

比较代谢组学揭示不同生长期箬竹笋的代谢物差异

王卫华^{1,2}, 杨晓琴², 桑正林¹, 杨顺强¹, 赵平², 刘云², 朱国磊², 叶夏英^{1,*}

(1. 昭通学院农学与生命科学学院, 滇东北高原特色农业研究中心, 云南 昭通 657000;

2. 西南林业大学 西南山地森林资源保育与利用教育部重点实验室, 云南 昆明 650224)

摘要: 为探究箬竹笋在生长过程中代谢物的动态变化和阶段特异性, 采用基于超高效液相色谱-串联质谱的广泛靶向代谢组学, 对2个不同生长期出土高度分别为10 cm和25 cm的箬竹鲜笋样本进行分析。结果表明, 2个生长期的箬竹笋样本共鉴定出13类875个代谢物, 其中糖及醇类、黄酮类等成分的相对含量在生长期为25 cm样本中明显上升。多元统计分析结果显示, 2个不同生长期的箬竹笋代谢物存在明显阶段特异性, 生长期10 cm与25 cm的箬竹笋共存在283个显著差异代谢物, 其中102个代谢物被注释到82条代谢通路中。通过综合分析得出, 20种竹笋主要营养成分在2个不同生长期的笋中无显著差异, 而与口感风味、活性功能有关的代谢物在生长期为25 cm的样本中相对含量更高, 且25 cm箬竹笋样本中苦味因子相对含量更低。因此与生长期为10 cm的箬竹笋相比, 生长期为25 cm的箬竹笋综合经济价值更高, 可能是更加适合的采收规格。本研究结果可为箬竹资源的综合开发和可持续利用提供理论参考。

关键词: 箬竹笋; 不同生长期; 比较代谢组学; 差异代谢物; 超高效液相色谱-质谱联用

Comparative Metabolomics Revealed Metabolite Differences in Bamboo Shoots (*Chimonobambusa tumidissinoda* Hsueh & T. P. Yi ex Ohrnberger) at Different Growth Stages

WANG Weihua^{1,2}, YANG Xiaojin², SANG Zhenglin¹, YANG Shunqiang¹, ZHAO Ping², LIU Yun², ZHU Guolei², YE Xiaying^{1,*}
(1. Research Center for Plateau Characteristic Agriculture in Northeast Yunnan, Department of Agronomy and Life Science, Zhaotong University, Zhaotong 657000, China; 2. Key Laboratory for Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China, Ministry of Education, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: In order to explore the dynamic changes and stage specificity of metabolites in bamboo shoots during its growth, widely targeted metabolomics based on ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was used to analyze fresh bamboo shoots harvested at heights of 10 and 25 cm. The results showed that a total of 875 metabolites belonging to 13 categories were identified from bamboo shoots, including sugars, alcohols and flavonoids, whose relative contents significantly increased in 25 cm-high bamboo shoots. Moreover, the results of multivariate statistical analyses showed that the metabolites in bamboo shoots had an obvious stage specificity. Totally 283 significantly differential metabolites were identified between the two growth stages, of which 102 metabolites were annotated to 82 metabolic pathways. The contents of 20 major nutrients did not significantly differ between the two growth stages; however, the contents of metabolites related to taste, flavor and bioactive function were higher, while the content of bitter compounds was lower in the 25 cm-high bamboo shoots. Therefore, compared with the 10 cm-high bamboo shoots, the 25 cm-high bamboo shoots have a higher comprehensive economic value and are more suitable for harvesting. The

收稿日期: 2022-09-26

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(32260307); 云南省应用基础研究计划青年项目(2019FD059); 昭通市凤凰计划项目

第一作者简介: 王卫华(1989—)(ORCID: 0000-0002-6503-2164), 男, 主管药师, 硕士, 研究方向为天然产物化学。
E-mail: 34016@ztu.edu.cn

*通信作者简介: 叶夏英(1990—)(ORCID: 0000-0003-2066-945X), 女, 副教授, 博士, 研究方向为竹类系统生物学。
E-mail: 34007@ztu.edu.cn

results of this study can provide a theoretical reference for the comprehensive development and sustainable utilization of *Chimonobambusa tumidissinoda*.

Keywords: bamboo shoots; different growth stages; comparative metabolomics; differential metabolites; ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220926-278

中图分类号: S644.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2023) 14-0237-08

引文格式:

王卫华, 杨晓琴, 桑正林, 等. 比较代谢组学揭示不同生长期箬竹笋的代谢物差异[J]. 食品科学, 2023, 44(14): 237-244.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220926-278. <http://www.spkx.net.cn>

WANG Weihua, YANG Xiaoqin, SANG Zhenglin, et al. Comparative metabolomics revealed metabolite differences in bamboo shoots (*Chimonobambusa tumidissinoda* Hsueh & T. P. Yi ex Ohrnberger) at different growth stages[J]. Food Science, 2023, 44(14): 237-244. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220926-278. <http://www.spkx.net.cn>

箬竹 (*Chimonobambusa tumidissinoda* Hsueh & T. P. Yi ex Ohrnberger) 为地下茎复轴混生中小型竹类, 隶属禾本科 (Poaceae), 竹亚科 (Bambusoideae)、方竹属 (*Chimonobambusa* Makino)^[1], 是收录于《中国珍稀濒危保护植物目录》的保护物种, 也是我国特有种质资源^[2]。箬竹自然分布于我国西南金沙江下游地区, 是云南昭通重要的生物资源, 昭通天然箬竹林面积占全国天然箬竹林面积的70%以上^[3]。箬竹笋具有肉厚、质脆、味美之特性, 是深受消费者青睐的食品。

