

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

张 艳, 王圣开, 聂青玉, 付 勋, 冯婷婷, 熊春梅, 李 翔

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

ZHANG Yan, WANG Shengkai, NIE Qingyu, FU Xun, FENG Tingting, XIONG Chummei, and LI Xiang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023100168>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

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>

靶向代谢组学技术在营养性疾病研究中的应用

Application of targeted metabolomics technology in nutritional diseases

食品工业科技. 2017(18): 323–327 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.18.061>

菊花不同提取物代谢组学分析及其抗氧化活性功效物质成分筛选

Metabonomics Analysis of Different Extracts from *Chrysanthemum morifolium* and Screening of Its Antioxidant Active Components

食品工业科技. 2021, 42(16): 8–19 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010248>

转基因作物代谢组差异的协同性分析

Cooperative analysis of the differences in metabolome for genetically modified crops

食品工业科技. 2017(17): 135–140 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.17.026>

定量代谢物组学研究硫酸铵添加对高产红色糖多孢菌生理代谢的影响

Impacts of Ammonium Sulfate Addition on Physiological Metabolism of High-yielding *Saccharopolyspora erythraea* Based on Quantitative Metabonomics

食品工业科技. 2020, 41(23): 91–98 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020020269>

基于代谢组学技术研究凤冈锌硒茶对正常大鼠机体代谢调节规律

Global Metabolic Regulation of Fenggang Zinc–Selenium Tea in Normal Rat Based on Metabolomics Technology

食品工业科技. 2020, 41(6): 99–105 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.06.017>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

张艳, 王圣开, 聂青玉, 等. 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 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(9): 288–295. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100168

ZHANG Yan, WANG Shengkai, NIE Qingyu, et al. Characterization and Discrimination of Prefabricated Grilled Fish with Different Packaging Methods Using Non-targeted Metabolomics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(9): 288–295. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100168

· 分析检测 ·

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

张 艳¹, 王圣开², 聂青玉¹, 付 勋¹, 冯婷婷¹, 熊春梅¹, 李 翔¹

(1.重庆三峡职业学院农林科技学院, 重庆 404155;

2.重庆市万州食品药品检验所, 重庆 404000)

摘要:为探究不同包装预制烤鱼的代谢物差异,采用液相色谱-串联质谱技术,基于非靶向代谢组学方法分析比较托盒包装、真空包装和气调包装预制烤鱼的代谢物组成。结果表明,在二级质谱信息下,3种包装的预制烤鱼共鉴定出318种代谢物。依据正交偏最小二乘法判别分析模型的变量重要性投影值(variable importance projection value, VIP, VIP>1)和P<0.05,共筛选出47种差异代谢物,包括脂肪酸类10种,核苷酸类10种,氨基酸类9种,有机酸及衍生物类7种,苯及衍生物类3种,醇胺类2种,其他类6种。通过对47种差异代谢物相对含量的聚类热图分析,发现3种不同包装方式预制烤鱼的代谢物相对含量存在差异。其中,气调包装烤鱼的多种呈味氨基酸和单磷酸腺苷相对含量明显高于常规的真空和托盒包装。研究结果初步表明,气调包装对保持烤鱼鲜味有积极作用,将为烤鱼包装多样化发展提供方向。

关键词:预制烤鱼, 非靶向代谢组学, 包装, 差异代谢物

中图分类号:TS254.4

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2024)09-0288-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023100168

本文网刊:



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

ZHANG Yan¹, WANG Shengkai², NIE Qingyu¹, FU Xun¹, FENG Tingting¹, XIONG Chunmei¹, LI Xiang¹

(1. College of Agriculture Forestry Science and Technology, Chongqing Three Gorges Vocational College,
Chongqing 404155, China;

2. Chongqing Wanzhou Food and Drug Inspection Institute, Chongqing 404000, China)

Abstract: To explore the metabolites differences of grilled fish in different packages, liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used to analyze and compare the metabolite profile of prefabricated grilled fish in tray packaging, vacuum packaging and modified atmosphere packaging through non-targeted metabolomics. The results showed that 318 metabolites were identified under secondary mass spectrometry information in the prefabricated grilled fish with different packaging. In this study, 47 differential metabolites were identified, including 10 fatty acids, 10 nucleotides, 9 amino acids, 7 organic acids and derivatives, 3 benzene and derivatives, 2 alcohol amines, and 6 unconfirmed metabolites, based on the variable importance projection value (VIP, VIP>1) and P<0.05 of the orthogonal partial least squares discriminant analysis model. Clustering heat map analysis of the relative content of 47 different metabolites was performed and the results showed differences in the relative content of metabolites in three types of packages. The relative contents of multiple flavor amino acids and adenosine monophosphate (AMP) were significantly higher in the modified atmosphere packaging than in the conventional vacuum package and tray package. The results revealed that modified atmosphere packaging effectively preserved the umami flavor of grilled fish, offering a basis for the development of novel and effective packaging for grilled fish.

收稿日期: 2023-10-23

基金项目: 重庆市教育委员会科学技术研究项目 (KJZD-K202203501)。

作者简介: 张艳 (1982-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 水产品贮藏加工, E-mail: wskzyan@163.com。

Key words: prefabricated grilled fish; non-targeted metabolomics; package; different metabolites

烤鱼营养丰富、风味鲜美,是重庆特色美食。在预制菜高速发展背景下,预制烤鱼因打破传统堂食烤鱼消费的时效性和地域性,成为烤鱼产业新的经济增长点^[1-3]。包装方式影响肉品品质和风味^[4]。目前,市售预制烤鱼主要以普通托盒和真空包装为主,烤鱼多种包装方式的研究有利于烤鱼产品多样化发展。

