

· 资源与鉴定 ·

基于电子鼻及顶空-气质联用技术结合化学 计量学区分不同产地的砂仁

刘梦楚, 邹晓红, 蓝伦礼, 曹骋, 江滨, 曾元儿*
(广州中医药大学 中药学院, 广州 510006)

[摘要] 目的:采用电子鼻及自动顶空-气相色谱-质谱联用(HS-GC-MS)技术从整体香气轮廓和具体香气成分两个方面检测不同产地砂仁的香气物质,研究砂仁气味电子鼻响应的物质基础。方法:以广东、云南、缅甸、越南和老挝等不同产地砂仁药材为研究对象,利用电子鼻和 HS-GC-MS 技术检测其挥发性成分,采用双标图分析样品-传感器-挥发性化合物三者的联系。结果:电子鼻的 PCA 双标图显示不同产地的砂仁能较较好地被区分,识别指数为 83.90%,其中国产的阳春砂仁归为一类,进口的砂仁为一类;采用 HS-GC-MS 共鉴别得到萜烯、酯、醇、酮及烷烃类等 70 种挥发性成分,各类成分及含量在不同产地的砂仁中有明显不同,分类与电子鼻的结果相一致;PLS 双标图显示传感器 s14 和 s8/s6/s3 与萜烯类、酯类和醇类成分的高度相关性揭示了传感器与香气物质之间的内在关系。结论:利用化学计量学,电子鼻检测技术可区分不同产地的砂仁药材,结合自动顶空-气质联用色谱分析方法为砂仁的气味电子鼻响应的物质基础研究提供了进一步的实验依据。

[关键词] 香气特征;双标图;电子鼻;自动顶空气质联用;砂仁

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)06-0035-08

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017060035

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161228.1126.020.html>

[网络出版时间] 2016-12-28 11:26

Discrimination of Aromi Fructus from Different Origins Using Electronic Nose Combined with Headspace-Gas Chromatography-Mass Spectrometry Coupled and Chemometrics

LIU Meng-chu, ZOU Xiao-hong, LAN Lun-li, CAO Cheng, JIANG Bin, ZENG Yuan-er*

(School of Chinese Meterla Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

[Abstract] **Objective:** To detect aroma characteristics of Aromi Fructus from different origins by using electronic nose combined with automatic headspace-gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS) in two aspects, namely overall aroma profile and specific aroma composition, in order to study material basis of Aromi Fructus's odors. **Method:** With Aromi Fructus of different varieties and from different origins-Guangdong, Yunnan, Burma, Vietnam and Laos as a research subject, the volatile components were detected by using electronic nose and HS-GC-MS technique. A biplot was used to analyze the correlation among samples, E-nose gas sensors and chemical volatile compounds. **Result:** E-nose showed a good differentiation of Aromi Fructus from different origins, with the identification index of 83.9%. Homebred *Amomum villosum* was classified in class A, and imported Aromi Fructus was classified in class A. A total of 70 volatile components were identified by HS-GC-MS, including terpenes, esters, alcohols, ketone and alkane. Aromi Fructus of different varieties and from

[收稿日期] 20161009(020)

[基金项目] 云南省科技计划项目(2014-2017);南药研究协同创新中心基金项目(2011)

[第一作者] 刘梦楚,在读硕士,从事中药质量分析研究,Tel:15914493628,E-mail:383929289@qq.com

[通讯作者] *曾元儿,教授,从事中药及其制剂质量标准研究,E-mail:zengyuaner@163.com

different origins have different composition and content, with the same classification with the results of E-nose. A biplot of PLS displayed the high correlation between sensors s14, s8/s6/s3 and terpenes, esters and alcohols indicating that special sensors were highly correlated with some aroma constituents. **Conclusion:** Advanced chemometrics and E-nose are used to discriminate Aromi Fructus from different origins. By combining with HS-GC-MS technique, this study provides further experimental evidence for material bases of Aromi Fructus's odors.

[**Key words**] aroma characteristics; biplot; electronic nose; HS-GC-MS; Aromi Fructus

砂仁为姜科植物阳春砂,绿壳砂或海南砂的干燥成熟果实,具有化湿开胃,温脾止泻,理气安胎的功效^[1]。市场上砂仁可分为两类,国产砂仁主要是阳春砂仁;另一类为进口砂仁,来源于越南、缅甸、老挝等东南亚国家。国产砂仁供货紧缺,进口砂仁基源混杂,质量差,导致砂仁中药材市场以次充好、以假乱真的不良现象严重^[2-4]。气味鉴别在砂仁的品质分析中一直占有非常重要的地位。砂仁药材的挥发性成分多应用 GC-MS 进行分析^[5-7],但该方法在提取和分析过程中易对挥发性成分造成破坏,分析成本高而且耗时。电子鼻(electronic nose, EN)也称为人工嗅觉系统,是包括样品处理器、气体传感器阵列及信号处理系统^[8]的能够感知和识别气味的电子系统,已被广泛应用于食品^[9]、环境监测^[10]、药品^[11]等领域。邹慧琴等^[12]建立了砂仁药材的“品与质”电子鼻判别模型,完成了对阳春砂道地与非道地样品的区别,并且对其主要挥发性成分乙酸龙脑酯进行了半定量分析。但是对砂仁的气味电子鼻响应的物质基础研究尚无相关报道。本研究以

