核桃仁代谢组学的测定

通过非靶向代谢组学方法,8个产地的深纹核桃仁样品在正负离子模式下所检测到的物质峰丰富,共检测出18905个离子峰,鉴定出1758种代谢物,在KEGG COMPOUND数据库定性到305种代谢物(附表1)。

2.2 不同产地深纹核桃仁代谢组学差异分析

2.2.1 PCA与OPLS-DA分析 PCA是一种通过减少数据维度,使数据尽可能可视化地保留原始数据中的信息的技术^[17],可用于对样品的初步分析。OPLS-DA是一种将数据可视化的分析方法,可以过滤掉代谢物中与分类变量不相关的正交变量,并对非正交变量和正交变量分别分析,从而获取更加可靠的代谢物的组间差异与实验组的相关程度信息^[18-19]。采用PCA和OPLS-DA的统计方法对代谢物进行分析,从图1A和1B可以看出,不同产地核桃仁样本中各组间存在一定差异,有较明显区分,而组内均有明显的相互聚集。

2.2.2 OPLS-DA模型的置换检验 对OPLS-DA模型进行置换检验,避免检验模型的过拟合以及评估模型的统计显著性。一般检验模型 R^2 和 Q^2 值, R^2 值对Y变量的解释率, Q^2 值对模型有预测能力。对于 R^2Y 和 Q^2 值,要求置换检验结果在y轴上的截距分别<0.4、0.05,值>0.5且差值<0.3说明模型可靠性较好,不存在过拟合现象^[20]。本实验进行200次置换检验结果如图1C所示, R^2Y 和 Q^2 置换检验结果在y轴上的截距分别为0.324、-0.775, R^2Y 和 Q^2 值分别为0.954、0.878,值>0.5且差值<0.3,表明模型可

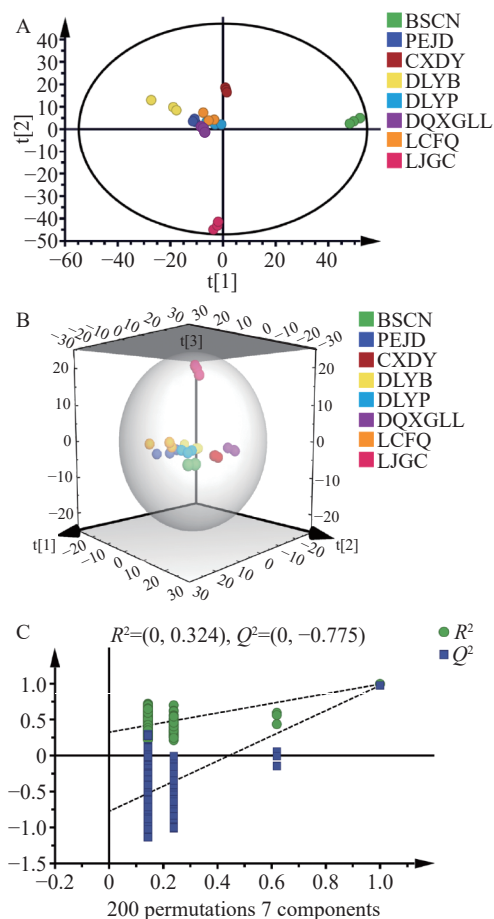


图1 8组深纹核桃仁样本的PCA散点图(A), OPLS-DA散点图(B)和置换检验图(C)

Fig.1 PCA scatter plot (A), OPLS-DA scatter plot (B) and permutation test chart (C) of 8 groups of *Juglans sigillata* kernel samples

靠且无过拟和现象,可用于核桃仁的组间对比区分。

2.3 不同产地深纹核桃仁差异代谢物分析

2.3.1 差异代谢物类别分析和通路富集 根据VIP>1且 $P<0.05$ 的标准,分别将丽江市古城区、迪庆州香格里拉市、大理州漾濞县、普洱市景东县、楚雄州大姚县、保山市昌宁县、临沧市凤庆县的核桃仁与大理州永平县的核桃仁进行比较,丽江市古城区核桃仁共筛选出131种差异代谢物,迪庆州香格里拉市核桃仁共筛选出102种差异代谢物,大理州漾濞县核桃仁共筛选出109种差异代谢物,普洱市景东县核桃仁共筛选出101种差异代谢物,楚雄州大姚县核桃仁共筛选出122种差异代谢物,保山市昌宁县核桃仁共筛选出114种差异代谢物,临沧市凤庆县核桃仁共筛选出90种差异代谢物。表2显示了差异代谢物的HMDB分类,共13类185种,其中脂肪酸、莽草酸和苯丙酸、氨基酸和多肽占比较高,均达到14%以上,推测这些可能是核桃仁的主要成分。

通过KEGG数据库对LJGC vs DLYP、DQXGLL vs DLYP、DLYB vs DLYP、PEJD vs DLYP、CXDY vs DLYP、BSCN vs DLYP、LCFQ vs DLYP比较组代谢物进行通路富集。如图2所示,筛选出较为显著的12条差异代谢通路:丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism),异喹啉生物碱的生物合成(Isoquinoline alkaloid biosynthesis),乙醛酸盐和二羧酸盐的代谢(Glyoxylate and dicarboxylate metabolism),苯丙氨酸代谢(Phenylalanine metabolism),黄酮和黄酮醇的生物合成(Flavone and flavonol biosynthesis),赖氨

表2 差异代谢物分类分析

Table 2 Taxonomic analysis of differential metabolites

代谢物类别	数量及占比(%)						
	LJGC vs DLYP	DQXGLL vs DLYP	DLYB vs DLYP	PEJD vs DLYP	CXDY vs DLYP	BSCN vs DLYP	LCFQ vs DLYP
脂肪酸Fatty acids	29(22.14)	28(27.45)	21(19.27)	19(18.81)	29(23.77)	20(17.54)	20(22.22)
莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	28(21.37)	15(14.71)	28(25.69)	18(17.82)	30(24.59)	31(27.19)	21(23.33)
氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	20(15.27)	20(19.61)	19(17.43)	21(20.79)	21(17.21)	17(14.91)	16(17.78)
碳水化合物 Carbohydrates	14(10.69)	9(8.82)	10(9.17)	11(10.89)	11(9.02)	11(9.65)	9(10.00)
脂质和类脂分子 Lipids and lipid-like molecules	12(9.16)	9(8.82)	9(8.26)	6(5.94)	8(6.56)	9(7.89)	6(6.67)
生物碱Alkaloids	11(8.40)	8(7.84)	7(6.42)	10(9.90)	9(7.38)	9(7.89)	6(6.67)
有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	6(4.58)	7(6.86)	7(6.42)	6(5.94)	5(4.10)	6(5.26)	5(5.56)
聚酮化合物Polyketides	2(1.53)	/	2(1.83)	3(2.97)	1(0.82)	2(1.75)	2(2.22)
苯丙素类和聚酮类 Phenylpropanoids and polyketides	2(1.53)	1(0.98)	1(0.92)	2(1.98)	2(1.64)	2(1.75)	1(1.11)
有机氧化合物 Organic oxygen compounds	3(2.29)	2(1.96)	2(1.83)	1(0.99)	2(1.64)	3(2.63)	2(2.22)
有机氮化合物 Organic nitrogen compounds	1(0.76)	1(0.98)	1(0.92)	1(0.99)	1(0.82)	1(0.88)	1(1.11)
核苷、核苷酸和类似物 Nucleosides, nucleotides, and analogues	1(0.76)	1(0.98)	1(0.92)	1(0.99)	1(0.82)	1(0.88)	1(1.11)
萜类化合物Terpenoids	2(1.53)	1(0.98)	1(0.92)	2(1.98)	2(1.64)	2(1.75)	/
总计	131(100)	102(100)	109(100)	101(100)	122(100)	114(100)	90(100)

