

LC-SIM-Orbitraq 测定无土栽培水芹不同器官中有机酸含量

刘杰¹, 刘吉祥², 常雅军², 陈婷¹, 刘晓静², 孙林鹤², 姚东瑞²

(1. 南京万德斯环保科技股份有限公司 南京 211122; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)·江苏省水生植物资源与水环境修复工程研究中心 南京 210014)

摘要:以水芹无土栽培水芹品种金陵1号为材料,通过液相色谱串联电喷雾质谱法(LC-SIM-Orbitraq)测定不同器官中的有机酸种类和含量。经过色谱条件的优化,25种有机酸得到较好的分离,在 $1 \times 10^{-3} \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的质量浓度范围内线性关系良好,相关系数在0.991 0~0.999 9之间;在0.5、5、20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的添加质量浓度下,加标回收率在50.39%~125.32%之间;样品稳定性较好,日内稳定性在0.28%~3.99%之间,日间稳定性在0.41%~6.63%之间。结果表明,金陵1号水芹不同器官中有机酸以草酸、苹果酸、琥珀酸、柠檬酸、奎尼酸和莽草酸为主,其中,根中草酸含量(w)最高,达 $(32\ 094.08 \pm 1\ 600.77) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,这可能是水芹环境适应性强的主要原因之一;而茎、叶中苹果酸、琥珀酸和柠檬酸含量较高,说明茎、叶口感风味更佳;此外,奎尼酸和莽草酸在茎、叶中含量相对较高,可将水芹用于奎尼酸和莽草酸的提取或功能保健食品的开发,具有较大的资源化利用潜力。

关键词:水芹;无土栽培;液相色谱串联电喷雾质谱法(LC-SIM-Orbitraq);有机酸;含量

中图分类号:S636.9 文献标志码:A 文章编号:1673-2871(2023)09-080-07

Determination of organic acids in different organs of soilless cultivated *Oenanthe javanica* by LC-SIM-Orbitraq

LIU Jie¹, LIU Jixiang², CHANG Yajun², CHEN Ting¹, LIU Xiaojing², SUN Linhe², YAO Dongrui²

(1. Nanjing Wondux Environmental Protection Technology Co., Ltd., Nanjing 211122, Jiangsu, China; 2. Jiangsu Engineering Research Center of Aquatic Plant Resources and Water Environment Remediation/Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-sen), Nanjing 210014, Jiangsu, China)

Abstract: The species and content of organic acids in different organs of soilless cultivated water dropwort jinling No. 1 were determined by liquid chromatography single ion monitor orbitraq (LC-SIM-Orbitraq). After the optimization of chromatographic conditions, 25 organic acids were well separated, and the linear relationship was good within the mass concentration range of $1 \times 10^{-3} \sim 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the correlation coefficient was between 0.991 0 and 0.999 9. At the added concentration of 0.5, 5, and 20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the recovery rates of add standard were in the range of 50.39%-125.32%. The samples have a superior stability, the intra-day stability ranged from 0.28% to 3.99% and the inter day stability ranged from 0.41% to 6.63%. The results show that the major parts of organic acids in water dropwort jinling No. 1 are oxalic acid, succinic acid, malic acid, shikimic acid, citric acid and D-(-)-quinic acid. The oxalic acid in the root was the highest, reaching $(32\ 094.08 \pm 1\ 600.77) \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, which may be one of the main reasons for the strong environmental adaptability of water dropwort. The proportions of malic acid, succinic acid and citric acid in stems and leaves were higher than roots, indicating that stems and leaves had better taste and flavor. Moreover, the contents of D-(-)-quinic acid and shikimic acid in stems and leaves is higher than roots. Therefore, water dropwort can be used for D-(-)-quinic acid and shikimic acid extraction or functional health food development, and has great potential for resource utilization.

Key words: Soilless cultivated water dropwort; Liquid chromatography single ion monitor orbitraq (LC-SIM-Orbitraq); Organic acids; Content

收稿日期:2022-10-09;修回日期:2023-06-16

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(21)2012);江苏省苏北科技专项(HAQFM202004);江苏省水利科技项目(2021051);江苏省六大人才高峰高层次创新人才团队项目(TD-JNHB-008)

作者简介:刘杰,女,高级工程师,主要从事有机固废处理处置、水污染治理研究。E-mail:liujie1469@163.com

通信作者:姚东瑞,男,研究员,主要从事水生植物资源开发与利用研究。E-mail:shuishengzu@126.com

水芹 [*Oenanthe javanica* (Bl.) DC.], 又名野芹、水英、楚葵等, 为伞形科宿根性多年水生草本植物^[1]。水芹是广泛分布于我国各地的传统特色蔬菜之一, 以其鲜嫩的茎段和叶片为食, 水芹口感清香, 风味独特, 富含碳水化合物、可溶性糖、氨基酸、蛋白质、维生素以及矿质元素等人体所需的营养成分^[1-3], 同时还含有丰富的膳食纤维、黄酮、挥发油、苯丙素、甾醇、脂肪酸等保健成分^[4-7], 具有较高的营养价值和良好的保健功能^[8]。此外, 水芹还是一种传统的药用植物, 具有增强免疫力^[9]、抗炎^[10]、抗肝损伤^[11]等作用, 临床上具有降低血糖^[12]、清热利尿^[13]等医疗功效。水芹已成为一种公认的药食两用的功能保健水生蔬菜, 具有极大的资源化应用潜力和开发价值^[5]。目前, 对水芹化学成分的研究主要集中于黄酮、总酚酸、挥发性油等药用功能成分^[3,5], 而对水芹中有机酸的研究鲜见报道。

