

doi:10.16104/j.issn.1673-1891.2021.02.002

黑米水提物功能活性成分分析

蔡光泽¹, 罗 樊¹, 蔡兴勇², 刘新宇³

(1.攀西特色作物研究与利用四川省重点实验室,四川 西昌 615013;

2.西昌市农业农村局,四川 西昌 615000;3.四川大学生物治疗国家重点实验室,四川 成都 610065)

摘要:[目的]建立基于UHPLC-QE-MS非靶向代谢组学方法分析黑米水提物的功能活性成分。[方法]采用Waters ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm)液相色谱柱;液相色谱A相为水相,含25 mmol/L乙酸铵和25 mmol/L氨水,B相为乙腈;梯度洗脱,流速为0.5 mL/min。Thermo Q Exactive HFX质谱仪在采集软件(Xcalibur, Thermo)的控制下以信息依赖模式采集质谱/质谱数据,并持续评估全扫描质谱。ESI离子源,正负离子模式下采集数据;利用一级质谱化合物的相对分子质量、分子式、二级质谱碎片离子信息等,并结合相关数据库、文献、对照品的信息等对其化学成分进行鉴定。[结果]从黑米水提取物中鉴定出539种可置信度很高(阈值>0.9)的化学成分,包括3种倍半萜类、3种维生素类、6种甾体类、7种有机酸类、19种黄酮类、41种生物碱类、109种氨基酸或多肽(包括8种必需氨基酸)和其他类化合物。部分化合物具有抗氧化、抗炎、抗癌、抗衰老及预防动脉硬化、降血糖和控制血压及减少患心脑血管疾病发生等功能。[结论]UHPLC-QE-MS非靶向代谢组学方法可以准确快速地分析黑米水提物的功能化学成分,为黑米的功能食品药效物质基础,质量控制以及临床应用奠定基础。

关键词:黑米;功能食品;非靶向代谢组学

中图分类号:S511;O657.63 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2021)02-0008-07

Analysis of the Functional Active Ingredients in the Water Extract from Black Rice

CAI Guangze¹, LUO Fan¹, CAI Xingyong², LIU Xinyu³

(1. Panxi Crops Research and Utilization Key Laboratory of Sichuan Province, Xichang, Sichuan 615013, China;

2. Xichang Agricultural and Rural Bureau, Xichang, Sichuan 615000, China;

3. State Key Laboratory of Biotherapy and Cancer Center, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610065, China)

Abstract: [Objective] To determine the active ingredients in the water extract from black rice with non-targeted metabolomics based on UHPLC-QE-MS. [Methods] LC-MS/MS analyses were performed using an UHPLC system (Vanquish, Thermo Fisher Scientific) with a UPLC BEH Amide column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) coupled to Q Exactive HFX mass spectrometer (Orbitrap MS, Thermo). The mobile phase consisted of 25 mmol/L ammonium acetate and 25 ammonia hydroxide in water (A) and acetonitrile (B). The analysis was carried with elution gradient; the QE HFX mass spectrometer was used for its ability to acquire MS/MS spectra on information-dependent acquisition (IDA) mode in the control of the acquisition software (Xcalibur, Thermo). ESI ion source was used. Data were collected in both positive and negative ion mode. The relative molecular mass, molecular formula, and fragment ion information of the first-level mass spectrometry compound were used to identify their chemical constituents via combining information from related databases, literatures, and reference materials. [Results] Up to 539 chemical compositions with high reliability (cut-off value >0.9) were identified in the water extract from black rice, including 3 sesquiterpenoids, 3 vitamins, 6 steroids, 7 organic acids, 19 flavonoids, 41 alkaloids, 109 amino acids or polypeptides (containing 8 essential amino acids) and other compounds. Some compounds have the functions of anti-oxidation, anti-inflammation, anti-cancer, anti-aging, preventing arteriosclerosis, lowering blood sugar, controlling blood pressure and reducing the occurrence of cardiovascular and cerebrovascular diseases. [Conclusion] Non-targeted metabolomics based on UHPLC-QE-MS can be performed to effectively sepa-

收稿日期:2021-05-15

基金项目:国家自然科学基金地区科学基金项目(31960423);西昌学院“两高”人才项目(LGLZ201818)。

作者简介:蔡光泽(1963—),男,四川巴中人,教授,学士,研究方向:作物育种和栽培学。

rate the chemical components of black rice, laying the foundation for therapeutic material basis as functional food, quality control and clinical application of black rice.

