

研究报告

Research Report

HS-SPME-GC-MS 联用测定浙江省 7 种樱属植物花的挥发性成分

付涛 王志龙* 李文 陈际伸

宁波城市职业技术学院/浙江园林绿化技术协同创新中心, 宁波, 315100

* 通信作者, wangzh101@163.com

摘要 比较浙江省樱属 7 种植物花中挥发性成分组成的差异, 并探讨 7 种植物之间的亲缘关系, 为中国樱属植物的资源利用提供理论依据。采用顶空固相微萃取(HS-SPME)方法处理样品, 并优化前处理条件, 结合气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术测定樱属 7 种植物花中的挥发性成分, 比较 7 种植物花中的成分差异, 并应用 SPSS 22 软件进行主成分分析(PCA), 从得分图中可以较为清楚地表达 7 种樱属植物间的彼此关系。结果表明, HS-SPME 最佳的萃取条件为 1.0 g 的样品用量、70°C 的吸附水浴温度以及 40 min 的吸附时间。通过 GC-MS 测定并定性分析, 浙江省 7 种樱属植物花的挥发性成分共鉴定出 42 种挥发成分, 其中野生早樱鉴定出的物质最多, 有 21 种, 沼生矮樱鉴定出的物质最少, 仅有 7 种, 主要为醛类、醇类和酯类物质, 有机酸类、酮类和烃类等物质含量较少; 其中醛类含量均占 88% 以上, 醛类中又以苯甲醛为最高, 含量均高达 80% 以上, 该成分不仅含量高, 而且香气阈值较低, 对樱属植物特殊气味起到至关重要的作用。通过主成分分析表明, 除沼生矮樱外, 其余樱属植物聚在一起, 支持形态分类将其归入矮生樱亚属的结果。本研究结果可为中国樱属植物资源的合理开发与利用奠定了理论基础。

关键词 樱属, 气相色谱-质谱法(GC-MS), 挥发性成分, 主成分分析

Determination of Volatile Components from flowers of 7 species of *Cerasus* in Zhejiang Province by HS-SPME-GC-MS

Fu Tao Wang Zhilong* Li Wen Chen Jishen

Ningbo Key Laboratory of Landscape Plant Development / Ningbo City College of Vocational Technology, Ningbo, 315100

* Corresponding author, wangzh101@163.com

DOI: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0043

Abstract To provide a theoretical basis for utilizing the resources of *Cerasus* plants in China, the volatile components among 7 species of *Cerasus* in Zhejiang Province were compared to understand genetic relationship. The samples were treated by HS-SPME and the pretreatment conditions were optimized. Combined with GC-MS technology, the volatile components from flowers of 7 species of *Cerasus* were determined, and the difference of them was compared. Then, SPSS 22 software was applied to conduct the PCA of the 7 species of *Cerasus* flowers. According to the score diagrams, the relationship among the 7 species of *Cerasus* was visually presented. By optimizing treatment conditions of the samples, the best extraction conditions of SPME were 1.0 g of sample weight, 70°C of heating temperature, 40 min of adsorption. By GC-MS qualitative analysis, 42 volatile components were identified from the 7 species of *Cerasus*, among them, there are 21 kinds of substances identified by *Cerasus*

本文首次发表在《分子植物育种》上, 现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License, 协议对其进行授权, 再次发表与传播

收稿日期: 2020 年 10 月 14 日; 接受日期: 2020 年 10 月 14 日; 发表日期: 2020 年 10 月 14 日

引用格式: 付涛, 王志龙, 李文, 陈际伸, 2020, HS-SPME-GC-MS 联用测定浙江省 7 种樱属植物花的挥发性成分, 分子植物育种(网络版), 18(43): 1-10 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0043) (Fu T., Wang Z.L., Li W., and Chen J.S., 2020, Determination of volatile components from flowers of 7 species of *Cerasus* in Zhejiang Province by HS-SPME-GC-MS, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding (online)), 18(43): 1-10 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0043))

subhirtella var. *ascendens* and 7 kinds by *Cerasus jingningensis*, it is mainly aldehydes, alcohols and esters, with less organic acids, ketones and hydrocarbons, among which aldehydes account for more than 88%, and benzaldehyde is the highest among aldehydes, with the content of more than 80%, this component is not only high in content, but also low in aroma threshold, which plays an important role in the special smell of *Cerasus* plants. The results of PCA showed that the other *Cerasus* plants gathered together, except for the macrophytes, which supported the morphological classification to classify them into the Subgen. *Microcerasus*. The results of this study can provide a theoretical basis for the development and utilization of *Cerasus* resources in China.

Keywords *Cerasus*, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), Volatile components, PCA analysis

樱属(*Cerasus*)植物全世界约 150 种,广泛分布于欧洲、亚洲、北美洲等地,中国约有 50 种,远超其他国家。中国樱属植物主要分布于西南、中东部等地区,其中西南地区被公认为现代樱属植物的发源地,以其为中心向四周辐射扩散(王贤荣, 2014; 袁冬明等, 2018)。自古以来,中国樱属植物食用价值多偏重于食用樱桃,对观赏类樱花的研究较少(郑玮和潘凤荣, 2016; Chen et al., 2016; 吴延军等, 2018; Chen et al., 2018; 吴延军等, 2019; 王珏等, 2020)。这与日本有较大差别,日本将观赏类樱花各方面的开发与利用用到了极致,不仅有可供观赏的樱花,也有各类衍生产品,如樱花茶、樱花酒、樱花糕等可食用产品,以及樱花沐浴包、樱花香皂、樱花护肤霜等生活产品,显然中国在樱花可食用研究方面还比较落后(严春风, 2020)。

浙江省为中国东部省份,樱属植物分布较为广泛,据本课题组野外调查可知,浙江省有典型樱亚属山樱(*Cerasus serrulata*)、毛叶山樱(*Cerasus serrulata* var. *pubescens*)、迎春樱(*Cerasus discoidea*)、尾叶樱(*Cerasus dielsiana*)、浙闽樱(*Cerasus schneideriana*)、野生早樱(*Cerasus subhirtella* var. *ascendens*)、华中樱(*Cerasus conradinae*)等野生资源分布,有矮生樱亚属郁李(*Cerasus japonica*)、麦李(*Cerasus glandulosa*)、沼生矮樱(*Cerasus jingningensis*)等野生资源分布(Li and Bruce, 2003)。但截至目前,这些樱属资源大多处于野生状态,开发利用极其稀少。

