

# 不同地方品种皱皮木瓜有机酸检测与差异分析

陈亚楠<sup>1,2</sup>, 毛运芝<sup>1,2</sup>, 冉慧<sup>1,2</sup>, 刘世尧<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>西南大学园艺园林学院, 重庆北碚 400715; <sup>2</sup>南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆北碚 400715)

**摘要:**【目的】了解我国皱皮木瓜不同地方品种资源果实有机酸组成与含量差异。【方法】通过甲基化衍生、GCMS检测进行我国10个主产区皱皮木瓜地方品种果实有机酸鉴定和含量测定。【结果】外标浓度与峰面积线性相关,各样品TIC基线平稳,成分峰分布均匀,分离度较高。全部样品共检出5大类43种有机酸,苹果酸含量最高。各样品总酸含量(w)在85.02~170.76 mg·g<sup>-1</sup>,山东临沂最高,陕西白河最低。10个样品共有成分33种,总酸含量与长链脂肪酸极显著正相关,与低碳羧酸显著正相关,与芳香酸负相关。聚类距离为5时10个地方品种资源共聚为4枝,四川仪陇、安徽宣城、陕西白河、广西南宁、湖北长阳聚为第1枝,重庆綦江、浙江淳安聚为第2枝,贵州正安、山东临沂样品聚为第3枝,云南景洪为第4枝。【结论】10个皱皮木瓜地方品种均属苹果酸型果实,果实有机酸组成种内差异较小,组分含量种间差异显著。

**关键词:**皱皮木瓜;地方品种资源;有机酸;甲酯化衍生;气相-质谱联用;差异分析

中图分类号:S667.9 文献标志码:A 文章编号:1009-9980(2019)09-1171-14

## Detection and differential analysis of fruit organic acids among different local wrinkled papaya varieties (*Chaenomeles speciosa*) by GC-MS

CHEN Yanan<sup>1,2</sup>, MAO Yunzhi<sup>1,2</sup>, RAN Hui<sup>1,2</sup>, LIU Shiyao<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture and Landscape Architecture, South West University, Chongqing 400715, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Horticulture Science for Southwest Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** 【Objective】Organic acid plays a key role in affecting fruit flavor by changing acid-sugar ratio. And GC-MS is also an important detecting platform to inspect fruit organic acids due to its stable, sensitive and accurate features. With methyl ester derivatization, the objective organic acids could be effectively detected for their reduction of ingredient polarity. To provide the basic data for *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai fruit quality improvement, the the organic acid inspection of the fruit samples was carried out from 10 main producing areas in China and their compositions and contents were disclosed by extracting with methal, derivating with methyl esterification and detecting by means of GC-MS. 【Methods】In this study, 10 local varieties were used as materials that were collected from 10 main producing areas in China. After methanol extraction and methyl-ester derivatization, the compositions and contents of organic acids with each sample were comprehensively determined by GC-MS. The derivatives were analyzed by a Shimadzu GC-MS 2010 Qplus with a Rxt-5MS weak polar capillary MS column(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm, Shimadzu Technology). Helium was used as the carrier gas at 0.87 mL·min<sup>-1</sup> with a split ratio of 53:1 for the testing solution. The GC-MS detecting time was 35 min. Qualitative retrieval was conducted with similarity searching in NIST08 and NIST08S coupled with Kovats Reservation Index(RI value) matching and quantitative analysis was performed by an external standard method and the ingredient peak responding value was adjusted according to the n-alkanes mixed standards that came from USA O2Si calibration standards company. The difference in objective

收稿日期:2019-01-28 接受日期:2019-06-19

基金项目:国家自然科学基金(31400272);中央高校基本业务费(XDJK2015C165)

作者简介:陈亚楠,女,在读硕士研究生,主要从事植物次生代谢与调控研究。Tel:13098799553,E-mail:1404630576@qq.com

\*通信作者 Author for correspondence. Tel:023-38250755,E-mail: cqliushiyao@126.com

organic acids of all the 10 local variety samples was done through the Excel 2007 software and the Hierarchical Cluster Analysis(HCA) of organic acid composition among different samples was completed with SPSS20.0. 【Results】Six standards for organic acids including malic acid, citric acid, oxalic acid, succinic acid, fumaric acid and oleic acid as well as their gradient regression equations showed that there was a high correlation between the standard concentration and their component peak area( $R^2 \geq 92.9\%$ ). All baselines of the TICs were stable and all the component peaks were evenly distributed during the detecting period and their resolution was high. So the method for extracting by methanol, derivating by methyl ester and detecting by GC-MS was stable and reliable. A total of 43 organic acids including 9 short-chain carboxylic acids, 22 long-chain fatty acids, 4 aromatic dicarboxylic acids, 4 mono-basic phenol acids and 2 amino acids were identified from the 10 fruit samples of different producing areas in China. The top 10 organic acids with the highest contents were *dl*-malic acid, citric acid, hexadecanoic acid, 9,12-octadecadienoic acid, 9-octadecenoic acid, (+/-)-10-hydroxy-octadecanoic acid, levulinic acid, stearic acid, 9,10-dihydroxy-octadecanoic acid and benzoic acid, respectively. There were 33 common ingredient peaks among the total 10 local varieties and their total contents of organic acids were between 85.02-170.76  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ . From high to low content, it showed like this: Linyi of Shandong > Jinghong of Yunnan > Zheng'an of Guizhou > Chun'an of Zhejiang > Qijiang of Chongqing > Changyang of Hubei > Xuancheng of Anhui > Yilong of Sichuan > Nanning of Guangxi > Baihe of Shaanxi. The total organic acid content had an extremely significant positive correlation with the long-chain fatty acids, mainly including hexadecanoic acid, 9,12-octadecadienoic acid and 9-octadecenoic acid; a significant positive correlation with the short-chain carboxylic acids, mainly consisting of *dl*-malic acid and citric acid; a negative correlation with the aromatic carboxylic acids, mainly containing benzoic acid. Analysis of the cluster according to 33 common components showed that all the fruit samples were classified into 4 categories when their clustering distance was 5: Yilong of Sichuan, Xuancheng of Anhui, Baihe of Shaanxi, Nanning of Guangxi, and Changyang of Hubei were clustered into the first group; Qijiang of Chongqing and Chun'an of Zhejiang were clustered into the second branch. Zheng'an of Guizhou and Linyi of Shandong were clustered into the third group, and Jinghong of Yunnan was alone clustered into the fourth group. The Hierarchical Cluster Analysis (HCA) coupled with the total organic acid content showed that Zheng'an of Guizhou and Linyi of Shandong belonged to the high-acid varieties, Qijiang of Chongqing and Chun'an of Zhejiang were the middle-acid varieties, and Yilong of Sichuan, Baihe of Shaanxi and Nanning of Guangxi belonged to the low-acid varieties. 【Conclusion】Compared with the acid-base titration method and HPLC, GC-MS method not only was more stable, sensitive and accurate, but also could realize a qualitative identification of more chemical components. So it was much better to be used in the determination of total organic acid contents in fruits and their derived products. The results showed that there was a small difference among the different local varieties and an obvious difference existed in organic acid compositions and contents among the samples from different producing areas in China. And *dl*-malic acid and citric acid were the main components in most of *C. speciosa* fruit samples from 10 producing areas in China. Therefore, it belonged to the fruit type of malic acid accumulating mode.

**Key words:** *Chaenomeles speciosa*; Local variety resources; Organic acids; Methyl derivatization; GC-MS; Differential analysis

皱皮木瓜 *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai. 是蔷薇科苹果亚科木瓜属多年生落叶小乔木,原产于亚洲东部,中国特有药食兼用果树资源<sup>[1]</sup>。中国是皱皮木瓜原产地,多个省区均有分布,栽培已达6.67万 hm<sup>2</sup>,年产鲜果300万 t<sup>[2-5]</sup>。近年人们发现,传统以晒干药用为主的皱皮木瓜<sup>[6-8]</sup>,其鲜果中SOD、维生素C、黄酮、多糖、氨基酸类成分含量极高<sup>[9-12]</sup>,鲜食营养保健价值更加突出。然而皱皮木瓜鲜果口感酸涩,风味较差,高酸已成为鲜食主要制约因素<sup>[13]</sup>。因此,揭示皱皮木瓜遗传背景和果实的高酸机制,对其果实鲜食品质改良具有重要意义。

前人研究表明,果实的风味品质由糖、酸和香气共同决定,有机酸在果实风味形成中起重要作用<sup>[14-15]</sup>。刘世尧<sup>[16]</sup>采用滴定法测得皱皮木瓜果实总酸含量高达6.0%,以苹果酸计果汁(pH 2.6)可滴定酸含量超过3.57 g·100 mL<sup>-1</sup>,是高酸苹果‘瑞连娜’的5倍,接近尤力克柠檬果实(约为4.5 g·100 mL<sup>-1</sup>),是蔷薇科苹果亚科高酸水果的典型代表。皱皮木瓜不仅含酸量高而且组成复杂,其种类主要有以苹果酸、奎尼酸、柠檬酸为主的低碳羧酸<sup>[17]</sup>,以齐墩果酸、熊果酸为主的萜类有机酸<sup>[18-19]</sup>、长链脂肪酸、芳香族有机酸和氨基酸等<sup>[20-22]</sup>,其中长链脂肪酸和氨基酸是果实结构成分和能量载体,芳香族有机酸则决定着果实香气,而低碳羧酸是果实酸味的主要贡献成分,对果实酸度具有决定作用。高诚伟等<sup>[20]</sup>通过甲酯衍生GC-MS检测从云南西双版纳皱皮木瓜中分离有机酸22个,以柠檬酸、苯甲酸、羟基丁二酸、棕榈酸和苹果酸为主,还有长链脂肪酸和芳香酸。龚复俊等<sup>[21]</sup>测得湖北长阳皱皮木瓜总酸含量为6.1%,主要

