

HS-SPME-GC-MS分析不同产地香荚兰豆挥发性成分

黎 强, 卢金清*, 郭胜男, 蔡君龙, 李肖爽

(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: 目的: 分析不同产地香荚兰豆挥发性成分的组成。方法: 采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术, 结合惠普-化学源化学工作站对不同产地的香荚兰豆中挥发性化学成分进行定性分析, 以峰面积归一化法计算各组分相对含量, 并通过主成分分析和聚类分析2种化学计量法对数据进行分析。结果: 初步鉴定出104种化合物, 不同产地香荚兰豆挥发性成分有一定差异。结论: 此方法稳定可靠, 适用于香荚兰豆挥发性成分的快速分析, 可为香荚兰豆的质量评价提供一定的科学依据。

关键词: 香荚兰豆; 挥发性成分; 顶空固相微萃取; 聚类分析; 主成分分析

Analysis of Volatile Components of Vanilla Beans from Different Habitats by HS-SPME-GC-MS

LI Qiang, LU Jin-qing*, GUO Sheng-nan, CAI Jun-long, LI Xiao-shuang

(Hubei Medicinal Plants Co-Laboratory of Universities and Enterprises, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430065, China)

Abstract: Objective: To analyze the volatile components of vanilla beans from different habitats. Methods: The contents of volatile components from vanilla beans were determined by peak area normalization method. The separated volatile components were identified by GC-MS. Results: Totally 104 volatile components were identified preliminarily. There were differences in volatile components of vanilla beans from different habitats. Conclusion: The analytical method presented in this study is reliable and stable and can be applied for the analysis of volatile components of vanilla beans.

Key words: vanilla bean; volatile components; headspace solid phase micro extraction; cluster analysis; principal component analysis

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)22-0247-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201422048

香荚兰豆为兰科香荚兰属植物香荚兰 (*Vanilla planifolia* Andr.) 的成熟果实, 具有息风止痉、镇静抗惊等功效^[1], 其独特的香味使其成为高级名酒、香烟、化妆品等的主要配香原料, 具有“香料之王”的美誉^[2]。香荚兰豆浸膏等香荚兰豆制品广泛应用于饮料、冰淇淋、糖果、巧克力、培烤食品以及酒类和香烟中^[3]。其主产于马达加斯加、科摩罗、塔希提、墨西哥、印度尼西亚、留旺尼、乌干达、塞舌尔、毛里求斯等岛屿国或地区, 全世界每年生产干燥完毕的香荚兰豆荚约2 000~2 400 t^[4]。中国海南地区^[5]、中国福建地区^[6]也都有种植。目前, 国内外对香荚兰豆香味成分研究已较为深入, 郭彧等^[1]研究发现香荚兰豆原料中含有醛类、酚类、醇类、酸类、酯类、酮类等物质, 其中最为主要的挥发性物质为香兰素和愈创木酚。任洪涛等^[7]采用同时蒸馏萃取方法收集了香荚兰豆中的挥发性成分, 对所得的挥发性成分的二

氯甲烷浓缩液用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用技术对其进行分析, 结果共鉴定出49种化合物, 其中含量较高的有2,3,5,6-四甲基苯酚 (9.25%)、香兰素 (8.09%)、愈创木酚 (7.93%)。陆舍铭等^[8]用同时蒸馏萃取和固相微萃取作为2种前处理方法并结合GC-MS联用技术对其进行分析, 结果得出2种前处理方式中挥发性成分含量最高的均为香兰素。但对不同产地香荚兰豆的研究却鲜见报道, 故本实验采用顶空固相微萃取 (headspace solid phase micro extraction, HS-SPME) 与GC-MS联用技术对中国海南、科摩罗、马达加斯加、中国福建、印度尼西亚5个产地共15个批次香荚兰豆中挥发性成分进行鉴别, 并结合化学计量法进行统计分析, 建立快速分析香荚兰豆挥发性成分的方法, 并为香荚兰豆的品质客观评价指标提供参考。

收稿日期: 2014-03-07

作者简介: 黎强 (1990—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药及其天然产物活性成分研究。E-mail: 18986157273@163.com

