

红树莓和黄树莓果实中的代谢物比较分析

吴雅琼¹, 张春红¹, 杨海燕¹, 闫连飞¹, 李维林^{2*}, 吴文龙^{1*}

¹江苏省中国科学院植物研究所 果树研究中心 南京 210014

²南京林业大学林学院 南方现代林业协同创新中心 南京 210037

摘要 为探究黄树莓和红树莓成熟果实中的代谢物差异,对其进行非靶向 LC-MS 代谢组学分析。在正离子模式下,共检测到 708 种(98 种已知)差异代谢物。在负离子模式下,共有 780 个(45 种已知)差异代谢物。通过 KEGG 数据库的代谢富集分析,红树莓和黄树莓果实中共有 1 566 个差异代谢物富集在新陈代谢、遗传信息处理、环境信息处理和人类疾病这 4 大类别上。这些差异代谢物共富集在 66 个通路上,代谢途径富集的差异代谢物最多(34 种)。此外,黄树莓果实中的飞燕草素葡萄糖苷、脱落酸、氯化肉桂酸和橙皮素较红树莓果实中分别下调了-1.496,-1.632,-1.527,-0.477 倍。而原叶绿酸在黄树莓果实中上调了 10 倍以上。研究结果为不同树莓果实中特定化合物的开发和利用提供理论依据。

关键词 树莓; 初生代谢物; 次生代谢物; 液相色谱-质谱联用

文章编号 1009-7848(2023)01-0318-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.01.030

树莓是蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(*Rubus*)重要经济林小浆果类落叶灌木,又名覆盆子、山莓果和悬钩子等,是世界四大小浆果类型之一,亦是新兴的第 3 代水果之王^[1-3]。树莓的适应性较强,栽培和管理相对粗放,且产量稳定,结果较早,定植第 2 年即可结果,经济收益可观。树莓果实富含多种维生素、氨基酸和矿物质等营养元素,树莓的根、茎和叶皆可入药,树莓提取物具有降血糖、抗氧化、抗菌和抗癌等作用^[3-4]。树莓除鲜食外,还可加工成果汁、果酱、果醋、果酒和果粉等产品,深受人们的喜爱^[5-6]。随着人们生活水平的提高,药用产业和食品加工业的不断发展,如何充分利用树莓中的各种次生代谢物,已成为研究重点。按照树莓果实成熟时的颜色,分为红树莓、黄树莓、紫树莓和黑树莓 4 类^[7]。分析不同类型树莓果实内含物的差异,可为其差异化精深加工利用提供重要参考。

植物中的代谢物质既包括糖类、氨基酸和蛋白质等初级代谢物,又包含黄酮类等多酚化合物

和萜类化合物等重要次生代谢物,这些物质经过研究和提取具有不同的药理作用^[8]。树莓功能因子中关于花色苷的研究最多,研究表明随着果实成熟度的增加,花色苷的种类和含量不断丰富和提高;花色苷有抗氧化和抗癌等作用,也可作为天然的食品着色剂,保证花色苷的生物利用率,助于综合开发利用^[5,9]。吴继军等^[10]利用固相微萃取-气质谱联用方法对红树莓和黄树莓挥发性风味成分进行差异研究,得出黄树莓的挥发性成分比红树莓复杂。代谢组学是对某一生物或细胞在特定生理或发育状态下,所有低分子量代谢物同时进行定量和定性分析的一门学科,是定量评价果蔬品质的有效途径之一^[11]。基于质谱平台的检测方式是现阶段代谢组学技术发展的主要方向^[12]。本文采用非靶向 LC-MS 检测方法对红树莓和黄树莓的初生代谢物和次生代谢物进行比较分析,明确主要的差异代谢物和代谢富集通路,以期对树莓的药物研究和开发提供参考。

收稿日期: 2022-01-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(32101566);江苏省自然科学基金青年科学基金项目(BK20210165);江苏省中科院植物研究所博士人才科研启动基金项目(JIBTF202105)

第一作者: 吴雅琼,女,博士,助理研究员

通信作者: 李维林 E-mail: wlli@njfu.edu.cn

吴文龙 E-mail: 1964wwl@163.com

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

红树莓品种‘Heritage’和黄树莓品种‘Colde Summit’成熟果实,于 2020 年 6 月采收。每株取 3 个果实为 1 个重复,3 个生物学重复。采样试验地位于江苏省中国科学院植物研究所的溧水科研基地(31°35′ N,119°09′ E)。

甲醛 ($\geq 99.0\%$)、乙腈 ($\geq 99.9\%$), Thermo Fisher Scientific (美国); 2-氯苯丙氨酸 (98.5%), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 甲酸 (LC-MS grade), Tokyo Chemical Industry (日本); 甲酸铵 ($\geq 99.9\%$), Sigma (美国); 双蒸水, Millipore (美国)。

