

基于代谢组学研究红曲霉奶酪的代谢产物特征

徐杏敏, 郑远荣, 刘振民, 孙嘉, 贾向飞

Study on the Characteristics of Metabolites in *Monascus* Cheese Based on Metabolomics

XU Xingmin, ZHENG Yuanrong, LIU Zhenmin, SUN Jia, and JIA Xiangfei

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030126>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

靶向代谢组学技术在营养性疾病研究中的应用

Application of targeted metabolomics technology in nutritional diseases

食品工业科技. 2017(18): 323-327 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.18.061>

基于代谢组学技术研究凤冈锌硒茶对正常大鼠机体代谢调节规律

Global Metabolic Regulation of Fenggang Zinc-Selenium Tea in Normal Rat Based on Metabolomics Technology

食品工业科技. 2020, 41(6): 99-105 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.06.017>

微生物代谢黄曲霉毒素B₁的研究进展

Research Progress on the Microbial Metabolism of Aflatoxin B₁

食品工业科技. 2021, 42(10): 362-369 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060301>

基于代谢组学分析工夫红茶发酵过程中代谢物的变化

Metabolomics Analysis of Changes in Metabolites During the Fermentation Process of Congou Black Tea

食品工业科技. 2021, 42(21): 8-16 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021030361>

代谢组学技术在葡萄生理研究中的应用

Application of metabolomics techniques in grape physiology

食品工业科技. 2018, 39(3): 338-342,352 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.03.065>

微藻类胡萝卜素生物合成代谢途径的研究进展

Research Progress of Biosynthetic Metabolic Pathway of Carotene in Microalgae

食品工业科技. 2020, 41(9): 348-356 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.09.056>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

徐杏敏, 郑远荣, 刘振民, 等. 基于代谢组学研究红曲霉奶酪的代谢产物特征 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(21): 18–29. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030126

XU Xingmin, ZHENG Yuanrong, LIU Zhenmin, et al. Study on the Characteristics of Metabolites in *Monascus* Cheese Based on Metabolomics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(21): 18–29. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030126

· 未来食品 ·

基于代谢组学研究红曲霉奶酪的 代谢产物特征

徐杏敏^{1,2}, 郑远荣², 刘振民^{2,*}, 孙 嘉², 贾向飞^{1,2}

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306;

2. 光明乳业股份有限公司乳业研究院, 上海乳业生物工程技术研究中心,
乳业生物技术国家重点实验室, 上海 200436)

摘要: 为研究红曲霉奶酪的代谢产物特征, 以红曲霉奶酪 BC20、红曲霉奶酪 ZX-99 为实验组, 以市售青霉奶酪、白霉奶酪为对照组, 采用非靶向代谢组学方法对 4 款奶酪所涉及的低分子量代谢产物进行差异分析, 将仅在实验组中差异富集 (VIP>1, $P<0.05$, FC>2) 且实验组间无显著差异 (VIP≤1, $P\geq 0.05$) 的代谢产物认为是红曲霉奶酪这一品类的特征。结果表明, 在正、负离子模式下鉴定到的 2510 个代谢物中, 有 23 个物质初步认为是红曲霉奶酪的代谢产物特征。其中, 葫芦素 e、夫西地酸、喹那普利、甲基多巴、苔黑酚、甘草皂苷 h2、阿夫唑嗪、25-去乙酰基利福喷丁这 8 个物质具有一定有益活性。通过实验组与对照组的比较, 发现有 10 条共同的差异代谢途径, 其中蛋白质消化和吸收通路的富集程度较高, 与氨基酸相关的通路占比最大, 这两类通路所涉及的差异代谢产物中, 丙酸、DL-酪氨酸、高三尖杉酯碱、2-异丙基苹果酸、肌酸、琥珀酸的物质含量在两款红曲霉奶酪中显著增加 ($P<0.05$)。研究可为红曲霉奶酪的定义, 代谢方向的调控以及有益代谢产物的富集提供理论依据。

关键词: 红曲霉, 霉菌成熟奶酪, 非靶向代谢组学, 代谢产物特征, 代谢途径

中图分类号: O657.63; TS207.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-0306(2023)21-0018-12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023030126



本文网刊:

Study on the Characteristics of Metabolites in *Monascus* Cheese Based on Metabolomics

XU Xingmin^{1,2}, ZHENG Yuanrong², LIU Zhenmin^{2,*}, SUN Jia², JIA Xiangfei^{1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. State Key Laboratory of Dairy Biotechnology, Shanghai Engineering Research Center of Dairy Biotechnology, Dairy Research Institute, Bright Dairy & Food Co., Ltd., Shanghai 200436, China)

Abstract: In order to study the characteristics of metabolites in *Monascus* cheese, *Monascus* cheese BC20 and *Monascus* cheese ZX-99 were used as experimental groups, and commercially available blue mold cheese and white mold cheese were used as control groups. The low molecular weight metabolites involved in the four cheeses were analyzed by non-targeted metabolomics. Metabolites that were only enriched in the experimental groups (VIP>1, $P<0.05$, FC>2) and had no significant difference between the experimental groups (VIP≤1, $P\geq 0.05$) were considered as the characteristics of *Monascus* cheese. The results showed that among the 2510 metabolites identified in positive and negative ion modes, 23 substances were preliminarily considered as characteristic metabolites of *Monascus* cheese. Eight of these substances, including cucurbitacin e, fusidic acid, quinapril, methyl dopa, orcinol, licoricesaponin h2, alfuzosin, and 25-desacetyl rifapentin had certain beneficial activities. Through comparison between the experimental groups and control groups, there

收稿日期: 2023-03-10

基金项目: 市国资委企业创新发展和能级提升项目 (2022013)。

作者简介: 徐杏敏 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 乳品科学与技术, E-mail: 871267311@qq.com。

* 通信作者: 刘振民 (1974-), 男, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 乳品研究与开发, E-mail: liuzhenmin@brightdairy.com。

were 10 identical differential metabolic pathways. The enrichment degree of the protein digestion and absorption pathway was relatively high, and the proportion of pathways related to amino acids was the largest. Among the differential metabolites involved in these two pathways, the substance contents of propionic acid, DL-tyrosine, homoharringtonine, 2-isopropylmalic acid, creatine, and succinic were significantly increased in the two *Monascus* cheeses ($P < 0.05$). This study provides a theoretical basis for defining the *Monascus* cheese, regulating metabolic direction and enriching beneficial metabolites.

Key words: *Monascus*; mold-fermented cheese; non-targeted metabolomics; characteristics of metabolites; metabolic pathway

随着国人生活水平的提升和西方饮食文化的融入,我国霉菌奶酪市场有逐渐增长的趋势。发酵菌株的选择对奶酪品质的影响至关重要,目前用于奶酪成熟的霉菌主要是青霉和白霉,但此类产品并不完全符合国人口味。青霉奶酪通常蛋白水解及脂肪分解的程度较高,产品含盐量高且入口刺激辛辣^[1]。白霉奶酪是表面覆盖白色真菌的软质奶酪,常见的有布里奶酪、卡蒙贝尔奶酪,奶味浓郁,但是带有一定霉味、菌菇味,与中国传统饮食的口味存在一定差异。因此,有必要尝试使用其他种类的霉菌进行奶酪制作,以研制更加适合国人口味的霉菌奶酪。我国拥有许多历史悠久的可食用菌株,红曲霉便是其中一种,常用于大米、豆腐等食品的加工,已被长期食用,具有一定食用安全性,所以具备加工奶酪的潜力。此外,红曲霉还可以产生红曲色素、 γ -氨基丁酸、莫纳可林 K 及其他生物活性化合物,有望用于生物功能乳制品的开发。迄今为止,已有研究者成功将红曲霉用于加工霉菌成熟奶酪,开发了红曲霉类卡蒙贝尔干酪^[2]、红纹奶酪^[3],在此基础上优化加工工艺,开发出软质^[4]、半软质、硬质等不同质地的红曲霉奶酪。红曲霉奶酪是一款新型霉菌成熟奶酪,其滋、气味较国外部分霉菌成熟奶酪(例如:蓝纹奶酪)更加温和,具有实现产业化的潜力。虽然研究人员对红曲霉奶酪开展了一系列的研究,包括对奶酪成熟期间理化性质、蛋白水解、挥发性及非挥发性风味物质的种类及变化等^[5-7]。然而,目前暂无对红曲霉奶酪特征代谢产物的相关研究报道。随着红曲霉奶酪产业化的推进,急需研究红曲霉奶酪这一品类的代谢产物特征,探究红曲霉奶酪与其他霉菌成熟干酪的具体差异,分析差异代谢通路,为后续产品的改进及有益代谢产物的富集提供理论依据。