近年来,不同包装方式对肉制品保鲜和风味的影响研究较多^[5-6],据文献报道,水产及制品的包装方式主要有真空、充氮、气调包装等,用于冰鲜黄颡鱼^[7]、鲈鱼^[8]、油炸带鱼^[9]、脆肉皖鱼^[10]及牡蛎肉^[11]中,能有效减少脂质氧化,维持鱼肉鲜度及延缓风味劣变。Dang 等^[12]研究发现真空包装能更有效地抑制鲶鱼片的脂肪氧化,在减少腥味物质、保持鱼肉风味方面表现出了较大优势。气调包装结合低温处理方式可控制鱼肉不良风味产生,实现较好的水产品风味保持效果^[13-14]。风味是鱼肉重要的品质特征,鱼肉的风味包括气味和滋味,鱼肉中某些非挥发性物质如氨基酸类、核苷类、有机酸类、脂质类等物质除具有一定的营养功能外,同时是构成成熟肉特征风味与口感的前体物质,这类物质的代谢物决定着肉质的滋味,影响鱼肉品质^[15-16]。目前,预制烤鱼主要集中在单一真空包装方式下质构、水分分布及脂质氧化等品质方面^[17-18]及挥发性风味物质分析方面^[19-20]的研究,而针对不同包装方式预制烤鱼非挥发性化合物如脂肪酸、氨基酸、核苷酸等的代谢物研究鲜有报道。

非靶向代谢组学可分析鱼肉中蛋白质、脂质的代谢及风味变化情况,常用于食品研究中^[21-23]。目前,运用非靶向代谢组学探究预制烤鱼代谢产物组成的研究较少。本实验以托盒包装(tray packaging, TP)、真空包装(vacuum packaging, VP)和气调包装(modified atmosphere packaging, MAP)的预制烤鱼为研究对象,利用液相色谱-串联质谱技术,基于非靶向代谢组学分析不同包装方式下烤鱼非挥发性物质的代谢产物组成,通过主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squaresdiscriminant analysis, OPLS-DA)进行差异代谢物筛选,探究不同包装方式下烤鱼的代谢产物差异,以期为烤鱼包装多样化发展及品质评价提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

鲤鱼(*Cyprinus carpio*) 梁平养殖基地;食盐、料酒等香辛料 均购于重庆万州区家益超市;PA/EVOH/PE 盖膜 希悦尔(中国)有限公司;PP 包装托盒、PE 真空袋 福建元晟新材料科技有限公司;甲醇、乙腈、氯仿 色谱纯,北京迪科马科技有限公司;2-氯苯丙氨酸 色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;PTFE 滤膜(0.22 μm) 天津市津腾实验室设

备有限公司。

ACQUITY 型液相色谱仪(色谱柱: Waters, Milford, MA, USA) 美国 Waters 公司; Q-Exactive 型质谱仪 美国 Thermo 公司; YXD-90C 型电烤箱 广州市赛思达机械设备有限公司; MAP-430 型气调真空包装机 浙江瑞宝包装机械有限公司; H2050R 型冷冻离心机 湘仪仪器有限公司; SCRC MV54 型混匀仪 国药集团化学试剂有限公司; MB-96S 型组织研磨器 浙江美壁仪器有限公司; XZ-10DTD 型超声波清洗器 宁波新芝生物科技股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 烤鱼样品制备 鲜活鲤鱼(1~1.2 kg)宰杀、清洗,背部剖开,放入 6% 的食盐、少许料酒、老姜的腌制液中湿法腌制 20 min(鱼肉完全浸没于腌制液),50~60 °C 干燥 45 min 后,刷香油,250 °C 电烤箱中烤制 20 min^[20]。无菌冷却后,每个包装中随机放入 1 条烤鱼,分别进行气调包装(30% CO₂+70% N₂)、真空包装和托盒包装。样品于-2 °C 条件贮藏。30 d 后,每组样品分别于鱼体两侧的背部、腹部和尾部 3 个位置 6 个点取样,混匀。每组样品平行取样 3 份,液氮冷冻后贮存于-80 °C 冰箱中,待测。

1.2.2 样品制备 称量适量样品,加入 1 mL 提取液(9:1 甲醇-氯仿:H₂O=3:1),加入 3 颗钢珠后放入组织研磨器中研磨(50 Hz, 1 min),重复操作 2 次;超声(功率 200 W)30 min,冰上放置 30 min,离心 10 min(12000 r/min, 4 °C),取上清液浓缩干燥;准确加入 200 μL 2-氯苯丙氨酸(4 ng/mL)复溶样品,过膜,用于检测^[24]。

1.2.3 色谱条件 色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm);流速: 0.3 mL/min;柱温: 40 °C;进样量: 2 μL。正离子模式流动相: 0.1% 甲酸乙腈(B₁)和 0.1% 甲酸水(A₁);梯度洗脱程序: 0~1 min, 8% B₁; 1~8 min, 8%~98% B₁; 8~10 min, 98% B₁; 10~10.1 min, 98%~8% B₁; 10.1~12 min, 8% B₁。负离子模式流动相: 乙腈(B₂)和 5 mol/L 甲酸铵水(A₂),梯度洗脱程序: 0~1 min, 8% B₂; 1~8 min, 8%~98% B₂; 8~10 min, 98% B₂; 10~10.1 min, 98%~8% B₂; 10.1~12 min, 8% B₂^[25]。

1.2.4 质谱条件 使用电喷雾离子源(ESI),正负离子模式采集数据。正离子喷雾电压: 3.50 kV,负离子喷雾电压: -2.50 kV;鞘气 40 arb,辅助气 10 arb。毛细管温度: 325 °C。以分辨率 70000 进行一级全扫描扫描范围 100~1000,并采用 HCD 进行二级裂解,碰撞能量为 30 eV,二级分辨率为 17500,采集信号前 3 离子进行碎裂,同时采用动态排除无必要的 MS/MS 信息^[26]。

1.3 数据处理

采用 RXCMS(V3.12.0)软件包进行峰检测、过滤、对齐处理,得到代谢物定量列表,通过总峰面积归一化的方法进行数据矫正。通过诺米代谢自建数据库及公共数据库进行检索比对后定性。使用 SIMCA-P14.1 软件进行 PCA 和 OPLS-DA 分析,通过 VIP 值、 P 值进行差异物筛选。当 $VIP>1$ 和 $P<0.05$ 时,认为代谢物分子具有统计学显著差异。通过 Origin 绘图。