1.2 仪器及设备

H1650-W 冷冻离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; QL-866 混匀仪, 北京海天友诚科技有限公司; 昆山舒美 KQ-100TDV 高频超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; SCIENTZ-48 高通量研磨器, 宁波新芝生物科技股份有限公司; $0.2\ \mu\text{m}$ 聚四氟乙烯 (PTFE) 微孔滤膜, 天津津腾有限公司。

1.3 样品处理和代谢物提取

精确称取样本 200 mg 后, 加入 0.6 mL *L*-2-氯苯丙氨酸 (4 ppm), 涡旋振荡 30 s 后放入研磨仪中 50 Hz 研磨 1 min, 超声辅助提取 15 min, $25\ ^\circ\text{C}$ 下 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 300 μL , $0.22\ \mu\text{m}$ 膜过滤, 滤液移入检测瓶, 上样, 进行 LC-MS 检测。

1.4 色谱和质谱条件

色谱条件: 采用 Thermo Vanquish 仪器, 使用 ACQUITY UPLC[®] HSS T3 $1.8\ \mu\text{m}$ ($2.1\ \text{mm}\times 150\ \text{mm}$) 色谱柱, 自动进样器温度 $8\ ^\circ\text{C}$, 流速 0.25 mL/min, 柱温 $40\ ^\circ\text{C}$, 进样量 2 μL , 梯度洗脱具体参数参见 Wu 等^[13]的研究方法。

质谱条件: 使用 Thermo Q Exactive Focus 仪器, 电喷雾离子源 (ESI), 正负离子电离模式, 正离子喷雾电压 3.50 kV, 负离子喷雾电压 2.50 kV, 鞘气 30 arb, 辅助气 10 arb。毛细管温度 $325\ ^\circ\text{C}$, 以分辨率 70 000 进行全扫描, 扫描范围 81~1 000, 并采用 HCD 进行二级裂解, 碰撞电压 30 eV, 同时采用动态排除去除无必要的 MS/MS 信息^[14]。

1.5 代谢物的定性、定量分析

为进一步了解黄树莓和红树莓化学成分的差异, 对两组样品进行多元统计分析。采用无监督的 PCA 对两组样本间的总体分布进行分析。PLS-DA 和 OPLS-DA 对各组间代谢轮廓的总体差异分析, 并找到组间的差异代谢物。此外, 采用变量权重值 $\text{VIP}>1$ 和 $P<0.05$ 为识别差异代谢物的标准, 并对差异代谢物通过 KEGG 数据库进行代谢通路富集分析。

2 结果与分析

2.1 分析模型的建立

为了解红树莓和黄树莓果实中化学成分的差异, 对这两组样品进行多元统计分析。无监督的主成分分析 (Principal component analysis, PCA) 表明, 在正离子模式下的前 2 个主成分的贡献率为 $\text{PC1}=38.7\%$, $\text{PC2}=19.6\%$, 共解释了 58.3% 的原始变量信息 (图 1a); 而在负离子模式下的前 2 个主成分的贡献率为 $\text{PC1}=38.9\%$, $\text{PC2}=22\%$, 能够代表解释 60.9% 的原始变量信息 (图 1b)。PCA 得分图

