

基于核磁共振的代谢组学技术在食品科学中的应用

陈黛安,叶央芳*

(宁波大学 海洋学院,浙江 宁波,315211)

摘 要 基于核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)的代谢组学技术是组学研究中一个正在蓬勃兴起的技术,该技术专注于生物体中所有小分子代谢物的高通量分析,但在对食品的物质组成分析上也同样行之有效。该文就近年来该技术在食品科学领域的最新研究进展做一简要综述。

关键词 核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR);代谢组学;食品科学

代谢组学研究是“组学”中快速兴起的一个领域,是对所有低分子量代谢物($<1\ 500\text{ Da}$)进行定性和定量分析的一种技术^[1]。核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)和质谱(mass spectrometry, MS)是代谢组学研究中系统获取代谢物谱的主流方法^[2]。由于NMR只需对样品进行简单的预处理、无偏向性和对样品的非破坏性,使得基于NMR的代谢组学技术成为评估代谢物及其功能的新的强有力手段。在食品科学领域,该手段被广泛应用于食品组分分析、食品质量鉴别、食品质量控制、食品存贮和加工、鉴别和预测食品味道等方面。本文就基于NMR的代谢组学技术在食品科学研究中的应用做一简要综述。

1 基于 NMR 的代谢组学技术在食品组分分析中的应用

传统的食品组分分析局限于较为宽泛的物质组成,如蛋白质、脂肪、碳水化合物、纤维素、维生素、微量元素和灰分等。但代谢组学技术的出现,使得食品组分分析变得细致,可以检测到成百上千种有机化合物单体。这种“化整为零”的策略可赋予人们了解某种食品之所以具有独特口味、质地、芳香或色泽的分子基础。例如, HU^[3]等利用一维 ^1H 谱和二维 ^1H - ^{13}C 异核谱对牛奶中的脂肪、乳糖、柠檬酸、N-乙酰类有机化合物、三甲胺、丁酸、三酰甘油的总单不饱和脂肪酸和总多不饱和脂肪酸等进行了定量,其中, N-乙酰类有机化合物和三甲胺在牛奶中被首次定量。除了利

用NMR技术对食品的化合物做一系统分析外, NMR技术也可针对性地分析特定化合物。如 RODRIGUES^[4]等利用NMR方法对啤酒中的6种有机酸(乙酸、柠檬酸、乳酸、苹果酸、丙酮酸和琥珀酸)进行了靶标分析。发现NMR积分方法得到的有机酸定量结果基本上与偏最小二乘法回归(PLS)分析的结果一致,但对苹果酸和丙酮酸的含量略有高估,对柠檬酸的含量相对偏低,这可能是由于核磁信号的交叠导致了后续的积分错误。因此,对于NMR信号交叠严重的物质的定量分析,采用PLS-NMR方法可得到较准确的定量结果。又如, PREMA^[5]等利用NMR技术特征性分析了41种加拿大牛肋眼牛排的共轭亚油酸(CLA)含量。研究者选定 ^1H NMR谱上的CLA共轭双键上的质子信号(6.5~5.5 ppm)进行积分,所得积分面积与内标二甲醚亚甲基信号(3.54 ppm)的积分面积相比较,经过一系列换算后得到CLA的浓度。NMR方法测定的CLA含量与气相色谱(GC)结果具有很好的一致性,但用于NMR测定所需的样品制备简单,且溶剂用量少,相对简便且环保。

2 基于 NMR 的代谢组学技术在食品质量鉴别中的应用

通常人们采用感官评定、电子鼻等方式来鉴别食品的质量,鉴于NMR基础上的代谢组学技术在食品组分分析上的诸多优势,现已被广泛应用于鉴别食品的原产地、等级、转基因食品和伪劣产品等。

2.1 食品的产地鉴别

早在2002年, BRESCIA^[6]等就分析了41种来自意大利阿普利亚南部、中部和北部产区红葡萄酒的NMR代谢谱。借助主成分分析(PCA)可把这3个产区的葡萄酒明显区分开,导致葡萄酒产区差异的物质