2 结果与分析

2.1 预制烤鱼代谢物的鉴定概况

对托盒、真空和气调包装的烤鱼样品中提取的代谢物进行鉴定,正负离子模式下,分别鉴定出 1566、1185 个代谢物。将定量列表中含有二级谱图的代谢物与数据库中每个二级谱图的碎片离子等信息进行比较、匹配,实现代谢物的二级定性鉴定。在二级质谱信息中,3 种包装的烤鱼共鉴定出 318 种代谢物。主要包括 69 种有机酸及衍生物、48 种氨基酸类及代谢物、35 种脂质及类脂质分子、33 种核苷酸及衍生物、26 种醇胺类、16 种有机氧化合物、11 种苯及衍生物、8 种生物碱及衍生物、4 种醛酮类化合物和 68 种其他物质。318 种代谢物的化学分类及数量占比如图 1 所示。由此得出,烤鱼中代谢物种类较多的物质为有机酸、氨基酸、脂质、核苷酸及衍生物类,这与 Li 等^[15]曾报道的热加工处理的罗非鱼肉中代谢物物质种类及数量占比的结果较为相似。鱼肉中氨基酸、脂质和核苷酸被认为是味觉相关化合物^[23],对烤鱼风味有重要影响。

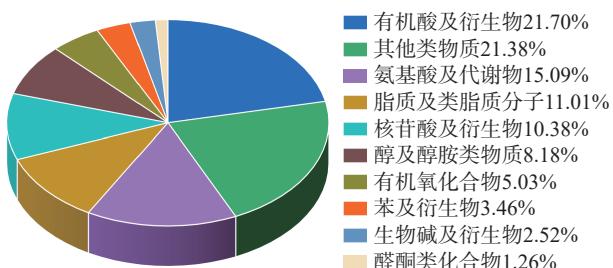


图 1 烤鱼中代谢物种类及数量占比

Fig.1 Types and quantity proportion of metabolites in grilled fish

2.2 不同包装预制烤鱼代谢产物的多元统计分析

2.2.1 主成分分析 PCA 可反映各组样品间的总体差异和组内样品间的变异程度^[27]。对不同包装方式预制烤鱼代谢物进行 PCA 分析,如图 2 所示。正离子和负离子模式下 PC1 和 PC2 累计贡献率分别为 71.1% 和 71.5%,能反映样品大部分信息。得分图中 3 组烤鱼样品代谢物分布在不同象限,可明显区分开,说明 3 种包装预制烤鱼代谢产物有一定差异。正负离子模式下,VP 组 3 个平行样代谢物较为聚集,而 TP 和 MAP 组的 3 个平行样有一定的离散性,这可能是因为组内样品间烤鱼个体差异导致。

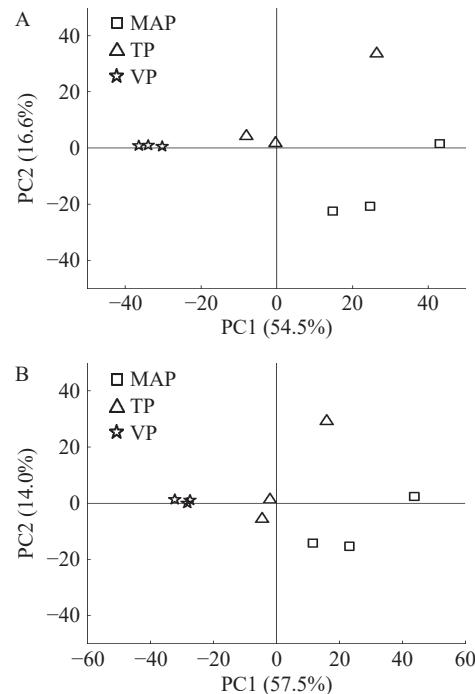


图 2 不同包装预制烤鱼代谢物的 PCA 得分图

Fig.2 PCA score plot of metabolites in prefabricated grilled fish with different packaging

注: A 正离子模式; B 负离子模式; MAP 为气调包装组; TP 为托盒包装组; VP 为真空包装组; 图 3 同。

2.2.2 OPLS-DA 分析 OPLS-DA 通过设置预设分类型变量来剔除未控制变量对数据造成的影响,能进一

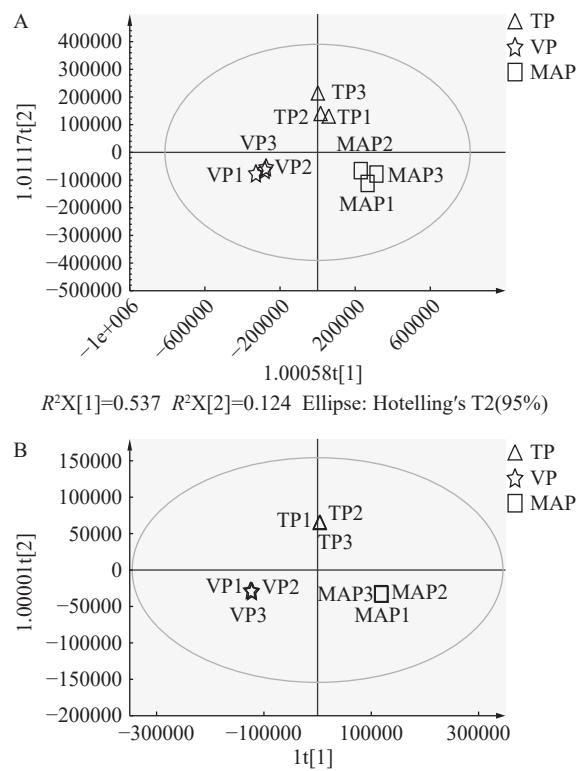


图 3 不同包装预制烤鱼代谢产物的 OPLS-DA 得分图

Fig.3 OPLS-DA score plots of metabolites in prefabricated grilled fish with different packaging

步量化各处理组间的差异程度, 是一种适用于建立物质表达量与样品类别间关系模型的有效判别分析方法^[28]。TP、VP 和 MAP 的烤鱼代谢物 OPLS-DA 得分图和置换检验图如图 3、图 4 所示。在图 3 中得出, 正负离子模式下, TP、VP 和 MAP 组均分布于不同象限, 3 种包装的烤鱼代谢物具有较好的聚类效果, 说明不同包装方式对预制烤鱼代谢物存在较大影响。

