

李品种(品系)果实中有机酸及 V_C 含量的 UPLC 法测定

巫伟峰^{1a,1b,2}, 陈明杰^{1b}, 陈国跃³, 陈发兴^{1a,①}

(1. 福建农林大学: a. 园艺学院, b. 海峡联合研究院 园艺植物生物学及代谢组学研究中心, 福建 福州 350002;
2. 中国科学院庐山植物园, 江西 九江 332900; 3. 龙海市农业科学研究所, 福建 龙海 363100)

Determination of contents of organic acids and V_C in fruit of *Prunus salicina* cultivars (lines) by UPLC method

WU Weifeng^{1a,1b,2}, CHEN Mingjie^{1b}, CHEN Guoyue³, CHEN Faxing^{1a,①} (1. Fujian Agriculture and Forestry University: a. College of Horticulture, b. Horticultural Plant Biology and Metabolomics Center, Haixia Institute of Science and Technology, Fuzhou 350002, China; 2. Lushan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Jiujiang 332900, China; 3. Longhai Institute of Agricultural Science, Longhai 363100, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2021, 30(1): 78-80

Abstract: Taking ripe fruits of 4 *Prunus salicina* Lindl. cultivars (lines) of ‘Huangguan’, ‘Blackamber’, ‘Elodrao’ and ‘Xigua’ as research materials, contents of organic acids and V_C were determined by UPLC method. The results show that contents of organic acids and V_C in fruit of *P. salicina* cultivars (lines) are evidently different, in which, content of malic acid is the highest (1.172 0–1.991 1 mg · g⁻¹) among organic acid components, followed by that of tartaric acid (0.063 8–0.418 9 mg · g⁻¹), while contents of citric acid, succinic acid, oxalic acid and acetic acid are all lower than or equal to 0.071 5 mg · g⁻¹, and content of fumaric acid is trace; total content of organic acids and content of V_C are 1.356 2–2.162 0 and 0.017 0–0.022 8 mg · g⁻¹, respectively. Among 4 cultivars (lines), contents of each organic acid component and V_C and total content of organic acids in fruit of ‘Huangguan’ are relatively balanced in general.

关键词: 李; 果实; UPLC 法; 有机酸; V_C

Key words: *Prunus salicina* Lindl.; fruit; UPLC method; organic acid; V_C

中图分类号: Q946.8; R284.2; S662.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2021)01-0078-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2021.01.12

果实中有机酸和 V_C 含量是评价果实品质的重要指标,目前多采用高效液相色谱(HPLC)法进行测定^[1-2],但随着色谱技术的快速迭代升级^[3],与 HPLC 法相比,超高效液相色谱(UPLC)法具有检测用时更短、色谱分离能力和分离度更高、溶剂消耗更少等优势,可达到化学成分精密检测的目的^[4]。

李(*Prunus salicina* Lindl.)是传统水果之一,目前已采用 HPLC 法对其果实中有机酸和 V_C 含量^[5-8]进行了测定。为提高检测效率,探索更为灵敏的检测方法,作者以 4 个李品种(品系)果实为实验材料,采用 UPLC 法测定了 7 个有机酸成分及 V_C 含量,以为李果实品质检测和评价提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的 4 个李品种(品系)为‘皇冠李’(‘Huangguan’)、

‘黑琥珀李’(‘Blackamber’)、‘葡萄李’(‘Elodrao’)和‘西瓜李’(‘Xigua’),均种植于福建省宁德市古田县。各品种(品系)分别选择 3 株健壮且无病虫害的植株,从树冠外围的东、南、西、北、中 5 个方位各选取形态和成熟度相近的果实 5 枚,用冰袋保存带回实验室,快速将果皮与果核分离;将中果皮切碎,混匀,经液氮速冻后置于-40 °C 冰箱中保存、备用。

主要仪器和试剂:ACQUITY UPLC H-Class 超高效液相色谱仪(配有 PDA eλ 检测器,美国 Waters 公司),Milli-Q Reference 超纯水系统(美国 Millipore 公司),Enppendorf 5810R 离心机(德国 Enppendorf 公司),KQ3200DA 超声波清洗机(昆山舒美超声仪器有限公司)。苹果酸(批号 09172)、柠檬酸(批号 46933)、酒石酸(批号 1643340)、琥珀酸(批号 1623411)、富马酸(批号 PHR1270)、草酸(批号 41706)、乙酸(批号 71251)和 V_C (批号 47863)的标准品均购自美国 Sigma 公司,所有标准品纯度均为色谱纯及以上级别。

