

不同萃取方法下绿萼梅花蕾挥发性成分的差异研究

王衍彬¹, 陈雅丹¹, 秦玉川¹, 吴晓红², 黄旭波¹, 程俊文¹, 王丽玲¹,

方茹¹, 贺亮¹

(1. 浙江省林业科学研究院, 浙江 杭州 310023; 2. 浙江东方梅园有限公司, 浙江 湖州 313199)

摘要: 2023 年 3 月 13 日, 从浙江省长兴县东方梅园有限公司梅花基地采集绿萼梅花蕾, 采用顶空-固相微萃取、水蒸气蒸馏、超临界二氧化碳 3 种萃取方法, 结合气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS) 分析绿萼梅 *Prunus mume* f. *viridicalyx* 花蕾中的挥发性成分, 以明确其花蕾中挥发性成分组成、含量及不同萃取方式对挥发性成分萃取效果的影响。结果表明, 三种萃取方法获得的绿萼梅花提取物中共鉴定出醛、醇、酮、烯等 9 类 57 种化合物, 主要挥发性成分是苯甲醛、壬醛、金合欢醇、苯甲酸、 α -香树脂醇、D-柠檬烯, 其中苯甲醛含量最高。绿萼梅花顶空-固相微萃取物中共鉴定出 21 种化合物, 以醛、醇和酯类化合物为主; 水蒸气蒸馏物中共鉴定出 30 种化合物, 以酯、烯、酮等水难溶化合物为主; 而超临界二氧化碳提取物中共鉴定出 30 种化合物, 以长链烷、酯类化合物为主。三种提取方法中超临界二氧化碳萃取物中蜡质含量较高, 顶空-固相微萃取和水蒸气蒸馏法结合更适合作为植物芳香类挥发物的检测手段。

关键词: 绿萼梅; 挥发性成分; 水蒸气蒸馏; 顶空-固相微萃取; 超临界 CO₂ 萃取

中图分类号: S685.17 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3776 (2024) 01-0033-09

Variance of Volatile Component from *Prunus mume* f. *viridicalyx* flower by Different Extraction Methods

WANG Yanbin¹, CHEN Yadan¹, QIN Yuchuan¹, WU Xiaohong², HUANG Xubo¹, CHENG Junwen¹, WANG Liling¹, FANG Ru¹, HE Liang¹

(1. Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou, Zhejiang, 310023; 2. Zhejiang Oriental Plum Garden Co., LTD, Huzhou, Zhejiang, 313199)

Abstract: On 13th March 2023, alabastrum of *Prunus mume* f. *viridicalyx* were collected in Changxing, Zhejiang province. Volatiles were extracted by headspace-solid phase microextraction, steam distillation and supercritical carbon dioxide, and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results revealed that there were 57 compounds extracted from alabastrum of *P. mume* f. *viridicalyx* belonging to 9 classes, including aldehydes, alcohols, ketones, and alkenes by three extraction methods. Benzaldehyde, nonanal, farnesol, benzoic acid, α -amyrin and D-limonene were identified as the main volatile components with benzaldehyde exhibiting the highest content. A total of 21 compounds were extracted by headspace-solid phase microextraction, consisting of aldehydes, alcohols and esters. 30 compounds were extracted by steam distillation, mainly comprising esters, alkene, ketones and other water-insoluble compounds. Supercritical CO₂ extraction resulted 30 compounds predominantly

收稿日期: 2023-10-01; 修回日期: 2023-12-11

基金项目: 长兴县农业科技计划 (2022N05)

作者简介: 王衍彬, 副研究员, 从事木本油料与森林资源利用相关研究; E-mail: numbsword@126.com。通信作者: 贺亮, 研究员, 从事森林资源利用研究; E-mail: lianghezjfa@hotmail.com。

long-chain alkane and ester compounds. The experiment demonstrated that supercritical carbon dioxide extract had higher wax content, combination of headspace-solid phase microextraction and steam distillation proved to be more suitable detecting plant aromatic volatiles.

Key words: *Prunus mume* f. *viridicalyx*; volatile components; steam distillation; headspace-solid phase microextraction; supercritical CO₂ extraction

绿萼梅 *Prunus mume* f. *viridicalyx* 为蔷薇科 Rosaceae 李属 *Prunus* 落叶小乔木, 因其萼绿花白而得名。绿萼梅天然分布于我国浙江、江苏、安徽、湖北等地^[1], 是一种应用广泛的园林观赏和药用植物。绿萼梅的花香气浓郁, 既可作为芳香原料, 亦是一种传统中药, 被收录在《本草纲目》《本草拾遗》等古代经典药籍中, 具有疏肝和中、理气化痰之功效, 常被用于治疗头晕、肝胃气痛以及食欲不振等病症^[2]; 亦被收录在《中国药典》中, 近年来研究发现, 其花蕾中含有丰富的挥发油类、黄酮类、苷类、苯丙素类等活性成分^[3-7], 其中以绿原酸为代表的苯丙素类和以芦丁和金丝桃苷为代表的黄酮类成分含量最高^[4-5], 并发现其具有防止黑色素沉积、抗抑郁、清除体内自由基、抑制醛糖还原酶和抗血小板凝集等^[2,5,8-10]功能, 具有较好的应用潜力。