Keywords: black rice; functional ingredients; non-targeted metabolomics

0 引言

水稻是一种主要的谷类作物,是世界上一半多人口的主食,亚洲国家也会食用黑米、紫米、红米和糙米等有色稻米品种^[1-2]。在健康的无麸质食材原料中,与普通大米相比,全谷物黑米和红米的蛋白质、纤维和植物化学功能营养成分含量更高^[3-4]。这些植物功能营养成分,尤其是黑米中的花青素和红米中的原花青素,是谷物呈现典型的黑色或红色的原因^[5],并且这些生物活性成分主要位于米粒、胚芽和麸皮的外层^[5-7]。

经济的快速增长和高度西方化的饮食文化导致了肉类和肉制品消费的激增。尽管大米一直是人们的主食;然而,由于饮食文化的西化,它的消费已经大大减少。因此,对功能性食品日益增长的兴趣^[8],导致了特种大米的发展,特种大米的消费量正在稳步增加^[9]。黑米是膳食纤维和植物化学物质的良好来源。在有色大米品种中,黑米作为一种特种大米,被磨成糙米,只去掉外壳,是对人类健康具有巨大潜力的水稻品种,因其感官特性、高营养价值和有益健康的特性而受到越来越多的关注^[10-11]。黑米含有许多有益健康的功能活性成分,包括多酚、类黄酮、植酸和 γ -谷维素^[12-13]、矿物质、维生素 B 和纤维等生物活性化合物。这些抗氧化化合物消除活性氧,如脂质过氧化物和超氧阴离子自由基^[14-15]。在黑米中,抗氧化化合物主要位于糊粉层,称为米糠,其特征是深紫色^[16]。黑米的名字来源于其丰富的天然花青素类化合物,如花青素-3-葡萄糖苷和芍药苷-3-葡萄糖苷,在普通大米中没有发现^[17]。

目前,还没有基于代谢组学技术分析黑米水提物有效性化学活性物质成分的研究报道。本实验采用基于超高效液相色谱-四级杆-轨道阱高分辨质谱仪(ultra high performance liquid chromatography-Q exactive-orbitra mass spectrometry, UPLC-QE-MS)的非靶向代谢组学方法鉴定黑米水提物中的功能活性组分及化学成分,与普通大米对比分析,找到黑米的特有成分,为黑米功能营养作用研究提供理论与数据支撑。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

Vanquish (Thermo Fisher Scientific)超高效液相

色谱仪;Waters ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m)液相色谱柱;Thermo Q Exactive HFX 质谱仪;Heraeus Fresco17 (Thermo Fisher Scientific)离心机;BSA124S-CW (Sartorius)天平;PS-60AL (深圳市雷德邦电子有限公司)超声仪。质谱级甲酸、质谱级乙腈、色谱级甲醇 (Merck 公司);蒸馏水 (深圳屈臣氏蒸馏水有限公司)。

1.2 材料

黑米(西紫一号)和普通大米(楚粳 28)糙米,由西昌学院厅州共建攀西特色作物研究与利用四川省重点实验室粳稻研究课题组提供。

1.3 方法

1.3.1 水提物质谱检测样品制备

(1)称取黑米和普通大米的糙米各 10 g,分别加入 50 mL 无菌离心管中,并加入 10 倍量超纯水后摇匀后室温静置;每 2 h 摇匀静置一次,8 h 后离心取上清液。(2)上清液超声 10 min (冰水浴)。(3)-40 $^{\circ}$ C 静置 1 h。(4)将样品 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min。(5)取上清于进样瓶中上机检测。

1.3.2 上机检测

使用 Vanquish (Thermo Fisher Scientific)超高效液相色谱仪,通过 Waters ACQUITY UPLC BEH Amide (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μ m)液相色谱柱对目标化合物进行色谱分离。液相色谱 A 相为水相,含 25 mmol/L 乙酸铵和 25 mmol/L 氨水,B 相为乙腈。采用梯度洗脱:0~0.5 min, 95% B; 0.5~7 min, 95%~65% B; 7~8 min, 65%~40% B; 8~9 min, 40% B; 9~9.1 min, 40%~95% B; 9.1~12 min, 95% B。流动相流速 0.5 mL/min,柱温 30 $^{\circ}$ C,样品盘温度 4 $^{\circ}$ C,进样体积 3 μ L。

Thermo QExactive HFX 质谱仪能够在控制软件(Xcalibur, Thermo)控制下进行一级、二级质谱数据采集。详细参数如下:Sheath gas flow rate: 50 Arb, Aux gas flow rate: 10 Arb, Capillary temperature: 320 $^{\circ}$ C, Full ms resolution: 60 000, MS/MS resolution: 7 500, Collision energy: 10/30/60 in NCE mode, Spray Voltage: 3.5 kV (positive)或-3.2 kV (negative)。