文飞龙等(2013)通过 GC-MS 分析了日本晚樱花中各成分含量,并探讨了其抗氧化活性,结果表明日本晚樱(*Cerasus serrulata* var. *lannesiana* Makino)花主要以倍半萜和醛类为主,且抗氧化活性要高于 Vc。翁仕洋等(2013)从日本晚樱叶挥发油中鉴定出 37 种成分,以醛、酯、醇类为主,含量最高的成分为苯甲醛(57.00%)。Lei 等(2014)对大叶早樱(*Cerasus subhirtella*)和山樱花进行了挥发油和水溶性挥发性成分的分析,得到二者挥发油均以苯甲醛(31.2%、42.1%)、二十三烷(23.1%、27.7%)和二十五烷(23.2%、19.0%)

为主,而水溶性挥发性成分均以苯甲醛(67.5%、64.3%)和苯乙醇腈(12.5%、12.4%)为主。此外, Lee 等(2007)和 Yook 等(2010)都对樱属植物进行了成分提取与抗氧化等方面研究。前人对樱花挥发性成分的测定分析多为日本樱花品种,且研究缺乏系统性,因此,本试验通过分析浙江省樱属植物盛花期花的挥发性成分,较为系统的分析浙江省 7 种樱属植物花的挥发性成分组成与含量,为今后中国野生樱属植物资源的开发与利用奠定了理论基础。

1 结果与分析

1.1 浙江省 7 种樱属植物花的挥发性成分的固相微萃取条件优化

通过 NIST14.L 质谱图库鉴定发现华中樱花样品中有 2 个峰面积较大的挥发性成分,分别为丁二醛 B (Lilac aldehyde B)和 1-甲基-4-(2-甲基环氧乙烷基)-7-氧杂双环[4.1.0]庚烷(7-Oxabicyclo [4.1.0] heptane, 1-methyl-4-(2-methyloxiranyl)-),以该 2 种物质作为固相微萃取条件优化的参照物质。

1.1.1 样品用量的影响

研究华中樱花取样量(0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25 g)对萃取效果的影响,结果表明,华中樱花随着取样量的增加,丁二醛 B 和 1-甲基-4-(2-甲基环氧乙烷基)-7-氧杂双环[4.1.0]庚烷的峰面积都逐渐稳定,确定取样量为 1.0 g 为最适取样量(图 1A)。

1.1.2 吸附时间的影响

研究华中樱的萃取吸附时间(10, 20, 30, 40, 50 min)对萃取效果的影响,结果表明,丁二醛 B 和 1-甲基-4-(2-甲基环氧乙烷基)-7-氧杂双环[4.1.0]庚烷在吸附 40 min 和 50 min 时无显著差异,确定萃取时间为 40 min 最为合适(图 1B)。

1.1.3 水浴温度的影响

研究华中樱水浴温度(50, 60, 70, 80, 90℃)对萃取效果的影响,结果表明,丁二醛 B 和 1-甲基-4-

(2-甲基环氧乙烷基)-7-氧杂双环[4.1.0]庚烷 2 种物质的峰面积随温度的升高而增大,随着温度继续升高,2 种物质峰面积有所降低,可能是温度过高破坏了挥发性物质分子结构所致,确定加热温度为 70℃ 为最适温度(图 1C)。

综上所述,最佳萃取条件为 1.0 g 的样品用量、70℃ 的水浴温度以及 40 min 的吸附时间。

1.2 浙江省 7 种樱属植物花的挥发性物质成分组成分析

通过优化后的萃取条件分别得到 7 种樱属植物花的总离子流图(图 2 为华中樱花的总离子流图)。从

7 种樱属植物花中共鉴定了 42 种挥发性物质,其中,野生早樱共出 47 个峰,鉴定出 21 种物质;华中樱共出 31 个峰,鉴定出 12 种物质;浙闽樱共出 52 个峰,鉴定出 13 种物质;尾叶樱共出 26 个峰,鉴定出 9 种物质;山樱共出 48 个峰,鉴定出 8 种物质;迎春樱共出 32 个峰,鉴定出 14 种物质;沼生矮樱共出 47 个峰,鉴定出 7 种物质。

1.2.1 挥发性成分种类及其含量分析

7 种樱属植物花的挥发性成分主要以醛类为主,其次是酯类和醇类,还含有少量有机酸类、酮类和烃类等物质(表 1)。7 种樱属植物挥发性成分中均为醛

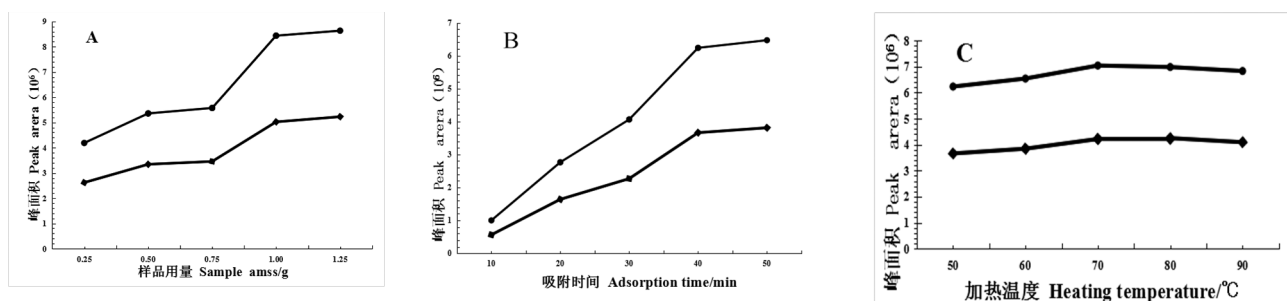


图 1 不同处理因素对华中樱花萃取效果的影响

Figure 1 Effects of different treated factors on extraction from flower of *Cerasus conradinae*