近年来, 国内外学者针对绿萼梅的研究, 主要集中在中药质量控制和药用成分分析方面, 对其挥发性成分的研究尚未见报道, 文献仅有少量有关蜡梅 *Chimonanthus praecox*、杏梅 *P. mume* var. *bungo*、山桃 *P. davidiana* 等相近植物花挥发性成分的研究^[11-16], 但其挥发性成分的组成均与绿萼梅挥发性成分相去甚远。绿萼梅花质轻、气香、味淡、微涩, 是一种优质的芳香原料, 具有极大的芳香产品开发潜力。目前, 植物挥发性成分提取方法研究众多, 水蒸气蒸馏法 (Steam distillation, SD)、同时蒸馏萃取法 (Simultaneous distillation extraction, SDE)、减压蒸馏法 (Vacuum distillation extraction, VDE)、顶空吸附法 (Headspace adsorption, HAS)、顶空-固相微萃取法 (Headspace-Solid Phase Microextraction, HS-SPME)、超声波萃取法 (Ultrasonic extraction, UE)、超临界 CO₂ 萃取法 (Supercritical CO₂ extraction, SFE) 等方法均有应用, 但各有优缺点。不同萃取方法对获得的挥发性成分物质种类和相对含量有差异^[17-18], 绿萼梅中的挥发性成分较为复杂, 各种提取方法的原理不同, 所得到的挥发性物质是否一致, 差异是否显著, 目前尚无报道。

本研究采用 SD、HS-SPME 和 SFE 三种常用萃取方法提取绿萼梅挥发性成分, 并结合气相色谱-质谱联用技术对其提取物的组分进行对比分析, 旨在全面了解绿萼梅的挥发性成分组成, 探讨研究能较完整保留绿萼梅挥发性成分的提取方法, 为绿萼梅的产业化开发提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

绿萼梅花蕾, 2023 年 3 月 13 日采自浙江省长兴县东方梅园有限公司梅花基地, 每 50 g 新鲜样品放置于 1 个 PE 袋中, 每袋放干燥剂 10 g, 运回实验室后立即进行处理; 二氯甲烷, 色谱纯, 美国 Tedia 公司; 无水硫酸钠, 分析纯, 成都科隆公司; 二氧化碳, 纯度 99.9%, 杭州悦通气体有限公司。

1.2 主要仪器与设备

固相微萃取装置, 100 μ mDVB/CAR/PDMS 萃取头, Supelco 公司; Spe-2 超临界 CO₂ 萃取仪, 美国 Applied Separations (ASI) 公司; 低温恒温槽, 南京新晨生物科技有限公司; 7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪, 美国安捷伦科技有限公司; AL204-1C 型电子分析天平, 感量: 0.001 g, 瑞士 Mettler Toledo 公司; TC-15 套式恒温器, 海宁市新华医疗器械厂; DW-2030 低温冷却液循环泵, 杭州大卫科教仪器有限公司。

1.3 研究方法

1.3.1 顶空-固相微萃取法 (HS-SPME) 称取 15.000 g 绿萼梅花蕾加到 50 mL 萃取瓶中, 将萃取瓶放入金属浴加热槽中, 设置加热温度为 80 $^{\circ}$ C, 吸附时间为 60 min。萃取完成后, 将萃取头插入气相色谱进样口, 进行 GC-MS 分析。

1.3.2 水蒸气蒸馏法 (SD) 称取 15.000 g 绿萼梅花蕾放入 500 mL 圆底烧瓶中, 加入蒸馏水至烧瓶 2/3 处, 放入套式恒温器加热 3 h, 设置加热温度为 102 $^{\circ}$ C, 冷凝回收挥发油。吸取收集到的挥发油 50 μ L, 溶于 2 mL

正己烷中,加入 0.200 g 无水硫酸钠脱水,过 0.45 μm 有机滤膜,进行 GC-MS 分析。

1.3.3 超临界 CO_2 萃取法 (SPE) 称取 15.000 g 绿萼梅花蕾加入到 50 mL 超临界二氧化碳萃取釜中,设置萃取温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,萃取压力为 30 MPa,萃取时间为 2 h,收集萃取产物,称取 50 mg 样品,溶于 2 mL 二氯甲烷中,加入 0.200 g 无水硫酸钠脱水,过 0.45 μm 有机滤膜,进行 GC-MS 分析。

1.3.4 GC-MS 分析条件 色谱柱 Agilent J&W DB-5MS (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm), 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 升温程序: 初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min, 以 8 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 160 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min, 再以 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 300 $^{\circ}\text{C}$, 保持 20 min; 载气为高纯氮气, 流速: 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$, 不分流进样; 液体样品进样量 1.0 μL , 固相微萃取解析时间 2 min。电子轰击 (EI) 离子源, 离子源温度 230 $^{\circ}\text{C}$, 传输线温度 280 $^{\circ}\text{C}$, 激活电压 1.5 V; 质量扫描范围 m/z 35 ~ 600。

1.4 数据处理

数据整理、平均值和标准差计算等采用 WPS 2019, 主成分分析和绘图采用 Origin Pro2023。

2 结果与分析

2.1 绿萼梅挥发性成分比较分析

用 SD、HS-SPME 和 SFE 三种方法萃取绿萼梅花蕾中的挥发性成分, 得到总离子流图如图 1。经 NIST 谱库对比、鉴定 (相似的 $\geq 85\%$) 所获得化学成分, 并对其采用面积归一化法计算各成分的相对含量, 结果见表 1。综合比较分析表 1 和图 2, 三种方法共鉴定出 57 种化合物, 包括醛类 6 种、醇类 5 种、酚类 2 种、酮类 4 种、酸类 2 种、酯类 15 种、烷烃类 13 种、烯烃 6 种和其它类 4 种。

苯甲醛具有明显的苦杏仁味和坚果香, 在坚果、茶叶、酒、肉制品等^[19-20]食品中均有检出, 在蔷薇科植物的茎、皮、花、种子中存在, 也常被用作食用和日化香精。在表 1 中所有鉴定出的成分中, 苯甲醛含量最高, 是绿萼梅风味的主要贡献者, 在三种方法所获得化合物中分别占 79.41% (HS-SPME)、66.99% (SD) 和 19.59% (SFE)。

