DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260301002
引用格式: 禹洁, 鲁琰农, 李波, 等. 高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱结合代谢组学技术分析不同产地枸杞的差异代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(16): 9–18.
Yu Jie, Lu Yannong, Li Bo, et al. Analysis of differential metabolites in *Lycium barbarum* L. from different origins by high performance liquid chromatography-orbittrap quadrupole electrostatic field high resolution mass spectrometry combined with metabolomics technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(16): 9–18. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱结合代谢组学技术分析不同产地枸杞的差异代谢物

禹 洁[1,2], 鲁琰农[1,2], 李 波[1,2], 王小花[1,2], 苏阿龙[1,2*]
(1. 甘肃省食品检验研究院, 兰州 730300; 2. 甘肃省地理标志产品营养与安全评价工程研究中心, 兰州 730300)

摘 要: 目的 采用非靶向代谢组学技术探究不同产地枸杞的差异性标志代谢物。**方法** 以不同产地的甘肃省地理标志保护产品枸杞为研究对象, 采集甘肃靖远县和甘肃民勤县的枸杞样本, 利用高效液相色谱-四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法(high performance liquid chromatography-orbittrap quadrupole electrostatic field high resolution mass spectrometry, HPLC-Q-Orbitrap HRMS)进行非靶向代谢组学分析。采用主成分分析和正交偏最小二乘判别分析等方法, 解析两种不同产地枸杞的差异代谢物。**结果** 靖远枸杞与民勤枸杞之间共鉴定出 102 种差异代谢物, 其中以民勤枸杞为对照, 靖远枸杞中显著上调 39 种、显著下调 63 种。差异代谢物以黄酮类为主, 其次为酚酸类及其衍生物、氨基酸及其衍生物等。麦角新碱、组氨醇、脱氢-*β*-紫罗兰酮等为特征差异物。京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)结果显示, 差异代谢物主要富集在黄酮类化合物生物合成, 黄酮和黄酮醇的生物合成, 苯丙烷类物质生物合成, 叶酸一碳池代谢, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢等代谢通路上。**结论** 本研究成功筛选出两种不同产地枸杞的差异代谢物, 明确了各产地枸杞在代谢组成上的核心差异。筛选出可用于区分两种不同产地枸杞的特征性标志代谢物, 为不同产地枸杞的产地鉴别、品质区分提供了特征指标和科学可靠的技术支撑。

关键词: 甘肃枸杞; 非靶向代谢组学; 差异代谢物; 代谢通路
中图分类号: TS207.3 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)16–0008–10

Analysis of differential metabolites in *Lycium barbarum* L. from different origins by high performance liquid chromatography-orbittrap quadrupole electrostatic field high resolution mass spectrometry combined with metabolomics technology

YU Jie[1,2], LU Yan-Nong[1,2], LI Bo[1,2], WANG Xiao-Hua[1,2], SU A-Long[1,2*]

收稿日期: 2026-03-01
基金项目: 甘肃省市场监督管理局科技计划项目(SSCJG-SP-A202302)
第一作者: 禹洁(1990—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全分析检测。E-mail: 527440105@qq.com
***通信作者:** 苏阿龙(1986—), 男, 高级工程师, 主要研究方向为食品分析。E-mail: 371248937@qq.com

(1. *Gansu Food Inspection and Research Institute*, *Lanzhou* 730300, *China*; 2. *Gansu Engineering Research Center for Nutrition and Safety Evaluation of Geographical Indication Products*, *Lanzhou* 730300, *China*)

ABSTRACT: Objective To explore the differential marker metabolites of *Lycium barbarum* L. from different origins by non-targeted metabolomics technology. **Methods** Taking the geographical indication protected products of *Lycium barbarum* L. from different origins in Gansu Province as the research objects, non-targeted metabolomics analysis was conducted on *Lycium barbarum* L. samples collected from Jingyuan County and Minqin County in Gansu Province using high performance liquid chromatography-orbittrap quadrupole electrostatic field high resolution mass spectrometry (HPLC-Q-Orbitrap HRMS). Principal component analysis and orthogonal partial least squares-discriminant analysis were adopted to analyze the differential metabolites of 2 kinds of *Lycium barbarum* L. from different origins. **Results** A total of 102 differential metabolites were identified between Jingyuan and Minqin *Lycium barbarum* L.. Taking Minqin *Lycium barbarum* L. as the control, 39 kinds of metabolites were significantly up-regulated and 63 kinds of metabolites were significantly down-regulated in Jingyuan *Lycium barbarum* L.. The differential metabolites were mainly flavonoids, followed by phenolic acids and their derivatives, amino acids and their derivatives, *etc*. Ergometrine, histaminol and dehydro-*β*-ionone, *etc*. were differential characteristic compounds. Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) pathway analysis indicated that the differential metabolites were primarily enriched in metabolic pathways such as flavonoid biosynthesis, flavone and flavonol biosynthesis, phenylpropanoid biosynthesis, one-carbon pool by folate, alanine, aspartate and glutamate metabolism. **Conclusion** The research results successfully screens out the differential metabolites of *Lycium barbarum* L. from 2 kinds of different producing areas and clarified the core differences in metabolic composition among *Lycium barbarum* L. from each producing area. Meanwhile, the characteristic marker metabolites that can be used to distinguish *Lycium barbarum* L. from the 2 kinds of different producing areas are identified, which provide characteristic indicators and scientific and reliable technical support for the origin identification and quality differentiation of *Lycium barbarum* L. from different producing areas.

KEY WORDS: *Lycium barbarum* L. from Gansu; non-targeted metabolomics; differential metabolites; metabolic pathways

0 引 言

枸杞是茄科枸杞属枸杞(*Lycium barbarum* L.)的果实，是我国中医中常用的滋补类药材，也是我国重要的药食同源植物和经济作物[1]。作为一种享誉古今中外的保健珍品，现代药理学研究表明，枸杞具有调节免疫力、延缓衰老、抗氧化、抗肿瘤、抗炎、缓解体力疲劳、降血脂、降血糖等功效[2]，植物化学研究表明，枸杞的化学成分主要有多糖、类胡萝卜素、黄酮、生物碱、苯丙素、木质素、蒽醌、有机酸、萜类、甾醇、甾体、肽类以及其他小分子和微量元素[3–4]。目前，我国是世界枸杞生产第一大国，种植面积和产量均稳居世界第一，主要分布在宁夏、青海、甘肃、新疆等地区，形成了中宁枸杞核心区，青海、甘肃、内蒙古等地枸杞带动区的产业布局[5]。产自不同地域的枸杞也因其所特有的品质和声誉经审核批准被命名为地理标志产品。2012 年原国家质检总局批准对“靖远枸杞”实施地理标志产品保护；2016 年原国家质检总局批准对“民勤枸杞”实施地理标志产品保护。由于我国西北主要枸杞产区的生态环境和气候条件差异很大，海拔、日照时数、昼夜温差以及土壤养分等因素都会影响枸杞果实的发育和化学成分，使得不同地理区域和不同品种的枸杞果实在大小、颜色、口感风味、功能成分含量以及营养品质等方面均存在显著差异[6–8]。但目前较多研究仅针对单一或少数几种活性成分，不能全面覆盖枸杞体内的小分子代谢物，缺乏对代谢组整体差异的系统分析，无法准确地找出差异代谢物以及其对代谢通路的影响[9]。难以揭示不同产地地理标志枸杞的品质差异化规律，无法为枸杞产地精准鉴别提供科学参考，因此有必要建立基于不同产地枸杞整体代谢成分的质量分析方法。