第一作者:硕士研究生(叶央芳教授为通讯作者, E-mail, yeyangfang@nbu.edu.cn)。

基金项目:宁波市农业科技公关项目(2012C10027);宁波市自然科学基金项目(2014A610183)

收稿日期:2015-07-20, 改回日期:2015-11-06

主要是氨基酸。近来, FOTAKIS^[7]等利用 NMR 技术分析了 86 种希腊葡萄酒的代谢谱, 共检测到 35 种代谢物, 其中一些代谢物如多元醇类、乙酯类和糖类含量主要与葡萄酒的产地相关, 其次与葡萄品种、采摘年份和加工方式相关。除了葡萄酒, NMR 技术也被用于其他食品的产地鉴别。如 SCIUBBA^[8]等利用该技术来鉴别开心果的产地。通过提取烘焙后的开心果的水相提取物组成, 共检测到包括有机酸、氨基酸和碳酸化合物在内的 48 种物质。根据 PCA 结果, 意大利开心果和伊朗开心果有显著差异, 与土耳其和叙利亚开心果也差异明显。意大利开心果中含有较高的尿囊素、蔗糖、甘氨酸甜菜碱、苹果酸、柠檬酸、棉籽糖、脯氨酸和尿苷。而伊朗开心果含有较高的甲酸和没食子酸, 其他物质都相比于其他 3 种开心果均含量较低。尽管土耳其和叙利亚开心果相比于其他 2 种开心果, 其核磁谱差异较小, 但两者的 PCA 分析仍呈现显著差异, 这种差异体现在土耳其开心果具有高的乳酸乙酯和没食子酸水平以及较低的琥珀酸、缬氨酸和异亮氨酸水平。这种开心果物质组成的地域差异可应用于开心果的质量控制和原产地保护。又如, MALLAMACE^[9]等利用 NMR 的魔角旋转技术预测樱桃番茄的产地来源。其预测的依据是意大利 Pachino 地区的樱桃番茄具有较高水平的糖分、必要氨基酸和 γ -氨基丁酸, 而脂肪酸和甲醇的含量较低。该研究结果对于 Pachino 樱桃番茄产地保护提供了重要的物质基础。再者, TOMITA^[10]等分析了 5 个品种、2 个不同产地的苹果代谢谱差异。PCA 分析显示 3 个品种 (Fuji-Orin-Jonagold) 和与其他 2 个品种 (Jazz-Envy) 的差异显著, 这种差异体现在蔗糖、葡萄糖和果糖的含量上。如果去除这些糖类的主导影响, 天冬氨酸、2-甲基苹果酸和 *L*-鼠李糖醇等代谢物含量也可作为苹果产地的决定因素, 而且 *L*-鼠李糖醇具有作为苹果产地认证标志化合物的潜力。此外, LEE^[11]等分析了来自中国、日本和韩国的多达 284 种茶叶的 ¹H NMR 谱。经多元统计和定量分析发现, 在这 3 个国家的茶叶中, 韩国 (济州岛) 的茶叶含有最高水平的水平的葡萄糖、蔗糖、表没食子儿茶素-3-没食子酸酯、表儿茶素-3-没食子酸酯、表儿茶素和咖啡因; 中国的绿茶含有最高水平的茶氨酸、丙氨酸和苏氨酸。造成绿茶代谢物地域差异的直接因子来自于环境, 如采摘季节和气候等, 而基于 NMR 的代谢组学方法能明确鉴定环境因子主导的绿茶代谢物组成。