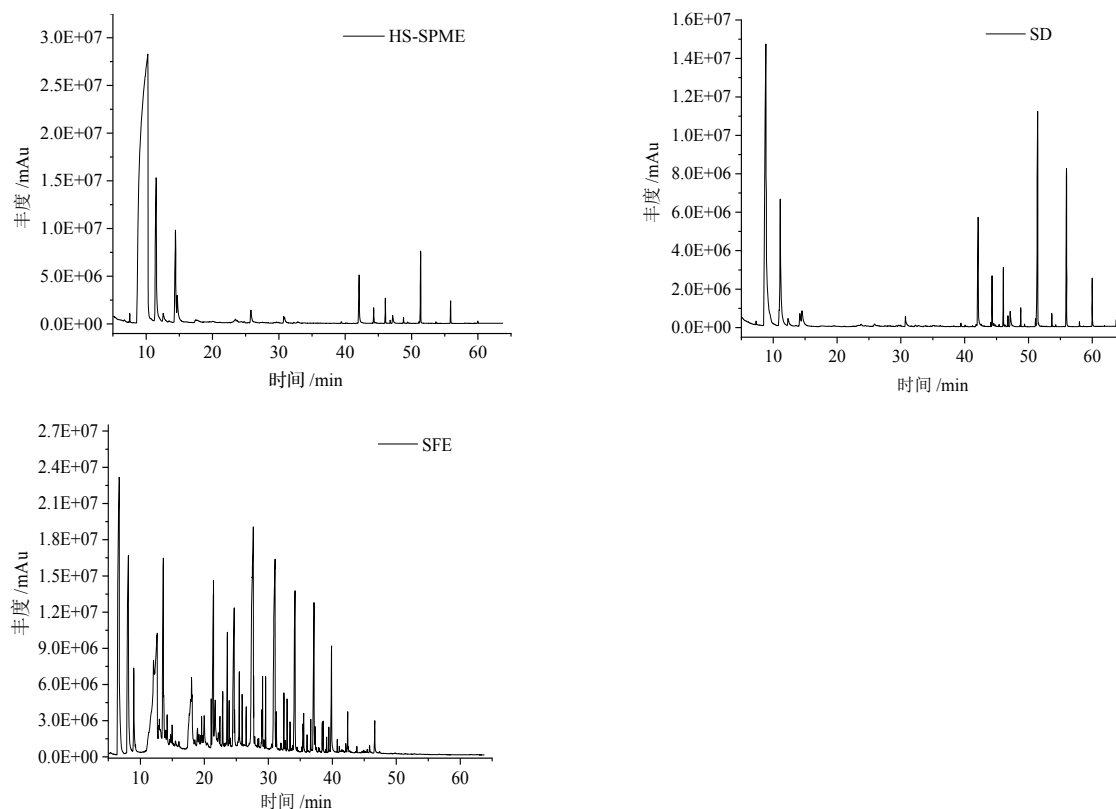


图 1 绿萼梅挥发成分的气质总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of GC-MS of volatile component from *P. mume* f. *viridicalyx*

表 1 不同萃取方法绿萼梅挥发性成分
Tab. 1 Volatile component from *P. mume* f. *viridicalyx* by different extraction method

分类	序号	化合物	CAS	分子式	相对含量/%		
					HS-SPME	SD	SFE
醛	1	苯甲醛 Benzaldehyde	100-52-7	C ₇ H ₆ O	79.41±2.65	66.99±3.48	19.59±4.36
	2	壬醛 Nonanal	124-19-6	C ₉ H ₁₈ O	6.38±0.92	0	0
	3	α-甲基肉桂醛 2,4-Heptadienal, (E,E)-2-Propenal, 2-methyl-3-phenyl-	101-39-3	C ₁₀ H ₁₀ O	0.27±0.06	0	0
	4	1,2-苯二甲醛 1,2-Benzenedicarboxaldehyde	643-79-8	C ₈ H ₆ O ₂	0.04±0.01	0	0
	5	香草醛 Vanillin	121-33-5	C ₈ H ₈ O ₃	0	0	0.21±0.06
	6	硬脂烷醛 Octadecanal	638-66-4	C ₁₈ H ₃₆ O	0.08±0.02	0	3.02±0.22
醇类	7	苯甲醇 Benzyl Alcohol	100-51-6	C ₇ H ₈ O	0.31±0.05	0	0
	8	金合欢醇 2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-	106-28-5	C ₁₅ H ₂₆ O	2.44±0.18	0	11.34±0.70
	9	3-羟基-4-甲氧基苯甲醇 (异香草醇) 3-Hydroxy-4-methoxybenzylalcohol	4383-06-6	C ₈ H ₁₀ O ₃	0.77±0.11	0	0
酚类	10	叶绿醇 Phytol	150-86-7	C ₂₀ H ₄₀ O	1.82±0.37	0	0
	11	α-香树脂醇.alpha.-Amyrin	638-95-9	C ₃₀ H ₅₀ O	1.97±0.33	13.66±1.88	0
	12	丁香酚 Eugenol	97-53-0	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.73±0.09	0.65±0.04	7.88±0.91
	13	2,2'-亚甲基双(4-甲基-6-叔丁基)苯酚 Phenol, 2,2'-methylenebis[6-(1,1-dimethylethyl)]-4-methyl-	119-47-1	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	0	0	0.19±0.04
酮类	14	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮(植酮) 2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	502-69-2	C ₁₈ H ₃₆ O	1.1±0.08	1.54±0.19	3.62±0.36
	15	β-紫罗兰酮 3-Buten-2-one, 4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-	79-77-6	C ₁₃ H ₂₀ O	0.03±0.03	0.02±0.01	0
	16	6,10-二甲基-5,9-十一双烯-2-酮 5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)-,	689-67-8	C ₁₃ H ₂₂ O	0	0.07±0.03	0
	17	5,6,7,7a-四氢-4,4,7a-三甲基-2 (4H) 苯并呋喃酮 2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	15356-74-8	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	0	0.11±0.03	0
酸类	18	壬酸 Nonanoic acid	112-05-0	C ₉ H ₁₈ O ₂	0	0.27±0.05	0
	19	苯甲酸 Benzoic acid	65-85-0	C ₇ H ₆ O ₂	0	0.10±0.02	10.82±0.90
	20	4-甲基-戊酸苯酯 Pentanoic acid, 4-methyl-, phenylmethyl ester	77509-00-3	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	0	0.01±0	0
	21	苯甲酸甲酯 Benzoic acid, methyl ester	93-58-3	C ₈ H ₈ O ₂	1.19±0.21	3.48±0.20	0
	22	苯甲酸乙酯 Benzoic acid, ethyl ester	93-89-0	C ₉ H ₁₀ O ₂	2.51±0.19	0	0
	23	苯甲酸苄酯 Benzyl Benzoate	120-51-4	C ₁₄ H ₁₂ O	0.31±0.08	1.36±0.22	6.53±0.45
酯类	24	乙酸苄酯 Acetic acid, phenylmethyl ester	140-11-4	C ₉ H ₁₀ O ₂	0	0.15±0.03	0
	25	苯甲酰甲酸甲酯 Benzeneacetic acid, .alpha.-oxo-, methyl ester	15206-55-0	C ₉ H ₈ O ₃	0	0.04±0.01	0
	26	辛酸苯甲酯 Octanoic acid, phenylmethyl ester	10276-85-4	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	0	0.01±0	0
	27	棕榈酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	112-39-0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0	0.05±0.01	0
	28	亚油酸甲酯 9,12-Octadecadienoic acid, methylester	2462-85-3	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	0	0.03±0.02	0
	29	苯硫代酸 S-甲基酯 Benzenecarbothioic acid, S-methylester	5925-68-8	C ₈ H ₈ OS	0	0	0.59±0.09
	30	邻苯二甲酸二丁酯 Dibutyl phthalate	84-74-2	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0	0	1.22±0.19
	31	14-甲基-十五烷酸甲酯 Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester	5129-60-2	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0	0.01±0	0.17±0.03
	32	邻苯二甲酸-1-丁酯-2-异丁酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid, butyl 2-methylpropyl ester	17851-53-5	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0	0	0.59±0.07
	33	亚油酸乙酯 Linoleic acid ethyl ester	544-35-4	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	0	0	0.09±0.02