代谢组学是继蛋白质组学、转录组学和基因组学之后的一种新兴组学技术，是系统生物学的重要分支。它通过对生物体代谢产生的分子质量低于 1000 Da 的代谢产物进行定性定量分析，研究生物体系的代谢途径[10–11]。根据研究对象的不同，代谢组学可分为靶向代谢组学和非靶向代谢组学，靶向代谢分析主要定量特定代谢物，研究一种或者几种通路，而非靶向代谢分析是尽可能地从样本中分析

出更多的代谢物, 采集更多的物质信息[12]。植物代谢组学技术是对植物代谢产物进行无差别代谢成分全分析的高通量分析技术, 为植物研究提供了一个整体全面的分析平台[13]。高效液相色谱-串联四极杆静电场轨道阱高分辨质谱法(high performance liquid chromatography-tandem quadrupole orbitrap high-resolution mass spectrometry, HPLC-Q-Orbitrap HRMS)具有 HPLC 快速高效的色谱分离能力和 Q-Orbitrap HRMS 的高分辨率、高灵敏度。将植物代谢组学技术结合化学计量法(主成分分析法, principal components analysis, PCA), 聚类分析法(cluster analysis, CA), 偏最小二乘判别分析法(partial least squares discriminant analysis, PLS-DA), 正交偏最小二乘判别分析法(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)等可以有效找到地理标志产品的特征差异性组分[14]。兰天等[10]利用超高效液相色谱-串联质谱法结合代谢组学分析和鉴定黑果枸杞和黄果枸杞中的代谢物, 比较不同品种间代谢物的差异, 两种枸杞果实中共检测出 1098 种代谢产物, 存在 235 种差异代谢物上调和 252 种差异代谢物下调, 不同品种枸杞间的差异代谢物主要涉及黄酮生物合成, 托烷、哌啶和吡啶生物碱的生物合成, 次生代谢物的生物合成, ABC 转运等途径。但目前基于代谢组学技术筛选及鉴定地理标志保护产品靖远枸杞和民勤枸杞的差异代谢物并探究其对代谢通路的影响还鲜有报道。

为了更加全面地了解不同产地地理标志产品枸杞代谢物成分的差异以及代谢物合成积累的影响, 本研究基于 HPLC-Q-Orbitrap HRMS 的代谢组学技术对地理标志保护产品靖远枸杞和民勤枸杞进行分析比较, 采用多元统计分析方法筛选和鉴定差异代谢物组成, 探究其变化规律及主要代谢通路, 为不同产地枸杞的品质差异和产地鉴别提供参考依据, 同时也为枸杞的质量评价提供了一种新的思路。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

供试样品为采自于甘肃靖远县和甘肃民勤县两地的红果枸杞成熟期鲜果经过采摘、晾晒、脱水、干燥等一系列加工工序后制成枸杞干果, 每个产地设 5 个采集点, 每个采集点采集 2 批次。具体采集信息见表 1。

甲醇、乙腈(色谱纯, 德国默克公司); 乙酸铵(色谱纯, 上海安谱实验科技股份有限公司); 甲酸(色谱纯, 赛默飞世尔科技中国有限公司); 所有实验室用水均为超纯水。

1.2　仪器与设备

Q Exactive 高效液相色谱-串联四极杆静电场轨道阱高分辨质谱仪、ORVALL LYNX 6000 型高速冷冻离心机、Hypersil GOLD 型 C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.9 μm)(美国赛默飞世尔科技公司); VORTEX 3 型涡旋混合器(德国艾卡公司); ME303 型电子天平(精度 0.01 g, 梅特勒托利多科技中国有限公司); S60H 型超声波清洗器(德国埃尔玛·施密德鲍尔有限公司); Milli-Q IQ7000 型超纯水制备系统(德国默克密理博公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　样品的前处理

将枸杞样本干燥后研磨至粉末状过 80 目筛。准确称取 0.5 g 样品于 10 mL 离心管中, 加入 70%甲醇溶液 5 mL, 涡旋 5 min, (25±1) ℃下超声提取 60 min, 12000 r/min 离心 5 min。上清液过 0.22 μm 滤膜于 2 mL 棕色进样瓶中, 用于 HPLC-Q-Orbitrap HRMS 检测。从每个样品吸取 50 μL 混合制成质量控制(quality control, QC)样本。

1.3.2　仪器测试条件

(1)色谱条件

采用 C_{18} (2.1 mm×100 mm, 1.9 μm)色谱柱分离。色谱柱柱温 40 ℃。各样品的进样量 5 μL。流动相为 0.1%甲酸乙酸铵溶液(A)和 0.1%甲酸乙腈(B), 流速为 0.3 mL/min。梯度洗脱: 0~2 min, 5% B; 2~18 min, 5%~95% B; 18~25 min, 95% B; 25~35 min, 95%~5% B; 35~40 min, 5% B。

(2)高分辨质谱条件

所有样品均在正负电离模式下进行分析, 具体参数: 喷雾电压: +4.0 kV/–3.0 kV; 鞘气流量: 40; 辅助气流量: 10; 吹扫气流量: 1; 毛细管温度: 320 ℃; 离子传输透镜射频: 55 V; 离子源加热温度: 250 ℃。全扫描 *m*/*z* 在 70~1050 范围内。在 70000 分辨率和 17500 分辨率下, 获取正、负两种模式的全扫描一级质谱/数据依赖二级质谱扫描。定义 C 型离子阱最大负荷 $3e^6$ 和 $1e^5$ 离子, 最大注入时间为 100 ms 和 50 ms。归一化碰撞能量为 40、50、60。为了提高精密度和准确度, 在分析前需对仪器进行校准。

表 1　采样地信息
Table 1　Sample site information

样品编号	品种	采样地	经度	纬度	海拔/m
JY	红果枸杞	甘肃靖远县	104°30′E~105°33′E	36°17′N~37°28′N	1350~1450
MQ	红果枸杞	甘肃民勤县	101°83′E~104°20′E	38°06′N~39°46′N	1380~1420

1.4 数据处理

原始数据使用 Compound Discoverer 3.3 软件进行处理，用于峰提取、峰匹配、峰识别、峰对齐以及复合峰面积归一化等预处理。在工作流程模板中设置最小峰强度阈值为 10000；质量偏差为 5 ppm；峰强度容差为 30%；信噪比阈值为 3；保留时间容差为 1 min；峰评分阈值为 3；样本文件数为 2。结合在线二级库 MzCloud、在线一级库 Chemspider、本地一级库 Mass List 及本地二级库 mzvault 对代谢物进行分析鉴定。对两种样本代谢物数据进行 PCA 和 OPLS-DA 分析，解析两种不同产地枸杞的代谢物差异特征。基于 OPLS-DA 结果，从获得的多变量分析 OPLS-DA 模型的变量重要性投影(variable importance in the projection, VIP)结合差异倍数(fold change, FC)以及 P 筛选出不同产地间枸杞的差异代谢物，并对差异代谢物进行基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)通路分析。