注: ● 丁二醛 B; ■ 1-甲基-4-(2-甲基环氧乙烷基)-7-氧杂双环[4.1.0]庚烷
 Note: ● Lilac aldehyde B; ■ 7-Oxabicyclo[4.1.0]heptane, 1-methyl-4-(2-methyloxiranyl)-

表 1 7 种樱属植物花的挥发性成分的种类及其相对含量

Table 1 Volatile component varieties and relative contents from flowers of 7 species of *Cerasus*

物种 Species	相对含量(%) Relative contents (%)							
	醛类 Aldehydes	酯类 Esters	醇类 Alcohols	有机酸类 Organic acids	酮类 Ketones	烃类 Hydrocarbons	其它 Others	种类合计 Category total
野生早樱 <i>Cerasus subhirtella var. ascendens</i>	88.23 (3)	5.02 (5)	2.33 (3)	1.89 (2)	0.33 (2)	0.07 (1)	2.14 (5)	21
华中樱 <i>Cerasus conradinae</i>	96.08 (2)	0.69 (3)	1.94 (3)	-	0.68 (2)	-	0.60 (2)	12
浙闽樱 <i>Cerasus schneideriana</i>	95.65 (3)	2.37 (4)	1.26 (3)	-	0.06 (1)	0.08 (1)	0.06 (1)	13
尾叶樱 <i>Cerasus dielsiana</i>	93.83 (1)	1.06 (4)	4.58 (2)	0.40 (1)	-	0.11 (1)	-	9
山樱 <i>Cerasus serrulata</i>	99.43 (3)	0.15 (2)	0.18 (1)	-	0.09 (1)	-	0.14 (1)	8
迎春樱 <i>Cerasus discoidea</i>	89.91 (5)	6.10 (4)	2.89 (2)	0.55 (2)	-	0.56 (1)	-	14
沼生矮樱 <i>Cerasus jingningensis</i>	90.19 (4)	-	5.94 (1)	-	-	1.02 (1)	2.87 (1)	7

注: 表中括号内数字为具体成分种类数,“-”表示未检测出

Note: the numbers in brackets in the table refer to the number of specific components,“-” indicating that they are not detected

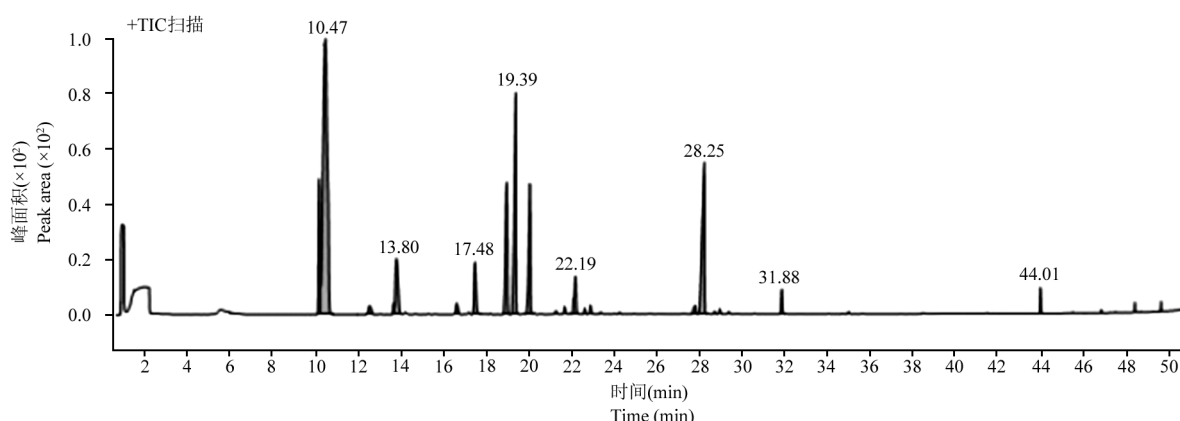


图2 华中樱花挥发性成分总离子流色谱图

Figure 2 Total ion current chromatogram of volatile components from flower of *Cerasus conradinae*

类含量最高,说明醛类是7种樱属植物的主要挥发性成分。野生早樱鉴定出的挥发性成分种类最多,有21种,醛类含量最高(88.23%),其次是酯类(5.02%)、醇类(2.33%)、有机酸类(1.89%),酮类和烃类含量较少(低于1%,下同),其它成分种类和含量均微高;华中樱鉴定出的挥发性成分种类12种,醛类含量最高(96.08%),其次是醇类(1.94%),酯类、有机酸类、酮类和烃类等含量均较少或无;浙闽樱鉴定出的挥发性成分种类13种,醛类含量最高(95.65%),其次是酯类(2.37%)、醇类(1.94%),有机酸类、酮类和烃类等含量均较少或无;尾叶樱鉴定出的挥发性成分种类9种,醛类含量最高(93.83%),其次是醇类(4.58%)、酯类(1.06%),有机酸类、酮类和烃类等含量均较少或无;山樱鉴定出的挥发性成分种类8种,醛类含量最高(99.43%),醇类、酯类、有机酸类、酮类和烃类等含量均较少或无;迎春樱鉴定出的挥发性成分种类14种,醛类含量最高(89.91%),其次是酯类(6.10%)、醇类(2.89%),有机酸类、酮类和烃类等含量均较少或无;沼生矮樱鉴定出的挥发性成分种类7种,醛类含量最高(90.19%),其次是醇类(5.94%)、其它(2.87%)、烃类(1.02%),酯类、有机酸类和酮类等含量均无。

由7种樱属植物共有7种醛类物质,其中苯甲醛为7种樱属植物共有成分,且含量均为最高(83.08%~98.39%),该成分为樱属植物特征香气成分,此外,野生早樱含有少量壬醛和丁香醛B,华中樱还含有少量丁香醛B,浙闽樱还含有少量癸醛,山樱还含有少量3-甲氧基-苯甲醛和丁香醛B,迎春樱还含有少量4-甲氧基-苯甲醛、壬醛、癸醛和丁香醛A,沼生矮樱还含有少量4-甲氧基-苯甲醛、癸醛和丁香醛B(表2)。