表 1 (续)

分 类	序号	化合物	CAS	分子式	相对含量/%		
					HS-SPME	SD	SFE
烷 烃 类	34	亚麻酸乙酯(Z,Z,Z)-9,12,15-Octadecatrienoic acid, ethylester	1191-41-9	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	0	0	0.09±0.03
	35	十七烷 Heptadecane	629-78-7	C ₁₇ H ₃₆	0	0	5.04±0.52
	36	正十八烷 Octadecane	593-45-3	C ₁₈ H ₃₈	0	0	0.62±0.15
	37	正十九烷 Nonadecane	629-92-5	C ₁₉ H ₄₀	0	0.37±0.04	0
	38	二十烷 Eicosane	112-95-8	C ₂₀ H ₄₂	0	0.11±0.03	1.45±0.11
	39	正二十一烷 Heneicosane	629-94-7	C ₂₁ H ₄₄	0.27±0.06	1.34±0.11	15.76±2.12
	40	二十三烷 Tricosane	638-67-5	C ₂₃ H ₄₈	0	0.32±0.02	0
	41	二十四烷 Tetracosane	646-31-1	C ₂₄ H ₅₀	0	0.04±0.01	0.91±0.09
	42	三十一烷 (小烛树蜡) Hentriacontane	630-04-6	C ₃₁ H ₆₄	0	0.02±0.02	0
	43	10-甲基二十烷 Eicosane, 10-methyl-	54833-23-7	C ₂₁ H ₄₄	0	0	0.38±0.07
	44	环二十八烷 Cyclooctacosane	297-24-5	C ₂₈ H ₅₆	0	0	0.35±0.07
	45	9-辛基十七烷 Heptadecane, 9-octyl-	7225-64-1	C ₂₅ H ₅₂	0	0	0.49±0.11
	46	五十烷 Pentacosane	6596-40-3	C ₅₀ H ₁₀₂	0	0	6.37±1.07
	47	2-溴十二烷 2-Bromo dodecane	13187-99-0	C ₁₂ H ₂₅ Br	0	0	0.09±0.03
	48	α-蒎烯.alpha.-Pinene	80-56-8	C ₁₀ H ₁₆	0.02±0.01	0.13±0.03	0
	49	莰烯 Camphene	79-92-5	C ₁₀ H ₁₆	0.01±0.01	0.01±0.00	0
烯 烃 类	50	D-柠檬烯 D-Limonene	5989-27-5	C ₁₀ H ₁₆	0.07±0.02	7.35±0.36	0.03±0.01
	51	松油烯 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	99-86-5	C ₁₀ H ₁₆	0	0.73±0.12	0
	52	9-二十三烯 9-Tricosene	27519-02-4	C ₂₃ H ₄₆	0	0	1.13±0.16
	53	角鲨烯 Squalene	7683-64-9	C ₃₀ H ₅₀	0	0	0.46±0.14
其 他	54	甲氧基苯基脞 Oxime-, methoxy-phenyl-	67160-14-9	C ₈ H ₉ NO ₂	0.27±0.03	0	0
	55	蒽 Anthracene	120-12-7	C ₁₄ H ₁₀	0	0.05±0.903	0
	56	1, 2-二甲氧基-4-(2-丙烯基) 苯 Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	93-15-2	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	0	0	0.97±0.11
	57	(±)-扁桃酰胺 Mandelamide	4358-86-5	C ₈ H ₉ NO ₂	0	0.98±0.22	0

