

不同产地丁香挥发性成分分析

蔡君龙, 卢金清*, 黎强, 郭胜男, 戴艺

(湖北中医药大学, 湖北省药用植物研发中心, 武汉 430065)

摘要: 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术对产自国内外 4 个地区的丁香 (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) 挥发性成分进行了检测, 并以峰面积归一化法计算了各组分的相对含量。结果显示, 从 4 个产地 13 批次丁香中共鉴定出挥发性成分 72 种(匹配度均高于 75), 其中, 主要成分含量排名前两位的均为丁香酚、(-)- α -芹子烯, 排名第三位的挥发性成分分别为: 顺式- α -没药烯(马达加斯加塔马塔夫, 平均为 3.75%)、罗勒烯(中国广东, 平均为 4.21%)、亚麻三烯(中国广西, 平均为 3.74%)、丁香烯(印度尼西亚爪哇岛, 平均为 3.60%)。表明同一产地的丁香挥发性成分具有一定的相似性, 不同产地丁香挥发性成分也有一定的差异, 这对丁香产地的鉴别具有重要意义。主成分分析和聚类分析的结果既可以将 4 个产地的丁香很好地区分开来, 又能反映出它们之间的亲缘关系。本研究采用 HS-SPME-GC-MS 方法检测不同产地丁香挥发性成分并结合主成分分析(PCA)及聚类分析法, 能有效区分 4 个产地的丁香, 该方法可作为丁香产地的鉴别方法, 也为进一步比较不同产地丁香挥发性成分的差异及质量控制提供了新思路。

关键词: 丁香; 顶空固相微萃取-气质联用; 挥发性成分; 主成分分析; 聚类分析

中图分类号: Q946. 82

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2015)02-0251-08

Analysis on Volatile Components of Caryophylli Flos from Different Habitats

CAI Jun-Long, LU Jin-Qing*, LI Qiang, GUO Sheng-Nan, DAI Yi

(Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Medicinal Plant Research and Development Center of Hubei Province, Wuhan 430065, China)

Abstract: We analyzed the volatile chemical components of Caryophylli Flos from different habitats using headspace solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS) and roughly quantified by peak area normalization. In total, 72 peaks were identified from 13 batches of Caryophylli Flos. Among the volatile chemical components, Eugenol and (-)- α -Selinene accounted for the first two main components, with third-ranked components of the four habitats being cis- α -bisabolene (Madagascar Tamatave, average 3.75%), Ocimene (Guangdong Province, China, average 4.21%), Santolinatriene (Guangxi Province, China, average 3.74%), Humulene (Indonesia Java, average 3.60%). These results suggest that the volatile components of Caryophylli Flos differed in different regions, but showed similarities within the same region. Using principal component analysis (PCA) and cluster analysis, results showed that the four habitat samples of Caryophylli Flos were not only easily distinguished, but also reflected a genetic relationship between them. HS-SPME-GC-MS combined with stoichiometry (PCA and cluster analysis) was able to distinguish the four origins of Caryophylli Flos. This study provided a new approach for

收稿日期: 2014-05-20, 退修日期: 2014-07-01。

作者简介: 蔡君龙(1991-), 男, 硕士, 从事中药及天然药物活性成分研究(E-mail: caijlsir@163.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence): 卢金清(1955-), 男, 教授, 从事中药及天然药物活性成分研究(E-mail: hbsyyzwfzx@163.com)。

the comparison and quality assessment of Caryophylli Flos from different habitats.

Key words: Caryophylli Flos; Headspace solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry; Volatile components; Principal component analysis; Cluster analysis

丁香为桃金娘科植物丁香 (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) 的干燥花蕾, 为常用中药, 其性味辛温; 归脾、胃、肺、肾经; 具有温中降逆, 补肾助阳的功效; 主要用于脾胃虚寒、呃逆呕吐、食少吐泻、心腹冷痛、肾虚阳痿^[1]。现代研究表明丁香挥发油具有较强的抗菌消炎、清除自由基及抗肿瘤功效, 主要用于治疗心脑血管系统、呼吸系统、消化系统疾病, 此外还可外用及护理口腔^[2], 或开发为除臭剂、调味剂等, 广泛用于医药及香料工业^[3-8]。

