

本文引文格式:曹富,刘慧娟,胡叶青,等.基于 UHPLC-Q Exactive MS 技术的不同产地核桃仁代谢物差异分析[J].右江民族医学院学报,2026,48(3):442-448.

【中医药现代研究】

基于 UHPLC-Q Exactive MS 技术的 不同产地核桃仁代谢物差异分析

曹富,刘慧娟,胡叶青,杨莹,吴昆

(安庆医药高等专科学校,安徽 安庆 246052)

摘要:目的 探讨不同产地核桃仁中代谢物的差异,明确其品质差异的物质基础,为核桃仁的品质评价、道地性研究及功能产品开发提供科学依据。方法 本研究以 10 个不同产地的核桃仁样品为研究材料,采用超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱高分辨质谱(UHPLC-Q Exactive MS)技术进行非靶向代谢组学分析,结合正交偏最小二乘法判别分析等多元统计方法筛选差异代谢物,并通过人类代谢数据库(HMDB)进行代谢物分类,基于 KEGG 数据库进行代谢通路富集分析。结果 共鉴定出 834 种化合物,其中 579 种代谢物经 HMDB 定性分类,涵盖 13 个化学类别,脂质和类脂化合物占比最高,达 25.22%。层次聚类分析显示,不同地理来源的核桃仁在代谢物组成上具有显著的地域关联性和差异性。KEGG 通路富集分析表明,赖氨酸降解、类黄酮生物合成、苯丙氨酸代谢等为主要差异代谢通路,提示不同产地核桃仁代谢特征具有复杂性与多样性。结论 本研究通过 UHPLC-Q Exactive MS 代谢组学技术,明确了不同产地核桃仁在代谢物组成上的显著地域差异及主要差异代谢通路,为核桃仁的品种选育、产地溯源及品质评价提供了科学依据,同时也为掺假核桃的鉴别及质量控制体系的建立提供了潜在的技术参考。

关键词:核桃仁;液质联用仪;代谢组学;通路富集

中图分类号:R282.71

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2026)03-0442-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2026.03.017

Analysis of differential metabolites of walnut kernels from different geographical origins based on UHPLC-Q Exactive MS technology

CAO Fu, LIU Huijuan, HU Yeqing, YANG Ying, WU Kun

(Anqing Medical College, Anqing 246052, Anhui, China)

Abstract: **Objective** To investigate the metabolite differences in walnut kernels from different geographical origins, elucidate the material basis underlying their quality variations, and provide a scientific foundation for quality evaluation, geo-authenticity research, and functional product development of walnut kernels.

Methods In this study, walnut kernel samples from 10 different geographical origins were used as experimental materials and subjected to untargeted metabolomic analysis using ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole/electrostatic field Orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC-Q Exactive MS) for untargeted metabolomic analysis. Differential metabolites were screened using multivariate statistical methods including orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). Metabolites were classified via the Human Metabolome Database (HMDB), and metabolic pathway enrichment analysis was per-

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(2024AH051139);安庆医药高等专科学校科研创新团队(KCTD202401)

第一作者:曹富,硕士,讲师,研究方向:中药质量分析,E-mail:1074535178@qq.com

通讯作者:刘慧娟,硕士,副教授,研究方向:药物分析,E-mail:443865864@qq.com

formed based on the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) database. **Results** A total of 834 compounds were identified, of which 579 metabolites were qualitatively classified through HMDB, covering 13 chemical categories. Lipids and lipid-like molecules accounted for the highest proportion at 25.22%. Hierarchical cluster analysis (HCA) revealed significant geographical correlations and differences in metabolite composition among walnut kernels from different origins. KEGG pathway enrichment analysis indicated that lysine degradation, flavonoid biosynthesis, and phenylalanine metabolism were the principal differential metabolic pathways, suggesting the complexity and diversity of metabolic characteristics across geographical origins.

Conclusion This study, employing UHPLC-Q Exactive MS-based metabolomics, identified significant geographical differences in metabolite composition and key differential metabolic pathways among walnut kernels from different origins. These findings provide a scientific basis for cultivar breeding, geographical traceability, and quality evaluation of walnut kernels, and offer potential technical reference for the identification of adulterated walnuts and the establishment of quality control systems.

Key words: walnut kernels; liquid chromatography-mass spectrometry; metabolomics; pathway enrichment

核桃仁为胡桃科植物胡桃 *Juglans regia* L. 的干燥成熟种子,在中国有着悠久的栽培历史和广泛的分布范围。作为一种典型的药食两用型中药材,核桃仁不仅在传统中医药领域占据重要地位,同时在日常饮食中也被广泛使用。研究表明,核桃仁富含脂肪酸、蛋白质等多种营养成分^[1-2]。核桃仁的品质受到品种、产地、气候等因素的影响,为了更好地挖掘核桃仁的潜在利用价值,针对其代谢物进行深入分析显得尤为重要。这不仅帮助大家更全面地了解核桃仁的营养价值,还能为其在食品加工、医药开发等领域的应用提供科学依据,从而推动这一天然资源的高效利用与产业化发展。

