

王春龙, 罗禹, 段灵鑫, 等. GC-MS 法比较分析不同产地川佛手精油成分 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(7): 274–281. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020050372

WANG Chunlong, LUO Yu, DUAN Lingxin, et al. Comparative Analysis of Essential Oil Components of Bergamot from Different Origins by GC-MS[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(7): 274–281. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020050372

· 分析检测 ·

GC-MS 法比较分析不同产地川佛手精油成分

王春龙, 罗禹, 段灵鑫, 韩江云, 邹顺梅, 张倩, 罗金凤, 张丹*

(西南医科大学药学院, 四川泸州 646000)

摘要: 比较分析不同产地川佛手鲜果精油成分, 采用水蒸气蒸馏法提取 10 个不同产地川佛手精油并计算得率, 利用 GC-MS、相关性分析及聚类分析法对样品成分进行分析。结果表明, 从 10 批川佛手精油中共鉴定出 117 种化学成分, 主要为单萜类、醇类、倍半萜类成分, 其中柠檬烯和 γ -松油烯为最主要成分; 其共有的 9 种成分中部分成分之间显著相关 ($P < 0.05$); 聚类分析将 10 批川佛手分为 4 类: S1、S2 聚为一类, S6、S7、S9 聚为一类, S3、S4、S5、S8 聚为一类, S10 为一类。综上所述, 不同产地川佛手精油的化学成分存在一定的差异, 同一成分的含量在不同产地川佛手精油中也存在差异。

关键词: 川佛手, 精油, 气相色谱-质谱法 (GC-MS), 相关性分析, 聚类分析

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2021)07-0274-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2020050372

Comparative Analysis of Essential Oil Components of Bergamot from Different Origins by GC-MS

WANG Chunlong, LUO Yu, DUAN Lingxin, HAN Jiangyun, ZOU Shunmei,
ZHANG Qian, LUO Jinfeng, ZHANG Dan*

(School of Pharmacy, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

Abstract: The components of essential oil of fresh fruit of bergamot from different origins were compared and analyzed. The essential oil of fresh fruit of bergamot from 10 batches were extracted by steam distillation and the yields were calculated. The components of the samples were analyzed by GC-MS, correlation analysis and cluster analysis. The results showed that a total of 117 compounds were identified in the essential oil of fresh fruit of bergamot from 10 batches, they were mainly monoterpenes, alcohols and sesquiterpenes, among which (+)-dipentene and γ -terpinene were the most abundant components. There were 9 common components and some of which were significantly correlated with each other by correlation analysis ($P < 0.05$). Cluster analysis divided bergamot from 10 batches into 4 categories: S1 and S2 were grouped into one class, S6, S7 and S9 were grouped into one class, S3, S4, S5 and S8 were grouped into one class, and S10 was grouped into one class. In summary, there are some differences of the components in essential oil of bergamot from different origins, and the content of the same component also has great differences in essential oil of bergamot from different origins.

Key words: bergamot; essential oil; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); correlation analysis; cluster analysis

中药佛手为芸香科植物佛手 (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) 的干燥果实, 其味辛、苦、酸, 性温, 归肝、脾、胃、肺经, 具有疏肝理气、和胃止痛、燥湿化痰等功效^[1], 主治用于肝胃气滞、胸胁胀

痛、胃脘痞满、食少呕吐、咳嗽痰多等症。

在《中国药典》(2015 年版) 和其他相关文献的记载中, 不同产地的佛手均来源于同一种植物, 商品佛手因产地不同有川佛手、广佛手、金佛手和建佛手之

收稿日期: 2020-06-01

基金项目: 四川省合江县人民政府-西南医科大学科技专项项目 (2018-HJXNYD-2); 西南医科大学国家级大学生创新创业项目 (201816032069)。

作者简介: 王春龙 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药制剂工艺、中药生物活性, E-mail: 1366694848@qq.com。

* 通信作者: 张丹 (1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 中药新工艺、中药新剂型、中药炮制, E-mail: 393335427@qq.com。

分^[2]。据资料记载,以四川和广东的佛手种植面积最大,产量最高^[3]。《雅州府志》(1739)卷之五·物产篇记载:雅安和芦山县产佛手、香橼、柑子^[4],可见佛手在四川的栽培历史源远流长。四川佛手以产量大、质量佳,畅销国内外市场,形成了佛手的道地品牌川佛手,其适宜于四川盆地边缘山区,包括长江流域上游及岷江流域的沿岸丘陵地区,主要种植区有合江、宜宾、沐川、犍为、芦山、雅安、荣经、洪雅、峨眉、夹江^[5]及重庆、云南等地^[6]。

川佛手作为一味药食同源的传统名药材和四川道地中药,具有较大的经济价值^[7]。精油是佛手中主要活性成分之一,在佛手中含量可达 16 mL/kg^[8],其中的有效成分柠檬烯具有抗炎^[9-10]、抗肿瘤^[11-12]、抑菌^[13-14]等作用; γ -松油烯具有抗氧化、抗真菌的作用^[15-16]等。因其香味清香怡人,令人感到轻松愉悦,在国外通常被当做一种名贵的香料油,并且已经在化妆品和食品等行业广泛应用^[17]。

因为川佛手的种植区域广泛,在不同地理位置和生长环境,可能药材在成分上有所差异,导致其质量良莠不齐^[18]。目前关于川佛手的研究报道多集中于提取纯化工艺及提取物的化学成分分析,为了更好地综合比较不同产地川佛手精油的异同,本研究采用水蒸气蒸馏法提取不同产地的川佛手精油,对其得率进行比较;采用气质联用法(GC-MS)比较了不同产地川佛手精油的成分差异,通过面积归一化法计算其精油中共有成分的相对质量分数;采用相关性分析及聚类分析法进行成分的分析,旨在为后续更好地开发、利用川佛手精油提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

