

李爱科、慕文涛研究员主持“粮食品质提升与营养改善”专栏文章之一

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.05.014

张东, 黄珊珊, 段晓亮, 等. 基于高分辨质谱的稻谷游离脂质和淀粉结合脂质轮廓分析[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(5): 118-125.

ZHANG D, HUANG S S, DUAN X L, et al. Profile analysis of free lipids and starch binding lipids in rice based on high resolution mass spectrometry[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(5): 118-125.

# 基于高分辨质谱的稻谷游离脂质和 淀粉结合脂质轮廓分析

张东, 黄珊珊, 段晓亮, 孙辉✉

(国家粮食和物资储备局科学研究院 粮食品质营养研究所, 北京 102629)

**摘要:** 以我国东北地区4个品种稻谷为研究对象, 基于高分辨质谱开展游离脂质和淀粉结合脂质轮廓分析。从4个品种稻谷中共检测出371种游离脂质(包括甘油磷脂、甘油酯、神经酰胺、脂肪酸)和14种淀粉结合脂质(磷脂)。偏最小二乘法-判别分析(PLS-DA)结果显示, 四种稻谷可以通过游离脂质和淀粉结合脂质被区分开。研究结果为揭示稻谷脂质组成和脂质分析提供技术支持。

**关键词:** 稻谷; 游离脂质; 淀粉结合脂质; 高分辨质谱

中图分类号: TS207; S-3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)05-0118-08

网络首发时间: 2023-09-08 15:36:36

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.3863.ts.20230907.1933.008>

## Profile Analysis of Free Lipids and Starch Binding Lipids in Rice Based on High Resolution Mass Spectrometry

ZHANG Dong, HUANG Shan-shan, DUAN Xiao-liang, SUN Hui✉

(Institute of Grain Quality and Nutrition Research, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 102629, China)

**Abstract:** Four varieties in Northeast China rice were used as research materials, and starch bound lipids and free lipids in the rice were detected based on high-resolution mass spectrometry. A total of 371 types of free lipids (including glycerol phospholipids, glycerol esters, ceramides, and fatty acids) and 14 types of starch bound lipids (phospholipids) were detected from the four varieties of rice. The partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) results showed that the four different varieties of rice grains can be distinguished by starch bound lipids and free lipids. The results of this study provide technical support for revealing the lipid composition and lipid analysis of rice.

**Key words:** paddy; free lipids; starch bound lipids; high-resolution mass spectrometry

收稿日期: 2023-05-16

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFE0117800)

Supported by: National Key Research and Development Program of China (No. 2022YFE0117800)

作者简介: 张东, 男, 1982年出生, 硕士, 副研究员, 研究方向为脂质化学与油脂品质。E-mail: zd@ags.ac.cn

通讯作者: 孙辉, 女, 1971年出生, 博士, 研究员, 院总工程师, 兼本刊主编, 研究方向为粮食品质与标准。E-mail: sh@ags.ac.cn。

作者详细介绍见 PC7。

我国是世界上第一大稻谷生产国,有近30%的人口以稻谷为主食<sup>[1-2]</sup>。脂质是稻谷的重要营养成分之一,根据其 与淀粉的关系分为游离脂质和淀粉结合脂质<sup>[3]</sup>。淀粉结合脂质是指与淀粉结合的单酰基脂类,主要分布在成熟籽粒的胚乳中,与直链淀粉相互交错连接,包括磷脂和脂肪酸等<sup>[4]</sup>;游离脂质以脂肪球体的形式存在,主要分布在糊粉层、胚芽和内胚乳中,包括甘油酯类(甘油三酯、甘油二酯和甘油一酯等)和甘油磷脂类(磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油等)<sup>[5]</sup>。根据品种、栽培环境等的不同,稻谷中的脂质在种类和含量上有所不同<sup>[6]</sup>。

薄层色谱法(TLC)、液质联用技术(LC-MS)、高效液相色谱-蒸发光散射法(HPLC-ELSD)、核磁共振谱法(<sup>31</sup>P-NMR)等是研究脂质常用的技术<sup>[7]</sup>。但随着质谱技术的发展,如电喷雾电离串联质谱(ESI-MS/MS)、基质辅助激光解吸-飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)、四极杆-轨道阱(Exactive Orbitrap)质谱以及质谱成像技术,这些技术广泛应用于脂质检测当中<sup>[8]</sup>。本文基于高分辨轨道阱质谱技术对我国东北地区4个品种稻谷中游离脂质和淀粉结合脂质进行分析,为稻谷脂质检测提供新思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试剂与材料