代谢组学是一种依托高通量技术,对生物体内所有小分子代谢物进行整体研究的方法^[3-4]。当前,在代谢组学研究领域中,最为普遍应用的技术手段主要是以液相色谱与质谱联用为基础的代谢组学分析技术。刘新月等^[5]运用超高效液相色谱—四极杆飞行时间质谱联用仪(UHPLC-Q-TOF-MS)技术,分析不同产地蒲公英中小分子代谢物的种类及差异,解析其代谢物的组成特征。LI C R 等^[6]利用液相色谱—四极杆飞行时间质谱联用仪(LC-Q-TOF-MS)技术结合非靶向代谢组学对两种主要山楂属植物进行化学表征和鉴别。黄士财等^[7]采用 UHPLC-Q-TOF-MS/MS 技术结合非靶向代谢组学研究黄连碱对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎模型小鼠内源性代谢物的影响,并探讨其可能的作用机制。

因此,本研究拟用 UHPLC-Q Exactive MS 技术,结合非靶向代谢组学方法,针对来自我国 10 个不同产地(云南大理、四川成都、安徽宣城、陕西商洛、甘肃陇南、新疆阿克苏、新疆阿拉尔、河北邯郸、辽宁丹东、黑龙江哈尔滨)的核桃仁样品开展系统性的代谢物分析。

鉴于云南是我国核桃的主要产区^[8],本研究将云南大理核桃设为对照组,与其他产地核桃仁进行差异代谢物的比较分析,期望借此揭示不同产地核桃仁在代谢物组成方面的特异性差异,同时为核桃仁的道地性评价、优质品种选育以及功能产品开发奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 样品 10 份,产地(编号)分别为云南大理(YN)、四川成都(SC)、安徽宣城(AH)、陕西商洛(SX)、甘肃陇南(GS)、新疆阿克苏(XJ-AKS)、新疆阿拉尔(XJ-ALE)、河北邯郸(HB)、辽宁丹东(LN)、黑龙江哈尔滨(HLJ)。L-2-氯苯丙氨酸(纯度 $\geq 98\%$,上海阿达玛斯试剂有限公司);甲醇、乙腈(色谱纯,Fisher Chemical 公司);甲酸(色谱纯,德国 CNW 公司);水为超纯水。

1.2 仪器与设备 超高效液相色谱—四极杆轨道阱质谱仪(赛默飞世尔科技有限公司);SBL-10TD 型控温超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);NewClassic MS 型电子天平(梅特勒—托利多公司);LNG-T88 型台式快速离心浓缩干燥器(太仓市华美生化仪器厂);Centrifuge 5424 R 型冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);Wonbio-96c 型冷冻研磨仪(上海万柏生物科技有限公司);JXDC-20 型氮气吹扫仪(上海净信实业发展有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 样品处理 精确称取 100 mg 样品至 2 mL 离心管中,加入一颗直径 6 mm 的研磨珠;加入 400 μ L 提取液[甲醇:水=4:1(v:v)],含内标(L-2-氯苯丙氨酸(0.02 mg/mL)等;用冷冻组织研磨仪研磨 6 min (-10°C , 50 Hz);随后在 5°C 的条件下进行 30 min 的低温超声提取。将样品放置于 -20°C 条件下静置 30 min,然后进行 15 min 离心($13\ 000\times g$, 4°C),将上清

液移至带有内插管的样本瓶中用于后续分析。从每个样本取出 20 μ L 上清液,混合用作质控样本。

1.3.2 液相色谱与质谱检测条件 色谱条件:采用 ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(100 mm $\times$ 2.1 mm i. d., 1.7 μ m; Waters, Milford, USA);流动相包含 A、B 两相,均添加 0.1% 甲酸,其中 A 相为 2% 乙腈水溶液,B 相为乙腈溶液;进样量设定为 3 μ L,柱温维持在 40 $^{\circ}$ C。梯度洗脱程序为:0~0.5 min,2% B;0.5~3.5 min,2%~25% B;3.5~7.5 min,25%~35% B;7.5~11 min,35%~50% B;11~13 min,50%~95% B;13~14.5 min,95%~2% B;14.5~16 min,2% B。质谱参数:加热电喷雾离子源(HESI),正、负离子检出模式,扫描范围为 70~1 050 m/z;鞘气流速设定为 50 arb,辅助气流速为 13 arb;加热温度为 450 $^{\circ}$ C;毛细管温度为 320 $^{\circ}$ C;喷雾电压在正模式下为 3.5 kV,在负模式下为 3 kV;分辨率:70 000/17 500;碰撞能梯度为 20 eV、40 eV、60 eV。

1.4 统计学方法 样品经 UHPLC-Q-Exactive-MS 检测后,得到样品的总离子流图,并将 .raw 格式的初始数据输入到代谢组学处理工具 ProgenesisQI v3.0 (Waters Corporation, Milford, USA)中,进行了如峰对齐、峰抽取、峰确认和峰消除等数据操作。接着使用此软件执行了特征峰搜索及鉴定的任务,通过比较 MS

