

基于代谢组学的红菜薹和菜心茎部色泽差异成分比较

唐康^{1,2}, 李桂花¹, 郭巨先¹, 罗文龙¹, 骆善伟¹, 姜诗政², 符梅^{1*}

(1. 广东省农业科学院蔬菜研究所, 广东省蔬菜新技术研究重点实验室, 广东广州 510642)

(2. 华南农业大学园艺学院, 广东广州 510642)

摘要: 该研究以湘红薹 1 号红菜薹 (XHT1H, R) 和义农 50 天菜心 (YN50T, G) 为研究对象, 采用超高效液相色谱-串联质谱 (UPLC-MS/MS) 技术对 2 种菜薹类黄酮类物质进行检测, 并采用主成分分析、热图分析和正交偏最小二乘-判别分析等方法对红菜薹和菜心代谢组学进行分析, 筛选差异代谢物。主成分分析发现, 两种菜薹化合物含量的分布具有明显差异。正交偏最小二乘-判别分析结果表明, 两种菜薹中共鉴定到 170 种差异类黄酮类代谢物, 包括 56 种黄酮醇类、38 种花青素类、32 种黄酮类等代谢物。其中, 花青素中包括 25 种矢车菊素类糖苷, 6 种飞燕草素糖苷, 3 种芍药花素苷, 3 种牵牛花素苷, 且红菜薹比菜心中含量高的差异倍数前十的代谢物中, 有 6 种为矢车菊素。该研究从代谢组学角度分析了不同菜薹类黄酮成分差异, 推测矢车菊素、飞燕草素、芍药花素和牵牛花素与红菜薹的色泽有关, 其结果为进一步研究菜薹茎部色泽的形成机制和色素的利用提供参考。

关键词: 红菜薹; 菜心; 代谢组学; 花青素

文章编号: 1673-9078(2023)09-137-143

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.9.0998

Metabolomics-based Comparison of Color Difference Components in the Stems of Hong Caitai and Caixin

TANG Kang^{1,2}, LI Guihua¹, GUO Juxian¹, LUO Wenlong¹, LUO Shanwei¹, JIANG Shizheng², FU Mei^{1*}

(1. Vegetable Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangdong Key Laboratory for New Technology Research of Vegetables, Guangzhou 510642, China)

(2. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This study aimed to comparatively analyze the flavonoid contents of the purple-colored cultivar Xianghongtai No. 1 (XHT1H, R) and the green-colored cultivar Yinong 50 tian Caixin (YN50T, G). The flavonoid compounds were separated and identified by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Principal component analysis (PCA), hierarchical cluster analysis, and orthogonal partial least squares discrimination analysis (OPLS-DA) were used to analyze metabolomics data and screen for differential metabolites in Hong Caitai and Caixin. PCA revealed significant differences in the flavonoid compound contents between the two varieties. OPLS-DA identified 170 different flavonoid metabolites, including 56 flavonols, 38 anthocyanidins, and 32 flavones. The anthocyanidins included 25 cyanidin glycosides, six delphinidin glycosides, three peonidin glycosides, and three petunidin glycosides. Additionally, six of the top ten metabolites with higher content in Hong Caitai than in Caixin were cyanidins. Based on the differential flavonoids profiles of the two varieties, cyanidin, delphinidin, peonidin, and petunidin were associated with the pigmentation in Hong Caitai. These results provide a reference for further study of the mechanism of stem color formation and pigment utilization in Caitai.

Key words: Hong Caitai (*Brassica rapa*); Caixin (*Brassica rapa*); metabolomics; anthocyanin

引文格式:

唐康, 李桂花, 郭巨先, 等. 基于代谢组学的红菜薹和菜心茎部色泽差异成分比较[J]. 现代食品科技, 2023, 39(9): 137-143

TANG Kang, LI Guihua, GUO Juxian, et al. Metabolomics-based comparison of color difference components in the stems of Hong Caitai and Caixin [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(9): 137-143

收稿日期: 2022-10-12

基金项目: 广州市科技计划项目 (202102020442); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2020A1515110377); 广东省农业科学院创新基金项目 (202108); 广东省蔬菜新技术重点实验室开放基金 (201907); 国家科技部外专局项目 (QN2022030025L); 广东省农业厅项目 (粤财农[2022] 184 号)

作者简介: 唐康 (1997-), 男, 在读硕士, 研究方向: 蔬菜生理栽培, E-mail: 2435256142@qq.com

通讯作者: 符梅 (1988-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 蔬菜分子生物学, E-mail: meizi07166@126.com