果蔬的口感风味与其代谢物的种类、含量及这些代谢物在发育成熟过程中的动态变化等密切相关, 例如番茄的口感风味与番茄中的有机酸、可溶性糖类等代谢物有关, 其中的33种代谢物与消费者的喜好存在明显关联^[4-5]。Wang Ruochen等^[6]对生长成熟过程中猕猴桃的风味物质变化进行了研究, 结果显示, 猕猴桃风味相关代谢物在其成熟过程中具有明显的阶段特异性。Gao Quan等^[7]研究发现了新鲜竹笋中的苦涩味主要来源于竹笋的代谢产物L-苯丙氨酸。植物次生代谢产物是植物体内合成的一类与生长发育不相关的小分子物质, 它们通常在植物适应环境和应对胁迫的过程中起到关键作用^[8], 植物来源的食品也具有种类丰富的次生代谢产物 (如酚酸类、黄酮类、生物碱类等), 而这些代谢物与食品发挥抗氧化、抗炎、和改善代谢综合征的生物活性与功能有关^[9-12]。

目前, 对箬竹笋营养成分的研究结果表明, 箬竹笋富含蛋白质、氨基酸、可溶性糖和粗脂肪等营养物质, 必需氨基酸比例在34%以上^[13]。杨奕等^[14]通过分析测定3个不同出土高度箬竹笋主要营养成分, 认为出土高度为10~20 cm的箬竹笋营养品质和经济价值最高。然而现有的研究仅局限于笋中的营养物质, 对箬竹笋在生长过程中相关代谢产物的动态变化和阶段特异性, 以及与箬竹笋口感风味相关的其他物质和次生代谢产物等的研究尚不够深入。

广泛靶向代谢组学是一种基于高通量检测和多元数据处理, 能够全面、快速对样品中小分子代谢物进行定性、定量分析, 从而系统分析样品代谢物差异水平和种类变化的新兴技术^[15-18]。因此, 本研究利用基于超高效液相色谱-串联质谱 (ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS) 的广泛靶向代谢组学方法对2个不同生长期 (出土高度为10 cm和25 cm) 箬竹鲜笋进行分析, 进一步探究箬竹笋代谢物以及其在笋生长过程中的动态变化和阶段特异性, 为箬竹资源的综合开发和可持续利用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

箬竹笋样品于2021年5月在云南昭通市大关县三江口采集, 经昭通学院农学与生命科学学院生物科学教研室鉴定确认为禾本科植物箬竹 (*C. tumidissinoda* Hsueh & T. P. Yi ex Ohrnberger) 的嫩苗。分别量取出土高度为10 cm和25 cm的无虫害竹笋, 脱壳后在顶部、中部和基部各取5 g, 混合后放置于冻存管中用液氮速冻后放置于-80 °C冰箱待测。

水、甲醇、乙腈、甲酸 (均为色谱纯) 美国Merck公司; 标准品二甲基亚砜 (色谱纯) 云南西北生物技术股份有限公司。

1.2 仪器与设备

Nexera X2 UPLC仪 岛津 (中国) 有限公司; 4500QTRAP串联质谱仪 美国Applied Biosystems公司; SB-C₁₈色谱柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) 美国安捷伦公司; Scientz-100F普通型冷冻干燥机 宁波新芝生物科技股份有限公司; MM400冷冻混合研磨仪 德国莱驰公司; PTX-FA210S电子天平 华志 (福建) 电子科技有限公司; XH-D型旋涡振荡器 美国赛默飞世尔科技公司; JIDI-16D台式高速离心机 广州吉迪仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品提取

样品放置于冻干机中真空冷冻干燥后利用研磨仪研磨 (30 Hz, 1.5 min) 至粉末状, 称取100 mg的粉末, 溶解于1.2 mL 70%甲醇提取液中, 后置于旋涡振荡器, 每30 min涡旋一次, 每次持续30 s, 共涡旋6次, 样本置于4 °C冰箱过夜, 离心 (12 000 r/min, 10 min) 后, 吸取上清, 用微孔滤膜 (0.22 μm) 过滤样品, 并保存于进样瓶中, 2个不同生长期的箬竹笋样本, 分别重复取样3次, 用于UPLC-MS/MS分析。

质控样本由不同组的箬竹笋样本提取物等量混合制备而成, 与分析样本采用相同处理和检测方法, 重复测定3次。仪器分析过程中, 每10个检测分析样本中插入一个质控样本, 以监测分析过程的重复性。

1.3.2 UPLC-MS/MS采集条件

UPLC条件: 柱温40 °C, 流速0.35 mL/min, 进样量4 μL; 流动相: A相为超纯水 (加入0.1%甲酸), B相为乙腈 (加入0.1%甲酸); 洗脱梯度: 0.00 min, 95% A, 5% B; 0.00~9.00 min, 95%~5% A, 5%~95% B, 保持1 min; 10.00~11.10 min, 5%~95% A, 95%~5% B, 并以5% B平衡至14 min。

MS条件: 电喷雾离子源; 离子源温度550 °C; 离子喷雾电压5 500 V (正离子模式) / -4 500 V (负离子模式)。三重四极杆扫描使用多反应监测模式, 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多反应监测模式离子对。