和 MS/MS 质谱的信息与美吉自建中药专属代谢物数据库(MJBIOTCM),设定 MS 质量偏移值<10 ppm,并且依据二级质谱匹配评分来确定代谢物质。为评估代谢物差异显著性,筛选同时 Fold changes $\geq$ 2 或 Fold changes $\leq$ 0.5,VIP>1 和 $P < 0.05$ 的变量认定为差异代谢物。借助热图呈现差异代谢物的聚类特征,同时进行差异代谢物的通路富集分析,筛选条件设定为 $P < 0.05$ 且 Impact>0.1,据此明确差异代谢物所涉及的关键代谢通路。

2 结果

2.1 不同产地核桃仁代谢物鉴定与比较 不同产地核桃仁样品总离子流图,见图 1。采用上海美吉生物医药公司自建数据库进行代谢物匹配鉴定。删除缺失值>50%的离子峰后,对代谢物进行分类鉴定统计,筛选不同产地核桃仁中的活性代谢物。通过上述鉴定流程,利用保留时间、质荷比及一级、二级离子碎片与数据库比对,从不同产地核桃仁中共鉴定出 834 种化合物,通过人类代谢数据库(HMDB)鉴定到 579 种代谢物。基于 HMDB 的分类标准,这些代谢物涵盖了 13 个化学类别,见图 2。其中,脂质和类脂化合物数量最多,共鉴定出 146 种,占总代谢物的 25.22%;不同产地核桃仁样品中,这些差异为揭示产地环境对其化学成分的影响奠定了丰富的物质基础。

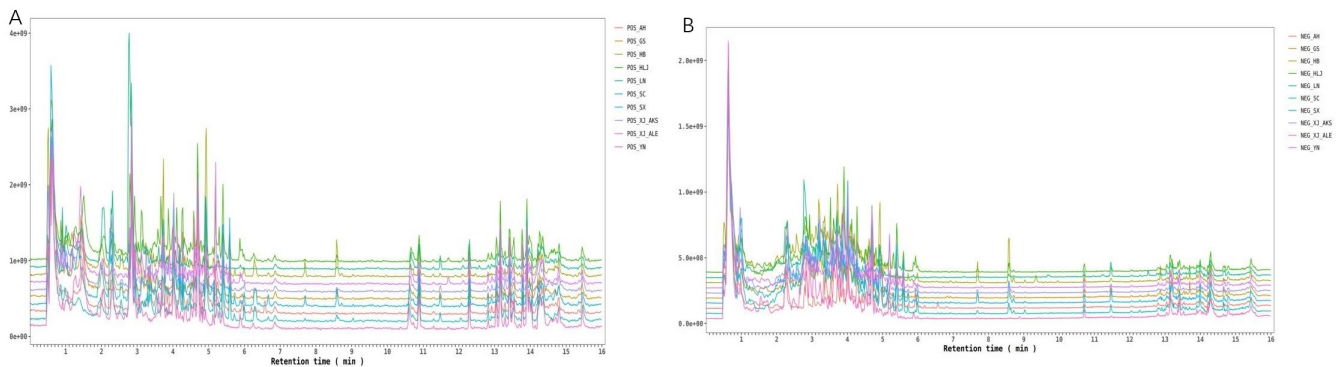


图 1 不同产地核桃仁样品正(A)、负(B)离子模式总离子流叠加图

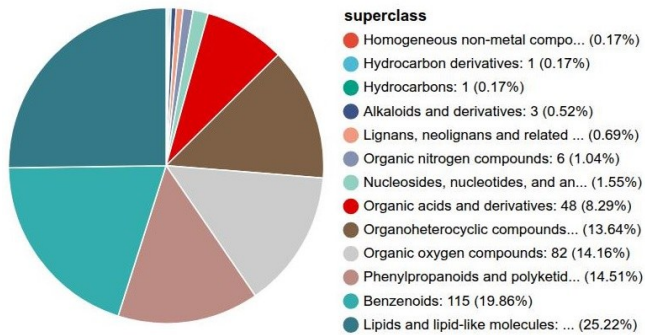


图 2 化合物分类图

2.2 不同产地核桃仁的差异代谢物分析 根据正交偏最小二乘法模型中 VIP $\geq$ 1, $P < 0.05$ 以及 FC $\geq$ 2 和 FC<0.5 的变量,分别将黑龙江哈尔滨(HLJ)、四川成都(SC)、安徽宣城(AH)、陕西商洛(SX)、甘肃陇南(GS)、新疆阿克苏(XJ-AKS)、新疆阿拉尔(XJ-ALE)、河北邯郸(HB)、辽宁丹东(LN)与云南大理(YN)的核桃仁进行比较,筛选差异代谢物。对所有差异代谢物进行归类统计,结果见表 1,这些差异代谢物主要涵盖脂质和类脂化合物、有机氧化合物、有机酸及其衍生物、苯丙素和聚酮类、核苷酸及其衍生物等多个类别。

