

羽衣甘蓝花青素的定位及含量成分测定

王玉书^{1,2} 赵爽¹ 张琳¹ 崔剑英¹ 王紫薇¹ 曲美卓玛¹ 高岩松¹ 辛喜凤³

(1. 齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院,黑龙江 齐齐哈尔 161006;

2. 黑龙江省抗性基因工程与寒地生物多样性保护重点实验室,黑龙江 齐齐哈尔 161006;

3. 河北省保定市农产品质量监督管理站,河北 保定 071000)

摘要 为鉴定羽衣甘蓝植株中花青素的分布及组成,利用徒手切片制作临时装片在光学显微镜下观察紫叶羽衣甘蓝和白叶羽衣甘蓝纯系茎和叶中花青素的分布情况,测定紫叶羽衣甘蓝叶片中花青素相对含量,并通过 HPLC-MS 技术对叶片中花青素成分进行分析。结果表明:花青素主要分布于叶表皮细胞邻近的叶肉细胞,并以下表皮邻近叶肉细胞居多,茎中花青素集中分布在表皮细胞及表皮下的薄壁细胞中,整个茎表现为越靠近上部花青素分布越少;白叶羽衣甘蓝心叶、外叶和茎中均未观察到花青素类物质的存在。在 10 ℃ 条件下生长的叶片(心叶和外叶)中花青素含量显著高于 20 ℃ 条件下生长的叶片中的含量。紫叶羽衣甘蓝中共鉴定出 9 种花青素苷,分别为矢车菊素-3-葡萄糖-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(咖啡酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(草酰-对羟基苯甲酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(芥子酰)-5-葡萄糖苷、飞燕草-3-葡萄糖苷和飞燕草素-3-葡萄糖(咖啡酰)-5-葡萄糖苷。紫叶羽衣甘蓝叶片中含有丰富的高度酰基化和糖苷化的花青素苷,是一种值得开发的新型花青素苷应用产品资源。

关键词 羽衣甘蓝; 花青素; 切片; HPLC-MS; 含量; 成分

中图分类号 S609.9

文章编号 1007-4333(2020)11-0045-09

文献标志码 A

Location, content and composition determination of anthocyanin in kale

WANG Yushu^{1,2}, ZHAO Shuang¹, ZHANG Lin¹, CUI Jianying, WANG Ziwei¹,
Qumeizhuoma¹, GAO Yansong¹, XIN Xifeng³

(1. College of Life Sciences, Agriculture and Forestry, Qiqihaer University, Qiqihaer 161006, China;

2. Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Resistance Gene Engineering and Protection of Biodiversity in Cold Areas, Qiqihaer 161006, China;

3. Agricultural Product Quality Supervision and Administration Station in Baoding City of Hebei Province, Baoding 071000, China)

Abstract To identify the distribution and composition of anthocyanins in kale, the distribution of anthocyanins in stems and leaves in purple and white-leaved kale was observed under light microscope by hand sectioning, and the content of anthocyanins in leaves of purple-leaved kale was determined. The components of anthocyanins in leaves were analyzed by HPLC-MS. The results showed: That anthocyanins of purple leaf kale were mainly distributed in mesophyll cells adjacent to leaf epidermis cells, and mostly in mesophyll cells adjacent to lower epidermis. In stem, anthocyanins were concentrated in epidermis cells and parenchyma cells underneath epidermis. The closer the whole stem was to the upper part, the less the distribution of anthocyanins was. Anthocyanins were not observed in the inner, outer leaves and stems of kale, but chlorophyll layers were detected at the same location. After growing at 10 ℃, the anthocyanin content in leaves (inner and outer) was significantly higher than that at 20 ℃. Nine anthocyanin glycosides were

收稿日期: 2019-09-05

基金项目: 国家自然科学基金(31401908);黑龙江省自然科学基金(C2016056);黑龙江省普通高等学校青年创新人才培养计划(UNPYSCT-2017155);黑龙江省省属高等学校基本科研业务费(135209313);齐齐哈尔大学大学生创新创业项目(201910232346,21910232118,202010232104,202010232197,202010232801)

作者简介: 王玉书,副教授,主要从事园艺植物遗传与分子育种研究, E-mail: wangyushu@qqhru.edu.cn

identified from purple kale, they were cyanidin-3-glucoside-5-glucoside, cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside, cyanidin 3-sophoroside(coumaryl)-5-glucoside, cyanidin 3-sophoroside (caffeyol)-5-malonylglucoside, cyanidin 3-sophoroside (feruloyl)-5-glucoside, cyanidina-3-sophoroside (oxalate-p-hydroxybenzoyl)-5-glucoside cyanidin 3-sophoroside (coumaryl)-5-glucoside, delphinidin 3-glucoside, and delphinidin 3-glucoside(caffeyol)-5-glucoside. In conclusion, the purple kale is highly rich in acylated and glycosylated anthocyanidins, it is a new kind of anthocyanin application product resources worth developing.

