

不同种植地区蓝莓果中花色苷的分布

张晓晓^{1,2}, 黄午阳^{1,2}, 於虹³, 曾其龙³, 柴智^{1*}

¹江苏省农业科学院农产品加工研究所 南京 210014

²江苏大学食品与生物工程学院 江苏镇江 212013

³江苏省中国科学院植物研究所 南京 210014)

摘要 目的:探究不同种植地区的蓝莓果实中花色苷含量与海拔高度、纬度等环境因素之间的关系。方法:选取不同海拔高度和纬度的 10 个种植地区“灿烂”品种的兔眼蓝莓果实为研究对象,采用高效液相色谱法(HPLC)和高效液相色谱-电喷雾质谱(HPLC-ESI-MS)定性和定量分析蓝莓果中花色苷的组成成分,比较不同种植地区的蓝莓果中花色苷苷元、糖基组成与含量的差异。结果:从蓝莓果中检测到 5 类花青素苷元,共 13 种花色苷,苷元含量组成由高到低为锦葵色素>矢车菊素>飞燕草素>矮牵牛素>芍药素;糖基组成由高到低为半乳糖苷>阿拉伯糖苷>葡萄糖苷,其中从芍药素中仅检测到半乳糖苷。蓝莓果中锦葵色素-3-O-半乳糖苷和矢车菊素-3-O-半乳糖苷的含量最高,而飞燕草素-3-O-葡萄糖苷和矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷含量低,在部分地区的蓝莓果中缺失或未检测到。不同种植地区蓝莓果中花色苷组成虽基本一致但含量存在差异。云南龙朋代表的低纬度、高海拔地区种植的蓝莓果中花色苷总含量最高,高纬度、低海拔地区的浙江草塔的蓝莓果中花色苷总含量最低。结论:不同种植地区的地理环境影响蓝莓果中花色苷的分布,高海拔地区的环境条件更利于蓝莓果实中花色苷的合成和积累。

关键词 蓝莓果; 花色苷; 花青素; 地理环境; 海拔高度

文章编号 1009-7848(2022)10-0314-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.10.034

蓝莓(*Vaccinium* spp.)是杜鹃花科越橘属一种高经济价值的特色小浆果,被联合国粮农组织列为人类五大健康食品之一。蓝莓果实中除了含有丰富的维生素、矿物质等营养成分外,还含有多酚、黄酮、花青素等生物活性物质,有“浆果之王”的美誉^[1-2]。据报道,蓝莓具有改善记忆力和认知能力,防止氧化应激损伤,抑制炎症及改善心血管健康等功能^[3]。蓝莓的保健功能主要源于其花青素类活性物质。美国人类营养学机构 USDA 研究人员发现,蓝莓花青素含量在各类果蔬中排名第一,开发潜力巨大^[4]。蓝莓花青素包括矢车菊素(Cy)、飞燕草素(Dp)、芍药素(Pn)、牵牛花素(Pt)和锦葵色素(Mv),自然状态下,花青素主要以半乳糖苷、葡萄糖苷、阿拉伯糖苷等花色苷形式存在^[5]。

随着人们对蓝莓保健功能的认可,蓝莓的市

场需求逐步扩大,种植效益也逐渐显现出来,截止 2020 年底,全国蓝莓栽培面积已达到 6.64 万 hm²,其中种植面积较大的省份有贵州(15 000 hm²)、辽宁(7 800 hm²)、山东(7 333 hm²)、四川(6 667 hm²)、云南(5 000 hm²)等^[6]。经过多年优化,北方地区蓝莓品种已基本稳定,南方地区呈现多品种化。结合蓝莓品种的自然特点及我国各地的气候特征,经引种试验发现长江流域产区和云贵高原产区适宜发展兔眼蓝莓^[7],其中品名为“灿烂”的兔眼蓝莓采摘期长,有较高的商业价值^[8]。研究表明不同产地及气候条件对蓝莓花色苷的含量具有一定的影响,花青素浓度随纬度和地理位置改变而显著变化^[9]。与海拔梯度相关的环境因素也能对蓝莓花青素的积累产生微调作用^[10]。目前,国内外有关蓝莓品质的研究多集中在不同蓝莓品种之间,而有关不同产地同一品种蓝莓品质的特性差异鲜有报道。本文以兔眼蓝莓“灿烂”为研究对象,选择长江流域产区和云贵高原产区不同海拔高度、纬度和种植规模的 10 个产地,测定蓝莓果中花色苷的组成与含量,分析各种种植地区的地理环境条件对同一品种蓝莓果实中花色苷分布的影响,以更加深

收稿日期: 2021-10-02

基金项目: 江苏省自然科学基金项目 (BK20161376);江苏省“333 高层次人才培养工程”项目 (BRA 2018380)

作者简介: 张晓晓(1997—),女,硕士生

通信作者: 柴智 E-mail: sophia_chai@163.com

入了解不同产地蓝莓品质的差异,对蓝莓的引种栽培和生产加工提供参考。

1 材料与方 法

1.1 原料及试剂

品名为“灿烂”的兔眼蓝莓样品,采摘自湖北省黄冈市黄梅县独山镇、浙江省绍兴市诸暨市草塔镇、江苏省南京市溧水区白马镇、贵州省黔东南苗族侗族自治州麻江县宣威镇、贵州省黔东南苗族侗族自治州麻江县贤昌乡营山村、云南省丽江市玉龙纳西族自治县石鼓镇、云南省大理白族自

治州大理市银桥镇、云南省玉溪市澄江县右所镇、云南省玉溪市澄江县海口镇、云南省红河哈尼族彝族自治州石屏县已冲村,以下简称湖北独山、浙江草塔、江苏白马、贵州宣威、贵州贤昌、云南石鼓、云南银桥、云南右所、云南海口、云南龙朋。于 2017 年 7 月采样,每个园区随机选择 5 株蓝莓为一个样本,每株随机采样 120 g 左右。每个产地采摘 9 个样本,共计 90 个样本。