表 1 差异代谢物分类分析

代谢物类别	差异代谢物数量占比/%								
	HLJ vs YN	SC vs YN	AH vs YN	SX vs YN	GS vs YN	XJ-AKS vs YN	XJ-ALE vs YN	HB vs YN	LN vs YN
Lipids and lipid-like molecules	15(27.27)	39(29.55)	31(18.34)	38(29.23)	36(33.33)	34(28.10)	17(47.22)	44(30.77)	43(25.90)
Organic oxygen compounds	10(18.18)	22(16.67)	22(13.02)	18(13.85)	19(17.59)	20(16.53)	3(8.33)	18(12.59)	24(14.46)
Phenylpropanoids and polyketides	10(18.18)	30(22.73)	58(34.32)	24(18.46)	21(19.44)	27(22.31)	8(22.22)	34(23.78)	34(20.48)
Organoheterocyclic compounds	8(14.55)	15(11.36)	19(11.24)	16(12.31)	12(11.11)	15(12.40)	2(5.56)	16(11.19)	19(11.45)
Benzenoids	6(10.91)	19(14.39)	29(17.16)	22(16.92)	11(10.19)	18(14.88)	4(11.11)	16(11.19)	28(16.87)
Organic acids and derivatives	4(7.27)	5(3.79)	7(4.14)	10(7.69)	5(4.63)	6(4.96)	2(5.56)	12(8.39)	12(7.23)
Lignans,neolignans and related compounds	1(1.82)	—	—	—	—	—	—	1(0.70)	1(0.60)
Nucleosides,nucleotides,and analogues	1(1.82)	2(1.52)	2(1.18)	2(1.54)	3(2.78)	—	—	2(1.40)	3(1.81)
Organic nitrogen compounds	—	—	1(0.59)	—	—	—	—	—	—
Alkaloids and derivatives	—	—	—	—	1(0.93)	1(0.83)	—	—	1(0.60)
Hydrocarbon derivatives	—	—	—	—	—	—	—	—	1(0.60)
总计	55(100)	132(100)	169(100)	130(100)	108(100)	121(100)	36(100)	143(100)	166(100)

注：“—”表示样本没有检测到该组分。

通过韦恩图直观呈现各组差异代谢物的关联模式,以及不同组别间共有与特有差异代谢物的具体数量分布。由图 3 可知,所有组共有的差异代谢物有 8 种,分别为:6-Hydroxykynurenic acid、P-Hydroxy-cinnamic acid、Eseramine、穿心莲内酯苷、D-sorbitol、醋酸冰片酯、草木犀苷、芍药犀苷。其中 HB vs YN 间存在 8 种共有差异活性代谢物(紫苏烯、阿格拉宾、棕榈油酸、大血藤皂苷 D、十五烷醛、1-naphthol、Vulgarin、Corchorifatty acid F),LN vs YN 中有 61 种活性代谢物(如葫芦巴碱、1,3 -二甲氧基苯、原儿茶醛、去乙酰氧母菊素等),SX vs YN 中有 9 种活性代谢物(2-金刚烷酮、乙酰乌索酸、Gajutsulactone A、密叶辛木素、1 -苯基- 2 -丁酮、L-arginine、昆布氨酸、原儿茶酸、京尼平苷酸),XJ -AKS vs YN 中有 8 种活性代谢物(3-methyl-histidine、松柏醇、Deoxyelephantopin、3, 4-dimethyl-benzoic acid、乌头酸、5 ’- O -β - D -葡萄糖吡哆醇、γ-undecalactone、十一碳二元酸),XJ- ALE vs YN 中有 3 种活性代谢物(Caryophyllene oxide、乙基甲基马来酰亚胺、癸二酸),AH vs YN 中有 56 种活性代谢物(如吡哆醇、甲基麦冬黄烷酮 A、金缕梅单宁、芥子醇等),SC vs YN 中有 8 种活性代谢物(四氢叶酸酰-L-谷氨酰、石斛碱、莪术萜酮二醇、莪术醇、α-methylene-gamma-butyrolactone、黄颜木素、儿茶素、帕拉金糖),HLJ vs YN 中有 1 种活性代谢物(布雷菲德菌素 A),GS vs YN 中有 5 种活性代谢物(肌氨酸、脱水穿心莲内酯、Sibiricose A3、4-Aminobenzoic acid、去甲基蟛蜞内酯)。