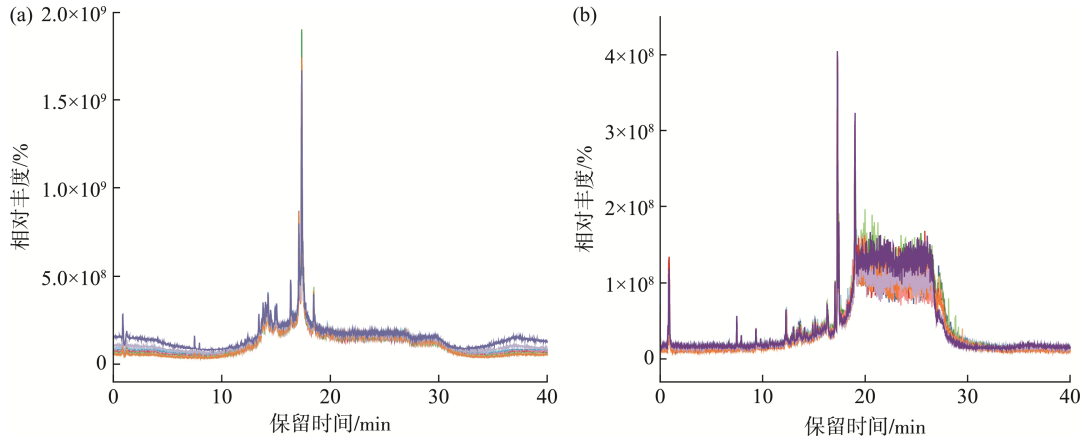
2 结果与分析

2.1 质量控制分析

在样品序列分析开始前，将 QC 样品连续注入 10 次以平衡系统，确保所收集数据的可重复性。在整个分析过程中定期进行 QC 样品分析，以监测仪器的稳定性。由 QC 样本的总离子流图(+)和总离子流图(–)可知(图 1)，在不同检测条件下总离子流图中出峰时间和峰面积均能很好重合，说明检测过程仪器稳定性良好，检验结果真实可信。

2.2 不同产地枸杞中代谢物的 PCA 分析

PCA 是一种多元变量统计方法，将原始多个变量转换为一组线性不相关的主成分，在最大化保留初始信息的前提下达到降维的目的[15]，可以了解不同样本间的变异度大小，反映不同样本间代谢物的差异。为了宏观了解 JY、MQ 两种不同产地枸杞间的差异，对样品进行 PCA 分析(图 2)。结果显示在正离子模式下，PC1 的贡献率为 44.2%，PC2 的贡献率为 23.8%，总贡献率为 68.0%。负离子模式下，PC1 的贡献率为 48.3%，PC2 的贡献率为 22.6%，总贡献率为 70.9%。两个不同产地的枸杞样本表现出较好的分离度，各组枸杞样本组内聚集在一起，变异度较小，组间分离较明显。PCA 分析可以看出不同产地枸杞的代谢物具有一定差异。



注：(a)正离子模式；(b)负离子模式。图 2 同。

图 1 QC 样本总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of QC samples

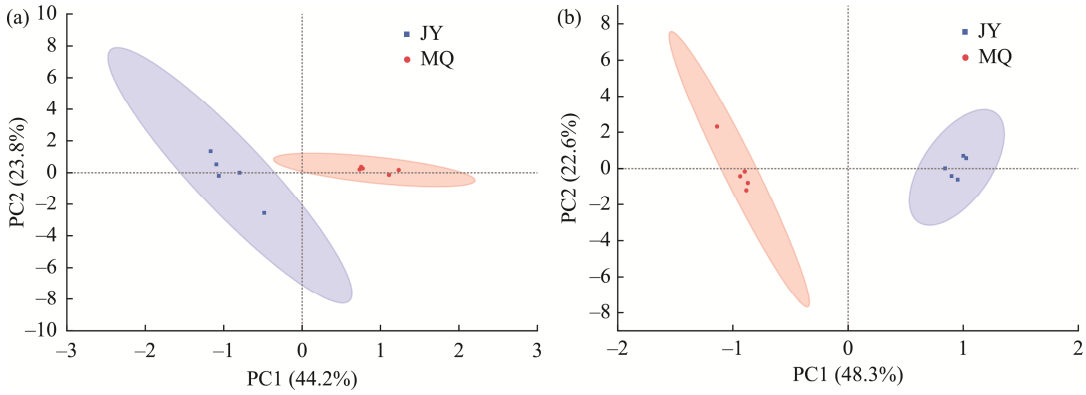


图 2 不同产地枸杞的 PCA 得分图

Fig.2 PCA score plot of *Lycium barbarum* L. from different origins

2.3　不同产地枸杞中差异代谢物分析和筛选

通过 PCA 初步分析后为进一步筛选出 JY、MQ 两种不同产地枸杞间的差异代谢物, 合并正负离子模式下采集的所有化合物离子, 两种不同产地枸杞提取物中共检测到 1426 个化合物离子, 以$|\log_2(FC)|>1$, $P<0.05$ 为设定条件初步筛选差异代谢物(图 3)。结果显示, 经过人工核查, 在峰形良好的情况下去除重复物、等价物后, 两种不同产地枸杞间的代谢物均存在显著差异, JY 相对 MQ 上调代谢物 122 种, 下调代谢物 305 种。进一步通过 OPLS-DA 对两种不同产地枸杞进行成对分析。

OPLS-DA 是一种有监督的判别分析统计方法, 建立代谢物表达量与样品之间的关系模型, 可降低样品组内差异、放大组间差异, 排除无关因素对实验数据造成的影响, 从而实现对不同样品的有效预测[16], 因此本研究采用了 OPLS-DA 模型对样品进行分析(图 4)。模型显示, 自变量拟合指数(R^2X)为 0.915, 因变量拟合指数(R^2Y)为 1, 模型预测指数(Q^2)为 0.989, 均大于 0.9, 模型拟合结果良好, 具有较为准确的解释能力和预测能力。为了避免模型过度拟合, 对已建立的 OPLS-DA 模型进行 200 次置换验证, 最右侧的 R^2 与 Q^2 均超过 0.5, 且右侧原始 Q^2 点位置明显高于左侧所有的 Q^2 点。这表明构建的 OPLS-DA 模型不存在过拟合现象, 具备良好的预测性能。进而分析变量重要性投影, VIP 越高, 表明该差异代谢物在区分不同样品组别时发挥的作用越显著。在此基础上, 筛选同时满足$|\log_2(FC)|>1$, $P<0.05$ 和 VIP>1 的化合物为特征差异代谢物, 发现 JY 和 MQ 两种不同产地枸杞共有 102 种差异代谢物, JY 相对 MQ 上调 39 种, 下调 63 种。