1.4 数据处理

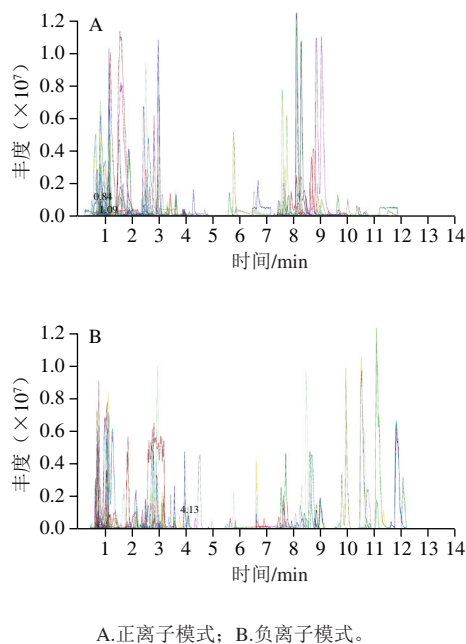
利用软件Analyst 1.6.3处理质谱数据, 用MultiaQuant软件, 基于自建数据库 (metware database, MWDB), 对样本的代谢物进行质谱定性定量分析, 对所有代谢物质谱峰进行积分, 并对同一物质质谱峰进行积分校正^[19]。多元统计包括无监督模式识别的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和有监督模式识别的正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)。OPLS-DA在原始数据进行log₂转换后, 再进行中心化处理, 然后利用R软件进行分析。差异代谢物筛选采取将OPLS-DA模型的变量重要性投影 (variable importance in projection, VIP) 值、差异倍数 (fold change, FC) 值相结合的方法。显著差异代谢物基于2个筛选标准: 1) FC ≥ 2和FC ≤ 0.5的代谢物; 2) VIP ≥ 1的代谢物。

2 结果与分析

2.1 总代谢物分析

经过代谢组分析, 2个生长时期的箬竹笋样本中共

检测鉴定出875种代谢物 (图1), 按代谢物类型将代谢物分为13类 (图2)。利用面积归一法获得各类物质的相对含量 (表1), 25 cm箬竹笋较10 cm样本相比, 糖及醇类、黄酮类、生物碱类相对含量上浮明显, 脂质、氨基酸及衍生物占比有所下降。



A.正离子模式; B.负离子模式。

图1 箬竹笋样本代谢物多反应监测多峰图

Fig. 1 MRM chromatograms of bamboo shoot samples

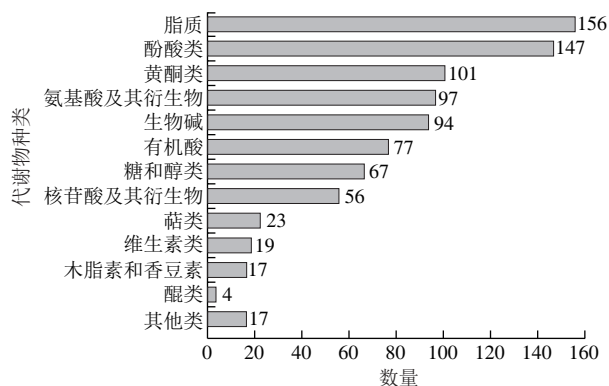


图2 箬竹笋样本中检测到的代谢物分类

Fig. 2 Classification of metabolites detected in bamboo shoot samples

根据代谢组分析结果发现, 在875种代谢物中, 箬竹笋样品中的脂质成分种类最多, 相对丰度最高, 鉴定出脂质156种, 包括74种游离脂肪酸, 18种甘油酯及94种其他脂类等。其中亚油酸和α-亚麻酸在875个鉴定代谢物的相对含量分别达3.94%和2.90%。亚油酸和α-亚麻酸是人体必需的不饱和脂肪酸, 具有降脂和保护心脑血管等作用^[20-22]。本研究表明箬竹笋中不饱和脂肪酸占脂肪酸的主导地位, 这与其他竹笋研究结论^[23]基本一致。另有研究显示, 竹笋膳食纤维能够降低人体低

血清总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和动脉粥样硬化指数^[24-25]。根据本研究结果推测, 箬竹笋中丰富的不饱和脂肪酸等脂质成分可能是箬竹笋具备改善代谢综合征(血脂异常)作用的重要物质基础。

表1 2个不同生长期箬竹笋样本各类代谢物相对含量
Table 1 Relative contents of metabolites in bamboo shoots at two different growth stages

物质类别	相对含量/%	
	10 cm样本	25 cm样本
脂质	38.15	32.68
酚酸类	5.98	6.40
黄酮类	1.84	3.18
氨基酸及其衍生物	10.63	8.10
生物碱	13.19	16.80
有机酸	9.60	8.98
糖和醇类	4.79	10.13
核苷酸及其衍生物	12.44	10.62
萜类	1.14	0.65
维生素类	1.21	1.27
木脂素和香豆素	0.15	0.16
醌类	0.08	0.07
其他类	0.79	0.95

从箬竹笋中鉴定出氨基酸及其衍生物共97种, 其中包含蛋白氨基酸17种, 必需氨基酸8种。利用测出的17种蛋白氨基酸的相对含量与17种氨基酸相对含量总和进行比较, 求出各氨基酸的相对含量(表2)。从表2可以看出, 箬竹笋样本中L-谷氨酸的相对含量最高, 达23.59%; 必需氨基酸在17种氨基酸中的相对含量达34.13%。根据游离氨基酸的呈味特征^[26], 从表2还可以分析得出, 箬竹笋中鲜味氨基酸如L-谷氨酸、L-天冬氨酸、L-赖氨酸, 甜味氨基酸如L-脯氨酸相对含量较高, 而苦味氨基酸如竹笋中最主要的苦味因子L-苯丙氨酸相对含量较低。这可能是箬竹笋具有鲜甜口感, 受消费者喜爱的关键原因和重要物质基础。

