HS-SPME-GC-MS 和主成分分析比较枇杷叶、花、茎的挥发性成分

黄晶玲，江汉美，邸江雪，肖欢，肖宇硕，孟佳敏

（湖北中医药大学，湖北省药用植物研发中心，湖北武汉 430065）

摘要：采用顶空固相微萃取法结合气相色谱质谱联用法，对枇杷叶、花和茎的挥发性成分进行分析和比较，面积归一化法计算各成分的相对含量，并进行主成分分析。枇杷叶中鉴定出 29 种化合物，占总挥发性成分的 91.16%；枇杷花中鉴定出 27 种化合物，占总挥发性成分的 99.99%；枇杷茎中鉴定出 19 种化合物，占总挥发性成分的 90.05%。枇杷叶、花、茎中共鉴定出 55 种化合物，其中共有成分有 6 种，但枇杷叶、花、茎含有的特有成分分别为 23、21、13 种。2 个主成分可代表 3 个样品的 55 种挥发性成分，样品之间的主成分分析综合评分具有较大的差异，枇杷叶的综合评分最高，枇杷花的综合评分其次，枇杷茎的综合评分最低。实验结果表明：枇杷叶、花、茎挥发性成分种类和含量存在较大差异。

关键词：枇杷；叶、花、茎；挥发性成分；气相色谱质谱联用；主成分分析

文章篇号：1673-9078(2019)06-295-300 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.6.039

Comparison of the Volatile Components in Leaves, Flowers and Stems of Loquat by HS-SPME-GC-MS and Principal Component Analysis

HUANG Jing-ling, JIANG Han-mei, DI Jiang-xue, XIAO Huan, XIAO Yu-shuo, MENG Jia-min

(Hubei University of Traditional Chinese Medicine, Hubei R & D Center for Medicinal Plants, Wuhan 430065, China)

Abstract: The volatile components in the leaves, flowers and stems of loquat were analyzed and compared using headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. The relative contents of individual components were calculated by the area normalization method while the principal components were also analyzed. Twenty nine compounds were identified in loquat leaves, accounting for 91.16% of the total volatile components; Twenty seven compounds were identified in loquat flowers, accounting for 99.99% of the total volatile components; Nineteen compounds were identified in the stems of loquat, accounting for 90.05% of the total volatile components. A total of 55 compounds were identified from the leaves, flowers and stems of loquat, among which 6 compounds were in common. The loquat leaves, flowers and stems had 23, 21 and 13, respectively, their own characteristic compounds. Two principal components were found to represent the 55 volatile components in the 3 types of samples. The Principal Component Analysis revealed a great difference in the comprehensive score among the samples, with the comprehensive score decreasing in this order: leaves > flowers > stems. The experimental results showed large differences in the species and contents of the volatile components among the leaves, flowers and stems of loquat.

Key words: loquat; leaves, flowers and stems; volatile components; gas chromatography-mass spectrometry; principal component analysis

枇杷属于蔷薇科植物枇杷[*Eriobotrya japonica*（*Thunb.*）Lindl].[1]，别名：芦橘、金丸、芦枝。在我国分布广泛，主要分布于江苏、安徽、浙江、江西、福建、台湾、四川、云南等地[2]。《本草纲目》记载“枇杷能润五脏，滋心肺”，枇杷不同部位具有不同的功效，如枇杷叶是一味常用中药，味苦，微辛；性微寒；归肺、胃经；具有清肺止咳的功效。枇杷花具有散寒的功效[3]。目前研究大多集中在枇杷叶上面，但是枇杷花、枇杷茎等都具有一定的药用价值。

挥发性成分是广泛存在于植物中的一类化学成分，是中药的有效成分之一，主要包括萜类、芳香族、脂肪族化合物及其含氧衍生物。多数挥发性成分在临床上具有一定的药理作用，如抗菌消炎、解热镇痛、抗氧化、抗过敏等作用[4]。目前枇杷挥发性成分的研

收稿日期：2018-12-20

基金项目：湖北省技术创新专项重大项目（2016ACA146）

作者简介：黄晶玲(1995-)，女，硕士在读，研究方向：中药及其制剂的物质基础

通讯作者：江汉美(1964-)，教授，研究方向：中药及其制剂的物质基础；邸江雪（1990-），女，讲师，研究方向：中药科研及管理（共同通讯作者）

究较少，有研究采用水蒸气蒸馏法提取枇杷叶中的挥发油，气相色谱质谱联用（GC-MS）鉴定出 47 种化合物[5]。倪敏[6]采用水蒸气蒸馏法提取枇杷果实中的挥发油，结果鉴定出 25 种化合物。这些研究对了解枇杷挥发性成分有一定的帮助，但未能全面分析枇杷叶、花、茎之间挥发性成分的差异。