红曲霉菌株 BC20 与 ZX-99 是本实验室优选出的两株可用于制作霉菌干酪的优良菌株,利用它们制作的奶酪具有良好的风味,且奶酪中桔霉素含量低于国标检测限($25 \mu\text{g}/\text{kg}$)^[8],食用安全。此外,青霉奶酪和白霉奶酪是最具代表性的霉菌成熟奶酪。因此,本研究以红曲霉奶酪 BC20、红曲霉奶酪 ZX-99 为实验样品,以接受度较高的一款市售青霉奶酪(蓝纹奶酪)、一款市售白霉奶酪(布里奶酪)作为对照样品。通过非靶向代谢组学的方法来表征 4 款奶酪中的低分子量代谢产物,通过差异分析初步推断出属于红曲

霉奶酪的代谢产物特征,并分析红曲霉奶酪的特征差异代谢通路,为之后定义红曲霉奶酪以及红曲霉奶酪的风味调控、有益代谢产物富集提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

生牛乳、稀奶油 光明乳业股份有限公司;商业发酵剂 FLORA、STI-13 科汉森(中国)有限公司;凝乳酶(酶活力: $890 \text{ IMCU}/\text{g}$) 北京多爱特生物科技有限公司;红曲霉菌株 BC20、ZX-99 乳业生物技术国家重点实验室;琪雷萨蓝纹奶酪(生产日期: 2021 年 11 月 16 日) 丹麦阿尔乐公司;法兰希布里奶酪(生产日期: 2021 年 8 月 26 日) 西诺迪斯食品(上海)有限公司;乙腈 美国 Merck 公司;乙酸铵 美国 Sigma 公司;甲醇、氨水 美国 Fisher 公司。

1300 系列 A2 型生物安全柜 美国 Thermo Scientific 公司; PRACTUM124-1CN 电子天平 北京赛多利斯科学仪器有限公司; HVE-50 高压蒸汽灭菌锅 日本 HIRAYAMA 公司; 奶酪槽 英国 Armfiled 公司; HPP 110 奶酪成熟箱 德国 MEMMERT 公司; QT-1 Vortex 振荡器 上海琪特分析仪器有限公司; JY92-II 超声破碎仪、SCIENTZ-1LS 离心浓缩仪 宁波新芝生物科技股份有限公司; 5430R 低温高速离心机 上海比朗仪器制造有限公司; Vanquish LC 超高效液相色谱系统、Q Exactive 系列 Orbitrap Exploris 480 质谱仪 美国 Thermo 公司; ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱(柱 $1.7 \mu\text{m}$, $2.1 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ column) 美国 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 奶酪的制作 根据徐杏敏等^[9]方法,使用菌株 BC20 与 ZX-99 进行红曲霉奶酪的制备与取样。工艺流程: 原料乳标准化→杀菌并冷却→添加商业发酵剂→添加凝乳酶→凝乳后切割→装模成型→盐水腌渍→晾干→涂抹红曲霉发酵液→成熟。取样方式: 整块奶酪表皮与内部混合均匀后取样。

1.2.2 样品前处理 奶酪样品在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 环境下缓慢解冻后,取适量样本加入预冷甲醇/乙腈/水溶液(2:2:1, v/v/v),涡旋混合, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 40 kHz 超声 20 min, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 静置 10 min, $14000 \times \text{g}$ $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 离心 20 min,取上清真空干燥($2000 \text{ r}/\text{min}$, $15 \text{ }^\circ\text{C}$, 真空度小于 50 Pa),质谱分析时加入 $100 \mu\text{L}$ 乙腈水溶液(乙腈:水=1:1, v/v)复

溶, 涡旋, 14000×g 4 °C 离心 15 min, 取上清液进样分析。

1.2.3 色谱条件 参考 ZHANG 等^[10] 方法, 采用超高效液相色谱系统(UHPLC)HILIC 色谱柱将奶酪样品进行分离, 柱温 25 °C, 流速 0.3 mL/min, 进样量 2 μL, 流动相 A 为水+25 mmol/L 乙酸铵+25 mmol/L 氨水, 流动相 B 为乙腈。梯度洗脱程序: 0~1.5 min, 98% B; 1.5~12 min, B 从 98% 线性变化至 2%; 12~14 min, 2% B; 14~14.1 min, B 从 2% 线性变化至 98%; 14.1~17 min, 98% B; 进样器温度 4 °C。

1.2.4 质谱条件 采用电喷雾电离(Electron spray ionization, ESI)正离子和负离子模式对样品进行检测。ESI 源及质谱设置参数如下: 雾化气辅助加热气 1(Gas1): 60, 辅助加热气 2(Gas2): 60, 气帘气(CUR): 30 psi, 离子源温度: 600 °C, 喷雾电压(ISVF)±5500 V (正负两种模式); 一级质荷比检测范围: 80~1200 Da, 分辨率: 60000, 扫描累积时间: 100 ms, 二级采用分段式采集方法, 扫描范围是 70~1200 Da, 二级分辨率: 30000, 扫描累积时间: 50 ms, 动态排除时间: 4 s。

1.3 数据处理

采用 XCMS 软件分析由 UHPLC-Q-Exactive/MS 得到的原始数据, 对数据的完整性进行检查, 去除组内缺失值超过 50% 的代谢物, 不参与后续分析, 删除极值, 并对数据进行总峰面积归一化, 以确保各样本间和代谢物间可平行性比较。SIMCA 14.1 软件进行多维统计分析(数据经 Pareto-scaling 预处理), SPSS 26.0 进行 *t* 检验显著分析, 火山图及热图由生信平台(<https://bio-cloud.apptbiotech.com/>)绘制, 火山图在中标记的散点由 Inkscape 软件进行标注。单维统计分析及其余数据由 EXCEL 处理。根据 OPLS-DA 模型获得的变量权重值(Variable importance for the projection, VIP), 将 $P < 0.05$, $VIP > 1$, 差异倍数(Fold change, FC) > 2 或 < 0.5 的代谢物定义为显著差异代谢物。每种样品重复检测 6 次。

2 结果与分析

2.1 不同霉菌奶酪的代谢表型分析

为研究红曲霉奶酪与其他霉菌成熟奶酪(青霉奶

酪、白霉奶酪)不同的特征代谢产物, 利用 UHPLC-Q-Exactive/MS 对两款不同红曲霉菌株所制备的红曲霉奶酪、一款市售青霉奶酪、一款市售白霉奶酪的可溶性化合物成分及相对含量进行分析鉴定。在正离子模式(Positive ion mode, POS)与负离子模式(Negative ion mode, NEG)下, 检测到 16841 个四款奶酪样品中共有的代谢物离子特征, 其中正离子模式下鉴定到 1411 个代谢物、负离子模式下鉴定到 1099 个代谢物。将鉴定到的所有代谢物根据其化学分类归属信息进行分类统计, 各类代谢物数量所占比例如图 1 所示。

其中, 占比前 3 类物质分别是有机酸及其衍生物(Organic acids and derivatives), 脂质和类脂分子(Lipids and lipid-like molecules), 有机杂环化合物(Organoheterocyclic compounds), 共计占比 65.703%。有机酸类物质广泛存在于果蔬类食物中, 主要提供果味、酸味, 同时是一类安全的抗血栓因子, 对防治心脑血管疾病具一定积极作用^[11], 能够提高奶酪的风味并赋予其益生功能。脂类物质对奶酪的风味及保存具有重要影响, 不同霉菌对脂肪的分解情况不同, 降解产物脂肪酸的差异直接影响奶酪的风味及营养价值^[12]。有机杂环化合物在香料界的认可度较高, 大多数具有特征香气且阈值极低, 奶酪中此类物质的差异可能是造成风味差异的关键^[13]。有机硫化物(Organosulfur compounds)虽然仅占 0.289%, 但由于气味刺激特殊, 其在奶酪中的含量与种类对奶酪风味的影响较大。

将检测到的 16841 个共有代谢物离子作为因变量, 4 款奶酪作为自变量, 于 SIMCA 14.1 进行 OPLS-DA 分析, 如图 2 所示, 不同字母组及颜色的散点代表不同的奶酪样本, 可以观察到 4 种奶酪样品之间存在显著的分离趋势, 可以实现 4 款奶酪的有效区分。本次分析中, 自变量拟合指数 Pos R^2_x 为 0.762、Neg R^2_x 为 0.823, 因变量拟合指数 Pos R^2_y 为 0.659、Neg R^2_y 为 0.661, 模型预测指数 Pos Q^2 为 0.643、Neg Q^2 为 0.645, R^2 与 $Q^2 > 0.5$, 证明模型稳定可靠。为避免模型发生过拟合, 经过 200 次置换检验对模型进行检验以确保模型的有效性。如图 3 所示,