有机酸是一种广泛存在于生物体中的含有羧基的有机化合物, 是水果和蔬菜中的酸味成分, 会直接影响水果和蔬菜的口感、风味、营养以及加工产品的品质^[13], 同时, 多种有机酸均具有一定的药用功能以及特殊的功效^[14]。苹果酸和柠檬酸可以调节肠道功能, 促进消化吸收^[15]; 还会促进三羧酸循环, 具有抗疲劳的功效^[16]。绿原酸具有预防酒精肝、改善炎症反应、抗糖尿病、抗氧化、抗菌等多种药用功能^[17-20]。此外, 大量研究表明, 熊果酸和齐墩果酸具有降低血脂和血糖、抗病毒、抗糖尿病等药理作用^[21-26]。因此, 研究水果和蔬菜中有机酸的种类和含量对其口感风味和营养价值的了解以及药理方面的应用和功能保健食品的开发具有重要意义。

不同的栽培方式会显著影响水果及蔬菜的品质和营养价值^[27-28]。水芹的栽培方式根据基质可分为水面无土栽培和有土栽培, 目前对水芹黄酮、挥发油、氨基酸等成分的研究主要基于土壤栽培, 而对无土栽培水芹化学成分的研究较少^[5,29]。近年来, 大量氮、磷等营养元素进入水体, 可为水生蔬菜提供生长必需的营养物质, 且随着土地面积逐渐减少, 利用长江流域富营养化水体无土栽培水生蔬菜, 对水体中过剩营养物质的生态利用和土地资源节约具有重要意义^[8]。因此, 笔者的研究选取可修复富营养化水体的水芹品种金陵1号^[1,30], 通过富营养化水体水面无土栽培方式, 采用高效液相色谱串联电喷雾质谱法 (liquid chromatography single ion monitor orbitraq, LC-SIM-Orbitraq) 对金陵1号水芹

不同器官中的有机酸种类和含量进行测定, 为水芹的资源化利用和功能性保健食品的开发提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

试验于2021年5—6月在江苏省中国科学院植物研究所进行。供试水芹品种为金陵1号, 以匍匐茎种植于江苏省宿迁市渔樵专业合作社富营养化水体中。挑选长势均一、状态良好、无机械损伤的水芹植株, 分别取500 g的新鲜根、茎、叶, 每个部位3次重复, 立即液氮速冻, 粉碎备用。

丙酸、异丁酸、丁酸、草酸、乳酸、戊酸、异戊酸、丙二酸、己酸、异己酸、富马酸、琥珀酸、苯甲酸、衣康酸、戊二酸、苹果酸、水杨酸、辛酸、己二酸、酒石酸、庚二酸、莽草酸、柠檬酸、DL-异柠檬酸、奎尼酸等25种有机酸标准品购自Sigma公司, 纯度均>98%; 甲醇和乙腈 (HPLC级)、3-硝基苯肼 (3-nitrophenylhydrazine, 3NPH) 和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (EDC), 纯度均>98%, 均购自中国医药集团有限公司。

1.2 方法

1.2.1 标准品配制及衍生化 混标的制备: 取900 μL 的50%甲醇水溶液 (HPLC级), 装入10 mL容量瓶中, 依次加入标准品10 mg, 加50%甲醇水溶液定容至10 mL, 涡旋混匀, 再用甲醇稀释10倍后即可得标准储备溶液A。标准储备液中25种有机酸质量浓度均为100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。取上述储备液按照0.001、0.01、0.1、0.5、1、5、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 梯度稀释, 装入1.5 mL的EP管中。

标准品衍生化: 取适量标准品至离心管中, 分别加入10 μL 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺 (EDC) 和10 μL 0.2 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 3-硝基苯肼 (3NPH), 40 $^{\circ}\text{C}$ 孵育反应30 min。

1.2.2 样品提取及衍生化 精确称取样本0.1 g, 加入300 μL 提取液 ($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{氯仿}}=7:3$), 充分混匀; 冰上提取30 min; 加入200 μL H_2O , 混匀; 4 $^{\circ}\text{C}$ 下12 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心10 min, 取上清液, 重复提取1次; 取40 μL 样品, 按照标准品衍生化方法进行衍生。

1.2.3 仪器参数 采用LC-SIM-Orbitraq分析方法, 对样品中有机酸进行定性定量检测, 具体分析条件和分析方法如下:

色谱系统采用的是超高效液相系统 (Vanquish UPLC, Thermo, Waltham, Massachusetts, USA), 采用Waters BEH C18 (50 \times 2.1 mm, 1.8 μm) (Waters,

Milford, Massachusetts, USA)液相色谱柱进行分离,进样量为 2 μL,柱温为 40 °C。流动相 A(0.1%甲酸,乙腈),流动相 B(0.1%甲酸,水)^[31](表 1)。

表 1 流动相梯度

Table 1 Mobile phase gradient

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	A 相/%	B 相/%
0.0	0.35	10	90
2.0	0.35	10	90
12.0	0.35	90	10
14.0	0.35	90	10
14.1	0.35	10	90
16.0	0.35	10	90

质谱系统采用四极杆-静电场轨道阱复合质谱仪(Q Exactive™, Thermo, Waltham, Massachusetts, USA)高分辨质谱检测系统,配有电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)和 Xcalibur 工作站。优化后的质谱分析条件为:鞘气 40 arb,辅助气 10 arb,离子喷雾电压+3000 V(-2800 V),温度 350 °C,离子传输管温度 320 °C^[32]。扫描模式为 Fullms-ms2;扫描方式为负离子。一级扫描范围 m/z 120~1500。

将水芹样品按 1.2.2 方法进行处理,在 1.2.3 色谱条件下对样品中有机酸种类和含量进行测定,根据标准品回归方程对样品中有机酸浓度进行计算。

1.3 数据处理

使用 Xcalibur 4.1(Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)在 Q-Exactive 上采集数据,并使用 TraceFinder™ 4.1 Clinical(Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, USA)进行处理,量化数据输出为 Excel 格式。所有数据图表均在 WPS Office 2019 及 Origin 2021 软件中处理、绘制,采用 SPSS 26.0 对试验结果进行单因素方差分析(Duncan)和显著性分析。

2 结果与分析

2.1 标准曲线

采用外标法进行定量分析,按照 1.2.3 的色谱条件将不同浓度的混标溶液依次进样分析(0.001、0.01、0.1、0.5、1、5、10 μg·mL⁻¹),以标准品的浓度为横坐标,以标准品的峰面积为纵坐标,拟合标准曲线的回归方程,并进行相关系数分析,如表 2 所示。

由表 2 可知,这 25 种有机酸的标准曲线回归方程的相关系数均在 0.991 0~0.999 9 之间,表明有机酸组分的浓度和峰面积之间线性关系良好,可以采用该标准曲线计算金陵 1 号水芹中的有机酸含量。

表 2 标准曲线拟合方程

Table 2 Standard fitting curve

有机酸种类	保留时间/min	方程	相关系数
莽草酸	1.150	$Y = 5.225 \times 10^{4X}$	0.997 1
奎尼酸	1.240	$Y = 1.203 \times 10^{5X}$	0.991 2
乳酸	1.900	$Y = 1.368 \times 10^{5X}$	0.997 4
丙酸	3.740	$Y = 5.636 \times 10^{4X}$	0.996 8
异丁酸	5.250	$Y = 7.463 \times 10^{4X}$	0.994 5
丁酸	5.450	$Y = 7.176 \times 10^{4X}$	0.995 8
酒石酸	5.580	$Y = 3.071 \times 10^{5X}$	0.997 9
苹果酸	6.230	$Y = 1.515 \times 10^{5X}$	0.995 8
琥珀酸	6.650	$Y = 2.739 \times 10^{4X}$	0.993 9
丙二酸	6.680	$Y = 1.871 \times 10^{5X}$	0.994 4
异戊酸	6.840	$Y = 7.656 \times 10^{4X}$	0.995 5
衣康酸	6.990	$Y = 8.470 \times 10^{4X}$	0.996 6
戊二酸	7.090	$Y = 1.780 \times 10^{4X}$	0.997 4
异戊酸	7.110	$Y = 7.227 \times 10^{4X}$	0.996 6
苯甲酸	7.280	$Y = 1.981 \times 10^{5X}$	0.993 0
己二酸	7.340	$Y = 1.109 \times 10^{4X}$	0.995 3
富马酸	7.500	$Y = 2.269 \times 10^{5X}$	0.991 0
草酸	7.710	$Y = 1.397 \times 10^{4X}$	0.998 3
庚二酸	7.830	$Y = 9.424 \times 10^{3X}$	0.996 6
水杨酸	8.130	$Y = 9.413 \times 10^{4X}$	0.996 4
DL-异柠檬酸	8.340	$Y = 2.992 \times 10^{3X}$	0.991 9
异己酸	8.370	$Y = 6.979 \times 10^{4X}$	0.999 2
己酸	8.540	$Y = 6.955 \times 10^{4X}$	0.999 9
柠檬酸	8.790	$Y = 3.708 \times 10^{3X}$	0.998 1
辛酸	10.900	$Y = 7.473 \times 10^{4X}$	0.999 5