丁香原产印度尼西亚、马达加斯加、坦桑尼亚等地, 中国大部分地区也有种植, 以广东、广西产量居多。有报道认为国产丁香质量不稳定, 与国外丁香质量有一定的差异, 市场上丁香药材质量参差不齐, 故如何快速有效地鉴定丁香挥发性成分并获取其产地信息, 客观评价并控制其质量是亟需解决的问题。主成分分析法 (PCA) 和聚类分析法 (cluster analysis) 可用于快速实现模式化关系的可视化识别, 使相似的样本聚在一起, 从而达到区分丁香产地的目的^[9,10]。本实验采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱 (HS-SPME-GC-MS) 联用技术对 4 个产地 13 批次的丁香挥发性成分进行检测分析、鉴定, 并结合主成分分析法和聚类分析法对获得的数据进行统计分析, 以期寻找一种有效的检测丁香挥发性成分及区分产地的方法。

1 材料与方法

1.1 材料来源

本实验所用丁香材料分别来自国内外 4 个地区, 共 13 批次。1~3 批: 来源于马达加斯加塔马塔夫, 样品编号为 MT20121022、MT20121127、MT20121215; 4~7 批: 来源于中国广东, 样品编号为 GD20121024、GD20121113、GD20121215、GD20130308; 8~10 批: 来源于中国广西, 样品编号为 GX20120711、GX20121113、GX20121215;

11~13 批: 来源于印度尼西亚爪哇岛, 样品编号为 ID20121127、ID20121215、ID20130308。所有丁香样品均由武汉黄鹤楼香精香料有限公司提供, 经湖北中医药大学药教研室陈科力教授鉴定为桃金娘科植物丁香 (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) 的干燥花蕾。

1.2 实验仪器

气相色谱-质谱联用仪 (美国安捷伦公司, Agilent 6890/5973 型); NIST05 系列标准谱库; 100 μm 聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 萃取头 (美国 Supelco 公司); 手动固相微萃取 (HS-SPME) 进样器 (美国 Supelco 公司); 15 mL 样品瓶; 电子天平 (Sartorius, ALC-210.2)。

1.3 实验方法

1.3.1 顶空固相微萃取 (HS-SPME)

取丁香 0.5 g, 研碎后过 60 目筛, 再置于 15 mL 配有聚四氟乙烯胶垫的顶空瓶中, 用带有 100 μm PDMS 萃取纤维头的手动进样器插入瓶内, 80℃平衡 10 min, 然后推出萃取头顶空萃取 10 min, 取出后立即插入气相色谱-质谱联用仪, 于进样口解析 3 min, 随后进行气相色谱质谱分析。

1.3.2 气相色谱-质谱 (GC-MS) 分析

(1) GC 条件 色谱柱: HP-5MS 石英毛细管色谱柱 (50 m \times 0.2 mm \times 0.33 μm); 程序升温: 初始温度为 50℃, 以 10℃/min 升至 130℃, 保留 5 min, 再以 2℃/min 升至 150℃, 最后以 5℃/min 升至 180℃; 进样口温度: 250℃; 载气: 氦气; 流速: 1 mL/min; 进样模式: 不分流进样。

(2) MS 条件 离子源: EI 源; 离子源温度: 230℃; 四级杆温度: 150℃; 电子能量: 70 eV; 倍增管电压: 1.2 kV; 接口温度: 280℃; 质量范围: 35 ~ 550 m/z。

1.3.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 软件对各批次丁香样品挥发性成分含量进行主成分分析和聚类分析 (cluster analysis)。

2 结果

2.1 HS-SPME-GC-MS 检测分析

将顶空固相微萃取法(HS-SPME)得到的丁香挥发性物质,经气相色谱-质谱(GC-MS)分析得到挥发物各成分,并结合峰面积归一化法从各总离子流图(图1)中计算获得各组分的种数及相对含量(表1)。各峰面积的质谱图经NIST05色谱库检索,从挥发物各组分中共鉴定出72种丁香挥发性成分(表2),其中从13批次丁香样品中分别鉴定出21~36种成分,分别占各样品挥发性成分总量的96.16%~99.91%。从鉴定结果可知,4个产地丁香挥发性成分中含量最高的是丁香酚、(-)- α -芹子烯,为各样品的主要成分且含量基本相同,仅印度尼西亚爪哇岛丁香样品含量略高(表2)。4个产地丁香挥发性成分中含量排第三位的分别为:顺式- α -没药烯(马达加斯加塔马塔夫产,平均为3.75%)、罗勒烯(中国广东产,平均为4.21%)、

亚麻三烯(中国广西产,平均为3.74%)、丁香烯(印度尼西亚爪哇岛产,平均为3.60%)。表明同一产地的丁香挥发性成分具有一定的相似性,不同产地丁香挥发性成分也有一定的差异。