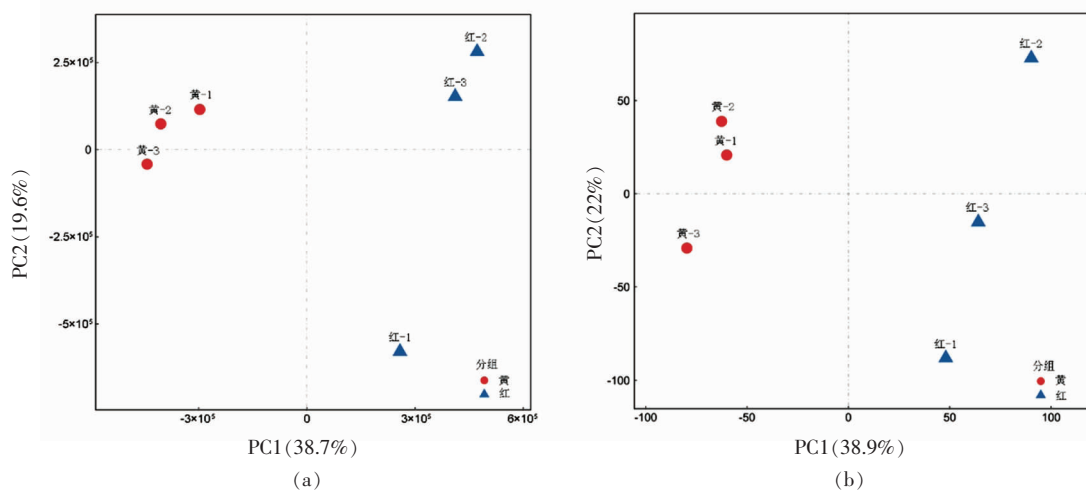


图 1 黄树莓和红树莓的 PCA 分析图

Fig.1 PCA analysis of yellow raspberry and red raspberry

还直观地反映出黄树莓在坐标轴的负方向,而红树莓在坐标轴的正方向上,二者分别位于坐标轴的两侧,说明黄树莓和红树莓的成熟果实间的代谢物存在明显差异。

由于PCA是无监督的统计分析,主成分是模糊的,不能忽略组内误差和消除随机误差,所以需要采用有监督模式识别的多元统计方法偏最小二乘判别分析(Partial least-squares discrimination analysis, PLS-DA)和正交偏最小二乘判别分析(Orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA)。PLS-DA可以使组间区分最大化,有利于寻找差异代谢物,在正离子模式下 $t1=39%$,负离子模式下 $t1=31%$ (图2a和2c)。此外,在确定黄树莓和红树莓果实的差异成分时,还需要采用有监督的OPLS-DA。OPLS-DA分析是

以变量的重要性为主要依据,从而对代谢物质进行选择 and 甄别,更能把握多位数据整体的特征以及变异规律。OPLS-DA得分图显示(图2b和2d),正离子模式下 $R^2X=0.578$, $R^2Y=1$, $Q^2Y=0.902$;负离子模式下 $R^2X=0.713$, $R^2Y=0.995$, $Q^2Y=0.709$,这些模型参数指数均大于0.5,符合试验数据模型的预期,说明建立的OPLS-DA模型可以有效地说明黄树莓和红树莓成熟果实中代谢产物的差异和区别。通过OPLS-DA置换验证模型,发现该模型的可靠性良好(图3a和3c),基于载荷图(Loading plot)可以筛选出分类贡献较大的变量,在正离子模式下 $P1=38%$, $pOrtho1=38%$,而在负离子模式下 $P1=19.4%$, $pOrtho1=19.4%$,且在横坐标方向上远离原点的变量对两组样本的区分贡献更大(图3b和3d)。