*通信作者: 卢金清 (1955—), 男, 教授, 学士, 主要从事中药及其天然产物活性成分研究。E-mail: ljqs9169@sohu.com

1 材料与方法

1.1 材料

中国海南产香荚兰豆(样品编号为1、2、3); 科摩罗产香荚兰豆(样品编号为4、5、6); 马达加斯加产香荚兰豆(样品编号为7、8、9); 中国福建产香荚兰豆(样品编号为10、11、12); 印度尼西亚产香荚兰豆(样品编号为13、14、15), 由武汉黄鹤楼香精香料有限公司提供, 经湖北中医药大学生药教研室鉴定为兰科香荚兰属植物香荚兰的成熟果实。

1.2 仪器与设备

6890/5973型气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司; NIST系列标准谱库、65 μm PDMS/DVB萃取头、手动固相微萃取进样器装置、15 mL样品瓶 美国Supelco公司; ALC-210.2电子天平 德国Sartorius公司。

1.3 方法

1.3.1 顶空固相微萃取条件

前期对药材取样量、平衡温度、萃取温度、平衡时间、萃取时间、萃取头种类等因素进行考察, 结果表明香荚兰豆中香兰素等主要风味物质在110 $^{\circ}\text{C}$ 条件下的相对含量最高, 由此确定固相微萃取的最佳条件: 即取香荚兰豆2 g, 剪碎, 置于15 mL配有聚四氟乙烯胶垫的顶空瓶中, 用带有65 μm PDMS/DVB萃取纤维头的手动进样器插入瓶内, 110 $^{\circ}\text{C}$ 平衡15 min, 推出萃取头顶空萃取15 min, 取出, 立即插入色谱仪进样口(温度250 $^{\circ}\text{C}$), 解吸3 min。

1.3.2 GC-MS的分析

1.3.2.1 GC条件

色谱柱: HP-5MS石英毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm); 升温程序: 初始温度为35 $^{\circ}\text{C}$, 以6 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至132 $^{\circ}\text{C}$, 保留1 min, 再以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至147 $^{\circ}\text{C}$, 再以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至160 $^{\circ}\text{C}$, 最后以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至190 $^{\circ}\text{C}$; 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 载气: 氦气; 流速: 1 mL/min; 进样模式: 不分流进样。

1.3.2.2 MS条件

离子源: 电子电离源; 离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$; 电子能量70 eV; 倍增管电压1.2 kV; 接口温度280 $^{\circ}\text{C}$; 质量扫描范围 m/z 35~550。

1.3.3 统计学处理

采用主成分分析和系统聚类分析2种数据分析方法对各样品的HS-SPME-GC-MS所得数据进行分析。

2 结果与分析

经化学工作站数据处理及用面积归一化法从各总离子流图(图1)中计算各组分相对含量, 按各峰的质谱图

经NIST谱库检索, 确定各个组分, 初步鉴定了104种化合物, 分析结果见表1。结果表明, 不同产地的香荚兰豆挥发性成分种类和相对含量有一定的差异, 但均含有香兰素、愈创木酚、丁香酚、4-甲基愈创木酚、草蒿脑等18种主要成分。香兰素(4-羟基-3-甲氧基苯甲醛), 又名香草醛、香草素、香兰醛或香茅醛, 是香子兰豆中的一种主要成分, 通常作为香料、天然药物和医药中间体^[9], 近年来研究又表明香兰素具有抗菌性能^[10-11], 并且已有研究发现以香兰素为原料合成香豆酮和香兰素衍生物新型席夫碱具有更强的抑菌效果^[12-14], 除了作为增香剂外, 香兰素常作为含有多不饱和组分食品的抗氧化剂^[15]。愈创木酚可以用来合成香兰素, 其生产量占整个香兰素生产量的70%以上^[16], 愈创木酚是一种重要的酚类香料^[17]。丁香酚本身就是一种重要的风味代谢物, 是形成香兰素的前体物质^[18], 还具有抗病毒、清除氧自由基功效^[19]。4-甲基愈创木酚也是最重要的风味物质^[20]。在得到的104种挥发性成分中, 15个批次的香荚兰豆含有的共有化合物有18种, 分别为香兰素、愈创木酚、4-甲基愈创木酚、丁香酚、草蒿脑、 α -蒎烯、糠醛、正辛醇、1-石竹烯、1-辛烯-3-醇、 α -反式佛手柑油烯、肉桂酸甲酯、1-金刚烷醇、2-正丁基呋喃、对苯二甲醚、14-甲基十六烷酸甲酯、环十二酮、缩氨基硫脲、2,3,4-三甲基正己烷。以18个共有峰的峰面积作为变量, 得到15 $\times$ 18的数据矩阵, 使用SPSS 19.0软件进行主成分分析和聚类分析。