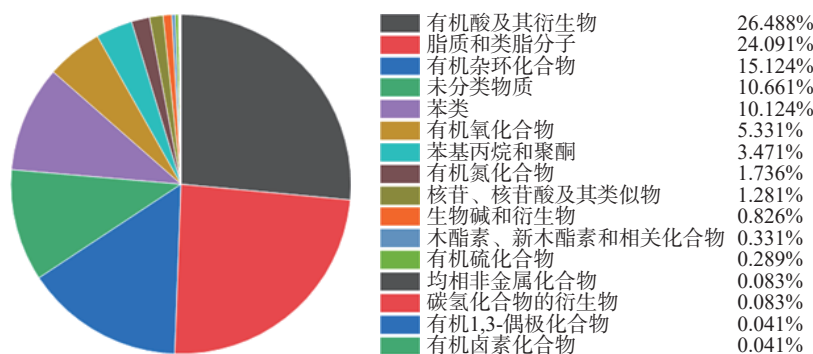


图 1 合并正负离子鉴定到的代谢物在各化学分类的数量占比

Fig.1 Proportion of metabolites identified by combining positive and negative ions in each chemical classification

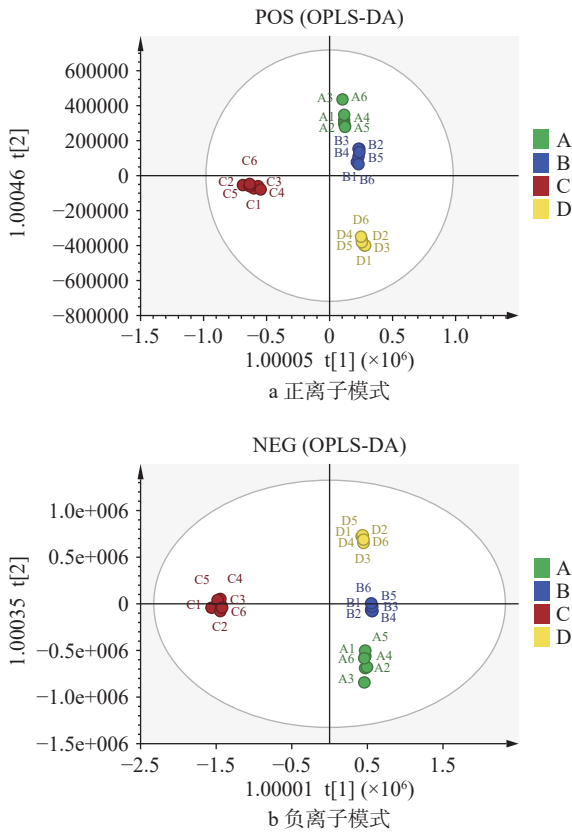


图 2 OPLS-DA 得分图

Fig.2 OPLS-DA scores plots

注: A 为红曲霉奶酪 BC20, B 为红曲霉奶酪 ZX-99, C 为青霉奶酪, D 为白霉奶酪。

Q^2 截距小于零, 说明模型不存在过拟合, 稳健性良好。这些结果表明, OPLS-DA 清楚地区分了不同的奶酪样本, 且组内平行样品无明显偏差。

2.2 红曲霉奶酪的代谢产物特征分析

为分析红曲霉奶酪与其他霉菌成熟奶酪(青霉奶酪、白霉奶酪)相比所具备的代谢产物特征, 通过红曲霉奶酪 BC20 分别与青霉奶酪、白霉奶酪, 红曲霉奶酪 ZX-99 分别与青霉奶酪、白霉奶酪这 4 个比较组的差异倍数(Fold change, FC)、显著性水平(P -value, P)对鉴定到的 2510 个代谢物进行筛选。各组正、负离子模式下的火山图, 如图 4 所示, 红色散点对应的物质在红曲霉奶酪中显著上调, 蓝色散点对应的物质在红曲霉奶酪中显著下调, 黑色散点对应的物质在红曲霉奶酪与其他霉菌奶酪中差异不显著或差异倍数在 0.5~2 之间, 直观地展示了红曲霉奶酪较其他两款霉菌奶酪代谢物质显著变化的情况, 并对有定性名称且变量权重值(Variable importance for the projection, VIP) >1 的显著性差异代谢物, 选择表达变化上调的 TOP5 和下调的 TOP5 进行标记, 标记物质的详细信息见表 1、表 2。

结合火山图与表 1、表 2 可知, 红曲霉奶酪 BC20、红曲霉奶酪 ZX-99 分别与青霉奶酪、白霉奶酪的 4 个比较组中, 代谢物质上调及下调的情况差异较大, 这说明实验组所选择的两款红曲霉奶酪各具特

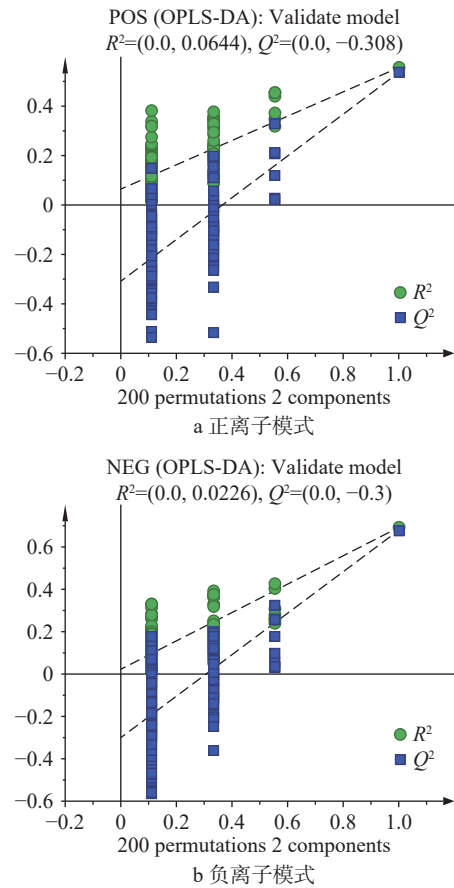


图 3 OPLS-DA 置换检验图

Fig.3 OPLS-DA permutation test plots

色, 后续对于两款红曲霉奶酪各自特色的代谢产物进行筛选后, 保留下的共同富集代谢产物对于红曲霉奶酪这一品类的初步描述具有较高的准确性。同时, 也说明青霉奶酪与白霉奶酪之间的代谢物存在较大差异, 对照组的选择对于目标物的筛选具有较好的排除干扰作用。

由 $VIP_{AC, AD, BC, BD} > 1$ 、 $FC_{AC, AD, BC, BD} < 0.5$ 或 > 2 、 $P_{AC, AD, BC, BD} < 0.05$ 对鉴定到的 2510 个代谢物进行筛选, 得到 130 个 POS、79 个 NEG 代谢物, 此为两款红曲霉奶酪与青霉奶酪、白霉奶酪相比所共有的显著差异代谢产物。在此基础上, 对筛选所得物质进行二次筛选, 筛选条件为: $FC_{AC, AD, BC, BD} > 2$ 、 $VIP_{AB} \leq 1$ 、 $P_{AB} \geq 0.05$, 得到 16 个 POS、7 个 NEG 代谢物, 此为两款红曲霉奶酪与青霉奶酪、白霉奶酪相比所共有的显著富集代谢产物(且这 23 个代谢物在两款红曲霉奶酪间没有显著差异), 可初步判断红曲霉奶酪这一品类代谢产物的共同特征, 物质信息如表 3 所示。

对表 3 中的物质进行信息检索, 发现有 8 个物质具有一定有益生物活性或药理活性。其中, 4 个物质具有抗菌活性, 分别是夫西地酸^[14]、甘草皂苷 h2^[15]、苔黑酚^[16] 以及 25-去乙酰基利福喷丁^[17]; 2 个物质具有抗炎活性, 分别是葫芦素 e^[18]、甘草皂苷 h2^[15]; 2 个物质具有抗氧化活性, 分别是葫芦素 e^[18]、苔黑酚^[19]; 2 个物质具有抗癌防癌活性, 分别是葫芦

