

LC-MS非靶向代谢组学鉴定蓝莓蜜和野蔷薇蜜的特征性物质

姚丹¹, 詹洪平¹, 贺兴江¹, 于瀛龙¹, 江兆春², 周文才¹, 韦小平^{1*}

(1. 贵州省农业科学院现代农业发展研究所, 贵州贵阳 550006)

(2. 贵州省植保植检站, 贵州贵阳 550001)

摘要: 为了解不同种类蜂蜜中的代谢物组成及特征性物质鉴定。该研究以荆条蜜、野桂花蜜为对照, 通过液相色谱-质谱法 (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS) 非靶向代谢组学对 39 个特色蜂蜜样本的代谢产物进行聚类分析, 并对差异代谢物 (Significant Changed Metabolites, SCMs) 鉴定和功能注释, 来鉴定特色蜂蜜蓝莓蜜、野蔷薇蜜中的特征性物质。结果显示检测到 817 个代谢物, 富集到氨基酸代谢 (14 条)、消化系统 (10 条) 等 42 模块, 共 364 条信号通路上。筛选出蓝莓蜜与荆条蜜、蓝莓蜜与野桂花蜜、蓝莓蜜与野蔷薇蜜、野蔷薇蜜与荆条蜜、野蔷薇蜜与野桂花蜜 SCMs 分别有 336、165、167、270、247 个。苯丙氨酸-苏氨酸、3-羟基-4-甲氧基苯乙烯酸独特存在于蓝莓蜜; N1、N5、N10、N14-四反式-对-三甲基亚精胺、半齿泽兰素、2-丙烯酸仅在野蔷薇蜜中检测出, 且吡啶及其衍生物类、甘油磷脂类这两类物质在野蔷薇蜜中含量较高。该研究鉴定的蓝莓蜜、野蔷薇蜜的特征性物质, 为后期鉴定蜂蜜真伪及溯源识别时提供相应参考依据。

关键词: 中蜂蜂蜜; 液相色谱-质谱法 (LC-MS); 非靶向代谢组学; 特征性物质

文章编号: 1673-9078(2025)05-267-279

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.5.0305

Identification of Characteristic Substances of Blueberry and Wild Rose Honeys by LC-MS Untargeted Metabolomics

YAO Dan¹, ZHAN Hongping¹, HE Xingjiang¹, YU Yinglong¹, JIANG Zhaochun²,

ZHOU Wencai¹, WEI Xiaoping^{1*}

(1. Guizhou Institute of Integrated Agriculture Development, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China) (2. Guizhou Station of Plant Protection and Quarantine, Guiyang 550001, China)

Abstract: *Apis cerana* unifloral honeys from vitex (*Vitex negundo* var. *heterophylla* Rehd.) and osmanthus (*Osmanthus yunnanensis*) were used as controls to identify the metabolite composition and characteristic substances in blueberry

引文格式:

姚丹, 詹洪平, 贺兴江, 等. LC-MS非靶向代谢组学鉴定蓝莓蜜和野蔷薇蜜的特征性物质 [J]. 现代食品科技, 2025, 41(5): 267-279.

YAO Dan, ZHAN Hongping, HE Xingjiang, et al. Identification of characteristic substances of blueberry and wild rose honeys by LC-MS untargeted metabolomics [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(5): 267-279.

收稿日期: 2024-03-13

基金项目: 贵州省科技计划资助项目 (黔科合基础-ZK[2023]一般181; 黔科合支撑[2021]一般160; 黔科合支撑[2021]一般240); 贵州省农科院青年科技创新工程项目 (黔农科青年基金(2023)17号); 国家蜂产业技术体系资金项目 (CARS-44-SYZ-22); 国家重点研发计划项目 (2021YFD1100309)

作者简介: 姚丹 (1993-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 蜜蜂生物学, E-mail: 331223345@qq.com

通讯作者: 韦小平 (1977-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 蜜蜂生物学、蜂产品品质, E-mail: 2560631906@qq.com

(*Vaccinium* Spp.) and wild rose (*Rosa multiflora* Thunb.). The metabolites of 39 specialty honey samples were clustered and analyzed using liquid chromatography-mass spectrometry untargeted metabolomics. Significantly changed metabolites were identified and functionally annotated. The 817 metabolites detected were enriched in 42 modules (e.g., amino acid metabolism (14 pathways), digestive system (10 pathways)), involving a total of 364 pathways. There were 336 significantly changed metabolites between blueberry and vitex honeys, 165 between blueberry and osmanthus honeys, 167 between blueberry and wild rose honeys, 270 between wild rose and vitex honeys, and 247 between wild rose and osmanthus honeys. Phenylalanyl-threonine and 3-hydroxy-4-methoxycinnamic acid were characteristic substances of blueberry honey, whereas N1,N5,N10,N14-tetra-trans-p-coumaroylspermine, eupatorin, and prop-2-enoic acid were characteristic substances of wild rose honey. Additionally, wild rose honey contained high contents of indole and its derivatives and glycerophospholipids. We identified and confirmed unique characteristic substances in blueberry and wild rose honeys, offering valuable references for subsequent identification of honey authenticity and traceability identification.

Key words: *Apis cerana* honey; liquid chromatography-mass spectrometry; untargeted metabolomics; characteristic substance

蜜蜂是农业中重要授粉昆虫，在维护生态稳定起着重要作用，还为人类提供丰富多样的蜂产品^[1]，蜂蜜作为主要蜂产品之一，已被广泛应用于食品添加、美妆、医疗保健等多个行业。除糖类、少量水分以外，蜂蜜中还含有黄酮类、矿物质元素、酚类等大量微量物质^[2,3]，微量成分中黄酮类、酚类等则是决定蜂蜜品质、口感的重要成分^[4,5]，也为产品溯源工作提供了重要帮助。

液相色谱-质谱联用 (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry, LC-MS) 是非靶向代谢组学常用技术手段，可检测分子量 1 500 Da 以内的小分子代谢物 (包括氨基酸、糖和磷酸糖、生物胺和脂质等) 的种类、数量及变化规律，该技术具较高的灵敏度、分辨率等，适合对样本中未知代谢物检测和潜在标志物鉴定^[6,7]。沈崇钰等^[8]建立液相色谱-高分辨质谱代谢组学技术鉴定麦卢卡蜂蜜，确定 3,5-二甲氧基苯、甲酸甲酯-4-双葡萄糖糖苷为新特征标志物；严丽娟等^[9]利用非靶代谢组学技术确定麦卢卡蜂蜜中 3-苯乳酸、黄酮类和肉桂酸类等 34 种标志代谢物。沈旻等^[10]利用超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱技术对 8 种单花蜜代谢物差异分析，筛选并鉴定出 32 个差异代谢物 (Significant Changed Metabolites, SCMs)，黄酮类为麦卢卡蜜和荞麦蜜主要 SCMs，荆条蜜中酚酸类为特征性物质，苯苷与萜苷类为椴树蜜的特征性物质。Jandrić 等^[11]通过高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱 (Ultra-Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry, LC-Q-TOF-MS) 技术分析澳大利亚不同产地蜂蜜，结果为不同区域蜂蜜中的单氯和多氯成分存在差异。Georgios 等^[12]结合

高分辨率质谱 (High-Resolution Mass Spectrometry, HRMS) 靶向和非靶向代谢组学测定 10 种蜂蜜的酚类和真实性评估，筛选出 16 个 SCMs，其中脱落酸在杨梅蜜中含量最高。

前期团队通过气相色谱-质谱联用 (Gas Chromatography-Mass Spectrometry, GC-MS) 技术鉴定了蓝莓蜜、野蔷薇蜜 90 种挥发性成分，并将 2-酮丁酸、3-己烯二酸分别为蓝莓蜜、野蔷薇蜜的候选特征性成分。在此基础上，本次采用 LC-MS 技术，以高品质的荆条蜜和野蔷薇蜜为对照，来测定蓝莓蜜、野蔷薇蜜代谢物组成，并对代谢物进行差异分析、聚类及富集分析，探究不同蜂蜜代谢物组成差异并初步鉴定蓝莓蜜、野蔷薇蜜的特征性物质，研究结果为后期鉴别蜂蜜真假、产品溯源工作提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