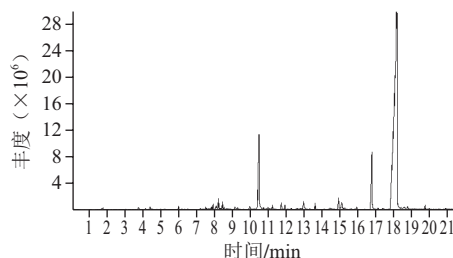


图1 马达加斯加香荚兰豆总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram of Madagascar vanilla bean

2.1 主成分分析

将二维数据矩阵导入到SPSS 19.0软件进行多变量统计分析。第1主成分的方差贡献率为89.151%, 第2主成分的方差贡献率为10.607%, 前2个主成分的累计方差贡献率为99.758%。一般来说, 提取主成分的累积贡献率达到80%~85%, 可据此决定需要提取多少个主成分^[21]。从图2可知, 印度尼西亚、科摩罗、马达加斯加3个产地的样品在分布上相对集中, 而中国海南、中国福建2个产地的样品在分布上相对集中, 不同产地的样品在分布上则有明显差异。结果表明, 采用主成分分析法能够反映出不同产地香荚兰豆成分差异, 可以有效地

表 1 15 个批次香荚兰豆挥发性成分分析结果
Table 1 Volatile components of 15 batches of vanilla bean