红菜薹别名紫菜薹,属十字花科芸薹属白菜类蔬菜作物的变种。红菜薹起源于长江流域中部,是我国著名的特色叶菜之一,主要种植于湖北、湖南和广东等地^[1]。红菜薹以鲜薹和嫩叶为食用器官,内含多种营养物质,其中维生素C含量比塌棵菜、大白菜和小白菜等都高^[2-4],具有较高的营养价值并具有广阔的市场,已成为育种家关注的热点品种之一。近年来,随着旅游业的发展以及自身优越的品质,红菜薹被引种到全国各地。类黄酮是一类水溶性色素,与果蔬的颜色密切相关,如水果中的草莓^[5]和葡萄^[6],蔬菜中的豇豆^[7]、萝卜^[8]和辣椒^[9]等均富含丰富的类黄酮物质。类黄酮是植物重要的次生代谢产物,主要包括原花青素、查尔酮、黄酮、黄酮醇、黄烷醇、花青苷等^[10]。其中,花青苷是花青素通过与糖苷结合,形成的稳定色素物质。常见的花青素主要包括天竺葵素、飞燕草素、矮牵牛素、芍药素、矢车菊素和锦葵素^[11]。花青素不仅赋予植物器官于五彩斑斓的颜色和独特的风味,而且对生物及非生物胁迫等逆境也有一定的预防效果^[12]。此外,花青素还具有抗氧化活性,对心血管疾病、衰老和癌症等有一定的预防效果^[13,14]。

色泽是决定外观品质的指标之一,然而在我国一些地方红菜薹表现出着色不均,品质下降等问题,严重影响其商品价值。因此,解析红菜薹花青素代谢调控机制对培育高花青素品种具有重要意义。我国学者已对红菜薹中的花青素进行了初步的探究,红菜薹花青素的成分和含量与品种有关,并且还受各种环境因素的影响。Guo等^[15]的研究发现,红菜薹(Zicaitai ZCT095)中花青素主要成分为17种矢车菊素苷。另外,Guo等^[16]用弱光处理红菜薹发现,与正常光照相比,主要是3种矢车菊素苷含量下降。目前,红菜薹花青素的代谢机制依然并不清晰。红菜薹呈紫红色,基于以前对芸苔属紫红色蔬菜的研究发现,这些紫红色蔬菜除了矢车菊素外,还有别的辅助呈色物质。前人在红菜薹的研究结果中鉴定到的花青素种类较少,目前所报道的多为矢车菊素类物质。矢车菊素主要是紫红色物质的显色成分,但红菜薹中还有部分深紫色,推测可能还有别的显色成分。

代谢组学是系统生物学的重要组成部分,它通过分析生物体内的所有代谢物,并将筛选到的差异代谢物与表型变化进行关联分析,是继基因组学和蛋白组学之后新发展起来的一门重要学科^[17]。基于UPLC-MS/MS的广泛靶向代谢组具有高通量、高灵敏度和准确性好等特点,已在疾病诊断^[18]、植物代谢^[19,20]和毒理学^[21]等方面得到广泛应用。为更全面挖掘红菜薹中所含有的花青素类物质,本研究以两种颜

色的菜薹为研究材料,将UPLC-MS/MS与广泛靶向代谢组学相结合,检测材料中类黄酮化合物的种类和含量,并从差异代谢物的角度着手,揭示红色和绿色菜薹色泽差异的代谢机制,为红菜薹后续应用基础研究奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

供试验材料红菜薹和菜心均于2021年3月种植于广东省农业科学院蔬菜研究所试验田,生长约40d进行取样(图1a),用刀片剥取茎部的表皮,每种材料取3个生物学重复,随后将所取的材料投入液氮,迅速转至-80℃超低温冰箱保存。

甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、乙醇(色谱纯)美国Merck公司。

1.2 仪器与设备

Scientz-100F冻干机,宁波新芝;MM400研磨仪,Retsch;色谱柱:Agilent SB-C18(1.8 μm, 2.1 mm×100 mm);0.22 μm pore size微孔滤膜;超高效液相色谱(Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC);串联质谱(Tandem Mass Spectrometry, MS/MS);全波长酶标仪(EPOCH Microplate Reader),BioTek。

1.3 试验方法

1.3.1 总花青素含量的测定

参考Rabino等的^[22]试验方法,将保存的样品剪碎,精确称取0.1g,放置于2mL离心管中,加入1mL乙醇溶液(含体积分数1%的盐酸)。充分混合后,放置4℃冰箱浸提18h,于530nm和657nm下测定吸光值。相对浓度的计算: $\Delta A = A_{530} - 0.25A_{657}$,利用 A_{657} 校正叶绿素等杂质的影响,再用 ΔA 除以鲜重(单位为g),得到 $\Delta A/g$ FW表示相对浓度。