样本采自贵州省不同地区的蓝莓蜜、野蔷薇蜜、荆条蜜、野桂花蜜 4 种天然成熟中蜂蜂蜜，13 个样本，每个样本 3 个重复性试验，共测定样本 39 个。采集信息如表 1。

1.2 实验方法

1.2.1 样本前处理

参照百迈克生物科技有限公司样本前处理方法，取 100 μ L 样本，加入 400 μ L 提取液 [甲醇 (CAS 67-56-1；纯度 LC-MS 级，品牌: Merck)、乙腈 (CAS 75-05-8；纯度 LC-MS 级，品牌: Merck) 体积比 =1:1，内标为 L-2-氯苯丙氨酸 (CAS 103616-89-3；

纯度≥98%，品牌：上海阿拉丁）质量浓度2 μg/mL] 涡旋混匀30 s，冰水浴超声5 min，-20℃静置1 h后，离心15 min（4℃，12 000 r/min），取上清于EP管，真空浓缩干燥，加入150 μL提取液（乙腈水体积比：1:1）复溶、涡旋30 s，冰水浴超声10 min，离心15 min（4℃，12 000 r/min）；取上清120 μL放于2 mL进样瓶，每个样本各取10 μL混合成QC样本上机检测。

表 1 四种成熟中蜂蜂蜜采集信息
Table 1 Collection information of four types of mature *Apis cerana* unifloral honeys

样品编号	蜂蜜品种	重复性试验 / 次	采集地点
honey1	蓝莓蜜	3	丹寨县
honey2	蓝莓蜜	3	丹寨县
honey3	蓝莓蜜	3	麻江县
honey4	蓝莓蜜	3	麻江县
honey5	蓝莓蜜	3	麻江县
honey6	蓝莓蜜	3	麻江县
honey7	蓝莓蜜	3	麻江县
honey8	荆条蜜	3	播州区
honey9	荆条蜜	3	德江县
honey10	荆条蜜	3	息烽县
honey11	野桂花蜜	3	铜仁市
honey12	野蔷薇蜜	3	息烽县
honey13	荆条蜜	3	铜仁市

1.2.2 建库方法

采用液质联用系统（由沃特世 Acquity I-Class PLUS 超高效液相色谱串联和沃特世 Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪组成），1.8 μm×2.1 mm×100 mm 色谱柱（沃特世 Acquity UPLC HSS T3）。正离子模式：流动相 A 0.1% 甲酸（CAS 64-18-6；纯度 LC-MS 级，品牌：TCI）水溶液；流动相 B：0.1% 甲酸乙腈（CAS 75-05-8；纯度 LC-MS 级，品牌：Merck）；负离子模式：流动相 A：0.1% 甲酸水溶液；流动相 B：0.1% 甲酸乙腈，进样体积为3 μL。

（1）梯度洗脱程序设置为：0~0.25 min（98% A+2% B），0.25~10 min（2% A+98% B），10~13 min（2% A+98% B），13~13.1 min（98% A+2% B），13.1~15 min（98% A+2% B），流量400 μL/min。

（2）质谱条件：沃特世 Xevo G2-XS QToF 高分辨质谱仪的采集软件（MassLynx V4.2, Waters）控

制下的 MSe 模式进行一级、二级质谱数据采集。ESI 离子源参数如下：毛细管电压2 000 V（正离子模式）或-1 500 V（负离子模式）；锥孔电压30 V；离子源温度150℃；脱溶剂气温度500℃；反吹气流速50 L/h；脱溶剂气流量800 L/h。

1.2.3 数据分析

采集原始数据用 MassLynx V4.2 软件，用 Progenesis QI 软件做峰提取、峰对齐等数据处理，基于 Progenesis QI 在线 METLIN 数据库及百迈客自建库进行鉴定^[13,14]。使用 cluster R R 包^[15]：ggplot2 进行主成分分析（Principal Component Analysis, PCA）；使用 Heatmap R R 包^[16]对测定的代谢物作聚类热图；采取将差异倍数、*t* 检验的 *P* 值和差异分组的正交偏最小二乘法判别分析（Orthogonal Projections to Latent Structures-Discriminant Analysis, OPLS-DA）的变量重要性投影（Variable Importance in Project, VIP）相结合的方法，将符合 VIP>1, FC>1、*P* value<0.05 的代谢物定义为 SCMs，并将得到的 SCMs 通过 R 包 clusterprofiler 进行富集分析，并使用 KEGG Pathways 数据库（KEGG, www.genome.jp/kegg）进行注释。

2 结果与讨论

2.1 LC-MS测定蜂蜜代谢物的数据质量及重复性评估

理论碎片识别后保证质量数偏差均在100×10⁻⁶ 以内，用主成分分析图来反映样本代谢物丰富度。蓝莓蜜、野蔷薇蜜、荆条蜜、野桂花蜜4种蜂蜜的第1主成分占63.01%，第2主成分占23.97%，总和为86.98%，说明第1、2主成分已包含大部分物质信息。同时，蓝莓蜜与荆条蜜分离较好，蓝莓蜜更接近第1主成分、第2主成分负轴轴线，荆条蜜更接近第1主成分正轴、第2主成分负轴轴线；野桂花蜜与野蔷薇蜜位置最接近，在第1主成分负轴、第2主成分正轴轴线位置（图1a）。

同一样本的3个生物学重复斯皮尔曼等级相关系数 *r*² ≥ 0.9, 重复性良好，蜂蜜成分会因蜂蜜种类、地域、气候不同而产生影响，因此，本次评估结果为样本间取自不同地区 *r*² 在0.50左右，相关性不高，不同样本之间样本 *r*² 在0.30左右，相关性不高（图1b）。

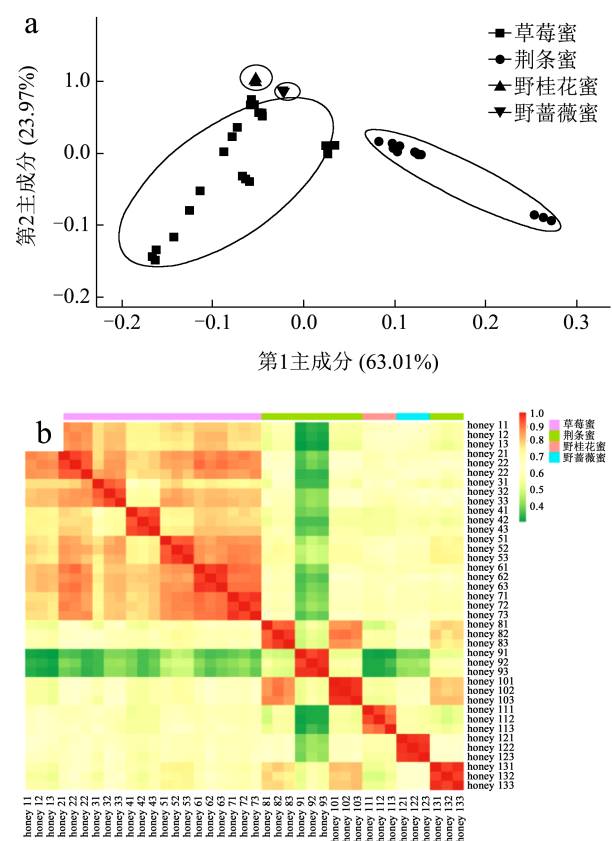


图 1 样本 PCA (a) 及斯皮尔曼相关性图 (b)

Fig.1 Correlation diagram of sample PCA (a) and Spearman (b)