序号	化合物	相对含量/%														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	hydrazinocarbonylhydrazide,2-[1-(4-nitrophenyl)ethylidene] 肼硫代酰胺,2-[1-(4-硝基苯基)亚乙基]				0.49	1.01	0.11	0.23	0.45	0.55				0.23	0.11	0.15
2	phenol,2-methoxy-4-methyl 4-甲基愈创木酚	3.45	2.97	2.78	6.17	2.52	3.98	5.78	4.32	2.78	4.07	2.11	3.58	2.89	4.67	4.11
3	α -humulene α -葎草烯	0.24	0.32	0.56				0.11				0.35			0.17	
4	hexane,2,3,4-trimethyl 2,3,4-三甲基正己烷	0.45	1.09	0.59	0.63	1.87	0.12	0.77	0.23	1.34	0.24	0.56	0.98	0.32	0.11	0.67
5	pyrido[2,3- <i>d</i>]pyrimidine,4-phenyl 吡啶并[2,3- <i>d</i>]嘧啶,4-苯基	0.64	0.56	0.78												
6	furfural 糠醛	1.25	1.87	0.91	0.69	0.23	0.43	0.47	1.67	0.88	0.89	2.11	1.56	0.34	0.42	1.23
7	2,5-dimethylhex-5-en-3-yn-2-ol 2,5-二甲基-5-烯-3-炔-2-醇				0.24	0.18	0.28	0.32	0.78	0.27				0.18	0.35	0.23
8	cyclododecanone,thiosemicarbazone 环十二酮,缩氨基硫脲	0.21	0.34	0.11	0.15	1.02	0.78	0.26	0.55	0.99	0.37	1.11	0.78	0.14	0.28	0.76
9	isolongifolene 异长叶烯				0.18	0.34	0.23	1.01	0.96	0.89				0.16	0.28	0.33
10	hexyl isopropyl succinate 己基琥珀酸异丙酯	0.42	0.34	0.56							0.21					
11	<i>N</i> -(2-hydroxyethyl)dodecanamide <i>N</i> -(2-羟乙基)月桂酰胺	0.36	0.25	0.78			0.15						0.11			
12	mannopyranoside,methyl 4-acetamido-4,6-dideoxy- α - <i>D</i> -吡喃甘露糖苷,甲基4-乙酰氨基-4,6-二脱氧- α - <i>D</i>				0.28	0.31	0.21	0.42	0.52	0.45				0.11	0.32	0.38
13	1-[3-hydroxypropyl]-aziridine 1-[3-羟基丙基]-氮杂环丙烷				0.1	0.28	0.2	0.15	0.21	0.31					0.18	0.29
14	4-ethylbenzoic acid,cyclohexyl ester 4-乙基苯甲酸,环己基酯			0.17							0.12	0.31	0.24			
15	pentanoic acid,3-methyl-,methyl ester 戊酸,3-甲基-,丙酯				0.12	0.78	0.26	0.57	0.25	0.19				0.19	0.28	0.26
16	1-methoxy-4-nitro-2,3,5,6-tetramethylbenzene 1-甲氧基-4-硝基-2,3,5,6-四甲基苯				0.14						0.32	0.46	0.21			
17	acetoxyacetic acid,3-pentadecyl ester 乙酰氧基乙酸,3-十五烷基酯				0.74	0.56	0.36	0.53	0.44	0.47				0.28	0.35	0.59
18	1-octen-3-ol 1-辛烯-3-醇	0.74	0.98	1.55	0.35	0.21	0.95	0.56	0.23	0.99	0.31	1.09	0.61	0.77	1.63	0.89
19	2-pentylfuran 2-正戊基呋喃	2.67	3.78	2.11								0.21				
20	phenol 苯酚	1.81	0.78	1.23				0.23								
21	1,3-dioxolane,2-cyclohexyl-4,5-dimethyl- 1,3-二氧戊环,2-环己基-4,5-二甲基	0.28	0.56	0.34					0.15						0.15	
22	pyrrole,2-1-naphthyl methyl 吡咯-2-(1-萘基甲基)										0.34	0.45	0.71			
23	2,4-dinitrofluorobenzene 2,4-二硝基氟苯				0.45	0.51	0.65	0.78	0.58	0.66				0.56	0.45	0.49
24	methyl di-2-propynylamine 甲基二-2-丙炔基胺				0.78	0.45	0.67	0.13	0.25	0.21				0.34	0.41	0.29
25	2-diisopropylaminoethyl fluoride 2-二异丙基氟	0.12	0.26	0.31												
26	1-octanol 正辛醇	0.55	2.03	1.77	0.85	0.32	1.56	1.03	0.91	0.56	0.23	0.49	2.07	0.78	1.69	0.31