1.3.3 数据处理

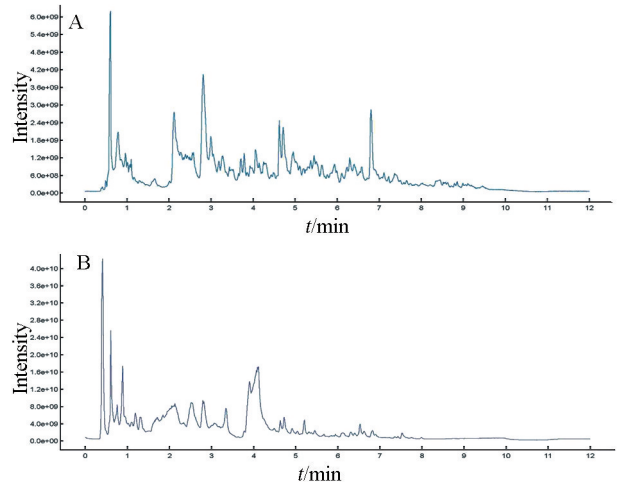
原始数据经 ProteoWizard 软件转成 mzXML 格式后,使用广州华银健康集团股份有限公司编写的

R 程序包(内核为 XCMS)进行峰识别、峰提取、峰对齐和积分等处理,然后与实验室自建二级质谱数据库匹配进行物质注释,算法打分的 Cut off 值设为 0.3。

2 结果与分析

2.1 黑米水提物质谱色谱峰分析

为有效检测黑米水提物的化学成分,本研究使用 UHPLC-QE-MS 的液质联用技术,对黑米水提物的化学成分进行分析和鉴定,黑米水提物正、负离子流如图 1 所示。并对黑米水提物正、负离子流图分析,结果共从黑米水提物中鉴定出 539 余种化学成分(打分阈值>0.9)的质谱色谱信息。表 1 中列出了 101 种黑米和普通大米中的特有成分及一些常见物质。



注:A. 正离子模式;B. 负离子模式。

图 1 黑米水提物 UHPLC-QE-MS 总离子流色谱图

表 1 黑米水提物化学成分(部分)阳离子模式质谱信息

序号	物质	生物树分类	保留时间/s	质荷比(m/z)	普通大米相对含量	黑米相对含量
1	藻糖蛋白 F	甾体	502.48	545.28	1.16E-07	0
2	四氢皮质酮	甾体	34.99	351.25	5.62E-06	1.64E-06
3	硫酸睾丸激素	甾体	189.72	369.17	1.08E-06	7.47E-06
4	L-Alpha-氨基丁酸	原花青素	130.42	104.07	3.39E-05	4.91E-05
5	异肉豆蔻碱	有机杂环化合物	286.45	193.09	1.04E-06	0
6	野百合碱	有机杂环化合物	353.85	326.16	0	3.07E-07
7	西藏龙胆碱	有机杂环化合物	670.53	166.09	0	5.21E-06
8	吡咯-2-羧酸	有机杂环化合物	73.00	112.04	0	3.16E-05
9	5-乙酰基-2,4-二甲基恶唑	有机杂环化合物	84.31	140.07	3.64E-05	0
10	5-乙基-4-甲基恶唑	有机杂环化合物	536.66	112.08	9.42E-05	0
11	14-羟基羟基磷灰石	有机杂环化合物	171.88	452.25	0	4.34E-07
12	1'-O-乙酰基草青霉素	有机杂环化合物	296.14	478.26	4.29E-07	0
13	龙胆酸醛	有机氧化合物	55.82	139.04	0.000111	0
14	乙酰柠檬酸三丁酯	有机酸	424.97	403.23	0.0002516	4.05E-06
15	四乙酰乙二胺	有机酸	466.21	229.12	1.20E-05	1.55E-05
16	O-乙酰乙醇胺	有机酸	270.02	104.06	4.44E-05	6.90E-05
17	N ω -乙酰基组胺	有机酸	206.39	154.10	5.14E-05	8.01E-06
18	N-(5-氨基戊基)乙酰胺	有机酸	356.96	145.13	3.62E-05	1.58E-05
19	乙酰肼	有机酸	342.89	75.06	2.55E-05	1.04E-05
20	2-异丙基-3-氧代琥珀酸盐	有机酸	204.75	175.06	1.18E-05	5.98E-06
21	7-羟基香豆素	香豆素类	211.80	163.04	0	9.01E-06
22	烟酰胺	维生素类	58.59	123.06	2.24E-05	0.000100956
23	烟酸	维生素类	339.36	124.04	2.91E-05	2.42E-05
24	核黄素	维生素类	228.50	377.14	2.11E-05	2.03E-05
25	Alpha-呋喃基甲基二酮	酮类	246.81	139.04	0	2.10E-06
26	3-甲基-2-环戊烯-1-酮	酮类	189.01	97.07	0	1.47E-05
27	银杏内酯 J	萜类内酯	191.26	425.14	1.02E-06	0
28	1Alpha-邻位-甲基类星体	萜类内酯	337.81	405.23	0	1.44E-06
29	3-O-Beta-D-葡萄糖苷	萜苷	254.95	665.38	2.19E-07	0