7种樱属植物酯类种类较多,有11种,其中野生早樱有4种,分别为苯甲酸甲酯(2.00%)、苯甲酸苄酯

(2.17%)以及少量乙酸苯乙酯、苯甲酸叶醇酯和苯甲酸苯乙酯;华中樱有3种,分别有少量的水杨酸甲酯、4-甲氧基-苯甲酸甲酯和苯甲酸苄酯;浙闽樱有4种,分别为苯甲酸苄酯(1.16%)以及少量水杨酸甲酯、2-甲氧基-苯甲酸甲酯和棕榈酸甲酯;尾叶樱有4种,分别为水杨酸甲酯、苯甲酸苄酯、棕榈酸甲酯和4-甲氧基苯甲酸4-硝基苄酯;山樱有2种,分别为水杨酸甲酯和苯甲酸苄酯;迎春樱有4种,分别为苯甲酸苄酯(4.94%)、苯甲酸甲酯、水杨酸甲酯和苯甲酸异戊酯;沼生矮樱无酯类物质。

7种樱属植物共有6种醇类物质,其中野生早樱有3种,分别为苯乙醇(1.10%)、苯甲醇和8-羟基芳樟醇;华中樱有3种,分别为丁香醇D(1.32%)以及少量的苯甲醇和苯乙醇;浙闽樱有3种,分别为苯甲醇、苯乙醇和对甲氧基苄醇;尾叶樱有2种,分别为苯甲醇(4.47%)以及少量的对甲氧基苄醇;山樱有1种,仅含有少量的苯丙二醇;迎春樱有2种,分别为对甲氧基苄醇(2.45%)和少量的苯甲醇;沼生矮樱有1种,为8-羟基芳樟醇(5.94%)。

7种樱属植物共有3种有机酸类物质,其中野生早樱有2种,分别为苯甲酸(1.82%)和少量的苯甲酰甲酸;尾叶樱有1种,含有少量的棕榈酸;迎春樱有2种,分别为苯甲酸和苯甲酰甲酸;华中樱、浙闽樱、山樱和沼生矮樱无有机酸类物质。

7种樱属植物共有5种酮类物质,其中野生早樱有2种,分别为3-Buten-1-one, 2,2-dimethyl-1-phenyl-和(1-Oxa-2-aza-spiro[2.5]oct-2-yl)-phenyl-methanone;华中樱有2种,分别为氧杂萘邻酮和trans-Arbusculone;浙闽樱有1种,含有少量的蒽酮;山樱有1种,含有少量的氧杂萘邻酮;尾叶樱、迎春樱和沼生矮樱无酮类物质。

7种樱属植物共有3种烃类物质,尾叶樱含有少

表 2 7 种樱属植物花的挥发性成分具体成分及其相对含量

Table 2 Volatile components and relative contents from flowers of 7 species of *Cerasus*

编号 NO.	挥发性成分 Volatile components	分子式 Molecular formula	相对含量(%) Relative contents (%)						
			野生早樱 <i>Cerasus subhirtella</i>	华中樱 <i>Cerasus conradinae</i>	浙闽樱 <i>Cerasus schneideriana</i>	尾叶樱 <i>Cerasus dielsiana</i>	山樱 <i>Cerasus serrulata</i>	迎春樱 <i>Cerasus discoidea</i>	沼生矮樱 <i>Cerasus jingningensis var. ascendens</i>
	醛类 Aldehydes								
1	苯甲醛 Benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	87.38	95.29	95.37	93.83	98.39	87.46	83.08
2	3-甲氧基-苯甲醛 Benzaldehyde, 3-methoxy-	C ₈ H ₈ O ₂	-	-	0.20	-	0.26	-	-
3	4-甲氧基-苯甲醛 Benzaldehyde, 4-methoxy-	C ₈ H ₈ O ₂	-	-	-	-	-	1.79	3.80
4	壬醛 Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	0.08	-	-	-	-	0.32	-
5	癸醛 Decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	-	-	0.08	-	-	0.07	0.65
6	丁香醛 A Lilac aldehyde A	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	-	-	-	-	-	0.27%	-
7	丁香醛 B Lilac aldehyde B	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	0.77	0.79	-	-	0.78	-	2.66
	酯类 Esters								
8	苯甲酸甲酯 Benzoic acid, methyl ester	C ₈ H ₈ O ₂	2.00	-	-	-	-	0.61	-
9	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	C ₈ H ₈ O ₃	-	0.05	0.88	0.23	0.09	0.10	-
10	2-甲氧基-苯甲酸甲酯 Benzoic acid, 2-methoxy-, methyl ester	C ₉ H ₁₀ O ₃	-	-	0.14	-	-	-	-
11	4-甲氧基-苯甲酸甲酯 Benzoic acid, 4-methoxy-, methyl ester	C ₉ H ₁₀ O ₃	-	0.46	-	-	-	-	-
12	乙酸苯乙酯 Phenethyl acetate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.23	-	-	-	-	-	-
13	苯甲酸异戊酯 Isoamyl Benzoate	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	-	-	-	-	-	0.45	-
14	苯甲酸叶醇酯 3-Hexen-1-ol, benzoate, (Z)-	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	0.47%	-	-	-	-	-	-
15	苯甲酸苄酯 Benzyl Benzoate	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	2.17	0.18	1.16	0.59	0.06	4.94	-
16	苯甲酸苯乙酯 Benzoic acid, 2-phenylethyl ester	C ₁₅ H ₁₄ O ₂	0.15	-	-	-	-	-	-
17	棕榈酸甲酯 Hexadecanoic acid, methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	-	-	0.19	0.17	-	-	-
18	4-甲氧基苯甲酸 4-硝基苯酯 p-Anisic acid, 4-nitrophenyl ester	C ₁₄ H ₁₁ NO ₅	-	-	-	0.07	-	-	-