27	2,4-dimethylpyrrole 2,4-二甲基吡咯				0.26	0.31	0.38	0.27	0.33	0.24				0.38	0.41	0.32
28	phenol,2-methoxy 愈创木酚	28.18	29.28	28.31	9.12	8.98	8.17	4.67	5.03	4.15	31.87	31.34	31.24	15.4	15.04	15.13
29	acetoxyacetic acid,4-hexadecyl ester 乙酰氧基乙酸,4-十六烷基酯	0.46	0.51	0.59							0.12					
30	hexadecanoic acid,14-methyl-,methyl ester 14-甲基十六烷酸甲酯	0.45	0.12	1.03	0.57	0.76	1.45	0.78	1.33	0.67	1.52	0.45	1.21	0.17	0.79	0.54
31	3-benzoquinoloxalin-2-yl-propionic acid 3-苯并喹啉-2-基-丙酸	0.19	0.23	0.29										0.15		
32	furan,2-methyl-5-(methylthio) 2-甲基-5-(甲硫基)-呋喃				0.17	0.29	0.11	0.25	0.31	0.34				0.21	0.39	0.41
33	benzene,1,4-dimethoxy 对苯二甲醚	1.45	1.16	1.77	1.98	1.23	0.31	1.76	0.89	0.32	0.56	0.79	1.04	0.33	0.98	1.67
34	4-hydrazono-5-hydroxyimino-4,5,6,7-tetrahydrobenzofurazan 4-亚肼基-5-羟基亚氨基-4,5,6,7-四氢苯并呋唑	0.34	0.21	0.27								0.11				
35	methyl butyrate 丁酸甲酯				0.11						0.28	0.37	0.31			
36	camphenilone 莰萜酮										0.15	0.29	0.37			
37	methanamine, <i>N</i> -(phenylmethylene)-, <i>N</i> -oxide 甲胺, <i>N</i> -(苯基亚甲基)- <i>N</i> -氧化物	0.19	0.21	0.34								0.11				
38	4-6-oxabicyclo[3.1.0]hex-1-yl-but-3-yn-2-one 4-6-氧杂二环[3.1.0]己-1-基-丁-3-炔-2-酮	0.13	0.11	0.27					0.11							
39	1,3,5-trithiane,2,4,6-trimethyl 1,3,5-三噻烷,2,4,6-三甲基				0.51	0.44	0.39	0.78	0.47	0.56				0.39	0.45	0.55
40	estragole 草蒿脑	0.46	0.55	1.01	0.98	0.67	0.55	0.66	2.03	1.96	0.85	1.95	0.53	1.07	0.33	0.78
41	benzenemethanol,4-methoxy 4-甲氧基苯醇	0.22	0.32	0.41									0.18			
42	acrylophenone,3,3-diphenyl-,semicarbazone 烯丙酰苯,3,3-二苯基-缩氨基脲				0.16	0.22	0.32	0.37	0.41	0.28				0.27	0.36	0.22
43	eugenol 丁香酚	3.21	3.67	3.78	3.45	4.11	2.19	3.69	4.03	4.11	5.01	4.77	4.33	3.96	3.64	3.13
44	copaene α -葎烯	0.3	0.67	0.79	0.51	0.66	1.01	0.42	0.88	1.12	1.01	0.34	0.59	0.97	1.51	0.61
45	methyl cinnamate 肉桂酸甲酯	0.31	0.81	0.47	0.67	0.15	0.91	0.78	0.39	1.24	0.21	0.75	0.69	1.12	1.89	2.03
46	santolina triene 艾蒿三烯	0.76	0.69	0.89												
47	pyridine-4-aldehyde, <i>N</i> -ethoxycarbonylhydrazide 吡啶-4-醛, <i>N</i> -乙氧羰基肼				0.12	0.19	0.28	0.31	0.27	0.38				0.29	0.31	0.49
48	vanillin 香兰素	31.14	30.78	30.98	48.12	48.33	47.98	51.17	52.34	51.98	24.15	23.18	23.87	42.12	42.98	41.16
49	1,2,5-oxadiazol-3-amine,4-[5-1-ethyl-3-methyl-4-pyrazolyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl 1,2,5-噁二唑-3-胺,4-[5-1-乙基-3-甲基-4-吡唑基]-1,2,4-噁二唑-3-基	0.22	0.23	0.18											0.12	
50	<i>N</i> ,2,2-diphenylethyl-2,2-dimethylpropionamide <i>N</i> -(2,2-二苯基乙基)-2,2-二甲基丙酰胺			0.19							0.26	0.28	0.45			