Keywords kale; anthocyanin; section; HPLC-MS; content; composition

羽衣甘蓝 (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*; $2n=18$)为十字花科芸薹属甘蓝种的变种。由于其多变的叶形和多彩的叶色,已经成为重要的园林绿化植物。作为蔬菜,其富含的维生素、矿物质及一些生物活性物质,又具有重要的营养价值^[1]。

高等植物呈现出丰富多变的颜色取决于天然植物色素的存在,包括叶绿素(chlorophyll)、类黄酮(flavonoids)、类胡萝卜素(carotenoids)和甜菜色素(betalains)等,不同种类植物积累色素不同因而表现为不同的颜色。紫色、红色、粉色和玫红等叶色的羽衣甘蓝中含有丰富的花青素^[2]。花青素作为类黄酮类化合物,广泛存在于植物的叶、花和果实等器官中。它既能赋予植物绚丽的颜色,又可以提高植物自身的光保护、抗旱、抗冻、抗病和抗氧化等能力^[3-4]。除此之外,花青素具有抗炎、抗肿瘤、抗衰老、降糖、降脂和预防心血管疾病等多重保健功效^[5-8]。植物中最常见的花青素包括天竺葵素、矢车菊素、飞燕草素、芍药素、矮牵牛素和锦葵素6种色素,不同的花青素会呈现出不同的颜色。花青素通常以糖基化的形式存在,同时这些糖苷经常被芳香酸和脂肪酸酰基化,如香豆素、咖啡酸、阿魏酸、没食子酸、丙二酸和苹果酸等^[9]。花青素成分及含量的差异直接影响植物各器官颜色的呈现,因此对花青素分布及成分含量研究具有重要意义。

目前,关于羽衣甘蓝花青素特性的研究鲜有报道。本研究利用徒手切片法制片在光学显微镜下观察花青素在羽衣甘蓝茎叶中的分布情况,测定紫叶羽衣甘蓝叶片中花青素含量,同时通过 HPLC-MS 技术鉴定紫叶羽衣甘蓝心叶中所含花青素的成分,旨在明确羽衣甘蓝植株体内花青素的分布、种类及含量情况,以期对羽衣甘蓝花青素的开发利用提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取紫叶和白叶2个不同羽衣甘蓝纯系‘D07’

和‘D06’(图1),于2019年盆栽种植于齐齐哈尔大学实验基地,长至莲座期后分别置于10℃/6℃和20℃/6℃(日温/夜温)生长15d,于观赏期取样试验。

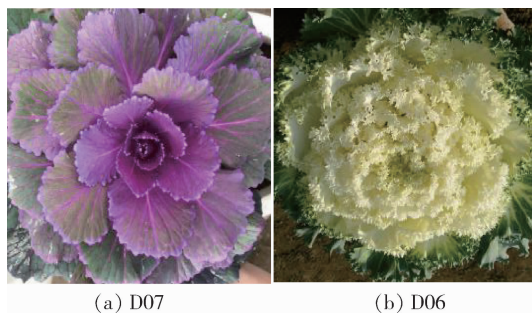


图1 紫叶(a)和白叶(b)羽衣甘蓝DH系

Fig. 1 The purple (a) and white (b) leaf pure lines of kale

1.2 切片制作

将新鲜的羽衣甘蓝叶片和茎段洗净并泡在蒸馏水中湿润备用,用双面刀片沿着植物材料切口平行切下,切下后将刀片上的植物组织轻轻转移至盛有蒸馏水的培养皿中,用镊子轻轻取出切面完整、薄厚均匀的组织制成临时装片。置于光学显微镜下观察、拍照。