1.3.2 UPLC-MS/MS代谢组分析

1.3.2.1 样品制备

对冷冻干燥(24h)后的样品经研磨(30Hz, 1.5min),称取0.1g粉末溶于1.2mL预冷提取液(70%甲醇水溶液, V/V)中,为了使样品能充分的溶解,对样品进行涡旋,每次涡旋30s,每30min涡旋一次,共涡旋6次,随后将样本存放于4℃冰箱过夜。取出样品,离心(转速12000r/min, 10min)后,用移液枪将上清吸出,并用0.22 μm微孔滤膜过滤样品,最后保存于进样瓶中,用于UPLC-MS/MS分析。

1.3.2.2 样品测定

液相条件主要为流动相: A 相为超纯水(含体积分数 0.1% 的甲酸), B 相为乙腈(含体积分数 0.1% 的甲酸); 柱温 40 °C; 进样量 4 μ L; 流速 0.35 mL/min; 洗脱梯度: 0.00 min B 相体积比例为 5%, 9.00 min 内 B 相体积比例线性增加到 95%, 并维持在 95% 1 min, 10.00~11.10 min, B 相体积比例降为 5%, 并维持在 5% 至 14.00 min; 质谱条件主要为: 电喷雾离子源(Electrospray Ionization, ESI) 温度 550 °C, 离子喷雾电压 5 500 V(正离子模式)/-4 500 V(负离子模式); 帘气为 25.0 psi。

1.3.3 数据分析

基于 UPLC-MS/MS 检测平台, 利用软件 Analyst 1.6.3 进行数据的采集。使用 Metware 迈维(武汉)自建 MWDB 数据库, 对样本的代谢物进行定性分析; 对进行差异比较的分组样品进行主成分分析, 利用 R 软件中的 MetaboAnalystR 包 OPLSR.Anal 函数进行偏最小二乘法判别分析(Partial Least Squares-Discriminant Analysis, PLS-DA), 基于 OPLS-DA 结果, 从获得的多变量分析 OPLS-DA 模型的变量重要性投影(Variable Importance in Projection, VIP), 结合差异倍数(Fold Change)筛选出菜心和红菜薹间差异的代谢物; 对得到的差异代谢物的原始相对含量按行采用归一化处理(Unit Variance Scaling, UV Scaling), 通过 R 软件 pheatmap 包绘制热图; 利用 Office 2019 进行基本数据处理; 利用 GraphPad Prism 9 进行柱状图绘制。

2 结果与讨论

2.1 总花青素的检测

图 1a 中, 生长了约 40 d 后的红菜薹茎部以及叶柄呈现紫红色, 菜心的则为绿色, 色泽差异较大。对其茎部表皮总花青素含量进行检测(图 1b), 发现红菜薹茎部表皮花青素含量远高于菜心, 可知红菜薹和菜心茎部表皮代谢物质含量存在较大差异。

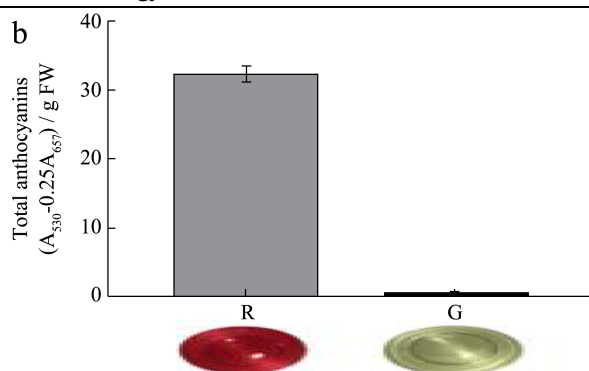


图1 红菜薹(R)和菜心(G)表型以及茎部表皮总花青素含量

Fig.1 Phenotypes of hongcaitai and caixin and the contents of total anthocyanin instem epidermis