采样的 10 个地区均属于亚热带季风气候,具体地区名称、经纬度、海拔高度、年平均气温及气压条件如表 1 所示。

表 1 10 个地区主要地理环境

Table 1 Key geographical environment conditions in ten regions

地区	经度/°	纬度/°	海拔高度/ m	气压/ kPa	平均气温/ ℃	7 月平均 气温/℃	年降水量/ mm	年日照 时数/h
湖北独山	115.956980	30.080566	37	101	17.1	30	2 505	3 278.1
浙江草塔	120.185903	29.760903	199	101	16.3	32	1 752.5	3 204.6
江苏白马	119.034699	31.657412	49	101	15.5	27	1 616.5	3 442.2
贵州宣威	107.746114	26.365500	750	92	16.2	25	2 226.7	2 974.1
贵州贤昌	107.725471	26.456448	912	93	14.4	25	1 990.3	2 974.1
云南石鼓	99.961965	26.870440	1 950	81	12.8	20	1 412.8	4 174.8
云南银桥	100.130156	25.761248	2 010	80	20.3	19	1 683	4 073.2
云南右所	102.922200	24.649383	1 731	82	14.7	21	1 848.3	3 925.3
云南海口	102.946933	24.520210	1 787	82	12.9	19	1 669.1	3 869.8
云南龙朋	102.667915	23.858291	1 840	81	18.3	19	1 794.4	3 656.2

标准品锦葵色素-3-O-半乳糖苷、锦葵色素-3-O-葡萄糖苷,美国 Sigma-Aldrich 公司;飞燕草素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-半乳糖苷、矢车菊素-3-O-阿拉伯糖苷、矮牵牛素-3-O-半乳糖苷、矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷,北京索莱宝科技有限公司;飞燕草素-3-O-阿拉伯糖苷、矮牵牛素-3-O-阿拉伯糖苷,上海吉至生化有限公司;飞燕草素-3-O-半乳糖苷、芍药素-3-O-半乳糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷,法国中草药(Extrasynthese)公司;锦葵色素-3-O-阿拉伯糖苷,上海甄准生物科技有限公司。乙腈(色谱纯),TEDIA 天地试剂(美国)有限公司;磷酸(色谱纯),阿拉丁试剂(上海)有限公司。其它试剂均为分析纯级。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪 Agilent-1200(配置 G1311A 二元泵和 G1315D 二极管阵列检测器)、液-质谱

联用仪 Agilent-1100 HPLC【配备有 UV 检测器、LCQ 离子阱质谱仪(MS)和电喷雾电离接口(ESI)】、XDB-C18 色谱柱、Zorbax SB-C18 柱(250 mm×4.6 mm,5 μm),美国安捷伦科技有限公司;数控超声波处理设备 KH7200DB,昆山禾创超声仪器有限公司;旋转蒸发仪 RE-2000A,济南欧莱博科学仪器有限公司;匀浆机 JYL-C91T,杭州九阳股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 蓝莓果实花青素的提取 称取 2.0 g 蓝莓,研磨匀浆后加入 85%甲醇和 0.5%甲酸的混合提取溶剂,经超声、离心后取上清液,得到蓝莓花青素提取液。提取步骤重复 3 次,提取溶剂体积加入量分别为 20,20,10 mL。超声条件:20 ℃,20 min,100 W。离心条件:5 000 r/min,10 min。3 次提取液合并,于-20 ℃冰箱保存,用于后续检测分析^[1]。

1.3.2 HPLC测定花青素含量 取10 mL蓝莓花青素提取液于旋转蒸发仪60℃下蒸干,加入1 mL甲醇甲酸提取溶剂溶解,将复溶液用0.22 μm聚偏二氟乙烯膜(Polyvinylidene fluoride, PVDF)过滤后,经Agilent-1200高效液相色谱仪对各蓝莓花青素提取物及13种花色苷标准品进行测定^[12],采用XDB-C18色谱柱进行分离。以1.0%的磷酸缓冲液为流动相A,100%的乙腈为流动相B。流速设置0.6 mL/min,运行柱温25℃,波长520 nm。梯度洗脱:0~5 min,5%B;15~25 min,10%B;25~35 min,12%B;35~50 min,15%B;50~60 min,18%B;60~80 min,25%B;80~90 min,30%B。

1.3.3 HPLC-ESI-MS鉴定蓝莓果实花青素 采用Agilent-1100 HPLC系统,分析柱为Zorbax SB-C18柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)。流动相A为溶于超纯水中的6%甲酸,流动相B为溶于乙腈的6%甲酸。洗脱梯度同1.3.2节。在阳离子模式下,ESI毛细管电压为3.0 kV,毛细管温度为350℃。使用1.5 L/min的雾化气体和10 L/min的干燥气体进行氮离子化。ESI的扫描范围在 m/z 100~1 200^[13]。

1.4 数据处理与分析

数据统计应用Excel 2016处理,所有数据均平行测定3次,以“平均值±标准差”表示。Pearson法对相关系数进行分析,双尾法检验显著性。采用GraphPad Prism 5.0软件作图,使用JMP10进行聚类分析。 $P < 0.05$ 即为差异显著。

2 结果与分析

2.1 种植地区对蓝莓果实中花色苷含量的影响

通过HPLC和LC-ESI-MS分析,根据保留时间和MS光谱数据,结合标品测定和文献[14]和[15]对照,鉴定了10个种植地区的蓝莓果实中的花色苷,发现不同地区蓝莓果实中花色苷的分布存在差异(表2)。蓝莓果实中含有5种花青素苷元,共检测到13种不同的花色苷,其中锦葵色素、矢车菊素、飞燕草素、矮牵牛素均以半乳糖苷、葡萄糖苷和阿拉伯糖苷形式存在,而芍药素仅检测到半乳糖苷。

