

云南主栽蓝莓果实花色苷组成差异分析

张瑜瑜, 用成健, 刘佳妮, 陈泽斌, 姚丽媛, 华金珠

(昆明学院农学与生命科学学院, 昆明 650214)

摘要:本研究以云南澄江蓝莓主产区6个品种蓝莓鲜果为对象, 利用高效液相色谱法(HPLC)和加标定性测定法检测花色苷组成, 通过主成分分析法对花色苷组成进行差异分析。结果表明, 6个品种的蓝莓果实中共检测到10种花色苷, 其中, “比洛克西”的总花色苷含量最高, 为2 933.551 mg/kg, 芍药素-3-O-葡萄糖苷和飞燕草素-3-O-半乳糖苷含量在“比洛克西”中均最高, 分别为476.703 mg/kg和595.614 mg/kg。主成分分析表明不同品种蓝莓单体花色苷所占比例有明显差异, 可以区分出花色苷含量丰富的“比洛克西”和“莱格西”两大类蓝莓品种和6个蓝莓品种中极为丰富的花色苷。综上可知, 花色苷可以作为化学指纹区分6个不同品种的蓝莓, 为筛选和培育优质蓝莓品种提供理论支撑。

关键词: 蓝莓; 花色苷; 高效液相色谱; 主成分分析

中图分类号: S663.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2022)02-0145-05

Analysis of Anthocyanin Composition Difference in Yunnan Main Cultivated Blueberry Fruits

ZHANG Yuyu, YONG Chengjian, LIU Jia'ni, CHEN Zebin, YAO Liyuan, HUA Jinzhu

(College of Agronomy and Life Sciences, Kunming University, Kunming 650214, China)

Abstract: In this study, the anthocyanins of 6 blueberry fresh fruits from Chengjiang, Yunnan Province were detected by HPLC and standard qualitative determination. The anthocyanins were analyzed by principal component analysis (PCA). The results showed that a total of 10 anthocyanins were detected in blueberry fruits of 6 varieties, among which the content of total anthocyanins in biloxi was the highest (2,933.551 mg/kg). And the content of paeoniflorin-3-O-glucoside (476.703 mg/kg) and Delphinin-3-O-galactoside were the highest in Biloxi (595.614 mg/kg). Principal component analysis showed that the proportion of anthocyanins in different varieties of blueberries was significantly different. The anthocyanins of Biloxi and Legosi blueberry varieties with abundant anthocyanins could be distinguished from those of 6 blueberry varieties. In conclusion, anthocyanins can be used as chemical fingerprints to distinguish 6 different varieties of blueberry, thus providing theoretical support for screening and breeding high-quality blueberry varieties..

Key words: Blueberry; Anthocyanins; HPLC; Principal component analysis

蓝莓又名蓝浆果、越橘等, 属杜鹃花科越桔属植物, 为多年生落叶常绿小灌木^[1]。世界范围内约有480余种, 是世界上4种(草莓、树莓、越橘、醋栗)新兴小浆果类果树之一^[2]。

蓝莓果实中花色苷含量极高, 具有抗氧化、清除自由基、抗衰老等对人体健康有益的生物活性^[2-8]。花色苷是一种水溶性色素, 属于类黄酮物质, 广泛存在于植物的根、茎、叶、花和果实中^[4], 同时, 由于羟基和甲氧基取代基团的位置和数量

不同, 各类花色苷会呈现出不同的颜色^[5], 这也对蓝莓颜色起到非常重要的作用。

不同品种、产地、生长年份、采收期会使蓝莓的花色苷种类和含量产生较大差异^[3]。目前, 大量研究主要集中在对蓝莓花色苷的提取或纯化^[4-6], 有关蓝莓中的花色苷等多酚类物质活性和功能的研究报道也不少^[3-6], 蓝莓果实总花色苷含量因品种、基因型、种植环境和气候条件的不同而差异较大。本研究以云南澄江主栽的6种蓝莓鲜果为材料, 利用高效液相色谱法(HPLC)和加标定性测定法检测各品种成熟鲜果的花色苷组成, 通过主成分分析法对其进行差异分析, 以期筛选和培育优质蓝莓品种提供理论支撑。