表2 箬竹笋样本中氨基酸的相对含量
Table 2 Relative contents of amino acids in bamboo shoots

序号	氨基酸	相对含量/%	相对含量在本类别中排名
1	L-谷氨酸	23.59	1/97
2	L-天冬酰胺	11.78	4/97
3	L-脯氨酸	9.85	5/97
4	L-缬氨酸	8.10	6/97
5	L-谷氨酰胺	7.26	8/97
6	L-赖氨酸	6.16	10/97
7	L-天冬氨酸	5.57	11/97
8	L-亮氨酸	4.99	12/97
9	L-异亮氨酸	4.91	13/97
10	L-甲硫氨酸	4.49	15/97
11	L-精氨酸	2.70	19/97
12	L-酪氨酸	2.43	20/97
13	L-苏氨酸	2.28	21/97
14	L-色氨酸	2.15	23/97
15	L-丝氨酸	1.69	27/97
16	L-苯丙氨酸	1.06	34/97
17	L-组氨酸	0.99	36/97
18	总必需氨基酸	34.13	

从箬竹笋中还鉴定出有机酸77种(柠檬酸、L-苹果酸、茉莉酸等)、糖及醇类67种(3-脱氢-L-蔗糖酸、D-蔗糖、D-果糖等)、维生素19种(烟酰胺、D-泛酸、抗坏血酸等)、核苷酸及其衍生物56种(腺嘌呤、鸟苷等)、其他类17种(4-胍基丁醛等)。据此可以看出箬竹笋中维生素种类丰富, 营养价值高, 其中有机酸和可溶性糖种类丰富、相对含量较高, 可能也是箬竹笋风味口感形成的重要物质基础。

此外, 从箬竹笋中鉴定出比较丰富的次生代谢产物, 包括黄酮类101种(4'-羟基-5,7-二甲氧基黄酮、芹菜素-8-C-(2"-葡萄糖基)阿拉伯糖苷、槲皮素-3-O-芸香糖苷等)、酚酸类147种(3-O-阿魏酰奎宁酸、邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯、4-羟基苯甲酸等)、生物碱94种(2-羟基-7-甲氧基-1,4-苯并噁嗪-3(2H)-酮、五羟色胺、哌啶等)、萜类23种(贝壳杉烯酸等)、木脂素和香豆素17种(东莨菪内酯-7-O-葡萄糖醛酸苷等)、醌类4种(大黄酚-9-蒽酮等)。由于植物次生代谢产物通常具备一定生物活性, 因此这些物质成分可能是箬竹笋发挥活性功能, 适应环境的重要物质基础。

2.2 PCA结果

为了解各分组样本之间的主要代谢物和组内样本之间的差异, 运用PCA对2个不同生长期的箬竹笋样本和质控样本(mix)进行分析。由图3可知, PC1贡献率为44.40%, PC2贡献率为40.07%, 前5个PC的累计可解释变异为93.86%, 所有样品坐标点均分布于95%置信区域, 说明该模型可分析不同生长期箬竹笋代谢物的差异情况。质控样本和组内样本基本重合, 表明检测的稳定性和可靠性良好。生长期10 cm的箬竹笋样本与生长期25 cm的箬竹笋样本组间差异大, 分离趋势明显, 说明2个不同生长时期的样本代谢物存在明显差异。

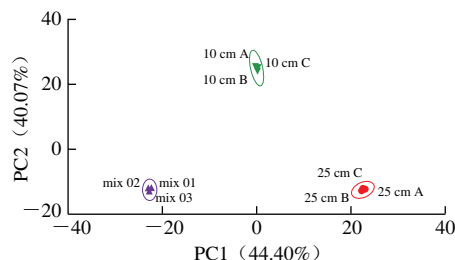


图3 2个不同生长期箬竹笋样本与质控样本质谱数据的PCA得分图
Fig. 3 PCA score plot of MS data of bamboo shoots at two different growth stages and those of quality control samples

2.3 OPLS-DA结果

为进一步分析2个不同生长期箬竹笋的代谢物差异, 筛选2个组别的差异代谢物, 对样本进行OPLS-DA。从图4A可知, 生长期为10 cm的箬竹笋与25 cm的箬竹笋在代谢物上存在显著差异, 这一结果与PCA的

结果相似。为验证OPLS-DA的准确性，本模型对数据进行了200次随机排列组合，模型的 $R_x^2=0.801$ 、 $R_y^2=1$ 、 $Q^2=0.992$ ，表明所构建的OPLS-DA模型稳定可靠，具备良好的预测性，适合进一步筛选2个不同生长期箬竹笋的差异代谢物。

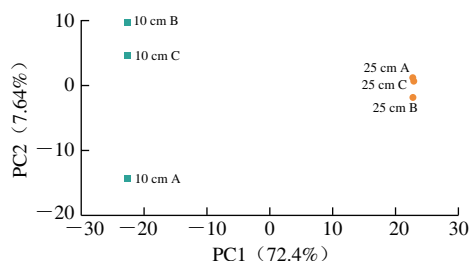


图4 2个不同生长期箬竹笋样本OPLS-DA得分图

Fig. 4 OPLS-DA plot of bamboo shoots at two different growth stages

2.4 2个不同生长期箬竹笋差异代谢物的分析

基于OPLS-DA模型的VIP、单变量分析的FC和相应的筛选标准，对分组样本的差异代谢物进行筛选。如图5A所示，生长期为10 cm的箬竹笋与生长期为25 cm箬竹笋共存在283个显著差异代谢物，2个不同生长期的箬竹笋显著差异代谢物个数占所有检测出代谢物总数的32.34%，表明2个不同生长期箬竹笋的代谢物差异较为显著。其中生长期25 cm的样本相较于10 cm样本上调代谢物154个（包括酚酸类44个、黄酮类32个、糖及醇类19个等），下调代谢物129个（包括生物碱类22个、氨基酸及衍生物15个、脂质类15个等）。