续表1

序号	化合物	相对含量/%														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
51	pyridine,1,4-dihydro-1-decyl-4-imino 吡啶,1,4-二氢-1-癸基-4-亚氨基				0.23						0.17	0.29	0.33			
52	phenol,2-methoxy-4-(2-propenyl)-,acetate 苯酚,2-甲氧基-4-2-丙烯基-乙	0.53	0.41	0.29										0.12		
53	<i>a-trans</i> -Bergamotene <i>a</i> -反式佛手柑油烯	0.22	0.78	0.52	0.21	0.98	0.52	0.78	0.41	0.87	0.89	0.11	0.78	0.74	0.87	0.56
54	4-amino-2-methyl-5,6-trimethy pyrimidine 4-氨基-2-甲基-5,6-三甲基嘧啶				0.23	0.27	0.31	0.45	0.37	0.55				0.39	0.28	0.19
55	<i>trans</i> -cyclohexene-4,5-diacetic acid 反-环己烯-4,5-二乙酸	0.44	0.67	0.71				0.17								
56	1-methyl-1-silacyclobutane 1-甲基-1-硅杂环丁烷										0.13	0.28	0.67			
57	acetamide,2-fluoro 氟乙酰胺				0.16	0.27	0.31	0.19	0.33	0.39				0.41	0.59	0.79
58	pentane,2,2,3,4-tetramethyl 2,2,3,4-四甲基戊烷				0.28	0.58	0.39	0.78	0.61	0.98				0.28	0.49	0.69
59	pyrrolo[2,3- <i>f</i>]quinoline,3-acetonitrile 吡咯并[2,3- <i>f</i>]的喹啉-3-乙腈	0.33	0.28	0.41							0.17					
60	3-heptyne,2,2-dimethyl 3-庚炔,2,2-二甲基										0.13	0.29	0.33			
61	2-oxazolidinone,3-methyl 2-恶唑烷酮,3-甲基	0.29	0.38	0.44												
62	1-caryophyllene 1-石竹烯	0.53	0.67	0.79	0.51	0.66	1.01	0.42	0.88	1.12	1.01	0.34	0.59	0.97	1.51	0.61
63	9-decen-2-one 9-癸烯-2-酮				0.1	0.19	0.38	0.16	0.48	0.61				0.31	0.23	0.57
64	1,3,2-dioxaborinane,2-ethyl-5,5-dimethyl 1,3,2-二氧杂硼烷,2-乙基-5,5-二甲基			0.11							0.16	0.29	0.42			
65	4-ethylbenzoic acid,cyclopentyl ester 4-乙基苯甲酸,环戊基酯										0.18	0.29	0.71			
66	hexanoic acid, methyl ester 己酸甲酯				0.2	0.31	0.47	0.67	0.41	0.59				0.47	0.41	0.65
67	benzaldehyde 苯甲醛	0.36	0.44	0.49												
68	1,3-dioxolane,4,5-dimethyl-2-pentadecyl 1,3-二氧戊环,4,5-二甲基-二十五烷基				0.11						0.8	1.09	0.76			
69	furan-2-carboxylic acid,3-formylphenyl ester 呋喃-2-羧酸,3-甲酰基苯基酯	0.61	0.78	0.48									0.16			
70	2-butylfuran 2-正丁基呋喃	0.78	1.04	0.22	1.2	1.89	0.77	0.85	2.01	0.42	1.34	1.78	0.69	0.56	0.82	0.71
71	5-amino-2,4-chlorophenyl-7-methyl-6-indolizinecarbonitrile 5-氨基-2,4-氯苯基-7-甲基-6-吲哚啉腈				0.74	0.69	0.61	0.56	0.78	0.45				0.45	0.71	0.55
72	1,3-dioxepane,2-pentadecyl 1,3-二氧杂环庚烷,2-十五烷基	0.95	1.23	0.89						0.18						
73	1,3-dioxolane,4-ethyl-2-pentadecyl 1,3-二氧戊环,4-乙基-2-十五烷基			0.19							0.45	0.68	0.98			
74	decanoic acid,methyl ester 癸酸甲酯				0.14						0.48	0.34	0.82			
75	2-octynoic acid,methyl ester 2-辛炔酸甲酯	0.19	0.32	0.29										0.17		
76	3-buten-1-ylphenyl sulfoxide 3-丁烯-1-基苯基砜				0.7	0.78	0.98	0.56	0.95	1.06				0.77	0.59	0.38
77	octane,1,1'-oxybis 正辛基醚	0.19	0.31	0.38												
78	heptacosane,1-chloro 二十七烷,1-氯			0.11							0.18	0.29	0.45			
79	1-adamantanol 1-金刚烷醇	1.01	1.54	0.67	0.3	0.96	0.12	0.49	0.33	0.74	0.98	0.31	0.73	0.67	1.03	1.55
80	dodecane,5-methyl 十二烷,5-甲基				0.15	0.23	0.28	0.34	0.18	0.54				0.79	0.51	0.62
81	2-octene,4-ethyl 2-辛烯,4-乙基										0.58	1.14	0.78			
82	12-tridecynoic acid,methylester 12-三癸炔酸甲酯	0.79	0.56	0.93												
83	nonadecane, 9-methyl 十九烷,9-甲基	0.32	0.56	0.61						0.17						
84	tricyclo[4.3.1.1(3,8)]undecan-1-ol 三环[4.3.1.1 (3,8)]十一碳烯-1-醇				0.39	0.44	0.78	0.72		0.98				0.39	0.56	0.41
85	2,3-benzo furandione 2,3-苯并呋喃二酮										2.09	2.93	1.56			
86	acetic acid,2-(<i>o</i> -nitrophenyl)hydrazide 乙酸2-(邻-硝基苯基)肼	0.17	0.29	0.38										0.19		
87	nonanoic acid, methyl ester (壬酸,甲酯)				0.55	0.67	0.89	0.81	0.93					0.69	0.74	0.98
88	cyclopentane,(1-methylethyl) 环戊烷,(1-甲基乙基)	0.14	0.28	0.53												
89	1-nonen-3-ol 1-壬烯-3-醇				0.34	0.56	0.61	0.49	0.76	0.44				0.77	0.53	0.84
90	3-methylpyridazine 3-甲基吡嗪	0.54	0.78	0.61								0.19				
91	2-hexenoic acid 2-己烯酸										1.89	1.53	2.45			
92	2-amino-2-thiazoline-4-carboxylic acid 2-氨基-2-噻唑啉-4-羧酸				1.78	1.23	1.11	0.98	0.58	1.21				1.38	1.21	1.66
93	nonanoic acid,9-hydroxy-,methyl ester 壬酸,9-羟基-甲基酯	0.66	0.54	0.49										0.15		
94	tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane,1,7,7-trimethyl 三环[2.2.1.0 (2,6)]庚烷,1,7,7-三甲基	0.76	0.79	0.29							0.31					
95	benzyl alcohol 苯甲醇										0.34	0.39	0.53			
96	1-dodecene 1-十二烯				0.33	0.56	0.61	0.62	0.78	0.45				0.76	0.64	0.39
97	acetoxycetic acid,3-pentadecyl ester 乙酰氧基乙酸,3-十五烷基酯				0.29	0.58	0.81	0.38	0.57	0.25				0.39	0.51	0.23
98	cyclopentane,propyl 环戊烷,丙基	0.32	0.49	0.17												
99	4-cyano cyclohexene 4-氰基环己烯										1.03	1.57	1.91			
100	1,3-dioxolane,2,2-diethyl 1,3-二氧戊环,2,2-二乙基				0.37	0.29	0.16	0.58	0.77	0.38				0.28	0.45	0.59
101	octanoic acid,methyl ester 基辛酸甲酯				0.51	0.78	0.59	0.66	0.43	0.49				0.29	0.44	0.53
102	1,3-dioxepane,2-pentadecyl 1,3-二氧杂环庚烷,2-十五烷基	0.33	0.56	0.19							0.17					
103	acetoxycetic acid,4-nitrophenyl ester 乙酰氧基乙酸,4-硝基苯酯				0.11						1.03	2.22	1.93			
104	1 <i>H</i> -indole,5-methyl-2-phenyl 1 <i>H</i> -吲哚,5-甲基-2-苯基										0.8	0.67	0.99			