锦葵色素-3-O-半乳糖苷和矢车菊素-3-O-半乳糖苷为各地区的蓝莓果中含量最高的花色

苷,大部分地区的这2种花色苷含量在100 μg/g以上,其中云南龙朋的矢车菊素-3-O-半乳糖苷含量最高,达到(343.22±59.61)μg/g。云南右所及石鼓、贵州宣威、湖北独山、浙江草塔的蓝莓果中均以锦葵色素-3-O-半乳糖苷含量最多,分别为(236.93±37.79), (223.93±82.46), (213.01±49.95), (174.27±57.16)μg/g及(58.19±14.96)μg/g。云南龙朋、银桥、海口和贵州贤昌、江苏白马所产的蓝莓果中以矢车菊素-3-O-半乳糖苷为所有花色苷中含量之最,分别为(343.22±59.61), (214.75±29.28), (195.74±30.61), (109.25±16.66)μg/g及(92.31±22.29)μg/g。锦葵色素-3-O-阿拉伯糖苷也是蓝莓果中的优势花色苷,贵州宣威和云南石鼓中含量也超过100 μg/g。飞燕草素-3-O-葡萄糖苷和矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷含量低,有的地区蓝莓果中未检测出,可能因本身缺失或含量低,仪器灵敏度不够造成的。除贵州贤昌外其它地区蓝莓果中均检测到矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷,而含量均不超过2 μg/g。飞燕草素-3-O-葡萄糖苷仅在贵州宣威、云南石鼓、云南银桥和云南龙朋所产蓝莓果中检测到,含量在(0.61±0.65)~(1.51±0.67) μg/g之间。矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的含量稍高于飞燕草素-3-O-葡萄糖苷和矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷,范围在(1.09±1.09)~(8.14±1.61)μg/g之间,也明显低于其它10个糖苷的含量。云南龙朋花色苷总含量最高,为(1 342.57±271.56)μg/g,各花色苷含量差异也最大,最高的锦葵色素-3-O-半乳糖苷含量是最低飞燕草素-3-O-葡萄糖苷的227余倍。浙江草塔的花色苷总含量最小,仅为(260.93±71.17)μg/g,不到云南龙朋的五分之一,除贵州贤昌未检测到矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷外,各花色苷含量均以浙江草塔样品最低。

2.2 种植地区对蓝莓果实中5类花青素苷元含量的影响

由图1可知,不同地区所产蓝莓中,均含有飞燕草素、矢车菊素、矮牵牛素、锦葵色素和芍药素,然而这5类花青素苷元的分布情况存在差异。10个地区的蓝莓果实中花青素,除云南龙朋外,其它地区所产蓝莓均为锦葵色素含量最高,依次为矢车菊素、飞燕草素、矮牵牛素、芍药素;而云南龙朋所产蓝莓中,矢车菊素的含量最高,其次为锦葵色

表 2 不同地区蓝莓果实中花色苷的分布

采样地点

花色苷/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	湖北狼山	浙江草塔	江苏白马	贵州宣威	贵州贤昌	云南石鼓	云南银桥	云南右所	云南海口	云南龙朋
飞燕草素-3-	65.11±29.34	28.78±12.46	53.71±21.85	90.78±28.43	45.53±10.46	108.90±22.28	99.07±18.57	85.35±20.99	68.41±22.75	165.36±23.74
O-半乳糖苷				0.61±0.65		1.41±0.68	1.08±0.25			1.51±0.67
飞燕草素-3-										
O-葡萄糖苷				45.95±12.00	23.06±4.98	52.99±20.17	49.85±8.90	42.24±10.06	30.79±9.76	73.08±19.34
飞燕草素-3-	32.57±13.91	14.04±5.91	23.68±9.19							
O-阿拉伯糖苷				143.96±37.16	109.25±16.66	168.14±27.84	214.75±29.28	234.05±49.43	195.74±30.61	343.22±59.61
矢车菊素-3-	93.28±37.08	56.89±13.33	92.31±22.29							
O-半乳糖苷				3.16±1.05	1.47±0.93	4.42±1.63	5.70±1.15	5.06±1.22	4.12±0.66	8.14±1.61
矢车菊素-3-	2.23±1.44	1.09±1.09	2.33±0.85							
O-葡萄糖苷				59.69±13.43	45.84±6.33	71.08±11.70	91.69±11.45	98.16±20.56	75.60±11.90	131.27±22.84
矢车菊素-3-	37.10±14.64	23.08±5.35	34.65±7.87							
O-阿拉伯糖苷				76.54±19.80	35.87±6.87	80.90±28.94	75.68±12.72	75.28±17.00	58.06±17.52	118.20±26.16
矮牵牛素-3-	59.52±23.42	24.01±8.47	40.45±13.91							
O-半乳糖苷				0.75±0.57		1.37±1.00	0.27±0.35	1.09±0.68	0.37±0.00	1.89±0.97
矮牵牛素-3-	0.25±0.01	1.48±0.00	0.50±0.00							
O-葡萄糖苷				32.07±3.12	15.57±2.61	32.32±0.66	30.24±4.97	30.30±5.84	21.43±6.22	42.22±9.35
矮牵牛素-3-	24.33±4.93	9.82±3.29	14.42±4.89							
O-阿拉伯糖苷				50.67±11.28	29.40±3.66	51.15±13.33	58.56±8.45	79.52±13.00	51.24±7.97	84.99±14.93
芍药素-3-O-	33.23±12.59	15.65±3.48	22.47±5.99							
半乳糖苷				213.01±49.95	91.02±14.04	223.93±82.46	203.86±37.61	236.93±37.79	154.34±42.12	252.79±51.93
锦葵色素-3-	174.27±57.16	58.19±14.96	80.16±25.70							
O-半乳糖苷				22.31±4.73	12.20±1.75	23.37±7.24	24.72±3.86	30.97±4.67	19.14±3.03	30.97±5.67
锦葵色素-3-	15.25±5.41	6.87±1.94	8.80±2.63							
O-葡萄糖苷				105.95±14.96	40.05±6.81	101.43±13.94	76.81±5.33	96.83±13.74	68.02±6.17	89.89±9.62
锦葵色素-3-	79.68±5.55	22.35±6.44	30.65±8.00							
O-阿拉伯糖苷				834.57±	449.26±	910.18±	931.19±	1 015.17±	736.95±	1 342.57±
总花色苷	611.13±	260.93±	400.68±	184.77	66.68	278.65	142.51	183.62	133.09	271.56
	215.52	71.17	119.16							

