

非靶向代谢组学分析发酵谷物饮料中的小分子物质变化

赵昕琪, 张妍, 王天琪, 王成, 张莉力, 许云贺*

(锦州医科大学食品科学与工程学院, 辽宁锦州 121000)

摘要: 该研究以小米、糯米等谷物作为主要原料, 利用从自然发酵的甘薯酸浆和豆腐酸浆中筛选得到的两株益生菌 *Lactobacillus paracasei* L1 和 *Lactobacillus casei* YQ336 作为发酵菌种, 采用非靶向代谢组学技术, 对谷物饮料在发酵前后的小分子物质进行差异性分析。通过主成分分析和正交偏最小二乘判别分析等方法发现, 发酵前后饮料中显著变化 (VIP>1 且 $p<0.05$) 的差异代谢产物为 25 类 145 种, 主要包括 34 种有机酸及其衍生物、21 种黄酮类化合物、20 种糖类及其衍生物、16 种生物碱、10 种核苷酸及其衍生物、10 种氨基酸及其衍生物。其中发酵后含量显著提高的生物活性物质包括: 提高 36668 倍的 1-羟基-2-萘甲酸、1000 倍的二氢白藜芦醇、800 倍的 2-羟基戊酸、517 倍的大豆苷、488 倍的牡荆素、238 倍的芹菜素、148 倍的异芥酸、130 倍的染料木素等; 通过 KEGG 代谢通路分析表明, 差异显著的代谢通路有 19 条, 推测谷物基质可能对 *L. paracasei* L1 和 *L. casei* YQ336 次级代谢的合成和积累具有一定影响, 该研究将为利用乳酸菌发酵植物基质食品及其对植物基质的代谢机理研究奠定理论基础。

关键词: *L. paracasei* L1; *L. casei* YQ336; 谷物饮料; 非靶向代谢组

文章编号: 1673-9078(2021)10-96-102

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0192

Non Targeted Metabonomics Analysis of Small Molecular Substances in Fermented Cereal Drinks

ZHAO Xin-qi, ZHANG Yan, WANG Tian-qi, WANG Cheng, ZHANG Li-li, XU Yun-he*

(School of Food Science and Engineering, Jinzhou Medical University, Jinzhou 121000, China)

Abstract: Millet, glutinous rice and other cereals were used as main raw materials. Two probiotics, *L. paracasei* L1 and *L. casei* YQ336, isolated from naturally fermented sweet potato sour liquid and tofu sour liquid were used as fermentation bacteria. Non targeted metabonomics technology was used to analyze the differences of small molecular substances in cereal drinks before and after fermentation. Through principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA), it was found that there were 25 categories and 145 differential metabolites with significant changes (VIP>1 and $p<0.05$) in beverages before and after fermentation, mainly including 34 organic acids and their derivatives, 21 flavonoids, 20 sugars and their derivatives, 16 alkaloids, 10 nucleotides and their derivatives 10 amino acids and their derivatives. The bioactive substances with significantly increased content after fermentation include 36668 times of 1-hydroxy-2-naphthoic acid, 1000 times of dihydroresveratrol, 800 times of 2-hydroxyvaleric acid, 517 times of daidzein, 488 times of vitexin, 238 times of apigenin, 148 times of isoerucic acid, 130 times of genistein, etc. The analysis of KEGG metabolic pathway showed that there were 19 metabolic pathways with significant differences. It is speculated that grain substrate may have certain effects on the synthesis and accumulation of secondary metabolism of *L. paracasei* L1 and *L. casei* YQ336. This study will lay a theoretical foundation for the fermentation of plant matrix food by lactic acid bacteria and the metabolic mechanism of plant matrix.

引文格式:

赵昕琪,张妍,王天琪,等.非靶向代谢组学分析发酵谷物饮料中的小分子物质变化[J].现代食品科技,2021,37(10):96-102,+18

ZHAO Xin-qi, ZHANG Yan, WANG Tian-qi, et al. Non targeted metabonomics analysis of small molecular substances in fermented cereal drinks [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 96-102, +18

收稿日期: 2021-02-24

基金项目: 辽宁省高等学校创新人才支持计划 (2020); 辽宁省自然科学基金项目 (2019-ZD-0600)

作者简介: 赵昕琪 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 粮食油脂及植物蛋白工程, E-mail: 1335727092@qq.com

通讯作者: 许云贺 (1978-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: sn_97@126.com

Key words: *L. paracasei* L1; *L. casei* YQ336; cereal beverage; non targeted metabolomics