2.2 食品的等级鉴别

基于 NMR 的代谢组学技术也能很好地鉴别不同级别的食物。如 CHO^[12]等利用 NMR 技术和 PCA 方法分析了韩国 4 个级别的松茸代谢谱。PCA 结果显示, 胆碱、海藻糖、苏氨酸、亮氨酸/异亮氨酸、琥珀酸、丙氨酸和延胡索酸的含量差异是造成松茸等级差异的主要原因。如一级松茸中延胡索酸含量较高; 二级松茸中海藻糖、胆碱、琥珀酸和亮氨酸/异亮氨酸的含量相对较高; 三级松茸中苏氨酸和丙氨酸占主导; 而四级松茸中海藻糖和延胡索酸的含量是最大的, 但胆碱、苏氨酸、亮氨酸/异亮氨酸、琥珀酸和丙氨酸的含量却是最少的。经烹饪后, 不同等级松茸仍存在显著的代谢物差异, 如一级和二级松茸含有较少的琥珀酸和海藻糖, 而三级松茸中丝氨酸和丙氨酸的含量较高, 四级松茸中琥珀酸和海藻糖占绝对优势。然而, 研究者并未对上述不同等级松茸之间的代谢物差异做显著性分析, 即差异的代谢物可能并没有在不同等级松茸之间达到显著水平。但这种依据代谢物差异区分松茸等级的方法预示着松茸质量实现客观评价的潜在可能性。KWON^[13]等则对不同等级的咖啡豆进行了分析。结果显示, 哥伦比亚和危地马拉的商品级绿咖啡豆与同样来自哥伦比亚、危地马拉以及布隆迪的特级绿咖啡豆具有明显区分。与商品级相比, 特级绿咖啡豆中的蔗糖含量较高, 而 γ -氨基丁酸、奎宁酸、胆碱、乙酸和脂肪酸的含量较低。这种基于 NMR 物质分析的方法很好地鉴别了绿咖啡豆的级别。而本研究小组已利用 NMR 技术对沿海特色水产加工品——蟹糊进行了研究^[14]。发现不同级别的蟹糊其所含小分子营养物质存在显著差异, 这种差异主要体现在 3A 级蟹糊比 2A 级含有更高水平的亮氨酸、赖氨酸、组氨酸、酪氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、乳酸、二甲胺、1-甲基烟酰胺和 2-吡啶甲醇, 而丝氨酸、丙氨酸、谷氨酸、*N*-乙酰谷氨酸、脯氨酸、胆碱和尿苷的含量相对较低。如 3A 级蟹糊中亮氨酸、赖氨酸和色氨酸的平均浓度比 2A 级高 70% 左右。这些结果指示 3A 级蟹糊在蛋白质质量上优于 2A 级, 但从口味上来讲, 2A 级蟹糊胜过 3A 级。另外, 较高水平的二甲胺标志着 3A 级蟹糊的新鲜度劣于 2A 级。显然, 基于 NMR 的代谢组学技术是一种有效的对水产品进行级别分类和质量评价的方法。

2.3 转基因食品的鉴别

转基因食品的安全性受到各方关注, 如何鉴别转基因食品也成为人们思考的问题。CHOZE^[15]等尝试利用 NMR 的魔角旋转技术来鉴别转基因芸豆。他

们原位采集了转基因芸豆和普通芸豆的代谢谱,经 PCA 分析发现,3 种普通芸豆的代谢谱较相似,但与其各自的转基因芸豆有显著区分。鉴于魔角旋转技术无需预处理,只需加入少量重水用于锁场,而且采集¹H HR-MAS NMR 仅需几分钟,因此该技术是一个简单快速地鉴别转基因芸豆的方法。而 LE GALL^[16]等借助 NMR 分析了转基因对番茄代谢物的影响。结果表明,在同时过表达玉米转录因子 LC 和 C1 后,番茄中的 6 种黄酮甙的含量显著增加,同时包括柠檬酸、蔗糖、苯丙氨酸和葫芦巴碱在内的 15 种代谢物的含量也发生了显著变化,但后者这些物质的显著含量变化实际上并不剧烈,只有小于 3 倍的浓度差异。说明 NMR 技术结合多变量统计学分析方法可检测到转基因对番茄代谢物的细微影响,而且这些差异并非来自转录因子 LC 和 C1 直接相关的代谢途径。