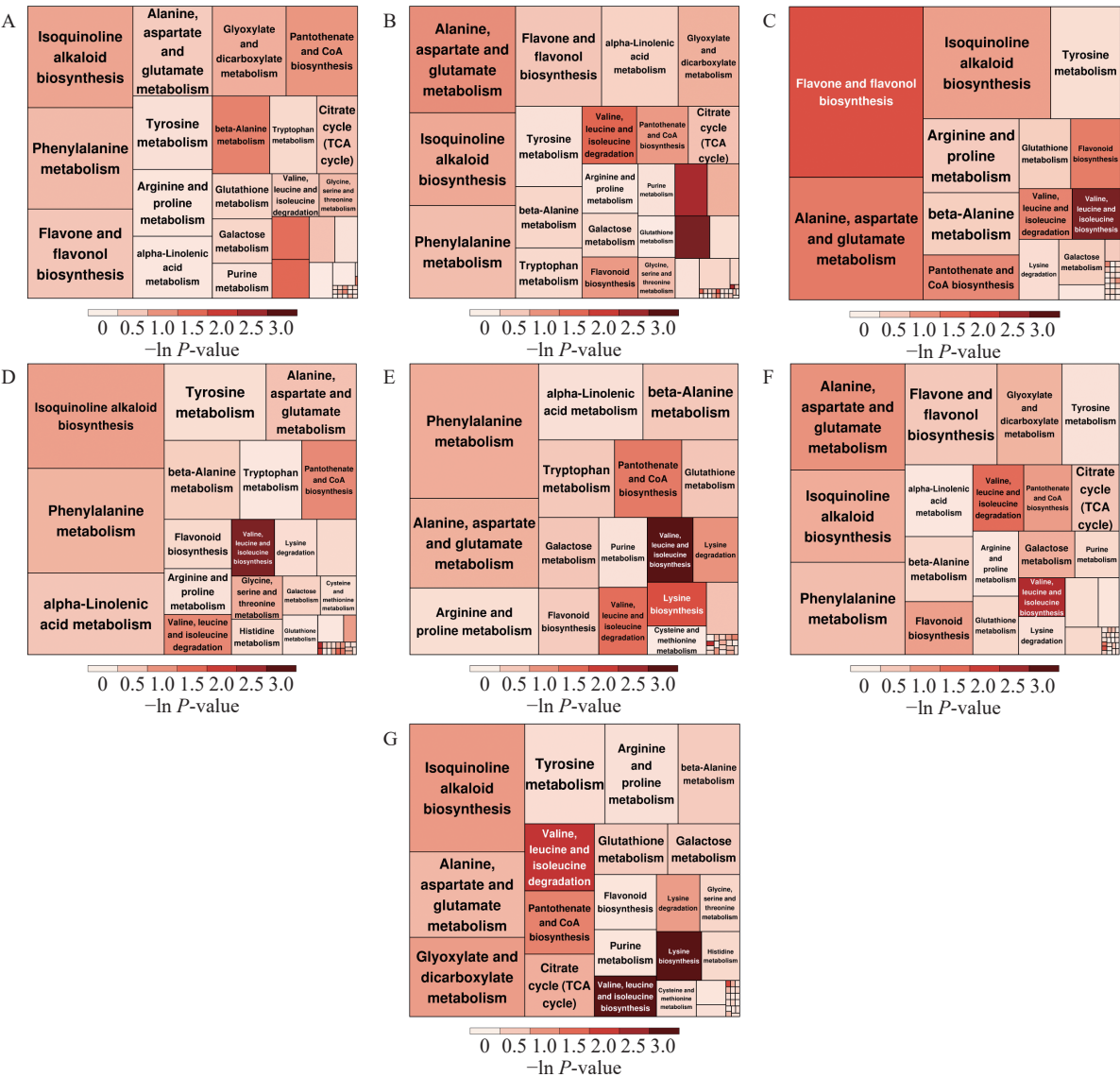


图 2 代谢通路矩形树图

Fig.2 Metabolic pathway treemap plot

注: A. LJGC vs DLYP; B. DQXGLL vs DLYP; C. DLYB vs DLYP; D. PEJD vs DLYP; E. CXDY vs DLYP; F. BSCN vs DLYP; G. LCFQ vs DLYP。

酸生物合成(Lysine biosynthesis), 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成(Valine, leucine and isoleucine biosynthesis), α -亚麻酸代谢(alpha-Linolenic acid metabolism), β -丙氨酸代谢(beta-Alanine metabolism), 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解(Valine, leucine and isoleucine degradation), 精氨酸和脯氨酸代谢(Arginine and proline metabolism), 酪氨酸代谢(Tyrosine metabolism)。其中, 多条通路与氨基酸的代谢有关, 氨基酸代谢是大多数果树果实的一个重要代谢途径, 参与的氨基酸、有机酸及其衍生物常被用作食物中的风味替代物。本研究发现, 异亮氨酸、缬氨酸参与了多条氨基酸代谢途径, 这两种代谢物的高度富集可能是核桃仁风味的主要来源。

2.3.2 差异代谢物筛选鉴定 Venn 图展示各组差异代谢物之间的关系及不同组间共有和特有的差异代谢物数量^[21]。如图 3 所示, DLYB vs DLYP 差异最