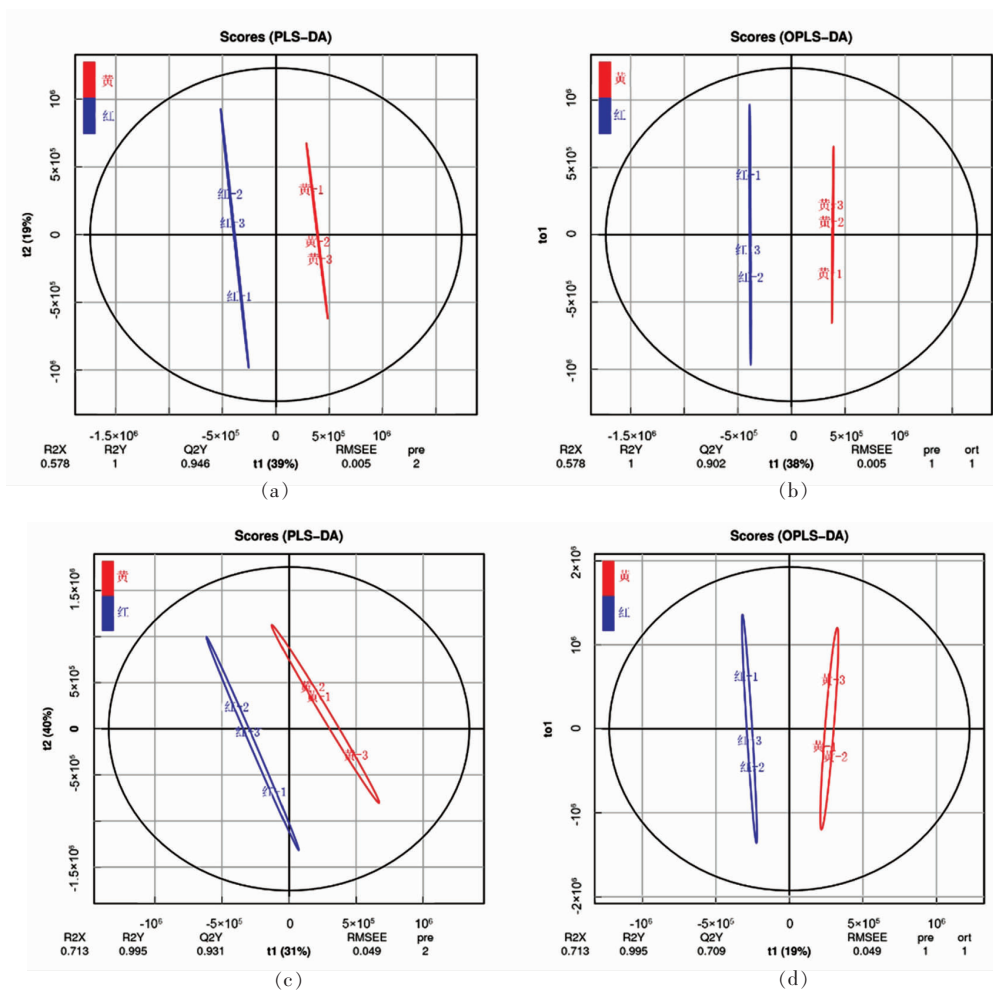


图2 黄树莓和红树莓的PLS-DA和OPLS-DA分析图

Fig.2 PLS-DA and OPLS-DA analysis of yellow raspberry and red raspberry

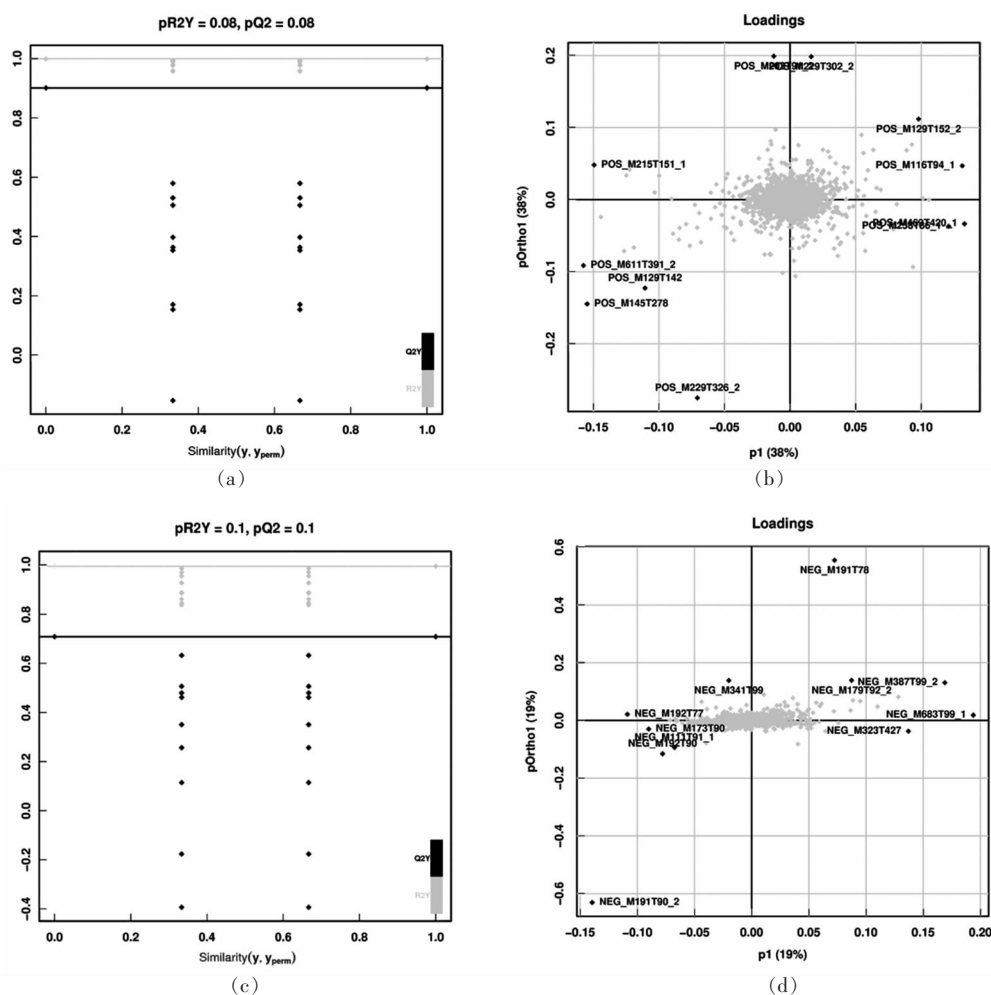


图 3 黄树莓和红树莓的 OPLS-DA 置换检验图和载荷图

Fig.3 OPLS-DA displacement test and loading plot diagram of yellow raspberry and red raspberry

2.2 差异代谢物初步分析

基于 LC-MS 的代谢物质测定和多元统计分析,在正离子模式下从红树莓和黄树莓成熟果实中共发现 708 个差异代谢物质,其中 98 个为已知化合物,黄树莓果实中有 422 个差异代谢物含量显著高于红树莓,286 个差异代谢物显著低于红树莓(图 4a)。在负离子模式下,从红树莓和黄树莓成熟果实中共发现 780 个差异代谢物质,其中 45 个差异代谢物质为已知化合物,有 515 个代谢物在黄树莓中的含量比红树莓高(图 4b)。正离子模式下,有 10 个差异代谢物为羧酸及其衍生物(Carboxylic acids and derivatives),8 个为类黄酮(Flavonoids),7 个为有机氧化物(Organooxygen compounds)。负离子模式下,有 7 个代谢物为有机氧化物,3 个为类黄酮化合物,3 个为羧酸及其衍