2.4　JY 和 MQ 枸杞的差异代谢物分类及鉴定

结合 Compound Discoverer 3.3 软件中在线二级库 MzCloud、在线一级库 Chemspider、本地一级库 Mass List 及本地二级库 mzvault 对代谢物进行分析鉴定, 对两种不同产地枸杞的 102 种差异代谢物进行分类统计, 各类差异代谢物所占比例如图 5 所示。其中黄酮类最多, 所占比例为 23.5%, 其次是酚酸类及其衍生物占 16.7%, 氨基酸及其衍生物占 12.7%, 苯丙素类占 8.8%, 生物碱类占 5.9%, 有机酸、萜类化合物、吡啶衍生物均占 3.9%。

对来自两个不同产地的枸杞样本所筛选得到的差异代谢物进行聚类热图分析, 能够将表达模式相似的差异代谢物有效归为一类, 直观揭示各差异代谢物在不同产地样本中的表达变化规律与分布特征, 具体分析结果见图 6~9。从聚类热图中可以清晰观察到, 两个不同产地的枸杞样本均呈现出明显区分的高表达区域(暖色调)与低表达区域(冷色调), 不同组别间差异代谢物的组成含量均存在显著差异, 表明筛选出的差异代谢物能够有效区分两产地的枸杞, 同时产地环境对枸杞体内代谢物的积累模式具有重要影响。

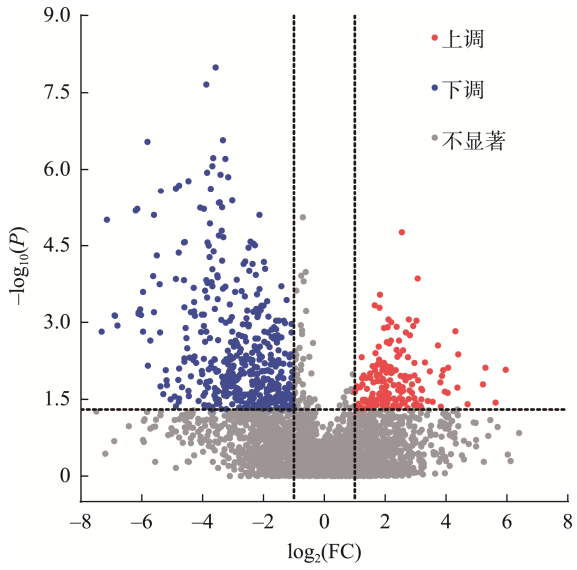
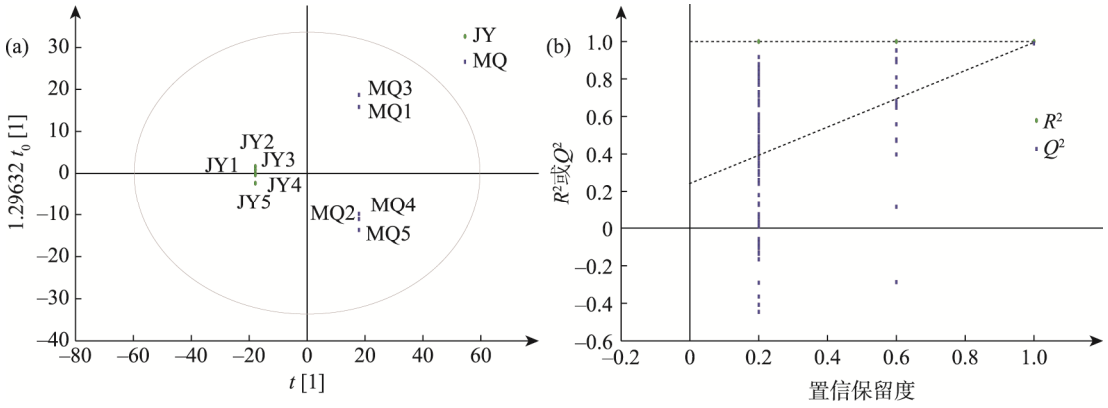


图 3　不同产地枸杞差异代谢物火山图

Fig.3　Volcano plot of differential metabolites of *Lycium barbarum* L. from different origins



注: (a)、(b)分别为 JY 和 MQ 的 OPLS-DA 得分图和置换验证图。

图 4　不同产地枸杞代谢物 OPLS-DA 结果

Fig.4　OPLS-DA results of metabolites of *Lycium barbarum* L. from different origins

本研究从两种不同产地枸杞中筛选出的 102 种差异代谢物中，部分差异代谢物与已有相关研究鉴定的差异代谢物存在重合。其中，有机酸类(如 *DL*-苹果酸、绿原酸)及黄酮类化合物(如山柰酚、槲皮素、表儿茶素)与汤丽华等[17]通过非靶向代谢组学分析 3 个不同品种宁夏枸杞所鉴定出的 17 种差异代谢物部分一致；此外，芦丁、吲哚丙烯酸等代谢物，与奉综涛等[18]探究西藏栽培的 3 种枸杞代谢物差异，所发现的 108 种对样品贡献较大的代谢物存在部分重合。JY 和 MQ 两种不同产地枸杞，分别具有不同的代谢特征，且 VIP 排序前 20 差异代谢物可作为区分两种不同产地枸杞的特征差异代谢物。其中包括生物碱 4 种，黄酮类 3 种，苯乙醇苷类 2 种，糖苷类和糖类衍生物 2 种，植物激素和吲哚衍生物 2 种，三萜酸和三萜类衍生物 2 种，其他类 5 种(表 2)。生物碱类是两地最核心的差异类型，其中麦角新碱是麦角菌属真菌产生的麦角生物碱，具有显著的药用价值，用于治疗神经内分泌、脑血管系统的疾病(如阿尔茨海默病)以及孕妇产后止血等[19]，JY 产地枸杞中麦角新碱归一化峰面积达到 MQ 产地枸杞的 4.5 倍，这一显著差异提示 JY 产地可能存在特殊真菌共生或土壤微生态条件[20]。甜菜碱是一种渗透调节物质，帮助植物细胞维持膨压，提高植物对干旱的适应能力，同时其具有抗肿瘤、降血压、抗消化性溃疡和胃功能障碍等作用[21]。JY 产地枸杞中甜菜碱归一化峰面积比 MQ 产地枸杞低 2.3 倍。结合两地环境差异来看，JY 产地位于黄河上游，有黄河弱碱性水灌溉，土壤盐碱度相对温和，而 MQ 产地被两大沙漠包围，土壤 pH 7.5~8.5、盐渍化更强，所以甜菜碱含量更高[22]。黄酮类与苯乙醇苷类的差异反映了两地枸杞抗氧化系统的分化差异，其中橙皮素作为主要存在于柑橘类水果中的二氢黄酮类化合物，具有显著的抗氧化、抗炎药理作用[23]。毛蕊花甙作为广泛存在于药用植物中的苯乙醇苷类多酚化合物，也是许多中药材的质控指标成分，具有显著的抗肿瘤潜力[24]。二者均在 MQ 枸杞中的含量高于 JY 枸杞，这与 MQ 产区年均日照时间长、昼夜温差大的环境特点，可促进酚类物质合成密切相关[25]。组氨醇、吲哚丙烯酸、脱氢-*β*-紫罗兰酮等代谢物的差异，体现了两地枸杞初级-次级代谢及风味特征的分化。组氨醇是组氨酸合成的前体物质，其含量差异直接影响组氨酸的合成，进而作用于植物生长发育、二级代谢物合成等多种代谢途径[26]；带有木质香气的脱氢-*β*-紫罗兰酮作为真菌酶发酵的 *β*-碘酮产物，通常广泛存在于茶中[27]，在 JY 和 MQ 产地枸杞中均有鉴定，其含量差异可能是两地枸杞风味差异的关键因素之一。