随着消费者健康意识的不断提高,发酵产品和谷类食品消费量渐增。作为植物基质,谷类产品适合乳糖不耐症、牛奶过敏和遵循低脂肪或素食饮食模式的人群。谷类也被认为是新型益生菌载体和潜在的功能性食品^[1]。“谷物类饮料”是以谷物为主要原料,经加工调配制成的饮料,可添加果蔬汁、植物提取物等食品辅料^[2]。归属于植物类饮料。谷物饮料又根据生产工艺中是否有发酵过程,分为谷物发酵型饮料和谷物非发酵型饮料两类^[3]。

代谢组学(Metabonomics/Metabolomics)是一门对某一生物或生物系统内所有代谢物进行定性和定量分析的学科^[4]。其中非靶向代谢组学是无针对性的尽可能多的分析样品中的代谢产物。大多数研究对象是相对分子量小于1000的微小代谢分子^[5]。近年来,代谢组学在微生物学^[6]、食品^[7]等方面广泛应用。其中色谱-质谱联用技术(LC-MS)以高特异性和高灵敏度等优点^[8],广泛应用于微生物代谢组学分析中。

市面益生菌饮料种类较多,但可直接利用生淀粉的益生菌尚未被开发。*L. paracasei* L1和*L. casei* YQ336是分别从自然发酵的甘薯酸浆和豆腐酸浆中筛选得到的两株益生菌^[9,10],不但可以改善肠道菌群,而且可以直接利用生淀粉进行代谢。同时以L1和YQ336为发酵菌种的谷物饮料,发酵后有机酸,黄酮等活性物质显著提高。无论是从两株益生菌还是二者产生的次级代谢物都可以起到有利于身体健康的作用。因此本研究选用色谱-质谱联用技术的非靶向代谢组学,结合主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)、正交偏最小二乘判别(Orthogonal Partial Least Squares Discrimination Analysis, OPLS-DA)等方法,检测了以L1和YQ336为发酵菌种的小米谷物饮料中小分子物质含量的变化。为利用乳酸菌发酵植物基质食品及其对植物基质的代谢机理研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料与试剂

以小米、糯米、大枣、枸杞、山药、栀子和桂花为原料。以*L. paracasei* L1和*L. casei* YQ336为发酵剂,锦州医科大学食品微生物实验室保存。

加工工艺:

浸泡24 h→煮制1 h→打浆(中档30 s)→过滤(八层纱

布)→杀菌(95 °C, 15 min)→接菌(*L. paracasei* L1和*L. casei* YQ336)→发酵(35 °C, 24 h)

试剂:乙腈、乙酸铵、甲醇、氨水,均为色谱纯。

1.1.2 仪器与设备

Triple TOF 5600+质谱仪, AB SCIEX 安捷伦 1290 Infinity LC 超高压液相色谱仪。

色谱柱: Waters, ACQUITY UPLC BEH Amide。

1.2 方法

1.2.1 样品的制备

本研究使用的样本为发酵24 h后的谷物饮料A组和杀菌处理后的谷物饮料B组。每组6个生物学重复组。将样品储存在-80 °C的冰箱中,直至提取代谢物。

1.2.2 样本的代谢物提取

代谢物的提取按照杨秀娟的方法^[11]进行了一些修改。将样品冷却干燥后加入甲醇与乙腈1:1混合的溶液,混合均匀,-20 °C下沉降蛋白。16000 g 4 °C离心20 min后在高速真空浓缩离心机挥干。在4 °C下将样品用1:1的乙腈-水溶液复溶,离心后取上清进行分析。

1.2.3 代谢组学分析

采用超高压液相色谱法(UHPLC)进行色谱评价,样品在Waters公司的ACQUITY UPLC BEH Amide色谱柱上进行色谱分离,使用二元流动相进行梯度洗脱,其中流动相A为水+25 mmol/L乙酸铵+25 mmol/L氨水,B为乙腈。柱温:25 °C。洗脱程序:0~0.5 min,5% A;0.5~7 min,A从5%线性变化至35%;7~9 min,A从35%线性变化至60%;9~10 min,A维持在60%;10~11.1 min,A从60%线性变化至5%;11.1~16 min,A维持在5%。流速:0.3 mL/min。为平衡色谱-质谱系统及仪器稳定性的测试,本实验将质量控制(Quality control, QC)样本插入样品队列,以保证实验数据可靠。质谱(MS)是使用Triple TOF 5600+质谱仪(AB SCIEX)进行的,该系统配备有电喷雾电离(Electrospray Ionization, ESI)源,在正离子(ESI+)和负离子(ESI-)模式下工作。ESI源条件如下:离子源气体1,60 psi;离子源气体2,60 psi;Curtain gas(CUR),30 psi;源温度600 °C;TOF MS扫描 m/z 范围:60~1200 u;产物离子扫描 m/z 范围:25~1000 u;TOF MS扫描累积时间0.15 s/光谱;产物离子扫描累积时间0.03 s/光谱。二级质谱采用information dependent acquisition (IDA)获得,并且采用high sensitivity模式,Declustering potential (DP): ±60 V