不同产地的砂仁药材为研究对象,利用电子鼻检测技术对砂仁样品挥发性成分进行分析,为实现与电子鼻分析结果的最大可能关联,采用自动顶空-气相色谱-质谱联用(HS-GC-MS)对中药原粉气味进行平行测定,为砂仁产生气味的具体化学物质与传感器反应机制提供进一步的试验依据,为中药电子鼻的传感器阵列特异性、专属性的探讨与开发奠定基础。

1 材料

I-Nose 型电子鼻(14 根不同性质的金属氧化物半导体传感器),Smartnose 数据采集软件(上海瑞玢国际贸易有限公司);7890B-5975C 气相色谱质谱联用仪,7697A 自动顶空进样器(美国 Agilent 公司);AEG-200 型分析天平(日本岛津公司)。

本研究所用的 22 批砂仁样品是在广东、云南、广西等砂仁主产区及广州清平,云南螺蛳湾,广西浦寨和爱店口岸等主要药材市场采集获得。样品经广州中医药大学中药学院黄海波教授鉴定,样品信息见表 1。

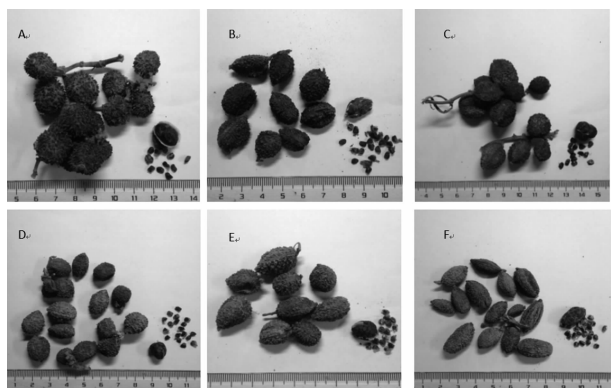
表 1 砂仁样品来源

Table 1 Aromi Fructus samples from different origins

No.	样品名	拉丁名	产地	样品来源
1	阳春砂仁	<i>Amomum villosum</i>	云南	勐腊县尚勇
2	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	云南	勐腊县勐伴镇
3	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	云南	勐腊县尚勇南浪村
4	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	云南	金平县黄牛克
5	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	云南	勐腊县补蚌村
6	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	云南	金平县马鞍底
7	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	云南	金平县大寨
8	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	广东	春湾镇大垌村三坑
9	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	广东	永宁镇高寨村跳底
10	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	广东	永宁镇高寨村沙坪小队
11	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	广东	春城蟠龙金花坑
12	长序砂仁	<i>A. thyrsoideum</i>	缅甸	广西大同巷药材市场
13	长序砂仁	<i>A. thyrsoideum</i>	缅甸	云南螺蛳湾药材市场
14	长序砂仁	<i>A. thyrsoideum</i>	缅甸	云南螺蛳湾药材市场
15	长序砂仁	<i>A. thyrsoideum</i>	缅甸	云南螺蛳湾药材市场
16	长序砂仁	<i>A. thyrsoideum</i>	缅甸	云南螺蛳湾药材市场
17	长序砂仁	<i>A. thyrsoideum</i>	缅甸	云南螺蛳湾药材市场
18	珠母砂	<i>Amomum</i> sp.	越南	广州清平药材市场
19	珠母砂	<i>Amomum</i> sp.	越南	广西爱店口岸
20	珠母砂	<i>Amomum</i> sp.	越南	广西浦寨口岸
21	绿壳砂	<i>A. villosum</i> var. <i>xanthioides</i>	老挝	云南蒙自
22	阳春砂仁	<i>A. villosum</i>	老挝	云南蒙自

注:来源于市场的砂仁样品的产地来源信息系询问药商所得。

从外观形态上比较不同品种砂仁,可以看出广东、云南和老挝所产阳春砂仁呈椭圆形或卵圆形,有不明显的三棱,表面棕褐色,密生刺状突起,果皮薄而软。绿壳砂外观与阳春砂仁相似,但果皮为浅棕色,体质较轻泡。市售商品中常见进口砂仁的伪品,有红壳砂仁、海南假砂仁、长序砂仁、疣果砂仁等。云南螺蛳湾中药材市场上出现的砂仁均为缅甸进口的长序砂仁,与阳春砂仁比较,果实长圆形,表面灰棕色,有明显纵棱,果皮厚不易撕裂,气无。广西各大口岸的越南进口砂仁与阳春砂仁相比,果实小,类圆形,刺状突起稀疏,果皮薄而脆,气微。见图 1。



A~C. 广东、云南、老挝所产阳春砂仁(编号 11, 6, 22); D. 市场收集的越南砂仁(编号 18); E. 老挝所产的绿壳砂(编号 21); F. 市场收集的缅甸砂仁(编号 16)

图 1 不同品种砂仁外观性状

Fig. 1 Appearance of different varieties of Aromi Fructus

2 方法

2.1 电子鼻检测 将样品捣碎,过 1 号筛,称取约 0.1 g,置 20 mL 顶空进样瓶,压盖密封。用空气清洗传感器,清洗时间 60 s。采用动态顶空法采集气体,在吸入检测气体的同时,样品上部的气体是持续流动的,并将样品挥发性成分不断吹出,由微型真空泵将气体吸入检测室,气体流速为 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,数据获取时间为 600 s,获取周期为 1 s。