固相微萃取（solid-phase microextraction，SPME）技术是一项新颖的样品前处理与富集技术，属于非溶剂型选择性萃取法。SPME 法集采样、萃取、浓缩、进样于一体，具有不使用溶剂和样品、检测非破坏性等优点，适合易挥发性化合物的检出。固相微萃取法操作简单，携带方便，操作费用也低廉，因此成为了目前所采用的样品前处理技术中应用最为广泛的方法之一[7]。主成分分析（principalcomponent analysis，PCA）通过简化和降维技术，其不考虑样品的分类信息，将高维变量数据信息进行降维后对样品直接进行判断，已在多种中草药挥发性成分中得到应用[8,9]；主要的作用是把大量指标转化为少数几个综合指标，综合指标保留了原有指标的大多数信息，把复杂的问题简单化[10]。

所以，本研究采用顶空固相微(HS-SPME)萃取枇杷叶、花、茎的挥发性成分，再结合气质联用(GC-MS)技术分析其挥发性成分，并采用 SPSS 软件进行主成分分析，对比分析枇杷叶、花、茎的挥发性成分。

1 材料与方法

1.1 仪器

手动固相微萃取（SPME）进样装置，德国 IKA 公司；Agilent6890/5973 型气相-质谱-计算机联用仪，美国 Agilent 公司；顶空瓶（15 mL）；65 μm 聚二甲基硅氧烷-二乙烯基苯（PDMS/DVB）萃取纤维头，美国 Supelco 公司；中药材粉碎机（FW177），天津泰斯特仪器有限公司；ALC-210.2 型电子天平（d=0.01 g），北京赛多利斯天平有限公司。

1.2 药材

枇杷叶、花、茎购与武汉强康大药房，经湖北中医药大学生药教研室鉴定为真品。

1.3 实验方法

1.3.1 枇杷药材前处理

将枇杷叶、花、茎分别用打粉机打成一定适宜的粉末，分别取 0.5 g 枇杷叶、花、茎于 15 mL 干燥顶空瓶中。

1.3.2 顶空固相微萃取条件[7]

综合考察确定顶空固相微萃取的最佳条件为：枇杷的叶、花、茎分别取 0.5 g 装于 15 mL 顶空瓶中，插入装有 65 μm PDMS/DVB 萃取纤维头的手动进样器，在 120 ℃下平衡 15 min 后，再压缩手柄伸出萃取头萃取 20 min，取出，立即插入气相色谱仪进样口（温度 230 ℃）解吸 4 min，不分流进。

1.3.3 GC-MS 分析条件[7]

1.3.3.1 GC 条件

色谱柱：HP-5MS 石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)；程序升温：初始温度 50 ℃，以 10 ℃/min 升温至 230 ℃；进样口温度：230 ℃；载气：高纯氦气(99.999%)；载气流速：1.0 mL/min；不分流进样。

1.3.3.2 MS 条件

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

2 结果与分析

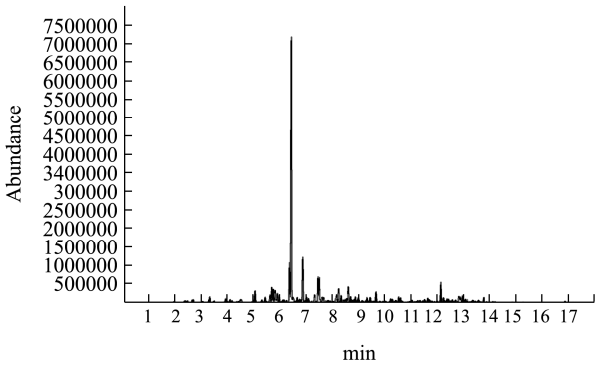


图 1 枇杷叶挥发性成分总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of volatile components in loquat leaves