(正负两种模式), Collision Energy: 30 eV, IDA 设置如下 Exclude isotopes within 4 u, Candidate ions to monitor per cycle:6^[12]。

1.2.4 数据分析

将通过色谱-质谱联用技术分析得到的原始数据采用 MSDIAL 软件进行处理, 检索 HMDB、MassBank 等公共数据库。对提取得到的数据, 删除组内缺失值 >50% 的离子峰^[13], 整合正负离子峰并应用软件 SIMCA-P 14.1 (Umetrics, Umea, Sweden) 进行模式识别。数据经 Pareto scaling 预处理后, 进行多变量数据分析^[14], 包括主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA)。使用变量权重值 (Variable Importance for the Projection, VIP)^[15]和 p 值来筛选发酵前后饮料之间存在的显著差异的代谢物。对显著差异代谢物进行 KEGG ID Mapping, 并提交至 KEGG 网站进行相关途径分析^[16]。将比较组得到的显著性差异代谢物进行 KEGG 代谢通路富集分析。代谢组学数据由上海拜谱公司进行分析。

2 结果与分析

2.1 样本分析

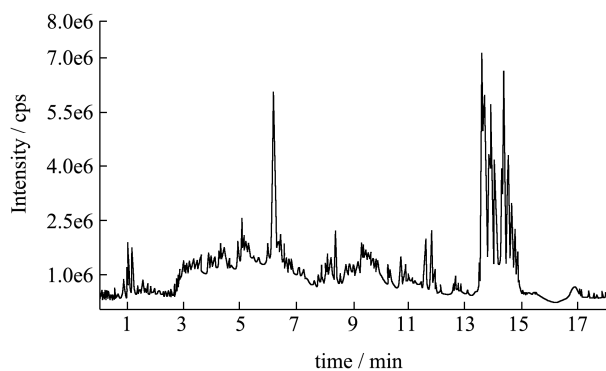


图 1 QC 样品总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of QC sample

注: 上: 正离子模式; 下: 负离子模式。

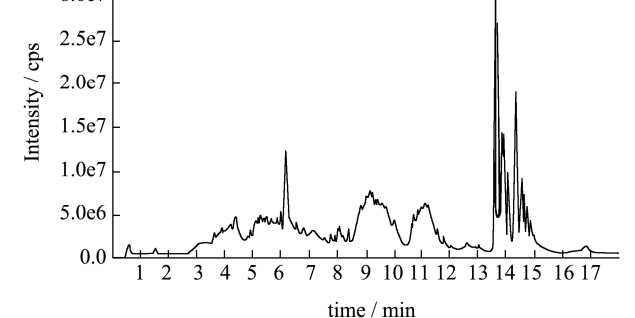


图 1 QC 样品总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of QC sample

注: 上: 正离子模式; 下: 负离子模式。

采用 QC 样品的质谱 TIC 图比较和总样本的 PCA 统计分析两种策略, 对本项目的系统稳定性进行了评

价和分析。图 1 结果表明各色谱峰的响应强度和保留时间基本重叠。同时图 2 的研究结果显示 QC 样本相对于实验样本聚集, 且 QC 误差小于 2 倍的标准偏差以内, 说明本实验的系统误差在可控范围内。