2.2 HS-GC-MS 检测 样品捣碎后过 1 号筛,精密称定 0.5 g,置 20 mL 顶空进样瓶中,压盖密封。

自动顶空进样器条件:顶空平衡温度 $80 \text{ }^\circ\text{C}$,传输线温度 $110 \text{ }^\circ\text{C}$,进样针温度 $120 \text{ }^\circ\text{C}$,平衡时间 20 min,气相循环时间 50 min。

色谱条件:AB-5 色谱柱($250 \mu\text{m} \times 30 \text{ m}$, $0.25 \mu\text{m}$),进样口温度 $230 \text{ }^\circ\text{C}$;分流进样,分流比 5:1;升温程序,初始温度 $50 \text{ }^\circ\text{C}$,保留 3 min,以 $6 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $100 \text{ }^\circ\text{C}$,保留 2 min,以 $6 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $140 \text{ }^\circ\text{C}$,保留 2 min,以 $4 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $185 \text{ }^\circ\text{C}$,保留 3 min,

以 $30 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $230 \text{ }^\circ\text{C}$,保留 2 min。

质谱条件:电离模式,电子轰击离子源 70 eV ,离子源温度 $280 \text{ }^\circ\text{C}$,传输线温度 $280 \text{ }^\circ\text{C}$,质量扫描范围 $m/z 35 \sim 500$ 。

2.3 数据处理 采用双标图分析本研究中传感器-挥发性化合物两向数据可以对试验结果的相关性进行直观比较。根据 I-Nose 型电子鼻检测砂仁样品的响应信号图谱可知(图 2),响应值从零开始逐渐增大,增大到一定值后趋于稳定。因此,选取各传感器的稳定值为特征值,进行主成分分析(PCA)。HS-GC-MS 检测时化合物的鉴定采用 NIST 谱库检索(匹配度要求达到 90% 以上)和参考相关文献,定量采用峰面积归一化法;相同产地砂仁药材的各化合物相对含量以 $\bar{x} \pm s$ 表示,对共有成分的相对含量进行 Duncan's multiple range test 分析,挑选具有显著性差异成分,SPSS 22.0 软件处理完成。对挑选出的不同产地砂仁样品的共有成分及独有成分(共 46 个)的含量分别进行主成分分析。46 个化合物的相对质量分数和 14 根传感器的特征值作偏最小二乘分析(PLS)。双标图用来图解 PCA 和 PLS 两向数据表所得出的结果,用 Unscrambler Software 10.3 分析完成。

3 结果

3.1 不同来源砂仁气味成分分析 利用 I-Nose 型电子鼻系统,对不同来源的砂仁样品气味成分进行检测分析。样品的响应强度对应于各传感器的相对电阻变化率,测量样品挥发性成分特征时,获得电子鼻 14 个传感器的响应值。3 号样品的电子鼻检测原始响应曲线见图 2。

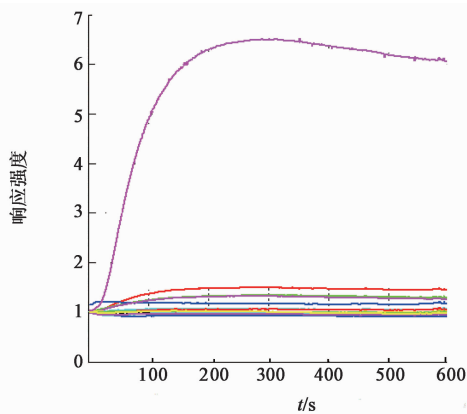


图 2 3 号砂仁样品电子鼻传感器响应强度曲线

Fig. 2 Response curves of No. 3 Aromi Fructus detected by E-nose

3.1.1 不同产地砂仁样品响应值分析 5 个不同产地砂仁样品平均响应值的雷达见图 3。14 个传感

器对各样品的信号差异较小,各样品在气味组成上表现一致,其中广东和云南的样品在 s8 传感器的响应值比其他样品明显较大。结果表明广东、云南两地的阳春砂仁与东南亚进口砂仁气味有差异,这与云南产阳春砂最接近于阳春道地产区的品质说法相一致。雷达图对不同产地砂仁区分的准确性较差,需用统计学方法进行处理。

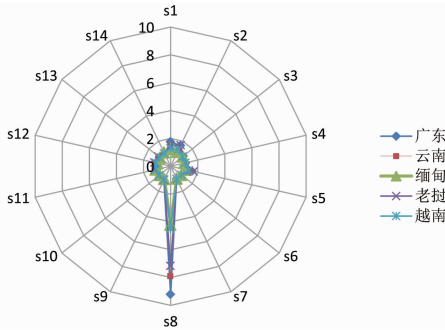


图 3 5 种不同产地砂仁气味雷达
Fig. 3 Radar map of Aromi Fructus's odors from five different origins

