

不同品种金槐米代谢组学比较

包素青^{1,2}, 邓丽丽², 余洪涛¹, 熊忠臣², 韦霄², 史艳财^{2*}

(1. 桂林医学院药学院, 广西桂林 541199) (2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西桂林 541006)

摘要: 为探明不同品种金槐米代谢组学的差异, 该研究利用液相色谱与质谱联用仪 (LC-MS) 对 4 种不同品种金槐米 (金槐 J3 为早熟、金槐 J2 和金槐 J4 为中熟、金槐 J6 为晚熟) 的代谢物进行了测定。结果表明, 金槐米中测定的代谢物共有 1 135 个化合物, 632 个为差异代谢物; 4 种不同品种金槐米共有 62 个重复差异代谢物, 主要为脂质和类脂分子 (占被注释到化合物百分比 30%)、有机杂环化合物 (占被注释到化合物百分比 23.33%)、有机酸及其衍生物 (占被注释到化合物百分比 20%)、有机含氧化合物 (占被注释到化合物百分比 10%)、苯丙素类化合物 (各占被注释到化合物百分比 10%)、生物碱和衍生物 (占被注释到化合物百分比 6.67%) 等 6 大类物质; 差异代谢物主要在苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成通路富集显著; 4 类金槐米均富含芦丁、槲皮苷, 基于黄酮类化合物聚类分析显示, 金槐 J6 和金槐 J3 各为单独一组, 金槐 J2 和金槐 J4 为一组; 金槐米含有丰富的代谢物, 早熟和中熟金槐米代谢物组成相似度高, 晚熟金槐米代谢物组成与其他两类差异明显, 差异代谢物主要集中在芳香族氨基酸的生物合成通路。研究结果可为金槐米种质资源的合理开发和利用提供参考。

关键词: 金槐; 金槐米; 代谢组学; 差异代谢物

文章编号: 1673-9078(2025)11-153-162

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.11.1213

Comparative Metabolomic Analysis of Different Varieties of

Sophora japonica ‘Jinhuai’

BAO Suqing^{1,2}, DENG Lili², YU Hongtao¹, XIONG Zhongchen², WEI Xiao², SHI Yancai^{2*}

(1.College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China) (2.Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract: In order to uncover the differences in metabonomics among the different varieties of *Sophora japonica* ‘Jinhuai’, the metabolites of four varieties of *S. japonica* (‘Jinhuai’ from early maturity variety (Jinhuai J3), mid-maturity variety (Jinhuai J2 and Jinhuai J4), and late-maturity variety (Jinhuai J6)) were determined using liquid chromatography and mass spectrometry (LC-MS). The results showed that there were 1 135 metabolites in *S. japonica* ‘Jinhuai’, with 632 being differential metabolites. There are 62 repetitive and differential metabolites in the four different varieties of *S. japonica* ‘Jinhuai’, which were mainly six kinds of substances i.e. lipids and lipid-like molecules (30% of annotated compounds), organic heterocyclic compounds (23.33% of annotated compounds), organic acids and their derivatives (20% of annotated compounds), organic oxygen-containing compounds (10% of annotated compounds), phenylpropanoids (10% of annotated compounds), and alkaloids and derivatives (6.67% of annotated

引文格式:

包素青,邓丽丽,余洪涛,等.不同品种金槐米代谢组学比较[J].现代食品科技,2025,41(11):153-162.

BAO Suqing, DENG Lili, YU Hongtao, et al. Comparative metabolomic analysis of different varieties of *Sophora japonica* ‘Jinhuai’ [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(11): 153-162.

收稿日期: 2024-08-16 ; 修回日期: 2024-09-28 ; 接受日期: 2024-10-09

基金项目: 广西八桂青年拔尖人才项目; 广西重点研发计划项目 (桂科 AB22080072); 国家林草科技创新青年拔尖人才项目; 广西科技基地和人才专项项目 (桂科 AD21220011)

作者简介: 包素青 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药用植物, E-mail : 2697317684@qq.com

通讯作者: 史艳财 (1984-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 药用植物及保育生物学研究, E-mail : shiyancaianan@163.com

compounds). Differential metabolites are mainly enriched in phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthetic pathways; The four kinds of *S. japonica* ‘Jinhuai’ were rich in rutin and quercitrin. Based on the cluster analysis of flavonoids, Jinhuai J6 and Jinhuai J3 were separate groups, whilst Jinhuai J2 and Jinhuai J4 clustered together as a group. *S. japonica* ‘Jinhuai’ was rich in metabolites, and the metabolite compositions of early-maturing and mid-maturing varieties were highly similar, whereas, the metabolites of late-maturing variety differed significantly from the other two types in metabolite composition, with the different metabolites being mainly concentrated in the biosynthesis pathway of aromatic amino acids. The research results can provide references for the rational development and utilization of *S. japonica* ‘Jinhuai’ germplasm resources.

Key words: *Sophora japonica* cv. Jinhuai; sophora flower bud; metabolomics; differential metabolites

槐树 (*Sophora japonica* L.) 的干燥花蕾被称为槐米, 含有鞣质、黄酮、氨基酸、蛋白质、烯酸、微量元素、植物甾醇等多种成分^[1], 主要活性成分为芦丁、槲皮苷等黄酮类化合物, 具有抗炎、抗氧化、防止基体脂质发生过氧化反应、抑制癌细胞增殖等作用^[2]。槐米是我国传统常用中药材, 且已被国家卫计委列为药食同源中药材目录。金槐 (*Sophora japonica* ‘Jinhuai’) 是众多槐树品种中的一个分支, 其槐米呈金黄色, 故而得名金槐。金槐米中活性成分——芦丁含量高达 30% 以上, 远高于《中国药典》(2020 年版) 中 15% 的标准限度, 被誉为槐米中的“极品”。金槐产业发展迅猛, 广西、湖南以及贵州等地已累计推广种植 30 余万亩以上, 成为广西、湖南等多地富民增收的新型产业。

代谢组学主要是对生物体内代谢小分子和代谢网络的全局分析, 快速筛选出差异常代谢物, 更好地了解生物现象的发生机制^[3-5], 李伟忠等^[6]研究利用非靶向代谢组学的方法得出不同 CaCl_2 溶液在越南槐萌发种子的差异表达代谢物不同主要是异黄酮和类黄酮代谢、脂质代谢和有机酸代谢; 韩丽颖等^[7]基于代谢组学的经典名方槐花散治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究, 结果显示槐花散对溃疡性结肠炎小鼠治疗作用明显。近年来, 关于金槐的研究主要集中在芦丁等单一化学成分^[8]、药理活性^[9,10]、种植栽培^[11]等方面。根据成熟期, 金槐米大致可分为早熟、中熟和晚熟 3 大类。作者团队前期的监测结果显示, 不同成熟类型金槐的活性成分及代谢物存在一定的差异^[12]。但是, 以上研究多是从单体或者单类的化合物入手, 对于不同成熟类型金槐米代谢物的组成等方面的研究未见报道。因此, 本研究旨在利用代谢组学探究不同成熟期金槐米的代谢差异, 为金槐米种质资源的合理开发和利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