2.4 伪劣产品的鉴别

某些果汁和油等食品中含有特征性化合物如不饱和脂肪和氨基酸等,这些有些物质的含量差异是很难凭借风味、气味或色泽等加以鉴别的,但通过借助代谢组学分析,可清楚地发现掺假或伪劣产品中这种差异。如橙汁掺假是一个比较普遍的现象,其中常混有低廉的西柚汁,从味道或色泽上很难辨别。而且西柚汁含有大量类似于香豆素的类黄酮和 CYP450 抑制剂^[17],这对某些正在药物治疗的消费者可能造成严重的后果。利用基于 NMR 的代谢组学技术,不需要组分分析,只需建立 PCA 模型,就能对掺假果汁实现快速鉴别^[18]。另外,还有人用二次水果提取物掺到水果的原汁中,与原汁相比,二次水果提取物的味更淡更苦,掺杂后降低了果汁的质量。LE GALL^[19]等采用基于 NMR 的代谢组学技术分析了 313 种橙汁,成功鉴别出其中掺有二次水果提取物的橙汁,其鉴别准确率可高达 95%。而且,在掺假橙汁中发现了一个特征性的代谢物指标——二甲基脯氨酸,这使得二次水果提取物掺假鉴别变得更加简便和廉价。

事实上,食品质量还受到食材品种等因素的影响。如 KODA^[20]等鉴别了 5 种芒果品种对芒果汁的物质组成的影响。结果发现这 5 种芒果品种的最大物质差异在于其所含的精氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、莽草酸和葫芦巴碱的含量。又如, SANTUCCI^[21]等研究了苹果汁原料差异对果汁物质组成的影响。结果表明,用新鲜苹果制作的苹果汁含有较高水平的乳酸、柠草酸、苹果酸、绿原酸和甲酸,而冷冻苹果制作的苹果汁含有较高水平的乙醇和苏氨酸。因此,借助

NMR 技术可鉴别不同原料对苹果汁产品的影响。

3 基于 NMR 的代谢组学技术在食品质量控制中的应用

不少食品是由微生物发酵而来,发酵过程中化合物的组成变化是影响发酵食品最终口感和品质的重要因素。基于 NMR 的代谢组学技术在揭示食品发酵过程中的化合物组成变化方面具有独特全局洞察力。例如, KO^[22]等利用该技术分析了酱油在不同陈化年份的代谢特征。酱油中氨基酸和有机酸水平随着陈化年份而提高,而碳酸化合物处于不断的消耗当中。这种物质组成的变化与发酵菌群结构变化密切相关。例如,随着陈化时间不断升高的乳酸水平与嗜盐或耐渗透的乳酸菌的代谢活动相关联。而谷氨酸作为乳酸菌在氨基酸代谢中的一个关键中间产物,也随着酱油陈化时间的延长得以累积。当然,包括谷氨酸在内的氨基酸水平提高也可能归因于微生物对黄豆的蛋白质和多肽的水解作用。此外,作为大多数细菌分解胆碱的代谢产物——甜菜碱,其水平在陈化过程中的持续升高,指示着酱油中耐盐菌甚至嗜盐菌的存在。这种发酵食品的化合物组成变化特征的揭示对于深入理解食品发酵机理和产品质量控制具有非常重要的作用。又如,清麴酱是熟黄豆和稻草混合发酵的产物。CHOI^[23]等分析了不同发酵时期清麴酱的化合物组成,发现清麴酱的物质组成随着发酵时间的延长发生了显著变化,各发酵阶段的差异物质主要包括:亮氨酸/异亮氨酸、乳酸、乙酸、柠檬酸、胆碱、果糖、葡萄糖和蔗糖。这种物质差异对于确定最佳发酵时间和控制清麴酱的质量具有指导意义。

除了发酵食品,其他食品的养殖期、采摘期和农作方式等也同样影响着食品的质量。本研究小组曾就养殖时间对鸭肉肉质的营养物质组成进行了分析^[24],结果发现,4 个不同养殖期(27、50、170 和 270 d)的鸭肉的代谢谱均存在显著差异。尽管乳酸和鹅肌肽水平随着养殖期显著升高,但延胡索酸、甜菜碱、牛磺酸、肌苷和烷基取代的自由氨基酸水平却显著下降。这些化合物的变化影响着鸭肉的质量和口感,综合考虑肉的色泽、老嫩程度、持水能力及营养价值,养殖 50 d 的鸭子是最佳养殖时间。其他研究者如 GALLO^[25]等研究了农作方式对鲜食葡萄物质组成的影响。结果发现,受农作方式影响最大的物质包括葡萄糖、果糖、精氨酸和乙醇。对优质无核葡萄而言,有机农作方式种植的葡萄含有更多的糖,具有更高的