收稿日期: 2019-12-07

基金项目: 云南省高校联合基金面上项目(2017FH001-040)

作者简介: 张瑜瑜(1983-), 讲师, 硕士, 主要从事园艺产品生理生态与产量品质形成的相关研究。

1 材料与方 法

1.1 材 料

云南澄江主产的6个蓝莓品种:“夏普蓝”“灿烂”“密斯提”“比洛克西”“绿宝石”“莱格西”,鲜果成熟后进行采样,每个品种重复3次,每次重复随机采样100粒,样品采集后放入冰盒带回实验室冷冻保存待用。

1.2 试 剂

飞燕草素葡萄糖苷标准品、矢车菊素葡萄糖苷标准品、矮牵牛素葡萄糖苷标准品、锦葵-3-O-葡萄糖苷标准品、芍药素葡萄糖苷标准品(均购于上海甄准生物科技有限公司)。

1.3 仪 器 与 设 备

PL204型精密电子天平、LC-20AB型高效液相色谱仪、Uv-120-02紫外分光光度计、BluePard Cu420电热恒温水浴锅、Lab Tech EV311旋转蒸发器、循环水式真空泵、Sigma1-14离心机。

1.4 供试样品花色苷提取

参照杨晓慧等^[7]的方法稍加改进。取适量蓝莓加入少量去离子水,用匀浆机匀至泥状,精确称取匀浆0.5 g,用5 mL含5%甲酸的甲醇溶液超声提取15 min,再于10℃、12 000 r/min的条件下离心20 min,合并两次上清液,定容至10 mL,经微孔滤膜(0.45 μm)过滤后进行液相检测。

1.5 花色苷定性定量分析

参照杨晓慧等^[7]的方法,采用HPLC法测定蓝

莓鲜果中花色苷的种类和相对含量,根据色谱峰保留时间,确定蓝莓果实中的花色苷种类的数量;再分别以飞燕草素葡萄糖苷、矢车菊素葡萄糖苷、矮牵牛素葡萄糖苷、锦葵-3-O-葡萄糖苷、芍药素葡萄糖苷为外标物做标准曲线,对蓝莓鲜果的花色苷进行定性和定量分析。

1.6 数 据 分 析

采用SPSS 20.0软件进行差异显著性分析和主成分分析。

2 结果与分 析

2.1 不同品种蓝莓果实花色苷含量

由表1可知,“比洛克西”总花色苷含量最高,为2 933.551 mg/kg,“莱格西”次之,为934.451 mg/kg,属于富含花色苷的品种;“灿烂”“密斯提”“绿宝石”3个蓝莓品种果实总花色苷含量居中,为475.761~684.732 mg/kg,“夏普蓝”总花色苷含量最低,为110.425 mg/kg;总花色苷含量较高的“比洛克西”和“莱格西”是“夏普蓝”的8.46~26.56倍。芍药素-3-O-葡萄糖苷是在“灿烂”“比洛克西”和“密斯提”中含量较高的花色苷,其中以“比洛克西”的含量最高,为476.703 mg/kg,是“夏普蓝”的18.27倍、“绿宝石”的18.171倍;飞燕草素-3-O-半乳糖苷在“比洛克西”中最高,为595.614 mg/kg,是“夏普蓝”的41.915倍;芍药素-3-O-阿拉伯糖苷在“比洛克西”品种中最高,是“夏普蓝”的50.452倍。