续表 1

序号	物质	生物树分类	保留时间/s	质荷比(m/z)	普通大米相对含量	黑米相对含量
30	蔗糖	糖类	383.42	365.10	0.0043752	0.000235697
31	D-木糖醇	糖类	205.89	153.08	1.37E-05	1.98E-05
32	2-苯乙醇樱草糖苷	糖类	185.26	439.16	0	1.30E-06
33	4-氨基丁醛	羧基化合物	392.92	88.08	1.21E-05	0
34	芸香宁碱	生物碱	23.48	280.10	7.84E-08	0
35	吡啶乙醛	生物碱	260.67	160.08	6.01E-05	0.000249248
36	吡啶丙烯酸	生物碱	42.10	188.07	4.55E-06	7.13E-06
37	吡啶	生物碱	153.05	118.07	0.0003454	0.000124555
38	烟碱亚胺	生物碱	274.44	161.11	1.02E-05	2.10E-05
39	腺嘌呤	生物碱	237.12	136.06	2.69E-05	3.65E-05
40	戊氰	生物碱	97.65	84.08	1.09E-05	6.54E-05
41	甜菜碱	生物碱	370.24	118.09	5.01E-05	0.000323948
42	四氢哈尔醇	生物碱	207.27	203.12	6.70E-06	8.05E-06
43	色氨酸	生物碱	278.47	205.10	0.0008096	0.002127404
44	尿刊酸	生物碱	303.63	139.06	0.0005273	0.001163558
45	鸟嘌呤	生物碱	299.63	152.05	2.73E-05	6.05E-05
46	六氢吡啶	生物碱	374.19	86.10	0.0002389	0.00518042
47	莲碱	生物碱	22.67	331.08	0	9.34E-08
48	喹啉	生物碱	156.19	130.06	0.0029632	2.78E-05
49	甲基莲心碱	生物碱	230.58	625.34	0	3.10E-07
50	黄嘌呤	生物碱	332.49	153.04	0	6.06E-05
51	哈马洛尔	生物碱	206.89	201.10	9.52E-06	5.39E-07
52	哈尔满	生物碱	69.78	183.09	7.74E-05	1.70E-05
53	钙调蛋白	生物碱	469.10	176.09	1.95E-05	2.25E-05
54	苕烷	生物碱	300.66	144.10	0.0003539	0.00051296
55	次黄嘌呤	生物碱	174.37	137.05	4.26E-05	0.000652919
56	槟榔碱	生物碱	207.73	142.09	4.04E-05	3.37E-05
57	N-甲基萹叶素 B2	生物碱	228.02	190.11	9.75E-06	1.11E-05
58	L-组氨酸	生物碱	375.58	142.10	5.74E-05	4.87E-05
59	L-色氨酸	生物碱	202.39	205.10	6.46E-06	7.83E-06
60	6-甲基喹啉	生物碱	217.99	144.08	7.93E-05	0.000212385
61	1-脱氧野尻霉素	生物碱	319.58	164.09	0.0001257	8.75E-06
62	1H-吡啶-3-乙酰胺	生物碱	50.14	175.09	0.0002551	5.45E-05
63	(S)-2-丙基哌啶	生物碱	211.92	128.14	0.0039105	0.002118523
64	正丁胺	生物碱	291.89	74.10	9.81E-06	9.65E-06
65	3-甲基腺嘌呤	生物碱	277.67	150.08	7.72E-05	6.36E-05
66	β -卡波林	生物碱	46.63	169.08	2.32E-05	4.75E-05
67	顺式玉米素	生物碱	108.81	220.12	1.17E-05	1.73E-05
68	7-甲酰脱氢水杨酸亚胺	生物碱	265.99	412.18	3.70E-06	3.55E-07
69	Gamma-氨基丁酸	神经递质	49.24	104.07	5.57E-05	0.000150561
70	异鼠李素	黄酮类	252.89	317.07	1.20E-06	1.48E-07
71	异槲皮素	黄酮类	235.64	465.10	8.61E-07	5.02E-06
72	胸苷	黄酮类	81.47	243.10	4.69E-06	6.40E-06
73	藤黄菌素-4'-O-葡萄糖苷	黄酮类	310.74	449.11	3.72E-05	0.000267138
74	山奈素	黄酮类	181.64	301.07	9.60E-06	0.000461393
75	山奈酚 3-O-洋槐糖苷	黄酮类	255.26	595.17	0	2.28E-05