糖-酸比。而对红地球和意大利 2 个葡萄品种而言,农作方式更多的影响了葡萄糖-果糖比以及精氨酸和乙醇的含量。而 MASETTI^[26]等把基于 NMR 的代谢组学技术应用于生长季节对樱桃番茄脂类化合物的影响。季节显著影响了 2 个番茄品种的脂类组成,对 Naomi 品种影响最大的是 α -生育酚和不饱和脂含量,对 Shiren 品种影响最大的是叶绿素和磷脂含量。IGLESIAS^[27]等和 WATANABE^[28]等也对番茄进行了分析,但前者关注的是番茄的品种、栽培方式和采收日期对其 NMR 代谢谱的影响;而后者关注施肥方式对番茄代谢谱的影响。此外,还有研究者把基于 NMR 的代谢组学技术应用在可可豆的地域差异及其在不同发酵阶段的物质差异^[29]、多种地中海水果产品的物质差异^[30]和油菜的品种和地域差异^[31]等。

4 基于 NMR 的代谢组学技术在食品存贮和加工中的应用

在摆上消费者餐桌之前,食品往往被存贮和加工。为了解存贮和加工过程中食品的品质变化,人们采用多种方法对食品进行分析。其中,基于 NMR 的代谢组学技术已被不少研究者认可和应用。例如,PIRAS^[32]等利用该技术研究了冷冻保藏和干腌加工对生鲮鱼鱼籽低分子量代谢谱的影响。发现在 -20℃ 下冻存期的前 6 个月,其代谢谱没有显著差异;但在冻存到 12 个月时,鱼籽中的胆碱衍生物、二甲胺、乳酸和大部分自由氨基酸水平发生了显著变化。而腌制和干燥加工可导致胆碱衍生物、尿嘧啶和自由氨基酸水平的显著提高,同时可引起牛磺酸、葡萄糖、乳酸和肌酸/磷酸肌酸水平的大量下降。这些物质的变化可能是由于脂肪和蛋白质降解所导致的。本研究小组已利用基于 NMR 的代谢组学技术分析了加工对条斑紫菜产品——海苔的营养物质组成的影响^[33]。通过测定条斑紫菜原材料、半成品和成品的水相提取物中的化合物组成,发现调味品毫无意外地导致了成品中蔗糖、葡萄糖和谷氨酸的显著提高,分别上升到 (38.67 ± 4.91) 、 (4.22 ± 0.55) 和 (17.60 ± 1.93) mg/g。然而,其他加工方式如清洗和烘培可能引起自由氨基酸(包括丙氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸和甘氨酸)、有机羧酸(包括 6-脱氧-抗坏血酸、2-氧代-5-氨基缬草酸、2-羟基-5-氨基缬草酸、牛磺酸和羟乙基磺酸)、胆碱及其代谢物(胆碱-O-硫酸和甜菜碱)和海带醇含量的显著下降。这些结果提供了加工对紫菜产品营养组成影响的信息,NMR 技术对于

人们认识和调控海苔的质量和口味具有重要价值。又如,ZANARDI^[34]等研究了辐照对牛肉代谢谱的影响。结果发现,鉴别辐照和非辐照牛肉的重要指标物质是甘油、乳酸酯、酪胺和一个 *p*-取代的酚化合物。这种基于指标物质鉴别辐照牛肉的方法比目前官方正采用的分析方法更便捷。