素。云南龙朋的蓝莓果中,除锦葵色素含量与贵州宣威、云南石鼓、云南银桥、云南右所相似外,其它花青素含量均显著高于其它地区($P<0.05$)。

结合表2与图1可知,在长江流域产区(湖北独山、浙江草塔及江苏白马)种植的蓝莓果中,以湖北独山的各类花青素含量最高,均显著高于浙江草塔($P<0.05$);除锦葵色素含量显著高于江苏白马以外,其它花青素的含量均无显著性差异。浙江草塔的蓝莓果中各花青素含量稍低于江苏白马,而差异并不显著。贵州宣威和贤昌同属于贵州麻江县,两地的蓝莓果中除了矢车菊素含量相似外,宣威的飞燕草素、矮牵牛素、芍药素含量均高于贤昌($P<0.05$),锦葵色素更远远高于贤昌的蓝莓果中的含量($P<0.01$),造成含量差异的原因主要是宣威位于东部地区气温高,贤昌位于西部地区气温低,花色苷含量与温度呈正相关^[16]。云南各地区的蓝莓中花青素含量稍高于其它地区,这是由于云南地区海拔较高,海拔高度对土壤的pH

值和有效养分存在较大影响^[17],进而影响蓝莓的品质和花色苷的积累^[18]。有研究表明,高海拔地区生长的酿酒葡萄中多酚类物质含量更多^[19];海拔高度的增加也能促使紫薯表皮的花青素含量增多^[20]。表1与表2结合来看,10个地区中湖北独山、浙江草塔以及江苏白马的纬度居于前3位,海拔高度居于后3位,而这3个地区所产蓝莓的总花青素含量较低,这表明高纬度、低海拔的平原地区对蓝莓花青素的合成存在一定影响,不利于花青素的积累;云南产区(石鼓、银桥、右所、海口、龙朋)的纬度较低且海拔高度较高,其所产蓝莓的花青素含量也相对较高,即低纬度、高海拔的高原地区有利于蓝莓花青素的产生,在低气压环境下能够促进蓝莓花青素的积累,并且云南龙朋所产蓝莓的总花青素含量最高,该地区在10个地区中纬度最低,海拔也偏高,其年平均气温也可能更适合蓝莓花青素的积累。

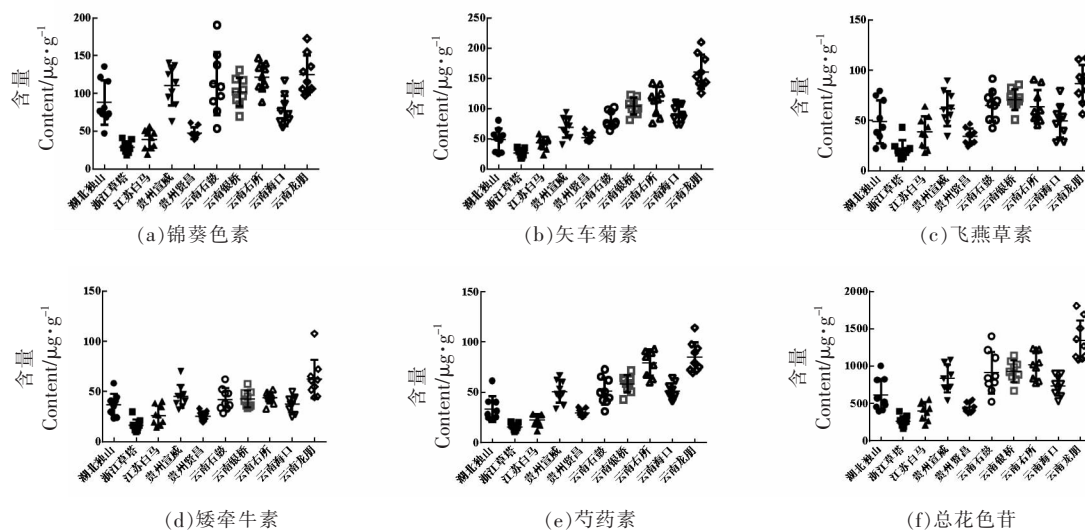


图1 不同地区蓝莓果实中5类花青素及总花色苷含量

Fig.1 Contents of five anthocyanins and total anthocyanins in blueberry fruits from different regions

2.3 种植地区对蓝莓果实中糖苷含量的影响

在蓝莓果实中花青素以花色苷的形式存在,主要是半乳糖苷、葡萄糖苷和阿拉伯糖苷。具体分布情况如图2。其中,每种花色苷中均为半乳糖苷占比最高,均超过总花色苷含量的66%;其次为阿拉伯糖苷,约占总花色苷含量的26%~32%;葡萄

糖苷类花色苷的含量较低,仅占总花色苷含量的1%~8%,可见在蓝莓花色苷中,以半乳糖苷类化合物为主。芍药素由于缺少或未检测到葡萄糖苷和阿拉伯糖苷类化合物而导致其含量最低。