有苹果酸、柠檬酸、苯甲酸、琥珀酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、苯基乳酸、乌头酸。由此可见,前人对皱皮木瓜有机酸的研究仍集中在组分鉴定的初级阶段。我国皱皮木瓜资源丰富,分布范围广、产地环境差异大,在特定的环境与栽培管理条件下形成了多个地方品种,但目前我国不同主产区皱皮木瓜果实有机酸组成和含量差异研究尚未见文献报道。本文以我国10个主产区皱皮木瓜果实样品为材料,通过溶剂提取、甲酯衍生与GC-MS检测进行各样品有机酸组分鉴定,外标法定量,系统聚类进行皱皮木瓜各地方品种有机酸组成相似性分析,揭示我国不同产区不同地方品种皱皮木瓜有机酸的组成与含量差异,为皱皮木瓜鲜食品质改良提供基础数据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

试验材料来自我国10个皱皮木瓜主产区(表1),于2017年秋季各产地果实商品成熟期采样,按代表性原则取样,每个产地选择生长势中等、生态条件和树型基本一致的健康成年植株各6株,每株随机摘取大小均匀且无病虫害成熟度一致的外围果5个,其中每2株样品混合作为1个生物学重复,每产地样品设3个重复。采后以果核为轴按“X”型纵切,分别取果实向阳面和背阳面果肉和果皮部分,去核后迅速切成0.5 cm<sup>3</sup>小块,混合均匀铝铂小袋封装后,立即放入液氮冷冻,再经冷冻干燥和粉碎过80目(0.18 mm)筛后,干燥器保存备用。

### 1.2 试剂与仪器

*dl*-苹果酸、柠檬酸、草酸、琥珀酸、富马酸、油酸

表1 实验样品采集表

Table 1 Experiment samples collecting information table

序号 No.	产区 Producing areas	物种名 Species name	品种名/地方名 Name or Local variety	产地海拔 Altitude/m	编号缩写 Abbreviation
1	重庆綦江石壕镇 Shihao, Qijiang, Chongqing	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	大罗木瓜 Daluo Mugua	1 600	CQQJ
2	四川仪陇三河镇 Sanhe, Yilong, Sichuang	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	川木瓜 Chuan Mugua	600	SCYL
3	陕西白河中厂镇 Zhongchang, Baihe, Shaanxi	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	白河木瓜 Baihe Mugua	400	SXBH
4	安徽宣城新田镇 Xintian, Xuancheng, Anhui	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	宣木瓜 Xuan Mugua	1 100	AHXC
5	广西南宁莲塘镇 Liantang, Nanning, Guangxi	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	青木瓜 Qing Mugua	400	GXNN
6	浙江淳安中洲镇 Zhongzhou, Chunan, Zhejiang	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	淳安木瓜 Chun'an Mugua	150	ZJCA
7	湖北长阳榔坪镇 Langping, Changyang, Hubei	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	长阳木瓜 Changyang Mugua	1 100	HBCY
8	云南景洪嘎洒镇 Gasa, Jinghong, Yunnan	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	酸木瓜 Suan Mugua	1 300	YNJH
9	贵州正安安场镇 Anchang, Zheng'an, Guizhou	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	正安木瓜 Zheng'an Mugua	600	GZZA
10	山东临沂汤河镇 Tanghe, Linyi, Shandong	<i>C. speciosa</i> (Sweet) Nakai.	沂州木瓜 Qizhou Mugua	200	SDLY

标准品购自 Sigma-aldrich 公司, C8-C30 正构烷烃混标购于美国 O2Si 标准品公司, 试剂甲醇、无水乙醇、氯仿、浓硫酸、正己烷、石油醚(60~90 °C)、无水硫酸钠为分析纯; 试验用水为超纯水。994L 型双门型超低温冰箱(美国热电公司)、Delta320 型 pH 酸度计(瑞士梅特勒-托利多公司)、Scientz-10ND 原位压盖型冷冻干燥机(宁波新芝生物科技公司)、FE-10 高速药材粉碎机(浙江温岭市百乐粉碎设备厂)、TA2003A 型台式离心机(上海哈菲尔分析仪器有限公司)、SHB-III 型数显恒温水浴锅(郑州长城科工贸有限公司)、Molgene 210a 型超纯水机(上海摩尔科学仪器有限公司)、万分之一电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司)、Shimadzu 2010QP Ultra 气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪, 配 GCMS Real Time Analysis 工作站, GCMS Postrun Analysis 再解析软件, NIST2008、NIST2008S 质谱数据库(日本岛津公司), 瑞士 AOC-5000 Plus 三位一体多功能自动进样器。

### 1.3 甲酯化衍生方法

分别准确称取 6 种有机酸标准品于 100 mL 容量瓶, 甲醇定容至刻度, 配成浓度为 *dl*-苹果酸 3.505 mg·mL<sup>-1</sup>、柠檬酸 1.506 mg·mL<sup>-1</sup>、草酸 1.503 mg·mL<sup>-1</sup>、琥珀酸 0.509 mg·mL<sup>-1</sup>、富马酸 0.201 mg·mL<sup>-1</sup>、油酸 2.913 mg·mL<sup>-1</sup> 甲醇溶液混标。然后分别精密称取 1、2、4、6、8、10、15、20 mL 混标溶液进行甲酯化衍生处理, 按 1.4 方法进行 GCMS 检测。样品制备方法参考高诚伟等<sup>[20]</sup>和龚复俊等<sup>[21]</sup>的方法并稍作改动。精确称取供试各样品粉末 0.5 g 于 25 mL 具塞刻度大试管中, 分别加入 20 mL 硫酸-甲醇(7:100), 密闭 0 °C 400 W 超声处理 30 min, 60 °C 恒温水浴甲酯化衍生处理 24 h, 冷却至室温, 补足蒸发损失甲醇, 密闭 0 °C 400 W 超声处理 30 min, 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心弃去沉淀。上清液转移到盛有 20 mL 超纯水的分液漏斗中, 混均, 再加入 20 mL 氯仿, 剧烈振荡后静置 2 h, 收集下相(氯仿层)即得皱皮木瓜果实有机酸甲酯化衍生物提取液, 3 g 无水硫酸钠干燥过夜并经 0.22 μm 有机滤膜过滤后, 1 μL 进行 GC-MS 分析。样品进样前, 取 0.2 mg·mL<sup>-1</sup> C8~C30 正己烷溶液混标 1 μL 进样, 按样品分离条件进行 GCMS 检测, 根据各正构烷烃的保留时间构建其科瓦兹保留指数值(RI)数据文件, 根据各正构烷烃的响应值进行样品中各有机酸检出成分响应值校正。

### 1.4 GC-MS 检测条件

气相色谱条件: 色谱柱岛津 Rxt-5MS 弱极性毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 分流进样, 分流比=53:1, 柱流量 0.87 mL·min<sup>-1</sup>, 线速度 34.1 mL·min<sup>-1</sup>, 吹扫流量为 3 mL·min<sup>-1</sup>, 恒线速度量控制。GCMS 进样口温室 280 °C。柱温箱程序升温(起始温度 70 °C, 保持 1 min, 以 10 °C·min<sup>-1</sup> 的速率升至 290 °C 并保持 10 min)。传输线温度 230 °C, 载气为氦气, 色谱分离时间 35 min。

质谱条件: 电离方式: 电子轰击电离(EI 源); 电离能量: 70eV; 离子源温度 230 °C; 质量范围(m/z): 30~800 Da; 检测器增益 1.0 × 10<sup>5</sup>; 采集方式 Scan; 溶剂延迟时间: 2.5 min。样品有机酸衍生物 GC-MS 检测: 取制备好的供试液, 进样 1 μL, 35 min 得到各样品有机酸衍生物 TIC 图。

### 1.5 数据统计与分析

利用 Shimadzu GC-MS 再解析软件结合 AMDIS 32 行数据解析。将正构烷烃混标数据导入 AMDIS 32 构建保留指数文件, 然后将各样品\*.qgd 格式文件转存为 AIA 格式后, 导出 AMDIS 32 进行重叠峰与隐藏峰拆分, 并利用建立的有机酸甲酯化衍生物谱库自动检索结合科瓦兹保留指数 RI 值定性, 外标法定量, 再以样品标准物质对应的成分峰为基峰计算邻近成分峰含量, 按正构烷烃响应值对保留时间相近的各检出成分进行响应值校正。Excel 2007 进行各样品含量差异比较, SPSS 20.0 进行 10 个样品有机酸组成相关性计算与聚类分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品有机酸甲基化衍生物 GC-MS 分离

样品干粉、6 种有机酸混标梯度溶液经甲醇超声提取与甲酯化衍生处理、氯仿萃取得有机酸甲酯化衍生物供试液, 与 0.2 mg·mL<sup>-1</sup> C8~C30 正己烷混标溶液, 按样品分离条件进行 GCMS 检测, 1 μL 进样, 分别得各溶液总离子流色谱图(图 1), 各样品 TIC 图分离过程基线较稳定(22.5~27.5 min 时间范围内略有漂移), 有机酸衍生物谱峰分布均匀, 成分峰基线分离度较好。不同样品检出主要有机酸保留时间 RSD 均在 2% 以下, 表明仪器精密性(图 1)良好。正构烷烃 TIC 图基线平稳, 成分峰分离度高。有机酸混标 8 个浓度梯度 GCMS 测定结果表明, 衍生后的 *dl*-苹果酸、柠檬酸、草酸、琥珀酸、富马酸、油酸标