2.2 主成分分析和聚类分析

为了更准确地进行主成分分析和聚类分析,从丁香样品(13批次)检测得到的所有挥发性组分(原始数据)中选取分布相对广泛(2个或2个以上产地丁香所含有)、单个产地含量在1%以上的挥发性成分共26个(保留时间分别为3.41、4.69、4.80、5.51、5.62、6.15、6.28、7.24、7.72、8.75、10.36、11.76、13.28、13.96、13.99、14.07、14.17、14.47、14.50、14.54、15.27、15.52、16.16、16.78、16.79、21.79 min,保留时间经过多点校正法校正),以26个色谱峰面积作变量,得到 26×21 的数据矩阵,再使用SPSS 19.0软件进行主成分分析,并对全成分进行聚类分析。

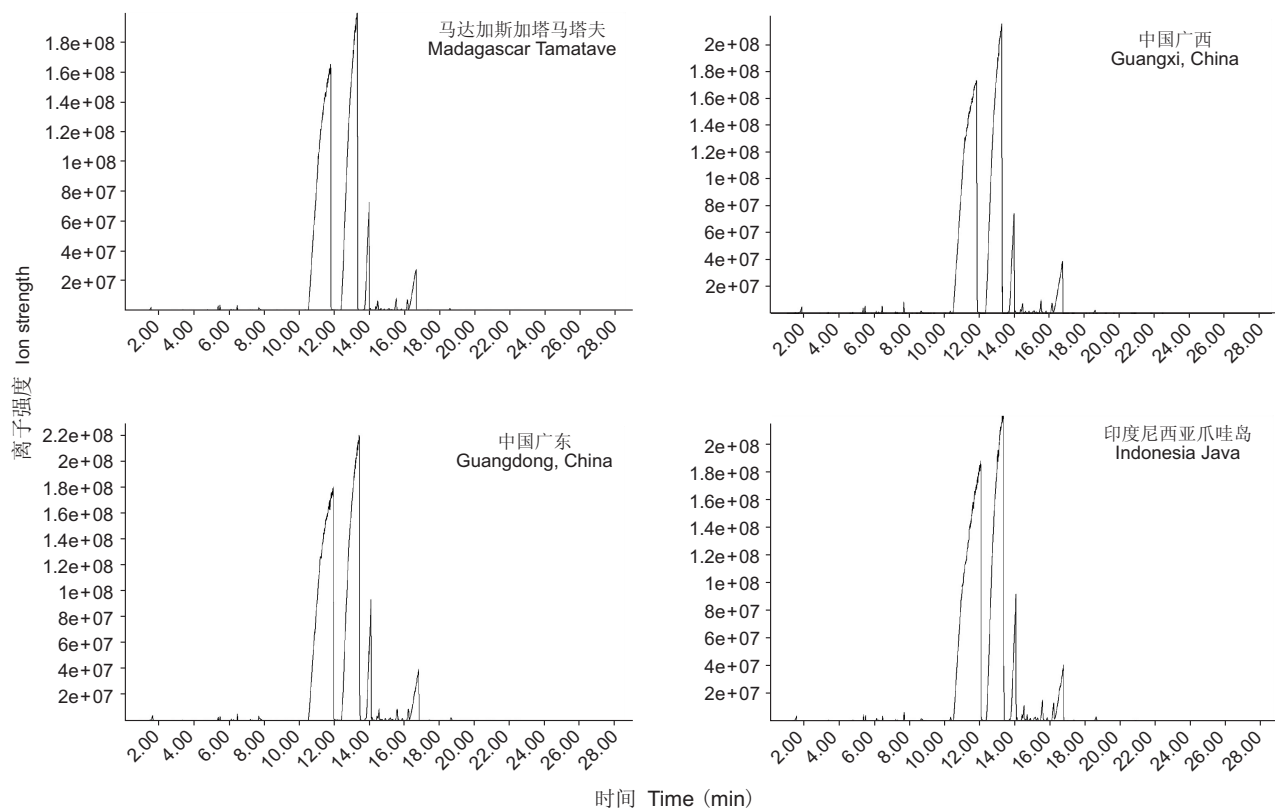


图1 4个产地13批次丁香挥发性成分总离子流图

Fig. 1 Total ion current chromatogram of volatile components of 13 batches of Caryophylli Flos from four habitats

表 1 4 个产地 13 批次丁香中检出的挥发性成分数量
Table 1 Number of volatile components from the 13 batches of Caryophylli Flos