如图3所示,不同种植地区的蓝莓果实中各花色苷占比相似。各地蓝莓果实中含量最高的花

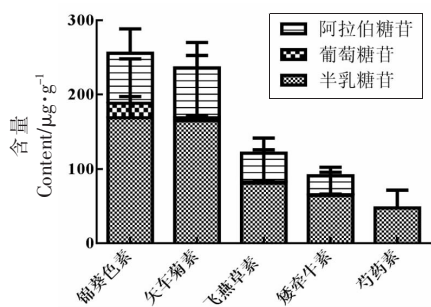


图 2 不同地区蓝莓果实 5 类花青素中糖苷分布
Fig.2 Glycosides in five anthocyanins in blueberry fruits from different regions

色苷占比均在 22% 以上，矢车菊素-3-O-半乳糖苷及锦葵色素-3-O-半乳糖苷是含量较高的 2 种

花色苷，范围分别为 15.3%~26.6% 和 18.8%~28.5%。各地蓝莓果实中以葡萄糖苷和阿拉伯糖苷形式存在的花色苷占比在 4%~13.4% 之间，飞燕草素-3-O-半乳糖苷、矢车菊素-3-O-阿拉伯糖苷、矮牵牛素-3-O-半乳糖苷、锦葵色素-3-O-阿拉伯糖苷占比为 10% 左右，飞燕草素-3-O-阿拉伯糖苷、矮牵牛素-3-O-阿拉伯糖苷、芍药素-3-O-半乳糖苷占比在 5% 左右。以葡萄糖苷形式存在的花色苷占比最低，其中锦葵色素-3-O-葡萄糖苷占比在 2.2%~3.1% 之间，飞燕草素-3-O-葡萄糖苷、矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷和矢车菊素-3-O-葡萄糖苷占比均在 1% 以下。

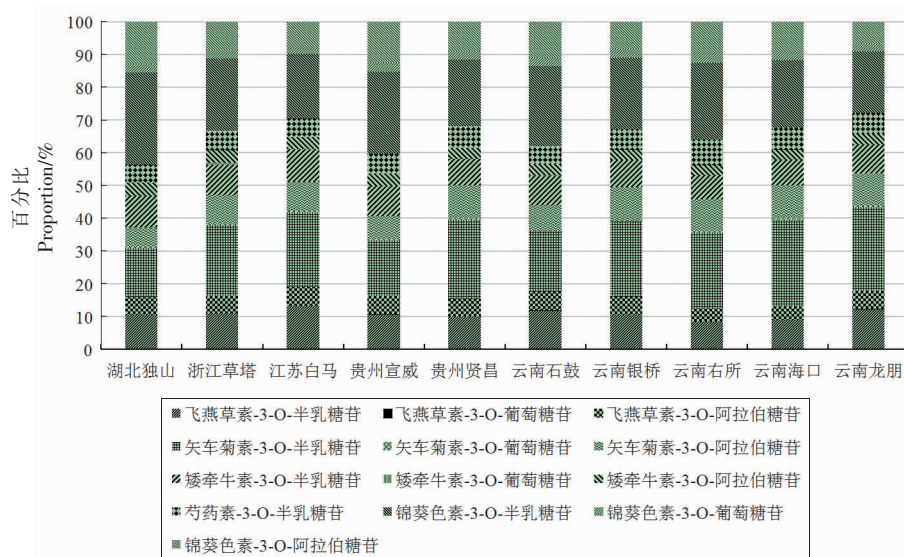


图 3 不同地区蓝莓果实中各花色苷占比
Fig.3 The proportion of anthocyanins in blueberry fruits from different regions

2.4 种植地区环境条件对蓝莓果实中花色苷分布的影响

花色苷的合成是遗传基因和外界环境共同作用的结果。花色苷生物合成相关基因决定了花色苷的种类，而环境因子既可以影响花色苷生物合成的速率，还可以对其积累量和稳定性产生影响^[9]。本研究对花色苷分布与种植地区的不同地理环境进行相关性分析(表 3)，探究环境因子对花色苷分布的影响。结果表明花色苷含量与种植地区的海拔高度、年日照时数呈正相关，与经纬度、

气压、7 月平均气温呈负相关，与年均气温、年降水量无显著相关性。

结合表 1 和表 2，在海拔 37~2 010 m 高度范围内，海拔越高，蓝莓果的花色苷含量越高。这可能是植物在有更强的太阳辐射和紫外线的高海拔地区的一种自我保护机制^[20]，这种强辐射和紫外线会增加如活性氧(ROS)等自由基，激活类黄酮的生物合成，特别是花青素^[21]，以保护植物器官。何涛等^[22]研究表明，因为高海拔地区有着较强的光照和辐射，温度较低，有利于花色苷合成。海拔

高度的影响与花色苷元的种类相关,Zoratti 等^[23]研究表明,飞燕草素和锦葵色素类花色苷随海拔高度的增加而增加,而矢车菊素和芍药素类花色苷没有明显变化。结合表1和表2可看出,云南各种植地区海拔较高,花色苷含量较其它地区高。庄维兵等^[24]认为糖类物质能影响花色苷的合成,花色苷的积累受糖的诱导,激活或抑制一些基因的表达。Zeng 等^[25]研究表明高海拔地区的“灿烂”蓝莓果中甜度更高,为花色苷的合成积累了大量的底物,更利于花色苷的积累。随着海拔的升高,气压逐渐降低,由表3可看出气压与花色苷含量成负相关,即低气压地区更利于花色苷的积累。

纬度的变化会导致气候条件的相应变化,例如光强和温度。这些因素影响着植物的代谢和代谢物的浓度。由表1和表2可知,长江流域地区的江苏白马、浙江草塔等地纬度高于云贵高原地区,蓝莓果中花色苷含量显著低于云贵高原地区。Andreas 等^[19]研究了不同纬度和地理来源的欧洲越橘果实中花色苷含量,结果表明花青素浓度随纬度和地理位置的改变发生显著变化,北纬地区的花青素含量较高,而母本产地偏北的花青素含量较高。Zheng 等^[16]研究表明生长在高纬度的黑加仑果实中的花色苷含量高于生长在低纬度的,这与本研究结果相反。这可能是由于浆果品种及生长环境不同所致,纬度对浆果果实组成的影响既可以解释为环境因素对植物代谢的短期影响,也可以解释为植物长期适应环境所导致的基因进化。为进一步了解纬度对蓝莓果实花色苷含量的影