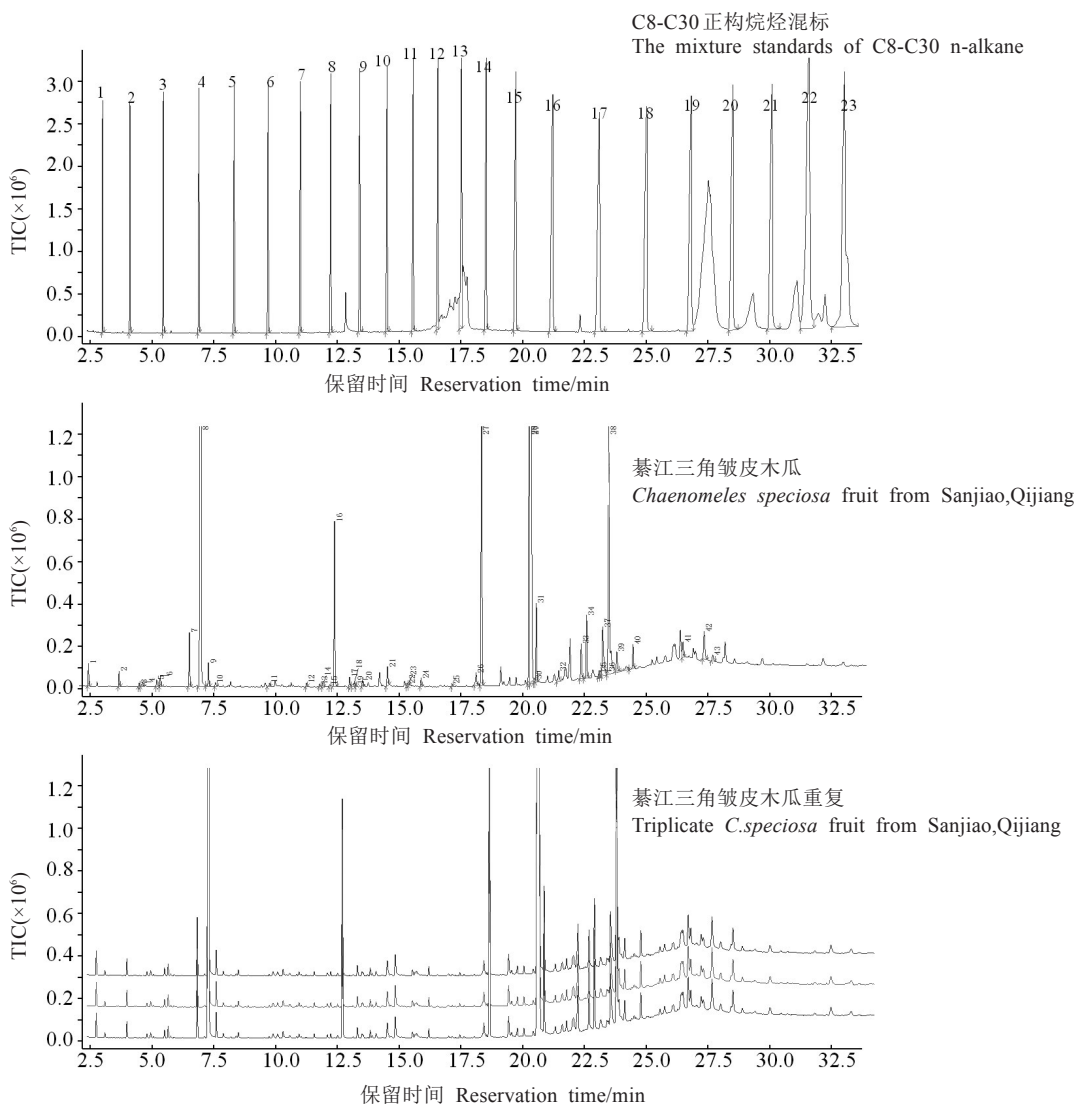


图1 正构烷烃标准品与皱皮木瓜果实样品有机酸衍生物 TIC 图

Fig. 1 GC-MS TICs of organic acids methylized derivatives of *C. speciosa* fruit samples and n-alkane mixture standards

准品浓度与其衍生物总离子流图成分峰面积的相关系数为0.929~0.982,均呈线性相关关系(表2)。

2.2 样品有机酸甲基化衍生物GC-MS鉴定

本文从10个不同产区皱皮木瓜地方品种资源样品中共分离鉴定出有机酸43种(表3),包括长链脂肪酸22种,有油酸、亚油酸、棕榈酸、10-羟基-十八

烷酸、10,13-二十碳二烯酸、硬脂酸、9,10-二羟基-十八烷酸等;低碳羧酸10种,包括一元羧酸(乙酰丙酸)1种,二元羧酸(*dl*-苹果酸、琥珀酸、丙二酸、草酸、*a*-酮戊二酸、富马酸)6种和三元酸(柠檬酸、异柠檬酸、反式乌头酸)3种;鉴定出芳香族羧酸4种,分别为苯甲酸、*dl*-扁桃酸、肉桂酸、糠酸、香草酸,一元

表2 -标准曲线回归方程

Table 2 Regression equation of the 6 standards curve

序号 No.	标准品 Standards	标准曲线 Standard curves	来源 Source	线性范围 Range/(mg·mL <sup>-1</sup> )	衍生物定性离子 Quantifying ion for Scan	相关系数 R <sup>2</sup>
1	<i>dl</i> -苹果酸 <i>dl</i> -Malic acid	y=518 133.2x -112 455.1	Sigma-Aldrich	3.505~70.1	10 371	0.934
2	柠檬酸 Citric acid	y=85 017 052.8x -45 231 110.9	Sigma-Aldrich	1.506~30.12	143 101	0.972
3	草酸 Ethanedioic acid	y=10 111 786.9x -7 712 394.9	Sigma-Aldrich	1.503~30.06	5 945	0.982
4	琥珀酸 Succinic acid	y=10 485 091.9x -10 082 445.2	Sigma-Aldrich	0.509~10.18	75 117	0.970
5	富马酸 Fumaric acid	y=806 370.9x -994 362.8	Sigma-Aldrich	0.201~4.02	11 385	0.956
6	油酸 Oleinic acid	y=26 998 564 9x -28 065 430.9	Sigma-Aldrich	2.913~58.26	5 569	0.929

表 3 十个皱皮木瓜地方品种资源样品有机酸甲基化衍生物质谱解析表

Table 3 MS analyzing result of organic acids methyl derivatives of 10 *C. speciosa* local variety fruit samples

峰号 Peak No.	保留时间 Reservation time/min	有机酸名称 Organic acid name	测定 RI 值 RI <sub>x</sub>	文献 RI 值 RI <sub>0</sub>	CAS No.	酸度系数 pKa1
低碳羧酸类 Short chain carboxylic acids						
1*	2.905	草酸二甲酯 Ethanedioic acid, dimethyl ester	791	753	553-90-2	1.23
2*	4.042	丙二酸二甲酯 Propanedioic acid, dimethyl ester	891	853	108-59-8	2.86
3*	4.926	乙酰丙酸甲酯 Levulinic acid, methyl ester	956	921	624-45-3	4.05
4*	5.443	富马酸二甲酯 Fumaric acid, dimethyl ester	994	960	624-49-7	3.02
5*	5.577	<i>α</i> -酮戊二酸二甲酯 2-oxo-Pentanedioic acid, ester	1 003	1 188	13192-04-6	2.47
6*	7.08	<i>dl</i> -苹果酸二甲酯 Malic acid, demethyl ester	1 106	1 115	1587-15-1	3.46
7*	7.367	琥珀酸二甲酯 Succinic acid, demethyl ester	1 125	1 063	4148-97-4	4.21
8*	11.618	反式乌头酸三甲酯 Trimethyl trans-Aconitate, trimethyl ester	1 433	1 403	4271-99-2	1.95
9*	12.051	柠檬酸三甲酯 Citric acid, trimethyl ester	1 468	1 509	1587-20-8	3.13
10*	12.611	异柠檬酸三甲酯 Isocitric acid, trimethyl ester	1 513	1 516	56009-39-3	3.13
长链脂肪酸 Long chain fatty acids						
11*	12.784	月桂酸甲酯 Dodecanoic acid, methyl ester	1 527	1 481	111-82-0	5.11
12*	13.086	杜鹃花酸甲酯 Azelaic acid, methyl ester	1 552	1 449	1732-10-1	5.07
13	15.265	肉豆蔻酸甲酯 Tetradecanoic acid, methyl ester	1 744	1 680	124-10-7	5.14
14	16.413	十五烷酸甲酯 Pentadecanoic acid, methyl ester	1 854	1 779	7132-64-1	5.15
15*	17.311	棕榈油酸甲酯 9-Hexadecenoic acid, methyl ester	1 942	1 886	1120-25-8	5.17
16*	17.511	棕榈酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	1 963	1 878	112-39-0	5.18
17*	19.291	亚油酸甲酯 9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	2 133	2 093	112-63-0	5.20
18*	19.341	油酸甲酯 9-Octadecenoic acid, methyl ester	2 137	2 085	1937-62-8	5.16
19	19.475	反油酸甲酯 16-Octadecenoic acid, methyl ester	2 148	2 085	52380-33-3	5.16
20*	19.551	硬脂酸甲酯 Stearic acid, methyl ester	2 154	2 077	112-61-8	5.17
21*	20.381	山嵛酸二甲酯 Docosanedioic acid, dimethyl ester	2 217	2 741	22399-98-0	5.25
22*	21.218	顺-11-二十碳烯酸甲酯 <i>cis</i> -11-Eicosenoic acid, methyl ester	2 272	2 276	2390-09-2	5.21
23*	21.418	花生酸甲酯 Eicosanoic acid, methyl ester	2 285	2 284	1120-28-1	5.22
24*	21.886	顺-7,10,13,16-二十二碳四烯酸甲酯 <i>cis</i> -7,10,13,16-Docosatetraenoic acid methyl ester	2 312	2 507	13487-42-8	5.20
25*	21.933	7,10,13-二十碳三烯酸甲酯 7,10,13-Eicosatrienoic acid, methyl ester	2 315	2 300	30223-51-9	5.20
26*	22.015	10,13-二十碳二烯酸甲酯 10,13-Eicosadienoic acid, methyl ester	2 319	2 292	30223-50-8	5.21
27*	22.24	10-羟基-十八烷酸甲酯 (+/-)-10-hydroxy-Octadecanoic acid, methyl ester	2 331	2 239	55044-18-3	5.17
28*	22.54	7-羟基-十八烷酸甲酯 7-hydroxy-Octadecanoic acid, methyl ester	2 346	2 239	2379-96-6	5.19
29	23.142	二十二烷酸甲酯 Docosanoic acid, methyl ester	2 377	2 475	929-77-1	5.22
30*	24.996	二十四烷酸甲酯 Tetracosanoic acid, methyl ester	2 473	2 674	2442-49-1	5.27
31*	25.783	9,10-二羟基-十八烷酸甲酯 9,10-dihydroxy-Octadecanoic acid, methyl ester	2 513	2 402	1115-01-1	5.19
32	26.108	二十五烷酸甲酯 Pentacosanoic acid, methyl ester	2 531	2 375	6064-90-0	5.23
一元酚酸 Monobasic phenol acids						
33*	11.869	水杨酸甲酯 <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid, methyl ester	1 453	1 281	99-76-3	2.98
34*	14.018	奎尼酸甲酯 Quinic acid, methyl ester	1 632	1 852	77-95-2	3.70
35	14.75	原儿茶酸甲酯 Protocatechuic acid, methyl ester	1 697	1 502	2150-43-8	3.58
36	14.811	莽草酸甲酯 Shikimic acid, methyl ester	1 702	1 712	138-59-0	3.87
芳香族有机酸 Aromatic dicarboxylic acids						
37*	4.787	糠酸甲酯 2-Furancarboxylic acid, methyl ester	946	909	611-13-2	3.16
38*	6.659	苯甲酸甲酯 Benzoic acid, methyl ester	1 077	1 060	93-58-3	4.21
39	9.64	<i>dl</i> -扁桃酸甲酯 (S)- $\alpha$ -hydroxy-Benzeneacetic acid, methyl ester	1 284	1 322	21210-43-5	3.37
40*	11.008	肉桂酸甲酯 Cinnamic acid, methyl ester	1 386	1 267	103-26-4	4.44
41	12.833	香草酸甲酯 Vanillic acid, methyl ester	1 531	1 470	3943-74-6	4.45
氨基酸 Amino acids						
42	7.625	<i>L</i> -天冬氨酸二甲酯 <i>L</i> -Aspartic acid, dimethyl ester	1 143	1 131	6384-18-5	2.77
43*	11.496	<i>L</i> -苯丙氨酸甲酯 <i>L</i> -Phenylalanine, methyl ester	1 432	1 438	2577-90-4	5.48