2.2 类黄酮化合物的鉴定

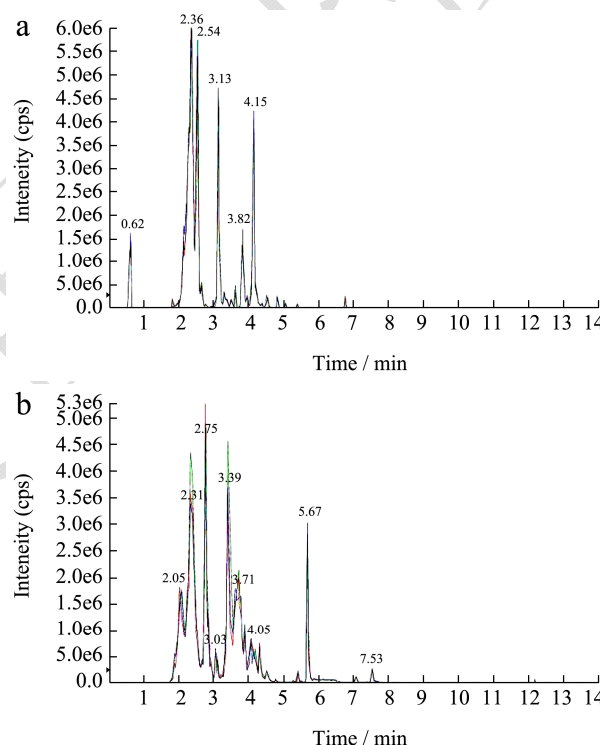


图2 正离子模式(a)和负离子模式(b)混样质控样品(QC)质谱检测总离子流重叠图

Fig.2 Overlapped total ions current of mixed quality control (QC) sample under positive ion mode (a) and negative ion mode (b)

利用 UPLC-MS/MS 技术对 2 种菜薹类黄酮代谢物进行进一步检测, 对不同质控 QC 样本质谱检测分析的总离子流图(TIC 图)进行重叠分析, 如图 2 所示, 代谢物检测总离子流的曲线重叠良好, 色谱峰的响应强度和保留时间较为一致, 显示此次检测数据可靠。基于迈维(武汉)自建代谢数据库, 对样本的代谢物进行了质谱定性定量分析。在红菜薹和菜心中共

鉴定出234种类黄酮类代谢产物,包括76种黄酮醇类、53种黄酮类、40种花青素类、18种二氢黄酮类、10种黄烷醇类、10种异黄酮类、8种鞣质类、7种二氢黄酮醇类、6种查尔酮类、5种黄酮碳糖苷类和1种双黄酮类。其中黄酮醇类、黄酮类和花青素类最多,分别占总类黄酮类代谢物的32.48%、22.65%和17.09%。此外32种花青素、13种黄酮醇、8种黄酮、7种二氢黄酮、3种二氢黄酮醇、3种查尔酮、2种黄烷醇类、2种黄酮碳糖苷以及1种异黄酮只在红菜薹中有检测到,9种黄酮、7种黄酮醇、4种异黄酮、1种二氢黄酮以及1种双黄酮只在菜心中有检测到,这些代谢物可能是区分红菜薹和菜心的重要物质。

2.3 PCA和代谢物积累模式分析

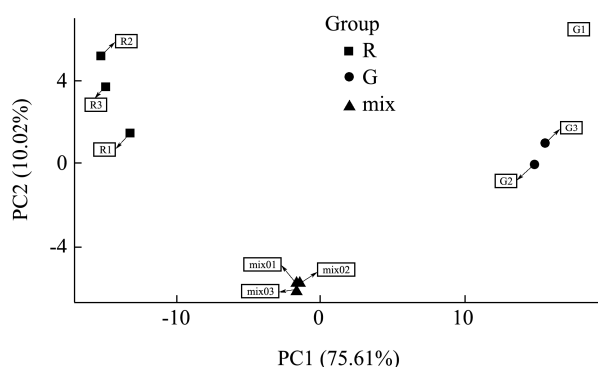


图3 各组样品与质控样品质谱数据的PCA得分散点图

Fig.3 PCA scatter plot of quality spectrum data of each group samples and quality control samples

注: R 红菜薹茎部表皮; G 菜心茎部表皮; mix 混合。下同。

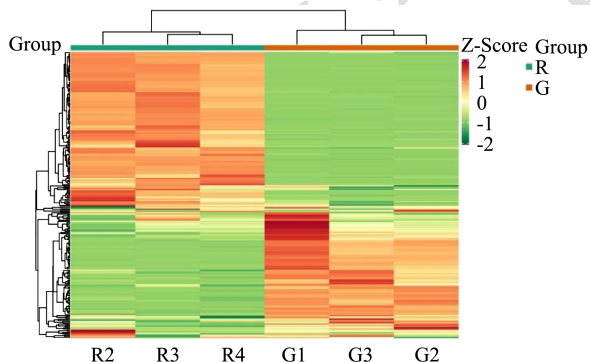


图4 各组样品总体聚类图

Fig.4 Each group samples overall clustering map

PCA 结果可反应各比较组样品之间代谢组分离趋势,各组样品间是否存在差异。因此,为了直观了解各组样品之间总体代谢物差异和同一组样本间的变异度大小,对样品进行主成分分析。PCA 结果显示2组样本在二维图上表现出明显的分离趋势,各样本组内呈聚集状(图3),其中主成分1(PC1)的贡献率为75.61%,主成分2(PC2)的贡献率为10.02%。结

