

基于非靶向代谢组技术解析不同酿酒 稻米品种的成分差异

刘茂柯^{1,2,3}, 田新惠^{1,2,3}, 刘 瑶^{1,2,3}, 唐玉明^{1,2,3}, 秦 俭^{1,4,5}, 冯 军^{1,2,3}, 刘成元^{1,2,3,*}

(1.四川省农业科学院水稻高粱研究所, 四川 德阳 618000; 2.四川省泸州市酿酒科学研究所, 四川 泸州 646100;
3.四川省农业科学院德阳分院, 四川 德阳 618000; 4.农业农村部西南水稻生物学与遗传育种重点实验室,
四川 德阳 618000; 5.国家水稻改良中心四川泸州分中心, 四川 泸州 646100)

摘 要: 采用非靶向代谢组技术分析2种酿酒稻米(JKY和PXY)的代谢物组成差异及其与白酒酿造的关系。从稻米样品中检测到代谢物4 159个, 其组成以脂质和类脂分子、有机杂环化合物、有机酸和衍生物为主。从PXY和JKY之间筛查出差异代谢物326个(变量投影重要性 >1 、 $P<0.05$), 包括乳酸、阿魏酸、延胡索酸等白酒主要成分, 以及支撑酿酒微生物生长的蜜二糖、麦芽糖、葡萄糖和乳糖等重要底物。对差异代谢物进行京都基因和基因组百科全书富集分析, 共获得差异显著的生物学途径16条($P<0.05$), 其中14条归属于代谢功能, 包括与白酒酿造相关的半乳糖代谢、不饱和脂肪酸生物合成、脂肪酸生物合成和丁酸代谢。研究结果进一步揭示了原料与白酒酿造的关系, 可为优质原料的选择与推广提供依据。

关键词: 非靶向代谢组学; 代谢途径; 酿酒水稻; 差异代谢物

Non-targeted Metabolomic Analysis of Differences in the Composition of Different Rice Varieties for Baijiu Production

LIU Maoke^{1,2,3}, TIAN Xinhui^{1,2,3}, LIU Yao^{1,2,3}, TANG Yuming^{1,2,3}, QIN Jian^{1,4,5}, FENG Jun^{1,2,3}, LIU Chengyuan^{1,2,3,*}

(1. Rice and Sorghum Institute, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Deyang 618000, China; 2. Institute of Luzhou Liquor Making Science of Sichuan Province, Luzhou 646100, China; 3. Deyang Branch of Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Deyang 618000, China; 4. Key Laboratory of Southwest Rice Biology and Genetic Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Deyang 618000, China; 5. Luzhou Branch Center of National Rice Improvement Center, Luzhou 646100, China)

Abstract: Non-targeted metabolomics was used in order to investigate the differences in the metabolite composition of two varieties of Baijiu-brewing rice (JKY and PXY) and their influence on Baijiu brewing. A total of 4 159 metabolites were detected in both rice samples, mainly including lipids and lipid-like molecules, organoheterocyclic compounds, organic acids and their derivatives. A comparison between PXY and JKY yielded 326 differential metabolites (variable importance in projection (VIP) >1 and $P<0.05$), including the major components of Baijiu, such as lactic acid, ferulic acid and fumaric acid, as well as important substrates that supported brewing microorganism growth, such as melibiose, maltose, glucose and lactulose. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis of differential metabolites identified 16 significantly differential biological pathways ($P<0.05$), of which 14 were assigned to metabolic functions, including those related to Baijiu brewing such as galactose metabolism, the biosynthesis of unsaturated fatty acids, fatty acid biosynthesis, and butanoate metabolism. These results offer a better understanding of the relationship between raw materials and Baijiu brewing, thereby providing a basis for selecting and promoting high-quality raw materials.

Keywords: non-targeted metabolomics; metabolic pathway; brewing rice; differential metabolites

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240410-090

中图分类号: TS213.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2024)23-0180-07

收稿日期: 2024-04-10

基金项目: 四川省生物育种重大科技专项(2022ZDZX0016); 泸州市科技计划社会发展专项(2023SYF150);

四川省农业科学院水稻高粱研究所重点研发计划专项(2020SZDYF005)

第一作者简介: 刘茂柯(1983—)(ORCID: 0000-0002-3895-2010), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为酿酒有益微生物资源的发掘利用。E-mail: liumaoko0307@163.com

*通信作者简介: 刘成元(1974—)(ORCID: 0009-0007-2969-1123), 男, 副研究员, 学士, 研究方向为酿酒工艺。

E-mail: lcy19962000@163.com

引文格式:

刘茂柯, 田新惠, 刘瑶, 等. 基于非靶向代谢组技术解析不同酿酒稻米品种的成分差异[J]. 食品科学, 2024, 45(23): 180-186. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240410-090. <http://www.spkx.net.cn>

LIU Maoke, TIAN Xinhui, LIU Yao, et al. Non-targeted metabolomic analysis of differences in the composition of different rice varieties for Baijiu production[J]. Food Science, 2024, 45(23): 180-186. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240410-090. <http://www.spkx.net.cn>