表 1 不同品种蓝莓鲜果的花色苷组成及含量

	mg/kg					
花色苷	夏普蓝	灿烂	密斯提	比洛克西	绿宝石	莱格西
芍药素-3-O-阿拉伯糖苷	4.878±0.165f	111.714±3.285d	131.065±2.674c	554.408±4.758a	81.174±3.428e	246.105±2.489b
飞燕草素葡萄糖苷	1.252±0.128d	0.720±0.038e	6.312±0.227c	1.892±0.332d	16.427±0.748a	9.777±0.546b
芍药素-3-O-葡萄糖苷	26.078±1.352f	204.420±3.325b	152.927±2.386c	476.703±8.459a	58.336±1.346e	99.124±2.465d
矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	7.836±1.365e	48.562±2.415d	60.054±1.587c	138.492±3.641a	51.301±0.949d	125.931±2.124b
飞燕草素-3-O-半乳糖苷	14.210±3.645e	90.986±2.694c	91.796±1.924c	595.614±5.846a	50.034±1.102d	157.804±1.954b
矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷	12.858±2.365e	86.697±2.011c	96.718±1.845b	224.837±2.478a	49.325±0.998d	42.462±0.845d
矢车菊素-3-O-半乳糖苷	5.075±1.254d	51.513±2.354c	54.953±0.933c	403.715±8.312a	7.218±0.349d	113.502±1.487b
牡荆素-3-O-葡萄糖苷	7.437±1.311e	36.312±1.333d	41.794±1.101c	111.114±5.421a	35.440±0.748d	77.179±1.546b
锦葵色素 3-β-葡萄糖苷	19.509±1.987e	12.086±0.604d	37.988±0.932c	87.834±5.147a	66.161±1.612b	13.142±0.541d
芍药素 3-O-半乳糖苷	11.292±0.923e	41.722±1.458d	63.032±1.925b	338.942±5.145a	60.345±1.145b	49.425±1.845c
总花色苷含量	110.425±3.644f	684.732±6.849d	736.639±5.346c	2933.551±9.415a	475.761±3.412e	934.451±6.485b

注:同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)

2.2 不同品种蓝莓花色苷组成比例

从6个品种蓝莓果实花色苷组成比例看(表2),芍药素-3-O-阿拉伯糖苷在“莱格西”中所占比例最大,为26.337%,在“夏普蓝”中占比最低,

为4.417%,其余品种所占比例均高于16%;飞燕草素葡萄糖苷在6个品种的蓝莓中所占比例均较低,其中,在“比洛克西”中最低,仅为0.064%。芍药素-3-O-葡萄糖苷在6个品种蓝莓中所占比例

表2 不同品种蓝莓花色苷构成比例

%

花色苷	“夏普蓝”	“灿烂”	“密斯提”	“比洛克西”	“绿宝石”	“莱格西”
芍药素-3-O-阿拉伯糖苷	4.417	16.315	17.792	18.899	17.062	26.337
飞燕草素葡萄糖苷	1.134	0.105	0.857	0.064	3.453	1.046
芍药素-3-O-葡萄糖苷	23.616	29.854	20.760	16.250	12.262	10.608
矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	7.096	7.092	8.152	4.721	10.783	13.476
飞燕草素-3-O-半乳糖苷	12.868	13.288	12.461	20.304	10.517	16.887
矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷	11.644	12.661	13.130	7.664	10.368	4.544
矢车菊素-3-O-半乳糖苷	4.596	7.523	7.460	13.762	1.517	12.146
牡荆素-3-O-葡萄糖苷	6.735	5.303	5.674	3.788	7.449	8.259
锦葵色素-3-β-葡萄糖苷	17.667	1.765	5.157	2.994	13.906	1.406
芍药素-3-O-半乳糖苷	10.226	6.093	8.557	11.554	12.684	5.289
总花色苷含量	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000	100.000

偏高,其中,在“夏普蓝”“灿烂”和“密斯提”中较高,分别为 23.616%、29.854% 和 20.760%,在 6 个品种中所占比例的变幅为 10.608%~29.854%;飞燕草素-3-O-半乳糖苷在“比洛克西”中所占比例最高,为 20.304%;矮牵牛素-3-O-在 6 个品种蓝莓中所占比例相差不大,在“莱格西”中占比稍低,为 4.544%。

2.3 不同品种蓝莓花色苷主成分分析

为了更好地分析 6 个不同品种的蓝莓花色苷的组成,以不同品种花色苷相对含量和不同种类花色苷组成进行主成分分析(表 3、表 4)。

表3 不同品种蓝莓花色苷主成分分析总方差解释

成分	初始特征值		
	总计	方差百分比(%)	累积(%)
1	3.676	61.270	61.270
2	1.299	21.647	82.917
3	0.687	11.451	94.368
4	0.234	3.899	98.267
5	0.094	1.567	99.834
6	0.010	0.166	100.000