2.2 代谢物功能注释

2.2.1 KEGG数据库注释

检测到的 817 个代谢物富集到了氨基酸代谢 (14 条)、消化系统 (10 条) 等 42 模块, 364 条信号通路上。pathway level2 的 top20 包括脂肪酸代谢 (144 个)、氨基酸的生物合成 (144 个)、碳代谢 (143 个) 等通路 (图 2)。唾液分泌、胃酸分泌通路上富集了乙酰胆碱 (Name : Acetylcholine, Ach, ID : pos_122), 目前 Ach 已在低等植物、高等植物和动物的神经细胞中生成^[17,18], 因此 Ach 可能是蜜蜂所采集的植物蜜腺分泌、或在巢房内酿造这一过程中蜜蜂分泌产生, 后期将进一步验证, 或可作为真假蜂蜜判别的重要依据。

2.2.2 HMDB (Human Metabolome Database) 数据库注释

与人体密切相关的代谢物富集到 8 个模块, 共 49 条通路。前 20 class 富集酮类、芳香类等 4 个模块, 分别为甾体和类固醇衍生物 (67 个)、甘油磷脂 (53 个)、羟基酸及其衍生物 (59 个)、苯并噻嗪 (32 个)、异黄酮 (23 个) 等通路 (图 3)。说明蜂蜜中与人体代谢密切相关有酮类、芳香类、有机酸类等物质。

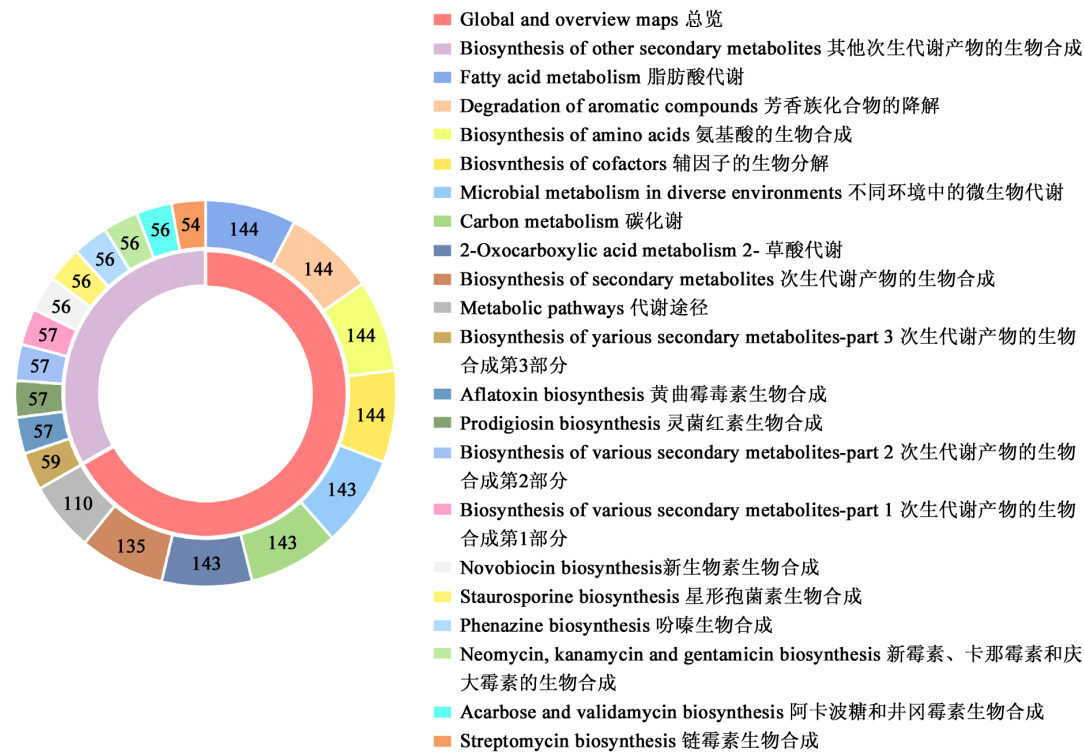


图 2 KO pathway level 2 条目 top20 注释信息绘图以及注释

Fig.2 KO pathway level 2 entry top20 annotation information drawing and annotation

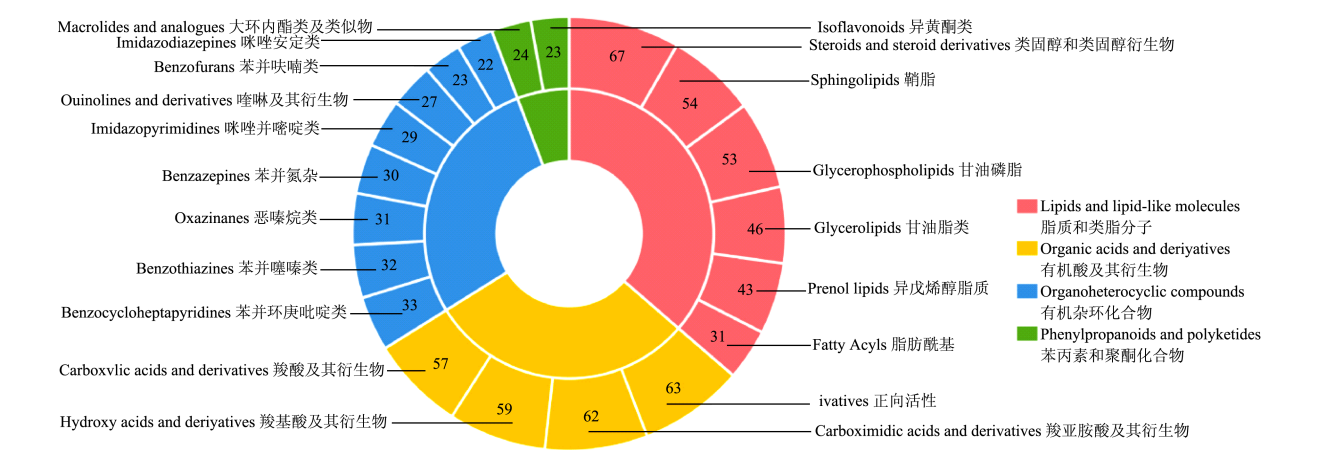


图 3 Top 20 class 绘图结果以及注释

Fig.3 Top 20 class drawing results and comments

2.2.3 SCMs分析

2.2.3.1 OPLS-DA 分析

利用 R (3.3.2) 包 ropls 计算的 OPLS-DA 模型得分显示蓝莓蜜与荆条蜜、蓝莓蜜与野桂花蜜、蓝莓蜜与野蔷薇蜜、荆条蜜与野桂花蜜、野蔷薇蜜与荆条蜜、野蔷薇蜜与野桂花蜜各比较组间 R²Y 分别 0.981、0.996、0.991、0.991、0.997、1.000；Q²Y 分别为 0.976、0.963、0.980、0.977、0.991、0.986，因此，该模型稳定可靠，且为出色模型（图 4）。

2.2.3.2 SCMs 鉴定及分类

通过代谢组学鉴定结果，根据 VIP >1，log₂FC >1，P < 0.05 条件筛选的 SCMs，荆条蜜与蓝莓蜜有 336 个 SCMs，其中 151 个上调，185 个下调，野桂花蜜与蓝莓蜜有 165 个 SCMs，有 60 个上调，105 个下调，野蔷薇蜜与蓝莓蜜有 167 个 SCMs，143 个上调，24 个下调，野蔷薇蜜与荆条蜜有 270 个 SCMs，244 个上调，26 个下调，野蔷薇蜜与野桂花蜜有 247 个 SCMs，210 个上调，37 个下调（表 2）。

本次筛选到蓝莓蜜与荆条蜜的 SCMs 富集到了 43 类条目上，富集数前 5 的分别为羧酸及其衍生物类（37 个）、脂肪酰基类（12 个）、黄酮类化合物（4 个）等（表 3）。沈施等^[10]对 8 种单花蜜筛选并鉴定出 32 个 SCMs，Georgios 等^[12]测定 10 种蜂蜜筛选出 16 个 SCMs，脱落酸在杨梅蜜中含量最高。黄酮类条目上富集代谢物全为下调表达，脂肪酰基类条目上共 13 个代谢物，有 11 个下调表达。相比于荆条蜜，3-羟基-4-甲氧基苯丙烯酸（Name：3-Hydroxy-4-methoxycinnamic acid；ID：neg_33）、