续表 1

序号	物质	生物树分类	保留时间/s	质荷比(m/z)	普通大米相对含量	黑米相对含量
76	山奈酚	黄酮类	178.90	287.05	7.88E-06	2.80E-05
77	山梨醇	黄酮类	387.30	183.08	6.16E-06	6.61E-06
78	桑根皮素	黄酮类	277.41	421.17	2.81E-06	2.56E-06
79	蔓荆子黄素	黄酮类	358.96	375.10	3.48E-06	9.11E-06
80	黄芪苷	黄酮类	254.80	449.11	0	7.72E-05
81	槲皮素	黄酮类	344.16	303.05	3.22E-07	1.05E-06
82	表儿茶素	黄酮类	246.77	291.09	2.18E-06	1.08E-06
83	5-羟基黄酮	黄酮类	361.34	401.12	0	1.34E-06
84	5,7-二羟基黄酮	黄酮类	24.77	255.06	3.83E-07	7.51E-07
85	二氨基丙酸	花青素	489.59	191.10	2.52E-05	2.72E-05
86	绿原酸	醇类	171.75	355.10	3.77E-07	1.02E-06
87	肌醇	醇类	317.24	203.05	0.0005173	0.000608357
88	泛酸	醇类	278.75	220.12	0.0012318	0.00095286
89	乙酰氧基缬草烯酸	倍半萜	455.38	315.16	7.59E-06	2.66E-05
90	肉桂萜醇 C3	倍半萜	413.99	383.20	8.74E-06	1.06E-05
91	亮菌素	倍半萜	277.75	401.20	0	2.91E-06
92	组胺	胺类	430.31	112.09	2.16E-05	0
93	L-组氨酸	氨基酸	429.91	156.08	0.0001879	0.003791929
94	L-天冬酰胺	氨基酸	390.63	133.06	0.0018989	0.003725232
95	L-苏氨酸	氨基酸	126.13	120.07	0.0002739	0.000238632
96	L-丝氨酸	氨基酸	391.52	106.05	1.89E-05	6.96E-05
97	L-脯氨酸	氨基酸	230.47	116.07	3.62E-05	3.75E-05
98	L-赖氨酸	氨基酸	555.67	147.11	2.10E-05	1.39E-05
99	L-精氨酸	氨基酸	354.28	175.12	5.32E-05	2.16E-05
100	L-谷氨酸	氨基酸	407.15	148.06	0.0102626	0.010565484
101	L-苯丙氨酸	氨基酸	274.99	166.09	0.0053383	0.017344455

2.2 UHPLC-QE-MS 非靶标代谢组学技术应用结果

超高效液相色谱-高分辨质谱(UHPLC-QE-MS)联用技术,将 TOF 的高分辨、高质量准确度性能与离子阱的 MSn 能力相结合,可在实验中获取更多定性信息,分析所研究对象中的化学成分、生物标志物并解释其生物途径以及预测精确的结构细节信息。此技术方法准确、简单且高效灵敏,可以准确、快速地处理样品,是一种有效的研究黑米水提物化学成分的技术方法。本试验研究结果和试验数据均是稳定可靠高效的,不存在因为技术误差而产生的人为影响因素。

2.3 黑米水提物功能成分分析

采用液质联用技术分析黑米水提物二级质谱,图 2 为代表性功能成分胆碱的二级质谱与数据库匹配的图谱,4 个二级碎片离子峰与数据库胆碱离子峰匹配,阈值>0.999,鉴定结果可靠。进一步数据搜索,从黑米水提物中鉴定出 539 种可信度很高(阈

值>0.9)的化学成分,包括 3 种倍半萜类、3 种维生素类、6 种甾体类、7 种有机酸类、19 种黄酮类、41 种生物碱类、109 种氨基酸或多肽(包括 8 种必需氨基酸),以及其他类功能成分和化合物。