10 批川佛手鲜果样品(编号: S1~S10) 分别购自四川、重庆、云南等地,均于 2018~2019 年 9~10 月份果实成熟后进行采摘,由西南医科大学生药学教研室税丕先教授鉴定为芸香科植物佛手(*Citrus medica* L.var. *sarcodactylis* Swingle)的新鲜果实,置于-80℃冰箱冷冻待用,其样品来源信息见表 1;无水硫酸钠 分析纯,成都科龙化工试剂厂;蒸馏水实验室制备。

表 1 川佛手鲜果样品信息来源

Table 1 Sample information of fresh fruit of bergamot

编号	来源
S1	四川省泸州市合江县
S2	四川省宜宾市长宁县
S3	四川省甘孜州泸定县
S4	四川省雅安市荣经县
S5	重庆市万州区
S6	四川省绵阳市安州区
S7	四川省绵阳市罗江区
S8	重庆市梁平区
S9	四川省成都市金堂县
S10	云南省昆明市宜良县

Christ Alpha 1-4 LSCbasic 冻干机 北京博励行仪器有限公司; Exceed-Cd-10 艾柯实验室超纯水机 成都唐氏康宁科技发展有限公司; DB-5MS 气相毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μ m) 美国安捷伦科技公司; GCMS-QP2010 Plus 气相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司。

1.2 实验方法

1.2.1 川佛手精油提取和处理方法 川佛手精油的提取采用水蒸气蒸馏法,将新鲜川佛手果经冷冻干燥后粉碎,过 60 目筛备用。每次称定 100.00 g 川佛手粉末装入挥发油提取装置,根据 2015 版《中国药典》(四部)通则“2204 挥发油测定法”中甲法进行提取。随后将收集的精油(含少量水)进行高速离心处理,离心力 3000 × g,离心时间 10 min。加入适量的无水硫酸钠进行脱水处理。按下列公式计算川佛手精油得率。

$$X(\%) = \frac{m}{M} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中: X 表示川佛手精油得率,%; m 表示精油质量, g; M 表示川佛手生药质量, g。

最后将制备好的精油置于棕色密封瓶中,于 4℃下保存备用。

1.2.2 气相色谱-质谱条件

1.2.2.1 GC 条件 色谱柱: DB-5MS 气相毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μ m); 升温程序: 柱箱温度 40℃; 进样温度 290℃; 进样口温度 290℃, 起始温度 40℃, 保持 5 min, 以 10℃/min 升温至 160℃, 保持 2 min, 再以 5℃/min 升温至 240℃, 保持 2 min, 再以 10℃/min 升温至 290℃, 保持 5 min; 载气(He) 流量 1.00 mL/min; 进样量 1.00 μ L; 分流比 10:1。

1.2.2.2 MS 条件 质谱条件: 电子轰击(EI)离子源; 离子源温度 200℃; 接口温度 220℃; 溶剂延迟时间 2.3 min; 质量扫描范围 22~600 m/z。

1.3 数据处理

用 GC-MS 进行分析处理,通过岛津气质联用工作站 GCMS solution 工作站数据处理系统,将所得的色谱和质谱信息经计算机检索与质谱检索库 NIST14.L 进行解析并对照 CAS 号,结合人工谱图分析确定化合物。按照峰面积归一化法计算各化学成分在川佛手挥发油中的相对百分含量。数据是利用 SPSS Statistics 24.0 数据分析软件进行相关性分析(Pearson 系数)和聚类分析(平方欧氏距离),文章中所有数值均以平均值±标准误表示, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。图表采用 Excel 制作。

2 结果与分析

2.1 川佛手精油得率的比较

共测定 10 批不同产地川佛手,每批平行测定 3 次,平均精油得率见表 2。由表 2 可知,四川省泸州市合江县(S1)的精油得率最高(0.71%),四川省甘孜

州泸定县(S3)的精油得率最低(0.22%);四川省宜宾市长宁县(S2)、重庆市万州区(S5)、四川省绵阳市安

州区(S6)、四川省绵阳市罗江区(S7)、重庆市梁平区(S8)的佛手精油得率均不低于 0.50%,提示不同产地川佛手的精油含量存在较大差异。

表 2 10 批川佛手鲜果样品的精油得率($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

Table 2 The yield of essential oil of fresh fruit of bergamot from 10 batches ($\bar{X} \pm SD$, $n=3$)

编号	精油得率(%)
S1	0.71±0.03
S2	0.66±0.02
S3	0.22±0.04
S4	0.38±0.03
S5	0.52±0.01
S6	0.60±0.02
S7	0.59±0.04
S8	0.55±0.02
S9	0.46±0.03
S10	0.38±0.02

2.2 川佛手精油成分分析

取“1.2.1”项下供试品适量,按“1.2.2”项下检测条件进样测定,分别得到各个产地川佛手精油的总离子流图,其中图 1 为四川省成都市金堂县样品(S9)。不同产地川佛手精油分离鉴别情况见表 3。不同产地川佛手精油中共鉴别出 117 个成分,其中单萜类成分 22 个、倍半萜类 19 个、醇类 35 个、醛类 11 个、酮类 7 个、酯类 11 个、羧酸类 5 个、芳香烃 3 个、酚类 3 个、烷烃类 1 个。按照峰面积归一化法进行定量分析,分别求得不同产地川佛手精油各化学成分的相对含量结果见表 4。