DL-2-氨基己二酸（Name：DL-2-Aminoadipic acid；ID：pos_475）、α-酮己酸（Name：alpha-Ketocaproic acid；ID：pos_397）在蓝莓蜜中均上调表达，苯丙氨酸-苏氨酸（Name：Phenylalanyl-Threonine；ID：neg_34）荆条蜜未检出。

蓝莓蜜与野桂花蜜 SCMs 在类黄酮富集有花色素、槲皮素（Name：Quercetin；ID：pos-205）等 3 种代谢物；脂肪酰基类有邻苯酰肉碱、PGA1（ID：pos_625）等 5 种代谢物，这两个条目上富集的 SCMs 显著下调表达（表 4）。3-羟基-4-甲氧基苯丙烯酸、苯丙氨酸-苏氨酸等 18 种物质野桂花蜜中未检出。野蔷薇蜜与蓝莓蜜 SCMs 富集到类黄酮、苯和取代衍生物富集的代谢物均上调表达（表 5）。蓝莓蜜中未检出 N1、N5、N10、N14-四反式-对-三甲基亚精胺（Name：N1,N5,N10,N14-Tetra-trans-p-coumaroylspermine；ID：pos_60）、半齿泽兰素（Name：Eupatorin；ID：pos_103）、2-丙烯酸（Name：Goyazensolide；ID：pos_38）等 4 种物质，只在野蔷薇蜜检出；3-羟基-4-甲氧基苯丙烯酸只在蓝莓蜜中检出。

通过蜂蜜间两两对比，苯丙氨酸-苏氨酸、3-羟基-4-甲氧基苯丙烯酸在蓝莓蜜检出，而在荆条蜜、野桂花蜜、野蔷薇蜜未检出或含量较低。Alissandrakis 等^[19]认为所检测同一样本单花蜜存在的某一化合物，在其它蜂蜜中该化合物不存在，或含量存在显著差异时，此化合物是该单花蜜的特征性物质。因此，本次检测到蓝莓蜜中苯丙氨酸-苏氨酸和 3-羟基-4-甲氧基苯丙烯酸鉴定为特征性物质（表 6）。

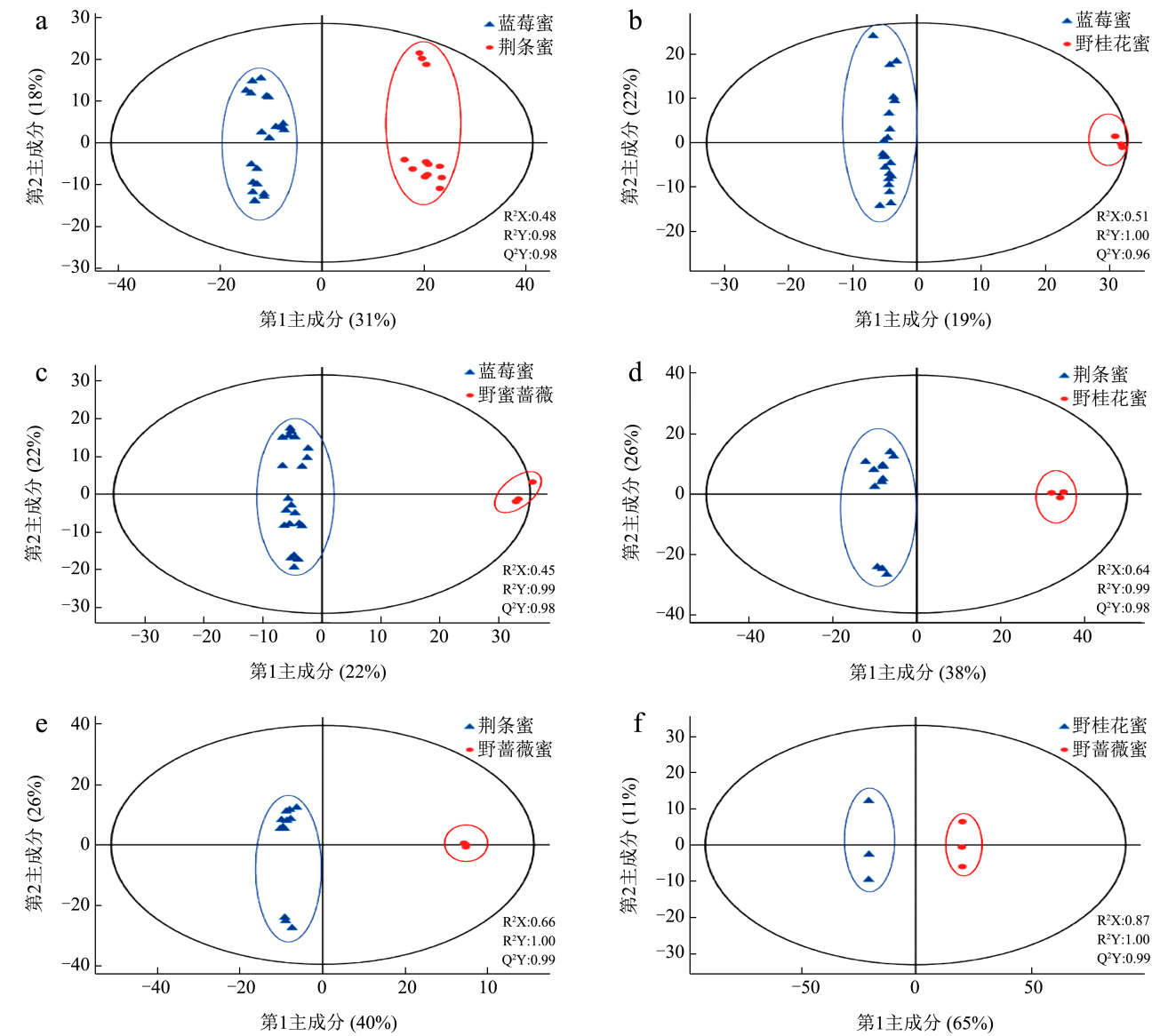


图 4 OPLS-DA 得分图

Fig.4 OPLS-DA score chart

注：(a) 蓝莓蜜 vs 荆条蜜组间 OPLS-DA 得分图；(b) 蓝莓蜜 vs 野桂花蜜组间 OPLS-DA 得分图；(c) 蓝莓蜜 vs 野蔷薇蜜组间 OPLS-DA 得分图；(d) 荆条蜜 vs 野桂花蜜组间 OPLS-DA 得分图；(e) 荆条蜜 vs 野蔷薇蜜组间 OPLS-DA 得分图；(f) 野桂花蜜 vs 野蔷薇蜜组间 OPLS-DA 得分图。

表 2 不同种类蜂蜜的SCMs筛选

Table 2 Screening of SCMs for different types of honey			
对比样本	差异代谢物数量 / 个	上调数量 / 个	下调数量 / 个
蓝莓蜜 vs 荆条蜜 blueberry vs wild rose	336	151	185
蓝莓蜜 vs 野桂花蜜 blueberry vs vitex	165	60	105
蓝莓蜜 vs 野蔷薇蜜 blueberry vs osmanthus	167	143	24
野蔷薇蜜 vs 荆条蜜 wild rose vs vitex	270	244	26
野蔷薇蜜 vs 野桂花蜜 wild rose vs osmanthus	247	210	37