2.2 质谱参数分析

25 种有机酸的质谱参数明细如表 3 所示,结果显示 25 种有机酸标准品保留时间与样本保留时间的保留时间偏差在-0.03~0.02 之间;标准品分子质量与样本分子质量的偏差在-2.43~0.41 之间,表明此质谱条件下能直观测定各有机酸的含量。

2.3 稳定性和回收率检测结果

在确定的试验条件下进行检测,以 3 倍信噪比(S/N)计算有机酸的检出限,以 10 倍信噪比计算定量限,结果显示,水芹样品中 25 种有机酸的检出限为(5×10⁻⁴~0.005) μg·mL⁻¹,定量限为 0.001~0.01 μg·mL⁻¹。分别对水芹样品中有机酸的日内稳定性(即样品中的有机酸在正常试验条件或适宜样品保存的条件下放置一天的稳定性)与日间稳定性(即样品中的有机酸在正常试验条件或适宜样品保存的条件下放置多天的稳定性)进行检测分析,结果显示,水芹样品中的 25 种有机酸的日内稳定性在 0.28%~3.99%,日间稳定性在 0.41%~6.63%,说明供试水芹样品稳定性较好(表 4)。同时,通过添加

表 3 有机酸目标化合物质谱明细

Table 3 Mass spectrometry details of organic acid target compounds

有机酸种类	标准品保留时间/min	标准品分子质量/(m/z)	样本分子质量/(m/z)	保留时间偏差/min	分子质量偏差
莽草酸	1.15	308.088 81	308.088 32	0.02	-1.60
奎宁酸	1.24	326.099 37	326.098 82	0.02	-1.70
乳酸	1.90	224.067 68	224.067 25	0.00	-1.94
丙酸	3.74	208.072 76	208.072 31	0.00	-2.16
异丁酸	5.25	222.088 41	222.088 12	-0.02	-1.31
丁酸	5.45	222.088 41	222.088 00	-0.01	-1.86
酒石酸	5.58	419.095 68	419.095 46	-0.01	-0.53
苹果酸	6.23	403.100 77	403.100 22	-0.01	-1.37
琥珀酸	6.65	387.105 86	387.105 41	-0.01	-1.17
丙二酸	6.68	373.090 21	373.089 75	-0.01	-1.23
异戊酸	6.84	236.104 06	236.103 52	-0.01	-2.31
衣康酸	6.99	399.105 86	399.104 89	-0.01	-2.43
戊二酸	7.09	401.121 51	401.120 94	-0.01	-1.42
戊酸	7.11	236.104 06	236.103 52	0.00	-2.31
苯甲酸	7.28	256.072 76	256.072 42	-0.02	-1.33
己二酸	7.34	415.137 16	415.137 33	0.00	0.41
富马酸	7.50	385.090 21	385.089 78	-0.01	-1.11
草酸	7.71	359.074 56	359.074 22	-0.03	-0.95
庚二酸	7.83	429.152 81	429.152 40	-0.02	-0.94
水杨酸	8.13	272.067 68	272.067 32	-0.02	-1.32
DL-柠檬酸	8.34	596.149 51	596.149 35	-0.02	-0.26
异己酸	8.37	250.119 71	250.119 23	-0.02	-1.91
己酸	8.54	278.151 01	278.150 42	-0.01	-2.12
柠檬酸	8.79	250.119 71	250.119 11	-0.01	-2.40
辛酸	10.90	596.149 51	596.149 23	-0.02	-0.47

表 4 金陵 1 号水芹不同器官中有机酸的稳定性和加标回收率

Table 4 Experiments on the stability and spiked recovery of organic acids in different organs of water dropwort Jinling No. 1

有机酸种类	检出限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	定量限/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	日内稳定性(RSD)/%	日间稳定性(RSD)/%	加标回收率/%
莽草酸	0.005	0.010	1.50	1.15	50.39~91.48
奎尼酸	5×10^{-4}	0.001	1.25	1.98	64.87~95.04
乳酸	0.001	0.010	0.30	0.41	63.15~107.96
丙酸	0.005	0.010	0.77	1.80	52.84~101.54
酒石酸	5×10^{-4}	0.001	1.48	3.18	54.08~103.36
异丁酸	0.005	0.010	1.74	5.27	61.53~105.53
丁酸	0.005	0.010	1.36	3.41	64.45~108.25
苹果酸	5×10^{-4}	0.001	0.40	3.24	62.92~107.17
丙二酸	5×10^{-4}	0.001	0.82	3.65	67.98~98.06
琥珀酸	5×10^{-4}	0.001	1.85	4.22	65.10~103.54
戊二酸	0.005	0.010	0.52	6.40	65.29~97.46
衣康酸	0.005	0.010	0.92	4.94	62.65~97.55
异戊酸	0.005	0.010	0.54	5.10	62.57~109.42
己二酸	0.005	0.010	1.95	4.83	64.36~92.52
戊酸	0.005	0.010	1.76	3.50	73.89~111.83
富马酸	5×10^{-4}	0.001	0.28	3.61	64.60~97.72
苯甲酸	5×10^{-4}	0.001	3.60	5.45	52.26~106.63
辛酸	0.005	0.010	0.99	2.26	64.86~118.41
草酸	5×10^{-4}	0.001	1.70	6.06	59.81~125.32
庚二酸	0.005	0.010	0.81	6.63	60.79~95.73
DL-异柠檬酸	5×10^{-4}	0.001	2.03	6.39	62.77~123.05
水杨酸	0.001	0.010	2.55	4.76	61.45~106.40
异己酸	0.005	0.010	1.08	5.87	63.13~111.27
柠檬酸	5×10^{-4}	0.001	3.99	3.61	63.43~116.88
己酸	0.005	0.010	1.92	4.57	61.29~108.78