收稿日期: 2020-04-01

基金项目: 福建省发展与改革委员会农业五新项目(K6018203A); 福建省特色水果产业技术项目(HKH190278A); 中央引导地方科技发展专项(2017L3001)

作者简介: 巫伟峰(1990—),男,福建龙岩人,硕士,研究实习员,主要从事资源植物开发利用方面的研究。

①通信作者 E-mail: cfaxing@126.com

引用格式: 巫伟峰, 陈明杰, 陈国跃, 等. 李品种(品系)果实中有机酸及 V_C 含量的 UPLC 法测定[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(1): 78-80.

1.2 方法

1.2.1 UPLC 色谱条件 色谱柱为 ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μ m), 流动相为体积分数 0.025% H_3PO_4 溶液, 流速 0.2 mL·min⁻¹, 柱温 30 $^{\circ}C$, 进样量 1 μ L。

1.2.2 标准曲线绘制 分别精密称取 40.0 mg 苹果酸、40.0 mg 柠檬酸、20.0 mg 酒石酸、100.0 mg 琥珀酸、0.4 mg 富马酸、4.0 mg 草酸和 4.0 mg V_c 标准品, 同时吸取 10.0 mg·mL⁻¹ 乙酸标准品溶液 10.0 mL, 混合后用超纯水溶解并定容至 100 mL, 获得混合标准液(苹果酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、草酸、 V_c 和乙酸的质量浓度分别为 0.400、0.400、0.200、1.000、0.004、0.040、0.040 和 1.000 mg·mL⁻¹), 按 1、5、10、50 和 100 倍进行梯度稀释, 0.22 μ m 滤膜过滤。按上述色谱条件测定各有机酸成分及 V_c 标准品的峰面积, 以峰面积为纵坐标(y)、各标准品质量浓度为横坐标(x) 绘制标准曲线。

苹果酸标准曲线方程为 $y = 12\ 422.78x + 4\ 639.69$ ($R^2 = 0.999\ 97$), 线性范围 0.004 0~0.400 0 mg·mL⁻¹; 柠檬酸标准曲线方程为 $y = 14\ 047.87x + 933.01$ ($R^2 = 0.999\ 76$), 线性范围 0.004 0~0.400 0 mg·mL⁻¹; 酒石酸标准曲线方程为 $y = 21\ 855.25x + 3\ 901.52$ ($R^2 = 0.999\ 88$), 线性范围 0.002 0~0.200 0 mg·mL⁻¹; 琥珀酸标准曲线方程为 $y = 12\ 587.65x + 964.60$ ($R^2 = 0.999\ 89$), 线性范围 0.010 0~1.000 0 mg·mL⁻¹; 富马酸标准曲线方程为 $y = 5\ 036\ 215.44x + 717.37$ ($R^2 = 0.999\ 96$), 线性范围 0.000 0~0.004 0 mg·mL⁻¹; 草酸标准曲线方程为 $y = 133\ 698.45x + 1\ 318.27$ ($R^2 = 0.999\ 62$), 线性范围 0.000 4~0.040 0 mg·mL⁻¹; 乙酸标准曲线方程为 $y = 16\ 566.22x + 245.35$ ($R^2 = 0.999\ 99$), 线性范围 0.010 0~1.000 0 mg·mL⁻¹; V_c 标准曲线方程为 $y = 133\ 384.75x - 1\ 101.82$ ($R^2 = 0.999\ 99$), 线性范围 0.000 4~0.040 0 mg·mL⁻¹。

1.2.3 果实中有机酸和 V_c 含量测定 精密称取各样品 1 g, 研

磨至匀浆, 加 10 mL 超纯水, 室温超声 (300 W) 提取 30 min, 1 000 r·min⁻¹ 常温离心 10 min; 取上清液, 残渣用 8 mL 超纯水重复提取 1 次并离心; 合并上清液, 用超纯水定容至 20 mL, 0.22 μ m 滤膜过滤, 按上述色谱条件进样测定, 重复 3 次。根据峰面积和标准曲线计算样品中各有机酸成分和 V_c 含量。