生物。

2.3 代谢通路相关主要代谢物分析

通过 KEGG 数据库的代谢富集分析,将黄树莓和红树莓成熟果实中的代谢物进行归类。结果表明,有 1 566 个差异代谢物质富集在 4 大类别上,即新陈代谢(Metabolism,10 个亚类)、遗传信息处理(Genetic information processing,2 个亚类)、环境信息处理(Environmental information processing,2 个亚类)和人类疾病(Human diseases,包含 1 个差异代谢物在内分泌和代谢性疾病 Endocrine and metabolic diseases 亚类中)(图 5a);红树莓和黄树莓果实中的差异代谢物质共富集在 66 个通路上,前 20 个通路如图 5b 所示,其中 34 个主要差异代谢物质分布在代谢途径上(Metabolic pathways,ko01100),25 个差异代谢物

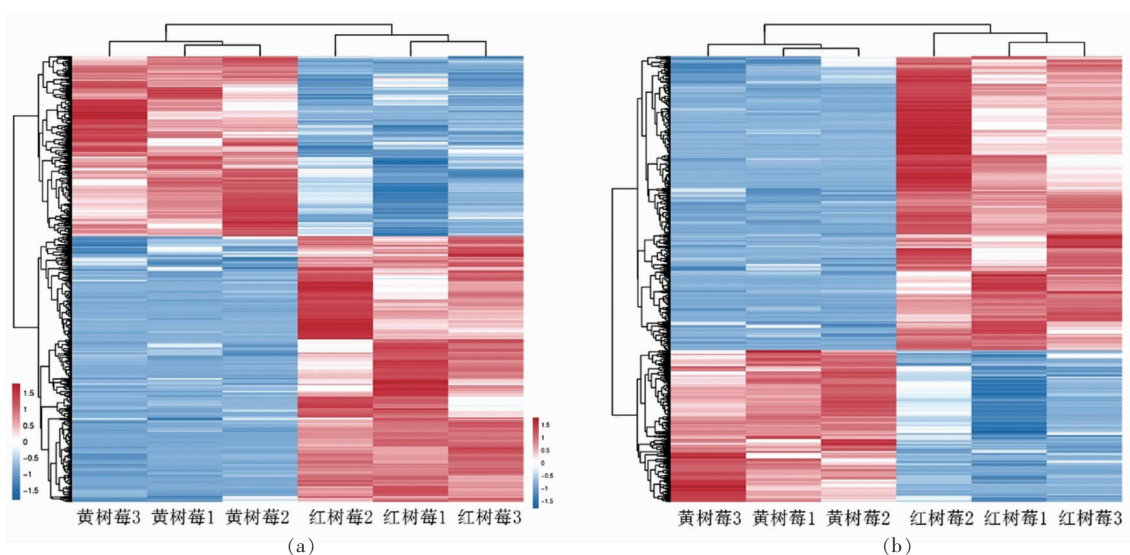


图4 黄树莓和红树莓差异代谢物的热点图

Fig.4 Hot spot of differentially expressed metabolites between yellow raspberry and red raspberry

与次生代谢产物的生物合成(Biosynthesis of secondary metabolites,ko01110)相关,14个差异代谢物与不同环境中的微生物代谢(Microbial metabolism in diverse environments,ko01120)相

关,14个差异代谢物与抗生素的生物合成(Biosynthesis of antibiotics,ko01130)相关,12个差异代谢物与花色苷生物合成(Anthocyanin biosynthesis,ko00942)相关。