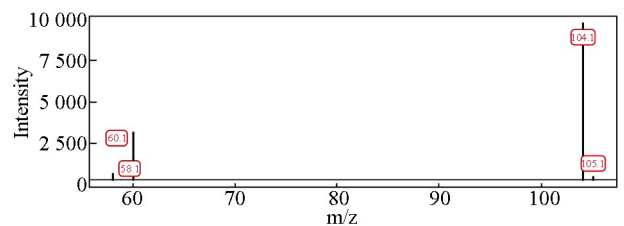


图 2 黑米水提物功能活性成分胆碱的二级质谱与数据库匹配的图谱

3 讨论

迄今,文献报道对黑米成分的研究多集中在色素花苷和抗氧化等成分的提取和分析上^[18-22],基于组学技术分析黑米水提物的化学成分以及功能活性成分未见报道。代谢组学是系统生物学的重要

组成部分,具有整体观、辩证观和动态观等特点,与中医特色理论相契合,可成为药食同源食材功能性成分研究的有力工具,进而为药食同源食材生物学功能本质提供科学依据^[23]。黑米被认为是稻米中的珍品。它集色、香、味、营养保健于一身,民间称之为“神仙米”“药米”“长寿米”^[24],是近年国际流行的健康食品之一。因此,本研究采用基于UHPLC-QE-MS的非靶向代谢组学方法,针对黑米水提物化学成分以及功能活性成分,以进一步揭示黑米作为药食同源潜在的物质基础及可能涉及的分子机制。

与普通大米比较,黑米水提物胆碱(Choline)含量显著升高。在动物生长发育过程中需要获得足够数量的胆碱,人类和大鼠乳汁可为新生儿提供大量胆碱,可以保证胎儿和新生儿获得胆碱,促进促进脑发育和提高记忆能力。母亲的胆碱摄入量低于正常值,可能会损害孩子晚年的代谢健康。妊娠期补充胆碱与后代代谢综合征几种生物标志物的长期调节改善相关^[25]。

黑米水提物高丰度成分甜菜碱(Betaine)具有抗肿瘤^[26]、降血压^[27]、抗消化性溃疡及胃肠功能障碍^[28]、治疗肝脏疾病^[29]等功能。作为饲料添加剂具有提供甲基供体功能,可节省部分蛋氨酸。具有调节体内渗透压,缓和应激,促进脂肪代谢和蛋白质合成等功能^[30]。

参考文献:

- [1] DIAS A L S, PACHIKIAN B, LARONDELLE Y, et al. Recent advances on bioactivities of black rice[J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2017, 20(6):470-476.
- [2] ITO V C, LACERDA L G. Black rice (*Oryza sativa* L.): a review of its historical aspects, chemical composition, nutritional and functional properties, and applications and processing technologies [J]. Food Chemistry, 2019, 301:125304.
- [3] MASSARETTO I L, ALVES M F M, De MIRA N V M, et al. Phenolic compounds in raw and cooked rice (*Oryza sativa* L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme[J]. Journal of Cereal Science, 2011, 54(2):236-240.
- [4] SHEN Y, LIANG J, XIAO P, et al. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight[J]. Journal of Cereal Science, 2009, 49(1):106-111.
- [5] SHAO Y, HU Z, YU Y, et al. Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice [J]. Food Chemistry, 2018, 239: 733-741.
- [6] SAMYOR D, DAS A B, DEKA S C. Pigmented rice a potential source of bioactive compounds; a review[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(5):1073-1081.
- [7] SOHAIL M, RAKHA A, BUTT M S, et al. Rice bran nutraceuticals: a comprehensive review [J]. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 2017, 57(17), 3771-3780.
- [8] GRUNERT K G. Future trends and consumer lifestyles with regard to meat consumption [J]. Meat Science, 2006, 74(1):149-60.
- [9] HWANG Y K, KIM T Y. Characteristics of colored rice bread using the extruded Heugjinju rice [J]. Korean Journal of Food and Cookery Science, 2000, 16:167-172.
- [10] KUSHWAHA, U K S. Black rice: research history and development[J]. Switzerland: Springer, 2016.

黑米高丰度但在普通大米未检测出的甲基莲心碱(Neferine)最初是从睡莲科植物莲成熟种子的绿色胚芽中提取出的一种双苄基异喹啉类生物碱。已有研究表明它具有扩血管、降压^[31]、抗心律失常^[32]、抗血小板聚集^[33]、抗血栓形成^[33]、抗氧化^[34]、抗有机磷农药中毒、抗瘢痕形成、化疗增敏^[35]以及通过抑制核因子 κ B信号通路抑制血管内皮炎症^[36]等药理作用。

在黑米积累但普通大米不能合成的功能成分黄芩苷(Astragaloside)是从黄芩根中提取分离出来的一种黄酮类化合物,具有显著的生物活性,具有抑菌^[37]、抗心磷脂^[38]、抗氧化^[39]、消炎^[40]以及较强的抗癌反应等生理效能^[41]。