果表明,2组样本之间存在明显差异,且组内稳定性较好。聚类分析可按照样品的特性进行分类,使具有相似类型的样品具有尽可能高的同质性,而不同类型的样品之间具有尽可能高的异质性。为了方便观察两组样品间代谢物变化规律,利用均一化处理后的代谢物绘制聚类热图。结果显示(图4),两种菜薹之间的类黄酮以不同方式积累,同一组的样本代谢物积累趋势较为一致且高度聚合。PCA图和聚类热图可简单和直观的反应代谢物的变化情况,以上的两个结果从整体上反应了红菜薹和菜心两个品种间的代谢物差异。

2.4 差异代谢物筛选及分析

对数据进行 OPLS-DA 分析,结合 $VIP \geq 1$ 且 $FC \geq 2$ 或 $FC \leq 0.5$ 的标准筛选出菜心和红菜薹之间的差异代谢物。相比于菜心,红菜薹共有170种类黄酮类显著差异代谢物,在这些差异代谢物中含量高于菜心的共有114种,含量低于菜心的共有56种(图5)。

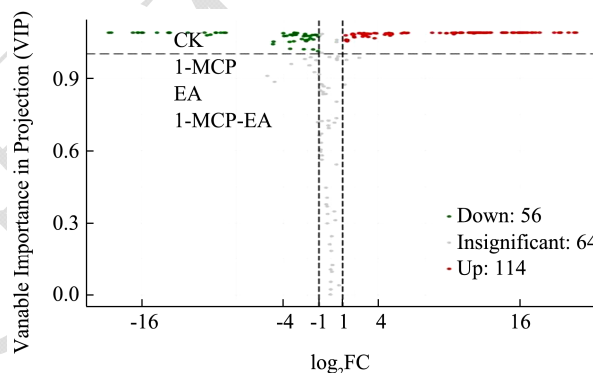


图5 两组样品之间的差异代谢物火山图

Fig.5 Different metabolite volcano map between two samples

为了进一步探究两种菜薹中具体的差异代谢物,采用 HCA 对关键化合物做进一步的分析。如图6a所示,根据物质二级分类可将差异化合物分为黄酮醇(56种)、花青素(38种)、黄酮(32种)、二氢黄酮(12种)、异黄酮(9种)、二氢黄酮醇(6种)、黄酮碳糖苷(5种)、黄烷醇类(4种)、查尔酮(4种)、鞣质(3种)、双黄酮(1种)。其中存在差异的38种花青素中包括25种矢车菊素类糖苷,主要为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-槐三糖苷、矢车菊素-3-O-(6"-O-丙二酰)槐糖苷-5-O-葡萄糖苷等,其他的花青素包括6种飞燕草素糖苷(飞燕草素-3-O-葡萄糖苷、飞燕草素-3-O-半乳糖苷、飞燕草素-3,5,3'-三-O-葡萄糖苷、飞燕草素-3-O-槐糖苷-5-O-葡萄糖苷、飞燕草素-3-O-(2"-O-丙二酰)槐糖苷-5-O-葡萄糖苷、飞燕草素-3-O-(2"-O-对香豆酰)芸香糖苷-7-O-葡萄糖苷)、3种芍药花素糖苷(芍药花素-3,5-O-二葡萄糖苷、芍药花素-3-O-(6"-O-对香豆酰)葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷、芍药花

素-3-O-槐糖苷-5-O-葡萄糖苷)以及3种牵牛花素苷(牵牛花素-3-O-葡萄糖苷、牵牛花素-3-O-(6"-O-对香豆酰)葡萄糖苷、牵牛花素-3,5-二-O-葡萄糖苷)(图6b)。在图7中红菜薹比菜心含量高的代谢物中差异倍数最大的10种物质,其中7种为花青素类,包含6种矢车菊素,分别为矢车菊素-3,5-二-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-槐三糖苷、矢车菊素-3-O-(6"-O-丙二酰)槐糖苷-5-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-(6"-O-对香豆酰)槐糖苷-5-O-(6"-O-丙二酰)葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-(6"-O-丙二酰)葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-(6"-O-乙酰)葡萄糖苷-5-O-葡萄糖苷,和1种飞燕草素-3-O-(2"-O-对香豆酰)芸香糖苷-7-O-葡