不同质量浓度(0.5、5、20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)的有机酸标准溶液,对水芹样品的加标回收率进行测定和计算。结果显示,经过加标后,水芹样品中 25 种有机酸的回收率在 50.39%~125.32%,表明该方法准确度较高,适于水芹样品中有机酸含量的测定。

2.4 有机酸含量测定结果

由表 5 可知,金陵 1 号水芹不同器官中均含有丙酸、异丁酸、丁酸、草酸、乳酸、戊酸、异戊酸、丙二酸、己酸、异己酸、富马酸、琥珀酸、苯甲酸、衣康酸、戊二酸、苹果酸、水杨酸、辛酸、己二酸、酒石酸、莽草酸、柠檬酸、DL-异柠檬酸、奎尼酸等 24 种有机酸,庚二酸仅在茎和叶中含有,不同器官中总有机酸的含量由高到低依次为根(35 754.38 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>茎(8 245.21 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>叶(4 991.77 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)。比较水芹不同器官中单种有机酸含量发现,己二酸、莽草酸和水杨酸在叶中的含量显著高于根,而在根和茎之间差异不显著;衣康酸和柠檬酸在根中的含量显著高于茎和叶,而在茎、叶间差异不显著;戊酸和丙酸在叶中的含量显著低于根和茎,而在根、

茎间差异不显著;异己酸和丁酸在根中的含量显著高于叶,而在茎、叶间差异不显著;琥珀酸在叶中的含量显著高于根和茎,而在根、茎间差异不显著;草酸在根中的含量显著高于茎,在茎中的含量显著高于叶;乳酸在叶中的含量显著高于茎,而在根、茎间差异不显著;丙二酸在茎中的含量显著高于根和叶,而在根、叶间差异不显著;戊二酸在叶中的含量显著高于茎,在茎中的含量显著高于根;DL-异柠檬酸在根中的含量显著高于叶,而在叶中的含量显著高于茎;苯甲酸在茎中的含量显著高于叶,而在根、叶间差异不显著;其他有机酸在不同器官中的含量差异不显著。此外,草酸在金陵 1 号水芹根和茎中有机酸含量最高,分别为(32 094.08 \pm 1 600.77) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和(5 935.07 \pm 437.55) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,分别占根和茎中总有机酸含量的 89.76%和 71.98%;琥珀酸和苹果酸在水芹叶片中均具有较高的含量,分别为(1 381.23 \pm 253.74) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和(1 399.69 \pm 305.15) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,分别占叶中总有机酸含量的 27.67%和 28.04%。

表 5 金陵 1 号水芹不同器官中有机酸含量

Table 5 Organic acid content in different organs of water dropwort Jinling No. 1 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

有机酸种类	根	茎	叶
莽草酸	27.05 \pm 11.45 b	136.15 \pm 13.78 ab	196.63 \pm 71.86 a
奎尼酸	15.37 \pm 2.96 a	412.16 \pm 51.81 a	1 018.15 \pm 697.28 a
苹果酸	844.75 \pm 115.68 a	1 231.84 \pm 212.25 a	1 399.69 \pm 305.15 a
琥珀酸	667.39 \pm 99.27 b	176.17 \pm 47.41 b	1 381.23 \pm 253.74 a
草酸	32 094.08 \pm 1 600.77 a	5 935.07 \pm 437.55 b	298.61 \pm 99.41 c
柠檬酸	1 958.04 \pm 165.72 a	227.11 \pm 59.05 b	539.34 \pm 22.38 b
乳酸	14.32 \pm 0.13 ab	10.63 \pm 1.09 b	20.78 \pm 3.73 a
丙二酸	23.03 \pm 2.39 b	57.36 \pm 3.35 a	26.14 \pm 3.08 b
戊二酸	5.30 \pm 0.49 c	14.87 \pm 1.99 b	24.24 \pm 1.82 a
富马酸	29.00 \pm 1.60 a	17.00 \pm 3.97 a	22.67 \pm 4.47 a
DL-异柠檬酸	61.72 \pm 0.43 a	9.80 \pm 2.50 c	46.45 \pm 1.61 b
丙酸	4.79 \pm 0.30 a	4.03 \pm 0.26 a	3.14 \pm 0.14 b
丁酸	2.19 \pm 0.14 a	1.90 \pm 0.12 ab	1.51 \pm 0.10 b
己二酸	0.79 \pm 0.47 b	2.16 \pm 0.26 ab	2.40 \pm 0.49 a
庚二酸	未检出	3.17 \pm 0.19 a	5.52 \pm 1.06 a
己酸	2.53 \pm 0.17 a	2.16 \pm 0.11 a	1.92 \pm 0.32 a
辛酸	2.10 \pm 0.07 a	1.91 \pm 0.07 a	1.70 \pm 0.19 a
异丁酸	0.29 \pm 0.01 a	0.26 \pm 0.02 a	0.27 \pm 0.02 a
异戊酸	0.26 \pm 0.02 a	0.20 \pm 0.03 a	0.38 \pm 0.10 a
衣康酸	0.35 \pm 0.06 a	0.07 \pm 0.01 b	0.13 \pm 0.01 b
戊酸	0.58 \pm 0.02 a	0.51 \pm 0.02 a	0.38 \pm 0.04 b
苯甲酸	0.34 \pm 0.05 ab	0.49 \pm 0.03 a	0.29 \pm 0.06 b
酒石酸	0.03 \pm 0.00 a	0.12 \pm 0.01 a	0.12 \pm 0.05 a
水杨酸	0.02 \pm 0.00 b	0.03 \pm 0.00 ab	0.05 \pm 0.01 a
异己酸	0.06 \pm 0.01 a	0.04 \pm 0.01 ab	0.03 \pm 0.00 b
总计	35 754.38	8 245.21	4 991.77