脂质标准品包括甘油酯(TG 18:1)、甘油二酯(DG 18:1)、神经酰胺(Cer d18:1/18:0)、二十二碳六烯酸(DHA)、磷脂酰胆碱(PC 16:0/18:1)、磷脂酰乙醇胺(PE 18:1/16:0)、磷脂酰甘油(PG 14:0)、溶血磷脂酰胆碱(LPC 18:1、LPC 16:0)、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE 16:0、LPE 18:1)、溶血磷脂酰甘油(LPG 18:0):美国Sigma-Aldrich公司;色谱级三氯甲烷、甲醇、乙腈、异丙醇:美国Fisher有限公司;超纯水:由Milli-Q超纯水处理系统制得;其他分析级化学品:北京化学试剂公司。

### 1.2 仪器与设备

超高效液相色谱-轨道阱质谱仪(UPLC-Q-Exactive Orbitrap):美国热电公司。

### 1.3 稻谷样品

新鲜稻谷:五优稻4号,来自哈尔滨市五常市;绥粳18,来自绥化市庆安县、牡丹江和哈尔滨市尚志市;龙粳31,来自绥化市北林区、牡丹江和哈尔滨市依兰县;龙稻18,来自绥化市兰西县、牡丹江和哈尔滨市延寿县。清理干净后的稻谷经FSE28型小砬谷机脱壳,再用3100型实验室旋风粉碎磨成粉后进行脂质提取。

### 1.4 游离脂质提取

称取0.15 g米粉于玻璃管中,加入2 mL含有200 mg/L 2,6-二叔丁基对甲酚的三氯甲烷:甲醇(2:1, v/v)混合溶液。水平振荡60 min提取游离脂质,分离后收集上层溶液,残余物再萃取两次。将上述三次萃取得到的上层溶液混合,加入1 mL超纯水以去除蛋白质。10 000 r/min离心10 min,将下相完全转移至另一个干净的玻璃管中并在氮气流下干燥。将残余物重新溶解在200  $\mu$ L三氯甲烷:甲醇(2:1, v/v)中,0.22  $\mu$ m有机相滤膜过滤。负离子扫描模式下,溶液直接进行UPLC-Q-Exactive Orbitrap质谱分析;正离子扫描模式下,溶液稀释三倍进行UPLC-Q-Exactive Orbitrap质谱分析。

### 1.5 淀粉结合脂质提取

第一步:去除游离脂质。称取0.5 g米粉于玻璃管中,加入5 mL三氯甲烷/甲醇(2:1, v/v),水平振荡20 min,分离后弃上相,再加入5 mL三氯甲烷/甲醇进行萃取。上述过程重复三次,得到的残余物用于下一步操作。

第二步:淀粉结合脂质提取。第一步中的大米残余物加入8 mL正丙醇:水(75:25, v/v),在沸水浴中提取2 h,取上清液。再加入8 mL 75%正丙醇沸水浴中提取1 h,取上清液。将两次提取的上清液混合,用75%正丙醇稀释至15 mL。最后,取1 mL溶液用0.22  $\mu$ m有机相滤膜过滤至液相小瓶中进行UPLC-Q-Exactive Orbitrap质谱分析。

### 1.6 仪器方法

#### 1.6.1 液相色谱参数

色谱柱型号: Cortecs C18 (100  $\times$  2.1 mm,

1.7  $\mu\text{m}$ ); 流动相 A 为乙腈 : 水 (64 : 40, 10 mmol 甲酸铵)、流动相 B 为异丙醇 : 乙腈 (90 : 10, 10 mmol 甲酸铵); 柱温为 40  $^{\circ}\text{C}$ ; 柱温箱和样品盘分别为 40  $^{\circ}\text{C}$  和 10  $^{\circ}\text{C}$ ; 流动相流速为 0.2 mL/min; 进样量为 1  $\mu\text{L}$ 。流动相梯度洗脱条件见表 1。

表 1 梯度洗脱条件  
Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	63	37
20	2	98
28	2	98
28.1	63	37
35	63	37

### 1.6.2 质谱参数

利用 Q-Exactive Orbitrap 质谱仪进行正、负离子模式采集, 扫描范围为  $m/z$  240~2 000, 采用数据依赖的 MS/MS 采集。全扫描和碎片扫描的分辨率分别为 70 000 和 17 500。离子源参数设置如下: 喷雾电压 3 000 V, 毛细管温度 320  $^{\circ}\text{C}$ , 加热器温度 300  $^{\circ}\text{C}$ , 鞘气流速为 35 Arb, 辅助气体流速为 10 Arb。进样量 1  $\mu\text{L}$ 。数据分析和脂质鉴定采用 LipidSearch 软件 V4.2.23 进行。所有脂质鉴定均按 MS1 和 MS2 进行, 其中 MS1 质量误差 < 5 ppm, MS2 质量误差 < 8 ppm。排除  $m$  评分 < 10 以及峰面积 <  $1e^5$  的脂质。基于高分辨率的 Orbitrap/MS, 利用酰基链和头基的特征产物离子确定鉴定的稻谷脂质结构, 提取脂质目标离子, 实现对脂质分子的定性和定量分析。