注: \*为 10 个样品共有有机酸甲酯衍生物匹配共有成分峰。Note: \* is common ingredient peaks of 10 samples.

酚酸4种(奎尼酸、原儿茶酸、水杨酸、莽草酸),此外还分离出2种氨基酸(*L*-天冬氨酸、*L*-苯丙氨酸)。由此可见,经甲醇提取、甲酯化衍生与GCMS检测,从我国不同产区10个皱皮木瓜地方品种资源果实中鉴定出的有机酸种类,长链脂肪酸和低碳羧酸最多,芳香族羧酸、一元酚酸与氨基酸类成分依次减少。其中长链脂肪酸和氨基酸是果实细胞结构性物质和能量贮存载体,低碳羧酸与酚酸是皱皮木瓜果实的

主要酸味贡献性成分<sup>[23]</sup>,而芳香族有机酸决定着果实香味品质。可见,本文方法检出指标数量多,精确度较高,不同样品重要微量有机酸检出效果良好。

### 2.3 样品共有性有机酸组成与含量测定

供试10个样品总离子流图通过共有成分峰匹配,得到33个共有性有机酸(图2),包括全部10个低碳羧酸、17个长链脂肪酸、3个芳香族有机酸、2个一元酚酸、1个氨基酸,种类涵盖了各样品检出主要

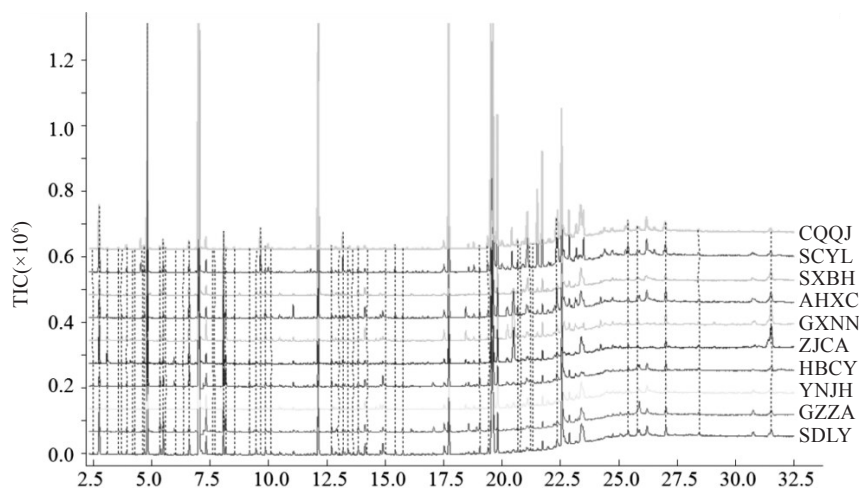


图2 十个主产区皱皮木瓜样品有机酸共有成分峰匹配图

Fig. 2 The common organic acid derivatives peaks matching TICs among the 10 *C. speciosa* local variety samples from different producing areas

有机酸(表2)。由此,可见皱皮木瓜种内有机酸组成具有较高的相似性,但产地或地方种间有机酸含量具有较大差异。由表4可知,在全国10个主产区皱皮木瓜果实样品匹配的33种有机酸中,含量 $\geq 2$   $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的有机酸共有10个,累计平均相对含量占检出总有机酸的84.96%。以*dl*-苹果酸和柠檬酸含量最高,在我国10个主产区样品中平均含量分别达到28.108  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和16.290  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,平均相对含量分别占33种共有有机酸的23.64%与13.70%;其次依次为亚油酸(13.582  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 11.42%)、棕榈酸(11.378  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 9.57%)、油酸(11.026  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 9.27%)、草酸(5.599  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 4.71%)、10-羟基-十六烷酸(5.581  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 4.69%)、乙酰丙酸(4.310  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 3.62%)、硬脂酸(2.953  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 2.48%)、9,10-二羟基-十八烷酸(2.201  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 1.85%)。在检出含量高于2  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 的10种共有有机酸中,低碳羧酸与长链脂肪酸类成分与占了3个和7个。低碳羧酸以*dl*-苹果酸和柠檬酸含量最高,在全国的10个主产区,*dl*-苹果酸相对含量最高,变化范围也比较大,云南景洪(40.069  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )

最高,湖北长阳(11.697  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )最低,相差近4倍;而柠檬酸也以云南景洪最高(63.837  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ),但以安徽宣城(4.688  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )最低,相差超过了13倍。长链脂肪酸以亚油酸含量最高,山东临沂样品含量38.66  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,四川仪陇3.947  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

### 2.4 样品总有机酸含量与组成差异

经外标法定量,参照正构烷烃混标TIC图各组分浓度及其对应成分峰面积进行样品中各检出成分的响应值校正,全国10个主产区不同皱皮木瓜地方品种资源样品总有机酸含量变化范围为82.58~170.76  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ (表4),按从高到低:山东临沂汤河镇(170.76 $\pm$ 7.45)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >云南景洪嘎洒镇(163.99 $\pm$ 11.9)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >贵州正安安场镇(162.56 $\pm$ 12.77)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >浙江淳安中洲镇(127.29 $\pm$ 9.57)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >重庆綦江石壕镇(113.72 $\pm$ 8.43)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >湖北长阳榔坪镇(103.53 $\pm$ 5.49)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >安徽宣城新田镇(91.46 $\pm$ 6.19)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >四川仪陇三河镇(90.48 $\pm$ 7.08)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >广西南宁莲塘镇(82.74 $\pm$ 5.00)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ >陕西白河中厂镇(82.58 $\pm$ 4.85)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,山东临沂最高,陕西白河最低,山东临

表 4 不同产地皱皮木瓜共有有机酸含量

Table 4 The common organic acids content in 10 local variety samples from diferent producing areas