2.5 差异代谢物的代谢通路分析

通过 MetaboAnalyst 网站进行代谢通路分析，将鉴定的差异代谢物导入 MetaboAnalyst 进行通路分析。利用 KEGG 数据库对 JY 和 MQ 产地的枸杞中差异代谢物通路分析后，共找到 38 条富集通路，其中共被注释到 70 种差异代谢物，具有显著差异(P<0.05)的通路有 10 条，分别是黄酮类化合物生物合成，黄酮和黄酮醇的生物合成，苯丙烷类物质生物合成，叶酸一碳池代谢，丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢，氰基氨基酸代谢，各种植物次生代谢产物的生物合成，乙醛酸和二羧酸代谢，烟酸和烟酰胺代谢，甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢(图 10)。其中共有 37 种差异代谢物参与这 10 条通路，主要差异代谢物有柚皮素、绿原酸甲酯、二氢山柰酚、二氢槲皮素、山柰酚、槲皮素、表儿茶素、异槲皮苷、槲皮素-3-O-鼠李糖苷-7-O-葡萄糖苷、

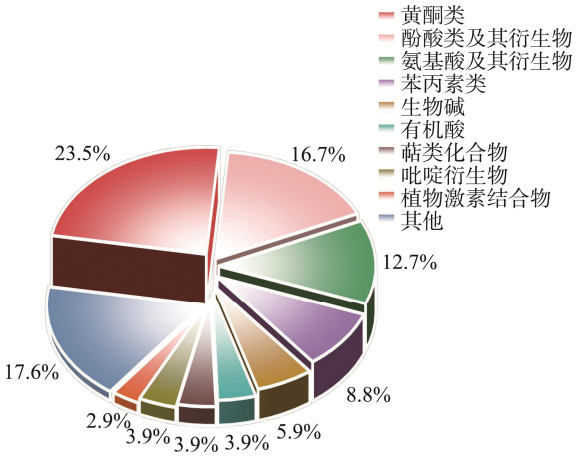
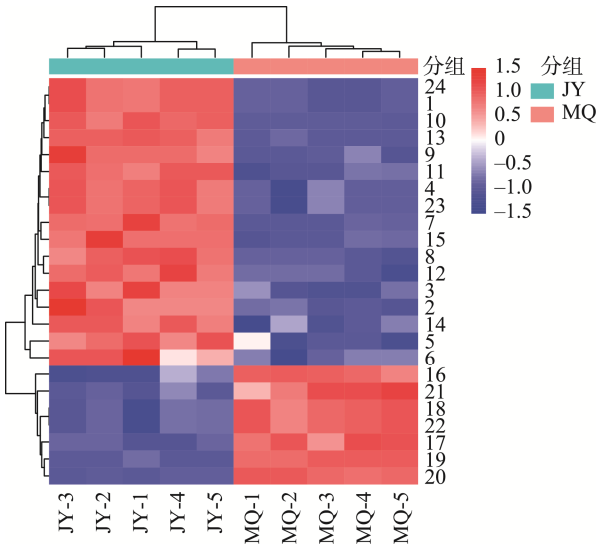


图 5 差异代谢物的分类

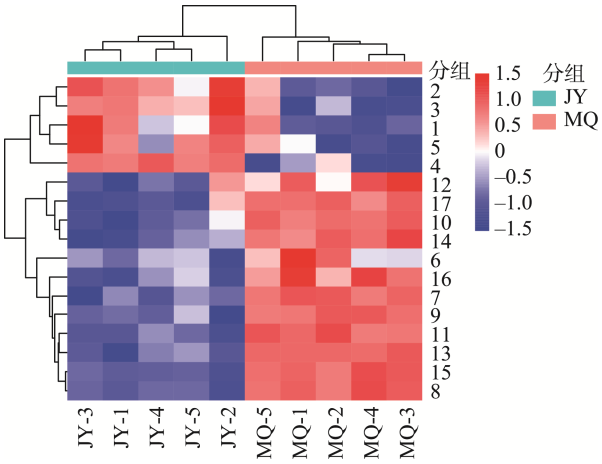
Fig.5 Classification of differential metabolites



注：1~24 分别代表橙皮素、桑橙素、二氢槲皮素、表儿茶素、山奈酚、五甲氧基黄酮、槲皮素-3-*β*-*D*-芸香糖甙、异鼠李素-3-O-芸香糖苷、山柰酚-3-O-芸香糖苷、芦丁、金丝桃苷、二氢山奈酚、槲皮素-3-O-鼠李糖苷-7-O-葡萄糖苷、异鼠李素、槲皮素、异槲皮苷、白杨素、根皮苷、柚皮素、槲皮素-7-O-葡萄糖苷、芹菜素-7-O-葡萄糖苷、槲皮素-7-O-芸香糖苷-4'-O-葡萄糖苷、柚皮素查耳酮、6-C-甲基槲皮素-3-O-鼠李糖苷。

图 6 黄酮类差异代谢物聚类热图

Fig.6 Cluster heatmap of flavonoid differential metabolites

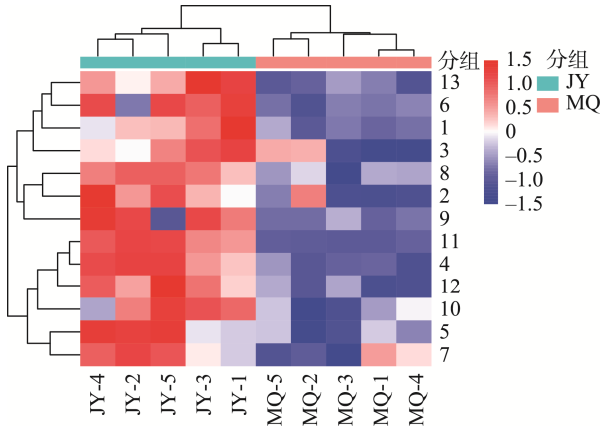


注: 1~17 分别代表焦性没食子酸-2-O-葡萄糖醛酸苷、水杨酸甲酯、姜黄素、绿原酸、对羟基肉桂酸、4-羟基-3,5-二甲氧基肉桂酸、2-氨基苯酚、2, 4-二羟基苯甲酸、4-羟基肉桂酸、三羟基苯甲酸、5-羟基吲哚-2-甲酸、熊果苷、香豆酸、异阿魏酸、芥子酸、对香豆酸、水杨酸。

图 7　酚酸类及其衍生物差异代谢物聚类热图

Fig.7　Cluster heatmap of differential metabolites of phenolic acids and their derivatives