1.3 花青素相对含量测定

花青素测定方法参考邝敏杰等^[10]的方法。取2g新鲜叶片,加入30mL提取液(0.1mol/L HCl和95%乙醇体积比为1:1),60℃水浴1h,浸提1次,4℃,5000r/min离心15min,过滤。取花青素提取液1mL,分别加入2mL、pH1.0的KCl缓冲液和pH4.5的乙酸钠缓冲液,振荡摇匀,于520和700nm下测吸光值,重复3次。总花青素含量计算公式如下:

$$C = \frac{A \times V \times n \times M}{\epsilon \times m}$$

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.5}$$

式中:C,花青素含量,mg/g;A,pH1.0和pH4.5缓冲液光密度值的差值;V,提取液总体积,mL;n,稀释倍数;M,矢车菊-3-葡萄糖苷的相对分子质量,

449.2; ϵ , 矢车菊-3-葡萄糖苷的消光系数(26 900); m , 样品质量, g。

1.4 花青素成分分析

提取花青素滤液经转浓缩, 后经孔径 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后上样分析, 利用 HPLC-MS 液质联用分析仪检测花青素成分。

色谱条件: 色谱柱选用 ACQUITY UPLC BEH C18($2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}, 1.7 \mu\text{m}$)。流动相 A 为乙腈, B 为 0.1% 三氟乙酸, 梯度洗脱程序: $0 \sim 5 \text{ min}$, A 为 40% ; $5 \sim 7 \text{ min}$, A 为 $40\% \sim 70\%$; $7 \sim 10 \text{ min}$, A 为 70% ; $10 \sim 11 \text{ min}$, A 为 100% ; $11 \sim 12 \text{ min}$ A 为 40% , 流速为 0.3 mL/min , 进样量 $2 \mu\text{L}$, 柱温为 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

质谱条件: 正离子模式, 自动二级质谱扫描, 扫描范围(质荷比) $200 \sim 2\,000$, 毛细管电压 $3\,000 \text{ V}$, 离子源温度为 $300 \text{ }^\circ\text{C}$, 干燥气温度为 $350 \text{ }^\circ\text{C}$, 干燥气流量为 600 L/h 。

1.5 统计与分析

本研究使用 Excel 软件统计数据, 然后用 Xcalibur 软件分析花青素的质谱流图、一级质谱图、二级质谱碎片离子峰和综合保留时间, 根据一级质谱的分子离子信息和二级质谱碎片离子, 并结合相关文献[11-13]对各个色谱峰进行结构推断, 鉴定羽衣甘蓝花青素的主要成分。

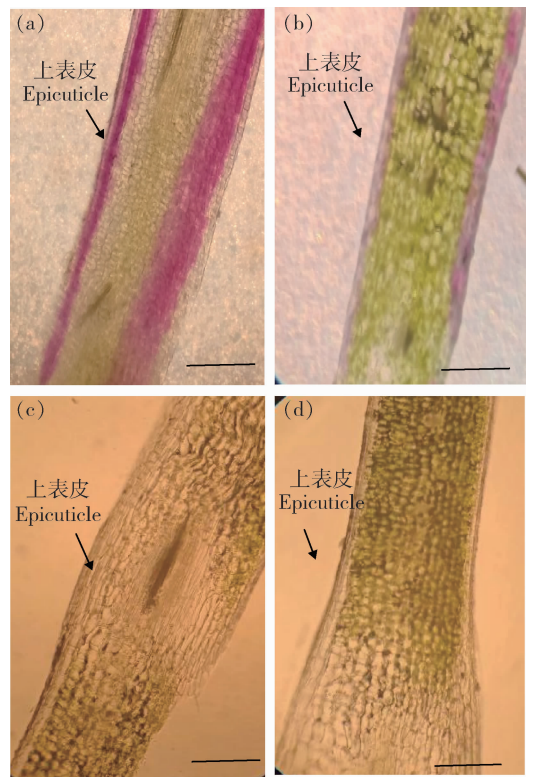
2 结果与分析

2.1 羽衣甘蓝花青素的组织定位

分别取植株心叶、外叶和茎, 采用徒手切片法制成临时装片, 在光学显微镜下直接观察花青素在紫叶羽衣甘蓝‘D07’和白叶羽衣甘蓝‘D06’中的分布。

由图 2 可知, 紫叶羽衣甘蓝‘D07’心叶上下表皮邻近处均有一定花青素细胞分布, 集中积累于上表皮下部 2 层叶肉细胞和下表皮上部的 4 层叶肉细胞中, 其外观表现为整个心叶呈现紫色(图 2(a)); 而外叶中花青素集中分布在上表皮下部的 1 层叶肉细胞和下表皮上部 2 层叶肉细胞中(图 2(b)), 紫色层的数量在上部和下部都有所减少, 表现为部分叶片呈紫色或叶脉呈紫色。在白叶羽衣甘蓝‘D06’的心叶(图 2(c))和外叶(图 2(d))中均未观察到花青素类物质的存在。