### 1.7 脂质定量

采用外标法定量分析五优稻 4 号、绥粳 18、龙粳 31、龙稻 18 的游离脂质包括: 磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰甘油 (PG)、溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE)、溶血磷脂酰甘油 (LPG)、脂肪酸 (FA)、甘油三酯 (TG)、甘油二酯 (DG)、神经酰胺 (Cer); 淀粉结合脂质包括: 溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE)、溶血磷脂酰甘油 (LPG)。使用 Xcalibur V4.0.27.19 软件提取脂质峰面积。利用校准曲线计算各脂质的浓度, 用各脂质浓度之和得到同一亚类脂质的浓度。

### 1.8 数据分析

所有实验结果以均值  $\pm$  标准差 ( $n = 3$ ) 表示, 使用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析 (ANOVA) 检验显著性差异 ( $P < 0.05$ )。使用 Xcalibur 4.0.27.19 软件采集和分析脂质数据, 并基于 LipidSearch 数据库进行脂质鉴定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 稻谷中脂质分子的定性

采用基于 UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS 的非靶向脂质组学方法, 研究了五优稻 4 号、绥粳 18、龙粳 31、龙稻 18 的脂质分子。脂质进入质谱后, 正电离模式下主要生成  $[\text{M} + \text{H}]^+$  和  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ , 负电离模式下主要生成  $[\text{M} - \text{H}]^-$  和  $[\text{M} + \text{CH}_3\text{COO}]^-$ 。利用 MS/MS 碎片信息, 可以进一步确认脂质分子。例如, DG 和 TG 在正电离模式下产生  $[\text{FA} - \text{H} + \text{NH}_4]$  的中性丢失。PE、PG 在正电离模式下产生 141.0 Da 和 189.0 Da 的中性丢失 (NL), PC 在正电离模式下一般形成磷酸化胆碱 ( $m/z$  184.1), 而在负离子模式下提供脂肪酰基链信息 ( $[\text{FA} - \text{H}]^-$ )。溶血甘油磷脂的 (LPC、LPE、LPG) 与 PC、PE、PG 具有相似的电离模式。羟基氧化脂肪酸 (OAHFA) 在负电离模式下产生  $[\text{FA} - \text{H}]^-$  的碎片离子。单半乳糖二酰基甘油 (MGDG)、双半乳糖二酰基甘油 (DGDG) 和硫代异鼠李糖基甘油二酯 (SQDG) 分别以正 ( $[\text{FA} + 57]^+$ ) 和负 ( $[\text{FA} - \text{H}]^-$ ) 电离模式提供了脂酰链信息。Cer 在正电离过程中脱水, 生成  $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$ 、 $[\text{SPH}(\text{FA}) - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$  和  $[\text{SPH}(\text{FA}) - 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$  (SPH 为鞘氨醇)。在负离子模式下, Cer 产生 282.3 Da 和 256.2 Da 的中性丢失。其他脂质分子在正离子模式下主要生成  $[\text{M} + \text{H} - \text{NL}]^+$  或  $[\text{M} + \text{NH}_4 - \text{NL}]^+$  的产物离子。此外, 结合保留时间、质量误差、离子强度比和同位素信息对脂质进行鉴定。

以甘油三酯鉴定为例, 本实验中流动相加入了甲酸铵, 因此甘油三酯分子注入 MS 后主要生成正电离模式下的前体离子  $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$ , 利用 MS/MS 碎片信息, 可以进一步确认甘油三酯分子, 有研究发现, 对甘油三酯进行二级质谱检测时,  $sn$ -2 位脂肪酸对应碎片的丰度最低,  $sn$ -1 位和  $sn$ -3 位

脂肪酸对应的碎片丰度较高且大致相同<sup>[9]</sup>。如图 1 和图 2 所示, 在正离子 MS/MS 扫描模式下, 检测到  $m/z$  900.801 5, 通过与数据库匹配, 该信号被确定为 TG(54:5)的铵加合离子 ( $[M + NH_4]^+$ ), 同时检测到碎片离子  $m/z$  599.501 1 和  $m/z$  601.521 5, 这两个离子碎片分别为  $m/z$  900.801 5 中性丢失  $[FA(18:1)-H+NH_4]$  和  $[FA(18:2)-H+NH_4]$  所得, 说明该 TG 分子的骨架结构中包括油酸和亚油酸, 质谱图中亚油酸的丰度较高, 说明甘油