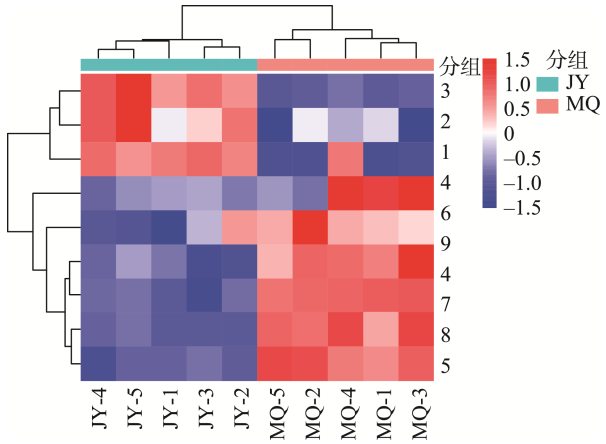
对香豆酸、4-羟基肉桂酸、绿原酸、阿魏酸、芥子酸、甘氨酸、3-羟基-*L*-苯丙氨酸、*L*-天冬酰胺、*L*-天冬氨酸、甘氨酸、甜菜碱、*L*-蛋氨酸、*L*-谷氨酸、东莨菪亭、*DL*-苹果酸、烟酰胺等。黄酮类化合物生物合成通路与黄酮和黄酮醇的生物合成通路是两地枸杞差异最显著的通路之一，其核心差异源于关键酶活性及中间产物的表达差异，进而导致最终黄酮类产物的含量分化。黄酮类化合物生物合成途径中的关键酶有查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)、查尔酮异构酶(chalcone isomerase, CHI)、黄酮 3-羟化酶(flavonoid 3-hydroxylase, F3H)及黄酮醇合成酶(flavonol synthase, FLS)等，本研究中参与该通路的二氢山柰酚、二氢槲皮素等中间产物，以及山柰酚、槲皮素、表儿茶素等终产物在 MQ 产地枸杞中均显著富集，推测 MQ 产地枸杞中 CHS、CHI、F3H 等关键酶的活性更高，促进了黄酮类前体物质向终产物的转化；而 JY 产地枸杞中此类中间产物及终产物含量较低，可能与关键酶活性受环境调控抑制相关[28]。苯丙烷类物质生物合成通路作为黄酮类物质合成的上游通路，其差异进一步支撑了黄酮类代谢的分化特征。该通路的核心中间产物对香豆酸、4-羟基肉桂酸、阿魏酸等不仅是黄酮类、木质素等次生代谢产物的合成前体，还可直接参与植物抗氧化、抗逆反应。结合 JY 与 MQ 两地产地环境差异可知，MQ 产地日照更充足、昼夜温差更大，较强的光照和紫外辐射会显著诱导苯丙烷类物质生物合成通路的激活，促进对香豆酸、4-羟基肉桂酸、阿魏酸等核心中间产物的大量积累；而 JY 产地受黄河灌溉影响，气候相对温和，光照强度及环境胁迫压力较弱，苯丙烷类通路活性相对较低，中间产物积累量较少[29]。氨基酸代谢相关通路的差异，主要体现在甘氨酸、*L*-天冬氨酸、*L*-谷氨酸等氨基酸的含量分化，此类氨基酸不仅是蛋白质合成的基础原料，还参与植物氮代谢、渗透调节及次生代谢产物(如生物碱、黄酮类)的合成。MQ 产地枸杞中此类氨基酸含量相对偏高，推测与该产区极端干旱、盐胁迫下的氮代谢调控相关—胁迫环境会诱导植物氨基酸积累，一方面维持细胞渗透平衡，另一方面为抗逆相关次生代谢提供氮源；而 JY 产地环境条件相对温和，氨基酸代谢更倾向于正常的蛋白质合成及次生代谢协同调控，因此含量相对较低，这反映了两地枸杞在氮代谢及抗逆生理上的差异[30]。



注: 1~13 分别代表 *D*-脯氨酸、*L*-天冬氨酸、*L*-谷氨酸、*L*-蛋氨酸、*D*-苯丙氨酸、*L*-天冬酰胺、N-乙酰-*L*-亮氨酸、甘氨酸、N,N'-二甲基精氨酸、*L*-天冬氨酸-O-二葡萄糖苷、N-苯乙酰甘氨酸、3-羟基-*L*-苯丙氨酸、N6-乙酰-*L*-赖氨酸。

图 8　氨基酸及其衍生物差异代谢物聚类热图

Fig.8　Cluster heatmap of differential metabolites of amino acids and their derivatives



注: 1~9 分别代表阿魏酸、红景天苷、香豆素、反式对香豆醛、云杉苷、异秦皮素、绿原酸甲酯、肉桂酸、6,7-二甲氧基-4-二氢色原酮。

图 9　苯丙素类差异代谢物聚类热图

Fig.9　Cluster heatmap of phenylpropanoid differential metabolites

表 2 不同产地枸杞特征差异代谢物

Table 2 Metabolites with characteristic differences among *Lycium barbarum* L. from different origins

组别	代谢物	类别	VIP	$\log_2$(FC)	*P*	变化类型
JY 和 MQ	麦角新碱	生物碱	1.176	2.19	7.48×10^{-3}	上调
	组氨醇	氨基醇	1.173	1.96	6.17×10^{-3}	上调
	脱氢-*β*-紫罗兰酮	环萜酮类	1.171	2.05	7.09×10^{-3}	上调
	苯乙基樱草糖苷	苯乙醇苷类	1.165	2.59	3.48×10^{-3}	上调
	甲基异石榴皮碱	哌啶类生物碱	1.162	2.47	4.22×10^{-3}	上调
	吲哚乙酰谷氨酸	植物激素结合物	1.195	–2.27	4.16×10^{-2}	下调
	橙皮素	黄酮类	1.191	–2.49	2.98×10^{-2}	下调
	毛蕊花甙	苯乙醇苷类	1.188	–5.22	1.60×10^{-2}	下调
	阿魏酸	苯丙素类	1.186	–2.64	1.23×10^{-2}	下调
	β-*D*-葡萄糖五乙酸酯	糖类衍生物	1.180	–1.13	3.86×10^{-2}	下调
	桑橙素	黄酮类	1.178	–2.96	6.17×10^{-3}	下调
	视黄醇 *β*-*D*-葡萄糖醛酸苷	糖苷类化合物	1.175	–1.91	1.29×10^{-2}	下调
	山楂酸	三萜酸类	1.167	–1.67	7.18×10^{-3}	下调
	吡哆醛	吡啶衍生物类	1.166	–1.02	2.72×10^{-2}	下调
	巴加可马钱碱	单萜生物碱	1.164	–4.53	2.04×10^{-3}	下调
	吲哚丙烯酸	吲哚衍生物	1.161	–1.24	2.46×10^{-2}	下调
	焦性没食子酸-2-O-葡萄糖醛酸苷	酚酸类	1.158	–1.52	1.07×10^{-2}	下调
	甜菜碱	季铵类生物碱	1.157	–1.18	1.84×10^{-2}	下调
	二氢槲皮素	黄酮类	1.152	–6.02	7.19×10^{-4}	下调
	豆甾烯醇	三萜衍生物	1.149	–2.37	1.57×10^{-2}	下调