1.2.4 方法学考察 精密度考察: 取‘葡萄李’果实提取液 1 mL, 按上述色谱条件重复进样测定 5 次, 苹果酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、草酸、乙酸和 V_c 峰面积的 RSD 值分别为 1.5%、1.1%、0.3%、0.8%、1.6%、0.2%、0.3% 和 0.4%, 表明仪器精密度良好。

加样回收率考察: 取‘葡萄李’果实提取液 5 mL, 加入 5 mL 稀释 10 倍的混合标准液, 按上述色谱条件重复进样测定 5 次, 计算加样回收率。苹果酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、草酸、乙酸和 V_c 加样回收率的 RSD 值分别为 0.63%、1.73%、0.49%、0.14%、0.00%、0.57%、0.14% 和 0.58%, 表明该测定方法准确度较高。

重复性考察: 精密称取‘葡萄李’样品 5 份, 按上述方法制备提取液, 并按上述色谱条件进样测定。苹果酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、草酸、乙酸和 V_c 含量的 RSD 值分别为 3.80%、1.43%、2.35%、5.57%、0.00%、4.25%、4.12% 和 2.13%, 表明该测定方法重复性良好。

1.3 数据处理和分析

采用 EXCEL 2019 软件进行数据处理, 采用 SPSS 20.0 软件进行 ANOVA 方差分析。

2 结果和分析

供试的 4 个李品种(品系)果实中有机酸成分和 V_c 的含量见表 1。结果显示: 4 个李品种(品系)果实中有机酸含量变

表 1 李品种(品系)果实中有机酸成分与 V_c 含量的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Comparison on contents of organic acids and V_c in fruit of *Prunus salicina* Lindl. cultivars (lines) ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

品种(品系) Cultivar (Line)	有机酸含量/(mg·g ⁻¹) Content of organic acid				
	苹果酸 Malic acid	柠檬酸 Citric acid	酒石酸 Tartaric acid	琥珀酸 Succinic acid	富马酸 Fumaric acid
皇冠李 Huangguan	1.893 0±0.079 5a	0.030 2±0.001 7ab	0.127 2±0.006 8b	0.019 5±0.001 9c	<0.000 1
黑琥珀李 Blackamber	1.991 1±0.184 0a	0.026 9±0.002 4b	0.099 2±0.014 9b	0.019 2±0.001 7c	<0.000 1
葡萄李 Elodrao	1.172 0±0.062 0c	0.017 6±0.000 4c	0.063 8±0.002 1c	0.071 5±0.003 2a	<0.000 1
西瓜李 Xigua	1.600 1±0.033 7b	0.032 0±0.002 4a	0.418 9±0.027 0a	0.026 1±0.005 4b	<0.000 1
品种(品系) Cultivar (Line)	有机酸含量/(mg·g ⁻¹) Content of organic acid			V_c 含量/(mg·g ⁻¹) V_c content	
	草酸 Oxalic acid	乙酸 Acetic acid	总计 Total		
皇冠李 Huangguan	0.010 3±0.000 3bc	0.041 5±0.012 2b	2.121 7±0.093 4a	0.022 6±0.001 1a	
黑琥珀李 Blackamber	0.012 4±0.001 2b	0.013 1±0.004 0c	2.162 0±0.186 3a	0.022 8±0.002 7a	
葡萄李 Elodrao	0.017 9±0.002 7a	0.013 5±0.000 7c	1.356 2±0.061 9b	0.017 0±0.000 5b	
西瓜李 Xigua	0.008 4±0.001 5c	0.062 1±0.016 0a	2.147 5±0.046 5a	0.020 6±0.003 2ab	

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P < 0.05$) difference.