表 3 蓝莓蜜vs荆条蜜主要SCMs的分类

Table 3 Classification of main SCMs in blueberry honey vs vitex honey

分类	差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	IDs	log ₂ FC
羧酸及其衍生物 Carboxylic Acids and Derivatives	苯丙氨酸-苏氨酸	Phenylalanyl-Threonine	neg_34	-19.13
	苯丙氨酸	L-Phenylalanine	neg_5	15.86
	柠檬酸	Citric acid	pos_11	-0.65
	柠檬酸乙酰基三丁酯	Acetyl tributyl citrate	pos_203	-0.67
	(S)-2-(甲基氨基)戊二酸	N-Methyl-L-glutamate	pos_360	-0.51
	苏氨酸	Threoninyl-Threonine	pos_382	7.82
	甘氨酸-L-缬氨酸	Glycyl-Valine	pos_423	-0.71
	丝氨酸脯氨酸	Serinyl-Proline	pos_427	6.62
	组氨酸谷氨酰胺	Histidinyl-Glutamine	pos_440	2.60
	γ-L-谷氨酰-L-苯丙氨酸	gamma-L-Glutamyl-L-phenylalanine	pos_466	4.03
	精氨酸色氨酸	Arginyl-Tryptophan	pos_469	19.51
	异戊酰甘氨酸	Isovaleryl-glycine	pos_477	-0.83
	环亮氨酸	CYCLOLEUCINE	pos_478	-1.94
	氨基戊酸	Aminopentanoic acid	pos_479	5.33
	异亮氨酸酪氨酸	Isoleucyl-Tyrosine	pos_484	-0.96
	2-氨基-6-三甲基胺基-己酸盐	N6,N6,N6-Trimethyl-L-lysine	pos_490	-1.08
	L-哌啶酸	L-Pipecolic acid	pos_5	-1.80
	瓜氨酸	Citrulline	pos_518	2.56
	烯丙氨酸	Allysine	pos_533	-0.54
	组氨酸-色氨酸	Histidinyl-Tryptophan	pos_538	3.63
	赖氨酸-色氨酸	Lysyl-Tryptophan	pos_545	-3.61
	丙氨酸-丙氨酸	Alanyl-Alanine	pos_575	-8.75
	苯丙氨酸-精氨酸	Phenylalanyl-Arginine	pos_579	-6.56
	赖氨酸-天冬酰胺	Lysyl-Asparagine	pos_598	-0.86
	乙酰-L-酪氨酸	Acetyl-L-tyrosine	pos_627	1.70
	精氨酸-酪氨酸	Arginyl-Tyrosine	pos_631	1.99
	O-琥珀酰-L-高丝氨酸	O-Phospho-L-homoserine	pos_640	-6.18
	精氨酸-苏氨酸	Arginyl-Threonine	pos_658	-0.93
	L-天冬氨酸-L-苯丙氨酸	L-Aspartyl-L-phenylalanine	pos_675	11.94
	天冬酰胺脯氨酸	Asparaginyl-Proline	pos_694	-0.87
	酪氨酸-脯氨酸	Tyrosyl-Proline	pos_698	1.09
	甘氨酸脯氨酸	Glycylproline	pos_707	-0.74
	苯丙氨酸谷氨酰胺	Phenylalanyl-Glutamine	pos_711	2.00
	L-异亮氨酸	L-Isoleucine	pos_745	-1.00
脂肪酰基 Fatty Acyls	丙酰肉碱	O-propanoyl-carnitine	pos_302	-2.68
	棕榈酰胺	Palmitic amide	pos_349	-0.98
	棕榈油酸	cis-9-Palmitoleic acid	pos_362	-1.33
	羟基-3-甲基戊二酸	3-Hydroxy-3-methylglutaric acid	pos_430	-0.87
	十一烷酸	Undecanoic Acid	pos_445	-0.87
	氨基己酸	6-Aminocaproic acid	pos_456	1.59
	含羞草素	Mimosine	pos_541	6.87
	白三烯 D4	Resolvin D2	pos_542	-0.96
		Leukotriene D4	pos_643	-3.03
		PGF1a	pos_667	-0.96
	15-羟基二十烷四烯酸	15(S)-HETE	pos_693	-1.18
	20-羟基白三烯 B4	20-hydroxy LTB4	pos_761	-0.99
有机氧化合物 Organoxygen Compounds	酒石酸	Tartaric acid	pos_127	-2.76
	β-D-乳糖	BETA-D-LACTOSE	pos_144	0.77
	苯乙腈	Niazirinin	pos_220	2.33
	右泛醇	Dexpanthenol	pos_442	-0.80
	甘露庚糖醇	Perseitol	pos_468	-0.86
	丙酮醛	Pyruvaldehyde	pos_489	-1.16
	N-乙酰-D-半乳糖胺	N-Acetyl-D-galactosamine	pos_491	0.52
	麦芽五糖	Maltopentaose	pos_509	-2.41
	3-羟基犬尿氨酸	3-Hydroxykynurenine	pos_596	2.29
	野黑樱苷	Prunasin	pos_624	0.62
	奎尼酸	Quinate	pos_630	1.26
	阿扎胞苷	Azacitidine	pos_742	-0.72

续表 3

分类	差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	IDs	log ₂ FC
苯及其取代衍生物 Benzene and Substituted Derivatives	甲苯	Toluene	pos_191	2.13
	邻苯二甲酸单-2-乙基己酯	Phthalic acid Mono-2-ethylhexyl Ester	pos_204	-0.92
	链霉素	Streptomycin	pos_410	16.91
	1,2-苯二甲酸	1,2-Benzenedicarboxylic acid	pos_522	-0.92
	羟苯乙酯	Ethylparaben	pos_68	-0.78
	美沙酮	Methadone	pos_717	4.97
黄酮类 Flavonoids	花青素	Cyanidin	pos_268	-2.28
	芦丁	Rutin	pos_40	-0.81
	橙皮苷	Neohesperidin	pos_422	-0.86
	柑桔黄酮	Tangeritin	pos_45	-0.84

表 4 蓝莓蜜vs野桂花蜜主要SCMs的分类
Table 4 Classification of main SCMs in blueberry honey vs osmanthus honey

分类	差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	IDs	log ₂ FC
脂肪酰基 Fatty Acyls	2,3-二 nor-6-酮前列腺素 F1α	2,3-Dinor-6-keto-PGF1a	neg_37	-24.37
	丙酰肉碱	O-propanoyl-carnitine	pos_265	-2.03
	15-酮前列腺素 E2	15-keto-Prostaglandin E2	pos_302	-2.63
	2-甲基戊二酸	2-Methylglutaconic acid	pos_519	26.52
	前列腺素 A1	PGA1	pos_62	1.14
		PGD3	pos_625	-2.43
有机氧化合物 Organooxygen Compounds	麦芽五糖	Maltopentaose	pos_633	-3.01
	潮霉素	BHygromycin B	pos_509	-1.64
	D-乳糖	D-Lactose	pos_532	-2.47
	犬尿氨酸	Kynurenine	pos_7	1.03
黄酮类 Flavonoids	花葵苷	Pelargonin	pos_91	0.84
	槲皮素	Quercetin	pos_188	-6.29
	花青素	Cyanidin	pos_205	-1.59
类固醇和类固醇衍生物 Steroids and Steroid Derivatives	异雌三醇	16b-Hydroxyestradiol	pos_268	-5.08
	醋酸可的松	Cortisone acetate	pos_428	-22.83
苯和取代衍生物 Benzene and Substituted Derivatives	苯乙醇	2-Phenylethanol	pos_762	1.20

表 5 蓝莓蜜vs野蔷薇蜜主要SCMs的分类
Table 5 Classification of main SCMs in blueberry honey vs wild rose honey

分类	差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	IDs	log ₂ FC
有机氧化合物 Organooxygen Compounds	4-羟基苯甲醛	Hydroxybenzaldehyde	pos_157	4.15
	N-乙酰-D-半乳糖胺	N-Acetyl-D-galactosamine	pos_491	1.76
	麦芽五糖	Maltopentaose	pos_509	-0.77
	奎尼酸	Quinate	pos_630	2.42
	E-乳糖	E-Lactose	pos_7	0.56
	犬尿氨酸	Kynurenine	pos_91	1.69
苯和取代衍生物 Benzene and Substituted Derivatives	甲苯	Toluene	pos_191	0.78
	苯乙醇	2-Phenylethanol	pos_33	3.32
	链霉素	Streptomycin	pos_410	25.70
	沙美特罗	Salmeterol	pos_725	4.52
黄酮类 Flavonoids	花葵苷	Pelargonin	pos_188	1.21
	紫葡萄色素	Oenin	pos_189	17.16
	纳多洛	Nadolol	pos_264	13.45
	3-羟基黄酮	3-Hydroxyflavone	pos_767	25.76
肉桂酸及其衍生物 Cinnamic Acids and Derivatives	3-羟基-4-甲氧基苯乙烯酸	Hydroxy-4-methoxycinnamic acid	neg_33	-22.15
	对羟基苯基丙烯酸	2-Hydroxycinnamic acid	pos_309	0.88
	肉桂酸正丙酯	n-Propyl cinnamate	pos_724	18.08