中国白酒是以粮谷为原料, 经发酵、蒸馏、陈酿、勾调而成的酒精饮料, 是中华民族传统文化的瑰宝^[1]。白酒的酿造原料主要包括高粱、大米、糯米、小麦、玉米等类型^[2]。不同类型以及同类型不同品种原料酿造白酒的风味具有显著差异, 从而造成白酒质量的不同^[2]。酿酒原料对酒质的影响主要通过两条路径实现: 一是原料间理化组分存在的差异影响酿酒过程的微生物群落结构^[3-7]; 二是原料自身的小分子代谢物在蒸馏过程中进入酒体^[8-10]。目前, 关于不同原料酿酒过程的微生物群落差异已有大量研究论述^[3-7], 但对原料小分子代谢物种类及其对酒质影响的研究较少, 且主要针对高粱开展^[8,11], 阻碍了对白酒发酵机制的深入认识。

水稻是主要粮食作物, 也是酿造白酒的重要原料, 可单独或与其他原料配伍用于白酒生产^[2]。研究表明, 水稻籽粒富含黄酮、酚酸、脂质、生物碱等物质, 其含量组成对稻米加工性能具有重要影响^[12-13]。本课题组前期对2种类型的5个稻米品种开展清香型白酒酿造实验, 揭示了不同稻米品种的酒质差异(尚未发表)。根据酒质分析结果, 本研究选择其中酒质差异较大的2个品种, 采用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)和液相色谱-质谱(liquid chromatograph-mass spectrometry, LC-MS)非靶向代谢组技术解析它们的代谢物组成及其与白酒酿造的潜在关系, 以期对相关研究的深入提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试稻米品种(JKY和PXY)由本研究所选育, 于2022年9月收割于四川省泸州市泸县本研究所生产示范基地。经国家一级酒质评委鉴定, JKY的酿造酒质优于PXY, 对JKY酒质的评价为“清香突出纯正, 味较醇和, 有甜感, 尾净”; 对PXY酒质的评价为“清香突出, 放香大, 有醇厚感, 涩味苦味明显”。

甲醇、乙腈、甲酸(均为色谱纯) 美国Thermo Fisher Scientific公司; 甲基羟胺盐酸盐(纯度 $\geq 97\%$)、正己烷(色谱纯)、双(三甲基硅烷)三氟乙酰胺(含1%三甲基氯硅烷)(纯度 $\geq 98\%$) 德国CNW Technologies GmbH公司。

1.2 仪器与设备

ACQUITY UPLC I-Class plus高效液相色谱仪、ACQUITY UPLC HSS T3液相色谱柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μ m) 美国Waters公司; QE质谱仪 美国Thermo Fisher Scientific公司; 8890-5977B GC-MS仪、DB-5MS气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m) 美国Agilent Technologies公司; F-060SD超声波清洗机 深圳福洋科技集团有限公司; Wonbio-E全自动样品快速研磨仪 上海万柏生物科技有限公司; LNG-T98冷冻浓缩离心干燥器 太仓市华美生化仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理及提取液制备

实验材料除杂、清洗、干燥后脱壳备用。检测样品的制备方法在文献^[12,14]报道的基础上改进。向60 mg稻米样品加入600 μ L 70% (V/V) 甲醇溶液, $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷2 min后以60 Hz研磨2 min, 冰水浴超声提取30 min, $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜静置。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、11 304 \times g离心10 min, 取150 μ L上清液用0.22 μ m有机相针孔过滤器过滤, 滤液保存于LC进样小瓶, 用于LC-MS分析。另取150 μ L上清液装入衍生瓶, 用离心浓缩干燥器干燥样品; 向衍生瓶加入80 μ L 15 mg/mL的甲氧胺盐酸盐吡啶溶液, 涡旋振荡2 min后于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置90 min。加入50 μ L的双(三甲基硅烷)三氟乙酰胺(含1%三甲基氯硅烷)和20 μ L的正己烷, 涡旋振荡2 min后于 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应60 min, 在室温放置30 min, 最后进行GC-MS分析。质控样本由所有样本的提取液等体积混合制备而成。

1.3.2 GC-MS分析条件

GC条件: DB-5MS色谱柱; 流动相为He(纯度99.999%); 流速为1.0 mL/min; 进样口温度为 $260\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量为1 μ L。初始柱温 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 首先以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $125\text{ }^{\circ}\text{C}$, 再分别以 $8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $210\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $270\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 $305\text{ }^{\circ}\text{C}$, 保持5 min。MS条件: 离子源温度 $230\text{ }^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度 $150\text{ }^{\circ}\text{C}$; 电子能量70 eV。扫描方式为全扫描模式, 质量扫描范围 m/z 50~500。

1.3.3 LC-MS分析条件

采用ACQUITY UPLC I-Class plus高效液相色谱仪和Thermo QE质谱仪联用进行分析。LC条件: ACQUITY UPLC HSS T3色谱柱; 柱温为 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$; 进样量

为3 μL ；流速为0.35 mL/min。流动相A为0.1% (V/V) 甲酸溶液，B为乙腈（含0.1%甲酸），洗脱梯度见表1。MS条件：数据依赖采集模式；喷雾电压+3.8 kV和-3 kV；毛细管温度320 $^{\circ}\text{C}$ ；加热器温度350 $^{\circ}\text{C}$ ；鞘气流速42 L/min；辅助气流速9.6 L/min；离子透镜电压50 V；质量扫描范围 m/z 100~1 200；MS分辨率70 000；MS/MS分辨率17 500；NCE碰撞能量10、20、40 eV。