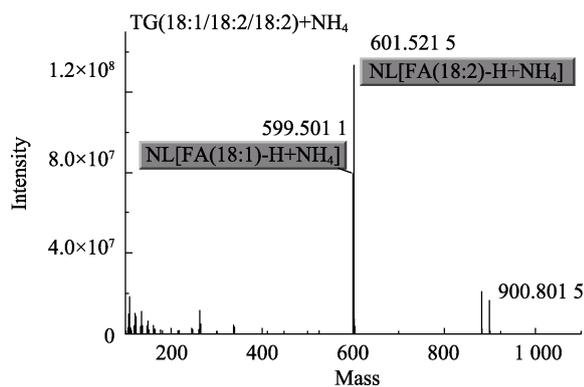


图 1 甘油三酯正离子模式下的质谱图  
Fig.1 Mass spectra of TG in positive mode

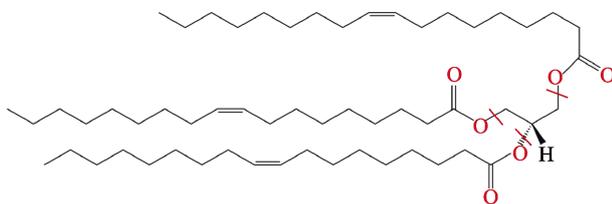


图 2 TG 的代表性化学结构和碎片。红线表示在正离子模式下产生的碰撞诱导的碎片。

Fig.2 Representative chemical structures and fragmentation of TG. Red lines displays collision induced fragments generated in positive mode

三酯骨架结构中含有两个亚油酸酰基, 因此,  $m/z$  900.801 5 代表  $[TG(18:1/18:2/18:2)+NH_4]^+$ , 其余甘油三酯均依照此方式进行定性。

## 2.2 稻谷中游离脂质和淀粉结合脂质的组成

本研究中, 针对游离脂质, 负离子模式下检测到了双半乳糖二酰基甘油 (DGDG)、双半乳糖单酰基甘油 (DGMG)、单半乳糖二酰基甘油 (MGDG)、硫代异鼠李糖基甘油二酯 (SQDG)、脂肪酸 (FA)、羟基氧化脂肪酸 (OAHFA)、磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰甘油 (PG)、磷脂酰肌醇 (PI)、磷脂酸 (PA)、溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE)、溶血磷脂酰甘油 (LPG)、心磷脂 (CL)、单溶心磷脂 (MLCL) 和神经酰胺 (Cer); 正离子模式下检测到了甘油三酯 (TG)、甘油二酯 (DG)、双半乳糖二酰基甘油 (DGDG)、双半乳糖单酰基甘油 (DGMG)、单半乳糖二酰基甘油 (MGDG)、硫代异鼠李糖基甘油二酯 (SQDG)、磷脂酰胆碱 (PC)、磷脂酰乙醇胺 (PE)、磷脂酰甘油 (PG)、磷脂酰肌醇 (PI)、磷脂酸 (PA)、溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、鞘磷脂 (SM)、鞘氨醇 (SPH)、神经酰胺 (Cer) 和己糖基神经酰胺 (Hex1Cer、Hex2Cer、Hex3Cer) 等游离脂质。对正离子和负离子模式下检测到的相同游离脂质分子进行整合后, 共检测到甘油磷脂、甘油酯、神经酰胺和脂肪酸 4 类 16 亚类的 371 种脂质分子。在鉴定出的游离脂质中, 根据脂质分子的数量, 以甘油磷脂类和甘油酯类为主 (如图 3A 所示)。Wang 等<sup>[10]</sup>

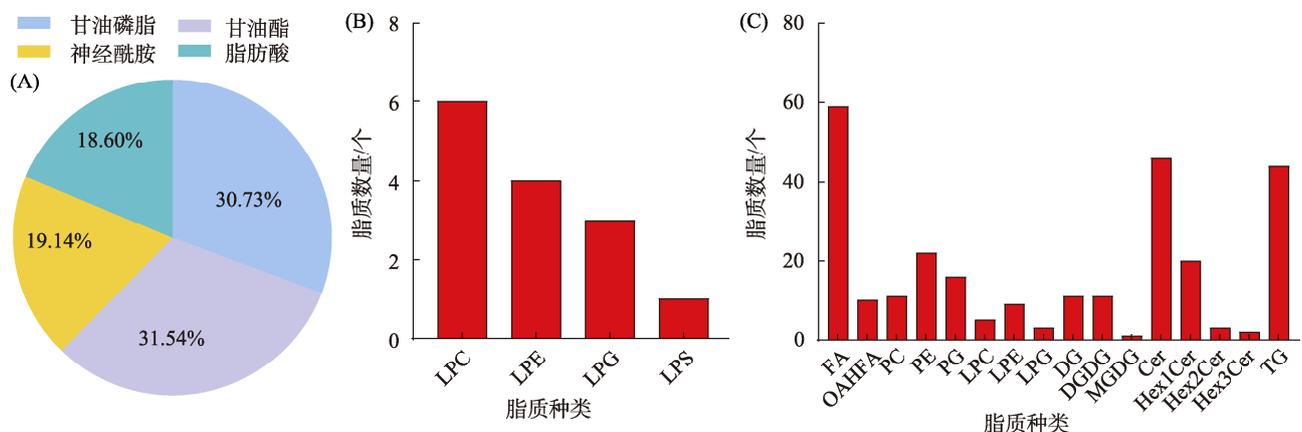


图 3 (A) 游离脂质中各类脂质的百分比; (B) 淀粉结合脂质亚类的数量; (C) 游离脂质亚类的数量  
Fig.3 (A) Percentage of various lipids in free lipids; (B) Number of starch bound lipid subclasses; (C) Number of free lipid subclasses