研究所用金槐米于 2022 年 8 月在广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所 (槐树种质圃) 采集, 4

个不同成熟期金槐品种主要特点如表 1 所示。

表 1 不同成熟期金槐的特点
Table 1 Characteristics of different types of *S. japonica* ‘Jinhuai’

金槐树类型 / 编号	主要特点
金槐树 J2 (A)、 金槐树 J4 (B)	均为中熟, 枝条深绿, 不易冲梢
金槐树 J6 (C)	晚熟, 枝条不易冲梢
金槐树 J3 (D)	早熟, 花穗大

1.2 代谢物提取与代谢组学色谱质谱采集

非靶向代谢物提取: 使用电子天平精确称量 50 mg 金槐米样品后与 6 nm 直径的研磨珠放入 2 mL 的离心管中, 向管中加入提取液 400 μL (比例: 甲醇: 乙腈按 1:1, 内标: 含有 0.02 mg/mL 的 L-2-氯苯丙氨酸) 后, 将离心管放入冷冻组织研磨仪中 ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 频率为 50 Hz) 研磨 6 min, 在转移至低温环境 ($5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下, 频率为 40 kHz) 下进行超声波提取持续 30 min。将最终所得的样品置于冷冻条件下 ($-20\text{ }^{\circ}\text{C}$) 静置 30 min, 在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下以 13 000 g 的离心力离心 15 min 后移取上清液放入进样小瓶中 (带有内插管) 等待上机分析。同时, 从每个样本中取出 20 μL 上清液混合, 作为质控样本 (每个种质样品重复 3 次)。

靶向代谢组学代谢物提取: 使用电子天平精确称量 100 mg 金槐米样品后与 600 μL 的甲醇溶液 (色谱纯)、重量为 100 mg 玻璃珠, 放入 2 mL EP 管中, 并使用高通量组织研磨仪设置频率为 60 Hz、震荡 1 min (重复 2 次), 在室温下进行超声处理, 持续 15 min 后在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下以 12 000 r/min 的转速离心 5 min, 取出 10 μL 的上清液。向上清液中加入体积分数为 80% 的甲醇溶液 (色谱纯) 490 μL , 设置涡旋震荡 1 min, 取稀释液 50 倍后的上清液 50 μL 放入 2 mL EP 管中, 加入体积分数为 80% 的甲醇溶液 (色谱纯) 450 μL , 设置涡旋震荡 1 min, 使用规格为 0.22 μm 的过滤膜进行过滤后加入检测瓶中, 准备进行分析。

利用液相色谱与质谱联用仪 (LC-MS) 对样品进行物质鉴定, 液相条件和质谱参数的设置参考余洪

涛^[13]的方法进行。色谱条件：流动相 A 由体积分数为 95% 水和体积分数为 5% 乙腈组成，流动相 B 由体积分数为 47.5% 乙腈、体积分数为 47.5% 异丙醇和体积分数为 5% 水混合而成，且流动相 A、B 均含有体积分数为 0.1% 甲酸；流量：0.40 mL/min，进样量：2 μ L，柱温：40 $^{\circ}$ C。质谱参数：质谱条件如下：鞘气流量为 40 L/min；辅助气为 10 L/min；喷雾电压分别为正离子 3.5 kV 和负离子 2.8 kV；S-Lens 电压设定 50；毛细管温度保持在 320 $^{\circ}$ C；加热温度设定为 400 $^{\circ}$ C；扫描范围设定在 70~1 050 m/z ，并采用正、负离子的方式扫描。

1.3 数据统计分析

采用 Microsoft Office 2019 进行数据处理，制作柱状图；采用 Origin 2021 制作饼图，采用美吉云生物平台进行数据处理，PCA 图、PLS-DA 和置换检验图、韦恩图、HMDB 分类图、聚类热图、火山图以及气泡图。

2 结果与讨论

2.1 非靶向代谢组学分析

2.1.1 LC-MS分析

本研究使用液相色谱-质谱联用方法对金槐米代谢物组分进行非靶向分析，分别采集正、负离子两种模式检测。在正离子模式下检测得到 7 389 个峰、635 个化合物，在负离子模式下检测得到 7 796 个峰、550 个化合物。共鉴定出 1 135 个化合物。高薇等^[14]研究基于非靶向代谢组学的牛尾菜植株不同部位代谢物差异分析共鉴定出 1 084 个代谢物，陆玉爱等^[15]研究基于 UPLC-MS/MS 的夏枯草不同时期的果穗差异代谢物分析共鉴定出 602 种代谢物，张帆等^[16]等研究不同黄瓜品种的差异代谢组学分析共鉴定出代谢产物 56 种，说明与牛尾菜、夏枯草、黄瓜等相比较，金槐米含有较为丰富的代谢物。

2.1.2 主成分分析

应用主成分分析法（PCA）对金槐米代谢物进行主成分分析（图 1）。两个主成分 PC1、PC2 贡献率分别为 27.7%、23.5%。金槐 J2、金槐 J4、金槐 J6、金槐 J3 紧密聚集在一起，置于 95% 置信区间内，说明各组内样本之间的差异代谢重复性好、无样本异常、结果可靠。其中，金槐 J2 与金槐 J4 在置信区间内重叠，说明两组样本间的代谢图谱非常接近，代谢物的差异较小。不同成熟期金槐 J2、J4、J6、J3 与 QC 组之间基本区隔，说明金槐 J2、J4 与金槐 J6、J3 在代谢图谱方面存在较大差异；金槐 J6 与金槐 J2、金

槐 J4 和金槐 J3 距离较远，说明三个样本之间的差异代谢较大。

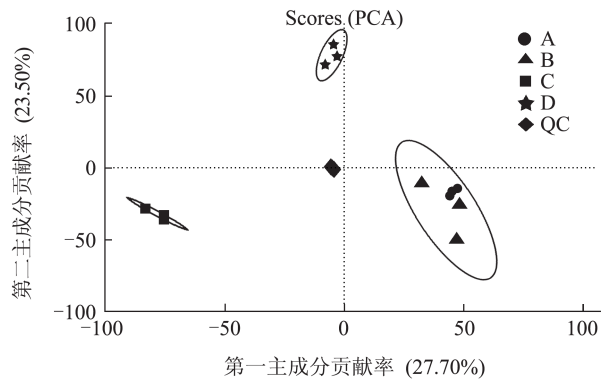


图 1 4 种金槐品种 PCA 得分比较分析

Fig.1 Comparison and analysis of PCA scores of 4 varieties

注：A：金槐 J2；B：金槐 J4；C：金槐 J6；D：金槐 J3。
下同。

2.1.3 PLS-DA分析

样本 PLS-DA 得分图（图 2）。第一组主成分分析解释度 1 为 33.1%，第二组主成分分析解释度 2 为 25.3%，累计解释度为 58.4%。结果表明，同一成熟期金槐 J2、金槐 J4 分散不明显，不同成熟期金槐 J6、金槐 J3 样本分散强度大，说明同一成熟期金槐 J2、金槐 J4 的代谢图谱比较相近，不同成熟期金槐 J6、金槐 J3 的代谢差异较大。