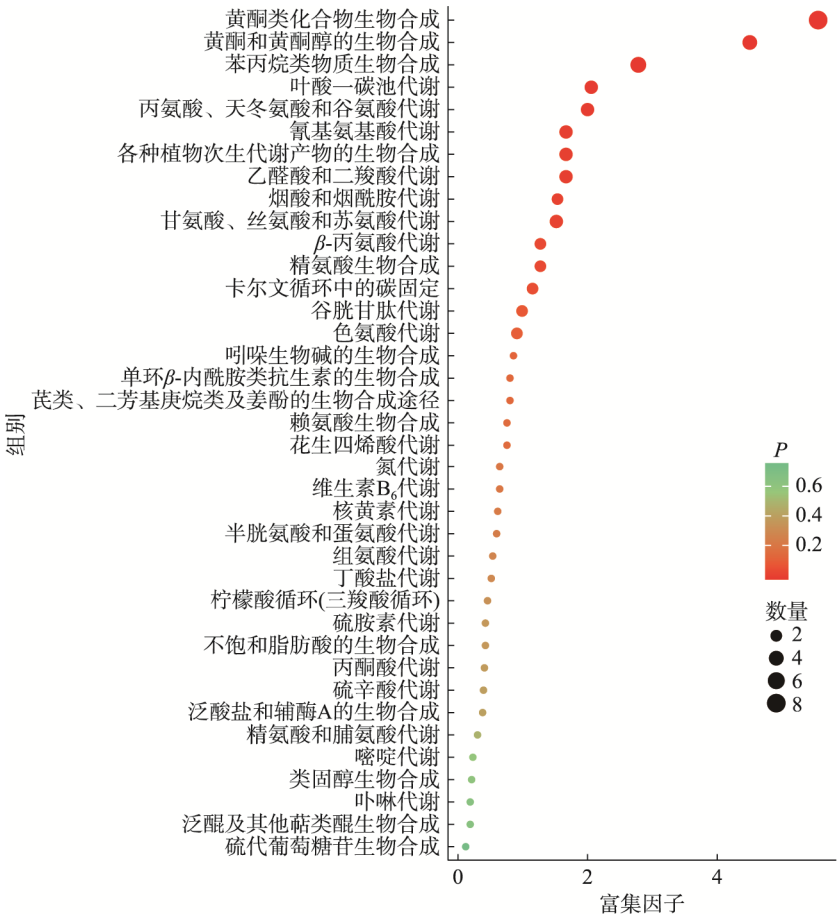


图 10 差异代谢物 KEGG 通路分析

Fig.10 KEGG pathway analysis of differential metabolites

3 结　论

本研究重点关注甘肃省地理标志保护产品靖远枸杞(JY)和民勤枸杞(MQ)的差异代谢物分析。研究结果发现 JY 和 MQ 两种不同产地枸杞共有 102 种差异代谢物, 上调 39 种, 下调 63 种, VIP 排序前 20 的特征差异代谢物分别是麦角新碱、组氨醇、脱氢-*β*-紫罗兰酮、苯乙基樱草糖苷、甲基异石榴皮碱、甜菜碱、吲哚乙酰谷氨酸、橙皮素、毛蕊花甙、阿魏酸、*β*-*D*-葡萄糖五乙酸酯、桑橙素、视黄醇 *β*-*D*-葡萄糖醛酸苷、山楂酸、吡哆醛、巴加可马钱碱、吲哚丙烯酸、焦性没食子酸-2-O-葡萄糖醛酸苷、二氢槲皮素、豆甾烯醇。特征差异物可作为区分两种枸杞产地的主要代谢物。两产地枸杞的差异代谢物主要富集在黄酮类化合物生物合成, 黄酮和黄酮醇的生物合成, 苯丙烷类物质生物合成, 叶酸一碳池代谢, 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢, 氰基氨基酸代谢, 各种植物次生代谢产物的生物合成, 乙醛酸和二羧酸代谢, 烟酸和烟酰胺代谢, 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢等代谢通路上。参与的主要代谢物有山奈酚、槲皮素、对香豆醛、阿魏酸、芥子酸、二氢槲皮素等。本研究筛选和鉴定不同产地地理标志保护产品枸杞的差异代谢物, 探究其变化规律及主要代谢通路, 为不同枸杞的品质差异和产地鉴别提供参考依据, 但仍存在一定不足之处。首先, 本研究仅选取了部分主产区枸杞样品, 采集点过少, 产地覆盖范围相对有限, 未能全面反映不同生态区、栽培模式下枸杞代谢谱的整体特征, 研究结果的代表性有待进一步扩大。其次, 未考虑不同年份的样品信息差异, 可能对代谢组结果产生一定影响。

参考文献

[1] 汪明金, 龙玲. 枸杞多糖的提取、纯化、结构鉴定及药理作用研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2022, 58(1): 131–135, 146.
Wang Mingjin, Long Ling. Research progress on extraction, purification, structure identification and pharmacological action of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. Sichuan Food and Fermentation, 2022, 58(1): 131–135, 146.

[2] 周琪乐, 龚凌慧, 纪凤娣, 等. 红枸杞、黄枸杞和黑枸杞营养成分比较[J]. 中国酿造, 2021, 40(10): 43–49.
Zhou Qile, Gong Linghui, Ji Fengdi, et al. Comparison of nutritional constituents of red wolfberry, yellow wolfberry and black wolfberry [J]. China Brewing, 2021, 40(10): 43–49.

[3] Zhou Zhengqun, Xiao Jia, Fan Hongxia, et al. Polyphenols from wolfberry and their bioactivities [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 644–654.

[4] Qian Dan, Zhao Yaxing, Yang Guang, et al. Systematic review of chemical constituents in the genus *Lycium* (Solanaceae) [J]. Molecules, 2017, 22(6): 911.

[5] 刘建飞, 巩媛, 杨军丽, 等. 枸杞属植物中生物碱类成分研究进展[J]. 科学通报, 2022, 67(增刊 1): 332–350.
Liu Jianfei, Gong Yuan, Yang Junli, et al. Advance on alkaloids of *Lycium* genus [J]. Chinese Science Bulletin, 2022, 67(S1): 332–350.

[6] Wang Yajun, Liang Xiaojie, Guo Sujuan, et al. Evaluation of nutrients and related environmental factors for wolfberry (*Lycium barbarum*) fruits grown in the different areas of China [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2019, 86: 103916.

[7] Bertoldi D, Cossignani L, Blasi F, et al. Characterisation and geographical traceability of Italian Goji berries [J]. Food Chemistry, 2019, 275: 585–593.

[8] Cossignani L, Blasi F, Simonetti M S, et al. Fatty acids and phytosterols to discriminate geographic origin of *Lycium barbarum* berry [J]. Food Analytical Methods, 2018, 11(4): 1180–1188.

[9] Long Qiyuan, Zhang Changjian, Zhu Hui, et al. Comparative metabolomics combined with genome sequencing provides insights into novel wolfberry-specific metabolites and their formation mechanisms [J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1392175.