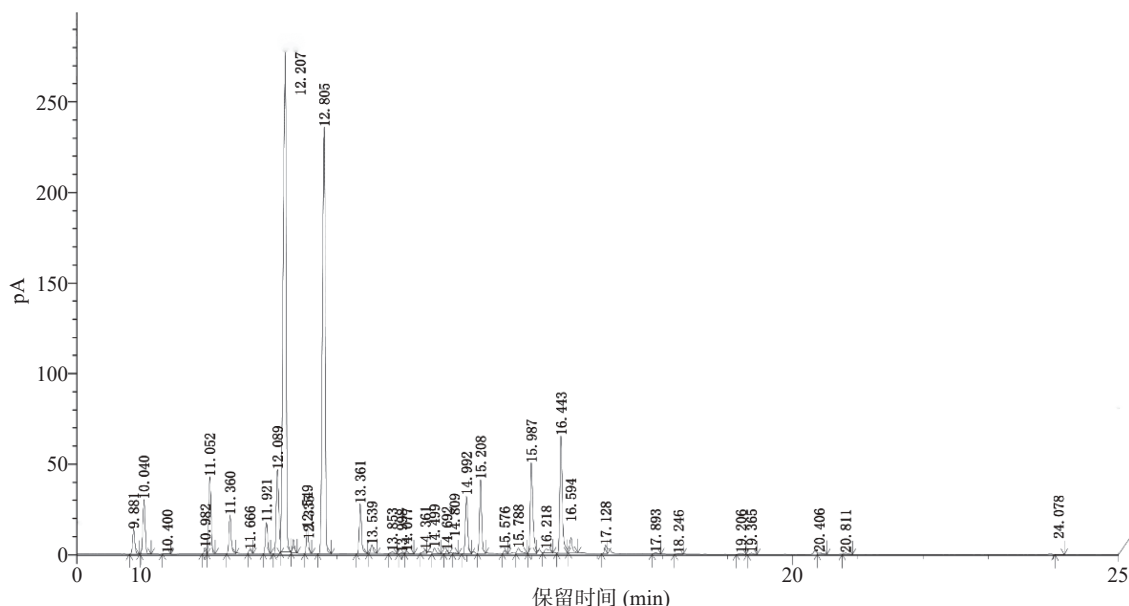


图 1 川佛手精油(S9)的总离子流图

Fig.1 Total ion flow diagram of bergamot essential oil(S9)

表 3 不同产地川佛手精油成分分离鉴别情况

Table 3 Isolation and identification of bergamot essential oil from different origins

编号	分离成分(种)	鉴别成分(种)	鉴别成分总含量(%)
S1	32	25	99.63
S2	35	33	99.92
S3	95	61	92.94
S4	87	54	97.66
S5	89	58	95.68
S6	70	58	99.63
S7	69	54	99.63
S8	70	54	96.95
S9	38	34	98.38
S10	47	43	99.68

由表 4 可知,10 个产地川佛手精油中鉴别出的 117 种化学成分的相对分子量均在 86~294 之间,以 C_{10} 、 C_{12} 和 C_{15} 化合物居多,其中相对分子量为

136、152、154、204 和 222 的同分异构体所占比例较大,主要为单萜类、醇类、倍半萜类成分。

根据平均相对含量对 10 个产地川佛手精油中鉴别出的 117 种化学成分进行排序,其中柠檬烯(38.00%)和 γ -松油烯(24.23%)占比超过了 60%,二者为川佛手精油的最主要成分,其他超过 2% 的成分还有橙花醛(6.50%)、 p -伞花烃(4.51%)、香叶醛(3.53%)、柠檬醛(3.18%)、 α -松油醇(3.18%)、左旋- β -蒎烯(2.97%)、邻-异丙基苯(2.71%)、(-)-4-萜品醇(2.59%)、蒎烯(2.56%)、2-异丙烯基-5-甲基己基-4-烯(2.54%)、4-萜烯醇(2.14%)、2-萜烯(2.08%)。

10 个产地川佛手精油中有 9 个共有成分,其平均相对含量由大到小依次为柠檬烯(38.00%)、 γ -松油烯(24.23%)、 α -松油醇(3.18%)、左旋- β -蒎烯(2.97%)、月桂烯(1.76%)、芳樟醇(0.78%)、 α -蒎烯(0.77%)、罗勒烯(0.64%)、蒎烯(0.06%);其中 7 个

表 4 不同产地川佛手精油成分相对含量(%)
Table 4 Relative mass fraction of components in bergamot essential oil from different origins (%)