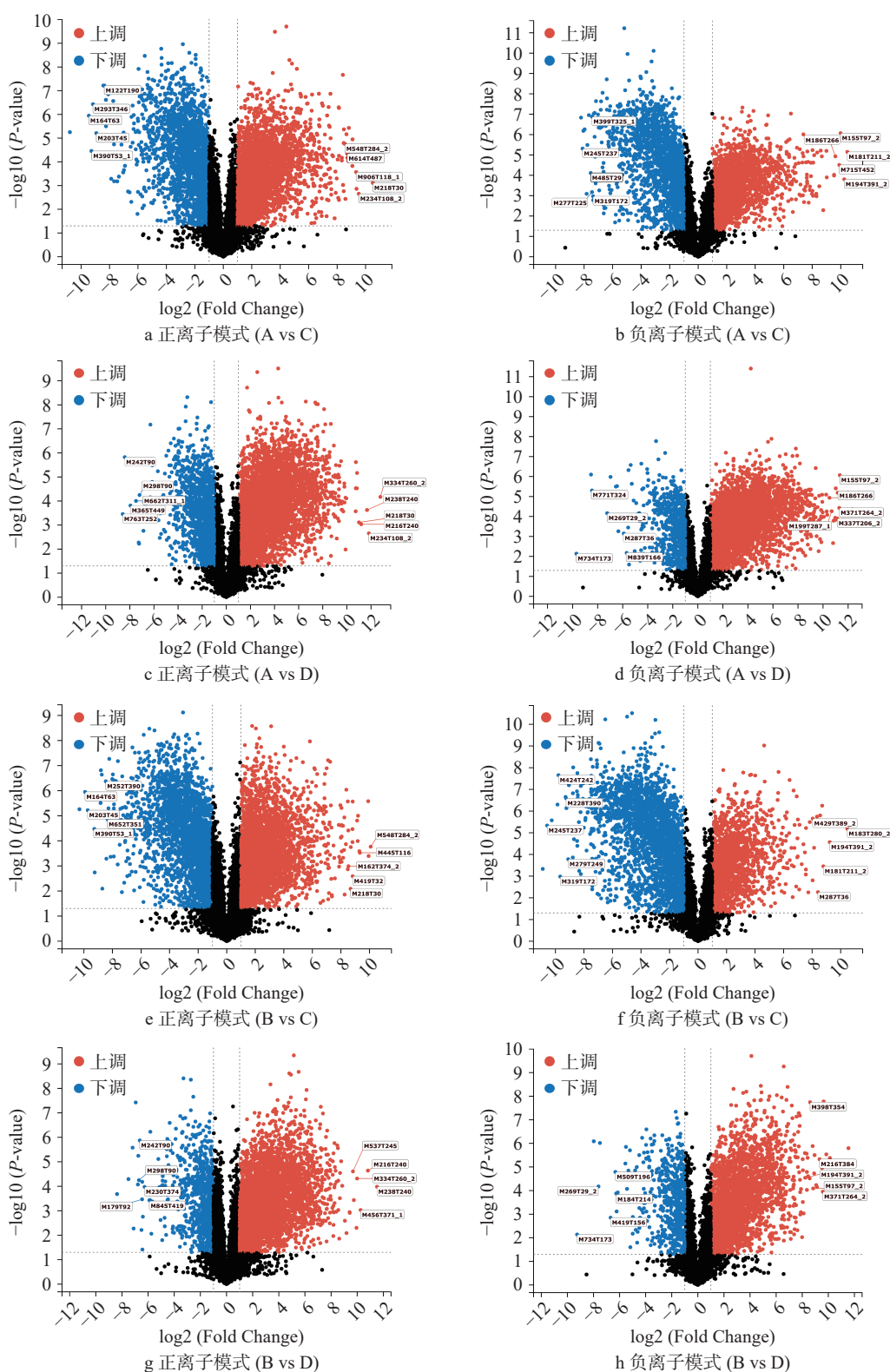


图4 不同奶酪比较组的火山图

Fig.4 Volcano map of different cheese comparison groups

注: A 为红曲霉奶酪 BC20, B 为红曲霉奶酪 ZX-99, C 为青霉奶酪, D 为白霉奶酪; FC<0.5 或>2; P<0.05。

素 e^[20,21]、苕黑酚^[22]; 3 个物质对心血管疾病的治疗有一定帮助, 分别是喹那普利^[23]、甲基多巴^[24] 以及甘草皂苷 h2^[15]; 1 个物质对良性前列腺增生及下尿路症状有治疗作用, 为阿夫唑嗪^[25]。抗菌及抗氧化物质的富集对于食品的保存具有较大积极作用, 抗炎、抗癌防癌及缓解心血管疾病物质的富集将给食用者带

来一定益生效果。

诸多研究表明, 红曲霉的代谢产物红曲色素具有抗菌、抗氧化、降血压的作用^[26-27], 但其具体活性物质仍未明确, 该研究发现的夫西地酸、甘草皂苷 h2、苕黑酚、25-去乙酰基利福喷丁、葫芦素 e、喹那普利、甲基多巴可能是红曲色素呈现相应活性的关

表 1 红曲霉奶酪中差异代谢物上调信息
Table 1 The information of differential metabolites up-regulated in *Monascus* cheese

编号	ID	物质	中文名称	FC _{AC}	FC _{AD}	FC _{BC}	FC _{BD}
Benzenoids(苯类)							
1	M199T287_1	N,n-dimethyl-n'-phenylsulfamide	N, n-二甲基-n'-苯基磺酰胺	17.78	1647.62	2.86	264.85
2	M238T240	Ketamine	氯胺酮	3.60	3255.62	3.22	2916.40
3	M614T487	Propanoic acid, 2-[[1-[3-[4-([1,1'-biphenyl]-4-ylcarbonyl)-2-propylphenoxy]propyl]-1,2,3,4-tetrahydro-5-quinolinyl]oxy]-2-methyl-	丙酸, 2-[[1-[3-[4-([1,1'-联苯]-4-基甲酰基)-2-丙基苯氧基]丙基]-1,2,3,4-四氢-5-喹啉基]氧基]-2-甲基-	418.38	424.22	88.38	89.62
Lipids and lipid-like molecules(脂质和类脂分子)							
4	M334T260_2	Ipconazole	种菌唑	7.46	7020.95	1.08	1016.19
5	M371T264_2	15(r),19(r)-hydroxy prostaglandin fl.alpha.	15(r), 19(r)-羟基前列腺素f1a	3.06	2514.90	0.93	764.06
6	M429T389_2	Resibufogenin	酯蟾毒配基	137.81	95.15	263.66	182.04
7	M445T116	Bufotalin	蟾蜍它灵	250.55	1.26	642.35	3.24
8	M456T371_1	Lithocholylglycine	甘氨石胆酸	2.32	754.00	3.77	1224.46
9	M537T245	Nomilin	诺米林	3.87	1698.96	1.86	814.88
10	M548T284_2	1-o-octadecyl-sn-glyceryl-3-phosphorylcholine	1-o-十八烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱	373.49	0.62	1086.38	1.80
Organic acids and derivatives(有机酸及其衍生物)							
11	M155T97_2	L-theanine	左旋茶氨酸	1016.92	2588.23	179.91	457.90
12	M194T391_2	(-)-.alpha.-kainic acid	(-)-α-红藻氨酸	1214.42	605.83	601.81	300.22
13	M216T384	Ala-Gln	丙氨酸-谷氨酰胺	9.03	510.65	11.37	642.87
14	M287T36	Asn-Arg	天冬氨酸-精氨酸	4.32	0.02	340.14	1.31
15	M419T32	Hc toxin	Hc毒素	81.49	95.74	452.49	531.65
Organic nitrogen compounds(有机氮化合物)							
16	M162T374_2	L-carnitine	左旋肉碱	202.05	0.34	369.26	0.63
Organic oxygen compounds(有机氧化合物)							
17	M234T108_2	Muramic acid	胞壁酸	736.10	3625.87	138.39	681.66
18	M906T118_1	[(2r,3r,4r,5r,6r)-2-[[[(2r,3r,4r)-3,4-dihydroxy-4-(hydroxymethyl)oxolan-2-yl]oxymethyl]-4-[(2s,3r,4r,5r,6s)-4,5-dihydroxy-6-methyl-3-[(2s,3r,4s,5s)-3,4,5-trihydroxyoxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-6-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethoxy]-5-hydroxyoxan-3-yl]](e)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoate	[(2r,3r,4r,5r,6r)-2-[[[(2r,3r,4r)-3,4-二羟基-4-(羟甲基)四氢-2-呋喃基]氧甲基]-4-4-[(2s,3r,4r,5r,6s)-4,5-二羟基-6-甲基-3-[(2s,3r,4s,5s)-3,4,5-三羟基恶烷-2-yl]氧化恶烷-2-基]氧化-6-[2-(3,4-二羟基苯基)乙氧基]-5-羟基恶烷-3-基]](e)-3-(3,4-二羟基苯基)丙烷基-2-烯丙基酯	647.44	833.63	306.21	394.26
Organoheterocyclic compounds(有机杂环化合物)							
19	M183T280_2	3-furancarboxylic acid, tetrahydro-4-methylene-5-oxo-2-propyl-, (2r,3s)-rel-	3-呋喃甲酸, 四氢-4-亚甲基-5-酮-2-丙基-, (2R,3S)-rel-	12.41	0.13	1414.99	15.13
20	M186T266	Indolelactic acid	吲哚乳酸	788.32	1457.30	121.00	223.67
21	M216T240	Atrazine	阿特拉津	341.69	2330.83	263.86	1799.90
22	M218T30	Ethoxyquin	乙氧基喹啉	1455.65	2054.93	409.72	578.39
Phenylpropanoids and polyketides(苯基丙烷和聚酮)							
23	M181T211_2	Hydroxyphenyllactic acid	羟基苯乳酸	1412.92	2.42	441.44	0.76
Undefined(未分类)							
24	M337T206_2	Eplerenone hydroxy acid	依普利酮羟基酸	3.52	2244.40	0.40	254.65
25	M398T354	Mepacrine	米帕林	8.06	521.44	6.02	389.48
26	M715T452	Subsessiline	亚草酸	953.74	32.58	125.56	4.29