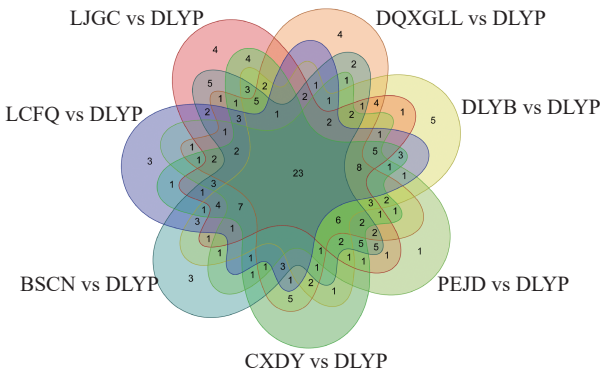


图 3 差异代谢物的韦恩图

Fig.3 Venn plot of differential metabolites

大, 特有的差异代谢物为 5 种(异土木香内酯、山奈酚、2-羟基丁烷-1,2,4-三羧酸、光甘草宁和胆绿素), CXDY vs DLYP 差异最小, 无特有的差异代谢物。LJGC vs DLYP 特有的差异代谢物为 4 种(东莨菪内

酯、己二酸半醛、癸酸和 2-羟基硬脂酸), DQXGLL vs DLYP 特有的差异代谢物为 4 种(4-羟基-3-甲氧基肉桂醛、D-脯氨酸、副黄嘌呤和茶碱), PEJD vs DLYP 特有的差异代谢物为 1 种(香兰素), BSCN vs DLYP 特有的差异代谢物为 3 种(反式阿魏酸、1,4-雄烯二酮和泛酸), LCFQ vs DLYP 特有的差异代谢物为 3 种(7-乙酰氧基-4-甲基香豆素、十一烷酸和创伤酸)。所有组共有的差异代谢物为 23 种, 其中占比较多的为脂肪酸、氨基酸和多肽、有机酸及其衍生物、莽草酸和苯丙素类化合物(表 3)。

核桃中常见的多酚类型包括酚酸类、黄酮类和单宁类^[22]。酚类化合物能够抗氧化、抗炎和抗突变特性等, 对人体健康有重要作用^[23]。此外, 酚类化合物的抗氧化性可以潜在地保护核桃仁的脂肪酸免受氧化, 进而保护核桃仁的内在质量^[7]。由表 3 可知, 共筛选到黄腐酚、山奈素和樱花亭 3 种黄酮类差异

代谢物, 丁香酸 1 种酚酸类差异代谢物。黄腐酚在大理州永平县核桃仁中含量最高; 山奈素在楚雄州大姚县核桃仁中含量最高; 丁香酸在丽江市古城区核桃仁中含量最高。樱花亭在 CXDY vs DLYP 组中差异倍数最高。

氨基酸是一种存在于植物体内的含氮化合物, 是构成蛋白质的基本物质, 具有多种特殊的生理功能, 对人体疾病治疗和保健具有重要的应用价值^[24]。亮氨酸是机体蛋白质周转的重要氨基酸, 为合成组织蛋白和血浆蛋白所必需的氨基酸, 可参与骨骼肌蛋白质合成, 并能抑制骨骼肌蛋白质降解^[25]。异亮氨酸可以提高机体免疫力及抗氧化能力, 调节脂肪合成^[26]。由表 3 可知, 楚雄州大姚县核桃仁中亮氨酸和异亮氨酸含量比其他产地高。天冬酰胺是大脑发育和发挥功能的关键氨基酸, 同时在肿瘤治疗及蛋白质糖基化中扮演重要角色^[27]。N-乙酰苯丙氨酸具有消炎、

表 3 共有和特有差异代谢物的鉴定信息

Table 3 Identification information of common and unique differential metabolites

模式	代谢物	HMDB分类	质核比 (m/z)	保留时间 (s)	差异倍数						
					LJGC	DQXGLL	DLYB	PEJD	CXDY	BSCN	LCFQ
					vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP
ESI ⁺	樱花亭 Sakuranetin	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	287.09	43.2	0.30	2.16	2.29	2.70	3.26	0.40	2.56
ESI ⁺	丁香酸 Syringic acid	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	221.04	22.8	1.45	0.39	0.58	0.55	0.67	0.66	0.78
ESI ⁺	三乙醇胺 Daltogen	有机氮化合物 Organic nitrogen compounds	132.10	26.7	0.80	0.35	1.37	0.56	1.82	1.16	1.24
ESI ⁺	多巴黄质 Dopaxanthin	有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	391.11	168.7	0.11	0.36	2.77	1.56	0.23	0.21	4.89
ESI ⁺	咪唑乙烟酸 Imazethapyr	有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	290.15	168.4	0.45	0.19	2.77	1.33	3.02	0.18	0.45
ESI ⁺	异亮氨酸 Isoleucine	有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	132.10	26.7	0.80	0.35	1.37	0.56	1.82	1.16	1.24
ESI ⁺	邻苯二甲酸二异癸酯 diIDP	核苷、核苷酸和类似物 Nucleosides, nucleotides, and analogues	413.02	162.1	2.54	1.86	1.37	1.41	1.85	0.36	1.78
ESI ⁺	正亮氨酸 Norleucine	氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	132.10	26.7	0.80	0.35	1.37	0.56	1.82	1.16	1.24
ESI ⁺	亮氨酸 Leucine	氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	132.10	26.7	0.80	0.35	1.37	0.56	1.82	1.16	1.24
ESI ⁺	东莨菪内酯 Scopoletin	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	193.05	157.5	0.45	/	/	/	/	/	/
ESI ⁺	异土木香内酯 Isoalantolactone	脂质和类脂分子 Lipids and lipid-like molecules	233.15	180.0	/	/	2.95	/	/	/	/
ESI ⁺	反式阿魏酸 Ferulate	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	195.06	159.6	/	/	/	/	/	0.20	/
ESI ⁺	1,4-雄烯二酮 Boldione	脂质和类脂分子 Lipids and lipid-like molecules	285.18	207.8	/	/	/	/	/	15.95	/
ESI ⁺	泛酸 Pantothenic acid	脂肪酸 Fatty acids	220.12	44.7	/	/	/	/	/	2.05	/
ESI ⁺	7-乙酰氧基-4-甲基香豆素 4-methylumbelliferyl acetate	苯丙素类和聚酮类 Phenylpropanoids and polyketides	257.02	359.8	/	/	/	/	/	/	1.74