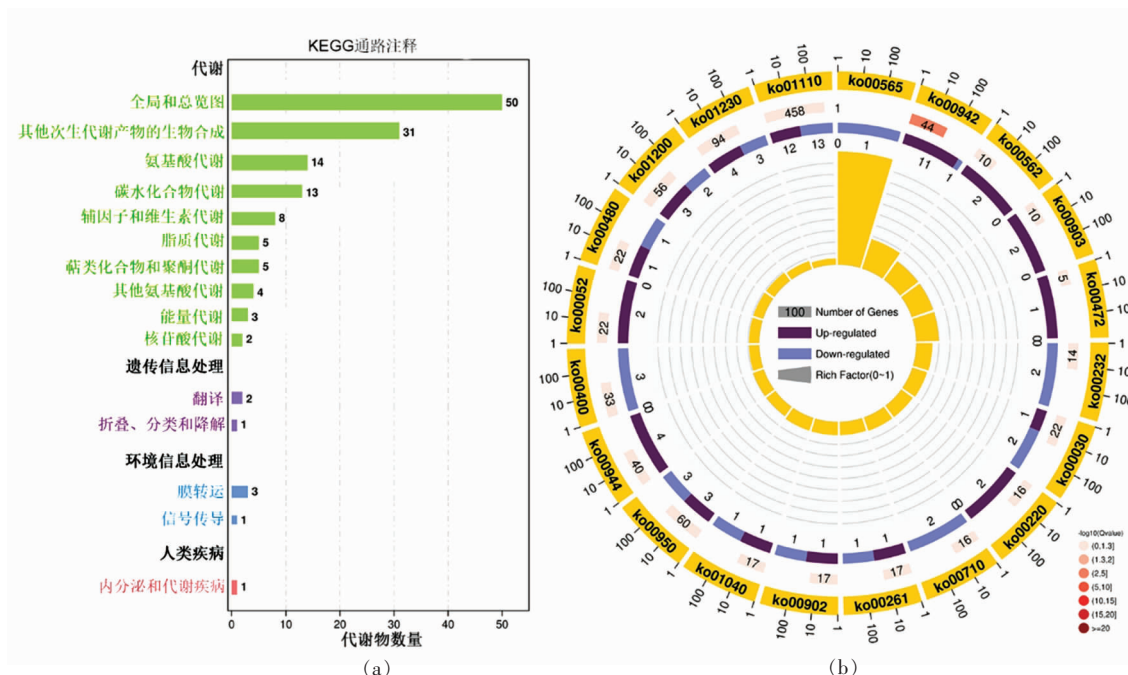


图5 黄树莓和红树莓差异代谢物的KEGG富集分析

Fig.5 KEGG enrichment analysis of differentially expressed metabolites in yellow raspberry and red raspberry

2.4 果实颜色相关的主要差异代谢物分析

果实颜色的差异主要是花色苷、类胡萝卜素、

丙氨酸、叶绿素、黄酮等各种色素占比不同决定的,而这些物质的生物合成通路中主要代谢物的

差异可能是引起黄树莓和红树莓的果实颜色差异的主要原因。对黄树莓和红树莓果实中的花色苷合成通路、黄酮和黄酮醇生物合成通路、类胡萝卜素合成通路、苯丙氨酸代谢通路、黄酮生物合成通路、吡啉与叶绿素代谢通路上的差异代谢物质进行分析,结果表明黄树莓果实中的飞燕草素葡萄糖苷(Delphinidin 3-glucoside)、脱落酸((S)-Ab-scisic acid)、氢化肉桂酸(Hydrocinnamic acid)和

橙皮素(Hesperetin)较红树莓果实中分别下调了-1.496,-1.632,-1.527和-0.477倍(表1)。花色苷生物合成通路中有11个代谢物在黄树莓果实中含量显著较高。4个与黄酮和黄酮醇生物合成相关的代谢物在黄树莓果实中含量较高。吡啉与叶绿素代谢中的原叶绿酸(Protochlorophyllide)在黄树莓果实中上调了10倍以上。

表 1 黄树莓和红树莓果实着色相关的主要差异代谢物

Table 1 Main differentially expressed metabolites related to fruit coloring of yellow raspberry and red raspberry

通路	差异倍数	名称
花色苷生物合成	4.448	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷
花色苷生物合成	5.831	氯化葡萄糖苷芍药素
花色苷生物合成	9.463	氯化花青素-3-桑布双糖苷
花色苷生物合成	6.781	矢车菊素-3-芸香糖苷
花色苷生物合成	5.995	花青苷
花色苷生物合成	10.047	天竺葵素 5-O-β-D-葡萄糖苷 3-O-β-D-桑布双糖苷
花色苷生物合成	9.181	天竺葵素 3-O-β-D-葡萄糖苷 5-O-(6-香豆酰-β-D-葡萄糖苷)
花色苷生物合成	2.174	天竺葵素 3-O-芸香苷 5-O-β-D-葡萄糖苷
花色苷生物合成	8.228	花青素 3-O-芦丁糖苷 5-O-β-D-葡萄糖苷
花色苷生物合成	7.960	天竺葵素 3-O-(6-咖啡酰-β-D-葡萄糖苷)5-O-β-D-葡萄糖苷
花色苷生物合成	-1.496	飞燕草素葡萄糖苷
花色苷生物合成	20.058	花青素 3-葡萄糖苷 5-咖啡酰葡萄糖苷
黄酮和黄酮醇生物合成	3.707	丙二酰松
黄酮和黄酮醇生物合成	4.105	山奈酚 3-槐三糖苷
黄酮和黄酮醇生物合成	6.383	槲皮素 3-O-[β-D-木糖醇-(1->2)-β-D-葡萄糖苷]
黄酮和黄酮醇生物合成	5.516	山奈酚 3-O-β-D-葡萄糖基-(1->2)-β-D-葡萄糖苷
类胡萝卜素合成	-1.632	脱落酸
苯丙氨酸代谢	-1.527	氢化肉桂酸
类黄酮生物合成	-0.477	橙皮素
吡啉与叶绿素代谢	10.852	原叶绿酸