萄糖苷。下降差异倍数最大的10种物质为槐角苷、5,4'-二羟基异黄酮-7-O-半乳糖苷、6"-O-丙二酰染料木苷、槲皮素-3-O-新橘皮糖苷、木犀草素-7-O-葡萄糖苷(木犀草苷)、山奈酚-3-O-(6"-丙二酰)半乳糖苷、山奈酚-3-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷、芹菜素-7-O-(2"-O-芹糖基)(6"-丙二酰)葡萄糖苷、山奈酚-3-O-桑布双糖苷、木犀草素-7-O-(6"-丙二酰)葡萄糖苷-5-O-阿拉伯糖苷。以上结果表明,红菜薹和菜心茎部表皮花青素含量变化与其茎部表皮色泽差异一致,推测以矢车菊素为主,还包括飞燕草素、芍药花素和牵牛花素在内的花青素的积累是造成红菜薹和菜心茎部表皮色泽差异的重要因素之一。

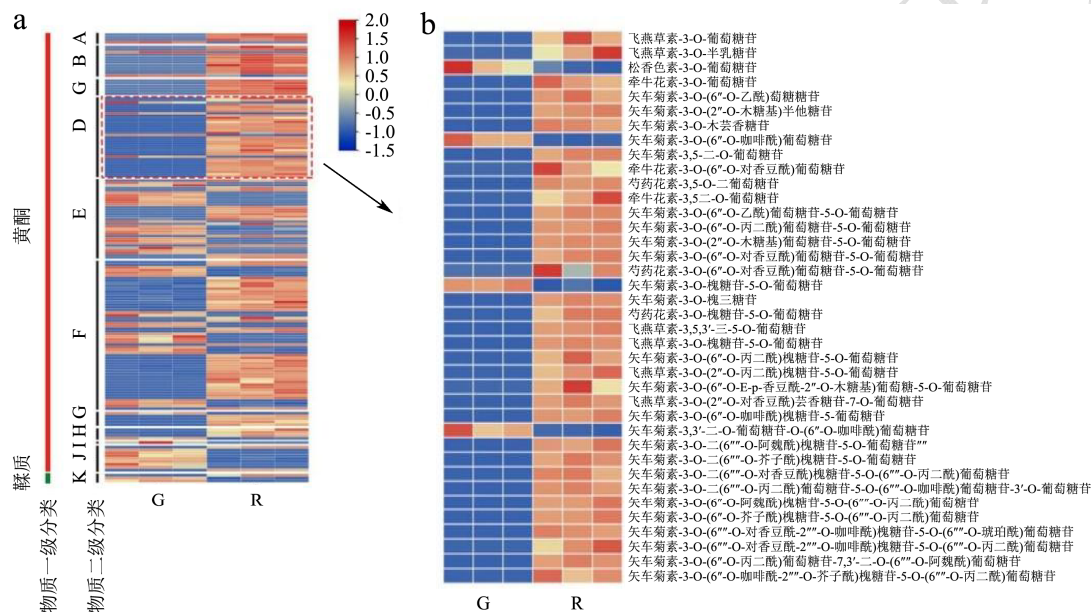


图6 两组样品差异代谢物热图

Fig.6 Different metabolite heat map between two samples

注:图a为所有差异代谢物热图(A为查耳酮,B为二氢黄酮,C为二氢黄酮醇,D为花青素,E为黄酮,F为黄酮醇,G为黄酮碳糖苷,H为黄烷醇类,I为双黄酮,J为异黄酮,K为鞣质),图b为花青素类差异代谢物热图。