区分中国海南、科摩罗、马达加斯加、中国福建、印度尼西亚的香荚兰豆。

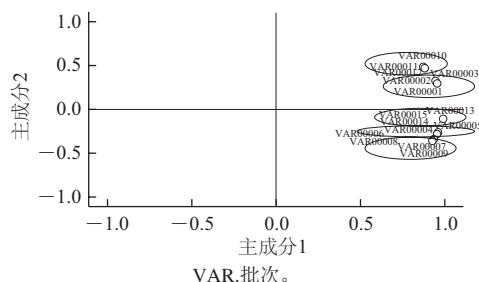


图2 15批香荚兰豆样品的主成分分析得分图

Fig.2 Principal component analysis of 15 batches of vanilla bean

2.2 系统聚类分析

利用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,对15个批次5个产地的香荚兰豆进行聚类分析。结果如图3所示,样本层次聚类分析聚成4类,样品1、2、3聚为一类,样品4、5、6聚为一类,7、8、9聚为一类,样品10、11、12聚为一类,13、14、15聚为一类。图3直观地显示了整个聚类过程,缩小了凭借主观判断造成的误差。聚类分析结果表明,不同产地的香荚兰豆具有明显的内在差异,同一产地的香荚兰豆在化学成分上具有相似性。

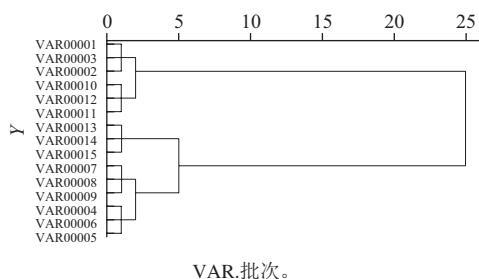


图3 15批次香荚兰豆样品的聚类分析结果

Fig.3 Cluster analysis of 15 batches of vanilla bean

3 讨论

采用HS-SPME-GC-MS联用技术对中国海南、科摩罗、马达加斯加、中国福建、印度尼西亚5个产地的香荚兰豆进行分析,该方法前处理简单,无需采用有机试剂,样品用量少,快速准确。共鉴定出了104种化合物,18种为共有成分,其中相对含量最高的为香兰素,5个产地香兰素的平均含量分别为30.97%、48.14%、51.83%、23.73%、42.09%,马达加斯加产香荚兰豆中香兰素的含量明显高于印度尼西亚、中国海南、中国福建3个产地,略高于科摩罗,可能是由于香荚兰豆的种植土壤、气候等生境条件不同,使植物次生代谢过程存在差异。