序号	化合物名称	类别	分子式	相对分子质量	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
1	3-乙烯基-1,2-二甲基-1,4-环己二烯(3-Ethenyl-1,2-dimethyl-1,4-cyclohexadiene)	单萜	C ₁₀ H ₁₄	134	—	—	0.34	—	—	0.02	0.01	0.05	—	—
2	α-罗勒烯(α-Ocimene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	0.38	0.61	—	—	—	—	—	—	—	—
3	别罗勒烯((4E,6Z)-2,6-Dimethylocta-2,4,6-triene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	—	—	—	—	—	0.07	0.02	0.11	0.13	0.09
4	蒎烯((1R)(+)-α-Pinene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	—	3.22	—	—	3.32	—	—	1.56	2.68	2.03
5	2-蒎烯(2-Carene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	1.99	1.57	—	1.86	1.69	2.26	—	3.09	—	—
6	桉烯(Sabinene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	—	0.06	—	0.10	—	0.26	0.21	—	0.28	0.30
7	萜品油烯(Terpinolene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	0.56	0.75	2.25	—	—	—	1.71	—	2.48	1.42
8	α-蒎烯(α-Pinene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	1.52	—	4.06	1.68	—	2.12	0.70	0.60	0.59	—
9	δ-4-蒎烯(δ-4-Carene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	—	—	—	0.65	0.39	1.37	0.94	1.82	1.46	0.85
10	α-水芹烯(α-Phellandrene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	0.06	0.07	0.17	0.07	—	0.16	0.10	0.22	0.17	0.15
11	(+)-柠檬烯((+)-Dipentene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	48.46	47.69	27.35	28.69	37.49	39.11	41.42	33.84	32.47	43.48
12	α-蒈烯(α-Thujene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	0.21	0.73	1.20	0.38	1.20	0.87	0.28	0.79	1.20	0.87
13	γ-松油烯(γ-Terpinene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	35.39	33.30	18.75	21.73	18.29	27.74	26.14	20.17	25.27	15.53
14	莰烯(Camphene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	0.02	0.03	0.24	0.03	0.08	0.04	0.01	0.03	0.04	0.03
15	罗勒烯(Ocimene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	0.21	0.35	1.10	0.30	0.48	0.77	0.31	1.05	1.12	0.72
16	月桂烯(Myrcene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	0.99	1.17	2.00	1.01	2.53	2.04	1.60	1.91	1.83	2.53
17	左旋-β-蒎烯((1S)-(1)-β-Pinene)	单萜	C ₁₀ H ₁₆	136	1.27	2.85	4.77	2.48	4.59	3.08	1.92	2.76	3.61	2.38
18	2-甲基-6-亚甲基-2-辛烯(2-Methyl-6-methylideneoct-2-ene)	单萜	C ₁₀ H ₁₈	138	—	—	—	—	—	0.08	0.14	—	—	—
19	(R)-氧化柠檬烯(Limonene 1,2-epoxide)	单萜	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	—	—	0.2	—	—	—	—	0.05
20	1,4-二甲基-4-乙酰基-1-环己烯(1-(1,4-Dimethylcyclohex-3-en-1-yl)ethanone)	单萜	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	0.32	—	0.13	—	—	—	—	—
21	2-异丙烯基-5-甲基己-4-烯(2-Isopropenyl-5-methylhex-4-enal)	单萜	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	—	—	1.37	—	—	3.71	—	—
22	水合桉烯(Sabinene hydrate)	单萜	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.01	0.01	—	0.10	—	0.07	—	—	—	1.70
23	邻-异丙基苯(o-Cymene)	芳香烃	C ₁₀ H ₁₄	134	2.90	2.51	—	—	—	—	—	—	—	—
24	p-伞花烃(p-Cymol)	芳香烃	C ₁₀ H ₁₄	134	—	—	—	5.57	—	—	—	—	4.59	3.38
25	1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢-4a-甲基-萘(1,2,3,4,4a,5,6,7-Octahydro-4a-methyl-Naphthalene)	芳香烃	C ₁₁ H ₁₈	150	—	—	0.06	—	0.06	—	—	—	—	—
26	3-糠醛(3-Furancarboxaldehyde)	醛	C ₅ H ₄ O ₂	96	—	—	0.10	—	0.03	—	—	—	—	—
27	正己醛(Hexanal)	醛	C ₆ H ₁₂ O	100	—	—	0.02	—	0.10	—	—	—	—	—
28	壬醛(Nonanal)	醛	C ₉ H ₁₈ O	142	—	—	—	0.06	0.51	0.04	0.04	0.10	—	0.09
29	2,4,6-三甲基-3-环己烯-1-羧醛(2,4,6-Trimethylcyclohex-3-ene-1-carbaldehyde)	醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	—	—	—	0.11	0.15	—	—	—
30	橙花醛(Neral)	醛	C ₁₀ H ₁₈ O	152	—	—	—	—	—	5.40	7.84	—	6.26	—
31	柠檬醛(Citral)	醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	0.47	1.09	2.25	2.13	—	—	—	—	9.96
32	香叶醛(Geranal)	醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	0.41	0.73	1.48	—	3.85	5.44	4.31	5.16	6.88
33	α-香茅醛(Rhodinal)	醛	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	—	—	—	—	—	0.90	—	—
34	(+)-香茅醛((R)(+)-Citronellal)	醛	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	0.49	—	0.28	0.23	0.17	0.17	—	0.35	0.32
35	正癸醛(Decanal)	醛	C ₁₀ H ₂₀ O	156	—	—	—	0.02	—	—	0.02	—	—	—
36	十一醛(Undecanal)	醛	C ₁₁ H ₂₂ O	170	—	—	—	—	—	0.01	0.03	—	—	—
37	香芹酚(Carvacrol)	酚	C ₁₀ H ₁₄ O	150	—	—	0.47	—	0.31	—	—	—	—	—
38	3-甲基-4-异丙基苯酚(4-Isopropyl-3-methylphenol)	酚	C ₁₀ H ₁₄ O	150	—	—	0.11	—	0.10	—	—	—	—	—
39	百里酚(Thymol)	酚	C ₁₀ H ₁₄ O	150	—	—	0.29	0.27	—	—	—	—	—	—
40	甲基庚烯酮(Sulcatone)	酮	C ₈ H ₁₄ O	126	—	—	0.06	0.03	—	0.10	0.06	0.07	—	0.12
41	左旋香芹酮(L(-)-Carvone)	酮	C ₁₀ H ₁₄ O	150	—	—	0.10	—	0.09	—	—	—	—	—
42	右旋香芹酮((+)-Carvone)	酮	C ₁₀ H ₁₄ O	150	—	—	—	0.07	—	0.03	—	—	—	—