注:每个样品 3 个生物学重复,同行不同小写字母表示同一有机酸在不同器官中的含量在 0.05 水平差异显著。

3 讨论与结论

笔者通过 HPLC-MS 法对无土栽培水芹品种金陵 1 号不同器官中的有机酸种类和含量进行测定,在本研究的色谱条件下,样品色谱图峰形较好、分离度高、间距合理,能直观反映样品中的有机酸含量,且梯度浓度有机酸标准品溶液的回归方程相关系数在 0.991 0~0.999 9,说明各有机酸在浓度范围内均具有良好的线性关系,可通过该标准曲线计算水芹样品中的有机酸含量;并对样品中有机酸的日内稳定性和日间稳定性以及加标回收率进行检测分析,结果显示,样品中 25 种有机酸的日内稳定性在 0.28%~3.99%,日间稳定性在 0.41%~6.63%,加标回收率在 50.39%~125.32%,说明水芹样品稳定性较好,加标回收良好,表明该方法适于样品中有机酸含量的测定。

测定结果显示,在无土栽培金陵 1 号水芹不同器官中共含有 25 种有机酸,总有机酸含量由高到低依次为根($35\ 754.38\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>茎($8\ 245.21\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)>叶($4\ 991.77\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$),可见金陵 1 号水芹中的有机酸种类丰富,含量较高。比较单种有机酸在各器官中的含量,发现根中含量最高的有机酸为草酸,高达($32\ 094.08 \pm 1\ 600.77$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占根中总有机酸含量的 89.76%,约为叶中草酸含量的 107 倍;茎中含量最高的有机酸也为草酸,高达($5\ 935.07 \pm 437.55$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占茎中总有机酸含量的 71.98%,其次为苹果酸,含量高达($1\ 231.84 \pm 212.25$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占比 14.94%;叶中琥珀酸和苹果酸均具有较高的含量,分别为($1\ 381.23 \pm 253.74$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和($1\ 399.69 \pm 305.15$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,占叶中总有机酸含量的 27.67%和 28.04%,说明水芹不同器官中有机酸组分各不相同。其中,根中草酸含量最高,可能是因为植物需要通过根系分泌草酸等有机酸,提高土壤中的可溶性磷含量和生物有效性^[33]。其次,草酸在植物对外界胁迫环境的适应以及抗逆过程中发挥着重要作用,而金陵 1 号水芹根系庞大,根中有机酸含量最高,这在一定程度上解释了其对低温等逆境环境适应性的原因^[1,34-35]。然而,草酸会与人体肠道中的 Ca^{2+} 结合形成草酸钙,阻碍对 Ca^{2+} 的吸收,因此,草酸含量过高会影响蔬菜或者水果的品质^[36]。而茎中草酸含量较高,可能会降低水芹茎段的食用品质,但水芹茎段中的可溶性糖、维生素 C 等营养成分丰富^[1],同时有机酸中苹果酸、柠檬酸和琥珀酸含量较高,使得茎段口感风味更佳且营养价值高^[37],而三者叶中含量较高,使得