OPLS-DA 模型中 R^2Y 代表模型对变量 Y 的解释性, Q^2 代表模型的可预测性, R^2 和 Q^2 越接近 1, 且差值小(差值<0.3), 表明模型准确性好, 有较好的解释和预测能力。由图 4 可知, 正离子模式下, $R^2Y=0.968$ 、 $Q^2=0.804$, 负离子模式下 $R^2Y=1$ 、 $Q^2=0.938$, 说明模型可很好解释不同包装预制烤鱼的代谢物差异。为避免模型出现过度拟合, 对模型进行了 200 次置换检验, 正负离子模式下, 左边随机实验值 R^2 和 Q^2 均低于最右边的 R^2 和 Q^2 值, 即均小于原模型的真实值, 并且 R^2 总是大于 Q^2 , 说明原模型不存在过拟合现象, 能较好分析鱼肉的代谢物信息。

2.3 不同包装预制烤鱼差异代谢物筛选

基于 OPLS-DA 模型, 以 $VIP>1$ 、 $P<0.05$ 的代谢物作为 3 种包装烤鱼的差异代谢物, 结果见表 1。由表 1 可知, 共筛选出 47 种差异代谢物, 分别为脂肪酸类代谢物 10 种, 核苷酸类代谢物 10 种, 氨基酸类代谢物 9 种, 有机酸及衍生物类 7 种, 苯及衍生物类 3 种, 醇胺类 2 种, 其他类 6 种。脂肪酸类代谢物主要由脂肪降解和氧化产生, 对鱼肉风味有重要影响。3 种不同包装烤鱼样品中, 硬脂酸、棕榈酸等饱和脂肪酸, 亚油酸、9-十四烯酸等不饱和脂肪酸等物质在 3 个样品中差异显著($P<0.05$), 可能与包装方式影响鱼肉脂质水解及氧化程度不同有关; 氨基酸具有呈味

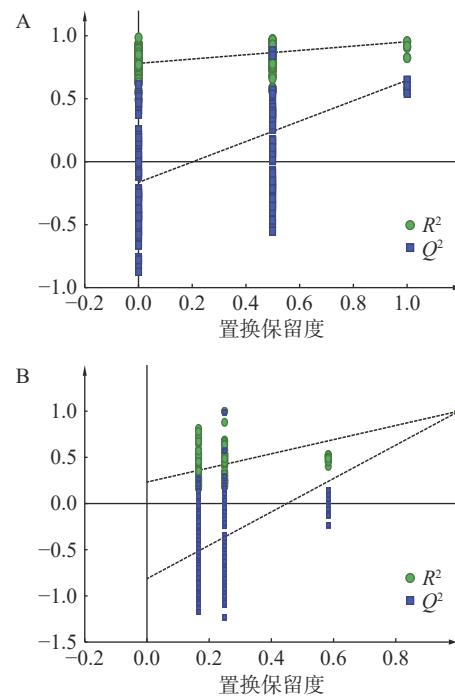


图 4 不同包装预制烤鱼代谢产物的置换检验图

Fig.4 Permutation test plots of metabolites in prefabricated grilled fish with different packaging

注: A 正离子模式; B 负离子模式。

特性, 如 L-谷氨酸、氨甲酰天冬氨酸呈鲜味, L-苏氨酸为甜味, L-酪氨酸、组氨酸呈苦味, 这些氨基酸对烤鱼滋味形成有重要贡献作用^[29]; 核苷酸类代谢物参与滋味物质形成及脂质降解, 且 AMP、鸟苷酸等为呈味核苷酸, 能与谷氨酸等物质有协同增鲜作用, 对烤鱼风味有促进作用; 有机酸类具有呈香作用, 部分有机酸因肉质变质而成。脂肪酸、氨基酸、核苷酸及有机酸类代谢物均与鱼肉的滋味密切相关^[30-31]。

表 1 不同包装预制烤鱼的差异代谢物

Table 1 Differential metabolites of prefabricated grilled fish with different packaging

序号	ID	差异代谢物	类别	质荷比(mz)	保留时间(s)	P值	VIP值	离子模式
1	M137T571	L-苏氨酸	氨基酸类	137.047	571.000	0.018	1.693	正
2	M141T177	组氨酸	氨基酸类	141.092	176.800	0.010	1.186	正
3	M148T68_2	L-谷氨酸	氨基酸类	148.061	68.100	0.024	1.628	正
4	M195T422	3-甲基-L-酪氨酸	氨基酸类	195.102	422.400	0.046	1.423	正
5	M198T53	N-乙酰-组氨酸	氨基酸类	198.088	52.900	0.004	1.780	正
6	M162T156	L-酪氨酸	氨基酸类	162.054	156.400	0.003	1.233	负
7	M285T188	N-乙酰天冬氨酰谷氨酸	氨基酸类	285.078	188.000	0.025	1.283	负
8	M177T42	氨甲酰天冬氨酸	氨基酸类	177.052	42.500	0.040	1.543	正
9	M159T107	二氨基甲酰胺	氨基酸类	159.056	106.800	0.042	1.529	正
10	M209T509	9-十四烯酸	脂肪酸类	209.191	508.600	0.035	1.615	正
11	M263T486	硬脂酸	脂肪酸类	263.238	486.300	0.000	1.764	正
12	M284T644	硬脂酰胺	脂肪酸类	284.294	644.200	0.036	1.394	正
13	M297T494	α -二吗啉酸	脂肪酸类	297.244	493.700	0.006	1.623	正
14	M263T526	亚油酸	脂肪酸类	263.238	525.600	0.010	1.697	正
15	M338T550	芥酸	脂肪酸类	338.342	550.300	0.033	1.265	正
16	M280T430	3-酮鞘氨醇	脂肪酸类	280.265	430.000	0.020	1.677	正
17	M284T664	鞘氨醇	脂肪酸类	284.295	663.800	0.012	1.667	正
18	M255T638	棕榈酸	脂肪酸类	255.231	637.600	0.031	1.446	负