3 讨论与结论

代谢组学分析能够对植物复杂多重复样品的化合物进行有效的质量控制分析,从而避免未知组分引起各种问题^[15]。本研究通过非靶向 LC-MS 代谢组学方法,在正离子模式下从红树莓和黄树莓果实中得到 708 个差异代谢物质(其中 98 个为已知化合物)(图 4a),在负离子模式下得到 780 个差异代谢物质(其中 45 个为已知化合物)(图 4b),为不同树莓类型或品种中各代谢物质详细组分的研究奠定了基础。通过 PCA 和热点聚类分

析,均发现黄树莓和红树莓的生物学重复性较好,同一组内的不同生物学重复样品最先聚在一起。通过有监督的 PLS-DA 和 OPLS-DA 模型,能有效地对黄树莓和红树莓成熟果实的代谢物进行差异分析。

差异代谢物所在通路的分析可以为植物代谢物积累过程中复杂的生物活动提供有效参考^[16]。基于代谢物通路分析,本研究发现 34 个主要差异代谢物质分布在代谢途径上(Metabolic pathways, ko01100),说明黄树莓和红树莓成熟果实中的代

谢物的活跃性较高且存在较大差异。吴继军等^[10]通过对黄树莓和红树莓的挥发性成分的分析检测,发现黄树莓的色谱峰和挥发性成分比红树莓更复杂,主要香气成分也存在显著差异。本研究发现黄树莓中花色苷类次生代谢产物和原叶绿酸的含量较红树莓高(表1)。

果实颜色的差异是由于果实发育过程中各种色素(叶绿素、花青素、类黄酮、类胡萝卜素等)占比不同所致,果实中的花青素占比高,会影响果实中红色、紫色和蓝色的呈现。而果实中类黄酮和类胡萝卜素占比多,一般会影响果实中黄色、橙红色和红色的呈现。有研究发现飞燕草素的含量积累越多,颜色越深^[17-18]。不同果实含有的色素种类和占比各不相同,这些天然色素对身体有益^[13]。黄树莓和红树莓的成熟果实在颜色上存在显著差异,叶绿素、类胡萝卜素、黄酮和花色苷的生物合成途径上的基因表达和代谢物积累对造成颜色差异有一定影响。树莓类小浆果中含有丰富的营养和保健成分,尤其是次生代谢物中的酚类化合物^[19],花色苷和黄酮是其果实中主要的酚类化合物。综上所述,本研究发现黄树莓果实中的飞燕草素葡萄糖苷(Delphinidin 3-glucoside)、脱落酸((S)-Abscisic acid)、氢化肉桂酸(Hydrocinnamic acid)和橙皮素(Hesperetin)较红树莓果实中分别下调了-1.496,-1.632,-1.527,-0.477倍。而吡啉与叶绿素代谢中的原叶绿酸(Protochlorophyllide)和大部分花色苷类代谢物在黄树莓果实中比红树莓上调了10倍以上。

参 考 文 献

- [1] 吴文龙,李维林,闫连飞,等.黑莓引种栽培与利用[M].南京:江苏科学技术出版社,2010:1-2.
WU W L, LI W L, LÜ L F, et al. Cultivation and utilization of blackberry in China[M]. Nanjing: Phoenix Science Press, 2010: 1-2.
- [2] 丁文静,杜国福,冷鹏,等.不同树莓品种经济性状比较试验[J].园艺与种苗,2020,40(10):20-22.
DING W J, DU G F, LENG P, et al. Comparative experiment on economic characters of different raspberry varieties[J]. Horticulture & Seed, 2020, 40(10): 20-22.
- [3] ISPIRYAN A, VISKELIS J, VISKELIS P. Red raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil: A Review[J]. Plants-Basel, 2021, 10(5): 944.
- [4] PALONEN P, LAINE T, MOUHU K. Floricane yield and berry quality of seven primocane red raspberry (*Rubus idaeus* L.) cultivars [J]. Scientia Horticulturae, 2021, 285: 110201.
- [5] BURTON-FREEMAN B M, SANDU A K, EDIRISINGHE I. Red raspberries and their bioactive polyphenols: Cardiometabolic and neuronal health links[J]. Advances in Nutrition, 2016, 7(1): 44-65.
- [6] CHEN J Y, DU J, LI M L, et al. Degradation kinetics and pathways of red raspberry anthocyanins in model and juice systems and their correlation with color and antioxidant changes during storage [J]. LWT -Food Science and Technology, 2020, 128: 109448.
- [7] 王晓天,李兴国,李大龙,等.不同树莓品种中非花色苷酚的鉴定与分析[J].北方园艺,2021(11):36-43.
WANG X T, LI X G, LI D L, et al. Identification and analysis of non-anthocyanin phenolics in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars[J]. Northern Horticulture, 2021(11): 36-43.
- [8] TOSHIMA S, HIRANO T, KUNITAKE H. Comparison of anthocyanins, polyphenols, and antioxidant capacities among raspberry, blackberry, and Japanese wild *Rubus* species[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 285: 110204.
- [9] ZHANG X Q, SANDHU A, EDIRISINGHE I, et al. An exploratory study of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) (poly) phenols/metabolites in human biological samples [J]. Food & Function, 2018, 9(2): 806-818.
- [10] 吴继军,肖更生,徐玉娟,等.红树莓与黄树莓挥发性成分差异研究[J].食品研究与开发,2014,35(22):90-93.
WU J J, XIAO G S, XU Y J, et al. Research on red and yellow raspberries' differences of volatile components [J]. Food Research and Development, 2014, 35(22): 90-93.
- [11] 鲁忠富,李艳伟,汪颖,等.基于广泛靶向代谢组学的瓠瓜果实鲜味差异代谢物分析[J].中国蔬菜,2021,6:34-41.
LU Z F, LI Y W, WANG Y, et al. Analysis of fruit umami differential metabolites of bottle gourd