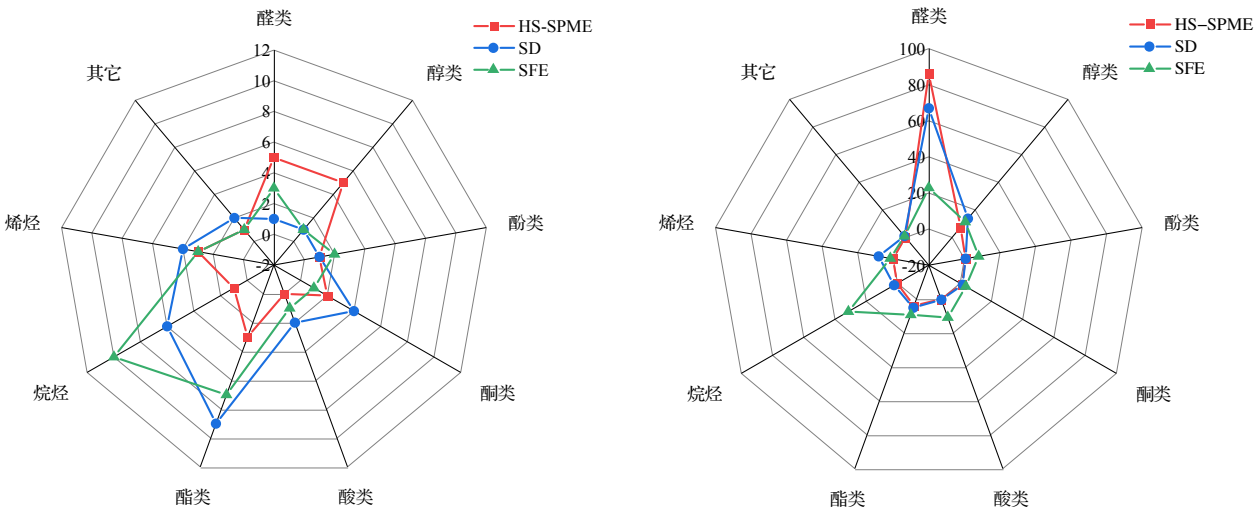


图 2 绿萼梅主要挥发物组成与相对含量

Fig. 2 The composition and relative content of main volatiles from *P. mume* f. *viridicalyx*

三种不同方法提取的绿萼梅花挥发性组分在成分和含量上都存在一定差异。从图 3 可以看出, SD 和 SFE 两种方法获得的挥发物所鉴定出的化合物种类较多, 分别为 30 种和 29 种, 而 HS-SPME 获得的化合物种类较少, 为 21 种。在化合物种类方面, 用 HS-SPME 方法取获得的醛、醇类化合物种类最多, 均为 5 种, 用 SD 法获得的酮、酯和烯炔类化合物最多, 分别为 4 种、9 种和 4 种, 而用 SFE 方法获得的烷烃类物质种类最多, 达 10 种。从萃取物的相对含量来看, 用 HS-SPME 方法获得的醛类物质相对含量最高, 达 86.18%; 其次为 SD 法, 相对含量为 66.99%; 用 SFE 法获得的烷烃相对含量最高, 达 31.46%。烷烃类是植物蜡质的主要组成, 超临界二氧化碳对低极性的烷烃类成分萃取效果更佳, 而对极性大、沸点较低的醛类化合物萃取效果较差。

从图 3 的聚类热图结果可以明显看出, 由于三种提取方法原理不同, 所提取化合物的成分组成与含量亦存在着较大的差异。HS-SPME 获得提取物中含量超过 1% 的化合物共 8 种, 分别为苯甲醛、壬醛、苯甲酸乙酯、金合欢醇、 α -香树脂醇、叶绿醇、苯甲酸甲酯和植酮, 其平均相对含量分别为 79.41%、6.38%、2.51%、2.44%、1.97%、1.82%、1.19% 和 1.10%, 占总提取物的 96.82%; SD 法获得提取物中含量超过 1% 的化合物共 7 种, 分别为苯甲醛、 α -香树脂醇、D-柠檬烯、苯甲酸甲酯、植酮、苯甲酸苄酯和二十一烷, 其平均相对含量分别为 66.99%、13.66%、7.35%、3.48%、1.54%、1.36% 和 1.34%, 占总提取物的 95.72%; SFE 法获得提取物中含量超过 1% 的化合物共 13 种, 分别为苯甲醛、二十一烷、金合欢醇、苯甲酸、丁香酚、苯甲酯苄酯、五十烷、十七烷、植酮、硬脂烷醛、二十烷、邻苯二甲酸二丁酯和 9-二十三烯, 其平均相对含量分别为 19.59%、15.76%、11.34%、10.82%、7.88%、6.53%、6.37%、5.04%、3.62%、3.02%、1.45%、1.22% 和 1.13%, 占总提取物的 93.77%。

2.2 主成分分析

为了进一步了解 3 种萃取工艺的差异, 将气相色谱质谱鉴定出的 57 种成分, 利用 Origin 进行主成分分析。从图 4 和图 5 可以得出, 特征值大于 1 的主成分共两个, 其贡献率 PC1 为 93.6%, PC2 为 5.9%, 两个主成分累计贡献率达 99.5%, 可以很好地代表绿萼梅挥发性成分的信息。图 2 中 HS-SPME、SD 和 SFE 样品主成分得分图中, 不同提取方法样品的间距较大, 可以明显区分, 说明 3 种提取方法由于原理的不同, 所获得成分差异较大, 这与 2.1 结果相吻合。