表 6 蓝莓蜜鉴定得到的特征性物质信息

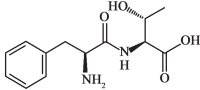
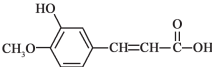
Table 6 Characteristic substances information obtained from honey selection of blueberry honey				
差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	ID	化学式	化学结构
苯丙氨酸-苏氨酸	Phenylalanyl-Threonine	neg_34	C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₄	
羟基-4-甲氧基苯乙烯酸	3-Hydroxy-4-methoxycinnamic acid	neg_33	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	

表 7 荆条蜜vs野蔷薇蜜主要SCMs的分类

Table 7 Classification of main SCMs in vitex honey vs wild rose honey				
分类	差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	IDs	log ₂ FC
脂肪酰基 Fatty Acyls	3,3-二甲基丙烯酸	3,3-Dimethylacrylic acid	neg_24	-1.59
	丙酰肉碱	O-propanoyl-carnitine	pos_302	0.64
	9Z,12Z-亚油酸	9Z,12Z-Linoleic acid	pos_348	4.01
	棕榈酰胺	Palmitic amide	pos_349	0.92
	棕榈油酸	cis-9-Palmitoleic acid	pos_362	2.14
	酮-8-氨基壬二酸	Keto-8-aminopelargonic acid	pos_392	1.05
	肉豆蔻酸	Myristic acid	pos_396	1.38
	羟基-3-甲基戊二酸	2-Hydroxy-3-methylglutaric acid	pos_430	0.78
		Resolvin D2	pos_542	0.86
	氧化-2,3-二诺-10,15-二烯酸	Oxo-2,3-dinor-10,15-phytodienoic acid	pos_544	0.93
	(E)-2-甲基戊二酸	(E)-2-Methylglutaconic acid	pos_62	0.99
		PGF1a	pos_667	0.92
	15 羟二十烷四烯酸	15(S)-HETE	pos_693	0.78
	琥珀半醛	Succinic acid semialdehyde	pos_696	1.12
黄酮类 Flavonoids	20-羟基白三烯 B4	20-hydroxy LTB4	pos_761	0.82
	紫葡萄色素	Oenin	pos_189	6.15
	纳多洛尔	Nadolol	pos_264	10.94
	花青素	Cyanidin	pos_268	2.42
	橙皮苷	Neohesperidin	pos_422	1.15
	3-羟基黄酮	3-Hydroxyflavone	pos_767	18.68
类固醇和类固醇衍生物 Steroids and Steroid Derivatives	16 b-羟基雌二醇	16b-Hydroxyestradiol	pos_428	17.85
	醋酸泼尼松龙	Prednisolon Acetate	pos_560	5.83
	3α,11β,21-三羟基-5β-孕烷-20 酮	3alpha,11beta,21-Trihydroxy-5beta-pregnan-20-one	pos_578	1.24
	雌酮	Estrone	pos_585	0.95
	醋酸可的松	Cortisone acetate	pos_762	0.96
甘油磷脂 Glycerophospholipids		LysoPE(18:2(9Z,12Z)/0:0)	pos_147	4.54
		LysoPC(18:3(6Z,9Z,12Z))	pos_34	9.31
	1-油酰-SN-甘油-3-磷酸胆碱	1-Oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	pos_576	0.93
酚类 Phenols	间苯二酚	Resorcinol	pos_333	0.87
	对甲酚	p-Cresol	pos_591	-1.56
	对羟基苯乙醇	2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol	pos_763	1.95

野蔷薇蜜与荆条蜜 SCMs 富集到类固醇和类固醇衍生物（5 个）、甘油磷脂类（3 个）等 37 类，类固醇和类固醇衍生物包括 16b- 羟基雌二醇（Name：16b-Hydroxyestradiol；ID：pos_428）、雌激素酮（Name：Estrone；ID：pos_585）等 5 种代谢物上调表达；甘油磷脂类中 3 种代谢物上调表达（表 7）。甘油磷脂类化合物在增强脑力,平衡内分泌,

延缓衰老等方面发挥着重要作用^[20,21]，微量使用类固醇类物质可调节细胞功能和发育和人体雌雄激素平衡^[22,23]，因此，野蔷薇蜜可能在平衡人体内分泌系统、激素水平方面效果较好。野蔷薇蜜与野桂花蜜 SCMs 富集到有机氧化合物（7 个）、吡啶及其衍生物（3 个）、黄酮类化合物（5 个）、有机氮化合物（2 个）等，且富集的代谢物均上调表达（表 8）。

野蔷薇蜜中吲哚及其衍生物包括色氨酸（Name：Tryptophanol；ID：neg_28）、3-(2-羟乙基)吲哚（Name：3-(2-Hydroxyethyl)indole；ID：pos_368）等3种代谢物上调表达。色氨酸可以被肠道微生物代谢而释放吲哚及其衍生物，释放的吲哚及其衍生物可以作为 AHR 和 PXR 的配体来维持肠稳态^[23]，野蔷薇蜜可能在维持肠道微生物稳定方面作用较为明显。N1、N5、N10、N14-四反式-对-三甲基

亚精胺、半齿泽兰素、2-丙烯酸等33种代谢物野桂花蜜中未检出。栗有志等^[24]认为当某些物质虽然在所检测的单花蜜中不完全存在，但其出现次数较高，在其他蜂蜜中不存在或存在时含量较低，也应将它确定为单花蜜的特征性物质。因此，野蔷薇蜜中N1、N5、N10、N14-四反式-对-三甲基亚精胺、半齿泽兰素、2-丙烯酸以及吲哚及其衍生物类和甘油磷脂类为野蔷薇蜜特征性成分（表9）。

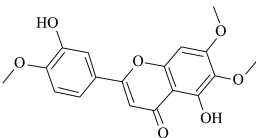
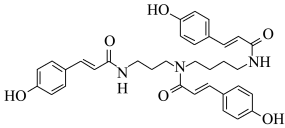
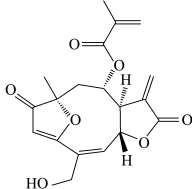
表 8 野桂花蜜vs野蔷薇蜜主要SCMs的分类

Table 8 Classification of main SCMs in osmanthus honey vs wild rose honey

分类	差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	IDs	log ₂ FC
有机氧化合物 Organooxygen Compounds	木酮糖	Xylulose	neg_45	0.76
	4-羟基苯甲醛	4-Hydroxybenzaldehyde	pos_157	5.00
	苯乙腈	Niazirinin	pos_220	5.92
	6-甲基-5-庚烯-2-酮	6-methyl-5-Hepten-2-one	pos_263	1.26
	2-乙酰胺基-2-脱氧-D-半乳糖	N-Acetyl-D-galactosamine	pos_491	1.54
	奎尼酸	Quinate	pos_630	1.61
	犬尿氨酸	Kynurenine	pos_91	0.85
黄酮类 Flavonoids	花葵苷	Pelargonin	pos_188	7.50
	紫葡萄色素	Oenin	pos_189	25.95
	纳多洛尔	Nadolol	pos_264	25.22
	花青素	Cyanidin	pos_268	5.22
	3-羟基黄酮	3-Hydroxyflavone	pos_767	26.70
吲哚及其衍生物 Indoles and Derivatives	色氨酸	Tryptophanol	neg_28	1.25
	3-(2-羟乙基)吲哚	(2-Hydroxyethyl)indole	pos_386	1.00
	丝裂霉素	Mitomycin	pos_535	23.21
嘌呤核苷 Purine Nucleosides	阿糖腺苷	Vidarabine	pos_2	-2.87
	8-羟基-2'-脱氧鸟苷	8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine	pos_528	4.36
	N2,N2-二甲基鸟苷	N2,N2-Dimethylguanosine	pos_550	3.32
有机氮化合物 Organonitrogen Compounds	卡尼丁	Carnitine	pos_438	2.08
	胆碱	Choline	pos_76	0.49