批次号 Batch number	产地 Habitats	样品编号 No. of samples	检出成分总数 Amount of identified compounds	鉴定成分种数 Amount of determined constituents	占挥发性成分总量的比例 Ratio of determined constituents to total volatile components (%)
1	马达加斯加塔马塔夫 Madagascar Tamatave	MT20121022	62	27	96.16
2	马达加斯加塔马塔夫 Madagascar Tamatave	MT20121127	65	30	98.52
3	马达加斯加塔马塔夫 Madagascar Tamatave	MT20121215	63	27	96.37
4	中国广东 Guangdong Province, China	GD20121024	61	36	99.71
5	中国广东 Guangdong Province, China	GD20121113	57	35	99.91
6	中国广东 Guangdong Province, China	GD20121215	63	36	99.77
7	中国广东 Guangdong Province, China	GD20130308	66	35	99.69
8	中国广西 Guangxi Province, China	GX20120711	68	23	98.64
9	中国广西 Guangxi Province, China	GX20121113	72	22	98.38
10	中国广西 Guangxi Province, China	GX20121215	67	24	98.91
11	印度尼西亚爪哇岛 Indonesia Java	ID20121127	72	22	99.57
12	印度尼西亚爪哇岛 Indonesia Java	ID20121215	70	21	99.69
13	印度尼西亚爪哇岛 Indonesia Java	ID20130308	74	21	99.81

2. 2. 1 PCA 分析结果

将上述得到的 26 × 21 二维数据矩阵导入 SPSS 19.0 软件进行 PCA 分析。结果显示(图 2), 第 1、2、3 主成分的方差贡献率分别为 36.764%、30.453%、22.400%, 累计方差贡献率为 89.616%。可见, 13 批次丁香中同一产地的样品在分布上相对集中, 不同产地样品的分布则有明显差异。表明采用 PCA 法能够将印度尼西亚爪哇岛、中国广东、中国广西和马达加斯加塔马塔夫 4 个产地的丁香有效地区分开。

2. 2. 2 聚类分析结果

运用 SPSS 19.0 软件, 采用 Ward's 聚类法, 以 Euclidean 距离为测度、峰面积百分率为基准, 以上述 26 个主要成分为变量, 对 4 个产地 13 个样品丁香挥发性成分进行了全成分聚类分析。聚类分析结果显示(图 3), 产自马达加斯加塔马塔夫的 3 批次丁香样品(1、2、3)聚为一类; 产自中国广东的 4 批次丁香样品(4、5、6、7)聚为一类; 产自中国广西的 3 批次丁香样品(8、9、10)聚为一类; 产自印度尼西亚爪哇岛的 3 批次丁香样品(11、12、13)聚为一类。产自中国广东的丁香聚成一类后又与广西的丁香聚为一类; 然后两者再与印度尼西亚爪哇岛的丁香聚在一起; 最后又与马达加斯加塔马塔夫丁香聚为一类。广布成分的聚类分

析结果也与此一致(数据未列出), 表明采用聚类分析法既可以将 4 个产地的丁香很好地区分开来, 又能反映它们之间的亲缘关系。

3 讨论

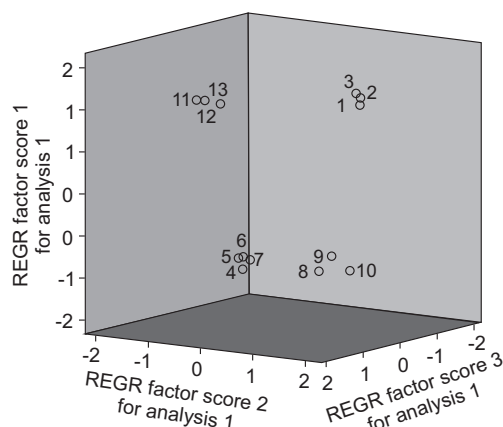
本实验采用 HS-SPME-GC-MS 联用技术对 4 个产地 13 批次丁香的挥发性成分进行了检测, 检出成分与鉴定成分数量之比约为 3:1 到 2:1, 鉴定成分较少的原因可能是丁香样品中丁香酚、(-)- α -芹子烯两者含量过高(两者含量之和在 90% 以上), 而其它成分含量相对过低(低于 0.01%, 有些成分含量甚至为零, 系统虽然能检测到这些成分, 但因匹配度很低影响鉴定而被舍去)造成的。本实验鉴定出的 72 种挥发性成分与 Srivastava 等^[11]和邱琴等^[12]报道的丁香挥发油成分不完全相同, 造成这种差异的原因可能与分析采用的前处理方法及样品来源地不同有关。本实验前处理采用的是 HS-SPME 法, 此方法是利用固体吸附剂将样品中的目标化合物吸附, 使其与样品基质和干扰化合物分离, 从而达到分离和富集目标化合物的目的; 而文献[11, 12]采用的是传统水蒸气蒸馏提取法, 两种提取方法原理不同可能会导致提取成分种类的差异, 从而造成检测结果和分析结果不同。此外, 实验所用样品的来源不同和不确定性也可能导致分析