3.1.2 样品气味与电子鼻传感器的联系 样品气味与电子鼻传感器的联系用电子鼻数据的 PCA 双标图表示,结果见图 4。结果显示 PCA 主成分的累积贡献量为 83.9%,说明其保留了原始数据中大部分的信息量。各个样品间的差异在 PCA 区分上较为明显,其差别主要表现在信息权重为 PC2 (31.1%) 的纵轴上。由图可知,国内广东和云南的阳春砂仁样品均分布于 PC2 的正上轴方向,两地有交集说明气味差别小可归为一类;而东南亚各国进口的样品均分布于 PC2 的负下轴方向,说明国内外的砂仁样品气味区别大。缅甸和越南的非正品砂仁样品距离较短,气味差别小可以聚为一类,老挝进口的阳春砂仁和绿壳砂则接近于国产的阳春砂仁样品。同时可以看到传感器 s8/s6/s3 倾向于国产阳春砂,而 s14 倾向于东南亚进口砂仁。考虑到传感器的特性(表 2),s8/s6/s3 对于酯类和醇类化合物更灵敏,而 s14 对于萜烯类化合物较灵敏;所以可以推测萜烯、酯类和醇类化合物与药材分类有重要联系。

3.2 HS-GC-MS 分析

3.2.1 砂仁样品的挥发性成分分析 为了得出能有效区分不同产地砂仁样品的特征气味成分,经 GC-MS 顶空分析鉴别所得的挥发性成分及其相对质量分数结果见表 3。共鉴别得到 70 种化合物:萜烯类 47 种,醇类 7 种,酯类 5 种,酮类 3 种,其他烷烃类 8 种。所有砂仁样品的萜烯类化合物的共有成

表 2 在气味检测中不同类型传感器及其应用的总结

Table 2 Summary for different types of sensors and their application in odor detection

传感器	敏感成分
s1	脂肪烃含氧衍生物类,小分子的醇、醛、酮、酸、酯
s2	氮氧化合物,低分子胺类,多为食物腐败后的产物
s3	生物合成(萜类、酯类)加热、烘烤等
s4	氨类
s5	硫化物类
s6	芳香族化合物类:酚、酚醚、芳香醛有芳香气味
s7	食物烹调中的挥发的的气体
s8	有机酸酯和萜类为主,其次是醇、酮、酸等
s9	氢类
s10	碳氢化合物
s11	香菇精、鲜蘑菇中主要是辛烯-[3]-醇-[1]为特征气味物挥发性
s12	硫化物
s13	乙烯
s14	有机化合物烷类、芳烃类、烯类、卤烃类、醛类、酮类等

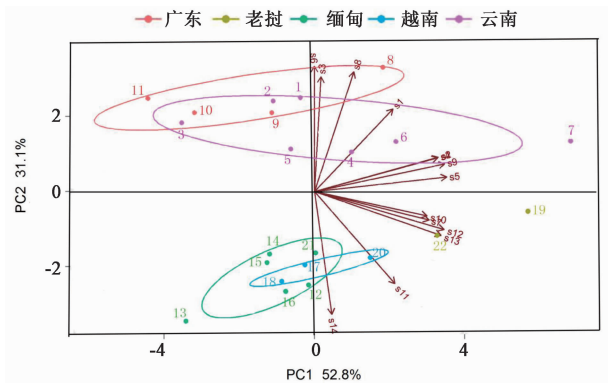


图 4 不同产地的砂仁电子鼻数据主成分分析双标
Fig. 4 Biplot of principal component analysis (PCA) based on E-nose data of different origins

分有 27 种,其中樟脑的含量变化在不同来源之间差异较大,缅甸产长序砂仁(30.1%)是广东阳春砂(16.3%)的 2 倍,与相关文献报道一致^[13]。可巴烯的相对质量分数广东(1.8%),云南(2.1%),老挝(2.3%),是缅甸(0.23%)的 9 倍。国产阳春砂特有的萜烯类化合物有 α -衣兰油烯、香树烯、表圆线藻烯和 γ -榄香烯;缅甸特有的萜烯类化合物有 γ -衣兰油烯, β -姜黄烯, β -杜松烯和异喇叭烯;而越南特有的萜烯类化合物是白菖烯和长叶烯;老挝特有的则是甲酸异龙脑。(+) - 表二倍半水芹烯和 α -愈创木烯是广东、云南和老挝所产阳春砂仁和绿壳砂共有而缅甸和越南的进口砂仁所没有的。可得出萜烯类化合物在不同产地砂仁药材中的种类不一致,可作为区分不同产地砂仁气味的依据。

表 3 HS-GC-MS 鉴定不同产地砂仁的挥发性成分分析 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Table 3 Volatile compounds of Aromi Fructus by HS-GC-MS ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