综上所述,生物碱、倍半萜类和黄酮等功能活性成分在黑米的营养保健功能中发挥了重要的作用。本研究选择UHPLC-QE-MS法探讨黑米水提物中的化学成分及功能活性物质,结果从黑米水提物中共鉴定出3种倍半萜类、3种维生素类、6种甾体类、7种有机酸类、19种黄酮类、41种生物碱类、109种氨基酸或多肽(包括8种必需氨基酸),以及其他类化合物,建立了LC/MS功能食品分析新方法和功能食品成分数据库,实现功能食品化学成分快速分析鉴定,提升了功能食品有效成分发现能力及整体质量控制水平,同时为黑米进一步深度开发应用提供了理论依据。

- [11] ITO V C , ZIELINSKI A , DEMIATE I M , et al. Effects of gamma radiation on the stability and degradation kinetics of phenolic compounds and antioxidant activity during storage of (*Oryza sativa* L.) black rice flour[J]. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2019, 62:e19180470.
- [12] NAM S H , CHOI S P , KANG M Y , et al. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2005, 53(3):816-822.
- [13] FARDET A , ROCK E , C RÉMÉSY. Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? [J].Journal of Cereal Science,2008,48(2):258-276.
- [14] ICHIKAWA H , ICHIYANAGI T , XU B , et al. Antioxidant activity of anthocyanin extract from purple black rice [J]. Journal of Medicinal Food, 2001, 4 (4):211-218.
- [15] TOYOKUNI S , ITANI T , MORIMITSU Y , et al. Protective effect of colored rice over white rice on fenton reaction-based renal lipid peroxidation in rats[J]. Free Radical Research Communications, 2002, 36(5):583-592.
- [16] KONG S , LEE J . Antioxidants in milling fractions of black rice cultivars[J]. Food Chemistry, 2010, 120(1):278-281.
- [17] HU C Z J , LING W , KITT D D. Black rice (*Oryza sativa* L. indica) pigmented fraction suppresses both reaction oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2003, 51: 5271-5277.
- [18] 苏金为.黑米色素的提取和组分分析[J].福建农业大学学报,1999(2):233-237.
- [19] 张芳轩,张名位,张瑞芬,等.黑米种皮中花色苷组成及含量的 HPLC 分析[J].中国粮油学报,2010, 25 (12):122-125.
- [20] 张名位,郭宝江,池建伟,等.黑米皮提取物的体外抗氧化作用与成分分析[J].中国粮油学报,2005(6):49-54.
- [21] TAI L , HUANG S , ZHAO Z , et al. Chemical composition analysis and antioxidant activity of black rice pigment [J]. Chemical Biology & Drug Design, 2021, 97 (3):711-720.
- [22] YULIANA N D , TUARITA M Z , KHATIB A , et al. GC-MS metabolomics revealed protocatechuic acid as a cytotoxic and apoptosis-inducing compound from black rice brans [J]. Food Science and Biotechnology, 2020, 29 (6):825-835.
- [23] 李静,李亮,杨萍,等.气虚证模型大鼠尿液代谢组学特征[J].中医杂志,2021,62(6):516-522.
- [24] 江友兴,刘希贞,龙小黎,等.黑米成分分析与功能利用[J].农牧产品开发,1999(8):8-9.
- [25] HAMMOUD R , PANNIA E , KUBANT R , et al. High choline intake during pregnancy reduces characteristics of the metabolic syndrome in male wistar rat offspring fed a high fat but not a normal fat post-weaning diet [J]. Nutrients,2021,13(5):1438.
- [26] KAR F , HACIOGLU C , KACAR S , et al. Betaine suppresses cell proliferation by increasing oxidative stress-mediated apoptosis and inflammation in DU-145 human prostate cancer cell line[J]. Cell Stress and Chaperones, 2019, 24(5):871-881.
- [27] XIE L , ZHAO B X , LUO J , et al. A U-shaped association between serum betaine and incident risk of first ischemic stroke in hypertensive patients [J]. Clinical Nutrition, 2020, 39 (8):2517-2524.
- [28] ZÖLLEI I , A SZABÓ, KASZAKI J , et al. Betaine-palmitate reduces acetylsalicylic acid-induced gastric damage in rats[J]. Scand J Gastroenterol, 2001, 36(8):811-816.
- [29] CHEN W Q , XU M J , XU M W , et al. Effects of betaine on Nonalcoholic liver disease [J]. Nutrition Research Reviews, 2021:1-30.
- [30] EL-BAHR S M , SHOUSHA S , KHATTAB W , et al. Impact of dietary betaine and metabolizable energy levels on profiles of proteins and lipids, bioenergetics, peroxidation and quality of meat in Japanese quail[J]. Animals, 2021, 11(1):117.
- [31] WICHA P , ONSA-ARD A , CHAICHOMPOO W , et al. Vasorelaxant and antihypertensive effects of neferine in rats: an in vitro and in vivo study[J].Planta Medica,2020, 86(7):496-504.
- [32] SHIBU M A , RAVICHANDRAN M , SHANMUGAVADIVU M , et al. Pharmacological benefits of neferine –a comprehensive review [J]. Life Sciences, 2018, 199:60-70.
- [33] YANG R P , ZHOU Y J , SONG W , et al. Pharmacological actions of neferine in the modulation of human platelet function [J]. European Journal of Pharmacology, 2019, 862:172626.
- [34] WANG Y , WANG S , WANG R , et al. Neferine exerts antioxidant and anti-inflammatory effects on carbon tetrachloride-induced liver fibrosis by inhibiting the MAPK and NF- κ B/I κ B α pathways[J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2021, 2021:1-12.
- [35] WANG J , DONG Y , LI Q. Neferine induces mitochondrial dysfunction to exert anti-proliferative and anti-invasive activities on retinoblastoma [J]. Experimental Biology and Medicine, 2020, 245 (15):1385-1394.
- [36] ZHONG Y , HE S , HUANG K , et al. Neferine suppresses vascular endothelial inflammation by inhibiting the NF- κ B signaling pathway[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2020, 696:108595.