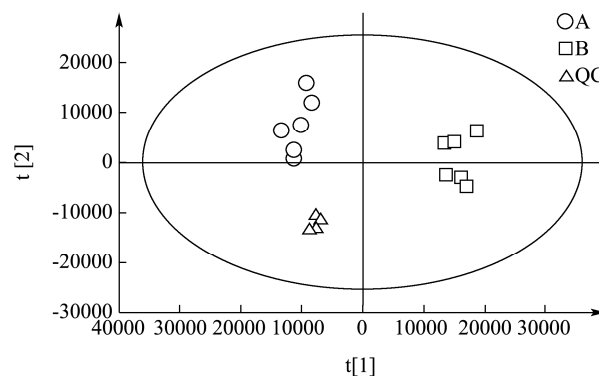


图 2 样本的 PCA 得分图

Fig.2 PCA score chart of samples

2.2 饮料发酵前后代谢物主成分分析

采用 PCA 的方法, 观察所有样本之间的总体分布趋势。两组饮料分别在 t_[1]、t_[2] 表现出组内聚集趋势, 整体上表明这两种饮料的代谢物间有显著差异。

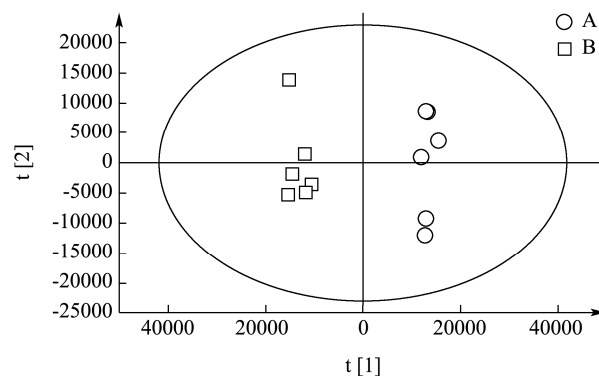


图 3 A vs B 的 PCA 得分图

Fig.3 PCA score of A vs B

2.3 饮料发酵前后代谢物的 OPLS-DA 分析

为了筛选出组间不同的代谢物, 对 A 组和 B 组的数据进行处理, 得到 OPLS-DA 评分图 4。如图所示, OPLS-DA 模型能明显区分两组样本, 表明各个成员组之间存在显著性差异, 全部的样品成员组都是位于置信时间内, 同时参数 $R^2Y(cum)=1$, $Q^2(cum)=0.958$, R^2Y 和 Q^2 均大于 0.5 并且接近于 1, 说明该模型的稳定性比较好, 且数据可靠。OPLS-DA 模型可以明显区分两组样本。验证了 A 组与 B 组之间的代谢物存在显著差异。结果显示, 截距 $Q^2=-0.237<0$, 表明 OPLS-DA 模型不存在过拟合。

2.4 饮料发酵前后的差异代谢物筛选及分析

本实验以VIP>1且p<0.05为标准对发酵前后的饮料进行比较,共检测出显著差异代谢物25类145种。主要包括有机酸及其衍生物、黄酮类化合物、糖类及其衍生物、生物碱、核苷酸及其衍生物、氨基酸及其衍6个类别(见表1),占比分别为23.45%、14.48%、13.79%、11.03%、6.90%和6.90%。根据OPLS-DA分析,以FC>2或FC<0.5,p<0.05为标准,对发酵前后显著差异代谢物进行筛选。其中显著上调的代谢物有63种,显著下调的代谢物有36种。

2.5 主要差异代谢成分分析

以FC>100和FC<0.01为指标,进一步比较发酵饮料前后样品中变化大的代谢成分,共筛选出变化显著的代谢物14种。其中提高的代谢物有11种,主要包括有机酸4种、黄酮类化合物4种、生物碱1种、氨基酸1种及萘酚类1种。降低的有3种,主要包括氟磺酸1种、核苷酸1种和一种α氨基酸酯。如表2所示,增加的物质主要包括:增加36668倍的1-羟基-2-萘甲酸、增加1000倍的二氢白藜芦醇、增加800倍的2-羟基戊酸、增加517倍的大豆苷、增加488倍

的牡荆素、增加238倍的芹菜素、增加148倍的异芥酸、增加130倍的染料木素。1-羟基-2-萘甲酸是萘酚类,根据张俊艳等^[17]文献可知萘酚类化合物主要有抗炎活性。根据Okada^[18]的文献可知口服DHNA(1,4-二羟基-萘甲酸)能改善葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎。二氢白藜芦醇是一种天然的非黄酮类多酚化合物,根据卞兆祥等人^[19]的研究可知二氢白藜芦醇可用于治疗急性胰腺炎和相关肺损伤。大豆苷是一种大豆黄酮类有机化合物^[20],具有有效减少其对高血压的不良影响,改善收缩人体的大脑血液循环,扩张收缩人体心脏冠脉,改善人体心肌活性和消炎抗菌功能^[21]。牡荆素是一种黄酮类化合物,具有抑制人体癌细胞的生长,保护心血管疾病肺损伤等功能^[22,23]。芹菜素是一种黄酮类化合物,具有抗肿瘤,对糖尿病心肌病的保护作用^[24]。染料木素具有抗氧化作用,抑制结肠癌的作用^[25,26]。减少的物质主要包括:减少135倍的甘氨酸甲酯,减少294倍的全氟戊烷磺胺,减少322倍的腺嘌呤。甘氨酸甲酯是甘氨酸与甲醇反应生成的氨基酸酯类化合物。腺嘌呤是一个核碱基(嘌呤衍生物),一定浓度的腺嘌呤可以对肾功能造成损伤^[27]。