将衡量代谢成分显著差异的定量信息FC通过数学变换为 \log_2FC ，按 \log_2FC 值筛选出排名前20的显著差异代谢物（图5B）。从图5B可知，在25 cm的箬竹笋样本中，柠檬酸、没食子酸、绿原酸等有机酸，酚酸类和多种黄酮类成分出现显著上调，而N-阿魏酰五羟色胺、吲哚等成分出现显著下调。为直观反映出箬竹笋中主要营养成分和风味物质的阶段特异性，将2.1节分析得到的20种主要营养成分的具体差异情况列出（表3），结合2个生长期主要营养成分的VIP、FC值和显著差异代谢物的筛选标准，从表3可知，亚油酸、 α -亚麻酸及多个氨基酸在箬竹笋2个不同生长期的差异并不显著，而在25 cm的箬竹笋样本中，苦味因子L-苯丙氨酸比10 cm样本的相对含量略低。

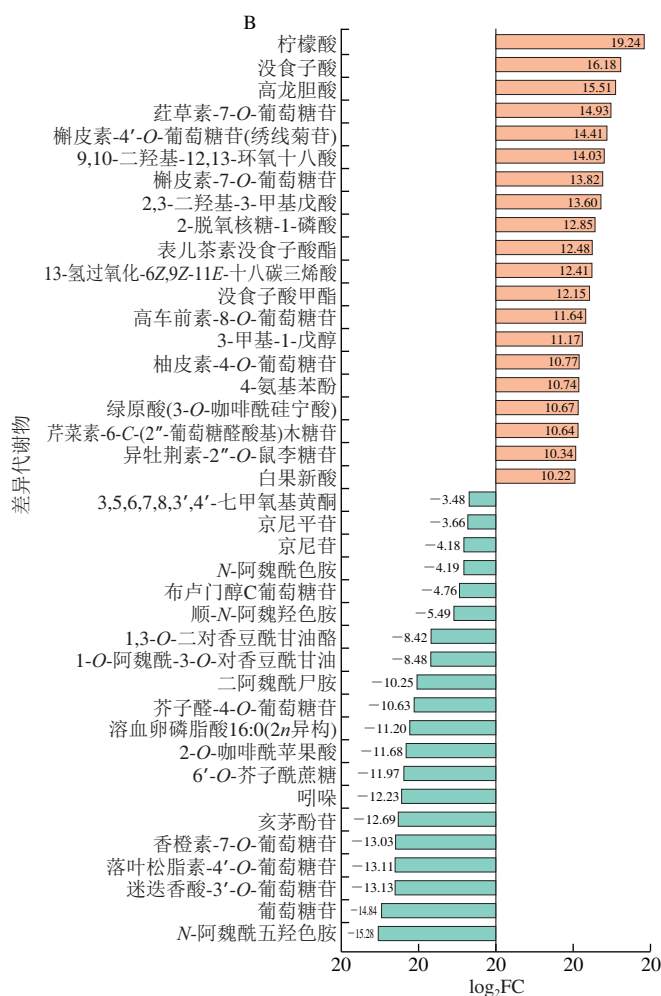
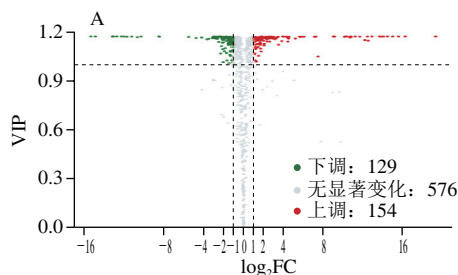


图5 2个不同生长期箬竹笋样本差异代谢物火山图（A）和排名前20差异代谢物FC柱状图（B）

Fig. 5 Volcano map (A) and histogram (B) of top 20 most significantly differential metabolites from bamboo shoots at two different growth stages

表3 2个不同生长期箬竹笋样本中20种主要营养成分VIP值和FC值
Table 3 VIP and FC of 20 major nutrient components in bamboo shoots at two different growth stages

代谢物	VIP	FC	差异性
亚油酸	1.02	0.91	不显著
γ -亚麻酸	1.08	1.09	不显著
α -亚麻酸	0.81	1.06	不显著
L-谷氨酸	1.17	0.73	不显著
L-天冬酰胺	1.15	0.60	不显著
L-脯氨酸	1.17	0.62	不显著
L-缬氨酸	0.60	1.05	不显著
L-谷氨酰胺	1.17	0.57	不显著
L-赖氨酸	1.17	0.59	不显著
L-天冬氨酸	1.17	0.40	显著下调
L-亮氨酸	1.17	0.74	不显著
L-异亮氨酸	1.17	0.75	不显著
L-甲硫氨酸	1.17	0.52	不显著
L-精氨酸	1.17	0.44	显著下调
L-酪氨酸	1.07	0.82	不显著
L-苏氨酸	1.16	0.53	不显著
L-色氨酸	1.17	0.21	显著下调
L-丝氨酸	0.03	1.00	不显著
L-苯丙氨酸	1.17	0.66	不显著
L-组氨酸	1.17	0.43	不显著