化合物 编号 Compound No.	含量平均值±标准差 Mean value ±Standard deviation, n=3/(mg·g <sup>-1</sup> )									
	1-CQQJ	2-SCYL	3-SXBH	4-AHXC	5-GXNN	6-ZJCA	7-HBCY	8-YNJH	9-GZZA	10-SDLY
1	8.51±0.49a	3.27±0.23cd	4.79±0.36cd	2.96±0.21d	5.27±0.37bc	7.27±0.49ab	5.02±0.31cd	3.37±0.19cd	7.74±0.42a	7.78±0.55a
2	0.49± 0.04cd	0.34± 0.02de	0.28± 0.02e	0.53± 0.02bcd	0.41± 0.03de	0.73± 0.04a	0.43± 0.02de	0.35± 0.01de	0.68± 0.05ab	0.67± 0.05abc
3	4.17±0.32bc	5.14±0.37ab	3.3±0.21cd	3.14±0.15cd	3.14±0.22cd	1.64±0.1d	5.53±0.28ab	5.01±0.39ab	6.33±0.29a	5.7±0.25ab
4	1.13±0.08bc	1.71±0.13a	0.88±0.05c	1.1±0.06bc	1.38±0.09ab	1.16±0.08bc	0.37±0.02d	0.87±0.06c	0.5±0.03d	0.46±0.02d
5	2.36±0.12a	1.83±0.09b	0.57±0.03f	1.26±0.09cd	0.8±0.06def	1.83±0.08b	0.65±0.03ef	1.69±0.13bc	1.12±0.05de	1.18±0.09cde
6	39.73±1.76a	34.34±2.55a	20.27±1.37b	35.44±2.15a	22.6±1.42b	39.75±2.4a	11.7±0.72b	40.07±2.81a	18.41±1.4b	18.78±0.85b
7	1.58± 0.09bc	3.07± 0.22a	1.42± 0.07bcd	1.99± 0.09b	0.91± 0.04d	1.86± 0.12b	1.01± 0.06cd	0.9± 0.06d	1.16± 0.06cd	1.16± 0.08cd
8	0.11±0cd	0.23±0.01b	0.11±0cd	0.48±0.03a	0.12±0.01cd	0.19±0.01bc	0.14±0.01cd	0.08±0d	0.18±0.01bc	0.17±0.01bc
9	8.66± 0.53cde	4.86± 0.24e	7.35± 0.31de	4.69± 0.22e	10.94± 0.84bcde	13.38± 1.01bcde	17.72± 0.79b	63.84± 4.49a	14.21± 0.67bcd	17.26± 0.87bc
10	0.68±0.05bc	0.77±0.05ab	0.33±0.02d	0.89±0.07a	0.5±0.04cd	0.61±0.04bc	0.34±0.02d	0.6±0.03bc	0.37±0.02d	0.47±0.03cd
11	67.42± 4.87b	55.54± 2.33bc	39.3± 2.9c	52.47± 2.96bc	46.08± 2.39bc	68.42± 5.02b	42.91± 2.08c	116.77± 9.28a	50.7± 3.94bc	53.64± 2.73bc
12	0.23± 0.01cde	0.21± 0.01de	0.19± 0.01de	0.33± 0.02ab	0.19± 0.01de	0.42± 0.03a	0.25± 0.02bcde	0.15± 0.01e	0.31± 0.02bc	0.26± 0.01bcd
13	0.43±0.02b	0.52±0.04b	0.33±0.02b	0.42±0.02b	0.4±0.02b	0.47±0.02b	0.31±0.02b	0.35±0.02b	1.3±0.09a	1.42±0.1a
14	0.77±0.05ab	0.79±0.03ab	0.44±0.03d	0.49±0.04cd	0.49±0.02cd	0.93±0.07ab	0.77±0.03ab	0.3±0.02d	0.72±0.04bc	1±0.06a
15	7.45±0.48b	6.36±0.26b	9.02±0.49b	5.88±0.45b	7.36±0.33b	10.05±0.69b	10.51±0.65b	6.31±0.38b	24.77±1.27a	26.08±1.05a
16	7.15±0.54b	3.95±0.27b	7.25±0.36b	5.99±0.47b	7.28±0.47b	9.76±0.69b	9.47±0.49b	9.47±0.74b	36.84±2.78a	38.66±2.3a
17	9.13± 0.6bcde	4.9± 0.32e	9.53± 0.74bcd	6.7± 0.48de	7.88± 0.63cde	17.31± 1.09a	12.86± 0.95b	17.44± 0.76a	11.88± 0.57bc	12.64± 0.71b
18	1.77±0.12bc	1.09±0.05c	2.1±0.13bc	1.15±0.08c	2.07±0.13bc	2.58±0.14b	2.63±0.17b	1.29±0.09bc	7.23±0.51a	7.62±0.52a
19	0.18±0.01bc	0.16±0.01bc	0.16±0.01bc	0.13±0.01c	0.16±0.01bc	0.27±0.02b	0.54±0.03a	0.12±0.01c	0.44±0.03a	0.44±0.03a
20	0.25±0.01b	0.09±0.01b	0.24±0.02b	0.13±0.01b	0.3±0.02b	0.48±0.03b	0.46±0.03b	0.3±0.01b	3.25±0.19a	3.35±0.25a
21	0.49±0.03b	0.33±0.02b	0.56±0.04b	0.44±0.03b	0.51±0.03b	0.87±0.05b	0.66±0.03b	0.68±0.03b	4.55±0.36a	4.89±0.27a
22	0.19±0.01b	0.23±0.01ab	0.2±0.01b	0.26±0.02ab	0.2±0.01b	0.22±0.01ab	0.27±0.01ab	0.06±0c	0.26±0.01ab	0.29±0.02a
23	0.26±0.02bc	0.23±0.02bc	0.21±0.01bc	0.16±0.01c	0.26±0.02bc	0.23±0.01bc	0.45±0.03b	0.07±0c	1.58±0.08a	1.54±0.06a
24	1.03±0.07b	0.81±0.06bc	0.46±0.03c	0.99±0.06b	0.42±0.02c	1.26±0.08b	1.97±0.13a	0.46±0.03c	2.1±0.17a	2±0.15a
25	6.8±0.47ab	7.98±0.44a	4.99±0.29bc	5.82±0.23ab	0.97±0.06d	3.28±0.21c	7.29±0.4a	3.4±0.18c	7.65±0.53a	7.63±0.31a
26	1.51±0.1abc	0.97±0.05d	0.93±0.04d	0.99±0.05d	0.45±0.04e	1.4±0.06bcd	1.65±0.11ab	1.04±0.07cd	2±0.11a	2±0.14a
27	1.55± 0.07abc	1.12± 0.05c	1.96± 0.12a	1.48± 0.08abc	1.81± 0.11ab	1.59± 0.07abc	1.1± 0.05c	1.33± 0.06bc	1.72± 0.13ab	1.66± 0.09abc
28	3.14±0.2a	1.91±0.08cd	1.81±0.09cd	1.61±0.13d	2.11±0.13bcd	1.25±0.05d	3.19±0.21a	1.49±0.08d	2.6±0.14abc	2.9±0.18ab
29	42.33±3.22b	31.64±1.92b	40.37±1.83b	32.95±2.1b	32.86±2.36b	52.35±4.03b	54.37±3.71b	44.26±1.92b	109.21±4.55a	114.39±6.32a
30	0.25±0.01c	0.43±0.03b	0.18±0.01c	0.62±0.03a	0.21±0.01c	0.29±0.02c	0.26±0.01c	0.17±0.01c	0.23±0.01c	0.2±0.01c
31	1.14±0.09b	0.94±0.05b	0.95±0.04b	1.03±0.06b	0.45±0.04c	1.5±0.09a	1.22±0.07ab	0.87±0.07b	0.45±0.02c	0.46±0.03c
32	1.4±0.09ab	1.37±0.09ab	1.13±0.06bc	1.65±0.1a	0.66±0.05c	1.79±0.08a	1.48±0.09ab	1.05±0.08bc	0.68±0.05c	0.66±0.05c
33	0.56±0.04abc	0.39±0.02cd	0.48±0.03bc	0.38±0.03cd	0.55±0.04abc	0.6±0.04ab	0.71±0.03a	0.25±0.01d	0.66±0.05ab	0.66±0.05ab
34	1.63±0.08cd	0.75±0.03e	1.06±0.07de	2.67±0.2b	2.17±0.11bc	3.6±0.19a	2.58±0.17b	1.46±0.1cde	1.11±0.06de	1.17±0.06de
35	0.34±0.02cd	0.75±0.05b	0.19±0.01d	1.19±0.08a	0.36±0.02cd	0.46±0.02c	1.39±0.11a	0.17±0.01d	0.14±0.01d	0.16±0.01d
36	2.54±0.11bc	1.88±0.12c	1.74±0.1c	4.25±0.33a	3.09±0.23b	4.67±0.35a	4.69±0.35a	1.88±0.14c	1.91±0.13c	1.99±0.16bc
37	0.04±0cd	0.04±0cd	0.04±0cd	0.13±0.01a	0.06±0bc	0.05±0bcd	0.07±0b	0.03±0d	0.06±0bc	0.07±0b
38	0.04±0cd	0.04±0cd	0.04±0cd	0.13±0.01a	0.06±0bc	0.05±0bcd	0.07±0b	0.03±0d	0.06±0bc	0.07±0.01b
39	113.72± 8.43b	90.48± 7.08b	82.58± 4.85b	91.46± 6.19b	82.74± 5b	127.29± 9.57ab	103.53± 5.49b	163.99± 11.9a	162.56± 12.77a	170.76± 7.45a

注:1. 草酸;2. 丙二酸;3. 乙酰丙酸;4. 富马酸;5. a-酮戊二酸;6. dL-苹果酸;7. 琥珀酸;8. 反式乌头酸;9. 柠檬酸;10. 异柠檬酸;11. 低碳羧酸类;12. 月桂酸;13. 杜鹃花酸;14. 棕榈油酸;15. 棕榈酸;16. 亚油酸;17. 油酸;18. 硬脂酸;19. 山萘酸;20. 顺-11-二十碳烯酸;21. 花生酸;22. 顺式-5,8,11-二十碳三烯酸;23. 7,10,13-二十碳三烯酸;24. 10,13-二十碳二烯酸;25. 10-羟基-十六烷酸;26. 7-羟基-十八烷酸;27. 二十四烷酸;28. 9,10-二羟基-十八烷酸;29. 长链脂肪酸;30. 奎尼酸;31. 水杨酸;32. 一元酚酸;33. 糠酸;34. 苯甲酸;35. 肉桂酸;36. 芳香族有机酸;37. L-苯丙氨酸;38. 氨基酸;39. 总有机酸。abc 在 0.05 水平(双侧)上差异显著。

Note: 1. Ethanedioic acid; 2. Propanedioic acid; 3. Levulinic acid; 4. Fumaric acid; 5. 2-oxo-Pentanedioic acid; 6. dL-Malic acid; 7. Succinic acid; 8. Trans-Aconitate; 9. Citric acid; 10. Isocitric acid; 11. Short chain carboxylic acids; 12. Dodecanoic acid; 13. Azelaic acid; 14. 9-Hexadecenoic acid; 15. Hexadecanoic acid; 16. 9,12-Octadecadienoic acid; 17. 9-Octadecenoic acid; 18. Stearic acid; 19. Docosanedioic acid; 20. cis-11-Eicosenoic acid; 21. Eicosanoic acid; 22. cis-7,10,13,16-Docosatetraenoic acid; 23. 7,10,13-Eicosatrienoic acid; 24. 10,13-Eicosadienoic acid; 25. (+/-)-10-hydroxy-Octadecanoic acid; 26. 7-hydroxy-Octadecanoic acid; 27. Tetracosanoic acid, methyl ester; 28. 9,10-dihydroxy-Octadecanoic acid; 29. Long chain fatty acids; 30. Quinic acid; 31. p-Hydroxybenzoic acid; 32. Monobasic phenol acids; 33. 2-Furancarboxylic acid; 34. Benzoic acid; 35. Cinnamic acid; 36. Aromatic dicarboxylic acids; 37. l-Phenylalanine; 38. Amino acids; 39. Total organic acids. And abc significant at 0.05 level.