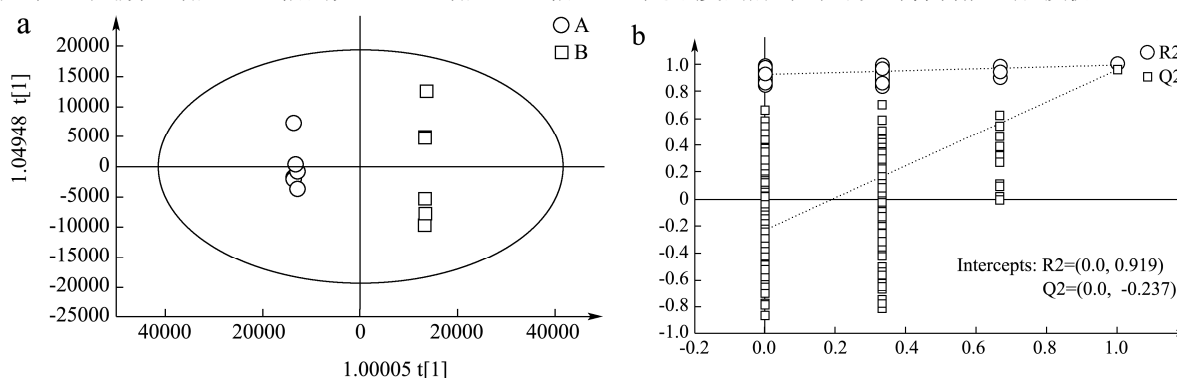


图4 A组和B组OPLS-DA模型得分图(a)和A vs B的OPLS-DA置换检验图(b)

Fig.4 Scores of OPLS-DA model in group A and group B (a) and OPLS-DA permutation test of A vs B (b)

表1 A、B组差异代谢物种类与变化情况

Table 1 Types and changes of different metabolites in group A and B

序号	代谢物类别	显著差异代谢物/个	占比/%	上调数量/个	下调数量/个
1	有机酸及其衍生物	34	23.45	16	18
2	黄酮类化合物	21	14.48	14	7
3	糖类及其衍生物	20	13.79	7	13
4	生物碱	16	11.03	8	8
5	核苷酸及其衍生物	10	6.90	7	3
6	氨基酸及其衍生物	10	6.90	6	4
7	其它酚类	7	4.83	3	4
8	脂肪	5	3.25	1	4
9	异香豆素	4	2.75	2	2
10	其它	18	12.62	12	6

表 2 A、B 组显著差异代谢物

Table 2 Differential metabolites of group A and B

物质类	代谢物	VIP	p	FC	上升↑或下降↓
萜酚类	1-羟基-2-萜甲酸	11.61	$p<0.01$	36668.85	↑
生物碱	二氢白藜芦醇	1.27	$p<0.01$	1000.56	↑
黄酮类	大豆苷	2.27	$p<0.01$	517.11	↑
黄酮类	牡荆素	4.96	$p<0.01$	488.69	↑
黄酮类	芹菜素-8-C-葡萄糖苷	7.24	$p<0.01$	238.04	↑
黄酮类	染料木苷	1.24	$p<0.01$	130.53	↑
有机酸	2-羟基戊酸	1.59	$p<0.01$	827.69	↑
有机酸	2-羟基-4-甲基戊酸	6.32	$p<0.01$	758.09	↑
有机酸	异芥酸	1.07	$p<0.01$	148.08	↑
有机酸	4-羟基苯乳酸	6.89	$p<0.01$	108.18	↑
氨基酸	己二酸 α 氨基酯	2.03	$p<0.01$	219.65	↑
α 氨基酸酯	甘氨酸甲酯	2.74	$p<0.01$	0.0074	↓
氟磺酸	全氟戊烷磺胺	2.50	$p<0.01$	0.0034	↓
核苷酸	腺嘌呤	6.07	$p<0.01$	0.0031	↓