注：单变量分析的FC值为生长期为25 cm样本中代谢物相对含量与10 cm样本代谢物相对含量的比值。

2.5 2个不同生长期箬竹笋差异代谢通路的分析

为进一步探索2个不同生长期箬竹笋中代谢通路的差异,利用京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)对统计筛选出的显著差异代谢物进行功能注释。283个显著差异代谢物中有102个代谢物被注释到82条代谢通路中,其中被注释的差异代谢物数目排前3的KEGG通路类型分别为代谢途径、次生代谢物的生物合成和ABC转运蛋白,分别占总数的75.49%、43.14%和14.71%。如图6所示,生长期为25 cm的箬竹笋样本与10 cm的样本相比,黄酮与黄酮醇的生物合成、半乳糖代谢、 α -亚麻酸代谢等通路富集明显且呈现较明显的上调趋势。植物激素信号转导、苯并噁嗪类生物合成等通路呈现明显上调或下调趋势,但富集程度不高。与竹笋木质化进程关系密切的苯丙素类的生物合成通路富集程度和上调趋势尚不明显。

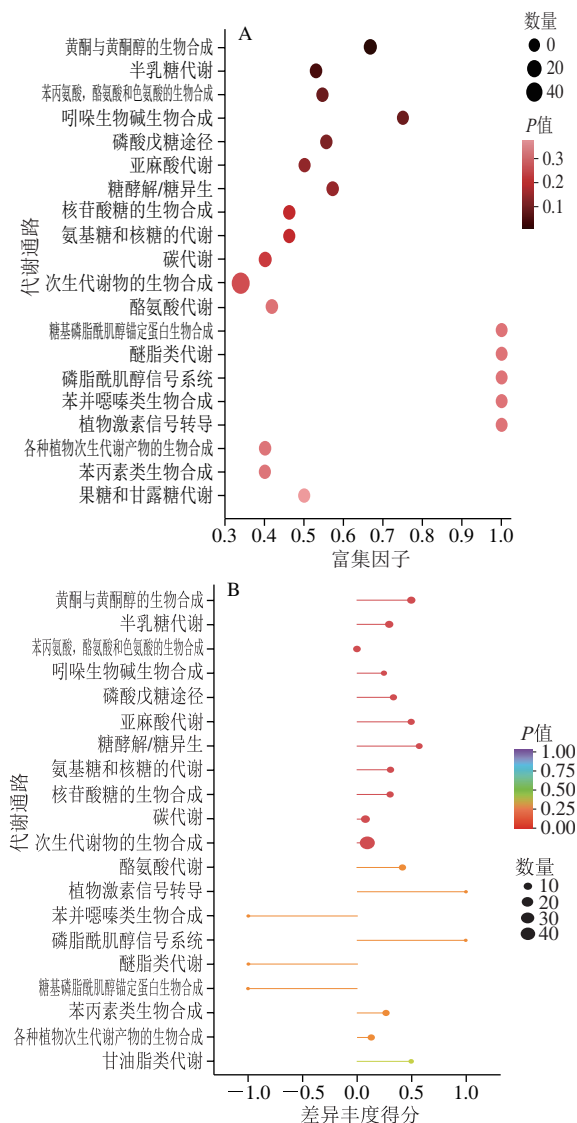


图6 2个不同生长期箬竹笋样本差异代谢物KEGG富集图(A)及差异丰度得分图(B)

Fig. 6 KEGG enrichment map (A) and differential abundance score map (B) of differential metabolites in bamboo shoots at two different growth stages

2.6 2个不同生长期箬竹笋代谢物阶段特异性综合分析

已有研究表明,竹笋中的黄酮类成分具有抗氧化、降血糖等多种活性功能^[27-28]。综合2个不同生长期箬竹笋的差异代谢物和代谢通路结果发现,在生长期为25 cm的箬竹笋样本中,包括槲皮素3-O-新橘皮糖苷、槲皮素3-O-芸香糖苷(芦丁)、槲皮素7-O-芸香糖苷、荜草素-7-O-葡萄糖苷、槲皮素-4'-O-葡萄糖苷(绣线菊苷)等27个黄酮类代谢物的相对含量较生长期为10 cm的箬竹笋样本出现显著增加。图7显示了25 cm箬竹笋样本中鉴定出的两个相对含量最高的黄酮类代谢物:4'-羟基-5,7-二甲基黄酮和槲皮素-3-O-芸香糖苷(芦丁),在总代谢物相对含量分别为0.95%和0.43%。4'-羟基-5,7-二甲基黄酮是典型的二氢黄酮,具有抗晚期糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)的活性功能,AGEs则与多种退行性疾病有关^[29],而芦丁是黄酮醇二糖苷,具有抗氧化和抗糖尿病的活性功能^[30-31]。据此可以分析得出,箬竹笋中含有能够抗氧化和改善代谢综合征(糖尿病)的黄酮类成分,且具有活性功能的黄酮类成分在25 cm的箬竹笋中较10 cm的含量显著增加。

茉莉酸(图7)是由 α -亚麻酸合成的脂类派生植物激素,是植物多个生长发育过程的关键调节信号分子^[32],同时可驱动多个次生代谢产物(包括黄酮类、花青素等)在植物中的积累^[33]。在麦草中的一项研究表明,外源茉莉酸还能诱导麦草中的酚类物质含量增多,从而增加麦草抗氧化和抗炎的活性功能^[34]。在本研究中,2个不同生长期的箬竹笋样本都检测到了茉莉酸这一代谢物,与10 cm样本相比,生长期为25 cm的箬竹笋样本中茉莉酸相对含量出现显著上调(VIP=1.17、FC=2.35)。同时,代谢途径结果(图6)显示 α -亚麻酸代谢和植物激素信号转导通路出现了富集与上调。据此综合分析推测,箬竹笋生长过程中,茉莉酸由 α -亚麻酸经生物合成途径快速富集产生并在箬竹笋生长过程中起到关键作用,可能是黄酮类代谢物富集上调的关键调控因子。能否通过外源性的茉莉酸诱导箬竹笋活性功能成分的增加从而增强箬竹笋活性功能有待进一步的研究探索。