由表 3 可以看出,主成分 1 解释了总方差的 61.270%,主成分 2 解释了总方差的 21.647%,它们共同解释了总方差的 82.917%,能够很好地解释变量的总体变化情况。

由图 1 可知,主成分 1 把 6 个品种集中为 1 大类;主成分 2 进一步将这 6 个品种分在 2 个象限,一类为“夏普蓝”“绿宝石”“灿烂”“密斯提”,另一类为“比洛克西”和“莱格西”。由此可以说明,主成分 1 和主成分 2 能将这 6 个品种明显地区分开。

由表 4 可知,主成分 1 解释了总方差的 77.676%,主成分 2 解释了总方差的 13.109%,它们

表4 不同种类花色苷组成主成分分析总方差解释

成分	初始特征值		
	总计	方差百分比(%)	累积(%)
1	7.768	77.676	77.676
2	1.311	13.109	90.785
3	0.793	7.928	98.713
4	0.121	1.211	99.924
5	0.008	0.076	100.000
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	0	0	0
10	0	0	0

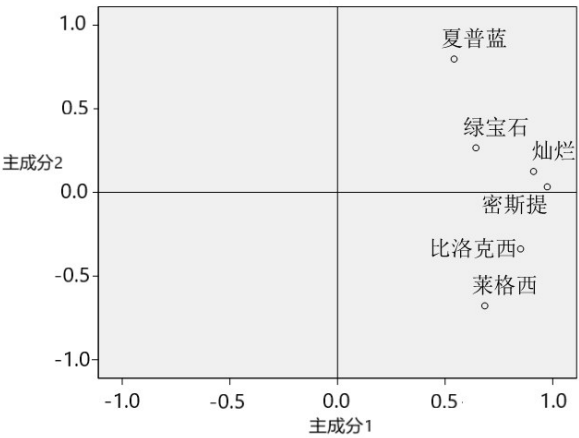
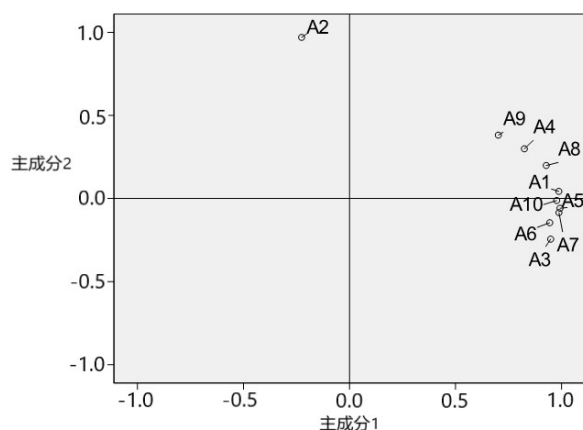


图1 6个品种蓝莓果实花色苷含量的主成分分析散点图

共同解释了总方差的 90.785%,能够很好地解释变量的总体变化情况。

由图 2 可知,主成分 1 把 10 种花色苷集中为两大类,其中,“飞燕草素葡萄糖苷”是一大类,其余 9 种花色苷是另一大类;主成分 2 又进一步将这 10 种花色苷分在两大类,其中“芍药素-3-O-葡



注: 芍药素-3-O-阿拉伯糖苷(A1)、飞燕草素葡萄糖苷(A2)、芍药素-3-O-葡萄糖苷(A3)、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷(A4)、飞燕草素-3-O-半乳糖苷(A5)、矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷(A6)、矢车菊素-3-O-半乳糖苷(A7)、牡荆素-3-O-葡萄糖苷(A8)、锦葵色素-3- β -葡萄糖苷(A9)、芍药素-3-O-半乳糖苷(A10)

图2 不同种类花色苷组成主成分分析散点图

葡萄糖苷”“飞燕草素-3-O-半乳糖苷”“矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷”“矢车菊素-3-O-半乳糖苷”和“芍药素-3-O-半乳糖苷”是一大类,其余5种花色苷是另一大类。