由图 3 可知, 紫叶羽衣甘蓝上部茎、中部茎以及靠近基部的茎中都有花青素存在, 集中积累于表皮



(a) ‘D07’心叶; (b) ‘D07’外叶; (c) ‘D06’心叶; (d) ‘D06’外叶。比例尺为 $200 \mu\text{m}$ 。

(a) The inner leaf of ‘D07’; (b) The outer leaf of ‘D07’; (c) The inner leaf of ‘D06’; (d) The outer leaf of ‘D06’. The scale bar is $200 \mu\text{m}$.

图 2 ‘D07’和‘D06’叶片横切面

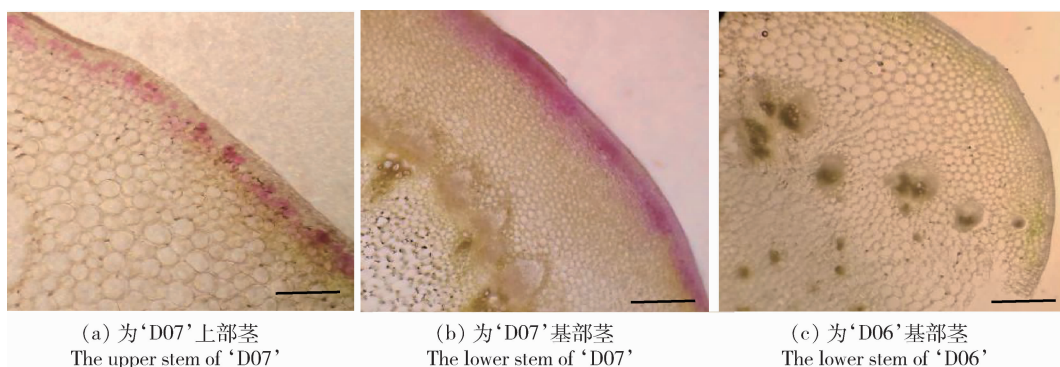
Fig. 2 Transverse section of leaf in ‘D07’ and ‘D06’

细胞及表皮下 2~4 层薄壁细胞, 在维管组织的韧皮部细胞中并没有发现花青素分布, 整个茎外部表现为越靠近上部花青素分布越少(图 3(a)), 越靠近基部花青素积累的越多(图 3(b)), 紫色的程度越深。在白叶羽衣甘蓝‘D06’的茎(图 3(c))中同样未观察到花青素类物质的存在。

综上, 高浓度的花青素在组织中积累赋予了羽衣甘蓝华丽的紫色。绿叶白心羽衣甘蓝由于绿色叶绿素层存在而表现出茎和外叶均为绿色, 白色心叶的呈现推测与入射光线在叶肉细胞间隙反复折射有关^[14]。

2.2 温度对紫叶羽衣甘蓝花青素含量的影响

由图 4 可知, 在 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, ‘D07’心叶、外叶的花青素含量为 0.255 和 0.013 mg/g , 而 $10 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下生长, 心叶和外叶的花青素含量为 0.411 和 0.079 mg/g 。结果表明, 紫叶羽衣甘蓝‘D07’在 $10 \text{ }^\circ\text{C}$ 环境下, 整株叶片(心叶和外叶)中花青素含



比例尺为 200 μm 。The scale bar is 200 μm 。

图3 ‘D07’和‘D06’茎横切面

Fig. 3 Transverse section of stem in ‘D07’ and ‘D06’

量均高于 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件中生长的叶片,可见低温对于花青素的合成有一定的促进作用。另外,在 10 和 20 $^{\circ}\text{C}$ 温度中生长,‘D07’心叶花青素含量均高于外叶,说明花青素在植株中的分布具有发育时期特异性。