2.3 差异代谢物聚类分析 为直观呈现不同产地核桃仁差异代谢物的表达模式及样本间的相似性与差异性,本研究基于所有筛选出的差异代谢物的相对含量

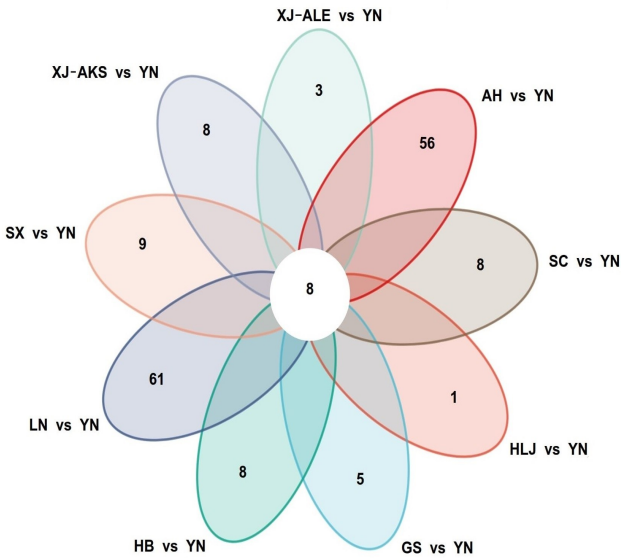


图 3 不同产地核桃仁差异代谢物的韦恩图

数据,采用欧氏距离作为距离度量方法,通过组间平均连接法进行层次聚类分析,并绘制热图,见图 4。从样本聚类结果来看,黑龙江哈尔滨(HLJ)、云南大理(YN)和新疆阿拉尔(XJ-ALE)聚为一类;陕西商洛(SX)、四川成都(SC)、新疆阿克苏(XJ-AKS)、甘肃陇南(GS)、河北邯郸(HB)聚为一类;辽宁丹东(LN)、安徽宣城(AH)单独为一类,说明其差异代谢物的表达特征与其他产地存在较为明显的独特性。不同地理来源的核桃仁在代谢物组成上存在显著的地域关联性和差异性,为后续深入解析特定产地核桃仁的特征性代谢物及其形成机制提供了有力的依据。从图 4 可以看出,安徽宣城(AH)、新疆阿克苏(XJ-AKS)、甘肃陇南(GS)、河北邯郸(HB)、四川成都(SC)、陕西商洛(SX)产地 L-Ascorbic acid-2-glucoside、Dihydroactinidiolide、Valerophenone2-buten-1-one, Senkyunolide H、

Senkyunolide F、Beta-Thujaplicin、3-Butyldenephthalide、Pseudoionone、Narchinol A、 α -Ionone、 α -Cyclogeraniol acetate、L-arginine、Pogostone、Blumenol B、Rehmannioside C 等代谢物呈现上调趋势。新疆阿拉尔(XJ-ALE)、黑龙江哈尔滨(HLJ)、云南大理(YN)产地 Tryptophol、Cnidioside A、D-Pipecolic acid、Xanthatin、Menthofuran、3,4-Dimethylstyrene、Leucodin、Curcumenolactone C、Secologanic acid、Isomucronulatol 7-O-glucoside、Ginkgolide B、Icosatrienoic acid、Herniarin、Caffeic acid hexoside 等代谢物呈现上调趋势。辽宁丹东(LN)和新疆阿克苏(XJ-AKS)两个产地代谢物 stachyose 呈现显著上升趋势,而在安徽宣城(AH)、1,2,3-tri-O-galloyl-beta-D-gluc、1,6-bis-O-galloyl-beta-D-gluc、1,3,6-tri-O-galloyl-beta-D-gluc、Pyridoxine、Methylophipogonanone A 等代谢物呈现下降趋势,云南大理(YN)中代谢物 L-Ascorbic acid-2-glucoside、Dihydroactinidiolide、Valerophenone2-buten-1-one、Senkyunolide H、Senkyunolide F、 β -Thujaplicin 呈现显著下降趋势。