续表 1

序号	ID	差异代谢物	类别	质荷比(mz)	保留时间(s)	P值	VIP值	离子模式
19	M369T608	胆固醇	脂肪酸类	369.349	608.200	0.009	1.678	正
20	M269T63	肌苷	核苷酸类	269.088	62.800	0.036	1.245	正
21	M243T62	尿苷	核苷酸类	243.059	62.500	0.029	1.272	负
22	M112T37	尿嘧啶	核苷酸类	112.018	36.900	0.001	1.871	正
23	M268T60	腺苷	核苷酸类	268.105	60.500	0.035	1.544	正
24	M330T331	腺苷酸	核苷酸类	330.219	330.700	0.001	1.421	正
25	M364T571	鸟苷酸	核苷酸类	364.343	570.800	0.000	1.560	正
26	M229T45	α -D-核糖核酸	核苷酸类	229.010	45.300	0.032	1.123	负
27	M134T191	腺嘌呤	核苷酸类	134.046	191.100	0.039	1.054	负
28	M137T353	次黄嘌呤	核苷酸类	137.047	352.80	0.046	1.573	正
29	M153T60	黄嘌呤	核苷酸类	153.041	59.80	0.002	1.813	正
30	M135T348	对烯丙基苯酚	苯及衍生物类	135.081	347.500	0.024	1.219	正
31	M136T641_2	4-甲氧基苯甲醛	苯及衍生物类	136.049	640.600	0.028	1.428	正
32	M154T51	3-羟基-2氨基-苯甲酸	苯及衍生物类	154.059	51.100	0.034	1.256	正
33	M133T54	苹果酸	有机酸类	133.049	53.5	0.0018	1.813	正
34	M191T38	柠檬酸	有机酸类	190.926	37.700	0.002	1.807	负
35	M137T51	尿刊酸	有机酸类	137.034	50.700	0.022	1.583	负
36	M173T240	喹啉-4-羧酸	有机酸类	173.116	240.300	0.030	1.554	负
37	M215T671	12-羟基十二烷酸	有机酸类	215.008	671.000	0.014	1.704	负
38	M146T688_2	(S)-2-氨基-6-氧代己酸	有机酸类	146.081	688.200	0.000	1.672	正
39	M148T70	2-羟基戊二酸	有机酸类	148.043	70.200	0.004	1.189	正
40	M182T45	半乳糖醇	醇类	182.093	45.300	0.021	1.431	正
41	M226T312	胆色素原	胺类	226.181	312.400	0.032	1.655	正
42	M116T147	谷氨酸半醛	其他类	116.048	147.200	0.043	1.309	负
43	M111T126	(1H)-咪唑-4-乙醛	其他类	111.056	126.200	0.000	1.586	正
44	M118T327	吲哚	其他类	118.066	326.900	0.010	1.035	正
45	M179T50	D-甘露糖	其他类	179.054	50.100	0.036	1.772	负
46	M104T50	胆碱	其他类	104.108	50.100	0.007	1.480	正
47	M172T501	1-(氨甲基)环己烷乙酸盐酸盐	其他类	172.134	501.200	0.047	1.491	正

2.4 预制烤鱼差异代谢物的热图分析

对上述 47 种差异代谢物定量矩阵数据进行数据标准化, 进行差异代谢物聚类, 绘制聚类热图。如图 5 所示, 红色越深代表该代谢物相对含量越高, 蓝色越深代表该代谢物相对含量越低。MAP 组烤鱼中有 8 种代谢物相对含量较高, 分别为 5 种氨基酸类、2 种核苷酸类和 1 种其他类小分子物质。氨基酸类代谢物主要是蛋白质降解生成, 具有一定营养价值, 也是鱼肉重要的滋味物质和香味前体物质^[28]。MAP 组中相对含量较高的氨基酸分别为 L-苏氨酸、L-组氨酸、L-酪氨酸、3-甲基-L-酪氨酸和 N-乙酰-组氨酸。这 5 种氨基酸在 3 组样品中的相对含量存在差异, 可能是因为 3 种包装烤鱼的氨基酸代谢程度不同导致。据报道, 气调包装能有效抑制肉制品中优势腐败菌的生长, 改变肉品菌群结构, 从而降低氨基酸代谢速率, 因而表现为氨基酸相对含量较高^[10,32]。MAP 组中相对含量较高的核苷酸类代谢物为单磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)和肌苷。其中, AMP 是重要的呈味核苷酸, 是衡量肉品鲜味物质指标肌苷酸(IMP)的前体物质, 由鱼肉中三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)在酶的催化下降解而成。据报道, AMP 对鱼肉风味有增强作用, 可抑制水

产品的苦味, 从而对提高肉品滋味有重要作用^[15]。AMP 在脱胺酶作用下, 生成肌苷酸(inosinemonophosphate, IMP)、肌苷等下游物质, 肌苷具有苦味, 对鱼肉风味亦有重要影响。AMP、肌苷在 3 组烤鱼样品中的相对含量存在差异, 可能与核苷酸代谢程度有关。综上所述, MAP 组样品中, 多种呈味氨基酸及鲜味核苷酸 AMP 相对含量较高, 说明 MAP 对烤鱼鲜味的保持有积极作用。

VP 组烤鱼中有 8 种代谢物相对含量高, 分别为 4 种脂肪酸类, 2 种氨基酸类和 2 种核苷酸类。脂肪酸氧化形成的醛、酮类物质是形成鱼肉风味的主要挥发成分^[19], 因此脂肪酸也是烤鱼风味的前体物质。VP 组中硬脂酸、9-十四烯酸、亚油酸和棕榈酸 4 种游离脂肪酸相对含量最高, 这可能与 VP 组烤鱼包装内部缺氧, 脂肪氧化程度减缓有关^[12]。其次, VP 组中 N-乙酰天冬氨酰谷氨酸、L-谷氨酸相对含量高, 对烤鱼鲜味有重要贡献作用。核苷酸代谢物中, 尿苷和鸟苷酸(guanylate, GMP)相对含量较高, 尿苷是构成动物细胞核酸的有关成分, 是尿嘧啶前体物质。GMP 有特殊的香菇鲜味, 是重要的呈味核苷酸^[33]。