编号 NO.	挥发性成分 Volatile components	分子式 Molecular formula	相对含量(%) Relative contents (%)						
			野生早樱 <i>Cerasus subhirtella</i>	华中樱 <i>Cerasus conradinae</i>	浙闽樱 <i>Cerasus schneideriana</i>	尾叶樱 <i>Cerasus dielsiana</i>	山樱 <i>Cerasus serrulata</i>	迎春樱 <i>Cerasus discoidea</i>	沼生矮樱 <i>Cerasus jingningensis</i> var. <i>ascendens</i>
	醇类 Alcohols								
19	苯甲醇 Benzyl alcohol	C ₇ H ₈ O	0.24	0.51	0.82	4.47	-	0.44	-
20	苯乙醇 Phenylethyl Alcohol	C ₈ H ₁₀ O	1.10	0.11	0.30	-	-	-	-
21	对甲氧基苄醇 Benzenemethanol, 4-methoxy-	C ₈ H ₁₀ O ₂	-	-	0.14	0.11	-	2.45	-
22	苯丙二醇 Phenylpropanediol	C ₉ H ₁₂ O ₂	-	-	-	-	0.18	-	-
23	丁香醇 D Lilac alcohol D	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	-	1.32	-	-	-	-	-
24	羟基芳樟醇 8-hydroxylinalool 8-	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.99	-	-	-	-	-	5.94
	有机酸类 Organic acids								
25	苯甲酸 Benzoic acid	C ₇ H ₆ O ₂	1.82	-	-	-	-	0.42	-
26	苯甲酰甲酸 Benzoylformate	C ₈ H ₆ O ₃	0.07	-	-	-	-	0.13	-
27	棕榈酸 Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	-	-	-	0.40	-	-	-
	酮类 Ketones								
28	氧杂萜邻酮 Coumarin	C ₉ H ₆ O ₂	-	0.49	-	-	0.09	-	-
29	蒾酮 Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	-	-	0.06	-	-	-	-
30	trans-Arbusculone	C ₉ H ₁₄ O ₂	-	0.19	-	-	-	-	-
31	3-Buten-1-one, 2,2-dimethyl-1-phenyl-	C ₁₂ H ₁₄ O	0.17	-	-	-	-	-	-
32	(1-Oxa-2-aza-spiro[2.5]oct-2-yl)-phenylmethanone	C ₁₃ H ₁₅ NO ₂	0.16	-	-	-	-	-	-
	烃类 Hydrocarbons								
33	三甲基十二烷 Dodecane, 2,6,11-trimethyl-	C ₁₅ H ₃₂	-	-	-	0.11	-	-	-
34	十九烷 Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	-	-	-	-	-	-	1.02
35	N-Benzyloxy-2,2-bis(trifluoromethyl)aziridine	C ₁₁ H ₇ F ₆ NO ₂	0.07	-	0.08	-	-	0.56	-

续表 2

Continuing table 2

编号 挥发性成分 NO. Volatile components	分子式 Molecular formula	相对含量(%) Relative contents (%)						
		野生早樱 <i>Cerasus subhirtella</i>	华中樱 <i>Cerasus conradinae</i>	浙闽樱 <i>Cerasus schneideriana</i>	尾叶樱 <i>Cerasus dielsiana</i>	山樱 <i>Cerasus serrulata</i>	迎春樱 <i>Cerasus discoidea</i>	沼生矮樱 <i>Cerasus jingningensis</i> var. <i>ascendens</i>
其它 Others								
36 异氰基-3-甲苯 Benzene, 1-isocyano-3-methyl-1-	C ₈ H ₇ N	0.03	-	-	-	-	-	-
37 苯甲酰腈 Benzoyl cyanide	C ₈ H ₅ NO	0.40	-	-	-	-	-	-
38 (亚甲二氧基)甲苯 3,4-(Methylenedioxy)toluene	C ₈ H ₈ O ₂	0.03	-	-	-	-	-	-
39 苯甲酰肼 Benzoylhydrazine	C ₇ H ₈ N ₂ O	-	0.23	-	-	0.14	-	-
40 二氧化萜二烯 Diepoxyimonene	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	0.42	0.37	-	-	-	-	2.87
41 (苯甲酰氧基)-2-苯基乙腈 Mandelonitrile benzoate	C ₁₅ H ₁₁ NO ₂	1.26	-	-	-	-	-	-
42 O,O-联苯-L-酒石酸酐 (+)-Dibenzoyl-L-tartaric acid anhydride	C ₁₈ H ₁₂ O ₇	-	-	0.06	-	-	-	-

注：“-”：未检测出

Note: "-": Indicating that they are not detected

量 2,6,11-三甲基十二烷;野生早樱、浙闽樱和迎春樱均含有少量 N-Benzyloxy-2,2-bis (trifluoromethyl) aziridine;沼生矮樱仅含有十九烷(1.02%);华中樱和山樱不含烃类物质。

此外,7种樱属植物还含有7种其他类物质,其中,野生早樱有5种,分别为2-(苯甲酰氧基)-2-苯基乙腈(1.26%)以及少量1-异氰基-3-甲苯、苯甲酰腈、3,4-(亚甲二氧基)甲苯和二氧化萜二烯;华中樱有2种,分别为苯甲酰肼和二氧化萜二烯;浙闽樱1种,含少量O,O-联苯-L-酒石酸酐;山樱1种,含少量苯甲酰肼;沼生矮樱1种,为二氧化萜二烯(2.87%);尾叶樱和迎春樱不含有该类物质。

1.3浙江省7种樱属植物花中挥发性成分的主成分分析(PCA)

使用 SPSS 22 软件进行 PCA 分析,野生早樱、华中樱、浙闽樱、尾叶樱、山樱和迎春樱花的挥发性组分比较相似,聚为一类,而沼生矮樱单独聚为一类(图 3)。

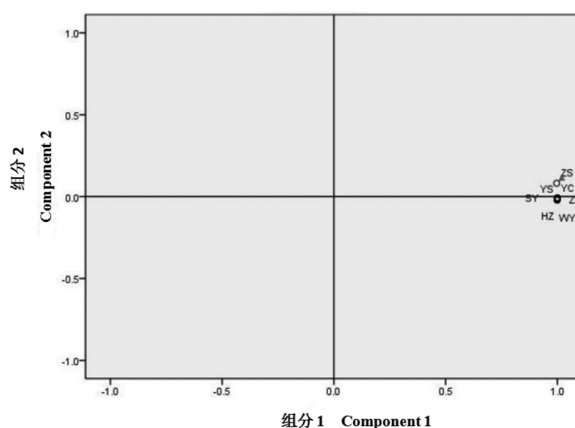


图 3 7 种樱属植物花中挥发性组分的 PCA 分析

Figure 3 The PCA diagram of volatile compounds from flowers of 7 species of *Cerasus*