- based on widely targeted metabolomics[J]. *China Vegetables*, 2021, 6: 34–41.
- [12] OGURA T, BAMBA T, FUKUSAKI E. Development of a practical metabolite identification technique for non-targeted metabolomics [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1301: 73–79.
- [13] WU Y, ZHANG C, HUANG Z, et al. The color difference of *Rubus* fruits is closely related to the composition of flavonoids including anthocyanins [J]. *LWT—Food Science and Technology*, 2021, 149: 111825.
- [14] YOU R, ZHOU W, LI Y, et al. Inhibition of ROCK2 alleviates renal fibrosis and the metabolic disorders in the proximal tubular epithelial cells [J]. *Clinical Science*, 2020, 134(12): 1357–1376.
- [15] THEODORIDIS G A, GIKA H G, WANT E J, et al. Liquid chromatography–mass spectrometry based global metabolite profiling: A review [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 711: 7–16.
- [16] LI X, SUN J, CHEN Z, et al. Characterization of carotenoids and phenolics during fruit ripening of Chinese raspberry (*Rubus chingii* Hu) [J]. *RSC Advances*, 2021, 11(18): 10804–10813.
- [17] NODA N. Recent advances in the research and development of blue flowers [J]. *Breeding Science*, 2018, 68(1): 79–87.
- [18] 刘春玉, 李敏, 郭丹丽. 高效液相色谱法测定薰衣草花中花色苷含量 [J]. *分子植物育种*, 2021: 1–10. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210406.1828.018.html>.
- LIU C Y, LI M, GUO D L. Determination of anthocyanins in lavender flowers by HPLC [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021: 1–10. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210406.1828.018.html>.
- [19] BOBINAITĖ R, VIŠKELIS P, VENSKUTONIS P R. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(3): 1495–1501.

Comparative Analysis of Metabolites in Red Raspberry and Yellow Raspberry Fruits

Wu Yaqiong¹, Zhang Chunhong¹, Yang Haiyan¹, Lü Lianfei¹, Li Weilin^{2*}, Wu Wenlong^{1*}

(¹*Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Research Center for Pomology, Nanjing 210014*

²*Nanjing Forestry University, Co-innovation Center for the Sustainable Forestry in Southern China, College of Forestry, Nanjing 210037*)

Abstract To explore the differences of metabolites in the mature fruits of yellow raspberry and red raspberry, nontargeted LC–MS metabolomics analysis was carried out. A total of 708 (98 known) significantly differentially expressed metabolites were detected in the positive ion mode. In the negative ion mode, there were 780 (45 known) significantly differentially expressed metabolites. Through the metabolic enrichment analysis of KEGG database, 1 566 differentially expressed metabolites in red raspberry and yellow raspberry fruits are enriched in four categories: metabolism, genetic information processing, environmental information processing and human diseases. These differentially expressed metabolites were enriched in 66 pathways, and the metabolic pathways (ko01100) enriched the most differential metabolites (34 species). In addition, delphinidin 3–glucoside, (s)–abscisic acid, hydrocinnamic acid and hesperetin in yellow raspberry fruits were –1.496, –1.632, –1.527 and –0.477–fold lower than those in red raspberry fruits, respectively. Protochlorophyllide was up–regulated more than 10 times in yellow raspberry fruit. The results provide theoretical basis for the development and utilization of specific compounds in different raspberry fruits.

Keywords raspberry; primary metabolites; secondary metabolites; LC–MS