在过热蒸汽处理的荞麦中利用基于质谱的脂质组学方法检测到了 23 种脂质分子。针对淀粉脂质，共检测到溶血磷脂酰胆碱 (LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺 (LPE)、溶血磷脂酰甘油 (LPG) 和磷脂酰丝氨酸 (LPS) 4 亚类 14 种脂质分子。对稻谷中检测到的游离脂质和淀粉结合脂质亚类数量进行分析，发现在游离脂质亚类中，TG、FA 和 Cer 是稻谷中数量最多的脂质 (如图 3B 和 3C 所示)。

### 2.3 稻谷中脂质分子的定量

将各类脂质标准溶液浓度按从低到高的顺序

依次进样，每个浓度重复进样 3 次，以各类脂质分子的峰面积平均值为纵坐标，浓度为横坐标，绘制标准曲线。各类脂质对应的线性方程、相关系数、线性范围的详细信息见表 2。在一定浓度范围内，回归系数均大于 0.99，表明线性关系良好。对含量较多的脂质进行定量，包括 FA、OAHFA、PC、PE、PG、LPC、LPE、LPG、DG、DGDG、MGDG、Cer、Hex1Cer、Hex2Cer、Hex3Cer、TG 等 16 类游离脂质和 LPC、LPE、LPG 等 3 类淀粉结合脂质。

表 2 UPLC-Extractive Orbitrap 质谱仪标准品的线性方程

Table 2 Linear equations for standards by UPLC-Extractive Orbitrap mass spectrometer

脂质	定量离子	m/z	线性方程	R <sup>2</sup>	线性范围/(μg/mL)
TG 18:1	[M + H] <sup>+</sup>	886.433 0	Y = 9.441 07e8X + 1.124 9e7	0.993 4	0.005~0.2
DG 18:1	[M + H] <sup>+</sup>	621.990 1	Y = 8.219 55e7X + 655 799	0.998 7	0.005~50
Cer d18:1/18:0	[M + H] <sup>+</sup>	566.545 6	Y = 1.688 89e8X + 43 949.8	0.994 5	0.001~20
DHA	[M - H] <sup>-</sup>	327.233 0	Y = 1.034 37e8X - 330 765	0.995 6	0.005~5
PC 16:0/18:1	[M + CH <sub>3</sub> COO] <sup>-</sup>	818.591 7	Y = 2.721 2e7X - 180 170	0.993 8	0.01~50
PE 18:1/16:0	[M - H] <sup>-</sup>	716.523 6	Y = 6.867 09e7X - 70 285.2	0.990 2	0.01~50
PG 14:0	[M - H] <sup>-</sup>	687.350 1	Y = 8.477 59e7X - 2.240 49e7	0.999 0	0.5~20
LPC 18:1	[M - H] <sup>-</sup>	520.355 4	Y = 3.029 14e7X - 8.160 76e6	0.998 9	0.5~50
LPE 16:0	[M - H] <sup>-</sup>	452.278 3	Y = 8.093 37e7X - 2.736 89e7	0.997 1	0.5~50
LPG 18:0	[M - H] <sup>-</sup>	511.303 1	Y = 3.101 81e7X - 5.174 26e7	0.991 6	2~100
LPC 16:0	[M + H] <sup>+</sup>	496.339 8	Y = 1.306 42e8X - 393 897	0.998 6	0.05~50
LPE 18:1	[M + H] <sup>+</sup>	480.293 9	Y = 7.250 24e7X - 3.560 84e6	0.995 7	0.1~20
LPG 16:0	[M + H] <sup>+</sup>	485.272 8	Y = 9.303 64e6X - 2.376 39e6	0.992 3	0.5~100