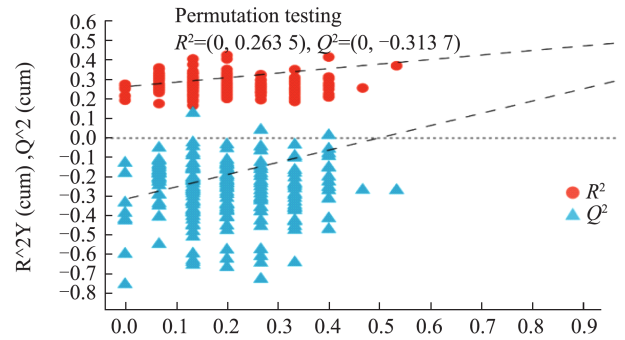
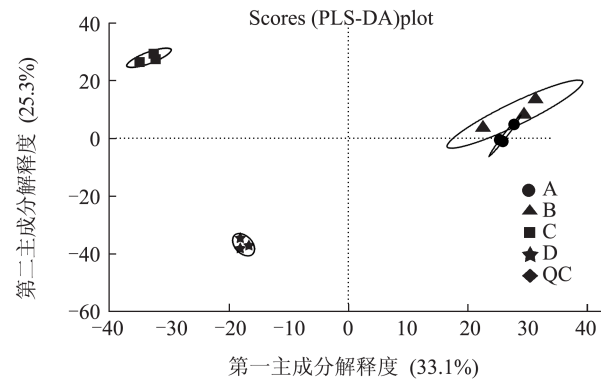


图 2 4 种金槐品种 PLS-DA 得分图和置换检验比较分析

Fig.2 Comparison and analysis of PLS-DA and replacement test of 4 varieties of *S. japonica* ‘Jinhuai’

在 PLS-DA 模型进行 200 多次置换检验过程中 (图 2), Q^2 的累计值为 -0.031 37, R^2 的累计值为 0.263 5, $R^2 > Q^2 > 0.5$, 证明 PLS-DA 模型可以说明样本之间的差异稳定可靠, 且未发生过拟合。

2.1.4 差异代谢物韦恩图及HMDB化合物分类

对各组间差异代谢物进行差异筛选 (以 $VIP > 1$, $P < 0.05$ 为指标), 共获得差异代谢物 632 个。金槐 J2 vs 金槐 J3 有 343 个差异代谢物, 金槐 J6 vs 金槐 J3 有 393 个差异代谢物, 金槐 J4 vs 金槐 J6 有 339 个差异

代谢物, 金槐 J2 vs 金槐 J6 有 347 个差异代谢物 (图 3)。其中, 各处理组共有 62 个重复的差异代谢物 (表 2), 4 组同一物种的样品各组间差异代谢物含量较大。

将所获得的 632 个差异代谢物与 HMDB 数据库比对 (图 4), 结果有 30 个化合物在 62 个差异代谢物中被注释到, 将其划分为脂质和类脂分子、有机杂环化合物、有机酸及其衍生物、有机含氧化合物、苯丙素类化合物、生物碱和衍生物 6 大类物质, 分别占被注释到化合物百分比为 30%、23.33%、20%、10%、10%、6.67%。

表 2 4 种金槐品种筛选出的差异代谢物分析
Table 2 Analysis of differential metabolites from 4 varieties of *S. japonica* ‘Jinhuai’

序号	化合物名称	保留时间/min	质荷比	分子式	分子量偏差 ($\times 10^{-6}$)	上升↑或 下降↓
1	4-羟基-5-(3',4',5'-三羟基苯基)-戊酸-O-甲基-O-葡萄糖苷酸	1.82	471.11	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₃	0.60	↑
2	1-硬脂酰甘油磷酸肌醇	2.15	601.33	C ₂₇ H ₅₃ O ₁₂ P	-1.84	↓
3	DL-鸟氨酸-L-丙氨酸	1.46	202.12	C ₈ H ₁₇ N ₃ O ₄	0.81	↓
4	5-(3',4',5'-三羟基苯基)- γ -戊内酯	2.17	207.07	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	0.47	↓
5	千层纸素 A	2.72	285.08	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	0.51	↓
6	多塞平 N-氧化葡萄糖醛酸	2.87	495.18	C ₂₅ H ₃₀ NO ₈ +	-5.48	↑
7	6-[4-(3-{4-[(3-{[3,4-二羟基-4-(羟甲基)氧杂环戊烯-2-基]氧基}-4,5-二羟基-6-(羟甲基)氧杂环戊烷-2-基]氧基}苯基)丙-2-烯基)-3-羟基苯氧基]-3,4,5-三羟基氧杂环戊-2-羧酸)	3.14	727.21	C ₃₂ H ₃₈ O ₁₉	1.39	↓
8	1-O-(3R,4-二羟基-2-亚甲基-丁酰基)- β -D-葡萄糖吡喃酶	3.51	295.10	C ₁₁ H ₁₈ O ₉	0.45	↑
9	苜蓿-2,3-二羟基丁烷二酸	2.32	205.05	C ₁₁ H ₁₂ O ₆	0.60	↑
10	6-([4,5-二羟基-6-甲基-3-[(3,4,5-三羟基-6-甲基氧杂环己烷-2-基)氧基]氧杂环己烷-2-基]氧基)甲基]氧杂环己烷-2,3,4,5-四醇	1.61	437.16	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₄	-4.56	↓
11	2-(3,4-二羟基苯基)-8-[3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)氧杂环己烷-2-基]-3,4-二氢-2H-1-苯并吡喃-3,5,6,7-四醇	2.53	469.13	C ₂₁ H ₂₄ O ₁₂	-4.83	↑
12	(R)-坎佐诺 Y	4.05	452.24	C ₂₅ H ₃₀ O ₅	-5.87	↓
13	脂昔 I	4.76	571.20	C ₂₅ H ₃₀ O ₁₃	-4.73	↓
14	6-{4[(E)-2-{3,5-二羟基-4-[(1E)-3-甲基丁-1-烯-1-基]苯基}乙烯基]苯氧基}-3,4,5-三羟基恶烷-2-羧酸	4.82	495.16	C ₂₅ H ₂₈ O ₉	1.49	↑
15	6-([4,5-二羟基-6-甲基-3-[(3,4,5-三羟基-6-甲基氧杂环己烷-2-基)氧基]氧杂环己烷-2-基]氧基)甲基]氧杂环己烷-2,3,4,5-四醇	4.82	515.12	C ₂₅ H ₂₄ O ₁₃	-4.65	↓
16	2',6'-二羟基-4'-甲氧基苯乙酮	5.84	165.05	C ₉ H ₁₀ O ₄	0.41	↑
17	神经介质蛋白 (1-4)	6.41	546.33	C ₂₆ H ₄₀ N ₄ O ₆	-2.22	↑
18	3-羟基-8,9-亚甲基二氧紫檀烯	5.04	283.06	C ₁₆ H ₁₀ O ₅	1.07	↓
19	6-{2-[2-(2,4-二羟基苯基)-2-氧代乙基]-5-羟基-4-(4-羟基-3-甲基丁-2-烯-1-基)-3-甲氧基苯氧基}-3,4,5-三羟基氧杂己烷-2-羧酸	4.82	573.16	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₃	0.32	↓
20	天竺葵素	4.63	271.06	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	0.81	↓
21	苜蓿皮素 3-O-(6'-丙二酰葡萄糖苷)	4.36	541.13	C ₂₅ H ₂₆ O ₁₂	0.25	↓