续表 3

模式	代谢物	HMDB分类	质核比 (m/z)	保留时间 (s)	差异倍数						
					LJGC	DQXGLL	DLYB	PEJD	CXDY	BSCN	LCFQ
					vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP	vs DLYP
ESI ⁻	黄腐酚 Xanthohumol	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	353.14	32.2	0.03	0.09	0.20	0.07	2.66×10 ⁻³	0.12	0.08
ESI ⁻	山奈素 Kaempferide	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	299.06	204.1	2.10	0.22	2.20	1.64	2.63	0.31	1.87
ESI ⁻	3-甲基-2-氧基戊酸 3-Methyl-2-oxovaleric acid	有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	129.05	78.7	0.40	0.03	0.40	0.49	1.28×10 ⁻⁴	0.44	0.64
ESI ⁻	3-异丙基苹果酸 3-Isopropylmalic acid	脂质和类脂分子 Lipids and lipid-like molecules	175.06	86.2	0.14	0.50	1.32	1.41	0.55	0.69	1.32
ESI ⁻	2-异丙基苹果酸 2-Isopropylmalic acid	脂肪酸 Fatty acids	175.06	86.2	0.14	0.50	1.32	1.41	0.55	0.69	1.32
ESI ⁻	5-酮己酸 5-ketocaproate	脂肪酸 Fatty acids	129.05	78.7	0.40	0.03	0.40	0.49	1.28×10 ⁻⁴	0.44	0.64
ESI ⁻	酮亮氨酸 Ketoleucine	脂肪酸 Fatty acids	129.05	78.7	0.40	0.03	0.40	0.49	1.28×10 ⁻⁴	0.44	0.64
ESI ⁻	丙二酸 Malonic acid	脂肪酸 Fatty acids	103.00	26.3	0.52	0.43	0.79	0.86	0.22	1.91	0.85
ESI ⁻	3-羟基丙酮酸 3-Hydroxypyruvic acid	碳水化合物 Carbohydrates	103.00	26.3	0.52	0.43	0.79	0.86	0.22	1.91	0.85
ESI ⁻	3-脲基丙酸 3-Ureidopropionic acid	氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	131.05	22.2	0.30	0.38	0.52	0.41	0.82	2.69	0.61
ESI ⁻	双甘氨酸 Diglycine	氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	131.05	22.2	0.30	0.38	0.52	0.41	0.82	2.69	0.61
ESI ⁻	天冬酰胺 Asparagine	氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	131.05	22.2	0.30	0.38	0.52	0.41	0.82	2.69	0.61
ESI ⁻	N-乙酰苯丙氨酸 N-Acetylphenylalanine	氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	206.08	153.2	2.66	1.41	1.21	1.27	1.69	3.75	1.15
ESI ⁻	吡啶乙酸 Indolelactic acid	生物碱 Alkaloids	204.07	177.0	0.67	0.45	0.65	0.44	0.03	0.07	0.70
ESI ⁻	己二酸半醛 Adipate semialdehyde	脂质和类脂分子 Lipids and lipid-like molecules	189.08	141.2	0.67	/	/	/	/	/	/
ESI ⁻	癸酸 Capric acid	脂肪酸 Fatty acids	171.14	269.4	1.38	/	/	/	/	/	/
ESI ⁻	2-羟基硬脂酸 2-Hydroxystearic acid	脂肪酸 Fatty acids	299.26	317.7	2.75	/	/	/	/	/	/
ESI ⁻	4-羟基-3-甲氧基肉桂醛 Coniferaldehyde	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	177.05	181.0	/	3.48	/	/	/	/	/
ESI ⁻	D-脯氨酸 Proline	氨基酸和多肽 Amino acids and Peptides	114.06	24.3	/	0.60	/	/	/	/	/
ESI ⁻	副黄嘌呤 1,7-Dimethylxanthine	生物碱 Alkaloids	179.06	108.9	/	0.80	/	/	/	/	/
ESI ⁻	茶碱 Theophylline	生物碱 Alkaloids	179.06	108.9	/	0.80	/	/	/	/	/
ESI ⁻	山奈酚 Kaempferol	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	285.04	251.3	/	/	2.16	/	/	/	/
ESI ⁻	2-羟基丁烷-1,2,4-三羧酸 Homocitric acid	有机酸及其衍生物 Organic acids and derivatives	205.03	39.7	/	/	1.54	/	/	/	/
ESI ⁻	光甘草宁 Glabranin	脂质和类脂分子 Lipids and lipid-like molecules	323.13	132.5	/	/	2.09	/	/	/	/
ESI ⁻	胆绿素 Biliverdin	生物碱 Alkaloids	581.24	251.3	/	/	2.08	/	/	/	/
ESI ⁻	香兰素 Vanillin	莽草酸和苯丙素类 Shikimates and Phenylpropanoids	151.04	167.2	/	/	/	1.94	/	/	/
ESI ⁻	十一烷酸 Undecanoic acid	脂肪酸 Fatty acids	185.15	279.1	/	/	/	/	/	/	1.12
ESI ⁻	创伤酸 Traumatic acid	脂肪酸 Fatty acids	227.13	222.8	/	/	/	/	/	/	1.23

防止蛋白变性和聚集、高效保湿以及消除自由基的功能。保山市昌宁县核桃仁中天冬酰胺和 N-乙酰苯丙氨酸含量最高。

3-异丙基苹果酸和 2-异丙基苹果酸是苹果酸和有机二羧酸的衍生物,其具有抗菌和抗氧化活性以及良好的生物相容性^[28]。由表 3 可知,这两种代谢物在 DLYB vs DLYP、PEJD vs DLYP、LCFQ vs DLYP 组中差异倍数均大于 1,说明 3-异丙基苹果酸和 2-异丙基苹果酸在大理州漾濞县、普洱市景东县和临沧市凤庆县 3 个产地核桃仁中的含量比大理州永平县的含量高。丙二酸具有抗氧化、降低胆固醇以及调节机体免疫等作用^[29],在 BSCN vs DLYP 组中差异倍数大于 1,在其余组中差异倍数均小于 1,说明保山市昌宁县核桃仁中丙二酸含量最高。

茶碱对哮喘和心肺疾病有疗效^[30]。方贤胜等^[7]发现与紫色核桃内种皮相比,茶碱是浅黄色核桃内种皮特有的代谢物。本研究也发现茶碱是 DQXGLL vs DLYP 组特有的差异代谢物,其差异倍数为 0.80,说明大理州永平县核桃仁中茶碱的含量较高。山奈酚对氧自由基产生过程中相关酶有抑制作用,且可抑制脂质过氧化物,不但可以增加高密度脂蛋白含量,而且可阻止血脂升高^[31]。山奈酚是 DLYB vs DLYP 组特有的差异代谢物(表 3),且其参与的黄酮和黄酮醇的生物合成代谢通路在该组涉及的通路中富集程度最高(图 2)。