图 6 为主成分分析载荷图, 从图中可以看出, 对主成分 1 贡献较大的成分为苯甲醛、 α -香树脂醇、金合欢醇、苯甲酸和正二十一烷, 其载荷分数 (loading score) 分别为 0.905 3、0.103 6、-0.157 6、-0.174 5 和 -0.245 2, 前 2 种成分对主成分 1 的贡献是正相的, 后 3 种成分的贡献是负向的; 对主成分 2 贡献最大的成分是苯甲醛、壬醛、金合欢醇、苯甲酸乙酯、苯甲酸、 α -香树脂醇、苯甲酸甲酯、D-柠檬烯, 其载荷分数分别为 0.190 4、0.325 5、0.236 2、0.127 9、0.101 8、-0.718 8、-0.150 1 和 -0.442 4。前 5 种成分对主成分 2 的贡献是正向的, 后 3 种成分的贡献是负向的。综合两个主成分分析结果, 苯甲醛、壬醛、金合欢醇、苯甲酸、 α -香树脂醇、D-柠檬烯应该是绿萼梅的主要挥发性成分, 与表 1 的不同提取方法样品中不同化合物的相对含量结果基本吻合。

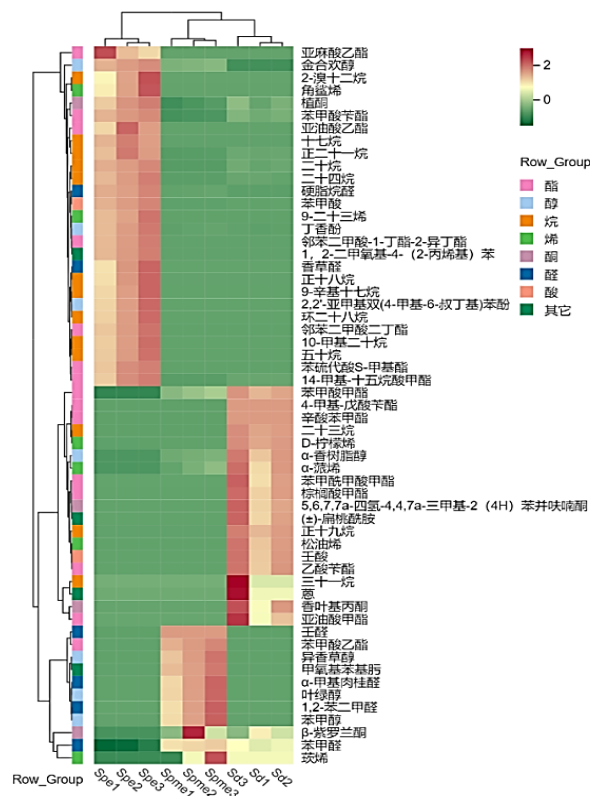


图 3 绿萼梅花挥发物热图

Fig. 3 Heat map of volatile components from *P. mume* f. *viridicalyx*

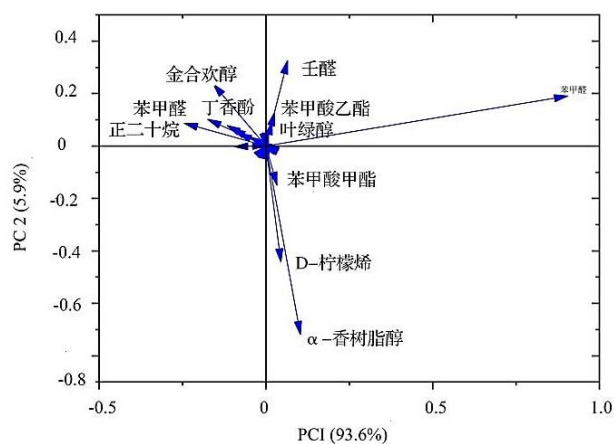


图 4 碎石图

Fig. 4 Scree plot

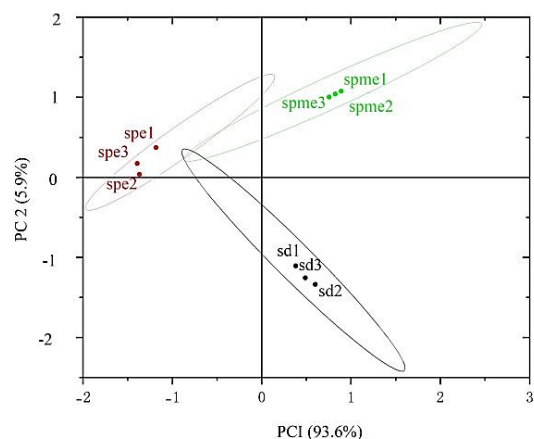


图 5 得分图

Fig. 5 Score plot

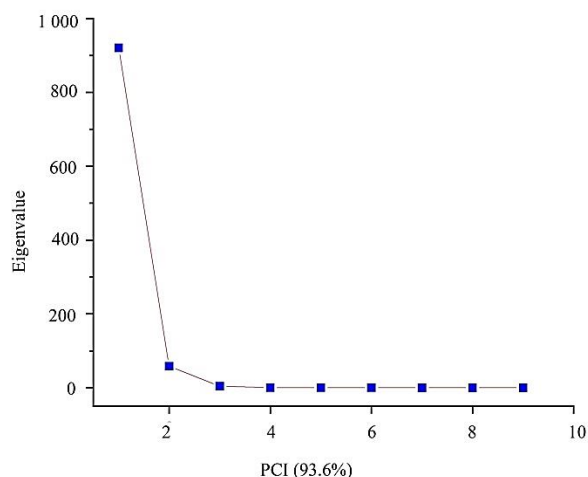


图 6 载荷图

Fig. 6 Loadingplot

3 结论与讨论

3.1 顶空-固相微萃取和水蒸气蒸馏法结合更适合绿萼梅花挥发性成分的提取

绿萼梅是我国重要的药用、园林和芳香植物,具有悠久的观赏和药食应用历史^[2]。本研究通过对比分析 HS-SPME、SD、SFE 三种提取方法获取的绿萼梅花主要挥发性成分,共鉴定出醛、醇、酮、烯、烷等 9 类 57 种化合物。根据主成分分析结果,苯甲醛、壬醛、金合欢醇、苯甲酸、 α -香树脂醇、D-柠檬烯是绿萼梅花的主要挥发性成分;其中含量最高的是苯甲醛,占 HS-SPME 提取物的 79.41%、SD 提取物的 66.99%、SFE 提取物的 19.59%。HS-SPME、SD、SFE 三种工艺提取原理不同,所获得化合物的种类与含量亦存在较大差异,HS-SPME 是采用吸附原理,吸附剂对其吸附化合物的种类影响较大,本研究采用的是适用于挥发性和半挥发性香味物质的 DVB/CAR/PDMS 萃取头,共获得了 21 种化合物,主要是分子量较小的醛类、醇类和酯类化合物;SD 工艺是利用高温将挥发油和水同时蒸馏、冷凝,再利用油水自然分离而获得挥发油的方法,共鉴定出 30 种化合物,以酯类、烯烃、酮类等水难溶化合物为主;SFE 工艺是利用二氧化碳在超临界流体状态的强溶解能力来萃取挥发油的方法,共鉴定出 29 种化合物,以与低极性二氧化碳互溶性好的长链烷烃(蜡质)、酯类为主。综合三种方法,SFE 提取物中蜡质含量较高,HS-SPME 和 SD 法结合更适合作为植物芳香挥发物的检测手段。

3.2 绿萼梅花中的特征性挥发成分

通过主成分分析,苯甲醛、壬醛、金合欢醇、苯甲酸、 α -香树脂醇、D-柠檬烯是绿萼梅花的主要挥发性成分。苯甲醛、壬醛分属于醛类,其中苯甲醛是绿萼梅花中最重要的香气成分,它赋予绿萼梅花特殊的杏仁香和焦甜香,是三种萃取方法获得的挥发性成分中含量最高的物质,它在蔷薇科植物如樱桃 *Prunus pseudocerasus*、岩蔷薇 *Cistus creticus* 等中普遍存在^[21]。壬醛呈现柑橘香、花香、焦糖香,该成分仅在 HS-SPME 中获得,在其他物种如杜仲 *Eucommia ulmoides*^[22]、芫荽 *Coriandrum sativum*^[23] 中亦是呈味的主要基础物质之一。苯甲酸是最简单的芳香酸,在 SFE 萃取物中获得量最高,HS-SPME 萃取物中未检出,由于苯甲酸可以作为前体物质生成各种酯类,如苯甲酸甲酯、苯甲酸乙酯,因此该成分目前还未在其他植物的挥发性成分中检测到,可作为绿萼梅的香气的特征性成分。金合欢醇和 α -香树脂醇属于醇类,也是三萜类化合物,是植物中重要的香气物质之一,前者在 HS-SPME 和 SFE 萃取物中检出,后者在 HS-SPME 和 SD 萃取物中检出,这也说明 HS-SPME 方法利于醇类挥发性成分的吸附。金合欢醇呈现铃兰花香气,并有青香和木香香韵,目前在草豆蔻 *Alpinia hainanensis* 挥发油^[24]和草豆蔻芳香水^[25]中均有检出。 