%

峰号	成分	广东阳春砂	云南阳春砂	缅甸砂	越南砂	老挝砂	被挑选成分
1	γ -松油烯	1.19 ± 0.10	1.21 ± 0.47	1.07 ± 0.39	1.21 ± 0.54	1.92 ± 0.69	-
2	α -蒎烯	6.26 ± 0.30	4.84 ± 1.65	4.58 ± 0.68	6.45 ± 3.30	5.56 ± 2.59	-
3	蒎烯	11.77 ± 1.43	11.96 ± 2.30	10.81 ± 1.10	11.93 ± 2.32	14.59 ± 3.01	-
4	β -水芹烯	0.08 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.05	-
5	β -蒎烯	0.40 ± 0.03	0.32 ± 0.06	0.22 ± 0.06	0.45 ± 0.40	0.38 ± 0.03	-
6	β -月桂烯	5.13 ± 0.56	5.57 ± 1.23	6.21 ± 0.70	4.99 ± 0.41	5.69 ± 0.68	-
7	α -水芹烯	1.03 ± 0.15	1.13 ± 0.35	0.75 ± 0.13	0.95 ± 0.51	1.52 ± 0.55	-
8	(+)-4-蒎烯	0.21 ± 0.04 ^{bc}	0.28 ± 0.06 ^{ab}	0.13 ± 0.05 ^c	0.16 ± 0.09 ^c	0.35 ± 0.04 ^a	G1
9	D-柠檬烯	10.51 ± 0.57	10.81 ± 2.54	10.84 ± 0.79	10.75 ± 2.36	11.77 ± 1.76	-
10	桉树脑	0.57 ± 0.05	0.68 ± 0.13	0.75 ± 0.11	0.59 ± 0.09	0.73 ± 0.22	-
11	(+)-3-蒎烯	0.30 ± 0.06 ^{ab}	0.41 ± 0.06 ^a	0.19 ± 0.06 ^b	0.27 ± 0.14 ^{ab}	0.34 ± 0.334 ^{ab}	G2
12	α -异松油烯	0.47 ± 0.06 ^{ab}	0.47 ± 0.16 ^{ab}	0.25 ± 0.08 ^b	0.29 ± 0.14 ^b	0.63 ± 0.06 ^a	G3
13	樟脑	16.34 ± 1.56 ^c	19.32 ± 1.88 ^{bc}	30.14 ± 1.31 ^a	24.33 ± 8.60 ^a	20.88 ± 3.62 ^b	G4
14	异龙脑	0.67 ± 0.50 ^b	0.76 ± 0.46 ^{ab}	0.14 ± 0.04 ^b	0.58 ± 0.29 ^b	1.35 ± 0.77 ^a	G5
15	龙脑	4.45 ± 2.17	5.05 ± 2.41	6.39 ± 1.71	4.15 ± 2.86	2.88 ± 0.68	-
16	α -葑烯油萜	0.12 ± 0.03 ^a	0.12 ± 0.03 ^a	0.06 ± 0.02 ^b	0.06 ± 0.04 ^b	0.08 ± 0.02 ^{ab}	G6
17	可巴烯	1.84 ± 0.46 ^a	2.10 ± 0.38 ^a	0.23 ± 0.26 ^b	1.30 ± 1.09 ^a	2.03 ± 0.46 ^a	G7
18	α -香柠檬烯	0.08 ± 0.02	0.08 ± 0.04	0.11 ± 0.04	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.03	-
19	石竹烯	0.39 ± 0.23 ^b	0.98 ± 0.42 ^b	2.70 ± 0.83 ^a	1.24 ± 0.92 ^b	0.39 ± 0.32 ^b	G8
20	trans- α -香柠檬烯	0.41 ± 0.06 ^a	0.39 ± 0.18 ^a	0.16 ± 0.08 ^b	0.30 ± 0.08 ^{ab}	0.34 ± 0.13 ^{ab}	G9
21	(E)- β -合欢金烯	0.21 ± 0.02	0.27 ± 0.06	0.22 ± 0.10	0.30 ± 0.16	0.16 ± 0.07	-
22	蛇麻烯	0.12 ± 0.04 ^b	0.25 ± 0.09 ^{ab}	0.37 ± 0.12 ^a	0.22 ± 0.14 ^{ab}	0.12 ± 0.04 ^b	G10
23	香橙烯	0.18 ± 0.02 ^b	0.15 ± 0.03 ^b	0.19 ± 0.04 ^b	0.30 ± 0.08 ^a	0.06 ± 0.04 ^c	G11
24	α -可巴烯	0.07 ± 0.02 ^b	0.06 ± 0.03 ^b	0.28 ± 0.18 ^a	0.03 ± 0.03 ^b	0.02 ± 0.01 ^b	G12
25	β -人参烯	0.19 ± 0.12	0.18 ± 0.12	0.16 ± 0.11	0.20 ± 0.11	0.02 ± 0.02	-
26	双环吉马烯	1.42 ± 0.42 ^a	1.07 ± 0.15 ^{ab}	0.60 ± 0.27 ^{ab}	1.28 ± 1.46 ^{ab}	0.41 ± 0.25 ^b	-
27	β -甜没药烯	0.21 ± 0.02 ^b	0.20 ± 0.05 ^b	0.81 ± 0.35 ^a	0.18 ± 0.06 ^b	0.11 ± 0.05 ^b	G13
28	β -榄香烯	-	-	0.44 ± 0.16	0.30 ± 0.06	-	T1
29	香附子烯	-	-	0.07 ± 0.02	-	0.08 ± 0.00	T2
30	3-蒎烯	0.03 ± 0.02	0.06 ± 0.02	-	-	0.11 ± 0.11	T3
31	衣兰烯	0.09 ± 0.04	0.09 ± 0.07	-	0.09 ± 0.07	0.07 ± 0.04	T4
32	(+)-表二环倍半水芹烯	0.52 ± 0.12	0.37 ± 0.12	-	-	0.12 ± 0.01	T5
33	α -愈创木烯	0.06 ± 0.01	0.07 ± 0.04	-	-	0.07 ± 0.04	T6
34	喇叭烯	0.10 ± 0.03	0.12 ± 0.07	-	0.21 ± 0.13	-	T7
35	1H-苯并环康烯	0.17 ± 0.01	0.13 ± 0.07	-	-	0.10 ± 0.04	T8
36	(+)-香橙烯	0.06 ± 0.02	0.06 ± 0.04	-	0.04 ± 0.03	0.05 ± 0.04	T9
37	α -衣兰油烯	0.12 ± 0.05	0.10 ± 0.05	-	-	-	T10
38	香树烯	0.07 ± 0.02	0.05 ± 0.03	-	-	-	T11
39	表圆线藻烯	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.02	-	-	-	T12
40	γ -榄香烯	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01	-	-	-	T13