2.3.3 差异代谢物聚类分析及潜在特征组分筛选

为了方便观察 23 种共有的差异代谢物变化规律,绘制差异代谢物聚类分析 heatmap(图 4)。8 个产地核桃仁差异代谢被聚为两个类别,楚雄州大姚县、迪庆州香格里拉市与丽江市古城区聚为一类,大理州漾濞县、普洱市景东县、保山市昌宁县、临沧市凤庆县与大理州永平县被聚为一类,且具有明显的上调和下调区

域。大量研究表明,不同产地同一品种核桃的外观、口感、营养成分及品质受气候地理环境和栽培管理方式等因素影响而具有不同的特点^[32-34]。结合采样地的地理环境信息,楚雄州大姚县、迪庆州香格里拉市与丽江市古城区核桃仁样本相互聚集,其可能原因是三地的纬度高、气温低、无霜期天数少,海拔相对较高,降水量相对较低。其他产地的地理环境与这三个产地相反,故聚为一类。同环境下,其水热组合条件的差异性为核桃树植被提供了不同的生长环境,各产地生长的核桃会通过调节自身代谢水平来适应不同的环境以更好地长期生存,从而可能使得各产地核桃仁在代谢物积累上出现差异,而环境因子如何影响核桃仁物质组分的积累值得未来进一步研究。

同时参照 Jiang 等^[35]筛选特征组分的方法,即同一种样本中存在某一种组分,而其他样本中含量较少或者没有可以认为此种组分为特征组分。除表 3 中各组特有的代谢物外,如图 5 所示,经 SPSS 单因素 ANOVA 检验,丁香酸和邻苯二甲酸二异癸酯也可作为丽江市古城区核桃仁潜在标志物,山奈素、亮氨酸、正亮氨酸、三乙醇胺、咪唑乙烟酸和异亮氨酸也可作为楚雄州大姚县核桃仁潜在标志物,N-乙酰苯丙氨酸、丙二酸、3-羟基丙酮酸、天冬酰胺、3-脲基丙酸和双甘氨酸也可作为保山市昌宁县核桃仁潜在标志物,多巴黄质也可作为临沧市凤庆县核桃仁潜在标志物,吡啶乙酸、黄腐酚、酮亮氨酸、3-甲基-2-氧基戊酸和 5-酮己酸也可作为大理州永平县核桃仁潜在标志物。

2.4 代谢物指纹图谱构建及相似度分析

为更直观地比较云南不同产地深纹核桃仁中代谢物组成及含量的差异,构建代谢物指纹图谱,结果如图 6 和图 7 所示。设 DLYP 为参照指纹图谱,选择中位数法作为对照指纹图谱的生成方法,经多点校