表1 流动相梯度组合进样表
Table 1 Mobile phase composition for gradient elution

时间/min	流动相体积分数/%	
	A 0.1% (V/V) 甲酸溶液	B 乙腈 (含0.1%甲酸)
0	95	5
2	95	5
4	70	30
8	50	50
10	20	80
14	0	100
15	0	100
15.1	95	5
16	95	5

1.4 数据分析

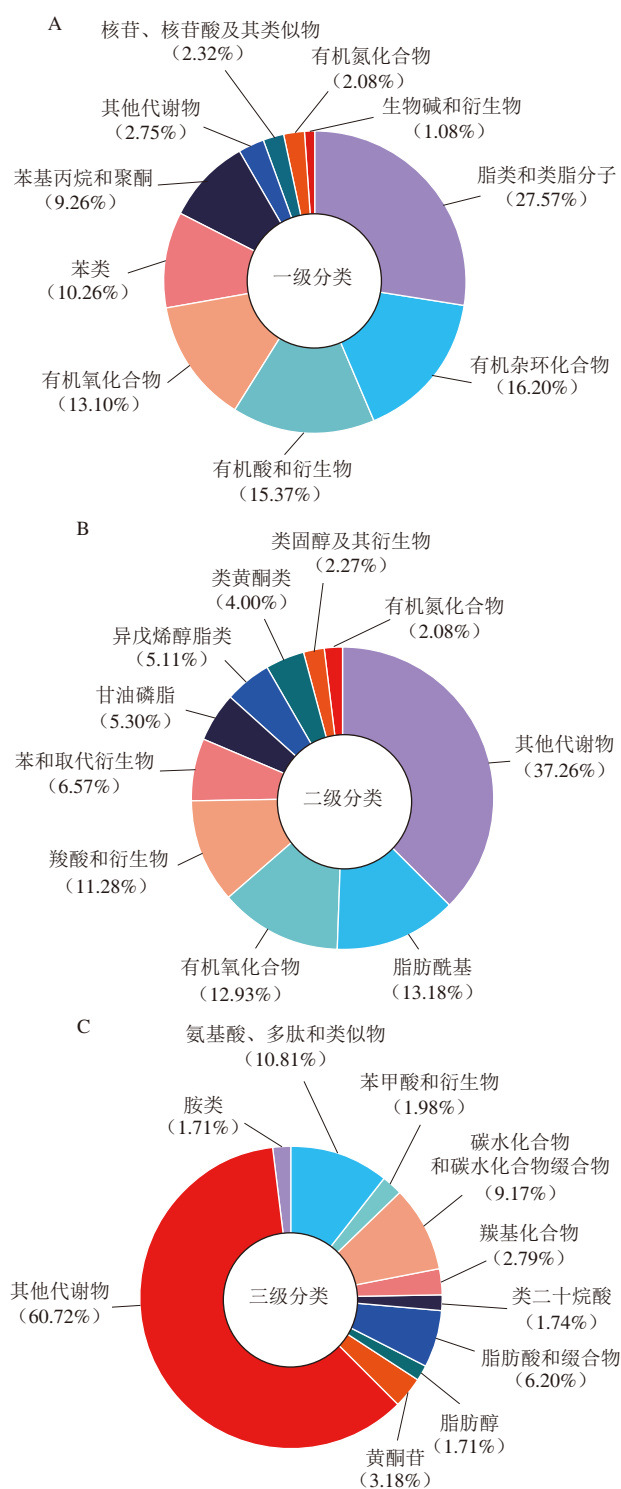
利用Progenesis QI v3.0和MS-DIAL v4.24软件处理质谱数据。使用The Human Metabolome Database (HMDB)、Lipidmaps、METLIN进行定性分析获得数据矩阵。根据代谢物定性结果打分 (Score) 筛选有效代谢物，GC-MS Score ≥ 36 分 (满分80分) 和 LC-MS Score ≥ 70 分 (满分100分) 的被认为是有效代谢物。缺失值及0值处理：若某一代谢物的检测值在所有分组中50%以上的样品中均为空值或0值，则剔除该代谢物；其他情况下，剩余的空值或0值，以所有样本中的最小值的一半填充^[15-16]。采用正交偏最小二乘判别分析 (orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA) 区分各组间代谢轮廓的总体差异。采用响应排序检验考察模型质量。组间差异代谢物的筛选标准为OPLS-DA模型第1主成分的变量投影重要性 (variable importance in projection, VIP) > 1 且 t 检验的 $P < 0.05$ 。代谢物含量变化倍数 (fold change, FC) 为该差异代谢物在两组样品中平均含量的比值。通过京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) (<http://www.genome.jp/KEGG/pathway.html>) 对差异代谢物进行通路富集分析。

2 结果与分析

2.1 稻米代谢物的结构组成

基于GC-MS和LC-MS技术从2种稻米样品中检测到代谢物4 159个，其分类信息如图1所示。在一级分类上占比前3的物质分别是脂类和类脂分子 (27.57%)、有

机杂环化合物 (16.20%)、有机酸和衍生物 (15.37%)；二级分类占比前3的是脂肪酰基 (13.18%)、有机氧化合物 (12.93%)、羧酸和衍生物 (11.28%)；三级分类占比前3的为氨基酸、多肽和类似物 (10.81%)，碳水化合物和碳水化合物缀合物 (9.17%) 及脂肪酸和缀合物 (6.20%)。