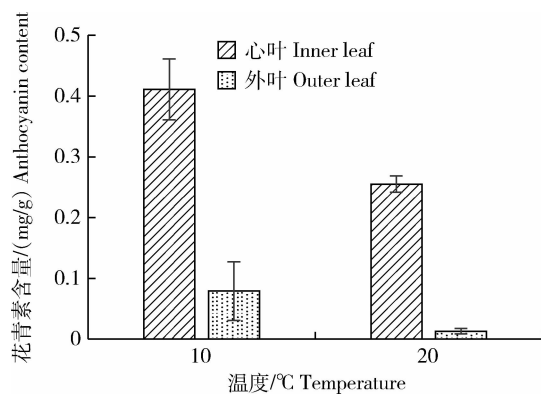


图4 不同温度对羽衣甘蓝‘D07’心叶和外叶花青素含量的影响

Fig. 4 Effects of different temperatures on anthocyanin contents in inner and outer leaves of ‘D07’

2.3 紫叶羽衣甘蓝中花青素成分分析

本研究中,利用 HPLC-MS 技术对紫叶羽衣甘蓝心叶样品的花青素进行定性鉴定,该样品中共检测出 38 个高低不同的特征峰。这些特征峰的保留时间集中在 8~20 min。

由表 1 可知,在紫叶羽衣甘蓝‘D07’中共鉴定出矢车菊素和飞燕草素 2 大类花青素共 9 种花青素苷,分别为矢车菊素-3-葡萄糖-5-葡萄糖苷、矢车菊-3-槐糖-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(咖啡酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(草酸

酰-对羟基苯甲酰)-5-葡萄糖苷、矢车菊素-3-槐糖(芥子酰)-5-葡萄糖苷、飞燕草-3-葡萄糖苷和飞燕草素-3-葡萄糖(咖啡酰)-5-葡萄糖苷,这些花青素的二级质荷比分别为 287 和 303。然而,样品中并没有鉴定出二级质荷比分别为 301、317、331 和 271 的芍药色素、矮牵牛素、锦葵色素和天竺葵色素。紫叶羽衣甘蓝‘D07’的花青素主要以高度糖基化和酰基化的花青素苷为主,而且 77% 以上的花青素都属于矢车菊素类衍生物。

3 讨论

不同植物花青素在植株中定位存在一定的差异。非洲菊(*Gerbera jamesonii* Bolu)花瓣中花青素主要定位于栅栏组织,只有很少量分布于上下表皮^[7];而彩叶草中含有的花青素则集中积累于叶片上表皮细胞内^[8];紫叶突变甘蓝型油菜(*Brassica napus*)的花青素分布在呈色的叶面表皮细胞层,花青素分布密度随着叶色变浅也随之降低^[15]。即使在芸薹属植物之间其组织分布特征也有所不同。紫甘蓝、紫色茼蒿叶片中花青素苷集中分布于表皮细胞^[16];紫色白菜叶片的花青素仅分布于上表皮细胞^[17];紫色花椰菜幼叶表皮下的细胞是花青素苷主要分布区^[18];而紫心大白菜叶片表皮细胞及表皮邻近的叶肉细胞中均有花青素分布^[19]。

本研究中,紫叶羽衣甘蓝外叶和心叶中花青素主要分布于上表皮下的 1~2 层叶肉细胞和下表皮上的 2~4 层叶肉细胞中,表皮细胞中并未观察到花青素的存在,与紫色花椰菜花青素的组织分布特征一致,而茎中花青素的分布特征与紫心大白菜叶片中花青素分布特征类似,集中积累于表皮细胞及表皮

表 1 HPLC-MS 鉴定紫叶羽衣甘蓝中花青素的主要成分

Table 1 Composition of anthocyanins in purple leaf kale identified by HPLC-MS analysis