续表 4

序号	化合物名称	类别	分子式	相对分子质量	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
43	5-甲基-3-(1-甲基亚乙基)-4-己烯-2-酮 (5-methyl-3-(1-methylethylidene)-4-Hexen-2-one)	酮	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	0.11	—	0.09	—	—	—	—	—
44	2-戊基环戊酮 (2-Pentylcyclopentanone)	酮	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	0.10	—	0.12	—	—	—	—	—
45	2-十一酮 (2-Undecanone)	酮	C ₁₁ H ₂₂ O	170	—	—	—	—	—	0.08	—	0.27	—	0.15
46	大根香叶酮D (Germacrene D)	酮	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	0.32	—	0.32	0.40	0.66	0.15	—
47	环己基环己烷 (Bicyclohexyl)	烷烃	C ₁₂ H ₂₂	166	—	—	—	0.53	—	—	—	—	—	—
48	异戊烯醇 (3-Methyl-2-buten-1-ol)	醇	C ₅ H ₁₀ O	86	—	—	0.03	—	0.02	—	—	—	—	—
49	2-(4-甲基苯基)丙-2-醇 (2-(4-Methylphenyl)propan-2-ol)	醇	C ₁₀ H ₁₄ O	150	0.02	0.02	—	—	—	0.03	0.02	—	—	—
50	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	醇	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	—	—	—	0.15	0.08	—	—	—
51	(S)-顺式-马鞭草烯醇 ((S)-Cis-verbenol)	醇	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	—	—	—	—	—	0.21	0.16	0.36
52	(Z)-香芹醇 ((Z)-Carveol)	醇	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	—	—	0.05	—	0.03	—	—	0.04
53	葛缕醇 (Carveol)	醇	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	—	0.12	—	0.18	—	—	0.13	—	—
54	3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇 (3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	—	—	—	0.73	—	—	—	—
55	蒎紫红素 (Thujyl alcohol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.06	—	—	0.21	—	—	—	—	—	—
56	7-甲基-3-亚甲基辛基-6-烯-1-醇 (7-Methyl-3-methyldeneoct-6-en-1-ol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	—	—	—	—	—	—	0.21	0.47
57	异香叶醇 (Isogeraniol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	—	—	—	0.04	—	0.18	—	—
58	异胡薄荷醇 (Isopulegol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	0.05	—	—	0.01	—	0.04	—	—
59	(+)-葑醇 ((+)-Fenchol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.07	0.04	—	—	—	0.04	0.02	—	—	—
60	4-萜烯醇 (Terpinen-4-ol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	1.17	1.18	3.49	—	2.71	—	—	—	—	—
61	葑醇 (Fenchol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	0.21	0.03	0.15	—	—	0.08	—	—
62	顺式6-(异丙基)-3-甲基环己-2-烯-1-醇 (Cis-6-(isopropyl)-3-methylcyclohex-2-en-1-ol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	0.05	—	—	0.05	0.04	0.07	—	—
63	(-)-4-萜品醇 ((-)-Terpinen-4-ol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	—	3.31	—	2.34	1.47	3.00	2.85	—
64	橙花醇 (Nerol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	0.14	2.08	3.38	—	—	0.70	2.58	0.42	0.93
65	反式-4-(异丙基)-1-甲基环己-2-烯-1-醇 (trans-4-(Isopropyl)-1-methylcyclohex-2-en-1-ol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	—	0.21	0.09	0.26	0.06	0.04	0.08	0.05	0.03
66	香叶醇 (Geraniol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	—	0.11	2.76	2.78	1.95	0.58	0.85	2.00	0.41	0.80
67	α-松油醇 ((S)-(-)-α-Terpineol)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	3.70	1.33	5.11	4.86	3.37	3.10	1.91	3.44	3.52	1.45
68	芳樟醇 (Linalool)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.05	0.18	1.85	1.55	0.93	0.55	0.52	1.16	0.42	0.57
69	(R)-(+)-β-香茅醇 ((R)-(+)-Citronellol)	醇	C ₁₀ H ₂₀ O	156	—	—	—	—	1.81	—	—	—	—	—
70	(E)-氧化芳樟醇 ((E)-Furan linalool oxide)	醇	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	—	0.01	0.18	0.06	—	0.01	—	—	—	—
71	(-)-斯巴醇((-)-Spathulenol)	醇	C ₁₅ H ₂₄ O	220	—	—	—	0.15	0.14	—	—	—	—	—
72	斯巴醇 (Spathulenol)	醇	C ₁₅ H ₂₄ O	220	—	—	0.31	0.21	0.23	—	—	0.01	—	—
73	百秋李醇 (Patchouli alcohol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	—	—	—	0.05	0.04	—	—	—
74	反式-橙花叔醇 (trans-Nerolidol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	—	—	—	—	—	0.02	—	0.02
75	库贝醇((-)-Cubenol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	0.09	—	—	—	—	0.01	—	—
76	蓝桉醇((-)-Globulol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	0.81	—	—	—	—	0.01	—	—
77	τ-杜松醇 (τ-Cadinol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	—	—	0.33	0.01	0.01	—	—	—
78	α-毕橙茄醇 (α-Cadinol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	0.30	—	0.45	—	—	0.01	—	—
79	绿花白千层醇 ((+)-Viridiflorol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	—	—	—	0.05	0.05	—	0.02	0.02
80	表蓝桉醇 (Epiglobulol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	—	0.38	0.04	0.14	0.01	—	0.02	—	—
81	红没药醇 (α-Bisabolol)	醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	0.07	0.89	0.23	0.26	0.06	0.04	0.10	—	0.02
82	(+)-顺-6,7-二氢-法尼醇 ((+)-Cis-6,7-dihydro-farnesol)	醇	C ₁₅ H ₂₈ O	224	—	—	0.84	—	0.22	—	—	—	—	—
83	姜烯 (Zingiberene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	0.63	—	—	—	—	—	—	—
84	(-)-异丁香烯((-)-Isocaryophyllene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	0.21	0.09	—	—	—	—	—	—	—	—