续表2

序号	化合物名称	保留时间/min	质荷比	分子式	分子量偏差 ($\times 10^{-6}$)	上升↑或 下降↓
22	3,4,5-三羟基-6-([3-羟基-5-[(E)-2-(4-{[3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)氧杂己烷-2-基]氧基}苯基)乙烯基]苯氧基]氧杂己烷-2-羧酸	4.30	567.17	C ₂₆ H ₃₀ O ₁₄	-3.30	↓
23	锦葵色素	3.18	331.08	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	-2.00	↓
24	锯齿苯胺	2.91	296.19	C ₁₆ H ₂₅ NO ₄	1.19	↑
25	N-乳糖乙醇胺磷酸酯	2.67	427.09	C ₅ H ₁₂ NO ₆ P	-0.70	↑
26	天芥菜碱	2.53	314.20	C ₁₆ H ₂₇ NO ₅	0.13	↓
27	4-氧维甲酸	2.44	345.18	C ₂₀ H ₂₈ O ₂	3.23	↓
28	咖啡醌	2.17	179.03	C ₉ H ₆ O ₄	0.86	↓
29	甲基东莨菪碱	2.13	318.17	C ₁₈ H ₂₃ NO ₄	0.52	↑
30	6-[3-(4-羧基-2-羟基丁基)苯氧基]-3,4,5-三羟基氧杂己烷-2-羧酸	1.95	419.15	C ₁₇ H ₂₂ O ₁₀	-5.56	↑
31	6-乙酰基-1,2,3,4-四氢吡啶	1.90	273.16	C ₇ H ₁₁ NO	9.77	↑
32	甘氨酸赖氨酸	1.46	204.13	C ₈ H ₁₇ N ₃ O ₃	0.89	↓
33	{3,5-二羟基-2-[羟基]({2,3,4-三羟基-6-氧代-3-[3,4,5-三羟基-6-(羟甲基)氧杂戊烷-2-基]环己-1,4-二烯-1-基})甲基]氧杂戊烷-4-基}氧化烷磺酸	1.80	545.08	C ₁₈ H ₂₆ O ₁₇ S	-1.72	↑
34	3-(6-羟基-7-甲氧基-2H-1,3-苯并二氧杂环戊烯-5-基)丙酸	2.32	239.06	C ₁₁ H ₁₂ O ₆	-4.23	↑
35	1-羟甲基-5,5-二甲基-2,4-咪唑啉二酮	0.71	157.06	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₃	-9.66	↑
36	{[(16R)-5,7,11-三羟基-8,10,12,16-四甲基-3-[1-(2-甲基-1,3-噻唑-4-基)丙烯-1-烯-2-基]-9-氧代-17-氧杂-4-氮杂二环[14.1.0]十七碳-4-烯-8-基]甲氧基}磺酸	1.63	639.18	C ₂₇ H ₄₂ N ₂ O ₉ S ₂	-7.84	↓
37	1-(3-甲基丁酰基)-6-蔗糖基葡萄糖	1.96	395.16	C ₁₆ H ₂₈ O ₁₁	-2.07	↓
38	甘油-1,2-二乙酸酯	2.09	527.20	C ₇ H ₁₂ O ₅	-2.11	↓
39	利诺西纳马林	2.18	385.11	C ₁₆ H ₂₀ O ₈	-1.56	↓
40	N-[4'-羟基-(E)-肉桂酰]-L-天冬氨酸	2.36	278.07	C ₁₃ H ₁₃ NO ₆	-2.33	↓
41	6-{[8,8-二甲基-6-(2-甲基丙酰基)-2-氧代-4-苯基-2H,8H-吡喃并[2,3-f]色烯-5-基]氧基}-3,4,5-三羟基氧杂己烷-2-羧酸	2.47	547.17	C ₃₀ H ₃₀ O ₁₁	9.22	↑
42	3,4,5-三羟基-6-([2-(9-{[(2E)-2-甲基丁-2-烯基]氧基}-2-氧代-2H,8H,9H-咪唑[2,3-h]色烯-8-基)丙-2-基]氧]氧杂-2-羧酸	3.34	565.16	C ₂₅ H ₂₈ O ₁₂	0.35	↑
43	芹菜素-7-O-葡萄糖苷	3.48	431.10	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	-1.90	↓
44	(6-{[2-(3,4-二羟基苯基)-5,7-二羟基-4-氧代-4H-色烯-3-基]氧基}-3,4,5-三羟基氧杂己烷-2-基)甲基(2E)-3-(4-羟基苯基)丙烯-2-酸酯	3.92	609.12	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₄	-2.53	↑
45	(S)-菠菜碱	4.07	148.05	C ₇ H ₉ N ₃ O ₂	-0.61	↓
46	[6]-姜二醇 5-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	4.31	457.24	C ₂₃ H ₃₈ O ₉	-2.25	↑
47	4',7-二羟基-2'-甲氧基-3'-戊烯基异丙醇烷	5.73	739.35	C ₂₁ H ₂₄ O ₄	7.31	↓
48	2-羟基-2,6,6-三甲基环己酮	5.58	155.11	C ₉ H ₁₆ O ₂	-9.24	↑
49	3-羟基异庚酸	4.42	145.09	C ₇ H ₁₄ O ₃	-9.98	↑
50	5-乙氧基-4,5-二氢-2(3H)咪唑酮	4.05	389.18	C ₆ H ₁₀ O ₃	-1.56	↑
51	黄曲霉素 15-O-β-D-吡喃葡萄糖苷	3.87	601.21	C ₂₆ H ₃₆ O ₁₃	-1.49	↓
52	美戊内酯	3.65	389.18	C ₆ H ₁₀ O ₃	-1.37	↓