叶片具有较好的口感,因此,这也是人们主要食用水芹茎段和叶片的原因之一^[37]。此外,莽草酸和奎尼酸在金陵 1 号水芹茎叶中均有较高的含量,分别为(136.15 ± 13.78)、(196.63 ± 71.86)、(412.16 ± 51.81)、($1\ 018.15 \pm 697.28$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。研究表明,莽草酸具有抗血栓、抗病毒、抗肿瘤、抗炎、治疗饮食肥胖等丰富的药用功效^[38-41],可用于合成去角质剂、抗禽流感病毒药物、抗酶活性剂等多种化学品^[41-42];而奎尼酸已被报道具有抗氧化、抗炎等功效^[43-44],此外,奎尼酸还可用作肿瘤化疗药物在人体内运输的载体,促进药物在体内肿瘤中的分布,从而减少所需药物的使用剂量和非特异毒性^[41,45]。因此,可将金陵 1 号水芹用于提取奎尼酸和莽草酸或开发为相关功能保健食品,具有较大的资源化利用潜力。

综上,笔者通过高效液相色谱质谱联用方法对金陵 1 号水芹中的有机酸进行检测,发现水芹中有机酸种类丰富且含量较高,茎叶中的苹果酸、琥珀酸和柠檬酸使得水芹具有较好的口感和风味,同时具有丰富的可溶性糖、粗脂肪、矿质元素等营养成分^[1],因此,水芹的茎段和叶片成为人们日常食用的主要部分。根中草酸含量高达($32\ 094.08 \pm 1\ 600.77$) $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,可能是水芹抗逆性好、适应性强的主要原因之一。此外,水芹茎叶中莽草酸和奎尼酸的含量较高,可用于莽草酸和奎尼酸的提取和功能保健食品的开发,资源化利用潜力巨大。

参考文献

- [1] SUN L H, ZHAO H J, LIU J X, et al. A new green model for the bioremediation and resource utilization of livestock wastewater[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(16): 8634.
- [2] 梁颖,李艺,师薇,等.芹菜不同品种类型间营养成分及抗氧化活性差异[J].食品工业科技,2018,39(18):60-63.
- [3] 袁名安,张尚法,江丽,等.水芹营养与功能保健成分研究[J].园艺与种苗,2016(7):38-40.
- [4] 李瑞,王燕,李良俊.水芹品质研究现状[J].长江蔬菜,2017(22):27-31.
- [5] 欧开翔,谷荣辉.水芹的化学成分、药理活性及其功能性食品研究进展[J].食品工业科技,2022,43(1):435-444.
- [6] MA C J, LEE K Y, JEONG E J, et al. Persicarin from water dropwort (*Oenanthe javanica*) protects primary cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurotoxicity[J]. Phytotherapy Research, 2010, 24(6): 913-918.
- [7] 王虹,余金明,龚力民,等.湖南异地水芹挥发油化学成分的气质联用比较分析[J].海峡药学,2019,31(8):90-93.
- [8] 刘吉祥,杜凤凤,孙林鹤,等.无土栽培水芹不同器官的氨基酸特征及其资源化利用潜力分析[J].中国蔬菜,2022(7):34-44.
- [9] 刘青川,王蒙蒙,艾国,等.水芹总酚酸对 Fr.MuLV 感染小鼠的抗病毒作用[J].解放军药学报,2018,34(6):484-486.
- [10] PARK J H, KIM I H, AHN J H, et al. Pretreated *Oenanthe javanica*