续表 4

序号	化合物名称	类别	分子式	相对分子质量	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
85	β-草澄茄烯 (β-Cubebene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	0.53	—	—	—	—	0.01	—	—
86	β-榄香烯 (β-Elemene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	—	—	—	0.01	—	—	0.03
87	大根香叶烯B ((1E,4E)-Germacrene B)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	—	—	0.08	0.13	—	—	—
88	Decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-1H-cycloprop[c]azulene	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	0.11	—	—	—	0.03	—	—
89	(-)-β-檀香烯 ((-)-β-Santalene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	—	—	0.01	0.01	0.01	—	—
90	(+)-1,7-二表-α-雪松烯 ((+)-1,7-Diepi-α-cedrene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	—	—	0.03	0.01	0.01	—	—
91	(1E, 6E, 8S)-1-甲基-5-亚甲基-8-(1-甲基乙基)-1,6-环癸二烯 ((1E,6E,8S)-1-Methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-1,6-cyclodecadiene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	0.05	0.07	—	—	0.18	—	—	—	—	—
92	(Z)-α-没药烯 ((Z)-α-Bisabolene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	0.15	0.11	—	0.09	—	—	—	—	—	—
93	(E)-β-法呢烯 ((E)-β-Farnesene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	0.13	—	—	0.02	0.02	0.02	—	—
94	δ-榄香烯 ((+/-)-δ-Elemene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	0.09	—	0.03	0.15	—	—	0.15
95	反式α-香柠檬烯 ((E)-α-Bergamotene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	0.11	0.05	—	0.01	—	—	0.39	—	—	—
96	红没药烯 (Bisabolen)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	0.23	—	—	0.01	0.01	0.02	—	0.02
97	Δ-杜松烯 ((+)-δ-Cadinene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	0.27	0.08	0.15	0.02	0.03	0.06	—	—
98	α-香柠檬烯 (α-Bergamotene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	—	0.39	0.18	0.23	0.02	0.33	0.08	0.35
99	(S)-β-没药烯 ((S)-β-Bisabolene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	1.33	0.75	0.36	0.34	0.50	0.53	0.10	0.39
100	β-石竹烯 ((-)-β-Caryophyllene)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄	204	—	—	0.81	0.20	0.22	0.16	0.14	0.23	0.08	0.11
101	氧化石竹烯 ((-)-Caryophyllene oxide)	倍半萜	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.07	—	0.41	—	0.21	—	—	—	—	—
102	甲酸异茨酯 (Isobornyl formate)	酯	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	182	—	—	—	—	0.37	—	—	—	0.08	—
103	反式乙酸蒎基酯 (trans-Chrysanthenyl acetate)	酯	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	—	—	—	0.09	—	—	—	0.27	—	—
104	左旋乙酸冰片酯 (L-Bornyl acetate)	酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	—	—	—	—	0.93	—	—	—	—	—
105	乙酸龙脑酯 (Bornyl acetate)	酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	—	0.08	—	0.29	—	—	—	—	—	—
106	乙酸橙花酯 (Neryl acetate)	酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	—	—	0.65	4.27	1.19	0.30	1.13	2.30	0.10	0.54
107	乙酸香叶酯 (Geranyl acetate)	酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	—	0.15	0.51	3.60	1.30	0.27	1.50	1.45	0.04	0.29
108	乙酸香茅酯 (Citronellyl acetate)	酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	198	—	—	0.19	0.38	0.22	0.06	0.10	0.51	—	0.02
109	异戊酸芳樟酯 (Linalyl isovalerianate)	酯	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	238	—	—	0.05	—	—	—	—	—	—	0.04
110	棕榈酸甲酯 (Methyl palmitate)	酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	—	—	0.05	—	0.04	—	—	—	—	—
111	亚麻酸甲酯 (Methyl linolenate)	酯	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	—	—	0.04	0.05	—	—	—	—	—	—
112	亚油酸甲酯 (Methyl linoleate)	酯	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	—	—	0.07	0.11	—	—	—	—	—	—
113	月桂酸 (Dodecanoic acid)	酸	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	—	—	—	—	0.68	—	—	—	—	—
114	肉豆蔻酸 (Myristic acid)	酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	—	—	0.69	—	0.36	—	—	—	—	—
115	十五烷酸 (Pentadecanoic acid)	酸	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	—	—	—	0.24	0.03	0.03	—	—	—	—
116	亚麻酸 (Linolenic acid)	酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	—	—	0.20	0.05	0.17	—	—	—	—	—
117	亚油酸 (Linoleic acid)	酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	—	—	0.60	—	0.36	—	—	—	—	—

为单萜烯类成分, 2 个为醇类成分。

值得注意的是, 有一些化学成分只在个别产地的样品中有较高含量, 而在其他产地中未检出, 比如邻-异丙基苯在 S1 和 S2 中的含量均超过 2%; ρ-伞花烃在 S4、S9 和 S10 中的含量均超过 3%; 2-异丙烯基-5-甲基己基-4-烯在 S5 和 S8 中的含量均超过 1%; 橙花醛在 S6、S7 和 S9 中的含量均超过 5%; 4-萜烯醇在 S1、S2、S3 和 S5 中的含量均超过 1%; (-)-4-萜品醇在 S4、S6、S7、S8 和 S9 中的含量均超过 1%; (R)-(+)-β-香茅醇在 S5 中的含量为 1.81%, 提