表 2 4 个产地 13 批次丁香挥发物中鉴定出的化合物 (72 种)
Table 2 Volatile components of the 13 batches of Caryophylli Flos from four habitats

RT (min)	化合物 Compounds	化学式 Chemical Formula	13 批次样品相对含量 Relative percentage of the 13 batches of samples(%)												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
2.91	2-甲基丁酸乙酯 Ethyl 2-methylbutyrate	C ₇ H ₁₄ O ₂				0.01	0.02	0.01	0.01						
3.41	2-庚酮 2-heptanone	C ₇ H ₁₄ O	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02			
3.42	异庚酮 5-methyl-2-hexanone	C ₇ H ₁₄ O											0.02	0.02	0.03
3.53	1,2,5,6-四氢吡啶 1,2,5,6-tetrahydropyridine	C ₅ H ₉ N											0.01		0.01
3.81	戊酸甲酯 Pentanoic acid, methyl ester	C ₆ H ₁₂ O ₂				0.01	0.01	0.02	0.01						
3.81	壬酸甲酯 Methyl n-nonanoate	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.02	0.01	0.01										
3.82	己酸甲酯 Methyl hexanoate	C ₇ H ₁₄ O ₂								0.01	0.02	0.02			
4.02	2-戊炔-1-醇 2-pentyn-1-ol	C ₅ H ₈ O	0.01	0.02	0.01										
4.02	惕各酸乙酯 Ethyl tiglate	C ₇ H ₁₂ O ₂					0.01	0.01							
4.64	乙酸芳樟酯 Linalyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂				0.01	0.01		0.02						
4.66	月桂烯 Myrcene	C ₁₀ H ₁₆				0.01		0.01							
4.69	β-蒎烯 β-pinene	C ₁₀ H ₁₆	0.01	0.01	0.01					0.01	0.02	0.01			
4.8	正己酸乙酯 Ethyl caproate	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.01	0.03	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	
5.27	枞油烯 Sylvestrene	C ₁₀ H ₁₆				0.01	0.01		0.01						
5.28	柠檬油精 Limonene	C ₁₀ H ₁₆								0.01	0.03	0.01			
5.4	顺式-3-庚烯 Cis-3-heptene	C ₇ H ₁₄	0.04	0.06	0.05										
5.4	顺式-2-庚烯 Cis-2-heptene	C ₇ H ₁₄				0.02	0.05	0.07	0.04						
5.51	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯 (Z)-13,7-dimethyl-3,6-octatriene	C ₁₀ H ₁₆				0.05	0.05	0.06	0.05				0.03	0.03	0.04
5.62	(E)-罗勒烯 (E)-ocimene	C ₁₀ H ₁₆				0.04	0.08	0.08	0.06	0.04	0.04	0.05			
5.88	4-氯苯丁酮 4-chloro-1-phenyl-1-butanone	C ₁₀ H ₁₁ ClO					0.01	0.01	0.01						
5.89	苯乙酮 Acetophenone	C ₈ H ₈ O	0.01	0.01	0.01										
5.89	2-磺基苯甲酸酐 2-sulfobenzoic anhydride	C ₇ H ₄ O ₄ S				0.01	0.01	0.02	0.01						
6.03	4-甲基吡唑 4-methylpyrazole	C ₄ H ₆ N ₂				0.01		0.01	0.01						
6.15	2-壬酮 2-nonanone	C ₉ H ₁₈ O	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03	0.04	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03
6.28	4-氰基吡啶 4-cyanopyridine	C ₆ H ₄ N ₂	0.04	0.03	0.03								0.02	0.02	0.03
6.29	3-蒎烯 3-carene	C ₁₀ H ₁₆		0.01						0.03	0.01	0.03			
6.28	反式罗勒烯 Trans-ocimene	C ₁₀ H ₁₆	0.01			0.02	0.03	0.03	0.02						
6,72	2-乙基对二甲苯 2-ethyl-1,4-dimethylbenzene	C ₁₀ H ₁₄	0.01	0.02	0.01										
7.24	邻甲酚 2-hydroxytoluene	C ₇ H ₈ O				0.05	0.06	0.07	0.06	0.02	0.02	0.03			
7.25	乙酸苯甲酯 Benzyl ethanoate	C ₉ H ₁₀ O ₂											0.02	0.01	0.02
7.34	苯甲酸乙酯 Ethyl benzoate	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.03	0.04	0.04										
7.7	2,1-苯并异恶唑 2,1-benzisoxazole	C ₇ H ₅ NO				0.15	0.14	0.17	0.15						
7.72	水杨酸甲酯 Methyl hydroxybenzoate	C ₈ H ₈ O ₃				0.16	0.16	0.15	0.17	0.14	0.17	0.15	0.07	0.08	0.08
7.74	乙酰水杨酸甲酯 Methyl acetylsalicylate	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	0.13	0.12	0.13										
8.18	萘酚酸甲酯 Methyl anthranilate	C ₈ H ₉ NO ₂				0.02	0.01	0.01	0.03						
8.19	甲基丙烯酸月桂酯 Lauryl methacrylate	C ₁₆ H ₃₀ O ₂		0.01	0.01										
8.47	3-氰丙酸甲酯 Methyl 3-cyanopropionate	C ₅ H ₇ NO ₂								0.01		0.01			
8.72	对烯丙苯酚 4-allylphenol	C ₉ H ₁₀ O								0.08	0.11	0.09			
8.75	5-茛醇 5-indanol	C ₉ H ₁₀ O	0.1	0.07	0.08	0.1	0.09	0.11	0.1				0.08	0.11	0.09