TP 组烤鱼的差异代谢物较多, 其含量较高的代谢物主要有核苷酸类、有机酸类及醛类等小分子物

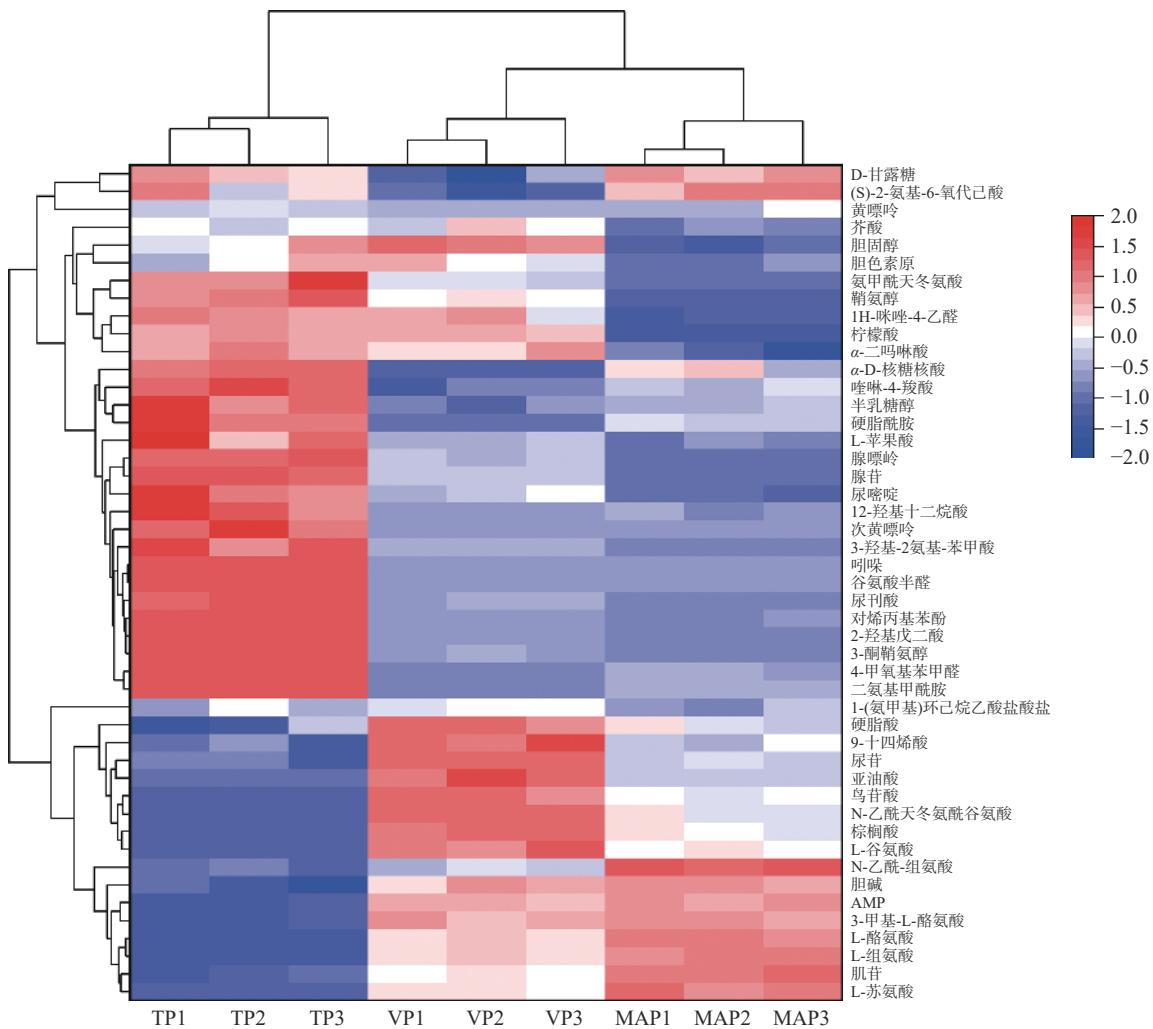


图 5 不同包装预制烤鱼差异代谢物的聚类热图

Fig.5 Heat map of different metabolites in prefabricated grilled fish with different packaging

注: MAP 为气调包装组; TP 为托盒包装组; VP 为真空包装组。

质。核苷酸类代谢物主要有腺苷、腺嘌呤、次黄嘌呤和尿嘧啶,此类代谢物均为 AMP 降解的下游物质,其含量较高,这可能是因为 TP 组烤鱼核苷酸代谢进程较快,AMP 脱氨降解生成下游产物,表现为 AMP 相对含量降低,降解产物增加。相较于 VP 和 MAP 组,TP 组烤鱼的鲜味物质指标 AMP、IMP 相对含量低,鲜味和新鲜度下降。有机酸类代谢物中主要有尿刊酸、脲基琥珀酸、喹啉-4-羧酸、2-羟基戊二酸和 α -二吗啉酸等,因为 TP 组中氧气含量高,微生物增长速度快,导致鱼肉产生酸性代谢产物,这与温冬玲^[34]报道的鸡肉贮藏中有机酸类物质随微生物活动增加而含量增高的结果相似。TP 组烤鱼中鞘氨醇、3-酮鞘氨醇、硬脂酰胺、谷氨酸半醛、1H-咪唑-4-乙醛相对含量高于 VP 和 MAP 组,可能是因为 TP 组烤鱼因包装内的氧气,加快烤鱼中蛋白质和脂质氧化进程,产生胺类、酸类和醛类等物质,而这些物质的积累,可能导致鱼肉风味劣变^[35]。此外,TP 组烤鱼中吲哚含量明显高于 VP 和 MAP 组,吲哚主要为氨基酸代谢的低级产物,产生腐败的臭味。

综上所述,3 种不同包装烤鱼的差异代谢物相对

含量存在差异。MAP 组中相对含量较高的差异代谢物主要为游离氨基酸、AMP 和肌苷;VP 组的差异代谢物主要为游离脂肪酸;TP 组烤鱼脂质氧化、氨基酸代谢及核苷酸代谢程度高,反映出脂质氧化产物如醛类、氨基酸代谢产物如吲哚及核苷酸代谢产物嘌呤等物质相对含量高。因此,3 种包装烤鱼中,MAP 能较好保持烤鱼鲜味物质,VP 减少了脂质氧化程度,VP 和 MAP 组烤鱼在指示鲜味的代谢物指标上优于 TP 组。