响,有必要进一步研究天气条件与蓝莓果花色苷分布的关系。

光照和温度是影响花色苷合成的重要的环境因素,Albert 等^[26]发现大多数植物花色苷的积累与光照强度成正相关,光照越强,越容易诱导花色苷合成的结构基因和调节基因的表达,矮牵牛花色素只有在高光照条件下生长才会有强烈的着色,说明存在一种光诱导调控因子,负责激活花青素途径。Zoratti 等^[23]对野越桔和高丛蓝莓的花青素组成进行研究,发现温度和光照通过影响类黄酮3',5'羟化酶(F3'5'H)基因来影响受测野越桔花青素含量。高温和低温都会影响植物次生代谢产物酶的活性,低温更有利于植物类黄酮的生成^[26]。表3显示日照时数长且温度低的地区花色苷含量较高,可能是各环境因素相互作用的结果。采收月7月的平均气温与花色苷含量成负相关,而年平均温度与花色苷含量没有显著相关性,这一结果表明果实成熟阶段的环境温度对花色苷的积累影响较大。目前未发现探究经度对花色苷含量的影响,结合表1和表2,推测西部地区的环境更适于花色苷的积累,其相关性有待进一步探究。

云南省5个种植地区处于低纬度、高海拔、低气压地区,这5个地区的蓝莓果总花色苷分布由高到低为:龙朋>右所>银桥>石鼓>海口。云南海口镇西濒抚仙湖,除海口小三角洲外均是山区,境内山峰起伏、沟壑纵横,阶梯状地貌东低北高,形成了冷凉山区和温热河谷的立体气候,全镇气候及自然条件差异较大,当地地理环境的特殊性导

表3 总花色苷含量与蓝莓种植地区地理环境的相关性

Table 3 Correlation between total anthocyanins content and geographical environment of blueberry planting regions

	总花色苷	经度	纬度	海拔高度	气压	平均气温	7月平均气温	年降水量	年日照时数
总花色苷	1	-0.792**	-0.774**	0.774**	-0.817**	0.247	-0.793**	-0.165	0.552**
经度		1	0.880**	-0.962**	0.968**	0.056	0.939**	0.299	-0.659**
纬度			1	-0.869**	0.884**	0.022	0.830**	0.131	-0.412*
海拔高度				1	-0.995**	-0.040	-0.950**	-0.493**	0.773**
气压					1	0.025	0.962**	0.461*	-0.764**
平均气温						1	0.048	0.200	-0.055
7月平均气温							1	0.467**	-0.734**
年降水量								1	-0.717**
年日照时数									1

注:*. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$ 。

致了该地蓝莓果中花色苷含量与云南其它地区的差异。总之,云南省内村镇的纬度较低且海拔高度较高,日照时数长,温度相对低,其所产蓝莓的花色苷含量也相对较高,表明低纬度、高海拔的高原地区有利于花色苷的产生,在低温、低气压环境下能够促进蓝莓酚类化合物的积累。

2.5 不同种植地区蓝莓果实中各花色苷含量及环境因子聚类分析

以不同种植地区的蓝莓果实中 13 种花色苷含量及经纬度、海拔高度、气温、日照等环境因子进行聚类分析,将蓝莓果实按种植地区聚合为两大类。一类是长江流域产区的湖北独山、浙江草塔、江苏白马和云贵高原产区的贵州贤昌,总花色苷含量显著低于云贵高原产区的贵州宣威及云南各地区($P<0.05$)。这与表 2 及图 1 中的结论一致。湖北独山的蓝莓果品质优于浙江草塔和江苏白马。贵州贤昌地区比同属于贵州高原的宣威地区的蓝莓果中花色苷含量低($P<0.01$),可能是由于宣威和贤昌分别位于低海拔、高气温的东部地区和高海拔、低气温的西部地区,在气压、纬度等条件相似的情况下,海拔高度影响了花色苷的积累。

另一类是贵州宣威和云南各地区,属云贵高原产区。云南各种种植地区均属于低纬度、高海拔、低气压地区,这种环境下更利于花色苷的产生,云南龙朋地区种植的蓝莓果中除锦葵色素-3-*O*-阿拉伯糖苷外其它花色苷含量均高于或等于其它地区,可能其温度更适于花色苷的积累。贵州宣威处于亚热带季风湿润地带,当地的气候条件比贤昌更适于蓝莓果中酚类化合物的积累,环境的特殊性使其总花色苷含量与云南石鼓、银桥、右所和海口相似。

3 结论

本研究选择长江流域产区和云贵高原产区的品名为“灿烂”的兔眼蓝莓果为研究对象,探究不同地区蓝莓果中花色苷的分布,除芍药素仅检测到半乳糖苷外,锦葵色素、矢车菊素、飞燕草素、矮牵牛素均以半乳糖苷、葡萄糖苷和阿拉伯糖苷形式存在,共 13 种。通过对比不同的蓝莓果实花色苷分布可知,大多数蓝莓果实中锦葵色素和矢车菊素含量最高,各类花青素以半乳糖苷形式存在