续表

RT (min)	化合物 Compounds	化学式 Chemical Formula	13 批次样品相对含量 Relative percentage of the 13 batches of samples(%)												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
8.88	异氰酸间甲苯酯 3-methylphenylisocyanate	C ₈ H ₇ NO				0.06	0.03	0.05	0.04						
9.14	1-苯基-2-丙炔-1-醇 1-phenyl-2-propyn-1-ol	C ₉ H ₈ O	0.07	0.05	0.05										
9.15	5-甲氧基苯并呋喃 5-methoxybenzofuran	C ₉ H ₈ O ₂								0.01	0.01	0.02			
10.36	α-葑澄茄油烯 α-cubebene	C ₁₅ H ₂₄	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04	0.03				0.05	0.05	0.06
11.76	丁香酚 Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	48.2	48.31	48.34	48.81	48.84	48.9	48.76	49.16	49.15	49.12	50.09	50.01	50.22
13.28	(-)-α-芹子烯 (-)-α-selinene	C ₁₅ H ₂₄	42.6	42.88	42.65	41.68	41.7	41.44	41.59	41.38	41.13	41.53	41.41	41.54	41.57
13.4	α-葑烯 α-copaene	C ₁₅ H ₂₄				0.01	0.01	0.02	0.01						
13.96	顺式-α-没药烯 Cis-α-bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	3.77	3.68	3.8										
13.99	亚麻三烯 Santolinatriene	C ₁₀ H ₁₆								3.74	3.69	3.78			
14.07	罗勒烯 Ocimene	C ₁₀ H ₁₆				4.21	4.19	4.23	4.21						
14.17	丁香烯 Humulene	C ₁₅ H ₂₄											3.59	3.67	3.53
14.47	(-)-g-杜松烯 (-)-g-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	0.23	2.25	0.25								0.29	0.29	0.31
14.5	大根香叶烯 Germacrene D	C ₁₅ H ₂₄				0.05	0.04	0.05	0.04	0.25	0.23	0.28	0.05	0.06	0.07
14.54	1,2,4a,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基)-萜 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)naphthalene	C ₁₅ H ₂₄				0.3	0.27	0.21	0.22	0.05	0.07	0.05	0.11	0.12	0.09
14.65	葑澄茄油 Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	0.07	0.05	0.07										
14.84	α-愈创木烯 α-guaiene	C ₁₅ H ₂₄	0.05	0.05	0.05										
14.92	4(14),11-桉叶二烯 Eudesma-4(14),11-diene	C ₁₅ H ₂₄											0.04	0.03	0.04
15.12	α-榄香烯 α-elemene	C ₁₅ H ₂₄	0.1	0.08	0.09										
15.2	白菖烯 Calarene	C ₁₅ H ₂₄		0.01		0.01	0.03	0.04	0.03						
15.22	巴伦西亚橘烯 Valencen	C ₁₅ H ₂₄											0.11	0.08	0.11
15.27	α-衣兰油烯 α-muurolene	C ₁₅ H ₂₄	0.05	0.06	0.05	0.04	0.04	0.05	0.03						
15.52	α-法尼烯 α-farnesene	C ₁₅ H ₂₄	0.3	0.31	0.29	0.25	0.22	0.21	0.23				0.36	0.37	0.31
15.87	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-萜 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄				0.05	0.03	0.01	0.03						
16.16	d-杜松烯 d-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	0.22	0.24	0.23	0.22	0.23	0.19	0.22	0.23	0.21	0.19	0.31	0.33	0.29
16.78	乙酸丁香酚酯 Eugenyl acetate	C ₁₂ H ₁₄ O ₃				3.21	3.41	3.39	3.4	3.36	3.39	3.41			
16.79	邻丁子香酚 o-eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂											2.86	2.79	2.87
19.25	2-甲基吡啶 2-methylpyridine	C ₆ H ₇ N				0.01		0.01	0.01						
19.25	7-甲基腺嘌呤 7-methyladenine	C ₆ H ₇ N ₅		0.01							0.01	0.01			
19.64	2-羟基-5-甲基吡啶 2-hydroxy-5-picoline	C ₆ H ₇ NO				0.01	0.01	0.01							
21.79	双[环5.2.0]-1-烯 Bicyclo[5.2.0]non-1-ene	C ₉ H ₁₄	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01		0.01			
20.74	2-氨基-4,5-二甲基-3-呋喃甲腈 2-amino-4,5-dimethyl-3-furonitrile	C ₇ H ₈ N ₂ O								0.01	0.01	0.03			
22.5	邻甲苯磺酰胺 2-methylbenzene-1-sulfonamide	C ₇ H ₉ NO ₂ S											0.01	0.03	0.01
26.24	苯甲酸苄酯 Benzyl benzoate	C ₁₄ H ₁₂ O ₂								0.01	0.01	0.01			
	总计 Total (%)		96.16	98.52	96.37	99.71	99.91	99.77	99.69	98.64	98.38	98.91	99.57	99.69	99.81