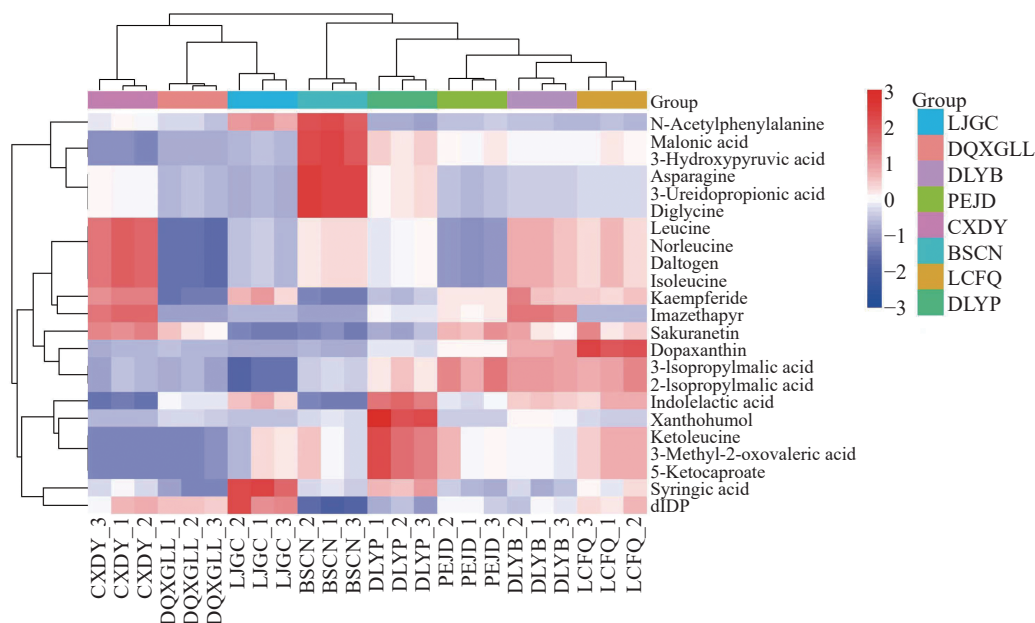


图 4 差异代谢物聚类分析热图

Fig.4 Heat map of differential metabolites cluster analysis

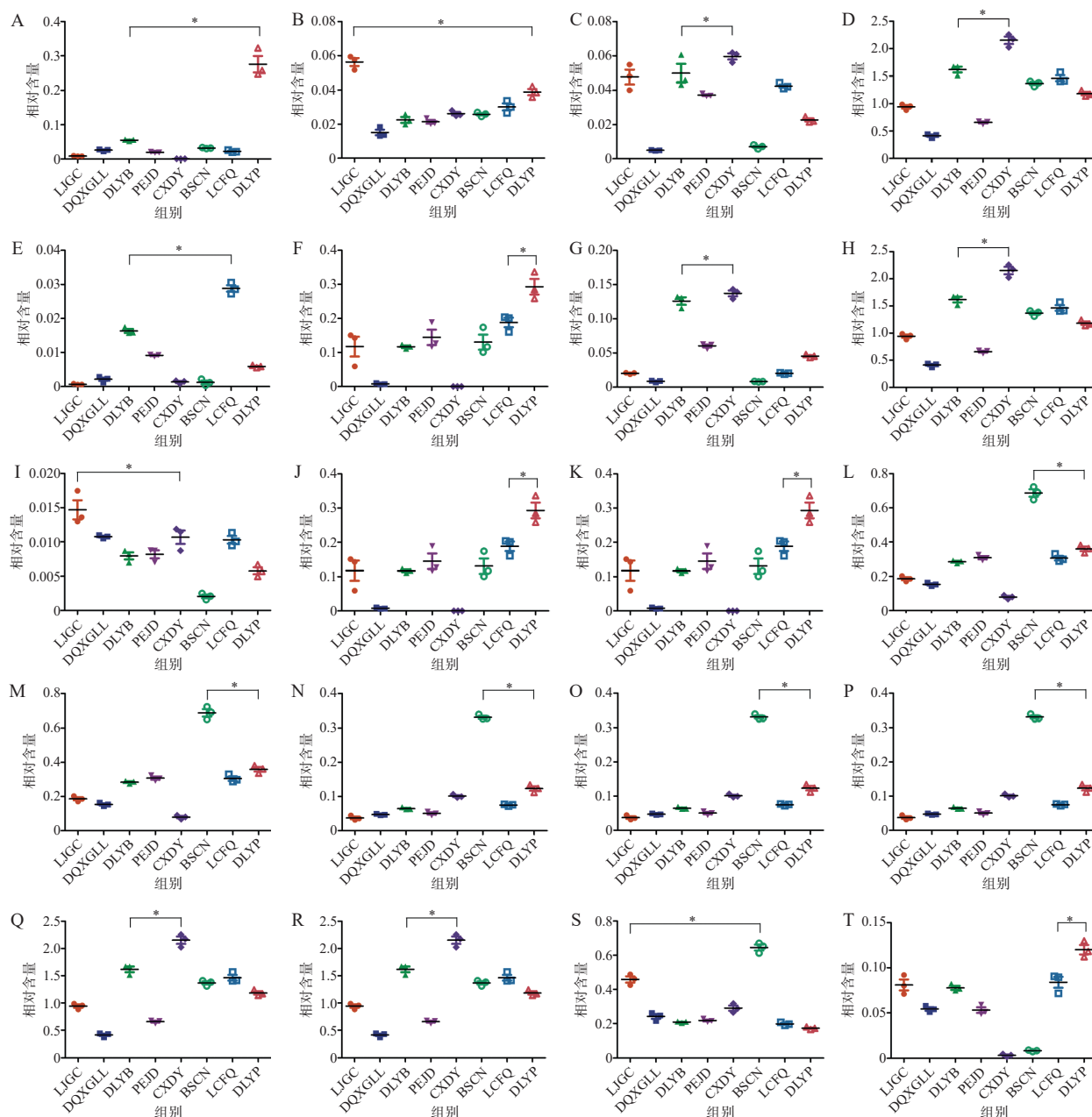


图 5 不同产地深纹核桃仁潜在标志物图

Fig.5 Pictures of potential markers of *Juglans sigillata* kernel from different producing areas

注: A.黄腐酚; B.丁香酸; C.山奈素; D.三乙醇胺; E.多巴黄质; F.3-甲基-2-氧基戊酸; G.咪唑乙烟酸; H.异亮氨酸; I.邻苯二甲酸二异癸酯; J. 5-酮己酸; K.酮亮氨酸; L.丙二酸; M. 3-羟基丙酮酸; N. 3-脒基丙酸; O. 双甘氨酸; P. 天冬酰胺; Q.正亮氨酸; R.亮氨酸; S. N-乙酰苯丙氨酸; T.吡啶乙酸。*表示 $P < 0.05$ 。

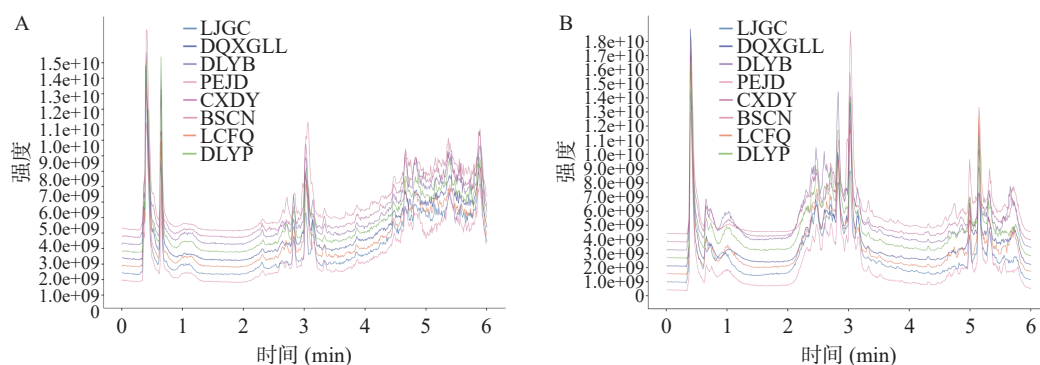


图 6 云南不同产地深纹核桃仁指纹图谱叠加图

Fig.6 Overlay of fingerprint chromatograms of *Juglans sigillata* kernel from different producing areas in Yunnan province

注: A 为正离子模式, B 为负离子模式。

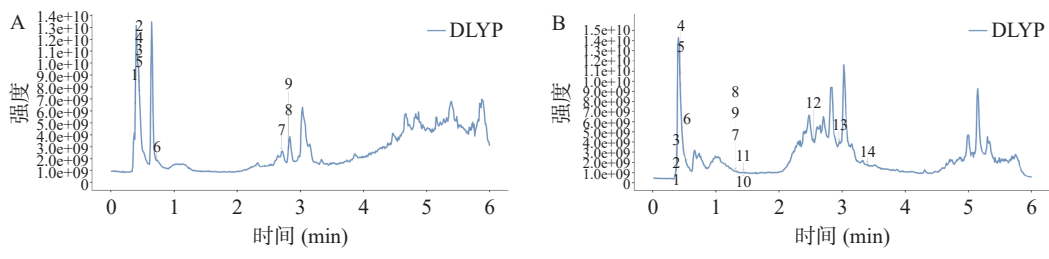


图 7 参照指纹图谱

Fig.7 Control characteristics chromatogram

注: A 为正离子模式, 1. 丁香酸, 2. 三乙醇胺, 3. 异亮氨酸, 4. 正亮氨酸, 5. 亮氨酸, 6. 樱花亭, 7. 邻苯二甲酸二异癸酯, 8. 咪唑乙烟酸, 9. 多巴黄质; B 为负离子模式, 1. 3-脲基丙酸, 2. 双甘氨酸, 3. 天冬酰胺, 4. 丙二酸, 5. 3-羟基丙酮酸, 6. 黄腐酚, 7. 3-甲基-2-氧基戊酸, 8. 5-酮己酸, 9. 酮亮氨酸, 10. 3-异丙基苹果酸, 11. 2-异丙基苹果酸, 12. N-乙酰苯丙氨酸, 13. 吡啶乙酸, 14. 山奈素。