续表2

序号	化合物名称	保留时间/min	质荷比	分子式	分子量偏差 ($\times 10^{-6}$)	上升↑或 下降↓
53	(S)-3-羟基丁酸丁酯[阿拉伯糖基-(1->6)-葡萄糖苷]	3.48	435.19	C ₁₉ H ₃₄ O ₁₂	-2.19	↑
54	2-哌啶酮	3.23	257.15	C ₅ H ₉ NO	-3.29	↓
55	3-(2-羟基-苯基)-丙醛	2.50	131.05	C ₉ H ₁₀ O ₂	-9.79	↑
56	6-[3-(3-{[3,4-二羟基-5-(羟甲基)氧杂戊烷-2-基]氧基}-5,7-二羟基-4-氧代-3,4-二氢-2H-1-苯并吡喃-2-基)苯氧基]-3,4,5-三羟基氧杂己烷-2-羧酸	2.41	617.11	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₆	2.89	↓
57	异芒果苷	2.36	467.08	C ₁₉ H ₁₈ O ₁₁	-2.08	↓
58	3,4,5-三羟基-6-({2-[2,4,6-三羟基-3-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基]乙酰基}氧基)恶烷-2-羧酸	2.32	901.26	C ₁₉ H ₂₄ O ₁₁	-1.31	↑
59	反式对薄荷烷-1,7,8-三醇-8-葡萄糖苷	2.28	349.19	C ₁₆ H ₃₀ O ₈	-1.80	↓
60	3,4,5-三羟基-6-({4-羟基-2-(羟甲基)-7-甲氧基-2-甲基-3,4-二氢-2H-1-苯并吡喃-5-基]氧基}氧杂己烷-2-羧酸	2.09	437.11	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₁	3.50	↓
61	分支酸盐	1.65	271.05	C ₁₀ H ₁₀ O ₆	-1.81	↓
62	尼加基农	1.94	563.13	C ₁₄ H ₈ N ₂ O ₃	8.99	↑

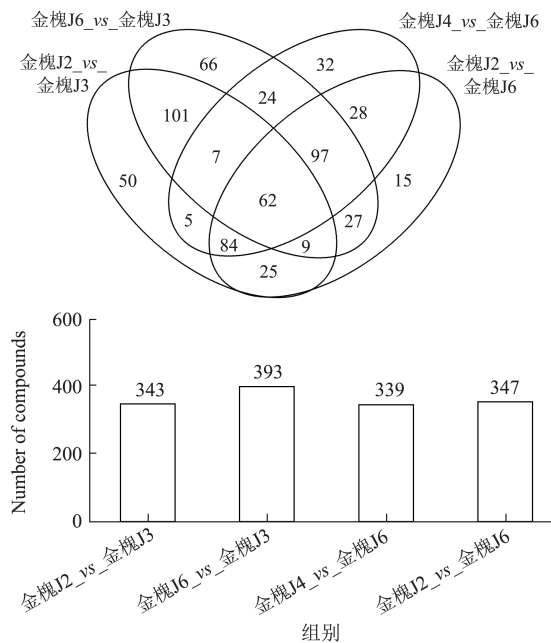


图 3 4 种金槐品种各组间差异代谢物数量韦恩图

Fig.3 Venn diagram of different metabolite quantities among different groups of 4 golden *S. japonica* ‘Jinhuai’

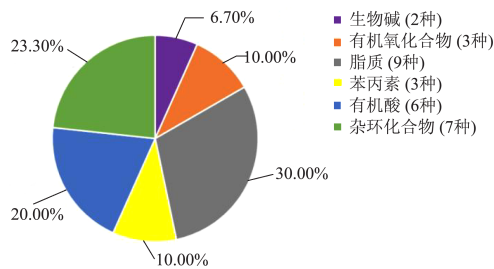


图 4 4 种金槐品种差异代谢物的化合物 HMDB 分类饼图

Fig.4 HMDB pie chart of different metabolites of 4 varieties of *S. japonica* ‘Jinhuai’