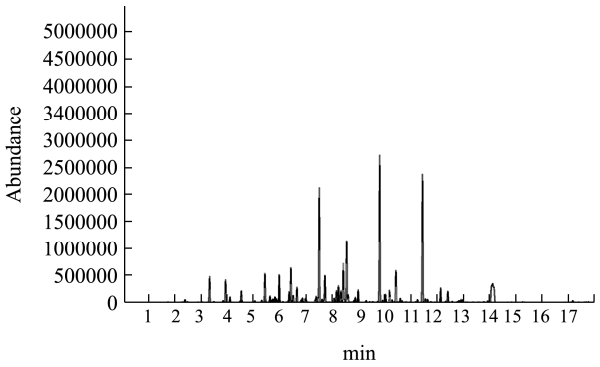


图 2 枇杷花挥发性成分总离子流图

Fig.2 Total ion flow diagram of volatile components in loquat flowers

表1 枇杷叶、花、茎挥发性成分比较

Table 1 Comparison of volatile components in different parts of loquat

化合物序号	保留时间/min	中文名	分子式	相对含量/%		
				叶	花	茎
1	2.69	乙缩醛	$C_6H_{14}O_2$			4.03
2	3.32	己醛	$C_6H_{12}O$	1.00	2.78	6.43
3	3.93	青叶醛	$C_6H_{10}O$	0.96	2.31	4.79
4	4.1	正己醇	$C_6H_{14}O$			15.00
5	4.53	庚醛	$C_7H_{14}O$		1.19	3.99
6	5.05	左旋-α-蒎烯	$C_{10}H_{16}$	2.19		2.87
7	5.44	苯甲醛	C_7H_6O	0.95	3.08	
8	5.63	1,6-脱水吡喃葡萄糖	$_6H_{10}O_5$		0.87	
9	5.63	蘑菇醇	$C_8H_{16}O$			1.92
10	5.69	左旋-β-蒎烯	$C_{10}H_{16}$			4.74
11	5.71	β-蒎烯	$C_{10}H_{16}$	3.67		
12	5.76	甲基庚烯酮	$C_8H_{14}O$	1.74		
13	5.82	2-戊基呋喃	$C_9H_{14}O$			4.28
14	5.83	月桂烯	$C_{10}H_{16}$	2.81		
15	5.91	正己酸乙酯	$C_8H_{16}O_2$			2.85
16	5.92	反式-2,4-庚二烯醛	$C_7H_{10}O$	1.43		
17	5.98	辛醛	$_8H_{16}O$		2.58	2.54
18	6.36	异辛醇	$C_8H_{18}O$		1.35	4.32
19	6.43	右旋萜二烯	$C_{10}H_{16}$	43.92	3.30	3.45
20	6.51	苄醇	C_7H_8O		0.91	
21	6.65	苯乙醛	C_8H_8O		1.57	
22	6.68	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯	$C_{10}H_{16}$	0.91		
23	6.88	萜品烯	$C_{10}H_{16}$	6.52		
24	7.03	3,5-丁二烯-2-酮	$C_8H_{10}O$	1.15		
25	7.34	萜品油烯	$C_{10}H_{16}$	1.36		
26	7.39	2-亚甲基-环己醇	$C_7H_{12}O$		0.94	
27	7.47	芳樟醇	$C_{10}H_{18}O$	6.56		
28	7.49	壬醛	$C_9H_{18}O$		11.29	11.22
29	7.63	(E)-(3,3-二甲基环己亚基)-乙醛	$C_{10}H_{16}O$	0.74		
30	7.72	苯乙醇	$C_8H_{10}O$		3.41	
31	8.16	3-甲基-3,4-二乙烯基环己烯	$C_{11}H_{16}$	1.95	1.36	
32	8.24	樟脑	$C_{10}H_{16}O$	2.05	1.86	1.97
33	8.34	(E)-壬烯醛	$C_9H_{16}O$		1.17	
34	8.35	薄荷酮	$C_{10}H_{18}O$	1.06		
35	8.42	异龙脑	$C_{10}H_{18}O$		4.55	
36	8.47	1-壬醇	$C_9H_{20}O$			3.64
37	8.55	龙脑	$C_{10}H_{18}O$		7.50	
38	8.6	薄荷醇	$C_{10}H_{20}O$	2.76		2.08
39	8.71	4-萜烯醇	$C_{10}H_{18}O$	0.84		
40	8.9	十二烷	$C_{12}H_{26}$	1.56		