5 基于 NMR 的代谢组学技术在鉴别和预测食品味道中的应用

NMR 代谢指纹包含的多种小分子化合物与各种味觉紧密相关,因此 NMR 波谱学技术被作为一个非常有用的“磁舌”对食品的味道进行特征化和预测。如 WEI^[35]等利用基于 NMR 的代谢组学技术和多变量统计方法对多种咖啡豆的味道进行了预测,结果显示,摩卡咖啡的酸味最强,淡味咖啡、克里曼加罗咖啡和焦炒咖啡的酸味依次减小。焦炒咖啡的味道最苦,克里曼加罗咖啡、淡味咖啡和焦炒咖啡的苦味依次减小。这种客观的预测结果与传统的感官测试完全吻合。跟人类的舌头相比,基于 NMR 的感官预测具有明显的优势,如更快速、更准确、更客观、更便宜。这种技术优势可更清楚地揭示食品的质量。然而,“磁舌”也存在明显的缺陷,它不能像人的舌头一样准确感知某一化合物的味道,它预测食品的味道仅仅通过抓住化合物组分的含量变化,这意味着那些含量没有变化的组分是被忽略了,但是这些组分可能对食品的味道具有相当重要的贡献。同时,多变量统计分析会把变化相同的化学组分设为既定的味觉指标,如苦味,而不管这些化合物是否真的是苦的。

6 展望

基于 NMR 的代谢组学技术是一个在分子水平系统分析食品组分的组学方法,它让食品组分分析变得更加细致。然而,该方法仍然受到技术上的限制,目前仅能检测到食品中大约十分之一的代谢物,如能提高测定物质的宽度和广度,将更有利于食品科学的研究。事实上,食品研究者已经意识到这个问题,他们利用各种技术的特点,如 NMR 较适合检测高丰度极性代谢物,而 GC-MS 或者 LC-MS 更适合测定低丰度非极性或半极性代谢物^[36],因而采用 NMR 与 MS 联用技术以拓宽代谢物检测的覆盖面。如 SET-TACHAIMONGKON^[37]等利用 NMR 与 GC-MS 联用技术分析了酸奶发酵过程中蛋白质水解细菌的互作对微生物生长、酸化和物质组成的影响。结果发现,

NMR 与 GC-MS 可分别测定酸奶中的 43 种非挥发性和 35 种挥发性极性代谢物,两种技术获得的代谢物信息可互相补充,因此能检测到了比单一技术更多的物质信息。又如,SOININEN^[38] 等采用 NMR 和 HPLC-MS 联用技术分析了几种葱科植物的代谢物差异。结果表明,中国的洋葱含有最高水平的果糖和低聚果糖,而这些物质在德国长葱中的含量最低。延胡索酸在法国韭菜中含量相对较高,而黄酮醇却相对较低。而且黄洋葱含有最高水平的氨基酸,而红洋葱最低。该研究表明 NMR 和 HPLC-MS 联用技术可有效地定性和定量分析葱科植物中绝大部分的高丰度代谢物。