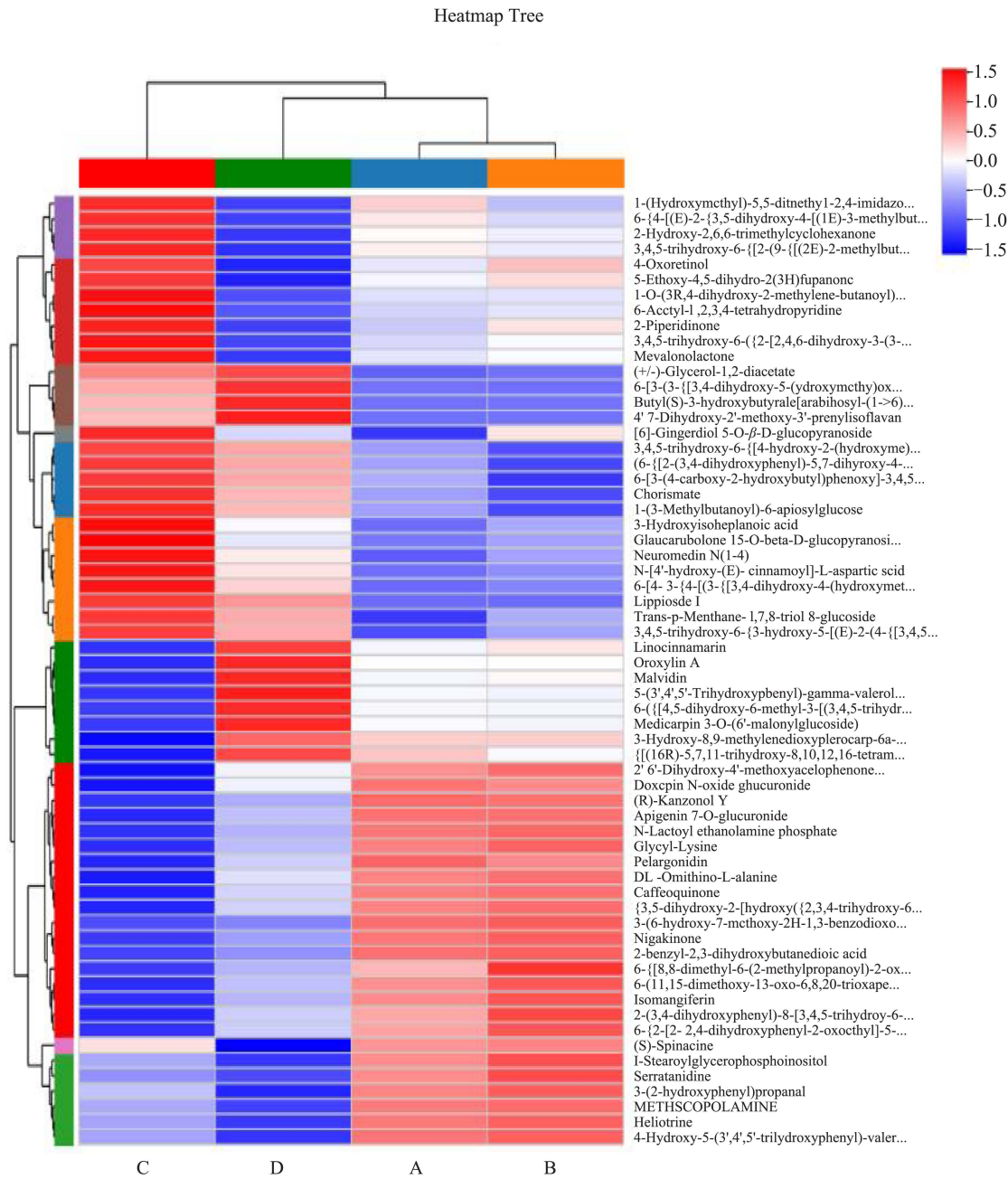
2.1.5 差异代谢物聚类及通路分析

在差异代谢聚类方面（图 5），金槐 J6 与金槐 J3、金槐 J2 与金槐 J4 差异代谢物具有显著的差距，且相对含量较高的差异代谢物金槐 J6 占优。其中，在金槐 J6 中 1-羟甲基-5,5-二甲基-2,4-咪唑啉二酮和美戊内酯之间共有的差异代谢物为 11 种，分别是 1-羟甲基-5,5-二甲基-2,4-咪唑啉二酮、6-{4-[(E)-2-{3,5-二羟基-4-[(1E)-3-甲基丁-1-烯-1-基]苯基]乙烯基}苯氧基}-3,4,5-三羟基恶烷-2-羧酸、2-羟基-2,6,6-三甲基环己酮、3,4,5-三羟基-6-{{2-(9-{{(2E)-2-甲基丁-2-烯基}氧基}-2-氧代-2H, 8H, 9H-呋喃[2,3-h]色烯-8-基)丙-2-基}氧}氧杂-2-羧酸、4-氧维甲酸、5-乙氧基-4,5-二氢-2(3H)呋喃酮、1-O-(3R, 4-二羟基-2-亚甲基-丁酰基)-β-D-葡萄糖吡喃酶、6-乙酰基-1,2,3,4-四氢吡啶、2-哌啶酮、3,4,5-三羟基-6-{{2-[2,4,6-三羟基-3-(3-甲基丁-2-烯-1-基)苯基]乙酰基}氧基}恶烷-2-羧酸、美戊内酯均发生上调，而在金槐米 J3 中差异代谢物含量均发生下调。同时，金槐 J3 中利诺西纳马林和苜蓿皮素 3-O-(6'-丙二酰葡萄糖苷)之间的差异代谢物共有 6 种，分别为利诺西纳马林、千层纸素 A、5-(3',4',5'-三羟基苯基)-γ-戊内酯、苜蓿皮素 3-O-(6'-丙二酰葡萄糖苷)含量均发生了上调，在金槐 J2 中差异代谢物的含量均发生显著下调，而在金槐 J2 与金槐 J4 中表现出无明显上调或下调。

由差异代谢物火山图可知（图 5），金槐 J2 与金槐 J3 共有差异代谢物中上调代谢物有 204 个，下调代谢物有 139 个。金槐 J6 与金槐 J3 共有差异代谢物中

上调代谢物有 239 个，下调代谢物有 154 个。金槐 J6 与金槐 J4 共有差异代谢物中上调代谢物有 153 个，下调代谢物有 186 个。金槐 J2 与金槐 J6 共有差异代谢物中上调代谢物有 185 个，下调代谢物有 162 个。9 种脂质化合物在金槐 J2、金槐 J4 中下调，在金槐 J6 中上调，而这些脂质成分在提高植物抗性方面扮演着重要角色。张杨等^[17]研究发现在盐碱胁迫下湖南稷子差异根系分泌物中包含大量脂质，该脂质信号分子感应盐碱胁迫并参与传导及应答帮助植物适应逆境。由此可知，脂质含量的提高有助于提高金槐 J6 的适应性。

此外，本研究发现苦木酮碱、天芥菜碱和有机酸中的 (S)-菠菜碱、DL-鸟氨酸-L-丙氨酸等 6 种代谢物在金槐 J2、金槐 J4 显著上调，在金槐 J6、金槐 J3 显著下调。有机酸是植物体内代谢调节和盐胁迫下根系分泌物的主要成分之一，调节植物体内渗透压，平衡植株体内过多的阳离子^[18,19]，金槐 J2、金槐 J4 成熟过程中比较容易积累有机酸来平衡植株体内阳离子来提高自身非生物胁迫的耐受性；而晚熟金槐 J6、早熟金槐 J3 有机酸含量降低，在应对非生物胁迫的能力方面影响相对较小。