3 结论

采用非靶向代谢组学研究不同包装预制烤鱼的非挥发性物质的代谢物情况。通过多元统计分析,3 种包装方式烤鱼的代谢物具有较大差异,共筛选出 47 种差异代谢物,主要有脂肪酸类代谢物 10 种,核苷酸类代谢物 10 种,氨基酸类代谢物 9 种,有机酸及衍生物类 7 种,醇胺类 2 种,苯及衍生物类 3 种,其他类 6 种。聚类热图分析发现,MAP 组烤鱼相对含量较高的代谢物主要为游离氨基酸、鲜味核苷酸 AMP 和肌苷;VP 组含量较高的差异代谢物主要为游离脂肪酸;TP 组与 MAP、VP 组烤鱼相比,氨

基酸、脂肪酸和核苷酸代谢程度高, 主要表现为其代谢的下游产物含量高。由此得出, 相较于传统的烤鱼包装方式, MAP 能较好保持烤鱼的鲜味物质。

风味影响预制烤鱼的品质。目前, 预制烤鱼的研究主要集中在真空包装下不同原料、不同热制工艺烤鱼的挥发性风味成分等方面, 本研究以预制烤鱼的不同包装方式为切入点, 进行非挥发性物质代谢物的差异分析, 明确了不同包装预制烤鱼的差异代谢物情况, 为预制烤鱼风味的研究提供理论依据, 并为拓展预制烤鱼包装多样化发展提供数据支撑。后期工作将结合不同包装方式下烤鱼贮藏过程中理化、感官、安全等品质指标进行综合分析, 为预制烤鱼包装优化提供指导依据。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] 王宁. 预制菜产业能否突出重围[N]. 中国食品报, 2022-03-23(7). [WANG N. Can the prefabricated food industry break through the tight encirclement[N]. China Food News, 2022-03-23(7).]
- [2] 王娟, 高群玉, 娄文勇. 我国预制菜行业的发展现状及趋势[J]. 现代食品科技, 2023, 39(2): 99–103. [WANG J, GAO Q Y, LOU W Y. Development status and trends of the pre-prepared food industry in China[J]. Modern Food Science & Technology, 2023, 39(2): 99–103.]
- [3] 黄卉, 陈胜军, 赵永强, 等. 水产品预制菜加工与质量安全控制技术研究进展[J]. 南方水产科学, 2022, 18(6): 152–160. [HUANG H, CHEN S J, ZHAO Y Q, et al. Research advances on processing and quality safety control technology of aquatic pre-made products[J]. South China Fisheries Science, 2022, 18(6): 152–160.]
- [4] 张智宏, 杨逸凡, 韩新阳, 等. 预制菜包装技术的研究进展[J]. 包装工程, 2023, 44(9): 1–9. [ZHANG Z H, YANG Y F, HAN X Y, et al. Research progress on packaging technology of prepared food[J]. Packaging Engineering, 2023, 44(9): 1–9.]
- [5] HANANI Z, REICH F, TOLKSDORF T, et al. Monitoring the effect of active packaging films with silver-kaolinite using different packaging systems on the quality of beef meat[J]. *Helijon*, 2022, 8(10): 11019.
- [6] MAO Y W, YANG S, ZHANG Y M, et al. High-pressure processing and modified atmosphere packaging combinations for the improvement of dark, firm, and dry beef quality and shelf-life[J]. Meat Science, 2023, 198: 109113.
- [7] 王菊元, 张毅, 刘婷婷, 等. 充氮包装对冷藏过程中黄颡鱼鲜度、微生物菌群及挥发性风味物质的影响[J/OL]. 食品科学: 1–16 [2024-02-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230620.1719.006.html>. [WANG J Y, ZHANG Y, LIU T T, et al. Effects of nitrogen gas packaging on freshness, microbial flora and volatile flavor compounds of *Pelteobagrus fulvidraco* during cold storage [J/OL]. Food Science: 1–16 [2024-02-26]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20230620.1719.006.html>.]
- [8] 邱文兴, 谌玲薇, 杜柳, 等. 真空包装对鲈鱼冰鲜贮藏品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(17): 5570–5577. [QIU W X, SHEN L W, DU L, et al. Effects of vacuum packing on storage quality of chiled *Micropterus salmoides*[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(17): 5570–5577.]
- [9] 傅宝尚, 王源渊, 林子宸, 等. 包装方式对即食真空油炸带鱼贮藏品质的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(16): 264–269. [FU B S, WANG Y Y, LIN Z C, et al. Effect of packaging method on the storage quality of instant vacuum-fried hairtail[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(16): 264–269.]
- [10] 林婉玲, 丁莫, 王锦旭, 等. 包装方式和材料对调理脆肉鲩鱼片冷藏过程品质的影响[J]. 农业工程学报, 2018, 34(2): 284–291. [LIN W L, DING M, WANG J X, et al. Effects of packaging methods and materials on quality of prepared crisp grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V) fillets during cold storage[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2018, 34(2): 284–291.]
- [11] TAGRIDA M, BENJAKUL S, ZHANG B. Use of betel leaf (*Piper betle* L.) ethanolic extract in combination with modified atmospheric packaging and nonthermal plasma for shelf-life extension of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets[J]. Journal of Food Science, 2021, 86(12): 5226–5239.
- [12] DANG H T T, GUDJÓNSDÓTTIR M, TÓMASSON T, et al. Influence of processing additives, packaging and storage conditions on the physicochemical stability of frozen Tra catfish (*Pangasius hypophthalmus*) fillets[J]. *Journal of Food Engineering*, 2018, 238: 148–155.
- [13] OLATUNDE O O, BENJAKUL S, VONGKAMJAN K. Shelf life of refrigerated Asian sea bass slices treated with cold plasma as affected by gas composition in packaging[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 324: 108612.
- [14] WU T L, WANG M Q, WANG P, et al. Advances in the formation and control methods of undesirable flavors in fish[J]. *Foods*, 2022, 11(16): 2504.
- [15] LI R, SUN Z L, ZHAO Y Q, et al. Application of UHPLC-Q-TOF-MS/MS metabolomics approach to investigate the taste and nutrition changes in tilapia fillets treated with different thermal processing methods[J]. *Food Chemistry*, 2021, 356(15): 129737.
- [16] XU N, ZENG X, LI L, et al. Effects of post-mortem aging process on characteristic water-soluble tast-active precursors in yellow-feathered broilers[J]. *Food Science and Human Wellness*, 2023, 12(1): 242–253.
- [17] 王朝阳, 丁若松, 傅宝尚, 等. 预制黑鱼产品开发及其工艺研究[J]. 中国调味品, 2023, 48(7): 117–122. [WANG C Y, DING R S, FU B S, et al. Study on the development and process of prepared snakehead products[J]. China Condiment, 2023, 48(7): 117–122.]
- [18] 张艳, 王圣开, 聂青玉, 等. 不同原料预制烤鱼的营养成分及质构特性分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 233–241. [ZHANG Y, WANG S K, NIE Q Y, et al. Analysis on the nutritional components and texture characteristics of prefabricated grilled fish with different fish species[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(22): 233–241.]
- [19] 王源渊, 尚珊, 丁若松, 等. 不同复热方式对预制烤鱼品质的影响[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(1): 248–255. [[WANG Y Y, SHANG S, DING R S, et al. Effects of different reheating methods on the quality of pre-roasted fish[J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(1): 248–255.]
- [20] 张艳, 王圣开, 付勋, 等. 预制烤鱼水分分布及关键挥发性风味物质分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(2): 75–83. [ZHANG Y,