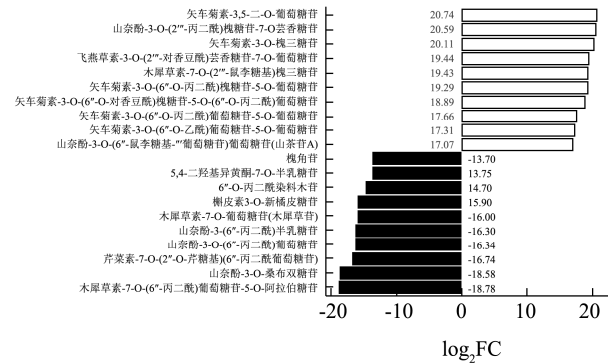


图7 两组样品代谢物差异变化各前10的代谢物

Fig.7 Top 10 fold change differential metabolites between two samples

在本研究之前,对于芸薹属蔬菜中紫红色的呈色物质已有一些报道。Jiang等^[23]对紫红色白菜的花青素

进行检测,发现矢车菊素是呈色的重要物质,此外还发现少量的天竺葵色素和芍药色素。Zhao等^[24]对紫色白菜的研究发现,其富含的24种花青素,包括9种矢车菊素苷、5种矮牵牛素苷、4种飞燕草素糖苷、3种芍药素、2种天竺葵素苷和1种锦葵素。本研究的结果与以上报道的研究结果一致,都表明了紫红色芸薹属蔬菜中,矢车菊素类糖苷可能为呈色的主要物质,而其他花青素如飞燕草素、芍药花素和牵牛花素为辅助的呈色物质。有趣的是,先前的研究也有报道,在紫红色的芸薹属蔬菜中,检测到的花青素仅有矢车菊素类糖苷,如Wang等^[25]对紫色白菜的花青素进行检测,发现13种花青苷,其中矢车菊素-3-丙二酰槐糖苷-5-对羟基苯甲酰阿拉伯糖苷是主要的花青苷;Geza等^[26]对紫甘蓝的花青苷进行检测,发现7种花青

苷均为矢车菊素衍生物,主要为矢车菊素-3-槐糖苷-5-葡萄糖苷和矢车菊素-3-丙二酰槐糖苷-5-葡萄糖苷;ParK 等^[27]对红色茼蒿的研究发现,12种矢车菊素苷为呈色物质,主要为矢车菊素-3-(芥子酰)(芥子酰基)二葡萄糖苷-5-葡萄糖苷和矢车菊素-3-(阿魏基)(芥子酰)二葡萄糖苷-5-葡萄糖苷。值得注意的是,前人在对红菜薹杆颜色的研究中检测到的花青素也只有矢车菊素类糖苷^[15],主要为矢车菊素-3-二葡萄糖苷-5-糖苷和矢车菊素-3-咖啡酰二葡萄糖苷-5-葡萄糖苷。以上对芸薹属紫红色蔬菜的研究中只检测到矢车菊素,与本研究结果有些不一致,造成不一致的原因可能是各类芸薹属植物中紫红色深浅的差异。一般来说,矢车菊素的积累呈现紫红色,飞燕草素的积累呈现蓝紫色或紫色,天竺葵素的积累则呈橙色和红色^[26]。因此,除了矢车菊素外,还会有飞燕草素、芍药花素和牵牛花素等物质对紫红色的深浅做进一步的修饰。此外,造成不一致的另一种原因可能是不同的研究所使用的检测方法不一样。另一个值得注意的是,虽然之前的研究推测芸薹属紫红色蔬菜主要呈色物质都为矢车菊素类糖苷,但是矢车菊素中具体的物质都不相同,这可能是由于物种和品种的差异引起的。

3 结论

研究表明,红菜薹茎部表皮总花青素含量远高于菜心茎部表皮。基于 UPLC-MS/MS 的广泛靶向代谢组学对红菜薹和菜心的茎部表皮类黄酮类物质进行分析,发现二者存在较大差异。在这些差异代谢物中,花青素有38种,主要为矢车菊素,其中32种花青素仅在红菜薹中检测到。此外,红菜薹比菜心中含量高的差异倍数前十的物质,有6种为矢车菊素。推测红菜薹中矢车菊素的积累可能是影响其与菜心茎部颜色差异的因素之一。本研究可为解析薹色着色机理提供理论依据,为培育富含花青素的新品种提供方向。