键。此外,一些红曲霉发酵制品(红曲米、红曲醋、红曲薯蕷等)被报道具有抗炎、抗癌、降血糖、降胆固醇的作用^[28-29],该研究发现的葫芦素 e、甘草皂苷 h2、苔黑酚可能是其他红曲霉发酵制品呈现相应活性的关键。目前,尚未有研究发现青霉奶酪和白霉奶酪具有缓解心血管疾病方面的益生效果,若具有该类益生功效的物质在红曲霉奶酪中达到起效浓度,则缓解心血管疾病是红曲霉奶酪较青霉奶酪、白霉奶酪所独有的益生功能。

除了以上这些具有功能性的有益代谢产物,短肽由于具有更易被人体吸收代谢的优势也受到多方

面的关注,而对于表 3 所涉及的短肽“酪氨酸-亮氨酸-赖氨酸”,暂无关于生物活性和对风味影响方面的报道。吡嗪类物质通常具有成熟豆豉的风味^[30],而表 3 中该类物质的具体风味暂无研究表明,这可能是区分红曲霉奶酪与其他霉菌奶酪风味差异的关键之一。更多红曲霉奶酪共同显著富集代谢产物的具体生物功能或风味特征还有待深入研究。

2.3 KEGG 代谢途径分析

通过红曲霉奶酪与其他霉菌奶酪差异代谢途径的分析,可更好地了解红曲霉对成熟奶酪带来的影响。图 5 展示了不同比较组中显著性较高且上调的

表2 红曲霉奶酪中差异代谢物下调信息
Table 2 The information of differential metabolites down-regulated in *Monascus* cheese

编号	ID	物质	中文名称	FC _{AC}	FC _{AD}	FC _{BC}	FC _{BD}
Benzenoids(苯类)							
1	M122T190	Phenylethylamine	苯基乙胺	0.00	0.54	0.00	0.60
2	M203T45	Iprovalicarb	缙霉威	0.00	5.07	0.00	2.90
3	M269T29_2	5-tert-butyl-2,4-dihydroxybenzophenone	5-叔丁基-2,4-二羟基二苯酮	1.26	0.01	0.97	0.01
4	M293T346	Hydroxyflutamide	羟基氟他胺	0.00	0.34	0.00	0.90
Lipids and lipid-like molecules(脂质和类脂分子)							
5	M485T29	Andrastin a	安德拉斯汀a	0.01	0.38	0.01	0.64
6	M509T196	2-[(2r,4as,8s,8as)-8-[2-[(4as,7r,8ar)-7-(1-carboxyethenyl)-1-hydroxy-4a-methyl-2-oxo-6,7,8,8a-tetrahydro-5h-naphthalen-1-yl]ethyl]-4a-methyl-7-oxo-1,2,3,4,8,8a-hexahydronaphthalen-2-yl]prop-2-enoic acid	2-[(2r,4as,8s,8as)-8-[2-[(4as,7r,8ar)-7-(1-羧基乙基)-1-羟基-4a-甲基-2-酮-6,7,8,8a-四氢-5h-萘-1-基]乙基]-4a-甲基-7-酮-1,2,3,4,8,8a-六氢萘-2-基]丙-2-烯酸	0.10	0.03	0.04	0.01
7	M652T351	1-hexadecyl-2-azelaoyl-sn-glycero-3-phosphocholine	1-十六烷基-2-氮杂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱	0.01	14.81	0.00	3.81
8	M734T173	1,2-dilinolenoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine	1,2-二烯诺酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺	0.01	0.00	0.01	0.00
9	M839T166	Pc 36:5	磷脂酰胆碱 36:5	2.05	0.02	3.30	0.03
Nucleosides, nucleotides, and analogues(核苷、核苷酸及其类似物)							
10	M298T90	S-methyl-5'-thioadenosine	S-甲基-5'-硫腺苷	0.08	0.01	0.11	0.01
Organic acids and derivatives(有机酸及其衍生物)							
11	M164T63	N,n-bis(2-hydroxyethyl)glycine	N,n-双(2-羟乙基)甘氨酸	0.00	0.06	0.00	0.04
12	M228T390	Pro-Asn	脯氨酸-天冬氨酸	0.01	6.44	0.00	1.33
13	M245T237	Glu-Val	谷氨酸-缬氨酸	0.00	2.19	0.00	0.39
14	M277T225	Met-Glu	蛋氨酸-谷氨酸	0.01	1.30	0.03	7.77
15	M279T249	Val-Tyr	缬氨酸-酪氨酸	0.03	1.39	0.00	0.08
16	M287T36	Asn-Arg	天冬氨酸-精氨酸	4.32	0.02	340.14	1.31
17	M424T242	Tyr-Pro-Phe	酪氨酸-脯氨酸-苯丙氨酸	0.01	4.16	0.00	0.53
18	M662T311_1	Enniatin b	恩镰孢菌素b	0.18	0.01	3.29	0.10
19	M771T324	3-(1h-indol-3-ylmethyl)-6,18-dimethyl-12-(1-phenylethyl)-9,15-di(propan-2-yl)-1,4,7,10,13,16,19-heptazacyclotricosane-2,5,8,11,14,17,20-heptone	3-(1h-吲哚-3-基甲基)-6,18-二甲基-12-(1-苯乙基)-9,15-二(丙烷-2-基)-1,4,7,10,13,16,19-七氮杂环三烷-2,5,8,11,14,17,20-庚酮	0.02	0.00	0.72	0.09
Organic nitrogen compounds(有机氮化合物)							
20	M242T90	Diocetylamine	二正辛胺	0.00	0.00	0.02	0.01
Organic oxygen compounds(有机氧化合物)							
21	M365T449	Cellobiose	纤维二糖	0.38	0.00	17.50	0.18
Organoheterocyclic compounds(有机杂环化合物)							
22	M230T374	Icaridin	埃卡瑞丁	0.26	0.01	0.25	0.01
23	M390T53_1	Roquefortine c	异烟棒曲霉素c	0.00	1.49	0.00	1.49
24	M399T325_1	Methanone, [6-hydroxy-1-[2-(4-morpholinyl)ethyl]-1h-indol-3-yl]-1-naphthalenyl-	甲基酮, [6-羟基-1-[2-(4-吗啉基)乙基]-1h-吲哚-3-基]-1-萘基-	0.01	11.79	0.00	5.69
Phenylpropanoids and polyketides(苯基丙烷和聚酮)							
25	M419T156	Pomiferin	橙桑黄酮	1.35	0.14	0.09	0.01
26	M763T252	Robinin	刺槐素	0.01	0.00	0.06	0.02
Undefined(未分类)							
27	M179T92	Cantharidin	斑蝥素	0.68	0.09	0.09	0.01
28	M184T214	Egonine	爱冈宁	0.14	0.04	0.05	0.01
29	M252T390	Benzo(b)fluoranthene	苯并(b)荧蒽	0.02	8.66	0.00	1.12
30	M319T172	.beta.-zearalenol	β-玉米赤霉烯醇	0.01	3.75	0.00	0.77
31	M845T419	Rifampin	利福平	0.61	0.02	0.66	0.02

前 20 条差异代谢通路, 共有的显著差异代谢通路有 10 条, 分别为 ABC 转运(ABC transporters), 丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism), 氨酰-tRNA 生物合成

(Aminoacyl-tRNA biosynthesis), 氨基酸生物合成(Biosynthesis of amino acids), γ-氨基丁酸能突触(GABAergic synapse), 甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸代谢(Glycine, serine and threonine metabolism), 矿物质

表 3 红曲霉奶酪共同差异代谢产物
Table 3 The same characteristic metabolites of *Monascus* cheese