转下页

接上页

41	8.99	癸醛	$C_{10}H_{20}O$	1.16	1.18	4.60
42	9.34	β-环柠檬醛	$C_{10}H_{16}O$	0.75		
43	9.46	2-异丙基-5-甲基茴香醚	$C_{11}H_{16}O$	0.83		
44	9.68	2-丁酰呋喃	$C_8H_{10}O_2$	1.58		
45	9.81	大茴香醛	$C_8H_8O_2$		16.78	
46	10.03	肉桂醛	C_9H_8O		0.98	
47	10.19	4-甲氧基苄醇	$C_8H_{10}O_2$		1.50	
48	10.43	草酸 2-苯基乙基丙酯			3.53	
49	11.44	4-甲氧基苯甲酸甲酯	$C_9H_{10}O_3$		13.43	
50	12.13	1-石竹烯	$C_{15}H_{24}$	2.82	1.50	5.33
51	12.4	茴香酸乙酯	$C_{10}H_{12}O_3$		1.24	
52	12.85	A-姜黄烯	$C_{15}H_{22}$	1.32		
53	12.91	β-紫罗兰酮	$C_{13}H_{20}O$	0.95		
54	13.79	反式-橙花叔醇	$C_{15}H_{26}O$	0.62		
55	14.11	酞酸二乙酯	$C_{12}H_{14}O_4$		7.83	

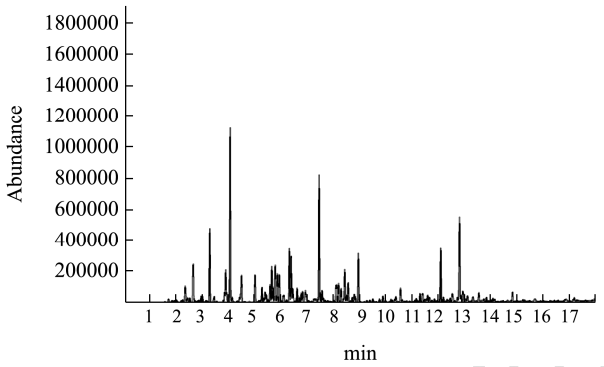


图 3 枇杷茎挥发性成分总离子流图

Fig.3 Total ion flow diagram of volatile components in loquat stems

按照上述顶空固相微萃取条件和气相色谱-质谱条件，分析枇杷叶、花、茎中挥发性成分，经安捷伦化学工作站数据处理并用峰面积归一化法从总离子流图中计算各组分相对百分含量，按各峰的质谱图经 NIST 08 质谱数据库检索，并结合相关文献，初步鉴定出了 55 种化合物，分析结果如图 1~3 和表 1 中所示。

2.1 枇杷叶、花、茎挥发性成分分析

由图 1~3，表 1 可知，枇杷叶、花和茎共鉴定出挥发性成分 55 种，包括醛类 25 种，醇类 16 种，酮类 7 种，脂类 5 种，烯类 17 种，杂环及其他类化合物 5 种。枇杷叶中共鉴定出 29 种化合物，占挥发性成分的 96.16%。其中相对含量较高的化合物为右旋萜二烯（43.92%），芳樟醇（6.56%），萜品烯（6.52%），β-蒎烯（3.67%）。枇杷花中共鉴定出 27 种化合物，占挥发性成分的 99.99%。其中含量较高的化合物为大茴香醛（16.78%），4-甲氧基苯甲酸甲酯（13.43%），壬醛（11.29%），酞酸二乙酯（7.83%）。枇杷茎中共鉴定出 19 种化合物，占挥发性成分的 90.05%。其中相对含量较高的化合物为正己醇(15%)，壬醛(11.22%)，己醛（6.43%），1-石竹烯（5.33%）。

2.2 枇杷叶、花、茎挥发性成分种类和含量的差异

表 2 枇杷叶、花、茎挥发性成分种类和相对质量分析

Table 2 Analysis of volatile components and relative quality of loquat leaves, flowers and stems

类别	叶		花		茎	
	数量/个	相对质量分数/%	数量/个	相对质量分数/%	数量/个	相对质量分数/%
醛类	7	24.14	11	40.74	7	36.84
醇类	4	13.79	7	25.93	5	26.32
酮类	5	17.24	1	3.70	1	5.26
脂类	0	0.00	4	14.81	1	5.26
烯类	10	34.48	3	11.11	4	21.05
其它	3	10.34	1	3.70	1	5.26

根据表 1 所得化合物信息，将枇杷挥发性成分大致分成 6 种类型，醛类、醇类、酮类、脂类、烯类、杂环及其他类化合物。枇杷叶中烯类成分是占比最高的，为 34.48%；而枇杷花中占比最高的却是醛类成分，为 40.74%；枇杷茎中含量最高的也是醛类成分，但比枇杷花中少一点，为 36.84%。枇杷叶、花和茎中挥发性成分的分类及含量具体信息如表 2 所示。