- WANG S K, FU X, et al. Analysis of moisture distribution and key volatile flavor compounds in prepared grilled fish[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(2): 75–83.]
- [21] CHU Y M, MEI J, XIE J. Integrated volatile compounds and non-targeted metabolomics analysis reveal the characteristic flavor formation of proteins in grouper (*Epinephelus coioides*) during cold storage[J]. *Food Research International*, 2023, 172(10): 113145.
- [22] YIN M Y, CHEN M, MATSUOKA R, et al. UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS based untargeted lipidomics reveals fatty acids and lipids profiles in different parts of capelin (*Mallotus villosus*)[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2023, 116(3): 105696 .
- [23] CHEN Q, XIANG H, ZHAO Y Q, et al. Cooperative combination of non-targeted metabolomics and targeted taste analysis for elucidating the taste metabolite profile and pathways of traditional fermented golden pompano[J]. *Food Research International*, 2023, 169(7): 112865–112865.
- [24] WARREN C R, O'SULLIVAN J F, FRIESEN M, et al. Induced pluripotent stem cell differentiation enables functional validation of GWAS variants in metabolic disease[J]. *Cell Stem Cell*, 2017, 20(4): 547–557.
- [25] ZWLWNA E, DUNN W B, BROADHURST D, et al. Development of a robust and repeatable UPLC-MS method for the long-term metabolomic study of human serum[J]. *Analytical Chemistry*, 2009, 81(4): 1357–1364.
- [26] WANT E J, MASSON P, MICHOPoulos F, et al. Global metabolic profiling of animal and human tissues via UPLC-MS[J]. *Nature Protocols*, 2013, 8(1): 17–32.
- [27] 张蓝月, 孙万成, 罗毅皓. 基于非靶向代谢组学分析不同地区羊肉代谢物差异[J]. *现代食品科技*, 2023, 39(7): 91–101.
- [28] CHUNG I M, KIM J K, HAN J G, et al. Potential geo-discriminative tools to trace the origins of the dried slices of shiitake (*Lentinula edodes*) using stable isotope ratios and OPLS-DA[J]. *Food Chemistry*, 2019, 295: 505–513.
- [29] 赵洪雷, 冯媛, 徐永霞, 等. 海鲈鱼肉蒸制过程中品质及风味特性的变化[J]. *食品科学*, 2021, 42(20): 145–151. [ZHAO H L, FENG Y, XU Y X, et al. Changes in quality and flavor characteristics of sea bass muscle during steaming[J]. *Food Science*, 2021, 42 (20): 145–151.]
- [30] D'ESTE M, ALVARADO-MORALES M, ANGELIDAKI I. Amino acids production focusing on fermentation technologies: A review[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(1): 14–25.
- [31] 刘梦, 张顺亮, 臧明伍, 等. 基于非靶向代谢组学分析牛肉干法成熟过程代谢产物的变化[J]. *食品科学*, 2023, 44(10): 249–256. [LIU M, ZHANG S L, ZANG M W, et al. Non-targeted metabolomics analysis of metabolite changes in beef during dry aging[J]. *Food Science*, 2023, 44(10): 249–256.]
- [32] 麦栩滔, 王文卓, 郑宇航, 等. 不同包装方式对冷鲜鸡肉微生物菌群多样性的影响[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(13): 367–374.
- [33] MAI X T, WANG W Z, ZHENG Y H, et al. Effects of different packaging methods on the microbial diversity in chilled chicken[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(13): 367–374.]
- [34] 李彪, 吴信, 张彬, 等. 尿苷酸的营养代谢与生理功能研究进展[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(6): 2487–2493. [LI B, WU X, ZHANG B, et al. Research progresses on nutrition metabolism and physiological function of uridine monophosphate[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(6): 2487–2493.]
- [35] 温冬玲. 基于宏基因组学与代谢组学的冷鲜鸡肉贮藏品质研究[D]. 广州: 仲恺农业工程学院, 2017. [WEN D L. Study of the quality of chilled chicken during storage based on metagenomics and metabolomics approach[D]. Guangzhou: Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2017.]
- [36] 赵茜, 陈剑, 李欢, 等. 预制水产品风味劣变机制及其调控方式研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(17): 162–168. [ZHAO X, CHEN J, LI H, et al. Research progress on the mechanism and regulation methods of flavor deterioration in prepared aquatic products[J]. *Food Science*, 2023, 44(17): 162–168.]