A.一级分类；B.二级分类；C.三级分类。

图1 稻米代谢物的数量占比

Fig. 1 Proportion of metabolites in rice grains

以往研究采用LC-MS技术分析不同品种稻米^[12-13]和高粱^[11]的代谢物组成情况,在稻米方面重点关注的是代谢物与食用品质的关系。本研究结合GC-MS和LC-MS技术检出的代谢物数量远高于以往报道^[11-13],但均检出了大量脂肪酸、氨基酸、多肽和糖类物质。研究表明,食品原料中的脂肪酸、氨基酸、多肽和糖类是重要的呈香呈味物质,影响酸、甜、苦、咸、鲜、厚6种滋味特性,对产品质量具有显著影响^[17]。另有研究通过富集酒醅(白酒发酵后的原料)馏分中的多肽含量改变了白酒风味成分组成^[18],发现多肽物质能与乙酸、己酸乙酯等物质形成氢键,抑制风味物质的挥发^[18],体现了原料代谢物与白酒生产的直接关系。

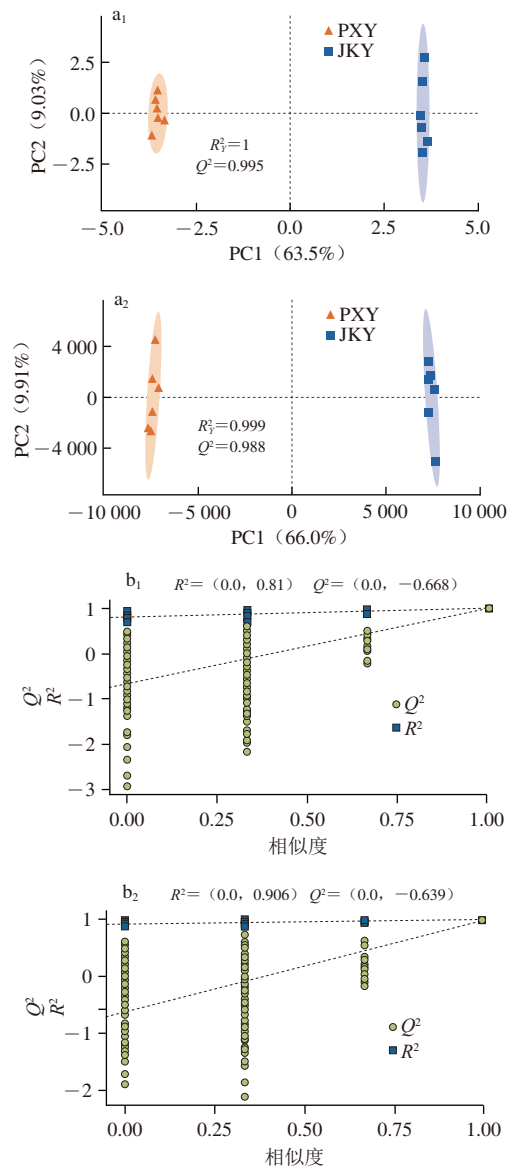
2.2 不同稻米的差异代谢物

基于GC-MS和LC-MS的OPLS-DA模型均显示,2种稻米的代谢组具有明显差异,两组样品均位于置信区间内,累积解释率 R^2 和累积预测率 Q^2 均 >0.98 ,表明模型可靠(图2a)。采用响应排序检验($n=200$)验证OPLS-DA的有效性,随置换保留度的下降, R^2 和 Q^2 下降, Q^2 截距小于零,说明模型不存在过拟合,可靠性较高(图2b)。

以VIP >1 和 $P<0.05$ 为标准从PXY和JKY筛查出差异代谢物326个,在PXY中上调的有210个,下调的有116个。表2为两种稻米之间含量倍数变化前20位的差异代谢物,在PXY上调前3位物质是硫酸内莫西芬、阿魏酸、6-氨基烟酰胺,下调前3位的是斯皮诺素C、N-(1-脱氧-1-果糖基)异亮氨酸、茜根酸。根据以往报道可知,差异代谢物包括白酒的多种主体成分,如乳酸^[19]、阿魏酸^[19-20]、延胡索酸^[21]。乳酸是发酵食品和饮料中常见的代谢产物,也是丁酸、己酸、乳酸乙酯等白酒主体风味物质合成的前体物^[19]。阿魏酸在清香、浓香、酱香等不同香型白酒中的质量浓度范围为 $0.90\sim 9.89\text{ }\mu\text{g/L}$ ^[20],具有消肿、止痛、抗血小板聚集等医用功效^[19]。众所周知,酿酒原料的代谢物是白酒风味物质的重要来源,可通过蒸馏作用进入酒体^[9,10,22]。此外,差异代谢物中包括多种支撑白酒发酵微生物生长的重要底物,如蜜二糖、麦芽糖、葡萄糖、乳果糖和阿拉伯糖醇^[23-25]。有研究评估高粱糖分对白酒发酵的影响,发现葡萄糖、果糖和阿拉伯糖是影响微生物群落演替及其代谢功能的关键糖^[23]。