注: YS 野生早樱, HZ 华中樱, ZM 浙闽樱, WY 尾叶樱, SY 山樱, YC 迎春樱, ZS 沼生矮樱

Note: YS *Cerasus subhirtella* var. *ascendens*, HZ *Cerasus conradinae*, ZM *Cerasus schneideriana*, WY *Cerasus dielsiana*, SY *Cerasus serrulata*, YC *Cerasus discoidea*, ZS *Cerasus jingningensis*

2 讨论

植物气味与其挥发性成分的种类、含量以及阈值等有密切关系,不同化合物、每一化合物含量高低以及每一化合物气味阈值高低都会影响其气味,譬如反式-2-己烯醛,其阈值很低,仅为为 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,微量时即可感知它的存在,植物挥发性成分的产生较为复杂,可能由几种阈值较低的主要成分决定,也可能由所有挥发性成分彼此间相互作用表现出来(李记明和贺普超, 2002; 付涛等, 2014)。浙江省 7 种樱属植物挥发性成分种类不多,有 7~21 种,其中野生早樱最多,有 21 种,沼生矮樱最少,有 7 种,且主要种类为醛类、酯类和醇类物质,有机酸类、烃类、酮类以及萜烯类等含量较少,说明樱属植物花挥发性成分以醛类、酯类和醇类为主,其特有气味与这些物质有密切联系。

本研究测定的 7 种浙江省樱属植物花的主要三类挥发性成分以酯类化合物最多,有 11 种,醛类化合物次之,有 7 种,醇类化合物最少,有 6 种,但总含量上醛类化合物最多,高达 88.23%~99.43%,其中苯甲醛为最主要的成分,含量高达 83.08%~98.39%,这与前人研究结果一致(翁仕洋等, 2013)。苯甲醛香气阈值较低,仅为 $0.003 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,为樱属植物最主要的特征香气成分,苯甲醛具有特殊的苦杏仁气味,对樱属植物气味起到决定性的作用。苯甲醛是国标中允许使用的食品香料,也可作为特殊的头香香料,微量用于花香配方,香皂中亦可用之(陈双, 2013; 孟军等, 2014; 杨眉等, 2014)。此外,丁香醛 B、水杨酸甲酯、苯甲酸甲酯、苯甲酸苄酯、苯甲醇等化合物都广泛应用于香料、食品等方面(秦玲等, 2010; 苗志伟等, 2011; 丁超等, 2012; 李晓颖等, 2019)。因此,樱属植物花可以广泛应用于食品、化妆品和生活用品等方面。

沼生矮樱为近年来被发现的新种(许元科等, 2012),但形态上与典型樱亚属相近,推测其是海拔高导致其矮化,表型可能由环境胁迫所致,但又因与矮生樱亚属郁李、麦李和毛樱桃均为三芽共生,故形态分类将大多将其归为矮生樱亚属。本研究主成分分析表明,典型樱亚属野生早樱、华中樱、浙闽樱、尾叶樱、山樱和迎春樱能被聚为一类,而沼生矮樱单独聚类,本研究结果表明沼生矮樱与典型樱亚属植物关系相对较远,支持将其归入矮生樱亚属,但课题组前期分子研究表明,沼生矮樱未与矮生樱亚属聚类,而与典型樱亚属聚类在一起(付涛等, 2018a, 2018b)。因此,推测沼生矮樱可能是过度类型,同时具有典型樱

亚属和矮生樱亚属的部分特征。

本研究通过 HS-SPME-GC-MS 联用法测定了浙江省 7 种樱属植物花的挥发性成分,结果表明,有书植物花的最佳萃取条件为 1.0 g 的样品用量、70℃ 的水浴温度以及 40 min 的吸附时间。7 种樱属植物挥发性成分主要是酯类、醛类和醇类,还含有少量的有机酸类、酮类和烃类物质,其中醛类含量均占 88% 以上,为最主要挥发性成分种类,醛类中又以苯甲醛为最高,含量均高达 80% 以上,该成分不仅含量高,而且香气阈值较低,对樱属植物特殊气味起到至关重要的作用,此外一些其他成分对气味也起到不同程度的作用,本研究结果可为樱属植物的资源开发与利用提供一定的理论基础。

3 材料与方法

3.1 材料

试验材料均采自浙江省内,且均为盛花期的花,其中山樱、迎春樱、沼生矮樱采自宁波市四明山(121.08°E, 29.73°N),野生早樱和浙闽樱均采自宁波市鄞州区(121.55°E, 29.82°N),华中樱采自临安市天目山(119.72°E, 30.23°N),尾叶樱采自浙江省磐安县(120.43°E, 29.05°N)。

3.2 仪器与试剂

GC-MS (美国安捷伦科技有限公司), HS-SPME, 7.5 μm CAR/PDMS 的萃取纤维(美国 Supleco 公司), 氯化钠, 电子天平, 超纯水仪, 液氮等。

3.3 固相微萃取(SPME)条件优化

以华中樱花为试验材料,分别以样品用量、加热温度和吸附时间为自变量,以样品中 2 个峰面积较大的物质为因变量进行研究,从而得出樱属植物花 SPME 的最佳萃取条件。

3.4 样品处理

试验方法参考徐萌等,并加以改进(徐萌等, 2016)。根据优化后的的萃取条件,分别称取 7 种樱属植物花样品,冰浴,加液氮研磨碎,放入 5 mL 顶空瓶中,加入 2 mL 蒸馏水,密封,切忌萃取纤维不可插入样品中,之后利用优化后的最佳萃取条件操作即可。

3.5 GC 与 MS 条件

柱温 40℃; 进样口温度 250℃; 柱内载气流量 1.0 mL/min。升温程序:从 40℃ 开始保持 2min; 以

3°C/min 升温至 160°C,再以 10°C/min 升温至 200°C,最后以 20°C/min 升温至 300°C,保持 3 min;不分流进样。

EI 离子源,温度为 230°C;接口温度为 250°C;MS 四级杆温度为 150°C;扫描范围为 15~500 Amu。

3.6 数据处理

通过 NIST14.L 质谱图库,以确认不同樱属植物花的挥发性化学成分,采用峰面积归一化法计算各挥发性成分的相对百分含量。采用 SPSS 22 软件对樱属 7 种植物花挥发性成分进行 PCA 分析,从得分图中可以较为清楚地表达 7 种樱属植物间的彼此关系。