编号	ID	物质	中文名称	FC _{AC}	FC _{AD}	FC _{BC}	FC _{BD}
POS							
Benzenoids(苯类)							
1	M354T23_2	Isopropylcocaine	异丙基可卡因	153.21	409.77	140.30	375.23
2	M266T558_2	Methanone, 1,1'-[2-(phenylamino)-1,4-phenylene]bis[1-[4-(1-pyrrolidinyl)-1-piperidinyl]-	甲基酮, 1,1'-[2-(苯氨基)-1,4-亚苯基]双[1-[4-(1-吡咯烷基)-1-哌啶基]-	5.04	23.07	5.66	25.94
3	M496T371	1-piperidinecarboxylic acid, 4-[6-[4-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl]-4-(4-morpholinyl)-1h-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-1-yl]-, methyl ester	1-哌啶羧酸, 4-[6-[4-[(甲氧羰基)氨基]苯基]-4-(4-吗啉基)-1h-吡唑[3,4-d]嘧啶-1-基]-, 甲酯	6.33	52.54	6.07	50.40
4	M417T30	Alfentanyl	阿芬太尼	77.07	88.01	85.16	97.25
5	M238T240	Ketamine	氯胺酮	3.60	3255.62	3.22	2916.40
Lipids and lipid-like molecules(脂质和类脂分子)							
6	M433T30_1	Latanoprost	拉坦前列腺素	154.46	150.95	151.70	148.26
7	M579T402_2	Cucurbitacin e	葫芦素e	27.14	12.03	26.38	11.69
8	M539T418	Fusidic acid	夫西地酸	20.94	14.09	19.97	13.44
9	M414T427_1	15-ketobimatoprost	15-酮-比马前列素	4.49	114.02	4.84	122.85
10	M447T30	1-octadecyl lysophosphatidic acid	1-十八烷基溶血磷脂酸	12.55	18.25	10.50	15.27
Organic acids and derivatives(有机酸及其衍生物)							
11	M423T338_2	Tyr-Leu-Lys	酪氨酸-亮氨酸-赖氨酸	34.13	48.81	38.27	54.73
12	M618T482	Benzoic acid, 3-[[3-(3-carboxycyclohexyl)amino]carbonyl]-4-[3-[4-[4-(cyclohexyloxy)butoxy]phenyl]propoxy]-	苯甲酸, 3-[[3-(3-羧基环己基)氨基]羰基]-4-[3-[4-[4-(环己基氧基)丁氧基]苯基]丙氧基]-	95.88	100.21	91.46	95.58
13	M439T422	Quinapril	喹那普利	9.05	21.90	6.74	16.30
Organosulfur compounds(有机硫化物)							
14	M128T53	Tillam	丁烯酸苯酯	2.68	13.28	3.02	14.97
Phenylpropanoids and polyketides(苯基丙烷和聚酮)							
15	M212T277	Methyl dopa	甲基多巴	33.17	302.64	27.17	247.87
Undefined(未分类)							
16	M530T558_1	4-hydroxyphenylmaraviroc	4-羟基苯基马拉维若	4.46	28.31	4.41	28.01
NEG							
Benzenoids(苯类)							
1	M123T63	Orcinol	苔黑酚	14.48	19.10	11.31	14.92
Lipids and lipid-like molecules(脂质和类脂分子)							
2	M355T415_2	Prostaglandin f1.alpha.	前列腺素f1α	7.52	173.16	7.43	171.02
3	M339T211_1	15-ketoilprost	15-酮-伊洛前列素	171.68	15.65	136.44	12.43
4	M821T362	Licoricesaponin h2	甘草皂苷h2	55.22	261.90	48.08	228.05
Organoheterocyclic compounds(有机杂环化合物)							
5	M388T211	Alfuzosin	阿夫唑嗪	5.02	44.62	3.78	33.60
6	M468T274	Pyrazino[1',2':1,6]pyrido[3,4-b] indole-3-propanoic acid, 1,2,3,4,6,7,12,12a-octahydro-9-methoxy-6-(2-methylpropyl)-1,4-dioxo-, 1,1-dimethylethyl ester, (3s,6s,12as)-	吡嗪[1',2':1,6]吡啶[3,4-b]吲哚-3-丙酸, 1,2,3,4,6,7,12,12a-八氢-9-甲氧基-6-(2-甲基丙基)-1,4-二氧-, 1,1-二甲基乙基酯, (3s,6s,12as)-	53.09	11.93	59.52	13.37
Undefined(未分类)							
7	M833T328	25-desacetyl rifapentin	25-去乙酰利福喷丁	360.99	37.69	262.02	27.36

注: A为红曲霉奶酪BC20, B为红曲霉奶酪ZX-99, C为青霉奶酪, D为白霉奶酪。VIP_{AC, AD, BC, BD}>1、VIP_{AB}≤1; FC_{AC, AD, BC, BD}>2; P_{AC, AD, BC, BD}<0.05、P_{AB}≥0.05。

吸收(Mineral absorption), mTOR 信号通路(mTOR signaling pathway), 蛋白质消化和吸收(Protein digestion and absorption), 缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸生物合成(Valine, leucine and isoleucine biosynthesis)。

其中, 在红曲霉奶酪 BC20 vs 青霉奶酪、红曲霉奶酪 BC20 vs 白霉奶酪、红曲霉奶酪 ZX-99 vs 青霉奶酪这 3 个比较组中, 蛋白质消化和吸收通路的富集程度显著高于其他通路; 在红曲霉奶酪 ZX-99 vs 白霉奶酪比较组中, 蛋白质消化和吸收通路的富

集程度显著低于 ABC 转运通路并高于其他通路。与蛋白质消化和吸收通路相关的代谢物有异戊酸, DL-色氨酸, 赖氨酸, 吡嗪, 丙酸, DL-酪氨酸等。以上举例的 6 个代谢物同时为 2.2 中分析所得的显著差异代谢产物, 其中异戊酸的物质含量在两款红曲霉奶酪中显著减少, 丙酸与 DL-酪氨酸的物质含量在两款红曲霉奶酪中显著增加。

在 10 条红曲霉奶酪共有差异代谢通路中, 与氨基酸相关的通路占比较大, 所涉及共同差异代谢产

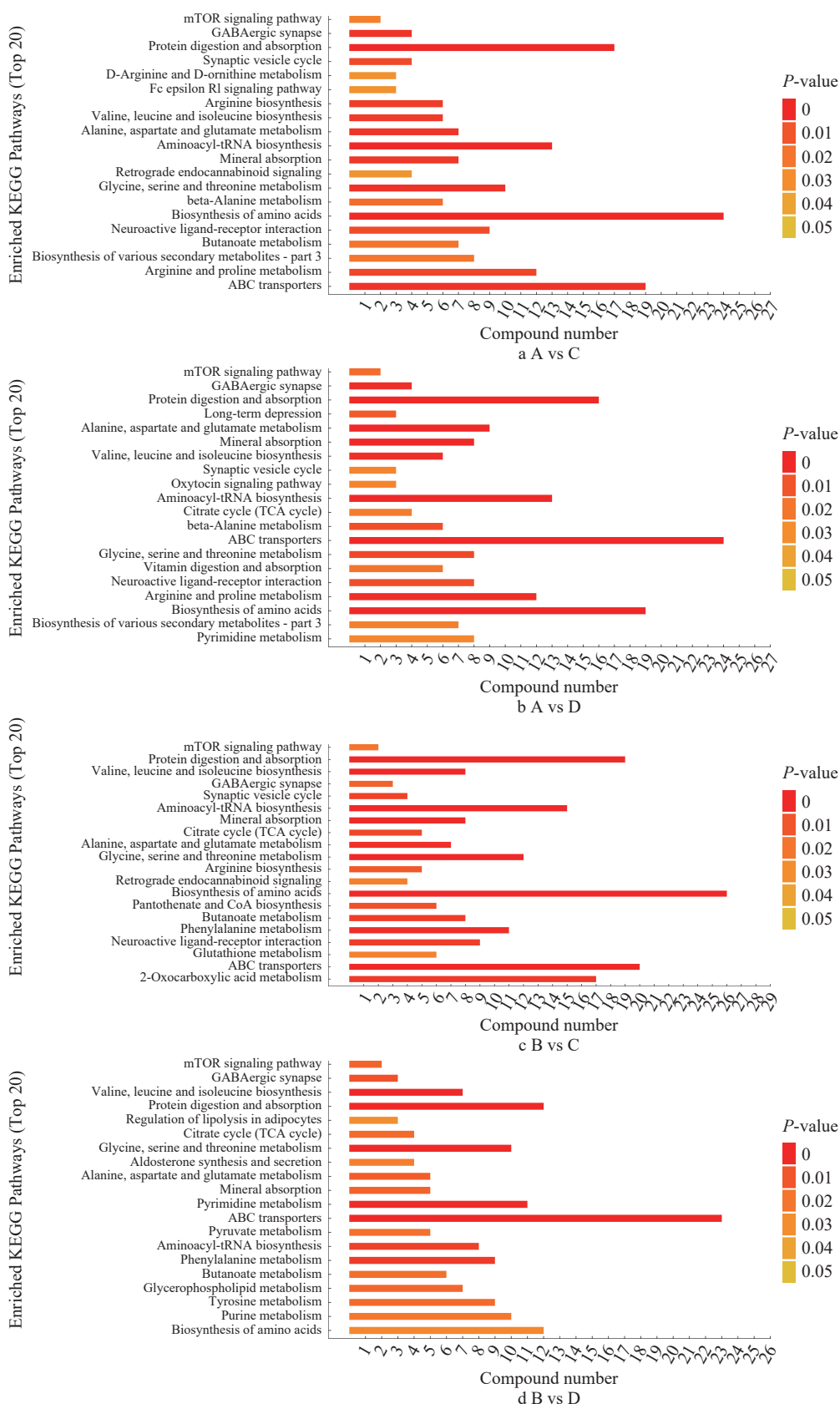


图 5 不同奶酪比较组的 KEGG 富集通路图

Fig.5 KEGG enrichment pathway map of different cheese comparison groups

注: A 为红曲霉奶酪 BC20, B 为红曲霉奶酪 ZX-99, C 为青霉奶酪, D 为白霉奶酪。横坐标为各 KEGG 代谢通路中包含的差异表达代谢物数目; 纵坐标为各 KEGG 代谢通路; 柱侧数字代表该通路中差异代谢物个数与所有注释到该通路代谢物个数的比值; 颜色表示富集分析的 P 值, 颜色越深 P 值越小, 富集程度越显著。