此外,随着越来越多的食品的代谢物 NMR 波谱数据得到解析,期待在不久的将来能建成食品的代谢组数据库,并能将数据库公共化,最终为研究者、企业或政府进行食品质量评价和控制提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] NICHOLSON J K, LINDON J C. Systems biology: metabolomics[J]. *Nature*, 2008, 455(7216): 1 054 - 1 056.
- [2] LENZ E M, WILSON I D. Analytical strategies in metabolomics[J]. *Journal of Proteome Research*, 2007, 6(2): 443 - 458.
- [3] HU F, FURIHATA K, KATO Y, et al. Nondestructive quantification of organic compounds in whole milk without pretreatment by two-dimensional NMR spectroscopy[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(11): 4 307 - 4 311.
- [4] RODRIGUES J E A, ERNY G L, BARROS A S, et al. Quantification of organic acids in beer by nuclear magnetic resonance (NMR)-based methods[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 674(2): 166 - 175.
- [5] PREMA D, TURNER T D, Jensen J, et al. Rapid determination of total conjugated linoleic acid concentrations in beef by ¹H NMR spectroscopy[J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015, 41: 54 - 57.
- [6] BRESCIA M A, CALDAROLA V, DE GIGLIO A, et al. Characterization of the geographical origin of Italian red wines based on traditional and nuclear magnetic resonance spectrometric determinations[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 458(1): 177 - 186.
- [7] FOTAKIS C, CHRISTODOULEAS D, KOKKOTOU K, et al. NMR metabolite profiling of Greek grape marc spirits[J]. *Food Chemistry*, 2013, 138(2): 1 837 - 1 846.
- [8] SCIUBBA F, CAPUANI G, DI COCCO M E, et al. Nuclear magnetic resonance analysis of water soluble metabolites allows the geographic discrimination of pistachios (*Pistacia vera*) [J]. *Food Research International*, 2014, 62: 66 - 73.
- [9] MALLAMACE D, CORSARO C, SALVO A, et al. A multivariate statistical analysis coming from the NMR metabolic profile of cherry tomatoes (The Sicilian Pachino case) [J]. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 2014, 401: 112 - 117.
- [10] TOMITA S, NEMOTO T, MATSUO Y, et al. A NMR-based, non-targeted multistep metabolic profiling revealed L-rhamnitol as a metabolite that characterised apples from different geographic origins[J]. *Food Chemistry*, 2015, 174: 163 - 172.
- [11] LEE J E, LEE B J, CHUNG J O, et al. Metabolomic unveiling of a diverse range of green tea (*Camellia sinensis*) metabolites dependent on geography[J]. *Food Chemistry*, 2015, 174: 452 - 459.
- [12] CHO I H, KIM Y S, CHOI H K. Metabolomic discrimination of different grades of pine-mushroom (*Tricholoma matsutake* Sing.) using ¹H NMR spectrometry and multivariate data analysis[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43(3): 900 - 904.
- [13] KWON D J, JEONG H J, MOON H, et al. Assessment of green coffee bean metabolites dependent on coffee quality using a ¹H NMR-based metabolomics approach[J]. *Food Research International*, 2015, 67: 175 - 182.
- [14] YE Y F, ZHANG L M, TANG H R, et al. Survey of nutrients and quality assessment for crab paste by ¹H NMR spectroscopy and multivariate data analysis[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, 57(25): 3 353 - 3 362.
- [15] CHOZE R, ALCANTARA G B, ALVES FILHO E G, et al. Distinction between a transgenic and a conventional common bean genotype by ¹H HR-MAS NMR[J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(3): 2 841 - 2 847.
- [16] LE GALL G, COLQUHOUN I J, DAVIS A L, et al. Metabolite profiling of tomato (*Lycopersicon esculentum*) using ¹H NMR spectroscopy as a tool to detect potential unintended effects following a genetic modification [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003, 23; 51(9): 2 447 - 2 456.
- [17] GIRENNAVAR B, POULOSE S M, JAYAPRAKASHA G K, et al. Furocoumarins from grapefruit juice and their effect on human CYP 3A4 and CYP 1B1 isoenzymes[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2006, 14(8): 2606 - 2612.
- [18] CUNY M, LE GALL G, COLQUHOUN I J, et al. Evolving window zone selection method followed by independent component analysis as useful chemometric tools to discriminate between grapefruit juice, orange juice and blends [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 597: 203e213.
- [19] LE GALL G, PUAUD M, COLQUHOUN I J. Discrimination between orange juice and pulp wash by ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy: Identification of marker compounds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemis-*