表 9 野蔷薇蜜鉴定得到的特征性物质信息

Table 9 Characteristic substances information obtained from honey selection of wild rose honey

差异代谢物中文名称	差异代谢物英文名称	ID	化学式	化学结构
半齿泽兰素	Eupatorine	pos_103	C ₁₈ H ₁₆ O ₇	
N1、N5、N10、N14-四反式-对-三甲基亚精胺	N1,N5,N10,N14-Tetra-trans-p-coumaroylspermine	pos_60	C ₃₄ H ₃₇ N ₃ O ₆	
丙烯酸	Goyazensolide	pos_38	C ₁₉ H ₂₀ O ₇	

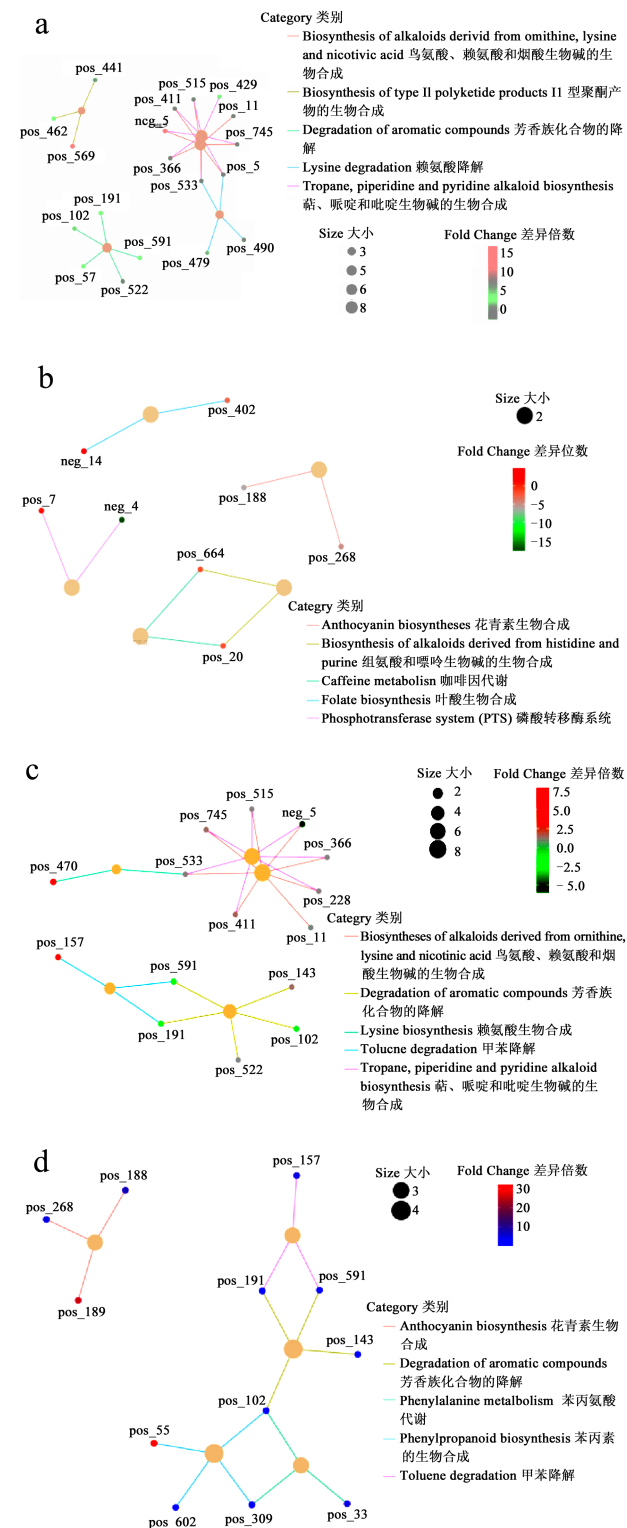
2.2.3.3 SCMs 的 KEGG 分析

蓝莓蜜与荆条蜜、蓝莓蜜与野桂花蜜、蓝莓蜜与野蔷薇蜜中 SCMs 分别富集到 109、60、65 条信号通路上。蓝莓蜜与荆条蜜显著富集前 5 的包括鸟氨酸、赖氨酸和烟酸衍生生物碱的生物合成 (ko ID : ko01064 ; p -value : 0.01)、芳香族化合物降解 (ko ID : ko01220 ; p -value : 0.11) 等信号通路 (图 5a)。喜树碱作为天然癌症治疗药物^[25]。可抑制肿瘤生长^[26]。本次检测到喜树碱 (Name : Camptothecin ; ID : pos_703) 富集到莽草酸途径生物碱生物合成、抗肿瘤药 - 天然产物中的药物信号通路, 在蓝莓蜜、野蔷薇蜜、野桂花蜜、荆条蜜中的归一化强度分别为 6.40×10^{-5} 、 6.00×10^{-5} 、 8.42×10^{-5} 、 3.57×10^{-5} , 因此推测, 蓝莓蜜、野蔷薇蜜在抗菌、抗肿瘤等方面发挥作用。

蓝莓蜜与野桂花蜜显著富集前 5 的信号通路包括咖啡因代谢 (ko ID : ko00232 ; p -value : 0.06)、花青素生物合成 (ko ID : ko00942 ; p -value : 0.06) 等 (图 5b)。查找检测结果中 $\log_2FC$ 值, 其中花色素、天竺葵素 (Name : Pelargonin ; ID : pos_188) 富集在花青素代谢信号通路, 均下调表达。橙皮苷 (Name : Neohesperidin ; ID : pos_422) 上调表达。花青素、花色素等^[27]可抑制油脂性过氧化物的全阶段溢出, 这种抗氧化作用能阻止细胞退化和衰老, 还能阻止癌症发生^[28,29], 综上, 野蔷薇蜜、蓝莓蜜可能在抗氧化、抗衰老及提高免疫力等作用较好。蓝莓蜜与野蔷薇蜜中的显著 SCMs 显著富集的有嘧啶代谢 (ko ID : ko00240 ; p -value : 0.01)、亚油酸代谢 (ko ID : ko00591 ; p -value : 0.09) 等信号通路 (图 5c)。

野蔷薇蜜与荆条蜜、野蔷薇蜜与野桂花蜜的 SCMs 分别富集到 112、68 条信号通路。野蔷薇蜜与荆条蜜显著富集前 5 的甲苯降解 (ko ID : ko00623 ; p -value : 0.05) 和鸟氨酸、赖氨酸和烟酸衍生生物碱的生物合成 (ko ID : ko01064 ; p -value : 0.02) 等信号通路 (图 5d)。野蔷薇蜜与野桂花蜜 SCMs 显著富集前 5 的信号通路花青素代谢 (ko ID : ko00942 ; p -value : 0.05) 信号通路上富集的天竺葵素、花色素、紫葡萄色素 (Name : Oenin ; ID : pos_189) 代谢物均上调表达 (图 5e)。脂肪酰基类富集的 SCMs 数量均位于前 5, 脂肪酰基类包

括脂肪酸和脂肪酰类, 可调节肠道微生物丰富度以及提高免疫力^[30], 因此, 在不同种类蜂蜜中脂肪酰含量差异较大, 蜂蜜种类在维持肠道微生物的稳定存在差异。



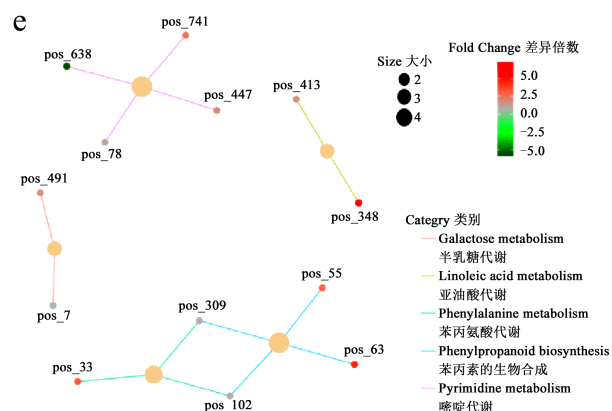


图5 不同组别 KEGG 通路显著富集前 5 的代谢通路
Fig.5 KEGG pathway(A-E) of different groups of SCMs
enrich the top 5 metabolic pathways