### 2.4 四种稻谷中的游离脂质和淀粉结合脂质

四种稻谷中的游离脂质和淀粉结合脂质含量

见表 3 和表 4。

表 3 四种稻谷中游离脂质的含量

Table 3 The content of free lipids in four rice varieties

脂质种类	绥粳 18	龙粳 31	龙稻 18	五优稻 4 号
Cer	6.80 ± 1.34	7.62 ± 1.33	8.44 ± 1.00	9.73 ± 0.90
Hex1Cer	3.39 ± 0.34	3.81 ± 0.51	3.72 ± 0.28	4.17 ± 0.14
Hex2Cer	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01
Hex3Cer	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.03 ± 0.00
DG	7.65 ± 0.95	11.29 ± 6.00	7.79 ± 1.78	5.73 ± 0.66
DGDG	1.19 ± 0.24	1.24 ± 0.15	1.76 ± 0.15	1.97 ± 0.58
MGDG	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.00	0.05 ± 0.03
TG	26 361.20 ± 1 051.74	25 377.20 ± 417.07	25 733.41 ± 493.40	25 815.68 ± 315.97
FA	106.31 ± 0.59	109.33 ± 3.22	107.42 ± 0.77	107.00 ± 0.99
OAHFA	0.11 ± 0.01	0.16 ± 0.09	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.00
LPC	6.76 ± 0.36	6.23 ± 0.70	6.48 ± 0.59	7.13 ± 0.75
LPE	13.20 ± 0.11	13.08 ± 0.43	13.01 ± 0.08	13.53 ± 0.26
PC	16.75 ± 2.21	12.29 ± 3.96	13.97 ± 1.35	11.05 ± 1.98
PE	3.51 ± 0.46	2.56 ± 0.65	2.90 ± 0.03	2.17 ± 0.57
PG	6.26 ± 0.10	6.13 ± 0.11	6.14 ± 0.06	6.07 ± 0.08

表 4 四种稻谷中淀粉结合脂质的含量

Table 4 Content of starch bound lipids in four rice varieties

脂质种类	绥梗 18	龙梗 31	龙稻 18	五优稻 4 号
LPC 16:0	879.72 ± 60.44	851.53 ± 65.84	761.85 ± 72.81	1 042.08 ± 99.02
LPC 16:1	1.71 ± 0.11	1.71 ± 0.10	1.66 ± 0.13	1.99 ± 0.11
LPC 18:0	12.37 ± 2.27	13.78 ± 2.98	8.51 ± 0.79	19.86 ± 3.40
LPC 18:1	95.91 ± 3.71	127.94 ± 34.84	122.63 ± 40.84	214.19 ± 32.19
LPC 18:2	349.51 ± 22.36	335.95 ± 18.06	284.06 ± 42.5	437.53 ± 68.51
LPC 18:3	6.61 ± 1.59	6.76 ± 0.50	6.78 ± 1.22	6.01 ± 0.64
LPE 16:0	125.27 ± 11.81	119.18 ± 6.27	111.26 ± 11.16	169.11 ± 11.39
LPE 18:1	18.16 ± 7.67	17.21 ± 3.27	18.32 ± 5.31	30.96 ± 3.52
LPE 18:2	81.63 ± 13.9	84.05 ± 4.55	75.74 ± 12.41	123.78 ± 12.84
LPE 18:3	3.19 ± 0.61	3.24 ± 0.12	3.31 ± 0.42	3.41 ± 0.26
LPG 16:0	29.81 ± 3.84	30.36 ± 8.73	23.72 ± 2.28	39.31 ± 8.36
LPG 18:1	2.87 ± 0.14	2.85 ± 0.15	3.02 ± 0.23	3.24 ± 0.13
LPG 18:2	3.52 ± 0.35	3.44 ± 0.14	3.32 ± 0.06	3.81 ± 0.20
LPS 18:2	3.39 ± 0.14	3.32 ± 0.10	3.08 ± 0.22	3.54 ± 0.07

## 2.5 四种稻谷中游离脂质和淀粉结合脂质的偏最小二乘判别 (PLS-DA) 分析

偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 是一种多因变量对多自变量的回归建模方法, 可以较好地解决许多以往用普通多元回归无法解决的问题, 常用于食品分析、产品质量预报、环境化学等方面<sup>[11]</sup>。为了评估稻谷样品之间游离脂质和淀粉结合脂质含量差异, 采用偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 方法对检测到 4 个品种稻谷样品脂质含量进行了归一化, 通过对不同处理样本的特性分别进行训

练, 产生训练集, 并检验训练集的可信度。淀粉结合脂质的 PLS-DA 得分曲线图如图 4(A) 所示, 不同品种稻谷可以通过脂质含量区分开, 其中五优稻 4 号分离最明显; 游离脂质的 PLS-DA 得分曲线图如图 4(B) 所示, 主成分 1 代表总方差的 78.2%, 主成分 2 代表总方差的 14.6%, 不同品种稻谷可以被区分开。为了进一步确认这些脂质能否做出脂质氧化区分, 对这些物质进行了热图分析。如图 5 所示, 4 个不同品种的稻谷可以通过淀粉结合脂质和游离脂质被很好地区分。