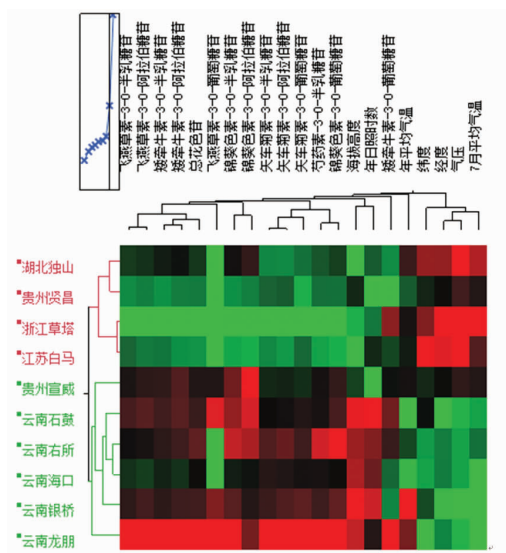


图 4 不同地区蓝莓果实中花色苷分布与地理环境条件聚类分析

Fig.4 Cluster analysis of anthocyanin distribution in blueberry fruits and geographical environment in different regions

的最多,其次是阿拉伯糖苷、葡萄糖苷。各地区的蓝莓果中含量最高的花色苷为锦葵色素-3-*O*-半乳糖苷和矢车菊素-3-*O*-半乳糖苷,飞燕草素-3-*O*-葡萄糖苷和矮牵牛素-3-*O*-葡萄糖苷是含量最低的花色苷。在不同地区中,云南龙朋总花色苷含量最高,浙江草塔的最低。

不同地域环境对蓝莓花青素的积累有较大影响,低纬度、高海拔的高原地区在低气压环境下更能促进蓝莓花青素的积累。日照和温度也影响花色苷的合成和积累。光照强度与花色苷的形成呈正相关,低温更利于花色苷的合成。在长江流域产区(湖北独山、浙江草塔及江苏白马)种植的蓝莓中,以湖北独山的果实中花色苷含量最高,可能当地的气候条件更适于蓝莓的生长及花色苷的累积。贵州麻江县的宣威镇和贤昌镇同属于亚热带季风湿润气候区,两地的气压、纬度等其它环境条件相似的情况下,海拔高度和年均气温的差异是影响两地蓝莓果实中花色苷含量的主要环境因素。由于高原山地地区环境复杂,气候和自然条件差异大,云南省内村镇(石鼓、银桥、右所、海口和龙朋)种植的蓝莓果花色苷含量受经纬度、海拔高度等影响更为复杂,是多种环境因素综合作用的

结果。今后可选取更多地区样本,深入了解蓝莓种植地区地理环境,进一步探究种植地区环境条件与蓝莓果中花色苷积累的关系。

参 考 文 献

- [1] SKROVANKOVA S, SUMCZYNSKI D, MLCEK J, et al. Bioactive compounds and antioxidant activity in different types of berries[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(10): 24673-24706.
- [2] 彭丽, 李宇芳, 罗运潮, 等. 兔眼蓝莓果实品质与区域自然环境条件的关系探析[J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(23): 35-36, 54.
- PENG L, LI Y F, LUO Y C, et al. Analysis of relationship between natural environmental conditions and fruit quality of *Vaccinium ashei*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2017, 45(23): 35-36, 54.
- [3] MILLER K, FEUCHT W, SCHMID M. Bioactive compounds of strawberry and blueberry and their potential health effects based on human intervention studies: A brief overview[J]. *Nutrients*, 2019, 11(7): 1510.
- [4] NORBERTO S, SILVA S, MEIRELES M, et al. Blueberry anthocyanins in health promotion: A metabolic overview[J]. *Journal of Functional Foods*, 2013, 5(4): 1518-1528.
- [5] TIAN Q G, GIUSTI M M, STONER G D, et al. Screening for anthocyanins using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization tandem mass spectrometry with precursor ion analysis, product-ion analysis, common-neutral-loss analysis, and selected reaction monitoring[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1091(1/2): 72-82.
- [6] 李亚东, 裴嘉博, 陈丽, 等. 2020 中国蓝莓产业年度报告[J]. *吉林农业大学学报*, 2021, 43(1): 1-8.
- LI Y D, PEI J B, CHEN L, et al. China blueberry industry report 2020[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2021, 43(1): 1-8.
- [7] 徐德冰. 云南丽江高海拔地区五个越橘品种光合特性和果实品质研究[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2017.
- XU D B. The study on photosynthesis characteristic and fruit quality of five blueberry cultivars in high altitude area of Lijiang in Yunnan Province [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2017.
- [8] 刘娟, 周长富, 龚碧涯, 等. 8 个蓝莓品种果实成熟规律和品质研究[J]. *湖南农业科学*, 2021(1): 15-19.
- LIU J, ZHOU C F, GONG B Y, et al. Research on the ripening regularity and quality of 8 blueberry varieties[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2021(1): 15-19.
- [9] ANDREAS A, LAURA J, ULLA B, et al. Effects of latitude-related factors and geographical origin on anthocyanidin concentrations in fruits of *Vaccinium myrtillus* L. (bilberries)[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(22): 11939-11945.
- [10] SPINARDI A, COLA G, GARDANA C S, et al. Variation of anthocyanin content and profile throughout fruit development and ripening of highbush blueberry cultivars grown at two different altitudes[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1045.
- [11] 王兰娇, 李大婧, 张良聪, 等. 利用密度泛函理论分析蓝莓花色苷抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2020, 41(17): 53-59.
- WANG L J, LI D J, ZHANG L C, et al. Analysis of antioxidant activity of blueberry anthocyanins using density functional theory[J]. *Food Science*, 2020, 41(17): 53-59.
- [12] WU H, CHAI Z, HUTABARAT R P, et al. Blueberry leaves from 73 different cultivars in southeastern China as nutraceutical supplements rich in antioxidants [J]. *Food Research International*, 2019, 122: 548-560.
- [13] WU X L, PRIOR R L. Systematic identification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the united states: Fruits and berries [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(7): 2589-2599.
- [14] HUTABARAT R P, XIAO Y D, WU H, et al. Identification of anthocyanins and optimization of their extraction from rabbiteye blueberry fruits in Nanjing[J]. *Journal of Food Quality*, 2019, 6806790: 1-10.
- [15] VERKA G, MARINA K, VIKTOR G, et al. Separation, characterization and quantification of phenolic compounds in blueberries and red and black currants by HPLC-DAD-ESI-MSn[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(8): 4009-4018.