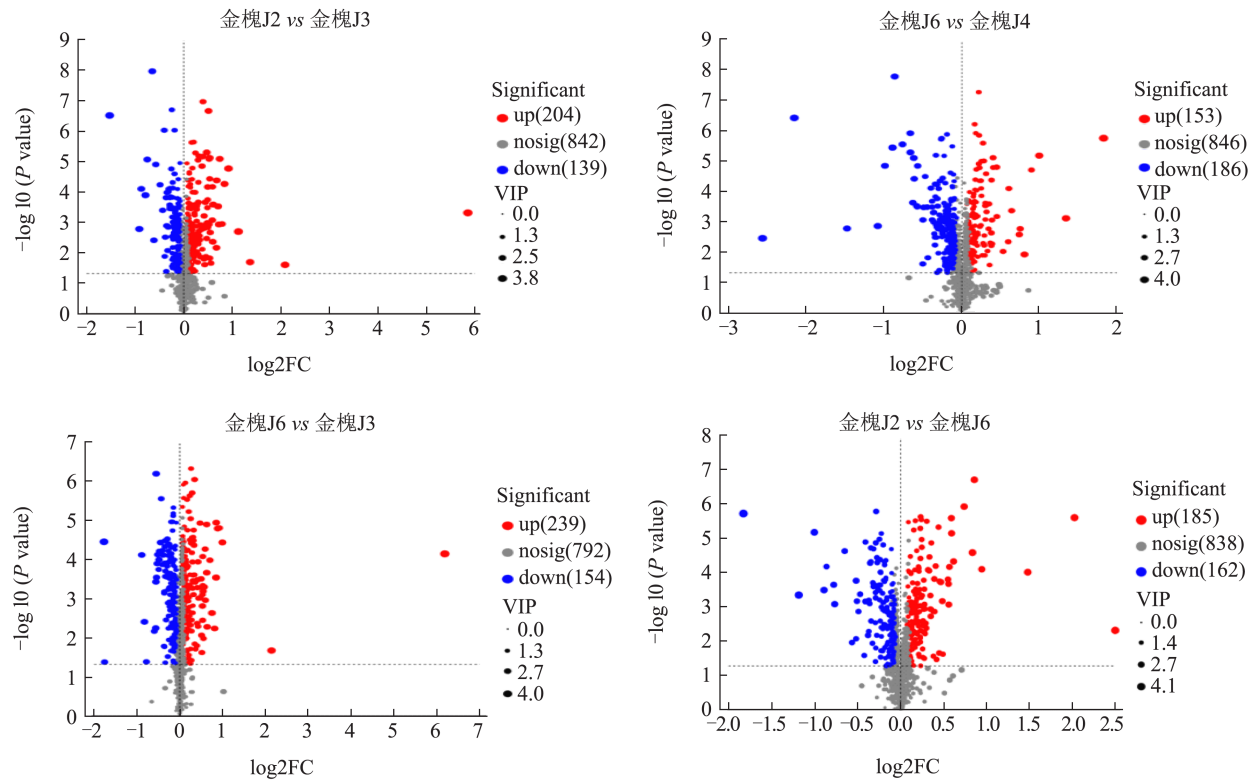


图 5 4 种金槐品种差异代谢物的聚类热图和差异代谢产物火山图

Fig.5 Clustering heat and volcanic maps of different metabolites of 4 varieties of *S. japonica* ‘Jinhui’

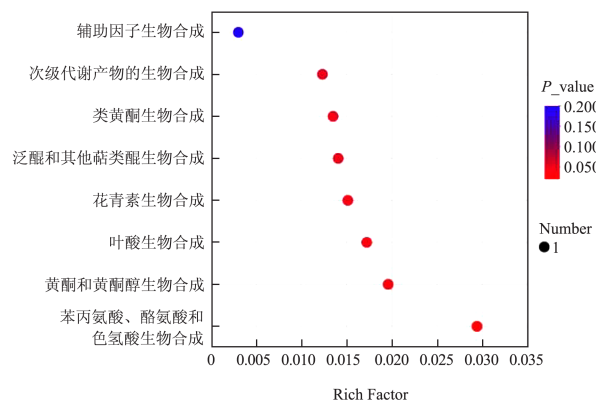


图 6 4 种金槐品种差异代谢物 KEGG 富集分析

Fig.6 Analysis of KEGG enrichment of different metabolites in 4 varieties of *S. japonica* ‘Jinhui’

利用 KEGG 数据库富集前 20 条通路富集气泡图（图 6）。富集程度最为显著的是苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成、富集程度最小的是辅助因子生物合成。芳香族氨基酸的生物合成是植物新陈代谢的主要途径之一，为蛋白质和众多植物天然产物的生产提供了重要的组成部分^[20]。其中，苯丙氨酸是植物生长必需的氨基酸，作为碳源并通过参与蛋白质的合成来影响植物的生长发育^[21]，可减轻干旱等非生物胁迫源的不利影响^[22]。色氨酸是植物中生长素的生物活性前体，其外源性应用可以增加植物组织中的生长素含量^[23]，

在一定程度上提高植株对非生物胁迫的耐受性^[24]。大量研究表明，芳香族氨基酸在植物生长和应对环境压力中发挥着至关重要作用。在盐胁迫下，叶面施用甲硫氨酸和苯丙氨酸通过增强质膜稳定性、增加渗透压含量和抗氧化酶活性，有效减轻盐度对番茄植株生长和产量的有害影响^[25]。低氮胁迫下，外源色氨酸处理显著增加了根系中生长素的水平，促进高粱幼苗根系伸长^[26]。

2.2 靶向代谢组学分析

如图 7 所示，4 类不同品种金槐米均富含大量的芦丁、槲皮苷，其中金槐 J2、金槐 J4、金槐 J6、金槐 J3 的芦丁含量分别为 10 810、10 799、10 452、10 556 μg/g；金槐 J2、金槐 J4、金槐 J6、金槐 J3 槲皮苷的含量分别为 2 919、3 102、703、4 409 μg/g。金槐 J2 与金槐 J4 中芦丁、山奈酚、木樨草素、染料木苷、木樨草苷、柚皮苷、染料木素、柚皮素含量均显著高于金槐 J6 和金槐 J3 的含量。类黄酮物质的含量和性质决定着金槐米的品质，尤其是芦丁、槲皮素的含量更是成为评价金槐米质量的关键指标。金槐米中熟类型（金槐 J2、金槐 J4）黄酮类代谢物组成相似度最高，早熟类型（金槐 J3）与中熟类型相似度也较高，而晚熟类型（金槐 J6）与其他两类型差异性明显，非靶向代谢物 PCA 分

析也表现出同样的规律。金槐米中的黄酮类化合物（尤其是芦丁、槲皮苷的含量）虽成熟期的延长呈现先升高后降低的趋势，黄酮类化合物积累与成熟期密切相关，早熟和中熟的类型品质更佳。这一规律与诸多作物中成分积累规律相一致。胡华冉等^[27]研究云南不同类型辣椒生长与成熟过程中果实品质分析结果表明总黄酮、总酚等含量随着果实成熟度增加，总酚含量、总黄酮的含量

从绿熟期到红熟期总体表现为上升趋势且达到最大值时果实具有较高品质和适宜风味；李洁等^[28]研究表明高硬度黑莓品种在转色期总多酚含量、各时期总黄酮含量、成熟期花色苷含量整体高于低硬度黑莓品种，得出高硬度的黑莓品种质量更佳。这主要是因为植物生长发育过程中存在库源关系^[29]，随着生长期的延长，导致合成和积累的次生代谢物发生了较大的变化。

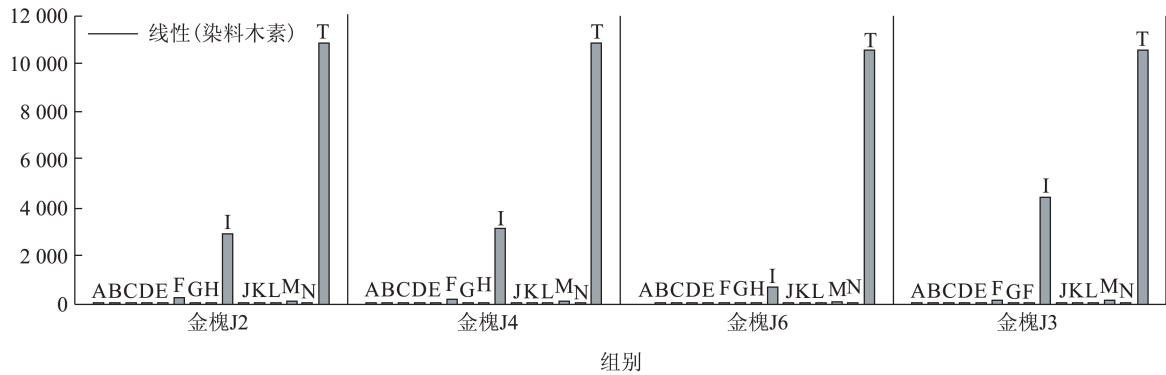


图 7 4 种金槐品种黄酮类化合物含量
Fig.7 Flavonoid content of 4 varieties of *S. japonica* ‘Jinhuai’