幅较大,均以苹果酸含量最高(1.172 0~1.991 1 mg·g⁻¹),酒石酸含量次之(0.063 8~0.418 9 mg·g⁻¹),富马酸含量最低(0.000 1 mg·g⁻¹以下),柠檬酸、琥珀酸、草酸和乙酸含量为0.008 4~0.071 5 mg·g⁻¹;有机酸总含量和V_C含量变幅较小,分别为1.356 2~2.162 0和0.017 0~0.022 8 mg·g⁻¹。

不同品种(品系)间,‘葡萄李’果实中苹果酸、柠檬酸、酒石酸、乙酸和V_C的含量以及有机酸总含量总体上最低,但其琥珀酸和草酸含量则最高,且多数指标与其他品种(品系)存在显著($P<0.05$)差异;‘黑琥珀李’果实中苹果酸和V_C的含量以及有机酸总含量均最高,但其琥珀酸和乙酸含量则最低;‘西瓜李’果实中柠檬酸、酒石酸和乙酸的含量最高,但其草酸含量则最低;供试的4个品种(品系)中,以‘皇冠李’果实中各有机酸成分和V_C的含量以及有机酸总含量较为均衡,处于中等偏高的水平。

3 讨论和结论

上述测定结果表明:采用UPLC法测定李果实中的苹果酸、柠檬酸、酒石酸、琥珀酸、富马酸、草酸、乙酸和V_C含量,具有操作简便、重复性好的优点。

由测定结果可知:‘皇冠李’、‘黑琥珀李’、‘葡萄李’和‘西瓜李’果实均以苹果酸为主要有机酸成分,根据陈发兴等^[9]划分的果实类型可将其归为苹果酸型果实。刘硕等^[5]、王小红等^[6]和李鹏等^[10]的研究结果也显示其他李品种(品系)果实的有机酸成分也以苹果酸含量最高,可见不同品种(品系)李果实中有机酸的主要组成成分总体相似。供试的4个品种(品系)中,有机酸总含量和V_C含量均以‘黑琥珀李’果实最高,‘葡萄李’果实最低,且‘皇冠李’、‘黑琥珀李’和‘西瓜李’果实间无显著差异,且以‘皇冠李’果实中各有机酸成分和V_C的含量以及有机酸总含量较为均衡。供试的4个李品种(品系)果实中有机酸的组成比例存在明显差异,这种差异除与各品种本身的遗传特性有关外,还可能与种植地的气候和土壤因子以及栽培管理措施有关。

本文对4个李品种(品系)果实中有机酸和V_C含量的测定结果可为筛选低酸、高V_C含量的李品种(品系)提供依据,

但本文仅涉及有机酸和V_C含量,而果实中的可溶性糖含量、糖酸比和香气等指标也是评价果实品质的重要依据,因而,后期将进一步建立包含多项品质指标的多维评价体系,以期为建立李品种(品系)系统、全面的科学评价体系提供参考依据。

参考文献:

- [1] 郭燕,梁俊,李敏敏,等. 高效液相色谱法测定苹果果实中的有机酸[J]. 食品科学, 2012, 33(2): 227-230.
- [2] 马倩倩,吴翠云,蒲小秋,等. 高效液相色谱法同时测定枣果实中的有机酸和VC含量[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 149-153.
- [3] 金高娃,章飞芳,薛兴亚,等. 超高效液相色谱在复杂体系中中药分离分析中的应用[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2006, 8(3): 106-111.
- [4] 谭鹏,李春雨,章从恩,等. 超高效液相色谱法在中药分析领域中的应用现状及展望[J]. 中草药, 2018, 49(24): 5938-5945.
- [5] 刘硕,刘有春,刘宁,等. 李属(*Prunus*)果树品种资源果实糖和酸的组分及其构成差异[J]. 中国农业科学, 2016, 49(16): 3188-3198.
- [6] 王小红,陈红,董晓庆. ‘蜂糖李’果实发育过程中有机酸含量变化及其与苹果酸代谢相关酶的关系[J]. 果树学报, 2018, 35(3): 293-300.
- [7] BAE H, YUN S K, JUN J H, et al. Assessment of organic acid and sugar composition in apricot, plumcot, plum, and peach during fruit development[J]. Journal of Applied Botany and Food Quality, 2014, 87: 24-29.
- [8] GIL M I, TOMÁS-BARBERÁN F A, HESS-PIERCE B, et al. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 4976-4982.
- [9] 陈发兴,刘星辉,陈立松. 果实有机酸代谢研究进展[J]. 果树学报, 2005, 22(5): 526-531.
- [10] 李鹏,黄晓慧,王克磊,等. 李果实生长发育过程中糖酸和花青苷含量的变化及相关分析[J]. 热带作物学报, 2017, 38(2): 269-277.

(责任编辑:郭严冬)