- [16] ZHENG J, YANG B, RUUSUNEN V, et al. Compositional differences of phenolic compounds between black currant (*Ribes nigrum* L.) cultivars and their response to latitude and weather conditions[J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2012, 60(26): 6581.
- [17] 刀静梅, 刘少春, 张跃彬, 等. 不同海拔蔗区土壤有机质、全氮含量和 pH 值特征[J]. 土壤与作物, 2017, 6(4): 298-303.
DAO J M, LIU S C, ZHANG Y B, et al. Soil organic matter, total nitrogen and pH in sugarcane farmlands at different altitudes[J]. Soils and Crops, 2017, 6(4): 298-303.
- [18] 周晓梅, 汤珍妮, 白鹤, 等. 土壤环境对蓝莓植株生长发育的研究现状与展望[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版), 2019, 40(1): 100-105.
ZHOU X M, TANG Z N, BAI H, et al. Research status and prospects of soil environment on blueberry plant growth and development[J]. Journal of Jilin Normal University (Natural Science Edition), 2019, 40(1): 100-105.
- [19] 蒋宝, 蒲飞, 孙占育, 等. 海拔对酿酒葡萄果实和相应葡萄酒中多酚物质影响的研究概述[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(8): 262-267.
JIANG B, PU F, SUN Z Y, et al. Research progress on influence of cultivation altitude on phenolics of grape berry and wine[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(8): 262-267.
- [20] 郑顺林, 张仪, 李世林, 等. 不同海拔高度对紫色马铃薯产量、品质及花青素含量的影响[J]. 西南农业学报, 2013, 26(4): 1420-1423.
ZHENG S L, ZHANG Y, LI S L, et al. Effects of different altitudes on yield, quality and anthocyanin content of purple potato (*Solanum tuberosum* L.)[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2013, 26(4): 1420-1423.
- [21] JAAKOLA L, MAATTA -RIIHINEN K, KAREN-LAMPI S, et al. Activation of flavonoid biosynthesis by solar radiation in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) leaves[J]. Planta, 2004, 218(5): 721-728.
- [22] 何涛, 杜鸿燕, 马义, 等. 香格里拉海拔高度对‘赤霞珠’葡萄果实花色苷的影响[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2021(1): 8-13.
HE T, DU H Y, MA Y, et al. Effect of altitude on anthocyanin of ‘Cabernet Sauvignon’ grape in Shangri-La region [J]. Sion-overseas Grapevine & Wine, 2021(1): 8-13.
- [23] ZORATTI L, JAAKOLA L, HAGGMAN H, et al. Anthocyanin profile in berries of wild and cultivated *Vaccinium* spp. along altitudinal gradients in the alps[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(39): 8641-8650.
- [24] 庄维兵, 刘天宇, 束晓春, 等. 植物体内花青素苷生物合成及呈色的分子调控机制[J]. 植物生理学报, 2018, 54(11): 1630-1644.
ZHUANG W B, LIU T Y, SHU X Q, et al. The molecular regulation mechanism of anthocyanin biosynthesis and coloration in plants[J]. Plant Physiology Journal 2018, 54(11): 1630-1644.
- [25] ZENG Q L, DONG G Q, TIAN L L, et al. High altitude is beneficial for antioxidant components and sweetness accumulation of rabbiteye blueberry [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 573531.
- [26] ALBERT N W, LEWIS D H, ZHANG H, et al. Light-induced vegetative anthocyanin pigmentation in *Petunia*[J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(7): 2191-2202.

The Distribution of Anthocyanins in Blueberry Fruits from Different Growing Locations

Zhang Xiaoxiao^{1,2}, Huang Wuyang^{1,2}, Yu Hong³, Zeng Qilong³, Chai Zhi^{1*}

¹Institute of Agro-Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014

²School of Food and Bioengineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, Jiangsu

³Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014)

Abstract Objective: The aim of this study is to explore the relationship between anthocyanins content in blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits and environmental factors such as altitude and latitude of different growing locations. Methods: Rabbiteye blueberry ‘Brightwell’ (*Vaccinium ashei* cv. ‘Brightwell’) grown in ten locations of China with different altitude

and latitude were investigated with their anthocyanin distribution. High performance liquid chromatography (HPLC) and High performance liquid chromatography–electrospray ionization–mass spectrometry (HPLC–ESI–MS) were used to qualitatively and quantitatively analyze anthocyanins in blueberry fruits, and the composition and content of anthocyanins in blueberry fruits from different growing locations were compared. Results: A total of 13 anthocyanins from five anthocyanidins were detected in blueberry fruits. The anthocyanidin with the highest content was malvidin, followed by cyanidin, delphinidin, petunidin, and peonidin. All the anthocyanidins had three glycosides except that peonidin only was detected with galactoside. The total content of galactoside was higher than that of arabinoside and glucosides. The contents of malvidin-3-*O*-galactoside and cyanidin-3-*O*-galactoside were the highest in blueberry fruits, while the contents of delphinidin-3-*O*-glucoside and petuniatin-3-*O*-glucoside were the lowest, which were not detected or existed in some blueberry fruits. The composition of anthocyanins in blueberry fruits from different growing locations was similar, but the contents of anthocyanins were different. The total anthocyanin content in blueberry fruits from Longpeng County of Yunnan Province at a low latitude and high altitude was the highest, while the total anthocyanin content in blueberry fruits from Zhejiang Caota at a high latitude and low altitude was the lowest. Conclusions: The geographical environment of different growing locations affects the distribution of anthocyanins in blueberry fruits, and high altitude is beneficial for the synthesis and accumulation of anthocyanins in blueberry fruits.

Keywords blueberry; anthocyanin; anthocyanidin; geographical environment; altitude