表 3 微生物代谢通路富集到的差异代谢物

Table 3 Differential metabolites enriched by microbial metabolic pathways

物质类	代谢物	VIP	p	FC	上升↑或下降↓
萜酚类	1-羟基-2-萜甲酸	11.61	$p<0.01$	36668.85	↑
黄嘌呤类	咖啡因	1.35	$p<0.01$	23.26	↑
有机酸	异柠檬酸	2.51	$p<0.01$	9.18	↑
二苯乙烯醇	苯甲醇	28.75	$p<0.01$	8.20	↑
有机酸	反式肉桂酸	2.68	$p<0.01$	7.54	↑
有机酸	柠檬酸	1.56	$p<0.01$	4.70	↑
黄酮类	芒柄花甙	1.40	$p<0.01$	3.95	↑
氨基酸	L-谷氨酸	1.06	$p<0.01$	2.58	↑
苯胺	4-氨基苯酚	1.57	$p<0.01$	1.69	↑
有机酸	1,3,7-三甲尿酸	1.36	$p<0.01$	0.78	↓
有机酸	顺乌头酸	1.06	$p<0.01$	0.68	↓
苯胺	2-氨基苯酚	1.56	$p<0.01$	0.67	↓
有机酸	丁二酸	1.86	$p<0.01$	0.59	↓
有机酸	乙醇酸	1.44	$p<0.01$	0.44	↓
有机酸	戊二酸	1.94	$p<0.01$	0.25	↓
有机酸	苹果酸	3.11	$p<0.01$	0.055	↓

2.6 代谢通路分析

图 6 为 A、B 两组显著差异代谢物 KEGG 富集图。图中每一个图形都是一个 KEGG 路径。纵坐标表示路径的名称，横坐标表示为富集率。图形的越小，表示富集到的物质越少。通路富集分析可获得 52 种差异代谢通路，其中 19 个通路存在显著差异 ($p<0.05$)。其中乙醛酸和二羧酸代谢、柠檬酸循环 (TCA 循环) 等排在前 10 的代谢通路 (见图 6)。双组分体系^[28]，是

指存在于细菌内的一种信号传导系统，细菌通过感受外界环境变化、调控生存、毒力因子表达来维持自身生存，是细菌适应选择压力的一种机制。乙醛酸循环主要出现在植物和微生物，与脂肪转化为糖密切相关的反应过程。三羧酸循环是糖、脂和蛋白质三大类物质代谢与转化的枢纽^[29]。嘌呤代谢指核酸碱基腺嘌呤及鸟嘌呤等的嘌呤衍生物的合成及分解^[30]。升高 219.65 倍的己二酸 α 氨基酯主要是由氨基酸代谢产生的。升高 36668.85 倍的 1-羟基-2-萜甲酸主要是由微生物

物代谢及芳香化合物降解,通过 1-羟基-2-萘甲醛与烟酰胺腺嘌呤双核苷酸和水反应生成的。减少 322 倍的腺嘌呤通过嘌呤代谢分解为次黄嘌呤。

微生物代谢通路主要包括:碳水化合物代谢、能量代谢、氨基酸代谢、辅助因子和维生素的代谢、外源生物降解 5 种代谢。富集到的差异代谢物(见表 3)共有 16 种,包括苯甲醇、1-羟基-2-萘甲酸、咖啡因、异柠檬酸、反式肉桂酸、芒果花甙、L-谷氨酸、4-氨基苯酚、柠檬酸、1,3,7-三甲尿酸、顺乌头酸、2-氨基苯酚、丁二酸、乙醇酸、戊二酸和苹果酸。

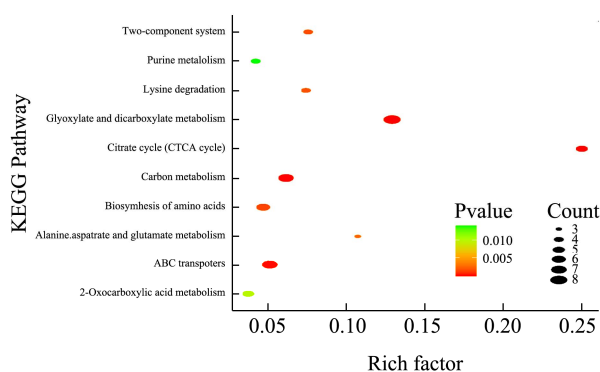


图 6 显著差异代谢物 KEGG 富集图 (Top10)

Fig.6 Significant difference metabolite KEGG Enrichment map (Top 10)