| 峰 Peak | 保留时间/ min Retention time | 一级质荷比 First order mass-to- charge ratio | 二级质荷比 Secondary mass-to- charge ratio | 化合物推测 Identification of anthocyanins |
|-----------|-----------------------------------|--|--|---|
| 1 | 3.62 | 773 | 287 611 449 | 矢车菊-3-槐糖-5-葡糖苷 Cya-3-sop-5-glu |
| 2 | 5.62 | 919 | 287 449 757 | 矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(pCo)-5-glu |
| 3 | 5.62 | 935 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(咖啡酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Ca)-5-glu |
| 4 | 5.62 | 949 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Fe)-5-glu |
| 5 | 5.62 | 965 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(草酸酰-对羟基苯甲酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Ox-pH)-5-glu |
| 6 | 7.00 | 465 | 303 | 飞燕草-3-葡糖苷 Del-3-glu |
| 7 | 7.44 | 627 | 303 465 | 飞燕草素-3-葡萄糖(咖啡酰)-5-葡糖苷 Del-3-glu(Ca)-5-glu |
| 8 | 7.85 | 773 | 287 449 611 | 矢车菊-3-槐糖-5-葡糖苷 Cya-3-sop-5-glu |
| 9 | 7.85 | 935 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(咖啡酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Ca)-5-glu |
| 10 | 7.85 | 965 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(草酸酰-对羟基苯甲酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Ox-pH)-5-glu |
| 11 | 8.82 | 773 | 287 449 611 | 矢车菊-3-槐糖-5-葡糖苷 Cya-3-sop-5-glu |
| 12 | 8.82 | 935 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(咖啡酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Ca)-5-glu |
| 13 | 8.82 | 965 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(草酸酰-对羟基苯甲酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Ox-pH)-5-glu |
| 14 | 9.64 | 773 | 287 449 611 | 矢车菊-3-槐糖-5-葡糖苷 Cya-3-sop-5-glu |

表1(续)

| 峰 Peak | 保留时间/ min Retention time | 一级质荷比 First order mass-to- charge ratio | 二级质荷比 Secondary mass-to- charge ratio | 化合物推测 Identification of anthocyanins |
|-----------|-----------------------------------|--|--|---|
| 15 | 9.64 | 919 | 287 449 757 | 矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(pCo)-5-glu |
| 16 | 9.64 | 949 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Fe)-5-glu |
| 17 | 10.47 | 611 | 287 449 | 矢车菊素-3-葡萄糖-5-葡糖苷 Cya-3-glu-5-glu |
| 18 | 10.47 | 965 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(草酸酰-对羟基苯甲酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Ox-pH)-5-glu |
| 19 | 11.66 | 773 | 287 449 611 | 矢车菊-3-槐糖-5-葡糖苷 Cya-3-sop-5-glu |
| 20 | 11.66 | 919 | 287 449 757 | 矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(pCo)-5-glu |
| 21 | 11.66 | 949 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Fe)-5-glu |
| 22 | 12.65 | 611 | 287 449 | 矢车菊素-3-葡萄糖-5-葡糖苷 Cya-3-glu-5-glu |
| 23 | 12.65 | 949 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Fe)-5-glu |
| 24 | 12.88 | 919 | 287 449 757 | 矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(pCo)-5-glu |
| 25 | 12.88 | 949 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(Fe)-5-glu |
| 26 | 13.40 | 919 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡糖苷 Cya-3-sop(pCo)-5-glu |
| 27 | 13.40 | 611 | 287 449 | 矢车菊素-3-葡萄糖-5-葡糖苷 Cya-3-glu-5-glu |

表 1(续)

| 峰 Peak | 保留时间/ min Retention time | 一级质荷比 First order mass-to- charge ratio | 二级质荷比 Secondary mass-to- charge ratio | 化合物推测 Identification of anthocyanins |
|-----------|-----------------------------------|--|--|--|
| 28 | 13.93 | 919 | 287 449 757 | 矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(pCo)-5-glu |
| 29 | 13.93 | 949 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(Fe)-5-glu |
| 30 | 14.35 | 611 | 287 449 | 矢车菊素-3-葡萄糖-5-葡萄糖苷 Cya-3-glu-5-glu |
| 31 | 14.67 | 965 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(草酸酰-对羟基苯甲酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(Ox-pH)-5-glu |
| 32 | 14.85 | 965 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(草酸酰-对羟基苯甲酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(Ox-pH)-5-glu |
| 33 | 16.12 | 919 | 287 449 757 | 矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(pCo)-5-gly |
| 34 | 16.81 | 965 | 287 449 | 矢车菊素-3-槐糖(草酸酰-对羟基苯甲酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(Ox-pH)-5-glu |
| 35 | 17.09 | 949 | 287 449 787 | 矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(Fe)-5-glu |
| 36 | 18.07 | 979 | 287 449 817 | 矢车菊素-3-槐糖(芥子酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(Si)-5-glu |
| 37 | 18.25 | 611 | 287 449 | 矢车菊素-3-葡萄糖-5-葡萄糖苷 Cya-3-glu-5-glu |
| 38 | 18.58 | 979 | 287 449 817 | 矢车菊素-3-槐糖(芥子酰)-5-葡萄糖苷 Cya-3-sop(Si)-5-glu |