续表 3

峰号	成分	广东阳春砂	云南阳春砂	缅甸砂	越南砂	老挝砂	被挑选成分
41	γ -衣兰油烯	-	-	0.51 ± 0.17	-	-	T14
42	β -姜黄烯	-	-	0.43 ± 0.24	-	-	T15
43	β -杜松烯	-	-	0.43 ± 0.24	-	-	T16
44	异喇叭烯	-	-	0.14 ± 0.08	-	-	T17
45	白菖烯	-	-	-	0.04 ± 0.03	-	T18
46	长叶烯	-	-	-	0.09 ± 0.05	-	T19
47	甲酸异龙脑	-	-	-	-	0.08 ± 0.02	T20
48	3,7-二甲基,1,6-辛二烯-3 醇	0.44 ± 0.12 ^b	0.46 ± 0.11 ^b	2.65 ± 1.16 ^a	0.49 ± 0.17 ^b	0.53 ± 0.25 ^b	G14
49	松油烯-4-醇	0.38 ± 0.11 ^{ab}	0.45 ± 0.16 ^a	0.25 ± 0.05 ^b	0.25 ± 0.05 ^b	0.36 ± 0.02 ^{ab}	G15
50	α -松油醇	0.25 ± 0.09	0.34 ± 0.11	0.27 ± 0.07	0.21 ± 0.10	0.23 ± 0.10	-
51	内式-(1R)-1-7-7-三甲基-双环[2.2.2]庚-2-醇	0.16 ± 0.04 ^{ab}	0.19 ± 0.08 ^a	0.08 ± 0.04 ^b	0.07 ± 0.03 ^b	0.15 ± 0.08 ^{ab}	G16
52	β -檀香醇	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.04	-	-	-	T21
53	(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇	-	-	0.17 ± 0.01	-	-	T22
54	反式香芹醇	-	-	-	0.03 ± 0.01	-	T23
55	乙酸松油酯	0.11 ± 0.03 ^b	0.18 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.03 ^b	0.08 ± 0.01 ^b	0.07 ± 0.01 ^b	G17
56	乙酸龙脑酯	31.09 ± 1.96 ^a	28.06 ± 4.89 ^a	12.81 ± 1.00 ^c	23.3 ± 3.43 ^b	23.63 ± 2.39 ^b	G18
57	<i>trans</i> - β -丁酸松油酯	0.16 ± 0.04	0.17 ± 0.06	-	-	0.18 ± 0.06	T24
58	5-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-己烯-1-醇乙酸酯	-	-	0.17 ± 0.05	-	-	T25
59	乙酸辛酯	-	-	0.13 ± 0.04	-	-	T26
60	L-葑酮	0.13 ± 0.02	0.09 ± 0.04	0.12 ± 0.05	0.08 ± 0.02	0.05 ± 0.01	
61	D-香芹酮	-	-	-	0.06 ± 0.01	-	T27
62	4,6,6-三甲基-双环[3.1.1]庚-3-烯-2-酮	-	-	-	0.02 ± 0.00	-	T28

注:采用 Duncan's multiple range test 方法分析,同一行不同字母表示显著性差异($P < 0.05$);G 为共有成分;T 为特有成分。

对于醇类化合物,所有砂仁样品的共有化合物是松油烯-4-醇, α -松油醇,3,7-二甲基,1,6-辛二烯-3 醇和内式-(1R)-1-7-7-三甲基-双环[2.2.2]庚-2-醇。其中 3,7-二甲基,1,6-辛二烯-3 醇的相对质量分数 缅甸 (2.65%) 是 广东 (0.44%), 云南 (0.46%), 越南 (0.49%) 和 老挝 (0.53%) 的 6 倍。而国产阳春砂特有的醇类化合物有 β -檀香醇,缅甸特有的是 (Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇,越南特有的则是反式香芹醇。

对于酯类化合物,所有砂仁样品的共有化合物是乙酸松油酯,乙酸龙脑酯。乙酸龙脑酯 广东 (31.1%) 和 云南 (28.1%) 是 缅甸 (12.8%), 越南 (23.3%) 和 老挝 (23.6%) 的 1~2 倍。反式 β -丁酸松油酯是 广东、云南 和 老挝 产 阳春砂 和 绿壳砂 的 共有成分。5-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-己烯-1-醇乙酸酯和乙酸辛酯是 缅甸 特有的酯类化合物。对于酮类化合物,L-葑酮是所有砂仁样品的共有成分,其相

对含量在各来源砂仁中没有差异;D-香芹酮和 4,6,6-三甲基-双环[3.1.1]庚-3-烯-2-酮是越南的特有成分,其相对质量分数分别是 0.06% 和 0.02%, 不足 1%。说明酮类化合物对区分不同产地砂仁药材的影响不大。