- try, 2001, 49(2): 580–588.
- [20] KODA M, FURIHATA K, WEI F, et al. Metabolic discrimination of mango juice from various cultivars by band-selective NMR spectroscopy [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(5): 158–166.
- [21] SANTUCCI C, BRIZZOLARA S, TENORI L. Comparison of frozen and fresh apple pulp for NMR-based metabolomic analysis [J]. *Food Analytical Methods*, 2015: 1–6.
- [22] KO B K, AHN H J, VAN DEN BERG F, et al. Metabolomic insight into soy sauce through ^1H NMR spectroscopy [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(15): 6862–6870.
- [23] CHOI H-K, YOON J-H, KIM Y-S, et al. Metabolomic profiling of Cheonggukjang during fermentation by ^1H NMR spectrometry and principal components analysis [J]. *Process Biochemistry*, 2007, 42: 263–266.
- [24] LIU C L, PAN D D, YE Y F, et al. ^1H NMR and multivariate data analysis of the relationship between the age and quality of duck meat [J]. *Food Chemistry*, 2013, 141(2): 281–286.
- [25] GALLO V, MASTRORILLI P, CAFAGNA I, et al. Effects of agronomical practices on chemical composition of table grapes evaluated by NMR spectroscopy [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2014, 35(1): 44–52.
- [26] MASETTI O, CIAMPA A, NISINI L, et al. Cherry tomatoes metabolic profile determined by ^1H -high resolution-NMR spectroscopy as influenced by growing season [J]. *Food Chemistry*, 2014, 162: 215–222.
- [27] IGLESIAS M J, LÓPEZ J G, LUJÁN J F C, et al. Effect of genetic and phenotypic factors on the composition of commercial marmande type tomatoes studied through HR-MAS NMR spectroscopy [J]. *Food Chemistry*, 2014, 142: 1–11.
- [28] WATANABE M, OHTA Y, LICANG S, et al. Profiling contents of water-soluble metabolites and mineral nutrients to evaluate the effects of pesticides and organic and chemical fertilizers on tomato fruit quality [J]. *Food Chemistry*, 2015, 169: 387–395.
- [29] CALIGIANI A, PALLA L, ACQUOTTI D, et al. Application of ^1H NMR for the characterisation of cocoa beans of different geographical origins and fermentation levels [J]. *Food Chemistry*, 2014, 157: 94–99.
- [30] ROSA A, ATZERI A, DEIANA M, et al. Comparative antioxidant activity and ^1H NMR profiling of mediterranean fruit products [J]. *Food Research International*, 2015, 69: 322–330.
- [31] KORTESNIEMI M, VUORINEN A L, SINKKONEN J, et al. NMR metabolomics of ripened and developing oilseed rape (*Brassica napus*) and turnip rape (*Brassica rapa*) [J]. *Food Chemistry*, 2015, 172: 63–70.
- [32] PIRAS C, SCANO P, LOCCI E, et al. Analysing the effects of frozen storage and processing on the metabolite profile of raw mullet roes using ^1H NMR spectroscopy [J]. *Food Chemistry*, 2014, 159: 71–79.
- [33] YE Y F, YANG R, LOU Y J, et al. Effects of food processing on the nutrient composition of *Pyropia yezoensis* products revealed by NMR-based metabolomic analysis. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2014, 2(10): 749–756.
- [34] ZANARDI E, CALIGIANI A, PALLA L, et al. Metabolic profiling by ^1H -NMR of ground beef irradiated at different irradiation doses [J]. *Meat Science*, 2015, doi: 10.1016/j.meatsci.2015.01.005.
- [35] WEI F, FURIHATA K, MIYAKAWA T, et al. A pilot study of NMR-based sensory prediction of roasted coffee bean extracts [J]. *Food chemistry*, 2014, 152(2): 363–369.
- [36] WISHART D S. Metabolomics: applications to food science and nutrition research [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2008, 19(9): 482–493.
- [37] SETTACHAIMONGKON S, NOUT M J R, FERNANDES ECA, et al. Influence of different proteolytic strains of *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on the metabolite profile of set-yoghurt [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 177(5): 29–36.
- [38] SOININEN T H, JUKARAINEN N, AURIOLA S O K, et al. Quantitative metabolite profiling of edible onion species by NMR and HPLC-MS [J]. *Food Chemistry*, 2014, 165(20): 499–505.

Application of NMR-based metabolomic technique on the food science

CHEN Dai-an, YE Yang-fang*

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

ABSTRACT NMR-based metabolomic technique is an emerging method in the “omics” research. It focuses on high-throughput characterization of all small molecule metabolites in biological matrices. However, it also works powerfully in the compositional analyses of food. In this paper, the recent applications of NMR-based metabolomic technique on the food science were reviewed.

Key words nuclear magnetic resonance (NMR); metabolomics; food science