作者贡献

付涛是本研究的执行人,完成了论文的初稿的写作;王志龙对本研究进行了指导研究及其定稿;李文完成了对论文的修改;陈际伸提供了本研究的实验材料。

致谢

本研究由宁波城市职业技术学院内科研青年专项课题(ZZX18128),宁波市自然科学基金项目(ZZT18104),宁波城市职业技术学院内科研青年专项课题(ZZX18122),宁波城市职业技术学院内科研青年专项课题(ZZX18123)共同资助。

参考文献

- Chen T., Huang X.J., Zhang J., Chen Q., Liu Y., Tang H.R., Pan D.M., and Wang X.R., 2016, Genetic diversity and population structure patterns in Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus* Lindl.) landraces, *Plant Molecular Biology Reporter*, 34(2): 440-453
- Chen T., Hu Y.Y., Chen Q., Wang Y., Zhang J., Tang H.R., and Wang X.R., 2018, Molecular and morphological data reveals new insights into genetic diversity and population structure of Chinese cherry (*Prunus pseudocerasus* Lindl.) landraces, *Genetic Resources and Crop Evolution*, 65 (8): 2169-2187
- Chen S., 2013, Characterization of the volatile and aroma profile of Chinese rice wine, Dissertation for Ph.D., Jiangnan University, Supervisor: Xu Y., pp. 64-65(陈双, 2013, 中国黄酒挥发性组分及香气特征研究, 博士学位论文, 江南大学, 导师: 徐岩, pp. 64-65)
- Ding C., Ye F.G., and Li B.S., 2012, Study on volatile components in Fructus mume by simultaneous distillation extrac-

- tion coupled with GC-MS, *Shipin Gongye Keji (Science and technology of food industry)*, 33(6): 113-116 (丁超, 叶富根, 李汴生, 2012, 同时蒸馏萃取 - 气质联用分析乌梅中的挥发性成分, *食品工业科技*, 33(6): 113-116)
- Fu T., Wu Y.Y., Wang L.R., Wang Z.H., Li X.F., Jiao C.F., and Yang Z.F., 2014, Amino acids and aroma analysis of 'Yinhong' and its mutants of *Vitis vinifera* L., *Henong Xuebao (Journal of Nuclear Agricultural Sciences)*, 28 (11): 2038-2050 (付涛, 吴月燕, 王立如, 王忠华, 李学孚, 焦彩凤, 杨震峰, 2014, 鄞红葡萄及其突变体果实氨基酸和香气分析, *核农学报*, 28(11): 2038-2050)
- Fu T., Wang Z.L., Lin L.J., Lin L., Li W., and Yuan D.M., 2018b, Molecular phylogenetic analysis of wild *Cerasus* plants in south China, *Henong Xuebao (Journal of Nuclear Agricultural Sciences)*, 32(11): 2126-2134 (付涛, 王志龙, 林乐静, 林立, 李文, 袁冬明, 2018, 中国南方野生樱属植物的分子系统发育分析, *核农学报*, 32(11): 2126-2134)
- Fu T., Yan C.F., Lin L.J., Wang Z.L., Lin L., Yuan D.M., and Xu L., 2018a, Analysis of genetic relationship of wild *Cerasus* in south China with SSR markers, *Henong Xuebao (Journal of Nuclear Agricultural Sciences)*, 32(10): 1949-1959 (付涛, 严春风, 林乐静, 王志龙, 林立, 袁冬明, 徐梁, 2018, 中国南方野生樱属植物的 SSR 亲缘关系分析, *核农学报*, 32 (10): 1949-1959)
- Lee B.B., Cha M.R., Kim S.Y., Park E., Park H.R., and Lee S.C., 2007, Antioxidative and Anticancer activity of extracts of cherry (*Prunus serrulata* var. *spontanea*) blossoms, *Plant Foods for Human Nutrition*, 62 (2): 79-84
- Lei G.M., Wang L.H., Liu X.S., and Zhang A.Y., 2014, Chemical composition of essential oils and hydrosols from freshflowers of *Cerasus subhirtella* and *Cerasus serrulata* from East China, *Natural Product Research*, 28(21): 1923-1925
- Li C L., and Bruce B., 2003, *Flora of China* 9, Science Press, Beijing, China, pp.404-420
- Li J.M., and He P.C., 2002, Inheritance of aroma components in *Vitis* interspecific crossings, *Yuanyi Xuebao (Acta Horticulturae Sinica)*, 29(1): 9-12 (李记明, 贺普超, 2002, 葡萄种间杂交香味成分的遗传研究, *园艺学报*, 29(1): 9-12)
- Li X.Y., Wang H.J., Xu N.W., Cao C.L., Liu J.Z., Wu C.C., and Zhang L.B., 2019, Analysis of volatile components in *Cerasus Humilis* (Bge.) sok by headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry, *Zhongguo Nongye Kexue (Scientia Agricultura Sinica)*, 52 (19): 3448-3459 (李晓颖, 王海静, 徐宁伟, 曹翠玲, 刘建珍, 武春成, 张立彬, 2019, 顶空固相微萃取 - 气相色谱 - 质谱联用法分析欧李果实挥发性成分, *中国农业科学*, 52(19): 3448-3459)
- Meng J., Zhang J.C., Zou J., and Li Y., 2014, Analysis of flavor