表 4 深纹核桃仁指纹图谱相似度

Table 4 Similarity of fingerprints of *Juglans sigillata* kernel

样品	LJGC	DQXGLL	DLYB	PEJD	CXDY	BSCN	LCFQ	DLYP	R
LJGC	1.0000	0.9852	0.9830	0.9595	0.9767	0.9600	0.9824	0.9683	0.9892
DQXGLL	0.9852	1.0000	0.9638	0.9672	0.9453	0.9821	0.9652	0.9620	0.9793
DLYB	0.9830	0.9638	1.0000	0.9635	0.9921	0.9442	0.9979	0.9842	0.9962
PEJD	0.9595	0.9672	0.9635	1.0000	0.9260	0.9728	0.9742	0.9833	0.9786
CXDY	0.9767	0.9453	0.9921	0.9260	1.0000	0.9156	0.9848	0.9597	0.9816
BSCN	0.9600	0.9821	0.9442	0.9728	0.9156	1.0000	0.9533	0.9644	0.9668
LCFQ	0.9824	0.9652	0.9979	0.9742	0.9848	0.9533	1.0000	0.9903	0.9980
DLYP	0.9683	0.9620	0.9842	0.9833	0.9597	0.9644	0.9903	1.0000	0.9902
R	0.9892	0.9793	0.9962	0.9786	0.9816	0.9668	0.9980	0.9902	1.0000

注: R 为对照图谱。

正后得到共有模式叠加图和参照图谱。将 2.3.2 中筛选出的 23 种共有差异代谢物在参照指纹图谱中标定出。由表 4 可知, 8 份深纹核桃仁样品和对照指纹图谱相似度范围为 0.9668~0.9980, 表明云南不同产地的深纹核桃仁代谢物组成和含量存在差异, 可实现不同产地核桃仁的区分。

3 结论

本研究采用 UHPLC-QE-MS 结合多元统计方法, 对云南 8 个不同产地(大理州永平县、大理州漾濞县, 临沧市凤庆县, 普洱市景东县, 丽江市古城区, 迪庆州香格里拉市, 楚雄州大姚县, 保山市昌宁县)的深纹核桃仁的代谢物进行检测分析, 共定性出 305 种代谢物, 185 种差异代谢物(VIP>1 且 $P<0.05$)。将差异代谢物进行类别分析和通路富集, 13 类差异代谢物中脂肪酸、莽草酸和苯丙酸、氨基酸和多肽类的占比均达到 14% 以上, 主要参与苯丙氨酸代谢, 黄酮和黄酮醇的生物合成, 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的生物合成等代谢途径。通过构建云南不同产地深纹核桃仁代谢物指纹图谱, 明确了云南不同产地深纹核桃仁特征代谢物, 不同产地核桃仁得到了有效区分。研究表明 UHPLC-QE-MS 方法对云南不同产地深纹核桃仁的鉴别具有可行性, 为进一步靶向精准测定深纹核桃仁成分和含量提供了数据基础, 对挖掘和开发云南区域特色深纹核桃奠定理论基础。

参考文献

[1] PARVESH B, HIMANI S, SHAILJA S. Chapter 29-Multi-omics approaches in walnut, omics in horticultural crops[M]. Newyork: Academic Press, 2022: 619-626.

[2] SUVENDU B. Chapter 7-Edible nuts, snack foods[M]. Newyork: Academic Press, 2023: 173-192.

[3] 任祥瑞, 赵晓燕, 刘红开, 等. 不同离子对核桃浓缩蛋白结构及功能性的影响[J/OL]. 中国油脂, 1-18. [2025-02-16]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230213>. [REN XR, ZHAO X Y, LIU H K, et al. Effects of different ions on the structure and functionality of walnut protein concentrate[J/OL]. China Oils and Fats, 1-18. [2025-02-16]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230213>.]

[4] 张旋, 方晓璞, 杨学华, 等. 我国不同产地核桃油与铁核桃油营养成分的分析比较[J]. 中国油脂, 2022, 47(5): 60-64. [ZHANG X, FANG X P, YANG X H, et al. Analysis and comparison of nutritional components of *Juglans regia* oil and *Juglans sigillata* oil from different producing areas in China[J]. China Oils and Fats, 2022, 47(5): 60-64.]

[5] MOUNET F, LEMAIRECHAMLEY M, MAUCOURT M, et al. Quantitative metabolic profiles of tomato flesh and seeds during fruit development complementary analysis with ANN and PCA[J]. *Metabolomics*, 2007, 3(3): 273-288.

[6] QIU Y P, REED D. Gas chromatography in metabolomics study[M]. America: Intech, 2014: 83-101.

[7] 方贤胜, 吴涛, 肖良俊. 基于广泛靶向代谢组学的浅黄色和紫色核桃内种皮成分差异分析[J]. *食品科学*, 2021, 42(12): 215-221. [FANG X S, WU T, XIAO L J. Broadly targeted metabolomics analysis of differential metabolites between light yellow and purple walnut endocarps[J]. *Food Science*, 2021, 42(12): 215-221.]

[8] 时羽杰, 郭晓勇, 糜加轩, 等. 核桃内种皮苦涩味品质代谢组学分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(6): 54-64. [SHI Y J, WU X Y, MI J X, et al. Metabonomics of bitter taste quality of walnut kernel pellicle[J]. *Journal of Northwest A &*