2.3 枇杷叶、花、茎挥发性成分共有成分和特有成分分析

表 3 枇杷叶、花、茎挥发性成分共有成分分析

Table 3 Analysis of common components of volatile components in leaves, flowers and stems of loquat

化合物	相对含量/%		
	叶	花	茎
己醛	1.00	2.78	6.43
青叶醛	0.96	2.31	4.79
右旋萜二烯	43.92	3.30	3.45
樟脑	2.05	1.86	1.97
癸醛	1.16	1.18	4.60
1-石竹烯	2.82	1.50	5.33

枇杷叶、花和茎 3 个样品中共有成分数量为 6 个，分别为己醛、青叶醛、右旋萜二烯、樟脑、癸醛、1-石竹烯。共有成分的含量存在一定的差距，如枇杷叶中右旋萜二烯的相对含量为 43.92%，枇杷花中却只占 3.3%，茎中也只含 3.45%。枇杷茎中己醛相对含量为 6.43%，枇杷叶中却只占 1%，枇杷花也只占 2.78%。说明虽然枇杷叶、花、茎存在共有成分，但共有成分含量却存在一定差异。具体结果见表 3。

2.4 枇杷叶、花、茎挥发性成分主成分分析[11]

从测定结果来看，3 个样品的挥发性成分含量数据离散，主成分分析可以把离散的数据标准化处理，以便对样品的相似性和差异性进行明确的评价。为判断 3 个样品挥发性成分的差异，对 55 种挥发性成分的相对含量进行了主成分分析。样品相对含量数据经标准化后进行主成分分析，得到特征值和贡献率见表 4。由表 4 可知，第 1 主成分的贡献率为 58.577%，第 2 主成分的贡献率为 41.423%，2 个主成分的累计贡献率达到 100%，能够反映样品的整体信息，故取这 2 个主成分作为数据分析的有效成分。各特征向量挥发性成分相对含量数据通过 SPSS20.0 软件标准化后，各因子得分、各主成分得分、综合得分见表 5。由表 5 可知，主成分综合评价（Y）中，枇杷叶的得分最高，其次是枇杷花、枇杷茎。由此表明，枇杷叶、花、茎的挥发性成分经主成分分析表现出明显的差异。

表 4 主成分的特征值及其贡献率

Table 4 Eigenvalues of principal components and their contribution rates

主成分	初始特征值	方差贡献/%	累计方差贡献/%
1	32.218	58.577	58.577
2	22.782	41.423	100.000

表 5 枇杷叶、花、茎挥发性成分因子得分、主成分得分和综合得分

Table 5 Score of volatile component factor, principal component score and comprehensive score of loquat leaves, flowers and stems

部位	因子 1 得分（F1）	因子 2 得分（F2）	主成分 1 得分（Y1）	主成分 2 得分（Y2）	综合得分（Y）
叶	1.1312	0.2316	6.4210	1.1056	4.4089
花	-0.7662	0.8639	-4.3491	4.1232	-0.1323
茎	-0.3650	-1.0955	-2.0718	-5.2288	-4.2766

3 结论

采用 HS-SPME-GC-MS 联用分析枇杷叶、花、茎的挥发性成分，共鉴定出 55 种成分，其中枇杷叶鉴定出 29 种化合物，枇杷花鉴定出 27 种化合物，枇杷花中鉴定出 19 种化合物。枇杷叶、花、茎既存在共有成分，也存在特有成分，6 个共有成分含量也存在一定差异。通过主成分分析可以看出，样品之间的主成分分析综合评分具有较大差异，枇杷叶的综合评价最高。从挥发性成分种类和含量来考虑，枇杷叶具有最丰富的种类和含量，枇杷叶具有止咳、清肺和胃、降气化痰的功效与其中的化学成分是密不可分的，如枇杷叶中的芳樟醇具有明显的止咳、祛痰和抑制真菌的作用[12]；萜品烯也具有平喘作用[13]。因此，深入研究枇杷叶的化学成分及生物活性，对枇杷叶药理作用机制及其加工研发均具有重要理论意义。但也需考虑花和茎中特有成分的药用价值。本实验结果获得了较为丰富的枇杷叶、花、茎挥发性成分，可为后续枇杷资源应用奠定基础。

参考文献

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015
National Pharmacopoeia Commission. A Pharmacopoeia of

the People's Republic of China [M]. Beijing: China Pharmaceutical Science and Technology Press, 2015