物有高三尖杉酯碱, 2-异丙基苹果酸, 肌酸, DL-色氨酸, DL-酪氨酸, L-苏氨酸, 赖氨酸, 丙酮酸, 琥珀酸,

酮亮氨酸, 甜菜碱等。以上举例的 11 个代谢物同时为 2.2 中分析所得的显著差异代谢产物, 其中丙酮

酸、酮亮氨酸、甜菜碱的物质含量在两款红曲霉奶酪中显著减少,高三尖杉酯碱、2-异丙基苹果酸、肌酸、DL-酪氨酸、琥珀酸的物质含量在两款红曲霉奶酪中显著增加。

异戊酸具有刺激性和酸败的味道,在浓度极低时则呈现出甜润的果香,丙酮酸具有酸味和醋酸气味,这两个物质在两款红曲霉奶酪中的含量相对较小,可能是红曲霉奶酪较青霉奶酪、白霉奶酪口味更加温和的原因之一。甜菜碱有甜味,可为奶酪增添风味,同时具备抗炎、抗氧化等活性,可为奶酪带来一定益生效果^[31],但其含量在两款红曲霉奶酪中相对较小,后续可尝试通过代谢的定向调控来富集此类物质。丙酸对食品具有防腐保鲜的作用,但具有一定刺激性气味,后续可对红曲霉奶酪中的丙酸进行定量,研究其在奶酪中适宜的浓度范围。琥珀酸具有酸味,阈值为 0.039%,有研究表明其对红腐乳的风味特征起重要作用^[32],故琥珀酸可能是红曲霉发酵制品的共有特征物质。

通过 KEGG 代谢途径富集分析,由蛋白质消化和吸收通路的富集程度及共有差异代谢通路中氨基酸相关通路的占比可知,蛋白质和氨基酸这两部分对于红曲霉奶酪具有较大的生物学重要性,后续研究可重点关注相关部分所涉及的节点物质,可能是定向调控的关键。

对于红曲霉的功能性代谢产物,较为熟知的有具有降脂功效的莫纳克林 K^[33]、可降压凝神的 γ -氨基丁酸^[34] 以及可作为着色剂或提供抗菌性的红曲色素^[26]。除此之外,在 KEGG 代谢途径所涉及的产物中又发现了一些新的显著富集功能性代谢产物,例如高三尖杉酯碱、2-异丙基苹果酸、肌酸。高三尖杉酯碱(Homoharringtonine, HHT)是一种可从三尖杉属植物中提取获得的生物碱,被广泛应用于血液病的治疗,且具有一定抗肿瘤活性^[35-37],其物质含量在红曲霉奶酪 BC20 中最高,是青霉奶酪中的 55 倍、白霉奶酪中的 63 倍。2-异丙基苹果酸(2-Isopropylmalic acid, 2-IPMA)具有温和的抗菌及抗氧化活性且无细胞毒性,适宜应用于食品防腐剂^[38],其物质含量在红曲霉奶酪 BC20 中最高,是青霉奶酪中的 84 倍、白霉奶酪中的 193 倍。肌酸(Creatine, Cr)主要存在于动物源食物中,是一种功能性膳食补充剂,具有改善机体能量代谢、促进肌细胞发育、抗氧化等生物学功能^[39-40],在红曲霉奶酪中的物质含量是其他两款奶酪的 2~4 倍。通过代谢途径与代谢产物的结合,有望通过定向代谢调控,进行红曲霉生物功能乳制品的研发,使产品更具益生功能。

3 结论

两款红曲霉奶酪、一款青霉奶酪、一款白霉奶酪之间的差异代谢产物中共鉴定出 2510 种代谢物,有 23 个代谢物在红曲霉奶酪 BC20 与红曲霉奶酪 ZX-99 中共同富集且在红曲霉奶酪组间无显著差异,初

步判断这些物质为红曲霉奶酪代谢产物的特征。同时,有研究表明这 23 个代谢物中,有 8 个物质具有抗菌、抗炎、抗氧化、抗瘤防癌、缓解心血管疾病等生物或药理活性,分别是夫西地酸、甘草皂苷 h2、阿夫唑嗪、苔黑酚、25-去乙酰基利福喷丁、葫芦素 e、喹那普利、甲基多巴,为红曲霉奶酪带来了一定益生功能。通过 KEGG 代谢通路分析,确定了 10 条差异代谢通路,包括 ABC 转运、蛋白质消化和吸收、氨基酸类代谢通路等。一些与这些代谢途径相关的特征代谢产物具有抗菌、抗氧化、抗肿瘤等功效,例如高三尖杉酯碱、2-异丙基苹果酸、肌酸,对于生物功能乳制品的开发极具参考价值。

目前通过代谢组学系统全面的表征了红曲霉奶酪与其他霉菌成熟奶酪在代谢产物方面的差异,为红曲霉奶酪的定义、目标代谢方向的调控以及有益代谢物质的富集提供了一定依据。但由于非靶向代谢组学在检测过程中并未对代谢产物定量,故暂不明确红曲霉奶酪中富集的有益物质是否达到起效浓度,后续可研究该类物质在红曲霉奶酪中的具体含量以及经消化后对人体的影响。在分析过程中,部分代谢物质的具体功能暂无相关文献表明,后续可尝试研究其具体功能及调控方法。目前,由于同时具备食用安全性、奶酪成熟能力以及风味优势的红曲霉菌株较为稀缺,故该研究只选用了两株红曲霉所制成的奶酪进行分析。但是,红曲霉菌株的种类非常丰富,不同红曲霉菌株之间可能存在一定差异。因此,后续可寻找更多适宜用于奶酪成熟的风味优势红曲霉菌株,并对更多红曲霉奶酪的代谢产物进行分析,以便更全面、准确地认识其代谢产物特征。

参考文献

- [1] CARON T, PIVER M L E, PÉRON A C, et al. Strong effect of *Penicillium roqueforti* populations on volatile and metabolic compounds responsible for aromas, flavor and texture in blue cheeses [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 354: 109174.
- [2] 孙颜君, 孙颜杰. 红曲霉在类 Camembert 干酪生产中的应用研究 [J]. *食品工业科技*, 2016, 37(13): 167-172. [SUN Y J, SUN Y J. Application of *Monascus* in the production of Camembert imitation [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(13): 167-172.]
- [3] JIAO J K, ZHENG Z Q, LIU Z M, et al. Study of the compositional, microbiological, biochemical, and volatile profile of red-veined cheese, an internal *Monascus*-ripened variety [J]. *Frontiers in Nutrition*, 2021(8): 649611.
- [4] 焦晶凯, 刘振民, 郑远荣, 等. 红曲霉对白霉干酪理化及流变特性的影响 [J]. *食品科学*, 2021, 42(24): 117-122. [JIAO J K, LIU Z M, ZHENG Y R, et al. Effect of *Monascus* as an adjunct starter on physicochemical and rheological properties of white mold cheese [J]. *Food Science*, 2021, 42(24): 117-122.]
- [5] YU H N, LIU Z M, HANG F, et al. Effect of *Monascus* sp. as an adjunct starter on physicochemical properties and proteolysis in semi-hard cheeses during ripening [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2016, 25(3): 785-793.
- [6] WU S M, YU H N, LIU Z M, et al. Influence of *Monascus purpureus* BD-M-4 on the physicochemical properties, proteolysis