沂皱皮果实总有机酸含量是陕西白河样品的2.06倍。由图3可知,按样品总有机酸含量高低划分,在我国10个主产区样品中云南景洪、贵州正安和山东临沂差异不显著,含酸量最高;重庆綦江与浙江淳安差异不显著,含酸量中等偏上;安徽宣城与河北长阳差异不显著,含酸量中等低下;陕西白河、广西南宁、四川仪陇差异不显著,含酸量最低。由检出各类有机酸的百分比堆积图可知,在检出5类有机酸中,长链脂肪酸含量最高,低碳羧酸与芳香族有机酸次之,一元酚酸与氨基酸含量最低(图3)。相关性分析结果(表5)表明,样品总有机酸含量与长链脂肪酸含量在0.01水平上呈极显著正相关( $r=0.783$ ),与低碳羧酸在0.05水平上呈显著正相关( $r=0.526$ ),与芳香族有机酸在0.10水平上呈负相关( $r=-0.402$ ),说明长链脂肪酸与低碳羧酸类含量上升,均能显著增加

样品总有机酸含量,而芳香族有机酸类物质含量提高,会使样品总有机酸含量下降。*dl*-苹果酸、柠檬酸、草酸和乙酰丙酸是低碳羧酸的最主要成分,亚油酸、棕榈酸和油酸是长链脂肪酸中含量最高的有机酸,芳香族有机酸以苯甲酸为主,以上成分含量变化对样品总有机酸含量具有明显的决定作用,但这些成分在每个样品中的含量各不相同。通过10个产地皱皮木瓜果实样品中10个主要有机酸组分含量的箱线图(图4),可更加鲜明地看出各成分含量的数据分布规律,即草酸、乙酰丙酸、棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸、10-羟基-十六烷酸、苯甲酸等成分在我国10个主产地皱皮木瓜样品中含量数据分布比较集中,而*dl*-苹果酸与柠檬酸在各产地样品中的含量分布比较分散且差异较大,说明*dl*-苹果酸与柠檬酸是皱皮木瓜各地方品种酸味差异高低的主要决定

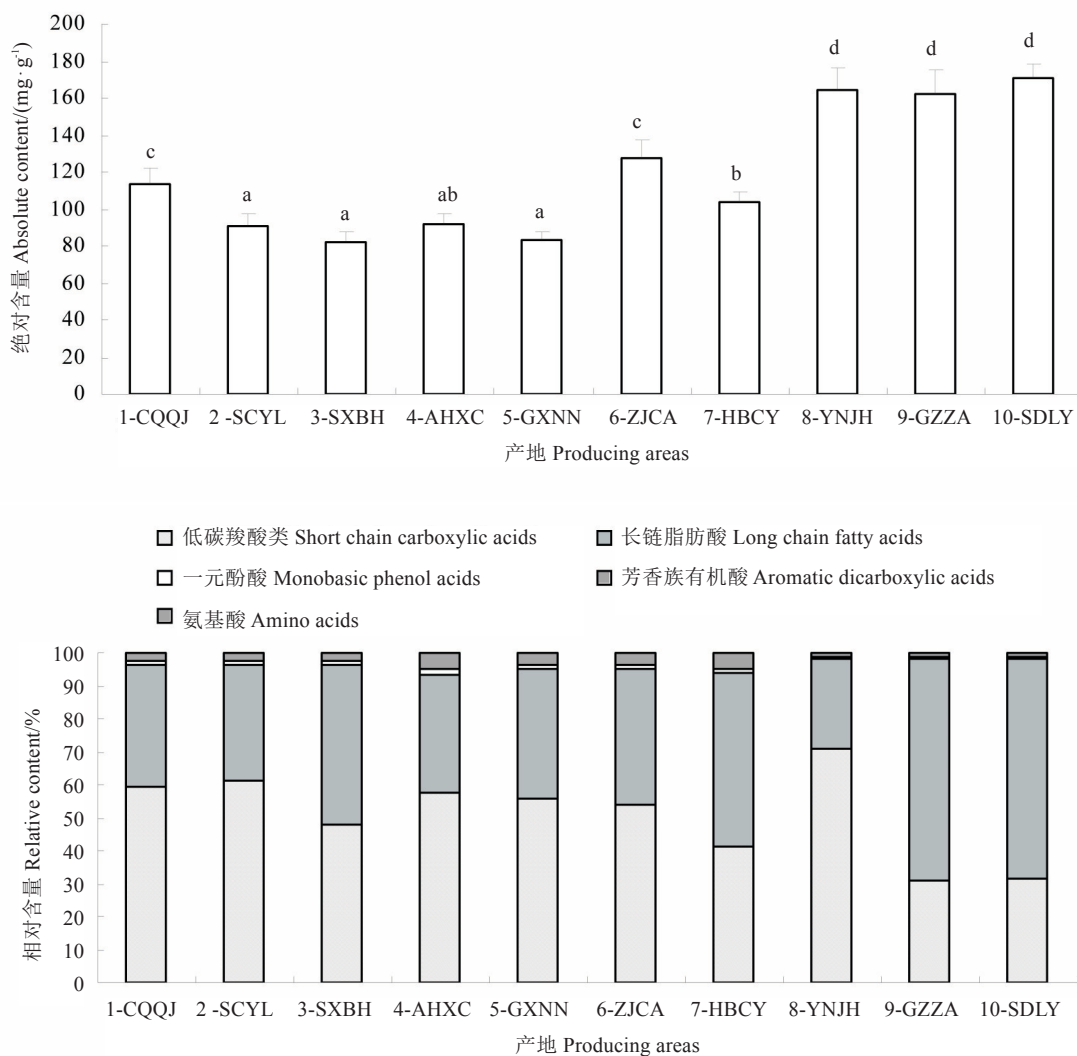


图3 十个产区样品总有机酸含量与各类有机酸百分比堆积图

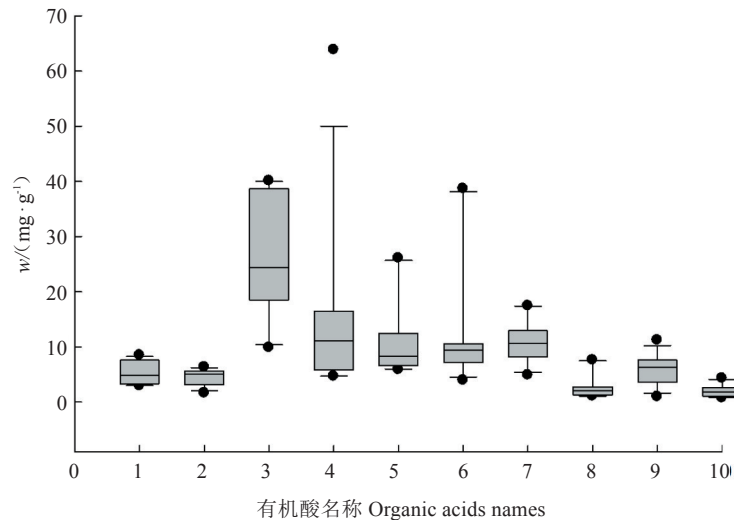
Fig. 3 The total organic acids content of each sample and the percentage stacked column diagram of each type of organic acids

表 5 十个产区样品各有机酸类别的相关性分析和差异显著性检测 ( $n=10$ )Table 5 Correlation analysis and their significance test of each kind of organic acids in 10 local rariety samples ( $n=10$ )

有机酸代码 Organic acid No.	相关系数 Correlation coefficient						差异显著性检验 Significance test(Single tail)					
	Var01	Var02	Var03	Var04	Var05	Var06	Var01	Var02	Var03	Var04	Var05	Var06
Var01	1.000***	-0.116	0.071	-0.186	-0.346	0.526**	0.000	0.375	0.422	0.304	0.164	0.049
Var02	-0.116	1.000***	-0.550**	-0.268	0.069	0.783***	0.375	0.000	0.050	0.227	0.425	0.004
Var03	0.071	-0.550**	1.000***	0.661**	0.205	-0.402*	0.422	0.050	0.000	0.019	0.285	0.097
Var04	-0.186	-0.268	0.661***	1.000***	0.489*	-0.308	0.304	0.227	0.019	0.000	0.076	0.193
Var05	-0.346	0.069	0.205	0.489*	1.000***	-0.138	0.164	0.425	0.285	0.076	0.000	0.351
Var06	0.526**	0.783***	-0.402*	-0.308	-0.138	1.000***	0.049	0.004	0.097	0.193	0.351	0.000

注: Var01. 低碳羧酸类; Var02. 长链脂肪酸; Var03. 一元酚酸; Var04. 芳香族有机酸; Var05. 氨基酸; Var06. 总有机酸; \*表示在  $p \leq 0.10$  水平(单尾检验)上相关; \*\*表示在  $p \leq 0.05$  水平(单尾检验)上显著相关; \*\*\*表示在  $p \leq 0.01$  水平(双尾检验)上极显著相关。

Note: Var01. Short chain carboxylic acids; Var02. Long chain fatty acids; Var03. Monobasic phenol acids; Var04. Aromatic dicarboxylic acids; Var05. Amino acids; Var06. Total organic acids; \* indicates correlation is correlaitve at  $p \leq 0.10$  level of single-tailed test. \*\* indicates correlation is significant at  $p \leq 0.05$  level of single-tailed test. \*\*\* indicates correlation is strongly significant at  $p \leq 0.01$  level of single-tailed test.



1. 草酸; 2. 乙酰丙酸; 3. *dl*-苹果酸; 4. 柠檬酸; 5. 棕榈酸; 6. 亚油酸; 7. 油酸; 8. 硬脂酸; 9. 10-羟基-十六烷酸; 10. 苯甲酸。

1. Ethanedioic acid; 2. Levulinic acid; 3. *dl*-Malic acid; 4. Citric acid; 5. Hexadecanoic acid; 6. 9,12-Octadecadienoic acid; 7. 9-Octadecenoic acid; 8. Stearic acid; 9. (+/-)-10-hydroxy-Octadecanoic acid; 10. Benzoic acid.