本课题组前期采用GC技术检测了PXY和JKY酿造清香型白酒的25种香味物质,发现JKY酒样的丁酸乙酯、己酸乙酯、乙酸异戊酯、辛酸乙酯的含量均高于PXY($P<0.05$)(未发表)。但上述酯类物质并非PXY和JKY籽粒之间的差异代谢物,表明白酒香味物质的生成机制复杂,除原料自身携带外,还和酿酒微生物发酵^[3-7,23]以及相关物质代谢通路的改变^[26]有关。因此,本研究对

PXY和JKY籽粒之间的差异代谢物开展代谢通路富集,揭示它们是否参与白酒发酵过程的关键通路。



a. OPLS-DA模型; b. 响应排序检验。下标1和2分别代表GC-MS和LC-MS。

图2 稻米代谢物的OPLS-DA模型及其响应排序检验

Fig. 2 OPLS-DA model score plots and permutation test plots based on metabolomic datasets of rice grains

表2 FC值前20位的差异代谢物

Table 2 Top 20 differential metabolites with largest fold changes in contents

差异代谢物	质荷比 (m/z)	离子模式	VIP	FC
硫酸内莫西芬	905.31	LC-MS-neg	1.06	48.27
阿魏酸	204.07	GC-MS	2.71	13.94
6-氨基烟酰胺	194.07	GC-MS	2.60	11.48
蜜二糖	204.09	GC-MS	2.61	11.47
2,3-丁二醇	117.04	GC-MS	2.53	9.88
L-阿拉伯糖醇	217.10	GC-MS	2.40	8.08
乳酸	117.04	GC-MS	2.37	7.53
17-羟基十七烷酸	304.28	LC-MS-pos	1.06	7.31

续表2

差异代谢物	质荷比 (<i>m/z</i>)	离子模式	VIP	FC
反式-4-氨基环己羧酸	144.10	LC-MS-pos	2.99	6.29
15- <i>oxo</i> -脂氧素A4	373.20	LC-MS-pos	1.08	6.02
双环前列腺素E2	357.20	LC-MS-pos	2.77	5.84
麦芽糖	361.16	GC-MS	2.20	5.68
β -甘露糖甘油酸酯	204.08	GC-MS	2.17	5.59
2-甲氧基-5-(2,4-二氧代-5-噻唑烷基)- <i>N</i> -(4-(三氟甲基)苯基)苯甲酰胺	843.21	LC-MS-neg	1.93	5.55
异戊二烯基葡萄糖苷	266.16	LC-MS-pos	1.97	5.24
α -环糊精	1 017.31	LC-MS-neg	1.10	4.47
1-(1Z-二十碳烯基)-丙三基-3-磷酸丝氨酸	538.35	LC-MS-pos	1.50	4.42
<i>N</i> -(1-苄基哌啶-4-基)-6,7-二甲氧基-2-(4-甲基-1,4-安定-1-基)噻唑啉-4-胺	979.60	LC-MS-neg	1.26	4.37
<i>N</i> -(γ -谷氨酰基)乙醇胺	191.10	LC-MS-pos	1.18	3.65
1- <i>C</i> -辛基己吡喃糖	245.08	GC-MS	1.90	3.65
斯皮诺素C	799.21	LC-MS-neg	1.05	0.17
<i>N</i> -(1-脱氧-1-果糖基)异亮氨酸	294.15	LC-MS-pos	1.12	0.21
茜根酸	579.14	LC-MS-neg	2.56	0.24
木犀草素7-芹糖-(1-2)-葡萄糖苷	581.15	LC-MS-pos	2.30	0.27
(3"-芹糖-6"-丙二酰)黄芩甲苷	647.12	LC-MS-neg	1.26	0.28
乳果糖	160.04	GC-MS	1.69	0.36
Aldehydo- <i>L</i> -艾杜糖醛酸	333.10	GC-MS	1.69	0.36
葡萄糖	205.09	GC-MS	1.57	0.41
2-[2-(2-丁氧基乙氧基)乙氧基]乙醇	229.14	LC-MS-pos	1.66	0.44
氨基丙氨酸	349.11	LC-MS-neg	1.18	0.45
1-(2-甲氧基-6Z-十六烯基)-sn-丙三基-3-磷酸乙醇胺	466.29	LC-MS-neg	1.02	0.46
大豆苷7- <i>O</i> -芹糖基-(1-6)-葡萄糖苷	593.15	LC-MS-neg	1.12	0.47
枳椇皂苷元A	583.31	LC-MS-pos	1.19	0.48
加巴喷丁	194.12	LC-MS-pos	1.28	0.51
(-)-表没食子儿茶素	611.14	LC-MS-neg	1.12	0.52
2'-脱氧麦根酸	305.13	LC-MS-pos	3.62	0.52
2-阿魏酰基-1,2'-二芥子酰基龙胆二糖	929.27	LC-MS-neg	1.29	0.52
红花黄色素A	595.17	LC-MS-pos	1.00	0.55
延胡索酸	245.05	GC-MS	1.26	0.56
对氨基苯甲酸	138.05	LC-MS-pos	2.40	0.58

注: pos.正离子模式; neg.负离子模式。下同。

2.3 KEGG代谢通路富集分析

KEGG数据库是研究代谢途径的主要数据库,一级功能层包括新陈代谢、基因信息处理、环境信息处理、细胞进程、有机体系统、人类疾病、药物开发^[27]。其中,新陈代谢是与白酒发酵关联最紧密的功能层级^[7,26,28]。通过KEGG数据库对差异代谢物进行富集分析,共注释到57条生物学途径,差异显著途径有16条($P<0.05$),其中14条归属于代谢功能(图3)。在二级功能层上,这些通路分别归属于脂质代谢(7条)、碳水化合物代谢(4条)、氨基酸代谢(2条)和其他氨基酸代谢(1条)。