图中编号代表来源于4个产地13批次样品: 1~3: 马达加斯加塔马塔夫(MD); 4~7: 中国广东(GD); 8~10: 中国广西(GX); 11~13: 印度尼西亚爪哇岛(ID)。下同。

Number in the picture represents the 13 batches of samples from four habitats: 1-3: Madagascar Tamatave (MT); 4-7: Guangdong Province, China (GD); 8-10: Guangxi Province, China (GX); 11-13: Indonesia Java (ID). Same below.

图2 13批次丁香样品的主成分分析

Fig. 2 Principal components analysis (PCA) score plots from 13 batches of Caryophylli Flos

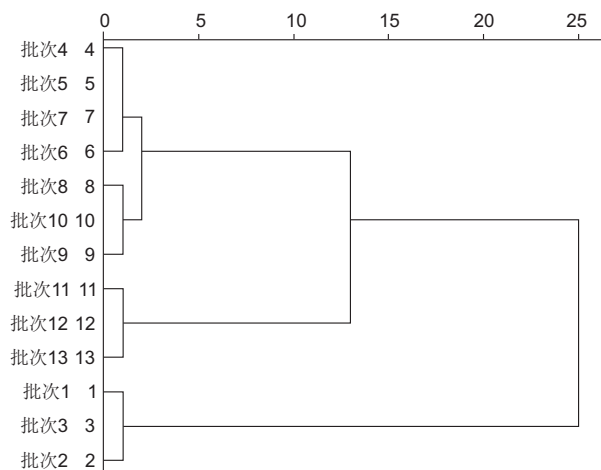


图3 13批次丁香样品的聚类分析

Fig. 3 Results of cluster analysis from 13 batches of Caryophylli Flos

结果的差异。

本实验中丁香酚、(-)- α -芹子烯构成了4个产地丁香中的主要挥发性成分,且丁香酚是丁香的主要药效成分,它具有抑菌、抗氧化、麻醉、驱蚊等功效^[13-18]。4个产地丁香中丁香酚的含量非常相近,均在50%左右,表明国产丁香与进口丁香质量差异不大,可以满足市场对丁香药用及其它用途的要求。

除含丁香酚和(-)- α -芹子烯两种主要成分外,

4个产地丁香样品挥发性成分含量排第三位的分别为:顺式- α -没药烯(马达加斯加塔马塔夫,平均为3.75%)、罗勒烯(中国广东,平均为4.21%)、亚麻三烯(中国广西,平均为3.74%)、丁香烯(印度尼西亚爪哇岛,平均为3.60%)。4个产地丁香第三大成分各不相同,这对丁香的产地鉴别具有重要意义,可作为深入研究丁香挥发物成分的突破口。而造成这些成分差异的原因可能是因不同产地的土壤、气候等生境条件不同,从而使植物次生代谢过程存在差异所致。