- [19] 李小芳,赵鹏,张向荣,等.生育期气候因子对陕西安康烟区烤烟产量、质量的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2015,43(9):97-102.
- [20] 张慢慢,邵惠芳,许自成,等.烤烟产量与气候因子的关系分析[J].河南农业科学.2016,45(7):34-38.
- [21] 王连喜,尹远渊,朱勇,等.云南省烤烟品质与气象条件的关系及综合评价研究[J].中国农学通报,2012,28(4):103-108.
- [22] 杨坤,杨焕文,李佛琳,等.丽江烟区生态条件及烤烟化学成分分析[J].中国农业气象,2011,32(2):94-99.
- [23] 杨静,陈杰杨,如松,等.烤烟产量和品质影响因素研究进展(英文)[J].Agricultural Science & Technology,2015,16(4):820-825.
- [24] 李强,仲晓君,王瑞宝,等.高海拔地区光强减弱对烤烟生长发育和产量的影响[J].江西农业大学学报,2016,38(6):1042-1048.
- [25] 梁伟,张黎明,范协裕,等.基于 GIS 技术的福建省烟区烤烟产量估测与分区[J].湖北农业科学,2013,52(10):2514-2520.
- [26] 张慢慢,邵惠芳,郑劲民,等.烤烟产量的主要影响因素及预测方法研究进展[J].江西农业学报,2014,26(10):76-80.
- [27] 宋文静,靳志伟,许建,等.热量资源配置对甘肃烤烟生育期及品质的影响[J].江苏农业科学,2018,46(8):74-77.
- [28] 周裕,张德元,汪彬,等.气象因子对烟叶品质的影响[J].湖南农业科学.2010,36(8):35-36+42.
- [29] 肖金香刘正和王燕何,等.气候生态因素对烤烟产量与品质的影响及植烟措施研究[J].中国生态农业学报,2003,11(4):158-160.
- [30] 魏淑秋.农业气象统计[M].福州:福建科学技术出版社,1985:157-162.

(上接第 14 页)

- [37] LI C, HU M, JIANG S, et al. Evaluation procoagulant activity and mechanism of astragalins [J]. *Molecules*, 2020, 25(1):177.
- [38] IVANOV M, KANNAN A, STOJKOVIC D, et al. Revealing the astragalins mode of anticandidal action [J]. *Excli Journal*, 2020, 19:1436-1445.
- [39] HAN X X, JIANG Y P, LIU N, et al. Protective effects of Astragalins on spermatogenesis in streptozotocin-induced diabetes in male mice by improving antioxidant activity and inhibiting inflammation[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 110:561-570.
- [40] HU X, WANG M, PAN Y, et al. Anti-inflammatory effect of astragalins and chlorogenic acid on escherichia coli-induced inflammation of sheep endometrial epithelium cells[J]. *Frontiers in Veterinary Science*, 2020, 7:201.
- [41] YANG M, LI W Y, XIE J, et al. Astragalins inhibits the proliferation and migration of human colon cancer HCT116 cells by regulating the NF- κ B signaling pathway[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12:639256.