苯并噁嗪类是存在于禾本科植物中的一类次生代谢产物,也是一种重要的化感物质,具有抗虫、抗病的防御功能^[35]。在本次箬竹笋代谢组学研究中,发现包括2-羟基-7-甲氧基-1,4-苯并噁嗪-3(2H)-酮、2-羟基-1,4-苯并噁嗪-3(2H)-酮葡萄糖苷等多个苯并噁嗪类生物碱(图7),代谢组学结果还显示,生长期25 cm的箬竹笋样本相比10 cm样本,苯并噁嗪类生物合成通路出现下调(图6),苯并噁嗪生物碱相对含量下降,呈现出阶段特异性,这可能与箬竹笋出笋早期需要更多化感物质对抗生物胁迫有关。

箬竹笋是滇东北高原特色农产品,也是产区农民重要的经济收入来源。然而,目前在采笋季节,箬竹笋

采收的规格参差不齐,部分地区采收者甚至会“见笋就打”,这对箬竹资源的可持续开发利用十分不利。本研究结果显示,相对于生长期为10 cm的箬竹笋,生长期为25 cm箬竹笋中的20种主要营养成分变化并不显著,而与口感风味密切相关的有机酸、糖与醇类、鲜甜味氨基酸等代谢物相对含量上升,苦味因子L-苯丙氨酸相对含量下降,与抗氧化和改善代谢综合征等活性功能密切相关的黄酮类代谢物显著上升。因此与生长期为10 cm的箬竹笋相比,生长期为25 cm的箬竹笋具有更高的综合经济价值,可能是更加适合的采收规格。

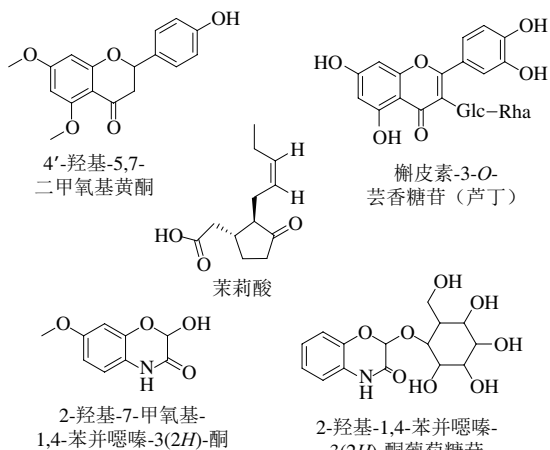


图7 箬竹笋中部分代谢物的结构式

Fig. 7 Structures of some metabolites in bamboo shoots

3 结论

运用基于UPLC-MS/MS的广泛靶向代谢组学对昭通产箬竹笋进行分析。从2个不同生长期(出土高度分别为10 cm和25 cm)箬竹笋样本中共鉴定出13类875个代谢物,表明箬竹笋是营养成分丰富的食品原料。多元统计分析显示,2个不同生长期箬竹笋代谢物存在明显的阶段特异性,生长期为10 cm的箬竹笋与生长期为25 cm的箬竹笋共存在283个显著差异代谢物,其中102个代谢物被注释到了82条代谢通路中。通过综合分析得出,20种主要营养成分在生长期为10 cm和25 cm的箬竹笋样本中差异并不显著,而与口感风味、活性功能有关的代谢物在生长期为25 cm的样本中相对含量更高,且25 cm箬竹笋样本中苦味因子相对含量更低。因此与生长期为10 cm的箬竹笋相比,生长期为25 cm的箬竹笋综合经济价值更高,可能是更加适合的采收规格。本研究结果可为箬竹资源的综合开发和可持续利用提供重要的理论参考。

参考文献:

- [1] 朱石麟, 马乃训, 傅懋毅. 中国竹类植物志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1994.
- [2] 傅立国, 金鉴明. 中国植物红皮书: 稀有濒危植物: 第1册[M]. 北京: 科学出版社, 1992: 318-319.
- [3] 董文渊, 邱月群, 王逸之, 等. 天然箬竹居群形态遗传多样性[J]. 东北林业大学学报, 2016, 44(5): 101-103. DOI:10.3969/j.issn.1000-5382.2016.05.023.
- [4] ZHANG B, TIEMAN D, JIAO C, et al. Chilling-induced tomato flavor loss is associated with altered volatile synthesis and transient changes in DNA methylation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2016, 113(44): 12580-12585. DOI:10.1073/pnas.1613910111.
- [5] TIEMAN D, ZHU G T, RESENDE M, et al. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor[J]. Science, 2017, 35: 391-394. DOI:10.1126/science.aal1556.
- [6] WANG R C, SHU P, ZHANG C, et al. Integrative analyses of metabolome and genome-wide transcriptome reveal the regulatory network governing flavor formation in kiwifruit (*Actinidia chinensis*)[J]. New Phytologist, 2022, 233(1): 373-389. DOI:10.1111/nph.17618.
- [7] GAO Q, JIANG H, TANG F, et al. Evaluation of the bitter components of bamboo shoots using a metabolomics approach[J]. Food & Function, 2019, 10(1): 90-98. DOI:10.1039/c8fo01820k.
- [8] AFRIN S, HUANG J J, LUO Z Y. JA-mediated transcriptional regulation of secondary metabolism in medicinal plants[J]. Science Bulletin, 2015, 60(12): 1062-1072. DOI:10.1007/s11434-015-0813-0.
- [9] LIN M Y, HAN P P, LI Y Y, et al. Quinoa secondary metabolites and their biological activities or functions[J]. Molecules, 2019, 24(12): 2512. DOI:10.3390/molecules24132512.
- [10] WU T, LV H Y, WANG F Z, et al. Characterization of polyphenols from *lycium ruthenicum* fruit by UPLC-Q-TOF/MSE and their antioxidant activity in Caco-2 cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(11): 2280-2288. DOI:10.1021/acs.jafc.6b00035.
- [11] ZHANG J N, ZHAO L, CHENG Q, et al. Structurally different flavonoid subclasses attenuate high-fat and high-fructose diet induced metabolic syndrome in rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 66(46): 12412-12420. DOI:10.1021/acs.jafc.8b03574.
- [12] GALANAKIS C M. Functionality of food components and emerging technologies[J]. Foods, 2021, 10(1): 128. DOI:10.3390/foods10010128.
- [13] 袁金玲, 熊登高, 胡炳堂, 等. 珍稀保护竹种箬竹笋营养成分的研究[J]. 林业科学研究, 2008, 21(6): 773-777.
- [14] 杨奕, 董文渊, 邱月群, 等. 箬竹笋生长过程中营养成分的变化[J]. 东北林业大学学报, 2015, 43(1): 80-87. DOI:10.13759/j.cnki.dlxb.2015.01.004.
- [15] 陈丹, 赵燕妮, 彭佳堃, 等. 基于代谢组学的不同年份晒青红茶化学成分分析[J]. 食品科学, 2022, 43(4): 150-159. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210325-314.
- [16] 闫乐乐, 卜璐璐, 牛良, 等. 广泛靶向代谢组学解析桃蚜危害对桃树次生代谢产物的影响[J]. 中国农业科学, 2022, 55(6): 1149-1158. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2022.06.008.
- [17] 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. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021040110.
- [18] 唐昊, 李沅秋, 甘晓凤, 等. 基于广泛代谢组学分析慈竹笋营养成分及其提取物的抗氧化活性[J]. 现代食品科技, 2021, 37(6): 304-311. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.6.1007.

- [19] FRAGA C G, CLOWERS B H, MOORE R J, et al. Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics[J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(10): 4165-4173. DOI:10.1021/ac1003568.
- [20] WHELAN J, FRITSCHKE K. Linoleic acid[J]. Advances in Nutrition, 2013, 4(3): 311-312. DOI:10.3945/an.113.003772.
- [21] 沙爽, 冯启鑫, 张欣蕊, 等. 亚油酸/ α -亚麻酸复合物对小鼠急性肝损伤的预防作用[J]. 食品科学, 2022, 43(17): 188-198. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210823-298.
- [22] 刘欣, 刘杨祥, 杨玉壮, 等. γ -亚麻酸诱变菌株曼被孢霉HLY0902的发酵条件优化[J]. 中国油脂, 2018, 43(4): 101-105.
- [23] WANG Y L, CHEN J, WANG D M, et al. A systematic review on the composition, storage, processing of bamboo shoots: focusing the nutritional and functional benefits[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 71: 104015. DOI:10.1016/j.jff.2020.104015.
- [24] PARK E J, JHON D Y. Effects of bamboo shoot consumption on lipid profiles and bowel function in healthy young women[J]. Nutrition, 2009, 25(7/8): 723-728. DOI:10.1016/j.nut.2009.01.007.
- [25] 刘连亮. 竹笋降压降脂有效成分及其活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [26] 刘新, 刘政芳, 张彦, 等. 基于游离氨基酸和感官鲜度评价的复合鲜味产品的呈味特征分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(7): 287-293. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2022050113.
- [27] 杨波, 益莎, 施锴芸, 等. 竹笋加工剩余物中笋箨黄酮提取、结构鉴定及生物活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(11): 208-215. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.026327.
- [28] LI P C, TANG Y F, LIU L M, et al. Therapeutic potential of buckwheat hull flavonoids in *db/db* mice, a model of type 2 diabetes[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 52: 284-290. DOI:10.1016/j.jff.2018.11.011.
- [29] CHOUDHARY M L, MAHER S, BEGUM A, et al. Characterization and antiglycation activity of phenolic constituents from *Viscum album* (*European mistletoe*)[J]. Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 2010, 58(7): 980-982. DOI:10.1248/cpb.58.980.
- [30] ENOGERU A B, HAYLETT W, HISS D C, et al. Rutin as a potent antioxidant: Implications for neurodegenerative disorders[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2018, 2018: 6241017. DOI:10.1155/2018/6241017.
- [31] EKAETTE I, SALDANA M D A. Ultrasound processing of rutin in food-grade solvents: derivative compounds, antioxidant activities and optical rotation[J]. Food Chemistry, 2021, 344: 128629. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.128629.
- [32] WASTERNAK C, SONG S S. Jasmonates: biosynthesis, metabolism, and signaling by proteins activating and repressing transcription[J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(6): 1303-1321. DOI:10.1093/jxb/erw443.
- [33] SOHN S I, PANDIAN S, RAKKAMMAL K, et al. Jasmonates in plant growth and development and elicitation of secondary metabolites: an updated overview[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 942789. DOI:10.3389/fpls.2022.942789.
- [34] ZLOTEK U, SZYMANOWSKA U, JAKUBCZYK A, et al. Effect of arachidonic and jasmonic acid elicitation on the content of phenolic compounds and antioxidant and anti-inflammatory properties of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.)[J]. Food Chemistry, 2019, 288: 256-261. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.02.124.
- [35] NICULAES C, ABRAMOV A, HANNEMANN L, et al. Plant protection by benzoxazinoids-recent insights[J]. Agronomy, 2018, 8: 143. DOI:10.3390/agronomy8080143.