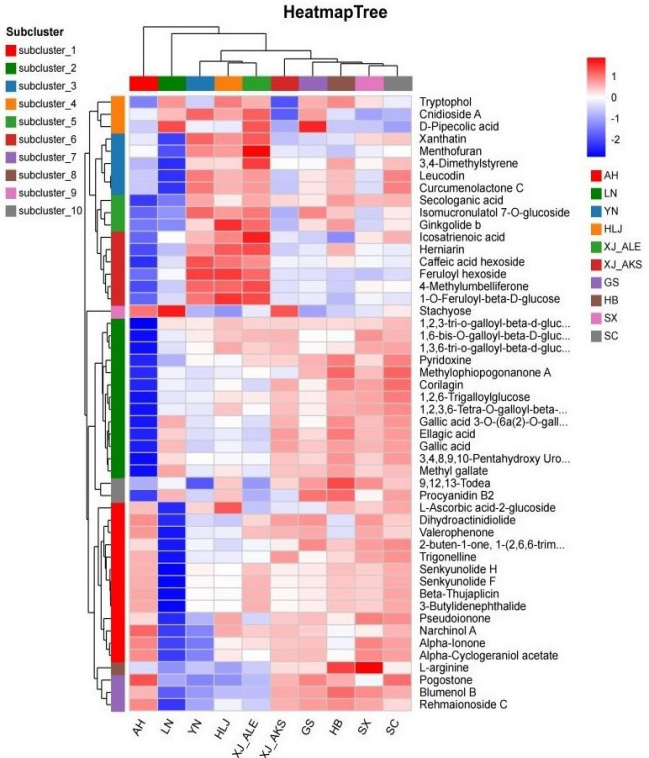
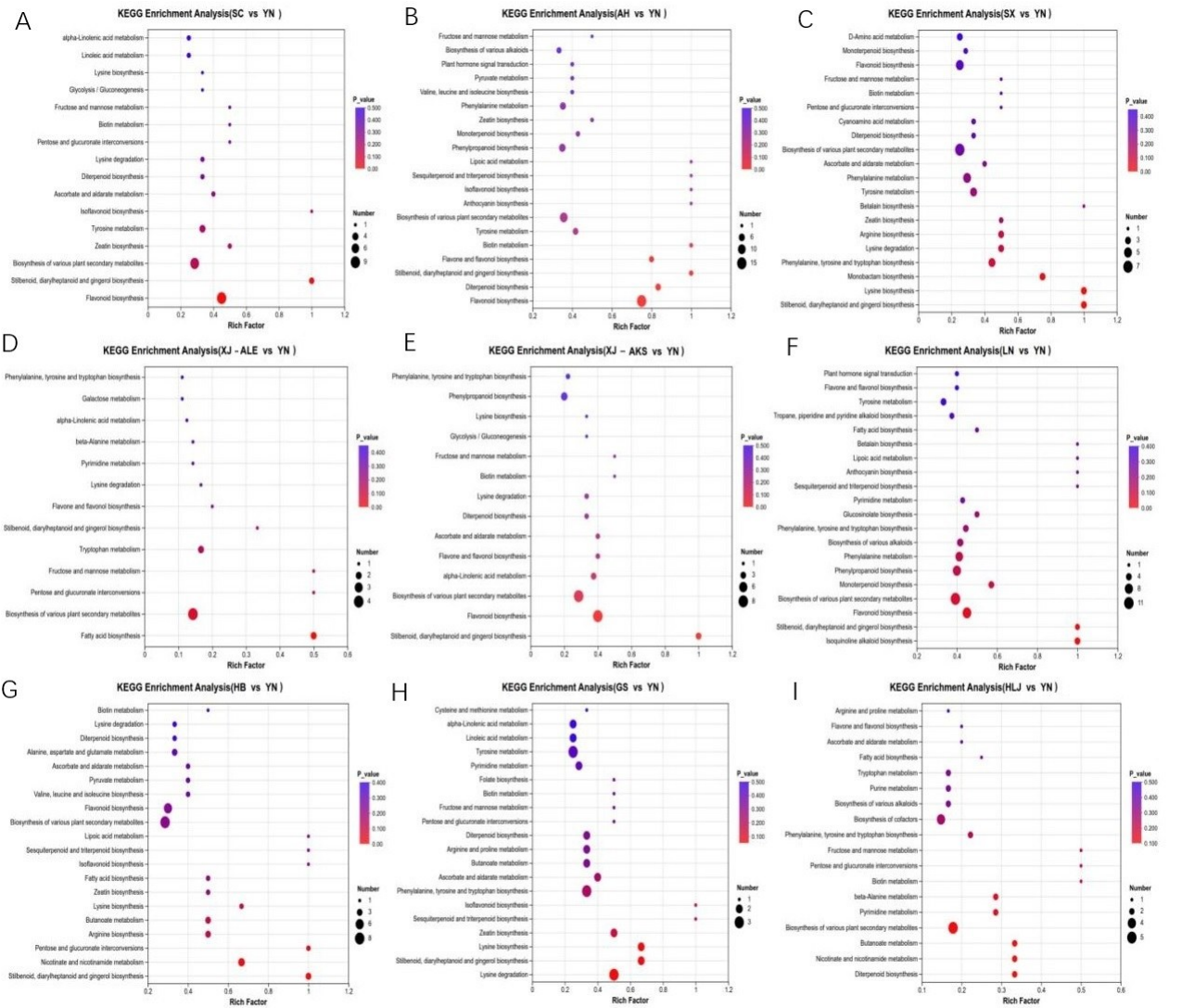


图 4 差异代谢物聚类分析热图

2.4 差异化合物通路富集分析 随后根据 $P < 0.05$ 、Impact > 0.1 对不同代谢途径进行富集分析,由图 5 可知,SC vs YN 代谢通路主要由脂肪酸生物合成,戊糖和葡萄糖醛酸相互转化,烟酸和烟酰胺代谢,苯丙氨