图 4 十个主要有机酸成分箱形图

Fig. 4 Box plot of the the 10 main organic acids

因子。

## 2.5 样品有机酸组成聚类分析

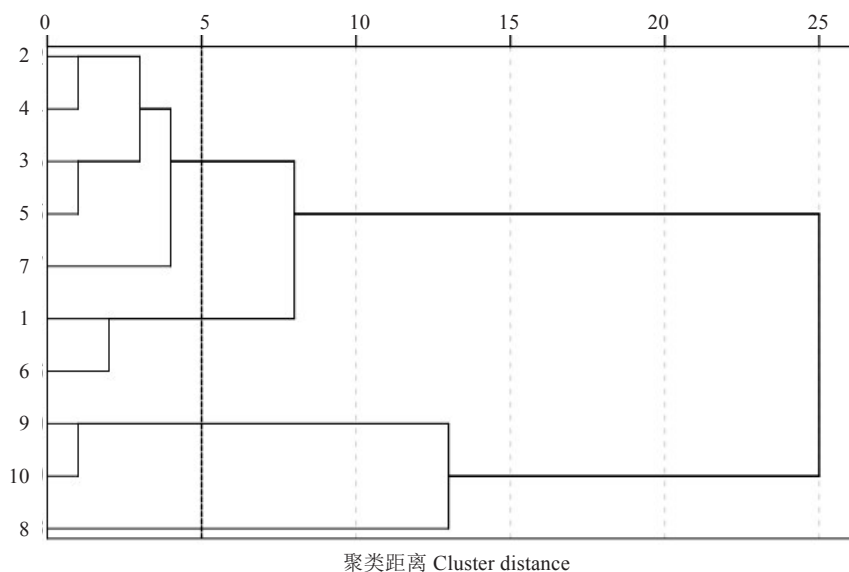
以我国 10 个不同产区皱皮木瓜地方品种资源果实样品中 5 大类 33 个共有有机酸含量数据为基础,利用 SPSS20.0 离差平方和法(Ward 法)并按欧氏距离(Euclidean 距离)进行系统聚类分析构建聚类分析树状图(图 5)。结果表明,根据共有性有机酸组成,当聚类距离为 5 时,我国 10 主产地皱皮木瓜样品共聚为 4 枝,四川仪陇三河镇、安徽宣城新田镇、陕西白河中厂镇、广西南宁莲塘镇、湖北长阳榔坪镇聚为第 1 枝,重庆綦江石壕镇、浙江淳安中洲镇聚为

第 2 枝,贵州正安安场镇与山东临沂汤河镇样品聚为第 3 枝,云南景洪嘎洒镇样品单独存在,为第 4 枝。在第 1 枝中,四川仪陇与安徽宣城样品有机酸组成更为相近,陕西白河与广西南宁样品有机酸组成更为相近,该两组分别与湖北长阳样品有机酸组成呈并列关系。

## 3 讨 论

### 3.1 目标成分检测方法的建立

有机酸是指分子含有羧基具有酸性的一大类有机物,是果实干物质的重要组成部分,对果实口感具



1. 重庆綦江石壕镇; 2. 四川仪陇三河镇; 3. 陕西白河中厂镇; 4. 安徽宣城新田镇; 5. 广西南宁莲塘镇; 6. 浙江淳安中洲镇; 7. 湖北长阳榔坪镇; 8. 云南景洪嘎洒镇; 9. 贵州正安安场镇; 10. 山东临沂汤河镇。

1. Shihao, Qijiang, Chongqing; 2. Sanhe, Yilong, Sichuan; 3. Zhongchang, Baihe, Shaanxi; 4. Xintian, Xuancheng, Anhui; 5. Liantang, Nanning, Guangxi; 6. Zhongzhou, Chunan, Zhejiang; 7. Langping, Changyang, Hubei; 8. Gasa, Jinghong, Yunnan; 9. Anchang, Zhengnan, GuiZhou; 10. Tanghe, Linyi, Shandong.

图5 皱皮木瓜果实有机酸组分聚类分析树状分析

Fig. 5 The clustering analysis dendrogram based on the organic acids composition data of the 10 sample

有显著的影响,在水果品质研究中占有重要地位<sup>[24]</sup>。果实有机酸常以甲醇、乙醇和水作为提取溶剂<sup>[25]</sup>。以往文献皱皮木瓜有机酸提取溶剂有蒸馏水、70%或95%乙醇、60%或无水甲醇等<sup>[26]</sup>,渗漉提取、加热回馏、超声助提对果实有机酸均有较高的提取效率<sup>[27-28]</sup>。笔者用甲醇提取兼顾了目标有机酸的宽极性特征,超声辅助提取显著提高了有机酸提取率,甲酯化衍生处理增强了目标成分检出效果,也消除了并溶性杂质干扰。有机酸检测通常有酸碱滴定法、高效液相色谱法、气相色谱法、液质和气质联用法<sup>[27,29]</sup>和离子色谱法。酸碱滴定法操作简单,但滴定终点判断误差较大,且仅限于总酸含量测定。反相高效液相色谱法和离子色谱法、气相色谱法虽具有分离效率高、速度快、灵敏度高的优点,但定性能力差<sup>[30]</sup>。笔者选用GCMS作为目标有机酸甲酯衍生物分离、定性与定量检测平台,采用毛细管柱程序升温分离,所得TIC基线平稳、成分峰分离度高,目标性成分分离效果良好。笔者通过NIST08(S)谱库相似度检索结合RI值进行目标有机酸衍生物定性,结果更加可靠。本文对*dl*-苹果酸、柠檬酸、草酸、油酸等主要成分采用外标法定量,结果更准确;在标准物质不能覆盖全部检出有机酸种类的情况下,参考正

构烷烃混标浓度与成分峰面积数据进行目标成分甲酯化衍生物响应值校正,得到全部33种共有有机酸含量。本方法解决了样品重要成分指标准确定量的问题及气质联用研究中标准品无法覆盖检出成分的定性问题,研究结果与以往报道结果相符,对利用GCMS进行未知物质定量研究具有重要的参考价值。

### 3.2 样品目标成分的定性与定量

皱皮木瓜果实富含有机酸,含量高低及种类组成与鲜果风味显著相关。高诚伟等<sup>[20]</sup>通过乙醇提取、甲酯化衍生后GCMS检测从云南西双版纳皱皮木瓜鲜果中分离有机酸22个,柠檬酸(22.74%)与苯甲酸(16.51%)含量最高,*dl*-苹果酸、琥珀酸等次之。但龚复俊等<sup>[21]</sup>利用相似方法从湖北长阳皱皮木瓜果实中检测出较多的苹果酸(65%)和柠檬酸(28%),以及较少的甲酸、琥珀酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、乌头酸等其他成分。在有机酸的GCMS检测研究中,多以质谱库相似度检索定性,但由于同分异构体和同系物的存在,容易造成目标成分定性偏差,这也可能是导致前人对皱皮木瓜果实有机酸定性结果差异的主要原因。笔者利用质谱库相似度检索与保留指数结合定性,从我国10个不同产区地方品种资源样品

中共鉴定出共有有机酸 33 个,分离数量超过以往报道,定性结果也更加可靠。从所鉴定的有机酸种类看,主要以低碳羧酸和长链脂肪酸为主,与高诚伟等<sup>[20]</sup>的研究结果一致;本文检测结果表明,我国皱皮木瓜果实有机酸多以 *dl*-苹果酸(平均含量 28.108 mg·g<sup>-1</sup>, 23.64%)和柠檬酸(16.290 mg·g<sup>-1</sup>, 13.70%)为主,且苹果酸含量高于柠檬酸(湖北长阳与云南景洪除外),说明皱皮木瓜为苹果酸型果实,与龚复俊等<sup>[21]</sup>报道的结果基本一致。同时本文检测结果也表明,草酸、乙酰丙酸、琥珀酸、 $\alpha$ -酮戊二酸是皱皮木瓜有机酸的重要组分,乙酰丙酸是在皱皮木瓜果实中首次检出。本文检出长链脂肪酸数量远超过以往研究报道,主要有亚油酸、棕榈酸、油酸、硬脂酸、10-羟基-十六烷酸、9,10-二羟基-十八烷酸等,是皱皮木瓜果实营养价值的重要贡献成分;苯甲酸、糠酸、肉桂酸则是鲜果香气风味构成的关键因子。

### 3.3 样品有机酸组成特征的差异分析

皱皮木瓜为蔷薇科苹果亚科木瓜属多年生落叶小乔木,果实性状指标具有种间差异性大、种内相似性度高的特点<sup>[31]</sup>。以往研究表明皱皮木瓜有机酸种类差异较大,但本文研究结果表明我国不同产地样品有机酸共有成分匹配率高达 5 大类 33 种,涵盖了各样品的主要有机酸组分,可见皱皮木瓜种内有机酸种类具有较高的相似性,但各组分含量却具有显著差异。从样品总有机酸含量来看,云南景洪、贵州正安和山东临沂差异不显著,含量最高;重庆綦江与浙江淳安差异不显著,含量中等偏上;安徽宣城与湖北长阳差异不显著,含量中等低下;陕西白河、广西南宁、四川仪陇差异不显著,含量最低,结果与范建伟等<sup>[17]</sup>的基本一致。但从有机酸组成特征聚类分析结果看,四川仪陇、安徽宣城、陕西白河、广西南宁、湖北长阳样品有机酸组成特征相近,重庆綦江、浙江淳安样品有机酸组成相近,贵州正安与山东临沂样品有机酸组成相近,云南景洪单独存在,与总有机酸含量基本一致。

## 4 结 论

本文 10 个地方品种检出有机酸共有成分 5 大类 33 种,苹果酸和柠檬酸是皱皮木瓜最主要的有机酸,对果实风味起着决定作用;苹果酸含量高于柠檬酸,说明皱皮木瓜果实属苹果酸积累型水果。不同地方品种皱皮木瓜样品有机酸种类构成相似性高,

组分含量差异性大。10 个样品中,贵州正安与山东临沂样品属高酸类型,重庆綦江与浙江淳安属中酸类型,四川仪陇、陕西白河、广西南宁属低酸类型。

### 参考文献 References:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 36 卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1974: 348.  
China Botanical Biography Compiling Committee. Flora of China (Volume 36)[M]. Beijing: Science Press: 1974: 348.
- [2] 王嘉祥. 山东皱皮木瓜品种分类探讨[J]. 园艺学报, 2004, 31(4): 520-522.  
WANG Jiexiang. Classification of flowering quince resource[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2004, 31(4): 520-522.
- [3] 王明明, 王建华, 宋振巧, 李圣波, 曲燕, 刘静. 木瓜属品种资源的数量分类研究[J]. 园艺学报, 2009, 36(5): 701-710.  
WANG Mingming, WANG Jianhua, SONG Zhenqiao, LI Shengbo, QU Yan, LIU Jing. Studies on numerical classification of chaenomeles cultivars[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2009, 36(5): 701-710.
- [4] 白志川, 刘世尧, 周志钦. 药用木瓜规范化栽培及开发利用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2012: 59-61.  
BAI Zhichuan, LIU Shiyao, ZHOU Zhiqin. Standardized cultivation, development and utilization of medicinal *Chaenomeles* [M]. Beijing: Chinese Agricultural Publishing House, 2012: 59-61.
- [5] SHAO W H, LI Y J, DIAO S F, JIANG J M, DONG R X. Rapid classification of Chinese quince (*Chaenomeles speciosa* Nakai.) fruit provenance by near-infrared spectroscopy and multivariate calibration[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2017, 409(1): 115-120.
- [6] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(2015 年版一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 61.  
National Pharmacopoeia Commission. People's Republic of China Pharmacopoeia(The first part of the 2015 Edition)[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2015: 61.
- [7] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典(2010 年版一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 57.  
National Pharmacopoeia Commission. People's Republic of China Pharmacopoeia(The first part of the 2010 Edition)[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010: 57.
- [8] XIE X F, ZOU G L, LI C H. Antitumor and immunomodulatory activities of a water-soluble polysaccharide from *Chaenomeles speciosa*[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 132(5): 323-329.
- [9] ZHANG L, CHENG Y X, LIU A L, WANG H D, WANG Y L, DU G H. Antioxidant, anti-inflammatory and anti-influenza properties of components from *Chaenomeles speciosa*[J]. Molecules, 2010, 15(11): 8507-8517.
- [10] MIAO J, ZHAO C C, LI X, CHEN X T, MAO X H, HUANG H H, WANG T T, GAO W Y. Chemical composition and bioactivities of two common *Chaenomeles* fruits in China: *Chaenomeles*