3 结论

本实验通过应用非靶向代谢组学方法对由 *L. paracasei* L1 和 *L. casei* YQ336 为发酵菌种的谷物饮料的小分子物质进行差异性分析。检测出 25 类 145 种显著性差异代谢产物,主要包括 34 种有机酸及其衍生物、21 种黄酮类化合物、20 种糖类及其衍生物等。以 $FC > 100$ 和 $FC < 0.01$ 为指标,共筛选出变化显著的代谢物 14 种。发酵后含量显著提高的生物活性物质包括:萜酸类物质、黄酮类化合物和有机酸。经过发酵,谷物饮料的感官和营养都有显著提高。通过 KEGG 代谢通路分析表明,差异显著的代谢通路有 19 条,推测谷物基质可能对 *L. paracasei* L1 和 *L. casei* YQ336 次级代谢的合成和积累具有一定影响,本研究将为利用乳酸菌发酵植物基质食品及其对植物基质的代谢机理研究奠定理论基础。

参考文献

[1] Wuyts S, Beeck W V, Allonsius C N, et al. Applications of plant-based fermented foods and their microbes [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2020, 61: 45-52

[2] QB/T 4221-2011, 谷物类饮料[S]
QB/T 4221-2011, Cereal drinks [S]

[3] 刘松涛. 谷物饮料-饮料发展的新机遇[J]. 中国食品添加剂, 2009, S1: 77-79
LIU Song-tao. Cereal beverage-a new opportunity for beverage development [J]. China Food Additives, 2009, S1: 77-79

[4] Elaine H, Jeremy K N, Andrew W Nicholls, et al. The identification of novel biomarkers of renal toxicity using automatic data reduction techniques and PCA of proton NMR spectra of urine [J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1998, 44(1): 245-255

[5] 彭超, 黄和, 肖爱华, 等. 代谢组学分析技术平台及方法研究进展[J]. 食品科技, 2008, 9: 220-223
PENG Chao, HUANG He, XIAO Ai-hua, et al. Research progress of metabonomics analysis technology platform and method [J]. Food Science and Technology, 2008, 9: 220-223

[6] 席晓敏, 张和平. 微生物代谢组学研究及应用进展[J]. 食品科学, 2016, 37(11): 283-289
XI Xiao-min, ZHANG He-ping. Research and application progress of microbial metabonomics [J]. Food Science, 2016, 37(11): 283-289

[7] Tebani A, Bekri S. Paving the way to precision nutrition through metabolomics [J]. Frontiers in Nutrition, 2019, 6: 41

[8] 梁晓庆, 杨长军, 王桐, 等. 基于液质联用代谢组学方法分析不同产地和表型的玛咖[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 319-328
LIANG Xiao-qing, YANG Chang-jun, WANG Tong, et al. Metabonomics analysis of maca from different habitats and phenotypes based on LC-MS [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 319-328

[9] 田原, 季子非, 郭浩南, 等. 副干酪乳杆菌 L1 的安全性及益生性评价[J]. 食品工业科技, 2019, 40(12): 120-127
TIAN Yuan, JI Zi-fei, GUO Hao-nan, et al. Safety and probiotic evaluation of *Lactobacillus paracasei* L1 [J]. Food Industry Science and Technology, 2019, 40(12): 120-127

[10] 叶青, 许云贺, 张莉力. 豆腐酸浆中干酪乳杆菌的分离、鉴定及作为豆腐凝固剂的应用[J]. 食品工业科技, 2017, 38(18): 94-98, 104
YE Qing, XU Yun-he, ZHANG Li-li. Isolation and identification of *Lactobacillus casei* from bean curd yoghurt and its application as bean curd coagulant [J]. Food Industry Science and Technology, 2017, 38(18): 94-98, 104

[11] 杨秀娟, 邓毅, 吴国霞, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 的归身和归尾补血机制的代谢组学初步研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(02): 176-184, 231
YANG Xiu-juan, DENG Yi, WU Guo-xia, et al.