表3显示上述代谢通路的差异蛋白质信息,有32个代谢物在PXY中上调,10个代谢物下调。油酸、棕榈酸、PC(18:1(11Z)/18:2(9Z,12Z))和延胡索酸参与的代谢通路较多,均为3条,表明对代谢功能的影响较大。油酸和棕榈酸均参与不饱和脂肪酸合成(osa01040),脂肪酸生物合成(osa00061),角质、木栓质和蜡质生物

合成(osa00073);PC(18:1(11Z)/18:2(9Z,12Z))参与亚油酸代谢(osa00591)、甘油磷酸脂代谢(osa00564)、 α -亚油酸代谢(osa00592);延胡索酸参与丁酸代谢(osa00650),精氨酸生物合成(osa00220)和丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(osa00250)。

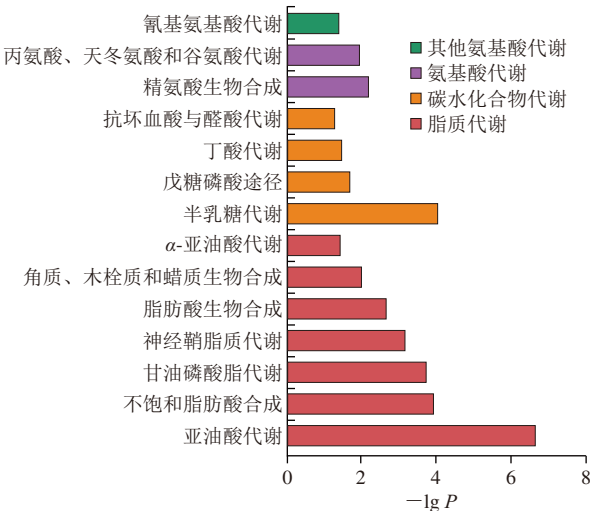


图3 KEGG富集分析

Fig. 3 KEGG enrichment analysis

表3 与代谢功能相关的差异代谢物

Table 3 Differential metabolites related to metabolic functions

差异代谢物	代谢通路	质荷比 (<i>m/z</i>)	离子模式	VIP	FC
蜜二糖	osa00052	204.09	GC-MS	2.61	11.47
2,3-丁二醇	osa00650	117.04	GC-MS	2.53	9.88
二十碳五烯酸	osa01040	225.15	GC-MS	1.85	3.40
顺式二十碳烯酸	osa01040	75.03	GC-MS	1.83	3.37
<i>L</i> -苏糖酸	osa00053	292.12	GC-MS	1.75	3.07
顺式9-棕榈油酸	osa00061	311.19	GC-MS	1.67	2.76
13(<i>S</i>)-氢过氧化十八烷-9Z	osa00591	311.22	LC-MS-neg	2.55	2.61
<i>D</i> -鞘氨醇	osa00600	261.11	GC-MS	1.52	2.31
月桂酸	osa00061	257.15	GC-MS	1.30	2.14
(9 <i>S</i> ,10 <i>E</i> ,12 <i>Z</i>)-9-羟基十八碳-10,12-二烯酸	osa00591	279.23	LC-MS-pos	3.84	2.08
3-磷酸甘油	osa00564	299.06	GC-MS	1.40	2.06
1-磷酸甘油	osa00564	210.98	GC-MS	1.41	2.05
γ -亚麻酸	osa00591/osa01040	279.23	LC-MS-pos	1.82	2.03
苦杏仁苷	osa00460	480.15	LC-MS-pos	1.24	1.89
<i>L</i> -谷氨酸	osa00650/osa00220	246.11	GC-MS	1.26	1.88
葡萄糖酸	osa00030	333.12	GC-MS	1.28	1.87
肉豆蔻酸	osa00061	75.02	GC-MS	1.29	1.83
9-氧代氧化物	osa00591	295.23	LC-MS-pos	1.67	1.81
<i>L</i> -天冬酰胺	osa00460/osa00250	115.05	GC-MS	1.04	1.80
Myo-肌醇	osa00052/osa00053	147.05	GC-MS	1.20	1.71
<i>L</i> -丝氨酸	osa00460/osa00600	204.10	GC-MS	1.16	1.68
亚油酸	osa00591/osa01040	75.03	GC-MS	1.17	1.63
油酸	osa01040/osa00061/osa00073	117.01	GC-MS	1.12	1.57
乙醇胺	osa00564	174.09	GC-MS	1.10	1.57
山梨醇	osa00052	147.05	GC-MS	1.08	1.56
棕榈酸	osa01040/osa00061/osa00073	117.02	GC-MS	1.09	1.56