- ica extract increases anti-inflammatory cytokines, attenuates gliosis, and protects hippocampal neurons following transient global cerebral ischemia in gerbils[J]. *Neural Regeneration Research*, 2019, 14(9): 1536-1543.
- [11] LU C L, LI X F. A review of *Oenanthe javanica* (Blume) DC. as traditional medicinal plant and its therapeutic potential[J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019: 1-17. DOI: 10.1155/2019/6495819.
- [12] LEE J Y, KIM M Y, SHIN S H, et al. Persicarin isolated from *Oenanthe javanica* protects against diabetes-induced oxidative stress and inflammation in the liver of streptozotocin-induced type 1 diabetic mice[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 13(4): 1194-1202.
- [13] 牛生洋, 刘崇怀, 刘强, 等. 葡萄种质果实有机酸组分及其含量特性[J]. *食品科学*, 2022, 43(12): 228-234.
- [14] 郭柏坤, 周垚. 离子色谱法测定水果中的有机酸[J]. *发酵科技通讯*, 2018, 47(3): 170-174.
- [15] SENEVIRATNE C J, WONG R W K, HÄGG U, et al. *Prunus mume* extract exhibits antimicrobial activity against pathogenic oral bacteria[J]. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 2011, 21(4): 299-305.
- [16] WEN J, SHI W T. Revision of the *Maddenia* clade of *Prunus* (Rosaceae)[J]. *PhytoKeys*, 2012, 11: 39-59.
- [17] PAN J H, KIYONG L, KIM J, et al. *Prunus mume* Sieb. et Zucc. fruit ameliorates alcoholic liver injury in mice by inhibiting apoptosis and inflammation through oxidative stress[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 25(2): 135-148.
- [18] 余洋洋, 徐玉娟, 余元善, 等. 青梅中有机酸的种类及营养健康效应研究进展[J]. *中国果菜*, 2020(12): 24-28.
- [19] KANG J S, KIM D J, KIM G Y, et al. Ethanol extract of *Prunus mume* fruit attenuates hydrogen peroxide-induced oxidative stress and apoptosis involving Nrf2/HO-1 activation in C2C12 myoblasts[J]. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2016, 26(2): 184-190.
- [20] 王庆华, 杜婷婷, 张智慧, 等. 绿原酸的药理作用及机制研究进展[J]. *药学报*, 2020, 55(10): 2273-2280.
- [21] 朱兆伟, 相芬芬, 范嫣, 等. 熊果酸抑制肿瘤生长机制研究进展[J]. *陕西中医*, 2020, 41(7): 999-1002.
- [22] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸调血脂抗肥胖药理作用研究进展[J]. *药物评价研究*, 2015, 38(1): 90-97.
- [23] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗糖尿病药理[J]. *上海医药*, 2010, 31(8): 347-350.
- [24] 张明发, 沈雅琴. 齐墩果酸和熊果酸的抗炎及其抗变态反应[J]. *抗感染药学*, 2011, 8(4): 235-240.
- [25] MU D W, ZHOU G B, LI J Y, et al. Ursolic acid activates the apoptosis of prostate cancer via ROCK/PTEN mediated mitochondrial translocation of cofilin-1[J]. *Oncology Letters*, 2018, 15(3): 3202-3206.
- [26] MENG Y, LIN Z M, GE N, et al. Ursolic acid induces apoptosis of prostate cancer cells via the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. *American Journal of Chinese Medicine*, 2015, 43(7): 1471-1486.
- [27] 彭海, 达晓伟, 任静, 等. 栽培方式对苹果贮藏品质的影响[J]. *甘肃农业科技*, 2019(12), 25-28.
- [28] 王国莉, 陈孟君, 冯荣华. 水培蔬菜与土培蔬菜营养成分的差异分析[J]. *惠州学院学报*, 2021, 41(3): 22-26.
- [29] 易雪静, 周石柔, 邓兰青, 等. 高效液相色谱法测定东洞庭湖区野生水芹茎叶中氨基酸[J]. *应用化工*, 2015, 44(9): 1751-1753.
- [30] 常雅军, 崔键, 姚路路, 等. 畜禽养殖废水规模化生产水芹关键技术[J]. *中国蔬菜*, 2020(3): 102-104.
- [31] GLAUSER G, GRUND B, GASSNER A L, et al. Validation of the mass-extraction-window for quantitative methods using liquid chromatography high resolution mass spectrometry[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(6): 3264-3271.
- [32] ZHUANG J H, DAI X L, ZHU M Q, et al. Evaluation of astringent taste of green tea through mass spectrometry-based targeted metabolic profiling of polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2020, 305: 125507.
- [33] VIOLANTE A, GIANFREDA L. Competition in adsorption between phosphate and oxalate on an aluminum hydroxide montmorillonite complex[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1993, 57(5): 1235-1241.
- [34] 刘拥海, 俞乐. 植物草酸的功能及其代谢调控研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2006, 34(15): 3572-3573.
- [35] 田华, 王兰, 段美洋, 等. 植物草酸代谢及调控研究进展[J]. *现代农业科技*, 2009(8): 212-213.
- [36] FRANCESCHI V R, NAKATA P A. Calcium oxalate in plants: Formation and function[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2005, 56: 41-71.
- [37] 丁剑, 田园, 张喜春, 等. 番茄品系不同时期果实糖酸含量的变化[J]. *北京农学院学报*, 2017, 32(2): 29-33.
- [38] RAWAT G, TRIPATHI P, SAXENA R K. Expanding horizons of shikimic acid[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(10): 4277-4287.
- [39] 邢建峰, 孙建宁, 侯家玉, 等. 异亚丙基莽草酸抗炎作用的研究[J]. *中国药理学杂志*, 2006, 41(24): 1861-1863.
- [40] 马怡, 孙建宁, 徐秋萍, 等. 莽草酸对血小板聚集和凝血的抑制作用[J]. *药学报*, 2000, 35(1): 1-3.
- [41] 郝颖颖. 发酵液中(-)莽草酸和(-)奎尼酸的分离纯化研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2016.
- [42] RAWAT G, TRIPATHI P, YADAV S, et al. An interactive study of influential parameters for shikimic acid production using statistical approach, scale up and its inhibitory action on different lipases[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 144: 675-679.
- [43] PERO R W, LUND H, LEANDERSON T. Antioxidant metabolism induced by quinic acid. Increased urinary excretion of tryptophan and nicotinamide[J]. *Phytotherapy Research*, 2009, 23(3): 335-346.
- [44] ZENG K, THOMPSON K E, YATES C R, et al. Synthesis and biological evaluation of quinic acid derivatives as anti-inflammatory agents[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 2009, 19(18): 5458-5460.
- [45] AMOOZGAR Z, PARK J, LIN Q N, et al. Development of quinic acid-conjugated nanoparticles as a drug carrier to solid tumors[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(7): 2389-2395.