- speciosa* and *Chaenomeles sinensis*[J]. Journal of Food Science, 2016, 81(8): 2049-2058.
- [11] ROS J M, LAENCINA J, HELLIN P, JORDAN M J, VILA R, RUMPUNEN K. Characterization of juice in fruits of different *Chaenomeles* species[J]. LWT- Food Science and Technology, 2004, 37(3): 301-307.
- [12] DU H, WU J, LI H, ZHONG P X, XU Y J, LI C H, JI K X, WANG L S. Polyphenols and triterpenes from *Chaenomeles* fruits: Chemical analysis and antioxidant activities assessment [J]. Food Chemistry, 2013, 141: 4260-4268.
- [13] 刘世尧, 白志川, 李加纳. 皱皮木瓜与光皮木瓜药材品质多性状指标综合评价研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 38(5): 426-430. LIU Shiyao, BAI Zhichuan, LI Jiana. Comprehensive evaluation of multi-quality characteristic indexes of *Chaenomeles speciosa* and *C. sinensis* fruits[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2012, 38(5): 426-430.
- [14] 张上隆, 陈昆松. 果实品质形成与调控的分子生理[M]. 北京: 中国农业出版社, 2007: 67-71. ZHANG Shanglong, CHEN Kunsong. Molecular physiology of fruit quality development and regulation[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007: 67-71.
- [15] SOCHOR J, SKUTKOVA H, BABULA P. Mathematical evaluation of the amino acid and polyphenol content and antioxidant activities of fruits from different apricot cultivars[J]. Molecules, 2011, 16(9): 7428-7457.
- [16] 刘世尧. 不同产区皱皮木瓜有机酸组成及主要活性成分分离纯化研究[D]. 重庆: 西南大学, 2012. LIU Shiyao. Studying on organic acids composition of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai fruit from different producing area, isolation and purification of its' main functional components[D]. Chongqing: South West University, 2012.
- [17] 范建伟, 黄博, 宋根伟, 何敬胜, 梁鹏, 王有为. 不同产地木瓜总有机酸含量比较研究[C]// 中华中医药学会. 第九届中药鉴定学术会议, 浙江建德, 7.21-24, 2008. 北京: 2008: 486-488. FAN Jianwei, HUANG Bo, SONG Genwei, HE Jingsheng, LIANG Peng, WANG Youwei. Comparative study on total organic acid content of *Chaenomeles speciosa* from different habitats[C]//China Association of Chinese Medicine. The Ninth Academic Conference on Chinese medicine identification of the Chinese traditional medicine, July 21-24, 2008, Jiande, Zhejiang. Beijing: 2008: 486-488.
- [18] 卞京军, 程密密, 刘世尧, 白志川, 韦正鑫, 蔡娟. 皱皮木瓜皮渣齐墩果酸、熊果酸和总黄酮连续提取工艺研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2015, 37(3): 158-165. BIAN Jingjun, CHENG Mimi, LIU Shiyao, BAI Zhichuan, WEI Zhengxin, CAI Juan. Co-production extraction process for oleanolic acid, ursolic acid and total flavonoids from the peel pomace of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai[J]. Journal of Southwest University(Natural Science Edition), 2015, 37(3): 158-165.
- [19] 蔡娟, 刘世尧, 韦正鑫, 张丹, 潘雪珍, 卞京军, 白志川. 皱皮木瓜皮渣齐墩果酸和熊果酸提取工艺优化研究[J]. 食品工业科技, 2015, 38(2): 282-290. CAI Juan, LIU Shiyao, WEI Zhengxin, ZHANG Dan, PAN Xue-zhen, BIAN Jingjun, BAI Zhichuan. Study on the conditions of extracting oleanolic acid and ursolic acid from residue of *Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 38(2): 282-290.
- [20] 高诚伟, 康勇, 雷泽模, 段志红, 李蕾. 皱皮木瓜中有机酸的研究[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1999, 21(4): 319-321. GAO Chengwei, KANG Yong, LEI Zemo, DUAN Zhihong, LI Lei. The studies on the acidic constituents in the fresh-fruit of *Chaenomeles speciosa*[J]. Journal of Yunnan University(Natural Science Edition), 1999, 21(4): 319-321.
- [21] 龚复俊, 陈玲, 卢笑丛, 王有为. 皱皮木瓜果实中有机酸成分的GC-MS分析[J]. 植物资源与环境学报, 2005, 14(4): 55-56. GONG Fujun, CHEN Ling, LU Xiaocong, WANG Youwei. GC-MS analyzing of organic acids in *Chaenomeles speciosa* fruits [J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2005, 14(4): 55-56.
- [22] ZHANG S Y, HAN L Y, ZHANG H, XIN H L. *Chaenomeles speciosa*: a review of chemistry and pharmacology[J]. Biomedical Reports, 2014, 2: 12-18.
- [23] 迟广俊, 刘俊辉, 鲍峰玉, 张文娟, 秦炎龙, 孙世豪, 宗永立, 张建勋, 邱宝平, 刘晓旭, 郭鹏, 赵秀杰, 柴国璧, 张启东. 初烤烟叶提取物中酸味关键成分的感官导向分析[J]. 烟草科技, 2015, 48(12): 27-32. CHI Guangjun, LIU Junhui, BAO Fengyu, ZHANG Wenjuan, QIN Yanlong, SUN Shihao, ZONG Yongli, ZHANG Jianxun, QIU Baoping, LIU Xiaoxu, GUO Peng, ZHAO Xiujie, CHAI Guobi, ZHANG Qidong. Sensory-oriented analysis of key sour taste components in cured tobacco extract[J]. Tobacco Science & Technology, 2015, 48(12): 27-32.
- [24] 鄢凌, 傅宏鑫, 王旭东, 孙亚琴, 戴建英, 修志龙. 生物基有机酸提取分离技术研究进展[J]. 过程工程学报, 2018, 18(1): 1-10. YAN Ling, FU Hongxin, WANG Xudong, SUN Yaqin, DAI Jianying, XIU Zhilong. Recent advances on recovery and separation of biomass-based organic acids[J]. The Chinese Journal of Process Engineering, 2018, 18(1): 1-10.
- [25] 刘晓棠, 张卫明, 姜洪芳, 单承莺. 不同种类木瓜样品的总有机酸含量测定[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(1): 100-102. LIU Xiaotang, ZHANG Weiming, JIANG Hongfang, SHAN Chengying. Determination of total organic acids in different samples of fructus *Chaenomeles*[J]. Food Research and Development, 2010, 31(1): 100-102.
- [26] 靳志飞, 陈红. 响应面法优化超声辅助提取果梅果实有机酸工艺[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(7): 1782-1787. JIN Zhifei, CHEN Hong. Process optimization for ultrasonic-assisted solvent extraction of organic acid from *Prunus mume* Sieb. et. Zucc. fruit by response surface method[J]. Hubei Agri-

- culture Science, 2016, 55(7): 1782-1787.
- [27] 田林锋, 胡继伟, 黄先飞, 李存雄, 林陶. 反相高效液相色谱法快速测定梨中 7 种有机酸含量[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(2): 126-128.
- TIAN Linfeng, HU Jiwei, HUANG Xianfei, LI Cunxiong, LIN Tao. High efficiency determination of organic acids in pears with reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. Food Research and Development, 2010, 31(2): 126-128.
- [28] 庞荣丽, 方金豹, 郭琳琳, 谢汉忠. 水水果实中主要有机酸提取条件的优化[J]. 中国农业科学, 2014, 47(13): 2625-2633.
- PANG Rongli, FANG Jinbao, GUO Linlin, XIE Hanzhong. Extraction conditions optimization of main organic acids from fruits[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47(13): 2625-2633.
- [29] 李珊, 阿依姑丽·艾合麦提, 孙鹏英, 提扎尔·艾孜木江, 王妙颖. RP-HPLC 法同时测定新疆野山杏果肉中 10 种有机酸成分[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 250-255.
- LI Shan, AYGUL·AHMT, SUN Pengying, ENTIZAR·AZMJ, WANG Miaoying. Simultaneous determination of ten acids in Xinjiang wild apricot with reverse-phase high performance liquid chromatography[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(20): 250-255.
- [30] 王伟岗, 唐双双, 陆源. 气相色谱法测定食品中 12 种有机酸[J]. 理化检验(化学分册), 2017, 53(11): 1313-1317.
- WANG Weigang, TANG Shuangshuang, LU Yuan. GC determination of 12 organic acids in foods[J]. Physical Testing and Chemical Analysis ( Part B: Chemical Analysis ), 2017, 53(11): 1313-1317.
- [31] 张毅, 刘伟, 李桂祥, 董晓民, 徐兴东, 李厚勇, 李圣波, 刘宗钊. 山东木瓜属品种资源调查[J]. 中国园艺文摘, 2015, 31(10): 1-11.
- ZHANG Yi, LIU Wei, LI Guixiang, DONG Xiaomin, XU Xingdong, LI Houyong, LI Shengbo, LIU Zongzhao. Germplasm resources of *Chaenomeles* L. in Shandong[J]. Chinese Horticulture Abstract, 2015, 31(10): 1-11.