α -香树脂醇以游离或成酯形式广泛存在于植物界,也被称为 α -香树精,是长白山野菊花 *Chrysanthemum indicum* 挥发油中特有的成分之一,在梅叶冬青 *Ilex asprella*^[26]、番茄 *Solanum lycopersicum*^[27]、油橄榄 *Canarium oleosum*^[28]和甜罗勒 *Ocimum basilicum*^[29]等植物中都有发现,在长白山野菊花挥发油中含量为 9.02%^[30],高于本研究采用 HS-SPME 法获得的得率($1.97 \pm 0.33\%$),而低于 SD 法的得率($13.66 \pm 1.88\%$)。D-柠檬烯,大量存在于芸香科柑橘属植物中,是陈皮挥发油的质量标志物之一^[31],本研究采用的 3 种萃取方法中均有检出,其中以 SD 法相对检出率最高。根据载荷分数和主成分分析法确定苯甲醛、壬醛、金合欢醇、苯甲酸、 α -香树脂醇、D-柠檬烯 6 种成分为绿萼梅特有成分,研究结果可为后续绿萼梅挥发油及香气成分质量评价奠定实验基础。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第三十八卷[M].北京,科学出版社,1986:31.
- [2] 郭锦晨,黄辉,薛露,等.徐经世临证运用绿萼梅经验[J].中医杂志,2023,64(5):443-447.
- [3] 陈明珠,陈静,黄幼霞,等.AB-8型大孔吸附树脂分离纯化绿萼梅总黄酮[J].海峡药学,2017,29(2):38-41.
- [4] 王灿灿,杨沫,吴德玲,等.绿萼梅药材超高效液相色谱指纹图谱研究[J].安徽中医药大学学报,2019,38(1):93-96.
- [5] 夏梦秋,王瑞,王星晨,等.绿萼梅的化学成分、药理作用及其质量标志物预测分析[J/OL].JChinMed. <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.r.20230918.1341.006>, 2023-09-19.
- [6] 杨钰,王艺光,董彬,等.不同梅花品种花香成分鉴定与分析[J/OL].浙江农林大学学报.<http://kns.cnki.net/kcms/detail/33.1370.S.20231019.1607.012.html>. 2023-10-20.
- [7] CHAI Q, WU B, LIU W, et al. Volatiles of plums evaluated by HS-SPME with GC-MS at the germplasm level[J]. Food Chem, 2012, 130(2):432-440.
- [8] 陈静,陈明珠,黄玉香,等.绿萼梅总黄酮对慢性温和刺激所致抑郁大鼠神经内分泌和氧化应激的影响[J].药学实践杂志,2019,37(3):226-230.
- [9] 甘宜杰,张伟,欧金梅,等.绿萼梅抗 β 淀粉样蛋白致阿尔茨海默病细胞模型活性部位的筛选及其化学成分分析[J].安徽中医药大学学报,2022,41(3):92-96.
- [10] SHEIKH M A, SAINI C S. Combined effect of microwave and hydrothermal treatment on anti-nutritional factors, antioxidant potential and bioactive compounds of plum (*Prunus domestica* L.) kernels[J]. Food Biosci, 2022, 46: 101467.
- [11] 徐恒伟.野生蜡梅表型多样性及其花挥发油研究[D].雅安:四川农业大学,2009.
- [12] 徐萌,张经纬,吴令上,等.HS-SPME-GC-MS 联用测定蜡梅属植物花的挥发性成分[J].林业科学,2016,52(12):58-65.
- [13] 赵印泉,周建,彭培好,等.不同类型梅花品种及近缘种山桃挥发性成分分析[J].安徽农业科学,2011,39(26):16164-16165.
- [14] BANDEIRA REIDEL R V, CIONI P L, PISTELLI L. Volatile emission of different plant parts and fruit development from Italian cherry plums (*Prunus cerasifera* and *P. cerasifera* 'Pissardii')[J]. Biochem Syst Ecol, 2017, 75(12):10-17.
- [15] GONZÁLEZ-CEBRINO F, GARCÍA-PARRA J, RAMÍREZ R. Aroma profile of a red plum purée processed by high hydrostatic pressure and analysed by SPME-GC/MS[J]. Innovat Food Sci Emerg Technol, 2016, 33(2):108-114.
- [16] LOUW E D, THERON K I. Volatile dynamics during maturation, ripening and cold storage of three Japanese plum cultivars (*Prunus salicina*