续表3

差异代谢物	代谢通路	质荷比 (<i>m/z</i>)	离子模式	VIP	FC
12,13-二羟基油酸	osa00591	297.24	LC-MS-pos	2.79	1.48
α -亚麻酸	osa01040/osa00592	79.05	GC-MS	1.00	1.44
甘油磷酸胆碱	osa00564	302.10	LC-MS-neg	1.94	1.40
13(S)-过氧羟基-(9Z,11E,15Z)-十八碳三烯酸	osa00592	333.20	LC-MS-pos	1.38	1.32
石胆酸3-O-葡萄糖醛酸	osa00053	1 103.65	LC-MS-neg	1.54	1.20
PC (18:1(11Z)/0:0)	osa00564	522.36	LC-MS-pos	5.43	1.19
PC (18:1(11Z)/18:2(9Z,12Z))	osa00591/osa00564/ osa00592	828.58	LC-MS-neg	1.23	0.43
葡萄糖	osa00052/osa00030	205.09	GC-MS	1.57	0.41
延胡索酸	osa00650/osa00220/ osa00250	245.05	GC-MS	1.26	0.56
D-无水葡萄糖	osa00030	319.14	GC-MS	1.17	0.61
D-(+)-甘露糖	osa00052	319.15	GC-MS	1.09	0.64
SM (d18:1/24:1(15Z))	osa00600	857.68	LC-MS-neg	3.31	0.77
L-精氨酸	osa00220	175.12	LC-MS-pos	1.91	0.78
D-赤式-C ₁₈ -二氢-D-神经鞘氨醇	osa00600	302.31	LC-MS-pos	2.15	0.87
16-羟基棕榈酸	osa00073	290.27	LC-MS-pos	1.12	0.87
棉子糖	osa00052	522.20	LC-MS-pos	1.44	0.93

注：PC. 磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine)；SM. 神经鞘磷脂 (sphingomyelin)。

本课题组前期结合宏蛋白质组和代谢组学初步整合了与白酒主要酯类（己酸乙酯、乳酸乙酯、丁酸乙酯、乙酸乙酯）合成相关的代谢通路^[26]，其中包括半乳糖代谢、不饱和脂肪酸生物合成、脂肪酸生物合成、丁酸代谢、精氨酸生物合成。上述通路中，不饱和脂肪酸生物合成、脂肪酸生物合成主要负责短链和长链脂肪酸的合成与分解^[26]。丁酸代谢以丁酸为主要产物，能为丁酸乙酯提供合成前体，也可作为底物进一步转化为己酸^[26]。研究表明，脂肪酸（如己酸、乙酸、丁酸、油酸、亚油酸等）及其经酯化反应产生的脂肪酸乙酯是白酒中一类重要的呈香呈味物质^[29-31]，决定着白酒质量。上述结果提示，原料代谢物不仅可通过影响微生物生长^[23-25]或是通过蒸馏作用进入酒体^[9-10,22]来影响白酒质量，原料之间代谢物的含量差异也可能在发酵过程中直接影响风味物质的代谢通路来影响酒质。

3 结 论

采用非靶向代谢组技术分析两种酿酒稻米（JKY和PXY）的代谢物组成差异，获得差异代谢物326个，其中包括乳酸、阿魏酸、延胡索酸等白酒主要成分，以及支撑酿酒微生物生长的蜜二糖、麦芽糖、葡萄糖和乳果糖等重要底物。此外，差异代谢物还参与了半乳糖代谢、不饱和脂肪酸合成、脂肪酸生物合成、丁酸代谢等与白酒酿造密切相关的代谢通路。以此提出，除影响酿酒微生物生长和通过蒸馏作用进入酒体，原料之间代谢组的差异也可能在发酵过程直接影响风味物质的代谢通路来影响酒质。目前，对酿酒原料的选用与品种选育工作主

要以淀粉、支链淀粉、蛋白质等传统的品质指标为依据，今后应进一步加强对原料代谢组学的研究，以完善品质评价体系。

参考文献：

- [1] ZHENG X W, HAN B Z. Baijiu (白酒), Chinese liquor: history, classification and manufacture[J]. Journal of Ethnic Foods, 2016, 3(1): 19-25. DOI:10.1016/j.jef.2016.03.001.
- [2] 牛姣, 沈毅, 张贵虎, 等. 白酒酿造原料与酒体品质关系的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(3): 322-328. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.031143.
- [3] LIU C C, FENG S B, WU Q, et al. Raw material regulates flavor formation via driving microbiota in Chinese liquor fermentation[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1520. DOI:10.3389/fmicb.2019.01520.
- [4] TAN Y W, ZHONG H P, ZHAO D, et al. Succession rate of microbial community causes flavor difference in strong-aroma Baijiu making process[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 311: 108350. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108350.
- [5] XU J L, WU H J, WANG Z W, et al. Microbial dynamics and metabolite changes in Chinese Rice Wine fermentation from *Sorghum* with different tannin content[J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 4639. DOI:10.1038/s41598-018-23013-1.
- [6] 杨玲, 王琪, 郭旭凯, 等. 高粱单宁含量对清香型大曲白酒酒酯中细菌种群的影响[J]. 中国酿造, 2020, 39(7): 83-88. DOI:10.11882/j.issn.0254-5071.2020.07.017.
- [7] LIU M K, TANG Y M, LIU C Y, et al. Variation in microbiological heterogeneity in Chinese strong-flavor Baijiu fermentation for four representative varieties of *Sorghum*[J]. International Journal of Food Microbiology, 2023, 397: 110212. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110212.
- [8] CAO S, WANG L, WU Q, et al. Regional aroma characteristics of *Sorghum* for Chinese liquor production[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2020, 126(3): 306-315. DOI:10.1002/jib.613.
- [9] CAI X M, SHEN Y, CHEN M Y, et al. Characterisation of volatile compounds in Maotai flavour liquor during fermentation and distillation[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2019, 125(4): 453-463. DOI:10.1002/jib.581.
- [10] DING X F, HUANG J, WU C D, et al. Effects of different distillation patterns on main compounds of Chinese Luzhou-flavour raw liquors[J]. Journal of the Institute of Brewing, 2017, 123(3): 442-451. DOI:10.1002/jib.422.
- [11] 王红梅, 李哲, 李令, 等. 川南白酒产区主要酿酒高粱理化性质与代谢组学分析[J]. 酿酒科技, 2023(7): 44-56. DOI:10.13746/j.njkj.2022267.
- [12] 田程飘, 龙凌云, 刘功德, 等. 广泛靶向代谢组学分析不同采收期紫黑香米和普通大米成分差异[J]. 食品科学, 2024, 45(1): 125-132. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230315-147.
- [13] 罗樊, 蔡兴勇, 刘海棠, 等. 巨胚米和普通米非靶向代谢组学分析[JOL]. 分子植物育种, 1-15. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230612.1517.014.html>.
- [14] 富天听, 冯玉超, 张丽媛, 等. 基于GC-MS技术对不同产地稻米的代谢组学分析[J]. 食品科学, 2019, 40(12): 176-181. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20180621-412.
- [15] DO K T, WAHL S, RAFFLER J, et al. Characterization of missing values in untargeted MS-based metabolomics data and evaluation of missing data handling strategies[J]. Metabolomics, 2018, 14(10): 128. DOI:10.1007/s11306-018-1420-2.