采用主成分分析法和聚类分析法2种化学模式识别

方法对HS-SPME-GC-MS分析所得数据进行处理,该方法不仅可以综合地反映相同产地香荚兰豆间的相似关系,而且可以全面地反映不同产地药材间的差异,使分析结果更为直观、客观。

参考文献:

- [1] 郭或. 香荚兰豆挥发性成分及其质量标准研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2013.
- [2] HANSEN E H, MØLLER B L, KOCK G R, et al. De novo biosynthesis of vanillin in fission yeast (*Schizosaccharomyces pombe*) and baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(9): 2765-2774.
- [3] 喻林. 桑肠杆菌VL4-3转化阿魏酸生产香兰素的研究[D]. 武汉: 湖北大学, 2012: 36.
- [4] 赵丽青. 微生物法转化异丁基酚生成香草醛的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2006: 19.
- [5] 董智哲, 谷凤林, 徐飞, 等. 固相微萃取和同时蒸馏萃取法分析海南香草兰挥发性成分[J]. 食品科学, 2014, 35(2): 158-163.
- [6] 丁靖坤, 孙汉董, 吴玉, 等. 国产香荚兰豆不同方法处理后的香气成分比较分析[J]. 香料香精化妆品, 1987, 36(2): 37-38.
- [7] 任洪涛, 周斌. 云南香荚兰挥发性成分研究[J]. 热带农业科技, 2007, 30(1): 25-30.
- [8] 陆舍铭, 曲国福, 孟昭宇, 等. GC/MS法分析香荚兰豆酊成分[C]//甘肃青宁色谱协作中心, 甘肃省化学会色谱委员会. 首届中国西部地区色谱学术交流会暨仪器展览会论文集. 兰州: 甘肃青宁色谱协作中心, 甘肃省化学会色谱委员会, 2006: 3.
- [9] 陈朋, 李红玉, 梁宁, 等. 香兰素的起源及生产技术进展[C]//2008中国香兰素及其上下游产业发展论坛论文集. 北京: 中国化工报社, 2008: 187-195.
- [10] 周庆礼, 张智维, 王昌禄, 等. 香兰素抑菌作用的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(增刊1): 23-25.
- [11] CAVA-RODA R M A, TABOADA-RODR G A, VALVERDE-FRANCO M A T, et al. Antimicrobial activity of vanillin and mixtures with cinnamon and clove essential oils in controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in milk[J]. Food Bioprocess Technology, 2012, 5(6): 2120-2131.
- [12] YU Qianyan, ZHANG Bo, WANG Lin, et al. Induction of apoptosis and autophagic cell death by the vanillin derivative 6-bromine-5-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde is accompanied by the cleavage of DNA-PKcs and rapid destruction of c-Myc oncoprotein in HepG2 cells[J]. Cancer letters, 2007, 252(2): 280-289.
- [13] HARINI S T, KUMAR H V, RANGASWAMY J, et al. Synthesis, antioxidant and antimicrobial activity of novel vanillin derived piperidin-4-one oxime esters: preponderant role of the phenyl ester substituents on the piperidin-4-one oxime core[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2012, 22(24): 7588-7592.
- [14] YEMIS G P, PAGOTTO F, BACH S, et al. Effect of vanillin, ethyl vanillin, and vanillic acid on the growth and heat resistance of *Cronobacter* species[J]. Journal of Food Protection, 2011, 74(12): 2062-2069.
- [15] 王洁. 一种芽孢杆菌J4-1发酵生产香兰素的研究[D]. 武汉: 湖北大学, 2012: 21.
- [16] 唐亚楠. 香兰素及其衍生物的制备技术研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012: 32.
- [17] 赵冰, 任琳, 陈文华, 等. 烟熏工艺对熏肉挥发性风味物质的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(6): 180-187.
- [18] 孙爱东. 苹果汁加工中典型芳香成分的形态、变化及香气调控的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2002: 47.
- [19] 黄罗生, 顾燕飞, 李红. 中药挥发油及芳香性药物的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(12): 1605-1611.
- [20] 陈鑫炳, 范素琴. 腊肉风味研究[J]. 肉类工业, 2010, 18(2): 31-34.
- [21] 马威, 方莹. BP网络模型在财务危机预警中的应用[J]. 财会月刊, 2009, 5(6): 51-54.