下 2~4 层薄壁细胞。不同材料中存在的分布差异可能与花青素的合成机制和贮运方式有关。

芸薹属植物中花青素被鉴定出来的种类越来越多,紫色不结球小白菜(*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis*)中就有 20 种左右的花青素被鉴定出来,以矢车菊素-3-槐糖(丙二酰)-5-阿拉伯糖(对羟基苯甲酰)和矢车菊素-3-芸香糖(芥子酰化的咖啡酰)-5-

葡萄糖为主^[20];而在紫色花椰菜(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*)中鉴定出以矢车菊素-3-槐糖(对香豆酰)-5-葡萄糖为主要成分的约 10 种花青素^[21];紫色芥蓝(*Brassica juncea* var. *tumida* Tsen et Lee)中的花青素以矢车菊素-3-槐糖(芥子酰化阿魏酰)-5-葡萄糖(丙二酰)和矢车菊素-3-槐糖(阿魏酰)-5-葡萄糖(丙二酰)2 种花青苷含量居多^[22];Zhu

等^[23] 研究报道在羽衣甘蓝中鉴定出 8 种花青素成分,其中矢车菊素-3-双糖(芥子酰阿魏酰)-5-葡萄糖含量最高,其次是矢车菊素-3-双糖(芥子酰)-5-葡萄糖。以上研究中鉴定出的花青素大部分以矢车菊素为主。本研究从紫叶羽衣甘蓝纯系中检测到 9 种花青素组分,以矢车菊素为主,几种主要成分均为矢车菊-3-槐糖-5-葡萄糖苷中 3 号位被不同有机酸酰基化的衍生物,此外还含有飞燕草-3-葡萄糖苷和飞燕草素-3-葡萄糖(咖啡酰)-5-葡萄糖苷 2 种飞燕草素成分。

参考文献 References

- [1] Wang Y S, Tong Y, Li Y F, Zhang Y, Zhang J, Feng J Y, Feng H. High frequency plant regeneration from microspore-derived embryos of ornamental kale (*Brassica oleracea* L var *acephala*) [J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 130: 296-302
- [2] 王玉书, 王欢, 庞彩燕. 观赏羽衣甘蓝 *BoMYB114* 基因编码区的克隆及序列分析 [J]. 分子植物育种, 2018, 16 (14): 4505-4510
- Wang Y, Wang H, Pang C Y. Cloning and sequence analysis of coding region in *BoMYB114* gene of ornamental kale (*Brassica oleracea* L var *acephala*) [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16(14): 4505-4510 (in Chinese)
- [3] Castellari S D, Pfeiffer A, Sivilotti P, Degan M, Peterlunger E, Gaspero G D. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit [J]. *Plant Cell Environment*, 2007, 30 (11): 1381-1399
- [4] Lorenc-Kukula K, Jafra S, Oszmiański J, Szopa J. Ectopic expression of anthocyanin 5-O-glucosyltransferase in potato tuber causes increased resistance to bacteria [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(2): 272-281
- [5] Maletic E, Kontic J K, Preiner D, Jeromel A, Parz C D, Dietrich H. Anthocyanin profile and antioxidative capacity of some autochthonous croatian red wines [J]. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 2009, 7(1): 48-51
- [6] Jing P, Bomser J A, Schwartz S J, He J, Magnuson B, Giusti M M. Structure-function relationships of anthocyanins from various anthocyanin-rich extracts on the inhibition of colon cancer cell growth [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 56(20): 9391-9398
- [7] 陈建. 非洲菊花瓣解剖结构及赤霉素处理对花色的影响研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010
- Chen J. Studies on the effects of structure and GA3 treatments on flower coloration of *Gerbera jamesonii* [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2010 (in Chinese)
- [8] 罗兰. 彩叶草叶片呈色的生理特性及其花色苷性质研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2007
- Luo L. Study on physiological characteristics of leaf color expression and anthocyanins in *Solenostemon scutellarioides* [D]. Chongqing: Southwest University, 2007 (in Chinese)
- [9] He Q, Zhang Z, Zhang L. Anthocyanin accumulation, antioxidant ability and stability, and a transcriptional analysis of anthocyanin biosynthesis in purple heading chinese cabbage (*Brassica rapa*, L ssp *pekinensis*) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(1): 132-145
- [10] 邝敏杰, 齐敏玉, 何静仁, 李书艺, 刘刚, 祝振洲, 蔡红燕, 冯军. 紫菜薹花色苷组分鉴定及其稳定性和抗氧化性 [J]. 中国农业科学, 2014, 47(20): 4067-4077
- Kuang M J, Qi M Y, He J R, Li S Y, Liu G, Zhu Z Z, Cai H Y, Feng J. Identification of anthocyanins in *Brassica campestris* L and their stability and antioxidant activity [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47 (20): 4067-4077 (in Chinese)
- [11] Matera R, Gabbanini S, Nicola G R D, Lori R, Petrillo G, Valgimigli L. Identification and analysis of isothiocyanates and new acylated anthocyanins in the juice of *Raphanus sativus* cv Sango sprouts [J]. *Food Chemistry*, 2012, 133(2): 563-572
- [12] Olsen H, Aaby K, Borge G I A. Characterization, quantification, and yearly variation of the naturally occurring polyphenols in a common red variety of curly kale (*Brassica oleracea* L convar *acephala* var *sabellica* cv 'Redbor') [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010 (58): 11346-11354
- [13] Wiczkowski W, Szawara-Nowak D, Topolska J. Red cabbage anthocyanins: Profile, isolation, identification, and antioxidant activity [J]. *Food Research International*, 2013 (51): 303-309
- [14] 姜倩. 葡萄风信子 (*Muscari*) 花色形成与相关基因研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2014
- Lou Q. A research on color formation and color-related genes of grape hyacinth (*Muscari*) flower [D]. Yangling: Northwest Agriculture and Forestry University University, 2014 (in Chinese)
- [15] 李海渤. 甘蓝型油菜紫叶基因 *Bna A PL1* 定位和候选基因分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015
- Li H B. Mapping and candidate gene analysis of purple leaf gene *BnaA PL1* in *Brassica napus* L [D]. Wuhan: Huazhong

- Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [16] Yuan Y X, Chiu L W, Li L. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in red cabbage [J]. *Planta*, 2009 (230): 1141-1153
- [17] 郭宁, 郑妹宁, 武剑, 程锋, 梁建丽, 王晓武. 紫菜薹、紫色茼蒿和紫色白菜花青苷分析. 园艺学报, 2014, 41(8): 1707-1715
Guo N, Zheng S N, Wu J, Cheng F, Liang J L, Wang X W. The anthocyanin metabolic profiling analysis of three purple *Brassica rapa* vegetables [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014, 41(8): 1707-1715 (in Chinese)
- [18] Chiu L W, Li L. Characterization of the regulatory network of *BoMYB2* in controlling anthocyanin biosynthesis in purple cauliflower[J]. *Planta*, 2012, 236(4): 1153-1164
- [19] 段岩娇. 紫心大白菜花青素积累特性及相关基因表达分析 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2012
Duan Y J. Study on characteristic and related genes expression of anthocyanidin accumulation in purple-heading chinese cabbage[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2012 (in Chinese)
- [20] Lin J Y, Li C Y, Hwang I F. Characterisation of the pigment components in red cabbage (*Brassica oleracea* L var) juice and their anti-inflammatory effects on LPS-stimulated murine splenocytes[J]. *Food Chemistry*, 2008, 109(4): 771-781
- [21] Lo Scalzo R, Genna A, Branca F, Chedin M, Chassaigne H. Anthocyanin composition of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) and cabbage (*Brassica oleracea* L var *capitata*) and its stability in relation to thermal treatments [J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(1): 136-144
- [22] Xie Q L, Hu Z L, Zhang Y J, Tian S B, Wang Z J, Zhao Z P, Yang Y, Chen G P. Accumulation and Molecular Regulation of Anthocyanin in Purple Tumorous Stem Mustard (*Brassica juncea* var *tumida* Tsen et Lee) [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2014, 62(31): 7813-7821
- [23] Zhu P F, Tian Z D, Pan Z C, Feng X. Identification and quantification of anthocyanins in different coloured cultivars of ornamental kale (*Brassica oleracea* L var *acephala* DC) [J]. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, (2019-09-05). DOI:10.1080/14620316.2017.1413425

责任编辑：吕晓梅