- [16] WEI R M, WANG J Y, SU M M, et al. Missing value imputation approach for mass spectrometry-based metabolomics data[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 663. DOI:10.1038/s41598-017-19120-0.
- [17] 覃芳丽, 邹宇晓, 王思远, 等. 发酵食品的滋味特性及其形成机制研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(10): 388-396. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036406.
- [18] 赵云浩, 黄晓丹, 王珺, 等. 酒醅与酱渣混蒸馏分中的多肽鉴定及风味成分分析[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(11): 55-61. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.038567.
- [19] WU Y S, HOU Y X, CHEN H, et al. "Key factor" for Baijiu quality: research progress on acid substances in Baijiu[J]. *Foods*, 2022, 11(19): 2959. DOI:10.3390/foods11192959.
- [20] ZHU L, SONG X B, PAN F, et al. Interaction mechanism of kafirin with ferulic acid and tetramethyl pyrazine: multiple spectroscopic and molecular modeling studies[J]. *Food Chemistry*, 2021, 363: 130298. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130298.
- [21] WANG G N, SONG X B, ZHU L, et al. A flavoromics strategy for the differentiation of different types of Baijiu according to the non-volatile organic acids[J]. *Food Chemistry*, 2022, 374: 131641. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131641.
- [22] DONG W, GUO R N, SUN X T, et al. Assessment of phthalate ester residues and distribution patterns in Baijiu raw materials and Baijiu[J]. *Food Chemistry*, 2019, 283: 508-516. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.01.069.
- [23] WANG Z, JI X A, WANG S L, et al. Sugar profile regulates the microbial metabolic diversity in Chinese Baijiu fermentation[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 359: 109426. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109426.
- [24] QUAN S K, WANG Y, RAN M F, et al. Contrasting the microbial community and non-volatile metabolites involved in ester synthesis between Qing-flavor Daqu and Nong-flavor Daqu[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2023, 136(3): 213-222. DOI:10.1016/j.jbiosc.2023.06.004.
- [25] 钱春勤, 刘婷婷, 杨佳佳, 等. 白酒酿造中不同原料和曲种对风味物质影响的研究进展[J]. *酿酒科技*, 2024(2): 76-83. DOI:10.13746/j.njkj.2023119.
- [26] LIU M K, TANG Y M, GUO X J, et al. Structural and functional changes in prokaryotic communities in artificial pit mud during Chinese Baijiu production[J]. *mSystems*, 2020, 5(2): e00829-19. DOI:10.1128/mSystems.00829-19.
- [27] KANEHISA M, GOTO S, HATTORI M, et al. From genomics to chemical genomics: new developments in KEGG[J]. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(Suppl 1): D354-D357. DOI:10.1093/nar/gkj102.
- [28] LIU M K, LIU C Y, TIAN X H, et al. Bioremediation of degraded pit mud by indigenous microbes for Baijiu production[J]. *Food Microbiology*, 2022, 108: 104096. DOI:10.1016/j.fm.2022.104096.
- [29] 胥鑫钰, 吕志远, 刘玉涛, 等. 基于SPE-GC-MS对白酒中6种长链游离脂肪酸的测定及差异性分析[J]. *中国酿造*, 2023, 42(9): 198-203. DOI:10.11882/j.issn.0254-5071.2023.09.034.
- [30] 赵静溶, 徐友强, 朱华, 等. 浓香型白酒风味乙酯微生物合成机制研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2022, 41(10): 1-16. DOI:10.3969/j.issn.1673-1689.2022.10.001.
- [31] XU Y Q, ZHAO J R, LIU X, et al. Flavor mystery of Chinese traditional fermented Baijiu: the great contribution of ester compounds[J]. *Food Chemistry*, 2022, 369: 130920. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.130920.