注：a~e 分别为蓝莓蜜 vs 荆条蜜、蓝莓蜜 vs 野桂花蜜、
蓝莓蜜 vs 野蔷薇蜜、野蔷薇蜜 vs 荆条蜜、野蔷薇蜜 vs 野
桂花蜜 KEGG 通路显著富集前 5 代谢通路。

3 结论

本次研究采用 LC-MS 技术非靶向代谢组学对贵州省内 4 种中蜂蜜检测和分析。共检测到 ACh、花色素、天竺葵素、喜树碱等 817 个代谢物，这些代谢物分别富集到氨基酸生物合成、脂肪酸代谢、酚类等 364 条信号通路上，ACh 在 4 种蜂蜜均有检测出，且同时富集在唾液分泌、胃酸分泌通路上。筛选到蓝莓蜜与荆条蜜、蓝莓蜜与野桂花蜜、蓝莓蜜与野蔷薇蜜、野蔷薇蜜与荆条蜜、野蔷薇蜜与野桂花蜜的 SCMs 分别为 336、165、167、270、247 个。对 SCMs 富集和差异分析，苯丙氨酸-苏氨酸、3-羟基-4-甲氧基苯乙烯酸被鉴定为蓝莓蜜的特征性物质；野蔷薇蜜中 N1、N5、N10、N14-四反式-对-三甲基亚精胺、半齿泽兰素、2-丙烯酸及吡啶及其衍生物类和甘油磷脂类可作为特征性物质。

参考文献

- [1] ALLEN-WARDELL G, BERNHARDT P, BITNER R, et al. The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields [J]. Conservation Biology, 1998, 12(1): 8-17.
- [2] OUCHEMOUKH S, SCHWEITZER P, BEY B M, et al. HPLC sugar profiles of Algerian honeys [J]. Food Chemistry, 2009, 121(2): 561-568.
- [3] ALVAREZ-SUAREZ J M, TULIPANI S, DIAZ D, et al. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral

Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds [J]. Food and Chemical Toxicology, 2010, 48(8-9): 2490-2499.

- [4] DAVIDE B, MASSIMO L, GIULIA P, et al. Detection of honey adulteration by sugar syrups using one-dimensional and two-dimensional high-resolution nuclear magnetic resonance [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(15): 8495-8501.
- [5] SANZ M, SANZ J, MARTINEZ-CASTRO I. Gas chromatographic-mass spectrometric method for the qualitative and quantitative determination of disaccharides and trisaccharides in honey [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1059(1-2): 143-148.
- [6] ALONSO A, MARSAL S, JULIA A. Analytical methods in untargeted metabolomics: state of the art in 2015 [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 2015, 3: 1-20
- [7] BINO J R, HALL D R, FIEHN O, et al. Potential of metabolomics as a functional genomics tool [J]. Trends in Plant Science, 2004, 9(9): 418-425.
- [8] 沈崇钰,郭思言,丁涛,等.全自动在线固相萃取-液相色谱-高分辨质谱法测定麦卢卡蜂蜜中的特征标志物[J].色谱, 2017,35(10):1068-1072.
- [9] 严丽娟,徐敦明,薛晓峰,等.基于液相色谱-高分辨质谱的代谢组学技术用于麦卢卡蜂蜜的甄别[J].色谱,2019, 37(6):589-596.
- [10] 沈旻,杨奕,王晶波,等.基于超高效液相色谱-四极杆飞行时间质谱的非靶向代谢组学用于不同来源单花蜜的差异分析[J].色谱,2021,39(3):291-300.
- [11] JANDRC Z, FREW R, FERNANDEZ-CEDI L, et al. An investigative study on discrimination of honey of various floral and geographical origins using UPLC-QToF MS and multivariate data analysis [J]. Food Control, 2017, 72: 189-197.
- [12] KOULIS G A, TSAGKARIS A S, AALIZADEH R, et al. Honey phenolic compound profiling and authenticity assessment using HRMS targeted and untargeted metabolomics [J]. Molecules, 2021, 26(9): 1-21.
- [13] TOBIAS K, GERT W, YUP D L, et al. FiehnLib: mass spectral and retention index libraries for metabolomics based on quadrupole and time-of-flight gas chromatography/mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(24): 10038-10048.
- [14] DUNN B W, DAVID B, PAUL B, et al. Procedures for large-scale metabolic profiling of serum and plasma using gas chromatography and liquid chromatography coupled to mass spectrometry [J]. Nature Protocols, 2011, 6(7): 1060-1083.
- [15] YU G, WANG L, HAN Y, et al. Clusterprofiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. OMICS: A Journal of Integrative Biology, 2012, 16(5): 284-

- 287.
- [16] CHONG J, XIA J. Metaboanalyst R: an R package for flexible and reproducible analysis of metabolomics data [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(24): 4313-4314.
- [17] HARTMANN E. Acetylcholine as a signaling system in plants [J]. *Second Messengers in Plant Growth & Development*, 1989, 6: 257-287.
- [18] WHITTAKER V P, SHERIDAN M N. The morphology and acetylcholine content of isolated cerebral cortical synaptic vesicles [J]. *Journal of Neurochemistry*, 2010, 12(5): 363-372.
- [19] ALISSANDRAKIS E, TARANTILIS A P, HARIZANIS C P, et al. Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic-mass spectrometric analysis [J]. *Food Chemistry*, 2005, 100(2007): 396-404.
- [20] MOTA-MARTORELL N, PRADAS L, JOVE M, et al. Biosíntesis de novo de glicerofosfolípidos y longevidad [J]. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, 2019, 54(2): 88-93.
- [21] FRISARDI V, PANZA F, SERIPA D, et al. Glycerophospholipids and glycerophospholipid-derived lipid mediators: a complex meshwork in Alzheimer's disease pathology [J]. *Progress in Lipid Research*, 2011, 50(4): 313-330.
- [22] MONIER M, EL-MEKABATY A, ABDEL-LATIF D, et al. Heterocyclic steroids: Efficient routes for annulation of pentacyclic steroidal pyrimidines [J]. *Steroids*, 2019, 154(6): 108548.
- [23] RUEHLMANN D O, MANN G E. Rapid non-genomic vasodilator actions of oestrogens and sex steroids [J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2000, 7(5): 533-541.
- [24] 栗有志, 谢丽琼, 王强, 等. 4种新疆单花蜜挥发性成分的SPME-GC-MS分析[J]. *食品科学*, 2010, 31(24): 293-299.
- [25] WEN L R, JIANG Y M, YANG J L, et al. Structure, bioactivity, and synthesis of methylated flavonoids [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2017, 1398(1): 120-129.
- [26] WU G Z, MAI X Y, LIU F, et al. Synthesis of novel 10, 11-methylenedioxy-camptothecin glycoside derivatives and investigation of their anti-tumor effects *in vivo* [J]. *RSC Advances*, 2019, 9(20): 11142-11150.
- [27] GUO Y, LIU H, XIAO H, et al. Self-assembled camptothecin derivatives-curcuminoids conjugate for combinatorial chemophotodynamic therapy to enhance anti-tumor efficacy [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 2021, 215: 1-8.
- [28] ZHANG P L, LIU S, ZHAO Z G, et al. Enzymatic acylation of cyanidin-3-glucoside with fatty acid methyl esters improves stability and antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2021, 343: 1-32.
- [29] CARVALHO C C R D, JOSÉ M C. The various roles of fatty acids [J]. *Molecules*, 2018, 23(10): 1-36.
- [30] Yawei F, YADONG W, HU G, et al. Associations among dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids, the gut microbiota, and intestinal immunity [J]. *Mediators of Inflammation*, 2021, 2021: 1-11.