示该成分可能和检出的产地有一定关系。

2.3 相关性分析

对 10 个不同产地川佛手精油的含量测定结果进行相关性分析, 以表 4 中 9 个共有成分的相对含量为数据, 组建数据矩阵, 其 Pearson 相关系数如表 5 所示。从表 5 中可知, 川佛手精油中 α-苾烯与左旋-β-蒎烯呈极显著正相关($P<0.01$); (+)-柠檬烯与芳樟醇呈极显著负相关($P<0.01$); α-苾烯与罗勒烯、月桂烯, 茨烯与左旋-β-蒎烯、芳樟醇, α-松油醇与芳樟醇呈显著正相关($P<0.05$); (+)-柠檬烯与 α-松油

表 5 共有成分相关性分析结果

Table 5 The results of correlation analysis of common components

成分	(+)-柠檬烯	α -蒎烯	γ -松油烯	蒎烯	罗勒烯	月桂烯	左旋- β -蒎烯	α -松油醇	芳樟醇
(+)-柠檬烯	1								
α -蒎烯	-0.432	1							
γ -松油烯	0.601	-0.522	1						
蒎烯	-0.550	0.574	-0.389	1					
罗勒烯	-0.581	0.750*	-0.482	0.484	1				
月桂烯	-0.179	0.728*	-0.734*	0.300	0.544	1			
左旋- β -蒎烯	-0.595	0.897**	-0.512	0.753*	0.574	0.568	1		
α -松油醇	-0.760*	0.144	-0.199	0.557	0.273	-0.159	0.374	1	
芳樟醇	-0.869**	0.298	-0.684*	0.672*	0.380	0.187	0.545	0.704*	1

注:* $P < 0.05$, 变量相关关系显著; ** $P < 0.01$, 变量相关关系极显著(均为双侧检验)。

醇, γ -松油烯与月桂烯、芳樟醇呈显著负相关($P < 0.05$)。

2.4 聚类分析

对不同产地川佛手精油的含量测定结果进行系统聚类,以表 4 中鉴别出的所有成分百分含量为聚类的变量,采用平方欧氏距离(squared Euclidean distance)获得聚类分析谱系图,结果见图 2。由图 2 可知,10 个不同产地的川佛手可聚为 4 类: S1、S2 聚为一类, S6、S7、S9 聚为一类, S3、S4、S5、S8 聚为一类, S10 为一类。

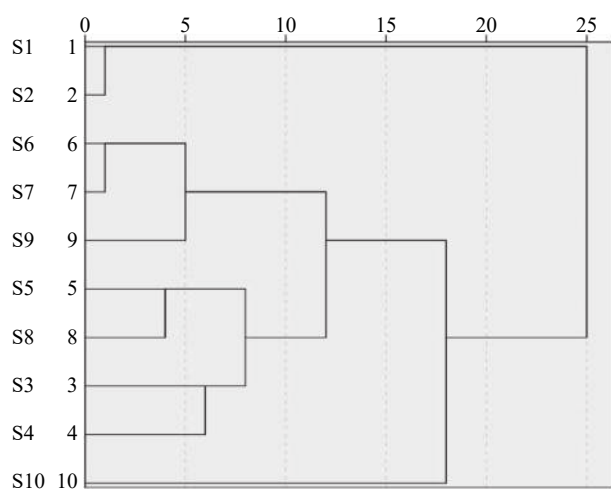


图 2 不同产地川佛手聚类分析谱系图

Fig.2 Pedigree of cluster analysis of bergamot from different origins

3 讨论与结论

本研究结果显示,10 个不同产地川佛手精油样品中四川省泸州市合江县样品精油得率最高(0.71%),其次为四川省宜宾市长宁县(0.66%)及四川省绵阳市安州区(0.60%)样品;其化学成分相对含量均以(+)-柠檬烯和 γ -松油烯较高,其中以四川省泸州市合江县样品中柠檬烯(48.46%)和 γ -松油烯(35.39%)的相对含量最高。这一结论与文献[19-21]报道的新鲜佛手果油的主要成分是柠檬烯和 γ -松油烯一致。但同时也出现与其他研究不一致的情况,如赵永艳等[22]研究发现全国范围 10 个不同产地佛手

挥发油中的主要化学成分为柠檬烯和蒎品烯;黄晓钰等[23]研究发现佛手柑果(广东德庆)外果皮挥发油成分以蒎烯和蒎品油烯为主;郑孝华等[24]研究发现新鲜佛手果油(浙江金华)的主要成分为 α -蒎烯和 γ -松油烯。推测造成各研究间差异的原因可能与佛手品种、不同的采集时间、精油保存时间和色谱条件等有关,但仍有待后续研究进一步探讨。

相关性分析(correlation analysis)是指对两个或多个具备相关性的变量元素进行分析,旨在研究 2 个变量之间的变化趋势[25],从而衡量 2 个变量因素的相关密切程度,本研究对 10 个不同产地川佛手精油中的 9 个共有成分进行了相关性分析,由相关性分析结果可知,左旋- β -蒎烯与 α -蒎烯呈极显著正相关($P < 0.01$), α -蒎烯与罗勒烯、月桂烯;蒎烯、 α -松油醇与芳樟醇之间显著正相关($P < 0.05$),这些化学成分间相关性较强,表明此类化学成分可能在川佛手生长过程中存在内在的相关关系。