酸、酪氨酸和色氨酸生物合成,二萜生物合成,各种植物次生代谢产物的生物合成等,其具有显著差异代谢通路的是烟酸、烟酰胺代谢和二萜生物合成。ABC 转运蛋白、酪氨酸代谢、二萜生物合成、苯丙氨酸代谢、苯丙烷生物合成、各种植物次生代谢产物的生物合成、类黄酮生物合成是 AH vs YN 的主要代谢通路。而黄酮和黄酮醇生物合成,二苯乙烯、二芳基庚烷类和姜酚生物合成,类黄酮生物合成代谢通路具有显著差异。SX vs YN 的代谢通路包括异喹啉生物碱生物合成、泛醌和其他萜类醌生物合成、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、光合生物的固碳作用、硫胺素代谢等。果糖和甘露糖代谢,二苯乙烯、二芳基庚烷类和姜酚生物合成,氨酰基 tRNA 生物合成展现显著性差异。LN vs YN 包括苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成,赖氨酸生物合成,角质素、软木脂和蜡质生物合成,泛醌和其他萜类醌生物合成,缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解,硫胺素代谢,果糖和甘露糖代谢等代谢通路。单萜生物合成、异喹啉生物碱生物合成、类黄酮生物合成、各种植物次生代谢产物的生物合成成为其主要代谢通路。HB vs YN 的代谢通路有柠檬酸盐循环(TCA 循环),硫代葡萄糖苷生物合成,植物激素信号转导,氧化磷酸化、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解,生物素代谢,硫辛酸代谢,倍半萜和三萜生物合成。戊糖和葡萄糖醛酸相互转化,二苯乙烯、二芳基庚烷类和姜酚生物合成以及烟酸和烟酰胺代谢是其主要代谢通路。GS vs YN 代谢通路类型有果糖和甘露糖代谢、生物素代谢叶酸生物合成、异黄酮生物合成、二萜生物合成、玉米素生物合成等。其中赖氨酸降解代谢通路为其主要代谢途径。HLJ vs YN 代谢通路类型有核苷酸代谢,生物素代谢,酪氨酸代谢,半乳糖代谢,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, α -亚麻酸代谢,精氨酸和脯氨酸代谢。XJ-AKS vs YN 主要有丙酮酸代谢植物激素信号、转导组氨酸代谢、玉米素生物合成、糖酵解/糖原异生、生物素代谢、色氨酸代谢等代谢生物通路。二苯乙烯、二芳基庚烷类和姜酚生物合成,各种植物次生代谢产物的生物合成,类黄酮生物合成成为其主要代谢途径。XJ-ALE vs YN 代谢通路类型包括赖氨酸降解,二苯乙烯、二芳基庚烷类和姜酚生物合成,类黄酮生物合成,苯丙氨酸代谢,各种生物碱的生物合成,半乳糖代谢,苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成, α -亚麻酸代谢,嘧啶代谢, β -丙氨酸代谢,黄酮和黄酮醇生物合成,戊糖和葡萄糖醛酸相互转化等。而脂肪酸生物合成、各种植物次生代谢产物的生物合成成为其主要代谢途径。



注：图 A 为四川成都(SC)；图 B 为安徽宣城(AH)；图 C 为陕西商洛(SX)；图 D 为新疆阿拉尔(XJ-ALE)；图 E 为新疆阿克苏(XJ-AKS)；图 F 为辽宁丹东(LN)；图 G 为河北邯郸(HB)；图 H 为甘肃陇南(GS)；图 I 为黑龙江哈尔滨(HLJ)对比云南大理(YN)的代谢通路图。气泡大小代表不同富集显著性 P 大小，颜色越深 P 越小。

图 5 各不同产地核桃仁的代谢通路气泡图

3 讨论

本研究通过非靶向代谢组学方法对不同产地核桃仁的代谢物组成进行了系统分析,结果显示不同地理来源的核桃仁代谢物存在差异。从差异代谢物的数量来看,辽宁丹东(LN)与云南大理(YN)比较组差异活性代谢物多达 61 种,安徽宣城(AH)与云南大理(YN)比较组也有 56 种,而黑龙江哈尔滨(HLJ)与云南大理(YN)比较组仅 1 种,这表明核桃仁的代谢表型具有明显的地域特异性。这种地域差异可能是由于不同产地的气候条件(如温度、光照、降水),土壤类型,海拔高度以及栽培管理措施等综合因素共同作用的结果。进一步对共有差异活性代谢物的分析发现,HB vs YN 间存在 8 种共有差异活性代谢物,如紫苏烯、棕榈油酸等。其中,棕榈油酸作为一种单不饱和脂肪酸,具有多种生理活性,如调节脂质代谢、抗炎等^[9],其在不同产

地间的差异积累可能影响核桃仁的营养价值。而像葫芦巴碱在 LN vs YN 中被检测到,已有研究表明葫芦巴碱具有降血糖、抗肿瘤等活性^[10],其在辽宁丹东核桃仁中的富集,可能暗示该产地核桃仁在相关健康功效方面具有潜在优势。L-精氨酸在 SX vs YN 中被检出,它是一种条件必需氨基酸,参与体内多种重要生理过程,如免疫调节等^[11],其差异表达可能影响核桃仁的功能特性。

聚类分析结果将不同产地核桃仁样本分为几大类,黑龙江哈尔滨(HLJ)、云南大理(YN)和新疆阿拉尔(XJ-ALE)聚为一类,陕西商洛(SX)、四川成都(SC)、新疆阿克苏(XJ-AKS)、甘肃陇南(GS)、河北邯郸(HB)聚为一类,辽宁丹东(LN)和安徽宣城(AH)则单独成类,进一步验证了核桃仁代谢物组成的地域差异。热图分析直观展示了不同代谢物在各组中的表达

模式,例如,L-Ascorbic acid-2-glucoside、Senkyunolide H 等代谢物在陕西商洛(SX)、四川成都(SC)等地的上调,可能与这些产地核桃仁在神经调节、抗炎等^[12-13]方面的特性有关;而 Xanthatin、Herniarin 等在新疆阿拉尔(XJ-ALE)、黑龙江哈尔滨(HLJ)等地的高表达,则可能与这些产地核桃仁的抗炎、抗氧化等^[14-15]活性增强有关。Stachyose 在辽宁丹东(LN)和新疆阿克苏(XJ-AKS)的显著上升,以及 1,2,3-tri-O-galloyl- β -D-gluc 等在安徽宣城(AH)的下降,都为揭示不同产地核桃仁的独特代谢特征提供了重要线索。