- Metabonomics study on the mechanism of Guishen and Guiwei Buxue based on UPLC-Q-TOF/MS [J]. Research and Development of Natural Products, 2018, 30(2): 176-184, 231
- [12] Wang Y, Li C, Li L, et al. Application of UHPLC-Q/TOF-MS-based metabolomics in the evaluation of metabolites and taste quality of Chinese fish sauce (Yu-lu) during fermentation [J]. Food Chemistry, 2019, 296: 132-141
- [13] Li S, Deng B, Tian S, et al. Metabolic and transcriptomic analyses reveal different metabolite biosynthesis profiles between leaf buds and mature leaves in *Ziziphus jujuba* Mill [J]. Food Chemistry, 2021, 347: 129005
- [14] Shen J, Zou Z, Zhang X, et al. Metabolic analyses reveal different mechanisms of leaf color change in two purple-leaf tea plant (*Camellia sinensis* L.) cultivars [J]. Horticulture Research, 2018, 5(1): 7
- [15] 董婷婷.基于代谢组学技术研究电针刺激对慢性酒精中毒大鼠学习记忆的影响[D].泸州:西南医科大学,2020
DONG Ting-ting. Effect of electroacupuncture on learning and memory in rats with chronic alcoholism based on metabonomics [D]. Luzhou: Southwest Medical University, 2020
- [16] 章智钧,刘怀锋,孙军利,等.非靶向代谢组学对赤霞珠果皮不同砧穗组合差异代谢物的分析[J].食品科学,2020,41(24): 22-30
ZHANG Zhi-jun, LIU Huai-feng, SUN Jun-li, et al. Analysis of different metabolites of Cabernet Sauvignon pericarp with different rootstock and spike combinations by non targeted metabonomics [J]. Food Science, 2020, 41(24): 22-30
- [17] 张俊艳.一种新的萘酚类衍生物 1-羟基-2-萘甲酸甲酯的抗炎作用及其作用机制的研究[D].广州:南方医科大学,2012
ZHANG Jun-yan. Anti inflammatory effect and mechanism of a new naphthol derivative methyl 1-hydroxy-2-naphthoate [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2012
- [18] Okada Y, Tsuzuki Y, Miyazaki J, et al. *Propionibacterium freudenreichii* component 1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid (DHNA) attenuates dextran sodium sulphate induced colitis by modulation of bacterial flora and lymphocyte homing [J]. Gut, 2006, 55(5)
- [19] 卞兆祥,曾少慧,张宏杰,等.二氢白藜芦醇用于治疗急性胰腺炎和相关肺损伤的方法[P].中国香港:CN106256349B, 2019-10-18
BIAN Zhao-xiang, ZENG Shao-hui, ZHANG Hong-jie, et al. Dihydroresveratrol in the treatment of acute pancreatitis and related lung injury [P]. Hong Kong, China: CN106256349b, October 18, 2019
- [20] 茹波,张月辉,张瑜.梯度洗脱高效液相色谱法同时测定大豆异黄酮中大豆苷和黄豆苷的含量[J].实用药物与临床, 2011,14(2):138-140
RU Bo, ZHANG Yue-hui, ZHANG Yu. Simultaneous determination of daidzein and daidzein in soybean isoflavones by gradient elution high performance liquid chromatography [J]. Practical Medicine and Clinic, 2011, 14(2): 138-140
- [21] Laddha A, Kulkaeni Y. Daidzein ameliorates diabetic retinopathy in experimental animals [J]. Life Sciences, 2021, 265(15): 118779
- [22] 罗丽,江涛,陈聂.牡荆素对急性肺损伤小鼠的保护作用[J].中成药,2015,37(7):1393-1397
LUO Li, JIANG Tao, CHEN Nie. Protective effect of vitexin on acute lung injury in mice [J]. Chinese Patent Medicine, 2015, 37(7): 1393-1397
- [23] Chen Y, Wang B, Yuan X, et al. Vitexin prevents colitis-associated carcinogenesis in mice through regulating macrophage polarization [J]. Phytomedicine, 2021, 83: 153489
- [24] 刘欢,杨周萍,金桂芳,等.芹菜素对人胃癌细胞SGC-7901增殖的影响及机制研究[J].广东药学院学报,2016,32(6):743-746
LIU Huan, YANG Zhou-ping, JIN Gui-fang, et al. Effect and mechanism of apigenin on proliferation of human gastric cancer cell line SGC-7901 [J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2016, 32(6): 743-746
- [25] 汤凌.IGF-1 调控下染料木黄酮对睾酮诱导 RWPE-1 细胞增生的抑制作用研究[D].长沙:中南大学,2009
TANG Ling. Inhibitory effect of genistein on testosterone induced proliferation of RWPE-1 cells under IGF-1 regulation [D]. Changsha: Central South University, 2009
- [26] 张秀芹.染料木素对大鼠心肌缺血缺氧损伤的保护作用[D].衡阳:南华大学,2016
ZHANG Xiu-qin. Protective effect of genistein on myocardial ischemia and hypoxia injury in rats [D]. Hengyang: Nanhua University, 2016

(下转第 18 页)