- F University (Natural Science Edition), 2021, 49(6): 54–64.]
- [9] 许海峰,陈新,张士刚,等.基于代谢组学分析‘秋香’核桃贮藏期间脂肪酸的变化[J].园艺学报,2021,48(11):2161–2170. [XU H F, CHEN X, ZHANG S G, et al. Change of fatty acid during storage period of ‘Qiuixiang’ walnut based on metabolomics analysis[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(11): 2161–2170.]
- [10] 朱丹妮,徐昱辉,刘峰,等.海水贝类风味品质研究进展[J].食品安全质量检测学报,2024,15(5):1–11. [ZHU D N, XU T Y, LIU F, et al. Research progress on flavor quality of marine shellfish[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(5): 1–11.]
- [11] LIU M, XIAO W Z, ZHANG H, et al. Quality control strategies of medicine food homology materials based on fingerprint profiling and chemometrics: *Citri Reticulata Pericarpium* as an example[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2023, 286: 121968.
- [12] 刘静,元超凡,绪扩,等.指纹图谱技术在食品质量与安全中的应用研究进展[J].食品安全质量检测学报,2022,13(10):3189–3197. [LIU J, QI C F, XU K, et al. Research progress on the application of fingerprint technology in the field of food quality and safety[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(10): 3189–3197.]
- [13] 李鑫,周笑影,武文强.山核桃仁鞣质的 HPLC 指纹图谱研究[J].广州化工,2021,49(2):68–71,95. [LI X, ZHOU X Y, WU W Q. HPLC fingerprint of tannins of walnut[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2021, 49(2): 68–71,95.]
- [14] 汪文静,汪晶,李瑞龙,等.基于指纹图谱及化学计量学的分心木质量评价研究[J].中医药信息,2023,40(4):29–37. [WANG W J, WANG J, LI R L, et al. Quality evaluation of diaphragma juglandis fructus based on fingerprint and chemometrics[J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2023, 40(4): 29–37.]
- [15] 耿树香,韩明珠,宁德鲁,等.云南不同产地漾濞泡核桃品质综合评价分析[J].中国油脂,2019,44(5):156–160. [GENG S X, HAN M Z, NING D L, et al. Comprehensive evaluation and analysis of the quality of Yangbi bubble walnut from different habitats in Yunnan[J]. China Oils And Fats, 2019, 44(5): 156–160.]
- [16] 李瑞,刘云,阙欢,等.云南 17 种核桃仁主要营养成分测定及脂肪酸研究[J].包装工程,2019,40(7):19–25. [LI R, LIU Y, KAN H, et al. Determination of main nutrient components and fatty acids in 17 kinds of walnut kernels in Yunnan[J]. Packaging Engineering, 2019, 40(7): 19–25.]
- [17] BERRUETA L A, ALONSO-SALCES R M, HEBERGER K. Supervised pattern recognition in food analysis[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1158(1/2): 196–214.
- [18] CAO Q Q, FU Y Q, LIU Y Y, et al. A targeted and nontargeted metabolomics study on the oral processing of epicatechins from green tea[J]. Food Chemistry, 2022, 378: 132129.
- [19] ZHOU J, FANG T, LI W, et al. Widely targeted metabolomics using UPLC-QTRAP-MS/MS reveals chemical changes during the processing of black tea from the cultivar *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze cv. Huangjinya[J]. Food Research International, 2022, 162: 112169.
- [20] 顾晔,周宇,张爽,等.阳山水蜜桃非靶标代谢组学特征[J].食品科学,2024,45(15):237–244. [GU Y, ZHOU Y, ZHANG S, et al. Non-target metabolomics profiles of Yangshan honey peach[J]. Food Science, 2024, 45(15): 237–244.]
- [21] 王雪,潘兆平,陈嘉序,等.茶枝柑与不同品种温州蜜柑果皮的非靶向代谢组学比较与分析[J].食品科学,2024,45(14):133–141. [WANG X, PAN Z P, CHEN J X, et al. Comparison and analysis of untargeted metabolomics of *Citrus reticulata* ‘Chachi’ and different varieties of *Citrus reticulata* ‘Unshiu’[J]. Food Science, 2024, 45(14): 133–141.]
- [22] PERSIC M, MIKULIC-PETKOVSEK M, HALBWIRTH H, et al. Red walnut: Characterization of the phenolic profiles, activities and gene expression of selected enzymes related to the phenylpropanoid pathway in pellicle during walnut development[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(11): 2742–2748.
- [23] MARTÍNEZ M L, LABUCKAS D O, LAMARQUE A L, et al. Walnut (*Juglans regia* L.): Genetic resources, chemistry, by-products[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2010, 90(12): 1959–1967.
- [24] 于慨,周劲松,罗绍春,等.井冈翠芦笋氨基酸类营养成分的特征分析[J].江西农业学报,2023,35(9):97–101. [YU K, ZHOU J S, LUO S C, et al. Analysis of amino acid nutritional components in Jinggang green asparagus[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2023, 35(9): 97–101.]
- [25] 崔亚娟,郭莹莹,殷嘉彤,等.坚果及坚果仁油品质综合评价[J/OL].中国食物与营养,1–12. [2025-02-16]. <https://doi.org/10.19870/j.cnki.11-3716/ts.20231108.001>. [CUI Y J, GUO Y Y, YIN J T, et al. Comprehensive evaluation of nutritional quality of nut and nut kernel oil[J/OL]. Food and Nutrition in China, 1–12. [2025-02-16]. <https://doi.org/10.19870/j.cnki.11-3716/ts.20231108.001>.]
- [26] FENG L, GAN L, JIANG W D, et al. Gill structural integrity changes in fish deficient or excessive in dietary isoleucine: Towards the modulation of tight junction protein, inflammation, apoptosis and antioxidant defense via NF- κ B, TOR and Nrf2 signaling pathways[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 63: 127–138.
- [27] 姜国政,马秀亮,崔颖,等.一种天冬氨酸制备天冬酰胺设备:CN201921015443.2[P].CN210103794U, 2024. [JIANG G Z, MA X L, CUI Y, et al. An aspartic acid preparation asparagine equipment: CN201921015443.2[P]. CN210103794U, 2024.]
- [28] MASSIMO R, GIANLUCA B, RAFFAELLA C, et al. Quantification of 2- and 3-isopropylmalic acids in forty Italian wines by UHPLC-MS/MS triple quadrupole and evaluation of their antimicrobial, antioxidant activities and biocompatibility[J]. Food Chemistry, 2020, 321: 126726.
- [29] 刘雅兰,刘明洁,吴兴龙,等.乌饭树叶片有机酸组分及含量研究[J].现代园艺,2023,46(24):8–10,16. [LIU Y L, LIU M J, WU X L, et al. Study on organic acid components and contents of leaves of *Vaccinium bracteatum* Thunb[J]. Contemporary Horticulture, 2023, 46(24): 8–10,16.]
- [30] BARNES P J. American journal of respiratory and critical care medicine[J]. Theophylline, 2013, 188(8): 901–906.
- [31] 刘慧.桃果实酚类物质及其抗氧化功能研究[D].北京:中国农业大学,2015. [LIU H. Study on phenolic compounds and their antioxidant activities from peach fruit[D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.]
- [32] 耿树香,宁德鲁,陈海云,等.我国不同主产区核桃品质综合评价分析[J].中国油脂,2020,45(4):97–101. [GENG S X, NING D L, CHEN H Y, et al. Comprehensive evaluation and analysis on quality of walnut in different main producing areas in China[J]. China Oils And Fats, 2020, 45(4): 97–101.]
- [33] 李善政,李萍,许佳旺,等.朗县核桃营养成分分析[J].高原农业,2020,4(4):412–416. [LI S Z, LI P, XU J W, et al. Analysis of nutritional ingredient of Nang county walnut[J]. Journal of Plateau Agriculture, 2020, 4(4): 412–416.]
- [34] 时羽杰,李晶晶,糜加轩,等.川西不同产地“盐源早”核桃的品质研究及评价[J].四川农业大学学报,2021,39(4):486–495. [SHI Y J, LI J J, MI J X, et al. Study and evaluation on the quality of ‘Yanyuanza’ walnut from different producing areas in western Sichuan[J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2021, 39(4): 486–495.]
- [35] JIANG L L, LU M, RAO T Z, et al. Comparative analysis of fruit metabolome using widely targeted metabolomics reveals nutritional characteristics of different *Rosa roxburghii* genotypes[J]. Foods, 2022, 11(6): 850.