研究表明,不同产地核桃仁中差异代谢物的通路类型多样,涵盖了氨基酸代谢、脂肪酸代谢、次生代谢产物合成等多个关键生理过程。其中,类黄酮作为一类重要的植物次生代谢产物,具有抗氧化等活性^[16],其生物合成通路在多个产地比较组(如 AH vs YN、LN vs YN、XJ-AKS vs YN)中呈现显著差异,提示不同地域环境可能通过调控类黄酮的合成来影响核桃仁的功能品质。此外,赖氨酸降解、苯丙氨酸代谢等氨基酸代谢通路的差异,不仅关系到核桃仁的氨基酸组成和营养价值,也可能通过前体物质的供应间接影响次生代谢产物的合成。这些通路的差异调控,共同构成了不同产地核桃仁代谢表型多样性的分子基础,也为理解环境因子如何塑造核桃仁品质提供了代谢层面的解释。

然而,本研究仅从代谢组学层面进行了分析,为进一步验证本研究发现的代谢物差异及通路调控机制,后期将针对关键差异代谢物(如棕榈油酸、葫芦巴碱等)进行靶向代谢组学分析,采用标准品对照的 LC-MS/MS 方法建立校准曲线,实现绝对定量验证,确保非靶向筛选结果的准确性。对于显著富集的代谢通路(如类黄酮生物合成、赖氨酸降解),可采用实时荧光定量 PCR 检测关键酶基因的表达水平,或通过蛋白质印迹法验证相关蛋白的活性变化,从转录和翻译水平揭示调控机制。这些研究将有助于深入阐明核桃仁代谢物地域差异的形成机制,为优质核桃仁的定向栽培和品质改良提供科学依据。

参考文献:

[1] 付超,肖轩瑞,白桐桐,等. 榨油温度对核桃饼粕蛋白组分结构影响研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2025, 45(10): 2960-2967.

[2] 张旋,方晓璞,杨学华,等. 我国不同产地核桃油与铁核桃油营养成分的分析比较[J]. 中国油脂, 2022, 47(5): 60-64.

[3] SHI J B, LIU X H, WANG N, et al. Comparative metabolomics analysis reveals the variation of metabolites associated with axillary bud development in upland cotton[J]. J Plant Growth Regul, 2023, 42(5): 3071-3083.

[4] 刘荣华,俞洪华,殷茜茜,等. LC-MS 在中药代谢组学中的应用进展[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(9): 183-191.

[5] 刘新月,王桂英,刘晓杰,等. 基于非靶向代谢组学分析不同种原蒲公英的代谢产物差异[J]. 中草药, 2025, 56(24): 9154-9164.

[6] LI C R, HOU X H, XU Y Y, et al. Manual annotation combined with untargeted metabolomics for chemical characterization and discrimination of two major *Crataegus* species based on liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2020, 1612: 460628. 3.

[7] 黄士财,谭冰艳,左颖,等. 基于非靶向代谢组学技术研究黄连碱治疗溃疡性结肠炎小鼠的机制研究[J]. 南京中医药大学学报, 2025, 41(12): 1724-1733.

[8] 国家林业和草原局. 中国林业和草原统计年鉴—2020 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2021.

[9] 蒋伟业,王舜禹,周雨静,等. 棕榈油酸防治非酒精性脂肪性肝病的研究进展[J]. 江苏大学学报(医学版), 2025, 35(3): 212-216, 256.

[10] 杨玲,马玉静,肖定福,等. 葫芦巴生物学功能研究进展及其应用[J]. 动物营养学报, 2020, 32(1): 62-70.

[11] 赛提尔古丽·克然木,钱蕾,丁思怡,等. 精氨酸代谢调控间充质干细胞功能的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2025, 45(7): 910-915.

[12] CHEN X, LIU R, LIU X M, et al. L-ascorbic Acid-2-Glucoside inhibits *Helicobacter pylori*-induced apoptosis through mitochondrial pathway in Gastric Epithelial cells[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 97: 75-81.

[13] WU Y C, CUI J Q, CHEN L S, et al. Senkyunolide H reverses depression-induced breast cancer progression by regulating CXCR2[J]. Nat Prod Bioprospect, 2025, 15(1): 57.

[14] XU H Y, YAN Q L, HUANG X X, et al. Xanthatin: a promising natural product in combating disease[J]. Eur J Pharmacol, 2025, 1001: 177772.

[15] KRAL Ö, ERALMAÇ A, AYDIN T. Development and characterization of a topical herniarin ointment from taragon[J]. ChemistrySelect, 2025, 10(33): e00651.

[16] 孙明雪,邹纯才,鄢海燕,等. 基于抗氧化药效成分群测定瓜蒌提取物中总黄酮的含量[J]. 右江民族医学院学报, 2022, 44(3): 346-350.

收稿日期: 2025-12-31; 修回日期: 2026-01-23

(本文编辑 钟琳)