3.2.2 样品气味与具体化学成分的联系 为了确定是哪一类挥发性成分在区分产地砂仁上起着重要作用,从中挑选出 46 种化合物作 PCA 分析(表 3)。挑选出的化合物应满足以下条件:排除了 8 种烷烃类化合物,因为有关文献研究其没有香气特征^[14];对于共有成分,通过 Duncan's multiple range test 对各成分相对质量分数进行分析,挑选出具有显著性差异的化合物;挑选出不同产地的特有成分,因为可认为其是区分不同砂仁药材的关键化合物。一共挑选出 46 种化合物,包括 33 种萜烯类,6 种醇类,5 种酯类和 2 种酮类。分别用共有成分和特有成分的相对含量作 PCA 分析,结果见图 5,6。从两组 PCA 的

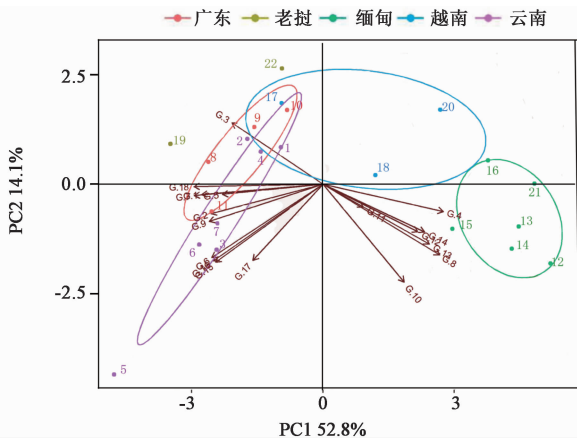


图 5 18 种共有挥发性化合物的 PCA 分析双标
Fig. 5 Biplot of PCA based on 18 shared aroma constituents

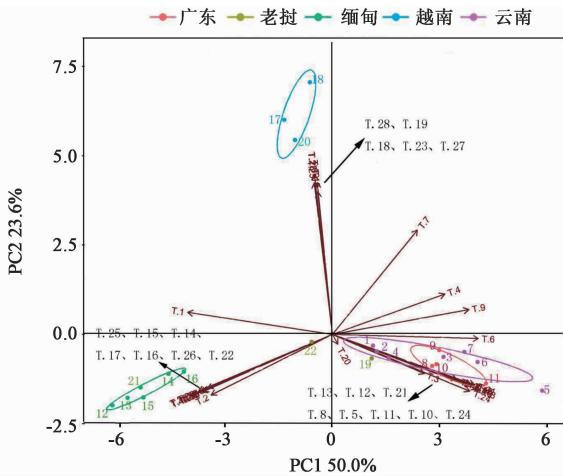


图 6 28 种特有挥发性化合物的 PCA 分析双标
Fig. 6 Biplot of PCA based on 28 special aroma constituents

双标图中可以看到,各个产地的砂仁样品分布在不同的区域。在特有成分的 PCA 图中区分效果更明显,国产阳春砂仁集中在第四象限,老挝产的阳春砂仁和绿壳砂的数据点落于国内和缅甸之间,与电子鼻的 PCA 结果图相一致。图 5 中显示,樟脑(G4)和 3,7-二甲基,1,6-辛二烯-3 醇(G14)落在右侧区域指向缅甸砂; α -异松油烯(G3),乙酸龙脑酯(G18),可巴烯(G7),松油烯-4-醇(G15)则落在左侧区域指向国产阳春砂仁。表明上述化合物在区分各砂仁样品上起着重要作用。图 6 显示大部分化合物都能区分不同产地砂仁样品,其中 1H-苯并环康烯(T8),*trans*- β -丁酸松油酯(T24), β -檀香醇(T21), α -衣兰油烯(T10)和表圆线藻烯(T12)集中在 PC1 的正轴方向,是区分国产阳春砂仁样品与其余进口砂仁样品的重要挥发性成分。而 β -姜黄烯(T15),异喇叭烯(T17)和 5-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-己烯-1-醇乙酸酯(T25)聚集在 PC1 的负轴方

向,主要区分缅甸进口砂仁样品;白菖烯(T18),长叶烯(T19)和反式香芹醇(T23)集中在第一象限,其差异性体现在 PC2 正轴上,主要区分越南进口的砂仁样品。上述 17 种化合物主要是萜烯、酯类和醇类,与 3.2.1 中的分析相一致。挥发性成分与传感器之间的反应机制值得探究。

3.2.3 电子鼻和 HS-GC-MS 的关联 为研究砂仁产生气味的具体化学物质与电子鼻传感器的反应机制,对 46 种化合物和 14 根传感器的数据作 PLS 双标图分析,结果见图 7。可见传感器 s14 分布在坐标图的左侧外围,而传感器 s8/s3/s6 分布在坐标图的右侧外围。传感器与各化合物在图上的距离越短,代表其相关性越高。例如传感器 s8 与乙酸龙脑酯(G18),可巴烯(G7),1H-苯并环康烯(T8)和 *trans*- β -丁酸松油酯(T24)具有紧密关联,这在电子鼻和 HS-GC-MS 的 PCA 图的结果中亦有表明。因为在图 4 中可知 s8 是区分国内阳春砂和进口砂仁样品的重要传感器,而乙酸龙脑酯(G18),可巴烯(G7),1H-苯并环康烯(T8)和 *trans*- β -丁酸松油酯(T24)在图 5 和图 6 中也是区分国产阳春砂仁样品与其余进口砂仁样品的重要挥发性成分。同样,传感器 s3/s6 与 T10, T12, T21, T13, T5, G6;传感器 s14 与 G4, G14, T15, T25, T17 具有紧密关联。因此推测部分萜烯类、酯类和醇类成分可引起传感器 s8/s3/s6 与 s14 的变化,从而达到区分不同产地砂仁样品的目的。