[10] 兰天, 段国珍, 祁有朝, 等. 黑果枸杞和黄果枸杞的广泛靶向代谢组学分析[J]. 食品科学, 2024, 45(12): 52–58.
Lan Tian, Duan Guozhen, Qi Youzhao, et al. Widely targeted metabolomic analysis of *Lycium* ruthenicum Murr and *Lycium barbarum* l. var. auranticarpum K. F. Ching fruits [J]. Food Science, 2024, 45(12): 52–58.

[11] 王珂佳, 邱树毅. 微生物代谢组学及其在白酒酿造中的应用研究进展[J]. 中国酿造, 2019, 38(9): 1–6.
Wang Kejia, Qiu Shuyi. Advances in microbial metabolomics and its application in Baijiu brewing [J]. China Brewing, 2019, 38(9): 1–6.

[12] 李思源, 李培瑜, 刘弈彤, 等. 代谢组学在食品科学中的应用进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(5): 252–258.
Li Siyuan, Li Peiyu, Liu Yitong, et al. Application progress of metabolomics in food science [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(5): 252–258.

[13] 常相伟, 李德坤, 王彤, 等. 基于 UHPLC-QTOF/MS 的植物代谢组学技术鉴别林下山参的不同部位[J]. 药学学报, 2016, 51(10): 1609–1615.
Chang Xiangwei, Li Dekun, Wang Tong, et al. Application of metabolomics approach to study of different parts of Mountain Cultivated Ginseng using UHPLC-QTOF/MS [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 2016, 51(10): 1609–1615.

[14] Shahbazy M, Moradi P, Ertaylan G, et al. FTICR mass spectrometry-based multivariate analysis to explore distinctive metabolites and metabolic pathways: a comprehensive bioanalytical strategy toward time-course metabolic profiling of *Thymus vulgaris* plants responding to drought stress [J]. Plant Science, 2020, 290: 110257.

[15] 张玉芬, 齐景凯, 王桂玲, 等. 基于矿质元素指纹的荞麦产地溯源研究[J]. 作物杂志, 2023(3): 66–74.
Zhang Yufen, Qi Jingkai, Wang Guiling, et al. Study on geographical origin of buckwheat based on mineral element fingerprint [J]. Crops, 2023(3): 66–74.

[16] 徐冰冰, 张九凯, 赵贵明, 等. 基于非靶标代谢组学的沙棘油真实性鉴别技术[J]. 食品科学, 2021, 42(18): 246–253.
Xu Bingbing, Zhang Jiukai, Zhao Guiming, et al. Authentication of sea buckthorn oil based on non-targeted metabolomics [J]. Food Science, 2021, 42(18): 246–253.

[17] 汤丽华, 马雪梅, 张瑶, 等. 基于非靶向代谢组学分析不同品种宁夏枸杞差异性代谢物[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(24): 8083–8090.
Tang Lihua, Ma Xuemei, Zhang Yao, et al. Differential metabolites

analysis on different varieties of *Lycium barbarum* L. based on non-targeted metabolomics [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(24): 8083–8090.

[18] 奉综涛, 田梦乐, 买地那•帕尔哈提, 等. 西藏三种枸杞基本营养成分及代谢物差异分析[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(16): 351–362.
Feng Zongtao, Tian Mengle, Maidina Paerhat, et al. Differences in basic nutrients and metabolites in three types of *Lycium chinense* in Tibet [J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(16): 351–362.

[19] Li Nan, Chen Wei, Wang Bin, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi improve the disease resistance of *Lycium barbarum* to root rot by activating phenylpropane metabolism [J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1459651.

[20] 丁明亮, 胡蕤, 孙秋玉, 等. 麦角菌研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2025, 30(10): 177–192.
Ding Mingliang, Hu Rui, Sun Qiuyu, et al. Research progress on *Claviceps* fungus [J]. Journal of China Agricultural University, 2025, 30(10): 177–192.

[21] 纪吴子仪, 何瑶, 张劭哲, 等. 宁夏枸杞子功效物质及药用价值的研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2026, 42(2): 315–322.
Ji Wuziyi, He Yao, Zhang Shaozhe, et al. Research progress on the functional substances and medicinal value of *Lycium barbarum* L [J]. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2026, 42(2): 315–322.

[22] 郑国琦, 马宏玮, 许兴. 盐胁迫下宁夏枸杞盐分与甜菜碱累积及其与光合作用的关系[J]. 中国生态农业学报, 2003, 11(3): 51–54.
Zheng Guoqi, Ma Hongwei, Xu Xing. The relationship between the accumulation of salt ions and betaine, and the photosynthesis in leaves of *Lycium barbarum* L. under salt stress [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2003, 11(3): 51–54.

[23] 张卫东, 华丰, 赵权, 等. 橙皮素通过靶向线粒体调控肝细胞焦亡在缓解酒精性肝损伤中的作用及机制[J]. 中国中药杂志, 2026, 51(8): 2310–2322.
Zhang Weidong, Hua Feng, Zhao Quan, et al. Effects and mechanisms of hesperetin in attenuating alcoholic liver injury by targeting mitochondria to regulate hepatocyte pyroptosis [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2026, 51(8): 2310–2322.

[24] Ji Mingming, Sun Jian, Zhao Jun. Verbascoside represses malignant phenotypes of esophageal squamous cell carcinoma cells by inhibiting CDC42 *via* the HMGB1/RAGE axis [J]. Human & Experimental Toxicology, 2022, 41: 9603271221127429.

[25] Du Youwei, Ma Huiya, Liu Yuanyuan, et al. Major quality regulation network of flavonoid synthesis governing the bioactivity of black wolfberry [J]. The New Phytologist, 2024, 242(2): 558–575.

[26] Liu Ming, Xue Rujun, Jin Shuangzhen, et al. Metabolomic and metagenomic analyses elucidate the role of intercropping in mitigating continuous cropping challenges in tobacco [J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1447225.

[27] Zheng Xuexue, Hong Xin, Jin Youlan, et al. Characterization of key aroma compounds and relationship between aroma compounds and sensory attributes in different aroma types of Fu brick tea [J]. Food Chemistry, 2022, 13: 100248.

[28] 张凯敏, 耿贵工, 乔枫. 枸杞果实发育期酶活性、基因表达与类黄酮积累的相关性分析[J]. 分子植物育种, 2024, 22(22): 7515–7524.
Zhang Kaimin, Geng Guigong, Qiao Feng. Correlation of enzyme activity, gene expression and flavonoid accumulation in *Lycium chinense* fruit development [J]. Molecular Plant Breeding, 2024, 22(22): 7515–7524.

[29] 李婷, 徐君, 刘晓雯, 等. 枸杞响应紫外辐射对其果实中类胡萝卜素和黄酮合成的影响[J]. 青海农林科技, 2024(3): 69–77.
Li Ting, Xu Jun, Liu Xiaowen, et al. Effects of UV-B radiation on the synthesis of flavonoids and carotenoids in *Lycium barbarum* [J]. Science and Technology of Qinghai Agriculture and Forestry, 2024(3): 69–77.

[30] Tiika R J, Duan Huirong, Yang Hongshan, et al. Proline metabolism process and antioxidant potential of *Lycium ruthenicum* Murr. in response to NaCl treatments [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023, 24(18): 13794.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)