主成分分析共同反映了不同蓝莓品种与各类花色苷的对应关系,由图1可知,“夏普蓝”“绿宝石”“灿烂”“密斯提”位于第一象限,“比洛克西”和“莱格西”位于第四象限,结合主成分综合分析,可以区分出花色苷含量丰富的一大类蓝莓品种。由图2可知,除飞燕草素葡萄糖苷外,其余的花色苷都在X轴的正半轴。根据不同种类的花色苷组成分析,可以区分出6个品种蓝莓中极为丰富的一大类花色苷。

3 讨论

3.1 不同品种蓝莓果实花色苷组成及含量分析

本研究针对花色苷类化合物具有特征吸收峰的特点,采用HPLC标准品外标法直接对蓝莓果实花色苷的粗提物进行测定,对其组成及含量进行探讨。研究结果显示,蓝莓花色苷的组成及所占比例主要受蓝莓的品种特征影响,但不同品种蓝莓的花色苷组成和相对含量主要由遗传因素决定^[8-10]。本试验研究表明,在6个品种的蓝莓成熟果实中共检测到10种不同结构的花色苷,说明研究的6个品种的蓝莓果实均含有非常丰富花色苷;芍药素-3-O-葡萄糖苷的含量最高,为26.078~476.703 mg/kg,因此,可以用作分离制备该

花色苷的原料。本试验研究结果表明,芍药素-3-O-葡萄糖苷在各品种间均是含量最高的组分,这与谢国芳等^[11]的检测结果一致,但不同品种的含量仍有较大差异(10.608%~29.854%)。同时,同一种花色苷在不同品种间存在显著差异,各种不同的花色苷在特定品种的组成是相对稳定的,这与朱金艳^[12]的研究结果大致相似;花色苷相对含量的高低还受栽培地的生态环境、土壤质地的影响^[11]。

3.2 不同品种蓝莓果实的花色苷构成及含量影响因素

花色苷合成酶的催化活性在一定程度上受日照条件的影响,紫外线照射可以明显提高花色苷合成酶的催化活性^[13],因此也就间接影响花色苷含量及构成比之间的差异。大量研究表明,植物花色苷的生成水平明显受到光照等外界环境因子的影响。本研究的对象是6个品种蓝莓鲜果的花色苷,种植地为云南澄江,该地处于高海拔低纬度地区,平均日照时间长,紫外线辐射相对较强,是促进植物合成花色苷的重要因子。由此可知,除品种差异外,日照长短和紫外线强度等因子也是造成花色苷含量差异的原因。

4 结论

本研究利用高效液相色谱法(HPLC)和加标定性测定法对6个品种蓝莓果实的花色苷组成和相对含量进行探讨,同时,对不同品种蓝莓果实的各类花色苷进行比较研究并进行主成分分析。在6个品种的蓝莓果实中共检测到10种花色苷,其中,“比洛克西”果实总花色苷含量最高,为2 933.551 mg/kg,“莱格西”次之,为934.451 mg/kg,属于富含花色苷的品种。“夏普蓝”蓝莓品种果实总花色苷含量最低,为110.425 mg/kg,总花色苷含量较高的“比洛克西”和“莱格西”是总花色苷含量最低的“夏普蓝”的8.46~26.56倍。

芍药素-3-O-葡萄糖苷在“灿烂”“比洛克西”和“密斯提”中含量较高,分别为204.42 mg/kg、476.703 mg/kg和152.927 mg/kg,分别是“夏普蓝”中芍药素-3-O-葡萄糖苷7.83、18.27、5.86倍。10种花色苷中,飞燕草素-3-O-半乳糖苷的含量最多,它在“比洛克西”中含量较高,为595.614 mg/kg,占20.304%;芍药素-3-O-阿拉伯糖苷的含量次之,它占“比洛克西”总花色苷含量的16.25%;飞燕草素葡萄糖苷的含量最少,在“灿烂”中仅有0.75 mg/kg,仅占“灿烂”总花色苷含量的0.105%。

主成分分析共同反映了不同蓝莓品种与各类

花色苷的对应关系。综合分析可知,可以区分出花色苷含量丰富的“比洛克西”和“莱格西”两大类蓝莓品种。根据不同种类的花色苷组成分析可知,除飞燕草葡萄糖苷外,其余9种花色苷在蓝莓果实中的含量极为丰富,可以区分出6个品种蓝莓中极为丰富的一大类花色苷。综上可知,花色苷可以作为化学指纹来区分6个不同品种的蓝莓,以为筛选和培育优质蓝莓品种提供理论支撑。