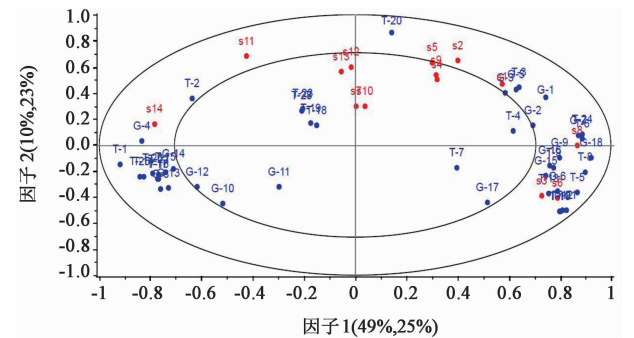


图 7 挥发性成分和电子鼻传感器相关性的双标
Fig. 7 Biplot for correlation between volatile constituents and E-nose sensors

4 结论

本研究运用电子鼻和自动顶空-气质联用技术分别从整体香气轮廓和具体香气组分两方面检测不同产地砂仁药材的香气成分。根据电子鼻分析的 PCA 图可知,国内和国外的砂仁样品分别分布在图的两侧,距离远,表明其样品间的气味特征存在明显

差异;缅甸和越南进口的砂仁样品的数据点分布区域比较集中,说明其气味特征表现出良好的一致性。广东和云南砂仁样品的数据点虽在同一区域,但分布得比较散,这可能与所选砂仁药材的加工方式(自然晾干或柴火烘干)不同有关。根据传感器的特性,提示砂仁样品中萜烯类、酯类和醇类成分可能是刺激传感器 s14 和 s8/s6/s3 的主要香气物质。利用 HS-GC-MS 对香气成分作进一步研究,鉴别得到 70 种挥发性成分,并对其种类和相对质量分数进行统计分析得出萜烯类、酯类和醇类是区分不同产地砂仁药材的主要成分。HS-GC-MS 与电子鼻的 PCA 结果相一致。本研究显示,电子鼻技术对不同产地的砂仁样品气味进行了良好的识别,采用自动顶空进样 GC-MS 技术得到砂仁气味电子鼻响应的物质基础,为中药产生气味的物质基础与传感器反应机制提供了进一步的实验依据。

[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,2015:253.
[2] 李光,李学兰,唐德英,等. 砂仁药材质量现状分析[J]. 中国中药杂志,2016,41(9):1608-1616.
[3] 陈建设,李海涛,唐德英,等. 云南昌春砂产业现状与发展对策[J]. 中国现代中药,2015,17(7):690-703.
[4] 许舜军,杨柳,谢培山,等. 中药气味鉴别的研究现状和展望[J]. 中药新药与临床药理,2011,22(2):228-230.
[5] 曾志,席振春,蒙绍金,等. 不同品种砂仁挥发性成分及质量评价研究[J]. 分析测试学报,2010,29(7):

701-706.

[6] 欧阳霄妮,张展,张丹雁. 道地产区不同居群阳春砂挥发油化学成分分析[J]. 现代中药研究与实践,2010,24(6):7-8.
[7] 宋国新,邓春晖,吴丹,等. 静态顶空-固相微萃取-气相色谱/质谱分析砂仁的挥发性成分[J]. 复旦学报:自然科学版,2004,43(4):676-679.
[8] 邹慧琴,刘勇,陶欧,等. 电子鼻 MOS 传感器阵列优化及其在中药材快速鉴别中的应用[J]. 中国中药杂志,2013,38(2):16-165.
[9] 周红标,张宇林,李珊,等. 基于电子鼻的猪肉新鲜度的检测[J]. 现代食品科技,2013,29(6):1386-1389.
[10] Kuske M, Romain A C, Nicolas J. Microbial volatile organic compounds as indicators of fungi. Can an electronic nose detect fungi in indoor environments? [J]. Build Environ,2005,40(6):824-831.
[11] 韩玉. 电子鼻在苍术质量评价中的应用研究[D]. 北京:北京中医药大学,2011.
[12] 邹慧琴,拱健婷,赵丽董,等. 中药砂仁“品与质”电子鼻判别模型的建立[J]. 国际药学研究杂志,2015,42(4):513-518.
[13] 丁平,杜景峰,魏刚,等. 砂仁与长序砂仁挥发油化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2001,36(4):19-21.
[14] Lee S K, Kim J H, Sohn H J, et al. Changes in aroma characteristics during the preparation of red ginseng estimated by electronic nose, sensory evaluation and gas chromatography/mass spectrometry[J]. Sens Actuators B Chem,2005,106(1):7-12.

[责任编辑 邹晓翠]