- ing components in cherry liqueur produced by different species of cherry, *Niangjiu Keji* (Liquor-making science & technology), (3): 93-97 (孟军, 张建才, 邹静, 李瑶, 2014, 不同品种樱桃利口酒香气成分分析, 酿酒科技, (3): 93-97)
- Miao Z.W., Liu Y.P., and Sun B.G., 2011, SDE-GC-MS analysis of volatile compounds in *Fructus Mume*, *Shipin Kexue* (Food science), 32(24): 270-273 (苗志伟, 刘玉平, 孙宝国, 2011, SDE-GC-MS 分析乌梅中挥发性成分, 食品科学, 32(24): 270-273)
- Qin L., Cai A.J., Zhang Z.W., Qi Y.L., and Geng L.Y., 2010, Analysis of volatile components in sweet cherry fruit by HS-SPME-GC/MS, *Zhipu Xuebao* (Journal of Chinese Mass Spectrometry Society), 31(4): 228-234 (秦玲, 蔡爱军, 张志雯, 齐艳玲, 耿立英, 2010, 两种甜樱桃果实挥发性成分的 HS-SPME-GC/MS 分析, 质谱学报, 31(4):228-234)
- Wang J., Wang Y., Zhang J., Chen T., Wang L., Chen Q., Tang H.R., and Wang X.R., 2020, Development of insertion-deletion (in del) markers based on whole genome sequencing data in chinese cherry and their transferability in rosaceae fruit trees, *Yuanyi Xuebao* (Acta Horticulturae Sinica), 47(1): 98-110 (王珏, 王燕, 张静, 陈涛, 王磊, 陈清, 汤浩茹, 王小蓉, 2020, 中国樱桃 InDel 标记开发及其在蔷薇科果树中通用性评价, 园艺学报, 47(1): 98-110)
- Wang X.R., eds., 2014, An Illustrated monograph of cherry cultivars in China, Science Press, Beijing, China, pp.7-12 (王贤荣, 编著, 2014, 中国樱花品种图志, 科学出版社, 中国, 北京, pp.7-12)
- Wen F.L., Zhang L.L., Liu Z.H., Zha Q.H., Chen H., and Bi S.F., 2013, Chemical composition of volatile oil from flowers of *Prunus lanneciana* analyzed by GC-MS and its antioxidant activity, *Shipin Kexue* (Food science), 34(20): 190-193 (文飞龙, 张璐璐, 刘智慧, 查钱慧, 陈杭, 毕淑峰, 2013, 日本晚樱花挥发油化学成分 GC-MS 分析及其抗氧化活性分析, 食品科学, 34(20): 190-193)
- Weng S.Y., Cheng L.L., Zha W., Li N.N., and Bi S.F., 2013, Analysis on the chemical constituents of volatile oil from leaf of *Prunus lannesiana* Wils. by GC-MS, *Anhui Nongye Kexue* (Journal of Anhui Agri. Sci.), 41(7): 3111-3112 (翁仕洋, 成露露, 查文, 金晶, 李喃喃, 毕淑峰, 2013, 日本晚樱叶挥发油化学成分的 GC-MS 分析, 安徽农业科学, 41(7): 3111-3112)
- Wu Y.J., Liu Q.Z., Chen H.C., Wu J., Chen Z.H., and Zheng J.X., 2018, A new sweet cherry cultivar 'Jiangnan Hong' in subtropical region, *Yuanyi Xuebao* (Acta Horticulturae Sinica), 45 (S2): 2721-2722 (吴延军, 刘庆忠, 陈鸿才, 吴江, 陈再宏, 郑家祥, 2018, 适宜亚热带地区种植的甜樱桃新品种 '江南红', 园艺学报, 45(S2): 2721-2722)
- Xu M., Zhang J.W., Wu L.S., Liu J.J., Si J.P., and Zhang X.F., 2016, Determination of volatile components from *Chimonanthus* flowers by HS-SPME-GC-MS, *Linye Kexue* (Scientia silvae sinicae), 52(12): 58-65 (徐萌, 张经纬, 吴令上, 刘京晶, 斯金平, 张新风, 2016, HS-SPME-GC-MS 联用测定蜡梅属植物花的挥发性成分, 林业科学, 52(12): 58-65)
- Xu Y.K., Zhao C.G., Yan B.X., Ma D.D., and Chen Z.H., 2012, A new species of *Cerasus* Mill. from zhejiang province, *Zhejiang Linye Keji* (Jour of Zhejiang for. Sci. & Tech), 32(4): 81-83 (许元科, 赵昌高, 严邦祥, 马丹丹, 陈征海, 2012, 浙江樱属新种 - 沼生矮樱, 浙江林业科技, 32(4): 81-83)
- Wu Y.J., Wu K.X., Yuan Y., and Dong M.M., 2019, Analysis the efficiency of inter and intra-specific hybridization of new cultivars of sweet cherry and chinese cherry, *Guoshu Xuebao* (Journal of Fruit Science), 36(9): 1112-1120 (吴延军, 武凯翔, 袁玥, 董梦梦, 2019, 甜樱桃新种质种内及与中国樱桃种间杂交效率分析, 果树学报, 36(9): 1112-1120)
- Yan C.F., eds., 2020, Cherry blossom application guide, China Agricultural Science and Technology, Press Beijing, China, pp.187-199 (严春风, 编著, 2020, 樱花应用指南, 中国农业科学技术出版社, 中国, 北京, pp.187-199)
- Yang M., Mao D.S., Wang K., Li Z. , Liu Q., Ding Z.T., and XuY.B., 2014, Analysis of volatile components in benzoin resin by GC/TOF MS, *Xiangliao Xiangjing Huazhuangpin* (Flavour fragrance cosmetics), (1): 1-4 (杨眉, 冒德寿, 王凯, 李智宇, 刘强, 丁中涛, 徐杨斌, 2014, GC/TOF-MS 法分析安息香膏的挥发性成分, 香料香精化妆品, (1): 1-4)
- Yook H.S., Kim K.H., Park J.E., and Shin H.J., 2010, Antioxidative and antiviral properties of flowering cherry fruits (*Prunus serrulata* L. var. *Spontanea*), *American Journal of Chinese Medicine*, 38(5): 937-948
- Yuan D.M., Yan C.F., and Zhao Y., eds., 2018, Cherry blossoms, China Agricultural Science and Technology, Press Beijing, China, pp.7 (袁冬明, 严春风, 赵绮, 编著, 2018, 樱花, 中国农业科学技术出版社, 中国, 北京, pp.7)
- Zheng W., and Pan F.R., 2016, Analysis and prospect of sweet cherry varieties selected in China, *Zhongguo Guoshu* (China Fruits), (3): 51-54 (郑玮, 潘凤荣, 2016, 中国选育的甜樱桃品种特点分析及展望, 中国果树, (3): 51-54)