参考文献

- [1] 谭远宝,何丹,徐跃进,等.红菜薹新型细胞质雄性不育系的转育研究[J].武汉植物学研究,2010,28(6):756-760.
- [2] 周晓波.利用 SSR 分析红菜薹的遗传多样性[J].植物遗传资源学报,2012,13(6):1088-1092.
- [3] 邱正明,邓晓辉,聂肩军,等.高山红菜薹的商品性和营养成分研究[J].长江蔬菜,2008,12:67-68.
- [4] 邝敏杰,齐敏玉,何静仁,等.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.
- [5] Dzhanfezova T, Barba-Espin G, Müller R, et al. Anthocyanin profile, antioxidant activity and total phenolic content of a strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch) genetic resource collection [J]. Food Bioscience, 2020, 36: 100620.
- [6] Zhao X, Zhang S S, Zhang X K, et al. An effective method for the semi-preparative isolation of high-purity anthocyanin monomers from grape pomace [J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125830.
- [7] Li Y, Chen Q, Xie X, et al. Integrated metabolomics and transcriptomics analyses reveal the molecular mechanisms underlying the accumulation of anthocyanins and other flavonoids in cowpea pod (*Vigna unguiculata* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(34): 9260-9275.
- [8] Zhang J, Qiu X, Tan Q, et al. A comparative metabolomics study of flavonoids in radish with different skin and flesh colors (*Raphanus sativus* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(49): 14463-14470.
- [9] Tang B, Li L, Hu Z, et al. Anthocyanin accumulation and transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in purple pepper [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(43): 12152-12163.
- [10] Wang A, Li R, Ren L, et al. A comparative metabolomics study of flavonoids in sweet potato with different flesh colors (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) [J]. Food Chemistry, 2018, 260: 124-134.
- [11] Grotewold E. The genetics and biochemistry of floral pigments [J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57(1): 761-780.
- [12] Buer C S, Imin N, Djordjevic M A. Flavonoids: new roles for old molecules [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2010, 52(1): 98-111.
- [13] Shin W H, Park S J, Kim E J. Protective effect of anthocyanins in middle cerebral artery occlusion and reperfusion model of cerebral ischemia in rats [J]. Life Sciences, 2006, 79(2): 130-137.
- [14] Lee C C, Shen S R, Lai Y J, et al. Rutin and quercetin, bioactive compounds from tartary buckwheat, prevent liver inflammatory injury [J]. Food & Function, 2013, 4(5): 794-802.
- [15] Guo N, Wu J, Zheng S, et al. Anthocyanin profile characterization and quantitative trait locus mapping in zicaikai (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* var. *purpurea*) [J]. Molecular Breeding, 2015, 35(5): 1-11.
- [16] Guo J, Wu T, Fu M, et al. An integrated analysis of transcriptome and metabolism reveals an inhibitory effect of low light on anthocyanin biosynthesis in purple cai-tai

- (*Brassica rapa* L. var. *purpurea*) [J]. Horticulturae, 2022, 8(7): 566.
- [17] Nicholson J K, Lindon J C. Systems biology: Metabonomics [J]. Nature, 2008, 455(7216): 1054-1056.
- [18] Gowda G A N, Zhang S, Gu H, et al. Metabolomics-based methods for early disease diagnostics [J]. Expert Review of Molecular Diagnostics, 2008, 8(5): 617-633.
- [19] Zhong Y, Chen C, Gong X, et al. Transcriptome and metabolome analyses reveal a key role of the anthocyanin biosynthetic pathway cascade in the pigmentation of a *Cinnamomum camphora* red bark mutant ('Gantong 1') [J]. Industrial Crops and Products, 2022, 175: 114236.
- [20] Li X, Li Y, Zhao M, et al. Molecular and metabolic insights into anthocyanin biosynthesis for leaf color change in chokecherry (*Padus virginiana*) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(19): 10697.
- [21] Ramirez T, Daneshian M, Kamp H, et al. Metabolomics in toxicology and preclinical research [J]. Altex, 2013, 30(2): 209.
- [22] Rabino I, Mancinelli A L. Light, temperature, and anthocyanin production 1[J]. Plant Physiol 1986, 81(3): 922-924.
- [23] Jiang N, Chung S O, Lee J, et al. Increase of phenolic compounds in new Chinese cabbage cultivar with red phenotype [J]. Horticulture, Environment, and Biotechnology, 2013, 54(1): 82-88.
- [24] Zhao Y, Qi X, Liu Z, et al. Transcriptome and metabolome profiling to explore the causes of purple leaves formation in non-heading Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *chinensis* Makino var. *mutlicept* Hort.) [J]. Foods, 2022, 11(12): 1787.
- [25] Wang W, Zhang D, Yu S, et al. Mapping the BrPur gene for purple leaf color on linkage group A03 of *Brassica rapa* [J]. Euphytica, 2014, 199(3): 293-302.
- [26] Hrazdina G, Iredale H, Mattick L R. Anthocyanin composition of *Brassica oleracea* cv. red Danish [J]. Phytochemistry, 1977, 16(2): 297-299.
- [27] Park C H, Bong S J, Lim C J, et al. Transcriptome analysis and metabolic profiling of green and red mizuna (*Brassica rapa* L. var. *japonica*) [J]. Foods, 2020, 9(8): 1079.