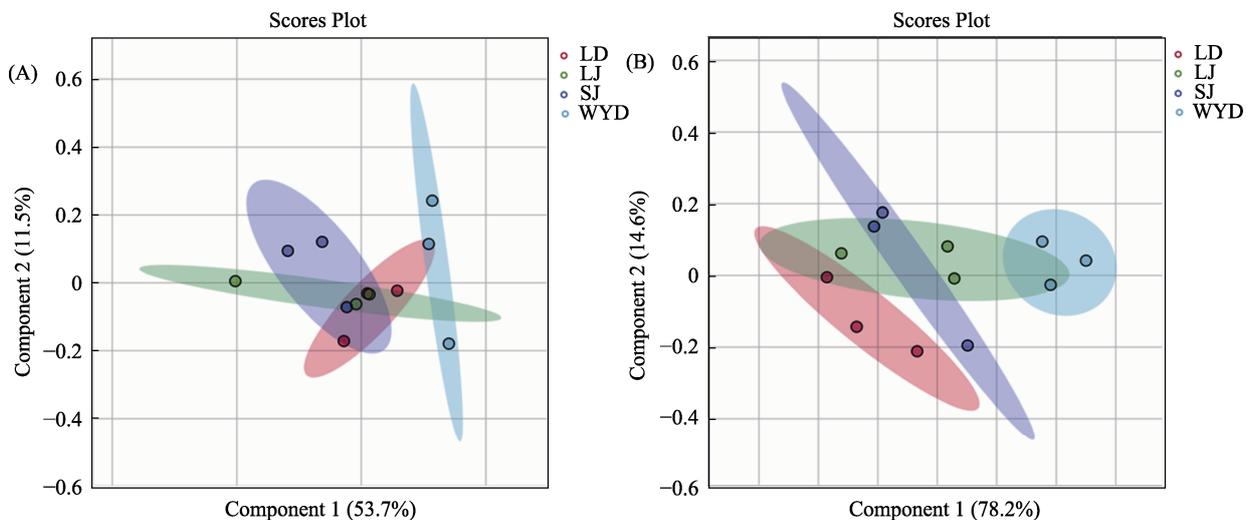


图 4 四种稻谷脂质含量的偏最小二乘判别分析得分曲线图: (A) 淀粉结合脂质; (B) 游离脂质  
Fig.4 Partial least squares discriminant analysis score curves for four rice varieties lipid content: (A) Starch bound lipids; (B) Free lipids