[2] 沈隽.中国农业百科全书果树卷[M].北京:农业出版社,1993
SHEN Jun. Chinese Agricultural Encyclopedia of Fruit Trees [M]. Beijing: Agricultural Press, 1993

[3] 班新伟,康如如,魏凌云,等.枇杷花功能成分及抗氧化活性随生长时间的变化[J].西北林学院学报,2018,33(4):139-144
BAN Xin-wei, KANG Ru-ru, WEI Ling-yun, et al. Changes of functional components and antioxidant activity of loquat flower with growth time [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2018, 33(4): 139-144

[4] 李欧,金尧,蔡小燕,等.中药挥发油提取技术研究概况[J].中兽医医药杂志,2017,2:30-32
LI Ou, JIN Yao, CAI Xiao-yan, et al. A survey of the extraction techniques of essential oil from traditional Chinese medicine [J]. Journal of Chinese Veterinary Medicine, 2017, 2: 30-32

[5] 王义潮,巩江,高昂,等.枇杷叶挥发油气相色谱-质谱研究[J].安徽农业科学,2011,39(5):2637-2638
WANG Yi-chao, GONG Jiang, GAO Ang, et al. Study on volatile oil of loquat leaves by gas chromatogra phy-mass spectrometry [J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2011, 39(5): 2637-2638

[6] 倪敏,凌雪峰,王丽娟,等.枇杷果实挥发油中的化学成分[J].光谱实验室,2013,30(4):1856-1858
NI Min, LING Xue-feng, WANG Li-juan, et al. Chemical constituents of volatile oil from loquat fruit [J]. Spectroscopic Laboratory, 2013, 30(4): 1856-1858

[7] 黄晶玲,卢金清,肖宇硕,等.顶空固相微萃取法与水蒸气蒸馏法联合气相色谱-质谱分析肿节风挥发性成分[J].中国医院药学杂志,2018,38(10):1073-1076
HUANG Jing-ling, LU Jin-qing, XIAO Yu-shuo, et al. Headspace dolid phase microextraction and steam distillation combined with gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile components of tumatopsis [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2018, 38(10): 1073-1076

[8] 梁欢,卢金清,戴艺,等.HS-SPME-GC-MS 结合化学计量法对不同产地艾叶药材挥发性成分的比较分析[J].中国实验方剂学杂志,2014,20(18):85-90
LIANG Huan, LU Jin-qing, DAI Yi, et al. Comparison and analysis of volatile components in *Artemisia argyi* from different habitats by HS-SPME-GC-MS and chemometrics [J]. Chinese Journal of Experimental Prescription, 2014 20(18): 85-90

[9] 万丽娟,卢金清,李肖爽,等.神农香菊挥发油主成分分析[J].中国医院药学杂志,2016,36(11):921-925
WAN Li-juan, LU Jin-qing, LI Xiao-shuang, et al. Principal component analysis of essential oil of chrysanthemum Shennong [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2016, 36(11): 921-925

[10] 蔡晓洋,张思荻,曾俊,等.基于主成分分析和聚类分析的栀子种质资源评价[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(14):30-37
CAI Xiao-yang, ZHANG Si-di, ZENG Jun, et al. Evaluation of germplasm resources of gardenia based on principal component analysis and cluster analysis [J]. Chinese Journal of Experimental Prescription, 2017, 23(14): 30-37

[11] 何春兰,张刚平,王如意,等.HS-SPME-GC-MS 和主成分分析红车轴草不同部位挥发油成分[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(5):71-81
HE Chun-lan, ZHANG Gang-ping, WANG Ru-yi, et al. An analysis of volatile oil components in different parts of *Rhizoma Cardinalis* by HS-SPME-GC-MS and principal component analysis [J]. Chinese Journal of Experimental Prescriptions, 2018, 24(5): 71-81

[12] 王伟江.天然活性单萜-柠檬烯的研究进展[J].中国食品添加剂,2005,68(1):33-37
WANG Wei-jiang. Recent advances on limonene, a natural and active monoterpene [J]. China Food Additives, 2005, 68(1): 33-37

[13] 邵宏伟,朱婉萍.α-萜品烯醇止咳平喘作用的实验研究[J].中国药业,2006,15(9):32
SHAO Hong-wei, ZHU Wan-ping. Experimental study on antitussive and antiasthmatic effects of alpha terpene enol [J]. China Pharmaceuticals Chin Pharm, 2006, 15(9): 32