- and volatile compounds of surface mould-ripened cheese[J]. *Food Science and Biotechnology*, 2019, 28(1): 129–138.
- [7] JIAO J K, LIU Z M, ZHENG Y R, et al. A novel application of *Monascus purpureus* in semi-soft cheese making[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 45(3).
- [8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.222-2016 食品安全国家标准 食品中桔青霉素的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016. [The National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.222-2016 National food safety standard-determination of citrinin in food[S]. Beijing: China Standards Press, 2016.]
- [9] 徐杏敏, 郑远荣, 刘振民, 等. 奶酪发酵剂红曲霉的筛选及其对奶酪理化、质构和抗氧化性的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2023: 1–11. [2023-08-14]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.034504>. [XU X M, ZHENG Y R, LIU Z M, et al. Screening of *Monascus* as cheese starter and its effects on physicochemical, texture and antioxidant properties of cheese[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023: 1–11. [2023-08-14]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.034504>.]
- [10] ZHANG X, ZHENG Y R, ZHOU R, et al. Comprehensive identification of molecular profiles related to sensory and nutritional changes in Mongolian cheese during storage by untargeted metabolomics coupled with quantification of free amino acids[J]. *Food Chemistry*, 2022, 386: 132740.
- [11] 宁亚维, 李明蕊, 陈艺, 等. 食物来源有机酸及其衍生物抗血栓作用机制研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(13): 292–301. [NING Y W, LI M R, CHEN Y, et al. Progress in research on the antithrombotic mechanism of food-derived organic acids and their derivatives[J]. *Food Science*, 2022, 43(13): 292–301.]
- [12] 梁滨羽, 史海粟, 李彦博, 等. 霉菌奶酪中脂肪酸代谢及其对产品品质影响研究进展[J]. *食品科学*, 2020, 41(9): 211–221. [LUAN B Y, SHI H L, LI Y B, et al. A review of free fatty acid catabolism in mold-fermented cheese and its effect on product quality[J]. *Food Science*, 2020, 41(9): 211–221.]
- [13] 陶绍木, 张建华, 彭昌亚, 等. 杂环化合物的应用和发展[J]. *中国食品添加剂*, 2003, 23(3): 31–34. [TAO S M, ZHANG J H, PENG C Y, et al. The application and development of heterocyclic compounds[J]. *China Food Additives*, 2003, 23(3): 31–34.]
- [14] NASEEF H, SAHOURY Y, FARRAJ M, et al. Novel fusidic acid cream containing metal ions and natural products against multidrug-resistant bacteria[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(8): 1638.
- [15] 张霞, 张芳, 赵建军, 等. 甘草中皂苷类成分的网络药理学研究[J]. *宁夏医科大学学报*, 2019, 41(7): 658–665. [ZHANG X, ZHANG F, ZHAO J J, et al. Network pharmacology study of saponin components in licorice[J]. *Journal of Ningxia Medical University*, 2019, 41(7): 658–665.]
- [16] ZORRILLA J G, D'ADDABBO T, ROSCETTO E, et al. Antibiotic and nematocidal metabolites from two lichen species collected on the island of Lampedusa (Sicily)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(15): 8471.
- [17] ZURLINDEN T J, EPPERS G J, REISFELD B. Physiologically based pharmacokinetic model of rifapentine and 25-desacetyl rifapentine disposition in humans[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2016, 60(8): 4860–4868.
- [18] SILVESTRE G F G, DE LUCENA R P, DA SILVA ALVES H. Cucurbitacins and the immune system: Update in research on anti-inflammatory, antioxidant, and immunomodulatory mechanisms[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2022, 29(21): 3774–3789.
- [19] 李春丽, 孟宪华, 尚贤毅, 等. 花椒化学成分及其抗氧化活性[J]. *中草药*, 2021, 52(10): 2869–2875. [LI C L, MENG X H, SHANG X Y, et al. Constituents of *Zanthoxylum bungeanum* pericarps and their anti-oxidative activity[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(10): 2869–2875.]
- [20] LIU W B, WANG H L, CHEN L, et al. Cucurbitacin E inhibits cellular proliferation and induces apoptosis in melanoma by suppressing HSDL2 expression[J]. *Chinese Medicine*, 2022, 17(1): 28.
- [21] JIANG X L, MA B J, WEI X D, et al. Study on the chemotherapeutic effect and mechanism of cucurbitacin E on laryngeal cancer stem cells[J]. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*, 2022, 7(3): 723–729.
- [22] YANG T, TACKIE-YARBOI E, MEI X, et al. Depletion of esterase-harboring bacteria increases antihypertensive efficacy of ACE inhibitor quinapril[J]. *Faseb Journal*, 2021, 35(S1), 02954.
- [23] YANG T, MEI X, TACKIE-YARBOI E, et al. Identification of a gut commensal that compromises the blood pressure-lowering effect of ester angiotensin-converting enzyme inhibitors[J]. *Hypertension*, 2022, 79(8): 1591–1601.
- [24] VAN DE VUSSE D, MIAN P, SCHOENMAKERS S, et al. Pharmacokinetics of the most commonly used antihypertensive drugs throughout pregnancy methyldopa, labetalol, and nifedipine: A systematic review[J]. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 2022, 78(11): 1763–1776.
- [25] MARI A, ANTONELLI A, CINDOLOLO L, et al. Alfuzosin for the medical treatment of benign prostatic hyperplasia and lower urinary tract symptoms: A systematic review of the literature and narrative synthesis[J]. *Therapeutic Advances in Urology*, 2021, 13: 1–15.
- [26] FENG L H, LI Y Q, SUN G J, et al. Antibacterial effect of orange *Monascus* pigment against *Staphylococcus aureus*[J]. *Acta Alimentaria*, 2019, 48(2): 169–176.
- [27] CHEN C L, TSENG J H, PAN T M, et al. A randomized, double-blind clinical study on blood pressure reduction and blood lipid profile amelioration on treatment with Ankascin 568[J]. *Chinese Journal of Physiology*, 2017, 60(3): 158–165.
- [28] HUANG Y P, LI P, DU T, et al. Protective effect and mechanism of *Monascus*-fermented red yeast rice against colitis caused by *Salmonella enterica* serotype *Typhimurium* ATCC 14028[J]. *Food & Function*, 2020, 11(7): 6363–6375.
- [29] NOH YOUNG-HEE, PYO YOUNG-HEE. The *in vitro* anti-diabetic and anti-obesity effect of *Monascus*-fermented grain vinegar[J]. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 2021, 50(8): 783–791.
- [30] CHEN Y, LI P, LIAO L Y, et al. Characteristic fingerprints and volatile flavor compound variations in Liuyang Douchi during fermentation via HS-GC-IMS and HS-SPME-GC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2021, 361: 130055.
- [31] ALVARENGA L, FERREIRA M S, KEMP J A, et al. The role of betaine in patients with chronic kidney disease: A narrative review[J]. *Current Nutrition Reports*, 2022, 11(3): 395–406.
- [32] 王鹏, 王文平, 续丹丹, 等. 红腐乳发酵过程中滋味化合物分析及电子舌鉴别(英文)[J]. *食品科学*, 2021, 42(14): 170–179. [WANG P, WANG W P, XU D D, et al. Analysis of taste compounds in red sufu during fermentation and discrimination with electronic tongue[J]. *Food Science*, 2021, 42(14): 170–179.]
- [33] FARKOUH A, BAUMGARTEL C. Mini-review: Medication safety of red yeast rice products[J]. *International Journal of General Medicine*, 2019, 12: 167–171.

- [34] DUPONT A G, LÉGAT L. GABA is a mediator of brain AT (1) and AT(2) receptor-mediated blood pressure responses[J]. *Hypertension Research*, 2020, 43(10): 995–1005.
- [35] MI R H, ZHAO J, CHEN L, et al. Efficacy and safety of homoharringtonine for the treatment of acute myeloid leukemia: A meta-analysis[J]. *Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia*, 2021, 21(10): e752–e767.
- [36] KWOK T H, WONG K K W, LAM W, et al. Homoharringtonine overcomes drug resistance and synergises with venetoclax in acute myeloid leukemia via inhibiting protein synthesis[J]. *Blood*, 2022, 140(S1): 11540.
- [37] PORCÙ E, MAULE F, MANFREDA L, et al. Identification of homoharringtonine as a potent inhibitor of glioblastoma cell proliferation and migration[J]. *Translational Research*, 2022: 251.
- [38] RICCIUTELLI M, BARTOLUCCI G, CAMPANA R, et al. Quantification of 2- and 3-isopropylmalic acids in forty Italian wines by UHPLC-MS/MS triple quadrupole and evaluation of their antimicrobial, antioxidant activities and biocompatibility[J]. *Food Chemistry*, 2020, 321: 126726.
- [39] 段斌斌, 邢通, 张林, 等. 肌酸补充剂的生物学功能及其在肉禽生产中的应用进展[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(9): 5466–5474.
- [DUAN B B, XING T, ZHANG L, et al. Biological function of creatine supplements and their application in meat-type poultry production[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(9): 5466–5474.]
- [40] FRANCO A D, BATTINI R, KUSMIC C, et al. Cardiac involvement in creatine deficiency syndrome[J]. *European Heart Journal*, 2022, 43(S2): 2623.