参考文献:

- [1] 刘翼翔,吴永沛,刘光明,等.野生蓝莓酚酸成分鉴定及其清除细胞内自由基活性研究[J].中国食品学报,2015(12):173-179.
- [2] 谢国芳,王瑞,周笑犁,等.蓝莓花色苷稳定性研究进展[J].北方园艺,2016(7):190-194.
- [3] 程佑声,王鸿飞,许凤,等.蓝莓皮渣花色苷提取及抗氧化活性的研究[J].果树学报2015,32(4):696-704.
- [4] Somerset S M, Johannot L. Dietary flavonoid sources in Australian adults[J]. Nutrition & Cancer, 2008, 60(4): 442-449.
- [5] Hosseinian F S, Beta T. Saskatoon and wild blueberry have higher anthocyanin contents than other Manitoba berries[J]. Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(26): 10832-10838.
- [6] Harris C S, Burt A J, Saleem A, et al. A single HPLC-PAD-APCI/MS method for the quantitative comparison of phenolic compounds found in leaf, stem, root and fruit extracts of *Vaccinium angustifolium*[J]. Phytochemical Analysis, 2007, 18(2): 161-169.
- [7] 杨晓慧,陈为凯,何非,等.5个红色酿酒葡萄品种花色苷组成差异分析[J].西北农业学报,2017,26(11):1648-1654.
- [8] Gong J, Huang J, Xiao G, et al. Antioxidant capacities of bamboo shaving extract and their antioxidant components[J]. Molecules, 2016, 21(8): 996.
- [9] 林恋竹,赵谋明.反应时间对DPPH·法、ABTS·法评价抗氧化性结果的影响[J].食品科学,2010,31(5):63-67.
- [10] Liu X, Chen Y, Wu L, et al. Optimization of polysaccharides extraction from *Dictyophora indusiata* and determination of its antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 103(4): 175.
- [11] 谢国芳,王新华,王瑞,等.贵州主栽蓝莓品种活性成分及其抗氧化活性评价[J].食品与发酵工业,2017,43(2):180-183.
- [12] 朱金艳,王月华,张建丽,等.不同品种蓝莓果的营养成分及花色苷种类研究[J].食品科学,2016,37(5):10-15.
- [13] 李晓英,薛梅,樊汶樵.蓝莓花、茎、叶酚类物质含量及其抗氧化活性比较[J].食品科学,2017,38(3):142-147.

(责任编辑:王丝语)

(上接第114页)

- [21] Khan N, Mukhtar H. Modulation of signaling pathways in prostate cancer by green tea polyphenols[J]. Biochemical Pharmacology, 2013, 85(5): 667-672.
- [22] 陈璐,廖光联,杨聪,等.基于主成分分析与聚类分析的黄肉猕猴桃品种(系)主要果实性状的综合评价[J].江西农业大学学报,2018,40(6):1231-1240.
- [23] 徐臣善,高东升.基于主成分分析的设施桃果实品质综合评价[J].食品工业科技,2014,35(23):84-88,94.
- [24] 林海明,杜子芳.主成分分析综合评价应该注意的问题[J].统计研究,2013,30(8):25-31.
- [25] 高惠璇.应用多元统计分析[M].北京:北京大学出版社,2005:215-216.
- [26] 杜强,贾丽艳.SPSS统计分析从入门到精通[M].北京:人民邮电出版社,2009:145-147.
- [27] 程晓明,程婧晔,胡文静,等.23个小麦品种春化特性主成分分析及聚类分析[J].江苏农业科学,2019,47(8):64-68.
- [28] 李桂萍,张根生,巴青松,等.杂种小麦品质性状的性状相关和主成分分析[J].浙江农业学报,2016,28(9):1447-1453.
- [29] 吴澎,贾朝爽,范苏仪,等.樱桃品种果实品质因子主成分分析及模糊综合评价[J].农业工程学报,2018,34(17):291-300.

(责任编辑:刘洪霞)