将HS-SPME-GC-MS联用技术检测所得的数据经PCA和聚类分析的结果表明,此方法不仅能揭示同一产地丁香挥发性成分内在的相似性,还能反映不同产地丁香成分间的差异,能将4个产地的丁香很好地地区分开。其中,产自广东、广西的丁香亲缘关系相近,挥发性成分的相似度高,可能是因为距离较近、气候条件相似所致;而广东、广西两地丁香的挥发性成分与印度尼西亚丁香的相似度要高于它们与马达加斯加塔马塔夫丁香,其原因可能是中国历史上引种的丁香来源于印度尼西亚,且我国两广地区与印度尼西亚丁香产地在地理上相隔较近、气候条件相似,而与马达加斯加距离较远所致。

综上所述,该HS-SPME-GC-MS联用技术既可作为不同产地丁香的鉴别方法,也为不同产地丁香的质量控制提供了新的研究思路 and 方向。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:4.
- [2] Wong RW, Hägg U, Samaranayake L, Yuen MK, Seneviratne CJ, Kao R. Antimicrobial activity of Chinese medicine herbs against common bacteria in oral biofilm [J]. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 2010, 39(6): 599-605.
- [3] 朱金段,袁德俊,林新颖. 丁香的药理研究现状及临床应用[J]. *中国药物经济学*, 2013, 21(1): 32-35.
- [4] 张军锋,张树军. 丁香属植物的化学成分及其药理作用的研究进展[J]. *海南大学学报:自然科学版*, 2007, 25(2): 200-205.
- [5] 宋光西,马玲云,魏锋,马双成. 丁香属植物的化

- 学成分分类及药理作用研究进展[J]. 亚太传统医药, 2011, 10(5): 179-181.
- [6] 俞懿强, 邹德荣. 丁香酚的药理作用及在口腔医学应用的研究进展[J]. 临床口腔医学杂志, 2009, 25(3): 187-189.
- [7] 李博, 朱俊访. 丁香叶中所含有效成分的种类及药理作用研究进展[J]. 黑龙江医药, 2009, 22(4): 510-511.
- [8] 彭宅彪, 张琼光, 代虹健, 丁英平. 丁香酚的药理学研究进展[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(10): 2079-2081.
- [9] 喻莉萍, 张辉, 彭爱姣. 药学类科技期刊的主成分分析及综合评价[J]. 科技情报开发与经济, 2014, 24(1): 121-123.
- [10] 张文斌, 平艳玲, 史艳萍. SPSS 软件在药学研究领域中的应用[J]. 解放军药学学报, 2003, 19(1): 76-78.
- [11] Srivastava AK, Srivastava SK, Syamsundar KV. Bud and leaf essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from India and Madagascar[J]. *Flavour Frag J*, 2005, 20(1): 51-53.
- [12] 邱琴, 崔兆杰, 赵怡. 丁香挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 中药材, 2003, 26(1): 25-26.
- [13] 邱电, 张魁华, 方炳虎. 丁香酚的药理作用[J]. 动物医学进展, 2007, 28(8): 101-103.
- [14] 吕世明, 陈杖榴, 陈建新, 邱电, 李春梅. 丁香酚体外抑菌作用研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 122-124.
- [15] 张杰, 王春梅, 程罗根, 陈浩, 石志琦. 丁香酚对灰葡萄孢的抑制作用研究[J]. 农药学学报, 2008, 10(1): 68-74.
- [16] Al-Sharif I, Remmal A, Aboussekhra A. Eugenol triggers apoptosis in breast cancer cells through E2F1/survivin down-regulation[J]. *BMC Cancer*, 2013, 13(13): 600-610.
- [17] Estevão-Silva CF, Kummer R, Fachini-Queiroz FC, Grespan R, Nogueira de Melo GA, Baroni S, Cuman RK, Bersani-Amado CA. Anethole and eugenol reduce in vitro and in vivo leukocyte migration induced by fMLP, LTB4, and carrageenan[J]. *J Nat Med*, 2014, 68(3): 567-575.
- [18] Liu Z, Niu W, Yang X, Wang Y. Effects of combined acupuncture and eugenol on learning-memory ability and antioxidation system of hippocampus in Alzheimer disease rats via olfactory system stimulation[J]. *J Tradit Chin Med*, 2013, 33(3): 399-402.

(责任编辑: 张平)