聚类分析作为一种把相似的样品或变量归类的有效方法,在很大程度上可避免分类过程中夹杂的主观因素,客观准确地反映研究对象,并从中发现内在的客观规律,具有科学性、客观性[26]。本文以鉴别出的 117 种化学成分的相对含量为指标对 10 个不同产地的川佛手精油样品进行聚类分析,聚类分析结果将不同产地分为 4 类: S1(四川省泸州市合江县)、S2(四川省宜宾市长宁县)归为一类,该类特征为(+)-柠檬烯、 γ -松油烯和邻-异丙基苯相对含量较高; S6(四川省绵阳市安州区)、S7(四川省绵阳市罗江区)、S9(四川省成都市金堂县)归为一类,该类特征为橙花醛相对含量较高; S3(四川省甘孜州泸定县)、S4(四川省雅安市荥经县)、S5(重庆市万州区)、S8(重庆市梁平区)归为一类,该类特征为香叶醇和芳樟醇相对含量较高; S10(云南省昆明市宜良县)单独归为一类,该类特征为柠檬醛相对含量较高。把聚类分析结果结合 10 个川佛手挥发油产地所处的地理位置信息,由北到南依次为第一类(S6、S7、S9)、第二类(S3、S4、S5、S8)、第三类(S1、S2)、第四类(S10),平均纬度分别为 $31^{\circ}24'$ 、 $30^{\circ}29'$ 、 $28^{\circ}70'$ 、

24°92', 因此推测川佛手精油的聚类结果与样品产地所处纬度有一定关系, 接下来应该对不同产地多个批次的川佛手挥发油进行分析, 进一步探讨是否存在这种趋势。

综上所述, 本次研究采用 GC-MS 对不同产地的川佛手精油进行分析比较, 对日后整个西南地区川佛手植物资源的种植开发和利用提供新的参考, 而且对于提升川佛手的附加值, 将佛手柑加工而成的高品质佛手精油深加工并实现产业化, 具有非常重要的意义。

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, 2015: 178-179.
- [2] 曾建伟, 吴锦忠, 林忠宁, 等. HPLC 测定不同产地佛手中橙皮苷的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(19): 97-99.
- [3] 张桂芳, 徐鸿华. 佛手种质资源研究概况[J]. 广州中医药大学学报, 2007, 24(1): 69-72.
- [4] 曹抡彬, 曹抡翰 (清). 雅州府志, 第五卷 [M]. 台北: 成文出版社影印, 1958: 141-142.
- [5] 万德光, 彭成, 赵军宁. 四川道地中药材志 [M]. 四川: 四川科学技术出版社, 2005: 320-326.
- [6] 肖培根. 新编中药志 (第二卷)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 304-307.
- [7] 邓祥, 黄小梅, 王芬. 川佛手中多酚类物质的微波和超声波联合提取工艺优化[J]. 化学研究, 2017, 28(3): 353-358.
- [8] 杨慧, 周爱梅, 林敏浩, 等. 佛手挥发精油提取及其药理研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 4(5): 1347-1352.
- [9] Mannap, Vermaa, Sethig, et al. Overexpression of tissue transglutaminase leads to constitutive activation of nuclear factor kappa B in cancer cells: Delineation of a novel pathway[J]. *Cancer Research*, 2006, 66(17): 8788-8795.
- [10] Salminen, Lehtonen, Suuronen, et al. Terpenoids: Natural inhibitors of NF- κ B signaling with anti-inflammatory and anticancer potential[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2008, 65(19): 2979-2999.
- [11] 曹甜, 刘晓艳, 丁心, 等. 柠檬烯的研究与应用进展[J]. 农产品加工, 2017(16): 51-54.
- [12] Elegbede J A, Elson C E, Qureshi A, et al. Inhibition of DMBA-induced mammary cancer by the monoterpene D-limonene[J]. *Garcino Genesis*, 1984, 5(5): 661-664.
- [13] Dambolena J S, López A G, Cánepa M C, et al. Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC826 growth and fumonisin B₁ biosynthesis[J]. *Toxicon*, 2008, 51(1): 37-44.
- [14] 王雪梅, 湛徽, 李雪姣, 等. 天然活性单萜—柠檬烯的抑菌性能研究[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(1): 24-28.
- [15] Mahal H S, Mukherjee T. Scavenging of reactive oxygen radicals by resveratrol: Antioxidant effect[J]. *Research on Chemical Intermediates*, 2006, 32(1): 59-71.
- [16] 章斌, 侯小桢, 秦轶, 等. 柠檬果皮精油主要组分抑菌及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(12): 138-142.
- [17] 王婷婷, 谭红军, 张和平, 等. 佛手的研究与应用开发[J]. 重庆中草药研究, 2011(1): 38-44.
- [18] 崔广林, 李隆云, 谭均, 等. 不同产地川佛手中 8 种化学成分的分析与评价[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(2): 250-260, 324.
- [19] 周露, 陈剑昌, 任洪涛, 等. 佛手油化学成分研究[J]. 香料香精化妆品, 2000(2): 7-10.
- [20] 杨荣华. 佛手柑精油化学成分的分析[J]. *分析化学*, 2002, 30(9): 1149.
- [21] 赵磊, 籍保平, 周峰, 等. 十二种金华佛手挥发油成分的比较研究[J]. *食品科学*, 2006, 27(6): 179-184.
- [22] 赵永艳, 张军银, 彭腾, 等. 不同产地佛手的挥发油成分比较分析[J]. *中国药房*, 2020, 31(4): 423-428.
- [23] 黄晓钰, 钟秀茵, 苏毅. 佛手柑挥发油成分提取鉴定[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(3): 104-109.
- [24] 郑孝华, 翁雪香. 固相微萃取气相色谱-质谱分析佛手挥发性成分[J]. 浙江师范大学学报 (自然科学版), 2004, 27(1): 52-55.
- [25] 银玲, 彭月, 刘荣, 等. 产地生态环境要素与中药品质相关性研究[J]. 中药与临床, 2012, 3(6): 9-14.
- [26] 黄盼, 周改莲, 王倩, 等. 基于主成分和聚类分析评价国产不同批次肉豆蔻挥发油的质量[J]. 现代食品科技, 2020, 36(5): 310-318.