- Lindl.)[J]. *Postharv Biol Technol*, 2012, 70 (8) : 13 – 24.
- [17] 饶建平, 沈春松, 张远志, 等. 不同方法萃取罗汉果渣油脂品质及成分分析[J]. *饮料工业*, 2016, 19 (5) : 8 – 11.
- [18] 杨平, 尤梦晨, 刘少敏, 等. 3 种顶空萃取法比较并鉴定沙琪玛中关键气味活性化合物[J]. *食品科学*, 2018, 39 (16) : 265 – 272.
- [19] 仲美桥, 韩妍, 黄一承, 等. 松子酒香气组成及关键香气物质间的协同作用[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43 (14) : 179 – 188.
- [20] 张悦, 朱荫, 叶火香, 等. 不同产地香茶的主要化学成分含量的差异分析[J]. *食品科学*, 2017, 38 (22) : 184 – 191.
- [21] ZHU J, CHEN F, WANG L, et al. Comparison of Aroma-Active Volatiles in Oolong Tea Infusions Using GC-Olfactometry, GC-FPD, and GC-MS[J]. *J Agr Food Chem*, 2015, 63 (34) : 7499 – 7510.
- [22] 周昀菲, 孙志强, 杜庆鑫, 等. 基于电子鼻和 HS-SPME-GC-MS 分析蒸汽爆破对杜仲嫩叶和成熟叶茶香气特征的影响[J/OL]. *食品科学*. <https://link.cnki.net/urlid/11.2206.TS.20230920.2153.040>.
- [23] 张文玉, 李雅, 马赫, 等. GC-MS 结合化学计量法分析不同干燥方式对芫荽风味物质的影响[J/OL]. *食品与发酵工业*, <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.036172>.
- [24] 于萍, 崔兆杰, 邱琴, 等. 草豆蔻挥发油化学成分的 GC/MS 研究[J]. *中国现代应用药学杂志*, 2002, 19 (2) : 135 – 137.
- [25] 叶志勇, 李祖光, 邓丰涛, 等. 超声辅助乳化微萃取-气相色谱-质谱法分析草豆蔻芳香水中化学成分[J]. *食品科学*, 2013, 34 (24) : 208 – 212.
- [26] ZHENG X, LUO X, YE G, et al. Characterisation of two oxidosqualene cyclases responsible for triterpenoid biosynthesis in *Ilex asprella*[J]. *Int J MolecSci*, 2015, 16 (2) : 3564 – 3578.
- [27] WANG Z, GUHLING O, YAO R, et al. Two oxidosqualene cyclases responsible for biosynthesis of tomato fruit cuticular triterpenoids[J]. *Plant Physiol*, 2011, 155 (1) : 540 – 552.
- [28] SAIMARU H, ORIHARA Y, TANSAKUL P, et al. Production of triterpene acids by cell suspension cultures of *Olea europaea*[J]. *ChemPharm Bull*, 2007, 55 (5) : 784 – 788.
- [29] RAJESH CHANDRA M, PROTITI M, CHANDAN SINGH C, et al. Methyl jasmonate-elicited transcriptional responses and pentacyclic triterpene biosynthesis in sweet basil[J]. *Plant Physiol*, 2014, 164 (2) : 1028 – 1044.
- [30] 宋丽, 郑明珠, 王立江. 响应面法优化长白山野菊花挥发油的提取工艺及成分分析[J]. *食品与发酵工业*, 2016, 42 (7) : 181 – 187.
- [31] 朱丽云, 柳小莉, 郑琴, 等. 陈皮挥发油质量标志物预测及 GC-MS 定量分析[J]. *中国中药杂志*, 2021, 46 (24) : 6403 – 6409.