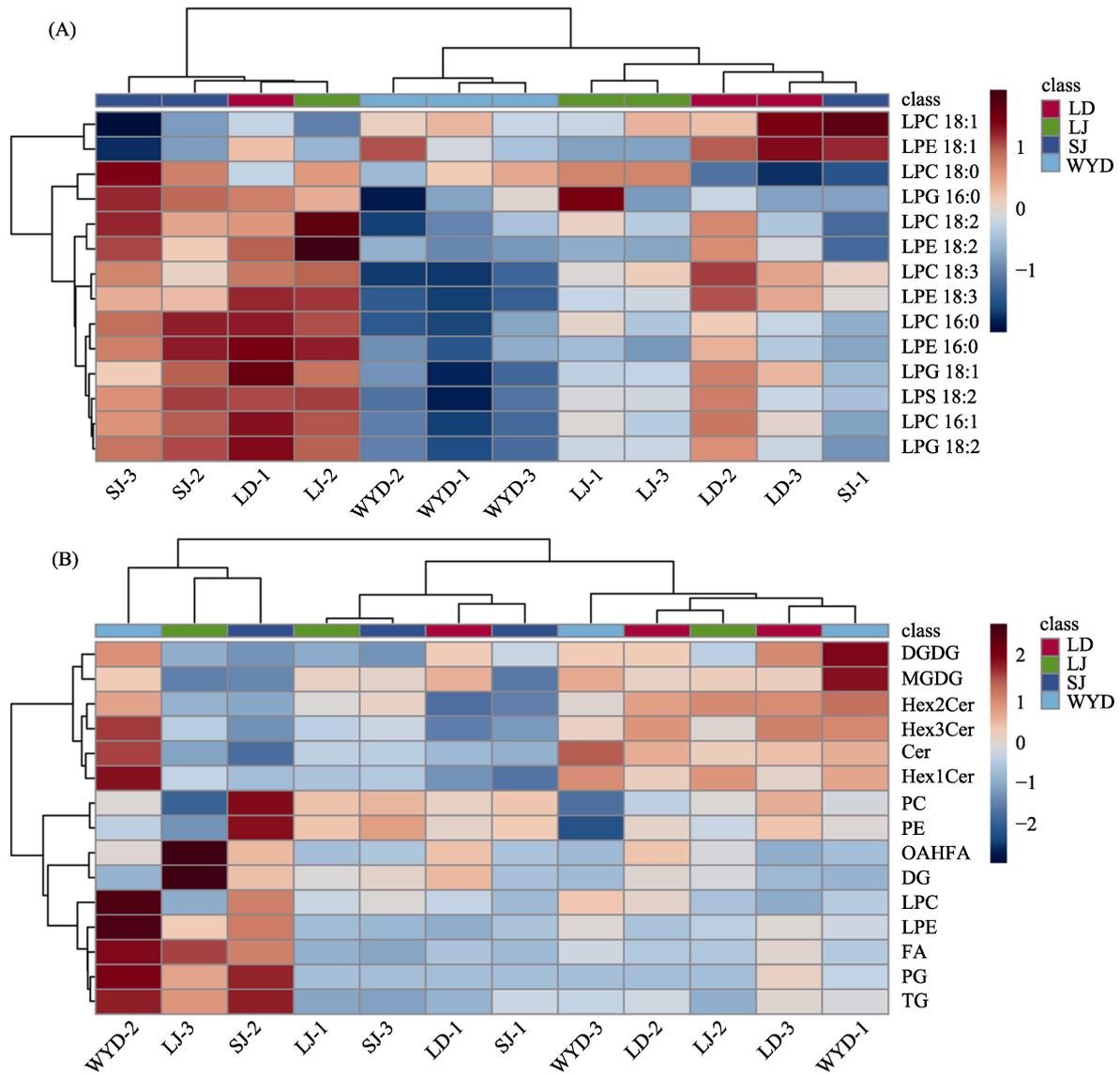


图 5 脂质在四种稻谷中含量分布热图: (A) 淀粉结合脂质; (B) 游离脂质

Fig.5 Heat map of lipid content distribution in four rice varieties: (A) Starch bound lipids; (B) Free lipids

### 3 结论

本文应用 UPLC-Q-Exactive Orbitrap 质谱快速准确地分析了四种稻谷的脂质轮廓,检测到 371 种游离脂质和 14 种淀粉结合脂质,包括甘油磷脂、甘油酯、神经酰胺、脂肪酸等。结果表明,四种稻谷的淀粉结合脂质和游离脂质组成基本相似。游离脂质主要由甘油酯组成;淀粉结合脂质主要是溶血磷脂,主要由溶血磷脂酰胆碱和溶血磷脂酰乙醇胺组成。对四种稻谷的淀粉结合脂质和游离脂质进行 PLS-DA 分析,结果表明四种稻谷可以被区分开。本研究可作为稻谷中脂质的分析新方法,该方法能快速、高效进行稻谷脂质组学轮廓实时检测,相关数据为谷物检测提供相关

依据和参考。

#### 参考文献:

- [1] LIU L, WATERS D L E, ROSE T J, et al. Phospholipids in rice: Significance in grain quality and health benefits: A review[J]. Food Chemistry, 2013, 139(1): 1133-1145.
  - [2] CáCERES P J, PEñAS E, MARTINEZ-VILLALUENGA C, et al. Enhancement of biologically active compounds in germinated brown rice and the effect of sun-drying[J]. Journal of Cereal Science, 2017, 73: 1-9.
  - [3] TONG C, BAO J. 5 - Rice lipids and rice bran oil[M]//BAO J. Rice (Fourth Edition). AACC International Press, 2019: 131-168.
  - [4] 陈霞, 陈银基, 蒋伟鑫, 等. 辐照糙米储藏过程中淀粉脂和非淀粉脂组成及变化[J]. 食品科学, 2014, 35: 297-303.
- CHEN X, CHEN Y J, JIANG W X, et al. Changes in non-starch

- lipid and starch lipid of irradiated brown rice during storage[J]. Food Science, 2014, 35: 297-303.
- [5] ZHANG D, ZHAO L, WANG W, et al. Lipidomics reveals the changes in non-starch and starch lipids of rice (*Oryza sativa* L.) during storage[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 105: 104205.
- [6] 李央, 刘昆仑, 陈复生. 稻谷储藏期脂质陈化的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2015, 28: 1-3.  
LI Y, LIU K L, CHEN F S. Research progress in lipid aging of rice grain during storage[J]. Cereals & Oils, 2015, 28: 1-3.
- [7] 胡雪, 段国霞, 刘丽君, 等. 乳及乳制品中磷脂的含量、功能、分离及检测技术研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42: 350-361.  
HU X, DUAN G X, LIU L J, et al. Progress in contents, functional evaluation, isolation and quantification of phospholipids from milk and milk products[J]. Food Science, 2021, 42: 350-361.
- [8] MI S, SHANG K, LI X, et al. Characterization and discrimination of selected China's domestic pork using an LC-MS-based lipidomics approach[J]. Food Control, 2019, 100: 305-314.
- [9] FAUCONNOT L, HAU J, AESCHLIMANN J M, et al. Quantitative analysis of triacylglycerol regioisomers in fats and oils using reversed-phase high-performance liquid chromatography and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2010, 18(2): 218-224.
- [10] WANG L, WANG L, QIU J, et al. Effects of superheated steam processing on common buckwheat grains: Lipase inactivation and its association with lipidomics profile during storage[J]. Journal of Cereal Science, 2020, 95: 103057.
- [11] CH R, CHEVALLIER O, MCCARRON P, et al. Metabolomic fingerprinting of volatile organic compounds for the geographical discrimination of rice samples from China, Vietnam and India[J]. Food Chemistry, 2020, 334: 127553. 

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。