注：A：表儿茶素；B：芒柄花黄素；C：染料木素；D：柚皮素；E：鹰嘴豆芽素 A；F：山奈酚；G：木樨草素；H：染料木苷；I：槲皮苷；J：二氢槲皮素；K：黄芪苷；L：木樨草苷；M：异槲皮苷；N：柚皮苷；T：芦丁。

3 结论

金槐米中测定的代谢物共有 1 135 个化合物，632 个为差异代谢物；4 个类型共有 62 个重复差异代谢物，主要为脂质和类脂分子（占被注释到化合物百分比 30%）、有机杂环化合物（23.33%）、有机酸及其衍生物（20%）、有机含氧化合物（10%）、苯丙素类化合物（10%）、生物碱和衍生物（6.67%）等 6 类大物质；差异代谢物主要是苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸生物合成通路富集显著；4 类金槐均富含芦丁、槲皮苷，基于黄酮类化合物组成聚类，金槐 J6 和金槐 J3 各为单独一组，金槐 J2 和金槐 J4 为一组；金槐米含有丰富的代谢物，早熟和中熟金槐米代谢物组成相似度高，晚熟金槐米代谢物组成与其他两类差异明显，差异代谢物主要集中在芳香族氨基酸的生物合成通路。

参考文献

[1] 何爱芳,傅鹏,陈恒宇,等.基于DNA条形码的金槐系统发育和变异位点分析[J].中国实验方剂学杂志,2022,28(12):183-191.
[2] 卿钟英.不同施肥方式对金槐槐米产量的影响[J].农业技术与装备,2023,3:13-14.
[3] 焦杨波,郑帅莉,赵洁.基于非靶向代谢组学揭示灭活处理对植物乳植杆菌代谢物的影响[J].食品与发酵工业,2024,50(22):131-136.
[4] 刘询,何晓兰,贾定洪,等.基于非靶向代谢组学分析黄色和白色金

针菇代谢物差异[J].菌物学报,2024,43(8):73-85.
[5] 王晓静,张帆,刘海学,等.磺胺类抗生素复合污染下黄瓜代谢组学分析[J/OL].分子植物育种,1-14[2025-06-19].
[6] 李伟忠,马洪娜,吴依琳,等.Ca²⁺胁迫下越南槐种子萌发响应的比较代谢组学研究[J].种子,2022,41(8):17-26.
[7] 韩丽颖,于浩,李天娇,等.基于代谢组学的经典名方槐花散治疗溃疡性结肠炎的作用机制研究[J].中国中药杂志,2023,48(5): 1300-1309.
[8] 杨长远.槐米提取物对黄嘌呤氧化酶活性抑制评价及作用机制研究[J].安徽农学通报,2024,30(8):85-90.
[9] 李传峰,焦雪菲,张洁,等.槐米提取物对肝纤维化模型小鼠的治疗作用[J].济宁医学院学报,2023,46(2):77-81.
[10] 邱显雯,符毓夏,潘争红,等.金槐枝叶活性部位筛选及其化学成分研究[J].亚太传统医药,2024,20(4):44-48.
[11] 覃芳,张俊杰,史艳财,等.叶面喷施多效唑对金槐生长及生理的影响[J].湖北农业科学,2021,60(15):96-100.
[12] 刘蕊,弓淑芳,张照华.海南高种椰子与凝乳椰子成熟椰果的代谢组学分析[J/OL].分子植物育种,1-28[2025-06-19].
[13] 余洪涛.金槐槐米代谢组学、营养成分及质量分级标准研究[D].桂林:桂林医学院,2023.
[14] 高薇,邓丽丽,韦霄,等.基于非靶向代谢组学的牛尾菜植株不同部位代谢物差异分析[J/OL].分子植物育种,1-16[2025-06-19].
[15] 陆玉爱,刘特君,林丽美,等.基于UPLC-MS/MS的夏枯草不同时期的果穗差异代谢物分析[J].中国中药杂志,2024,49(10):1-12.
[16] 张帆,刘海学,王晓静,等.不同黄瓜品种的差异代谢组学分析[J/OL].分子植物育种,1-21[2025-06-19].
[17] 张杨,曹靖,李广,等.盐碱胁迫下湖南稷子苗期根系分泌物代谢组学分析[J].生态学报,2024,8:1-10.

[18] 王雨晴,马子奇,侯嘉欣,等.盐胁迫下植物根系分泌物的成分分析与生态功能研究进展[J].生物技术通报,2024,40(1):12-23.

[19] 杨慧琴,何思,张金彪.铝胁迫下杉木幼苗有机酸含量变化[J].福建农业学报,2021,36(8):942-947.

[20] EI A J, MOORE B, TAKEDA K Y, et al. Coordinated regulation of the entry and exit steps of aromatic amino acid biosynthesis supports the dual lignin pathway in grasses [J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 7242.

[21] 廖斌,徐小萍,李珊珊,等.苯丙氨酸和茉莉酸甲酯对龙眼胚性悬浮细胞柯里拉京积累的影响[J].应用与环境生物学报,2020, 26(2):287-293.

[22] RAMZAN T, SHAHBAZ M, MAQSOOD M F, et al. Phenylalanine supply alleviates the drought stress in mustard (*Brassica campestris*) by modulating plant growth, photosynthesis, and antioxidant defense system [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2023, 201: 107828.

[23] LUO H W, ZHANG Y Y, YI W T, et al. Foliar application of Phenylalanine, Tryptophan, and Tyrosine in fragrant rice production: aroma, yield, grain quality, and economic return [J]. European Journal of Agronomy, 2024, 155: 127117.

[24] 谷闻东,刘春娟,李邦,等.外源色氨酸对低氮胁迫下高粱苗期叶片碳氮平衡和衰老特性的影响[J].中国农业科学,2023,56(7): 1295-1310.

[25] ALMAS H I, UN N Z, ANWAR S, et al. Exogenous application of Methionine and Phenylalanine confers salinity tolerance in tomato by concerted regulation of metabolites and antioxidants [J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2021, 21(4): 1-14.

[26] 李邦,刘春娟,郭俊杰,等.低氮胁迫下外源色氨酸对高粱幼苗根系伸长的调控作用[J].作物学报,2023,49(5):1372-1385.

[27] 胡华冉,张芮豪,杜磊,等.云南不同类型辣椒生长与成熟过程中果实品质分析[J/OL].分子植物育种,1-17[2025-06-19].

[28] 李洁,王佳鸾,吴文龙,等.不同硬度黑莓品种花及果实品质性状评价分析[J].中国南方果树,2023,52(5):188-195.

[29] 王茂媛,张旻,羊青,等.基于UPLC-Q-Exactive MS和GC-MS代谢组学技术分析牛大力花不同生长时期的化学成分差异性[J].世界科学技术-中医药现代化,2023,25(12):3996-4008.