

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2020.06.016

腥臭卫矛花发育过程挥发性成分的 SPME-GC-MS 分析

刘志红, 解庆*

(山西农业大学林学院, 北方功能油料树种培育与研发山西省重点实验室, 山西 太谷 030801)

摘要: [目的] 探究腥臭卫矛花发育过程挥发性成分的变化及腥臭味的成因。[方法] 运用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术 (SPME-GC-MS) 分别对腥臭卫矛 (*Euonymus sanguineus* Loes. var. *paedidus* L. M. Wang) 花不同发育时期及开花时不同部位的挥发性成分进行分析, 并通过主成分分析法 (PCA) 与聚类分析法 (HCA) 分析其特征挥发性成分。[结果] 共鉴定出 58 个化合物, 以醇类 (11.93%~69.66%) 和烃类 (14.47%~57.94%) 为主, 主要为芳樟醇 (0.15%~70.79%)、叶醇 (0.41%~65.51%)、苯乙腈 (0.04%~62.20%)、2-乙烯基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷 (0.02%~32.99%)、(E)- β -罗勒烯 (0.25%~21.26%)、 α -蒎烯 (0.02%~20.41%)、D-柠檬烯 (1.01%~11.74%) 和水杨酸甲酯 (0.14%~6.14%)。腥臭卫矛花不同发育时期 (V1~V5 期) 和开花期花瓣 (Y1)、花盘 (Y2) 中的挥发性化合物成分差异较大。基于 PCA 和 HCA 分析, 腥臭卫矛花发育的 5 个时期与开花时 (V5 期) 不同部位的挥发性成分被聚成 4 大类, V1 和 V2 期属于叶醇型; V3 与 V4 期聚为 1 类, 成分复杂, 化学型不明显; V5 期和 Y1 为芳樟醇型; Y2 属于苯乙腈型。[结论] 腥臭卫矛花不同发育时期挥发成分差异较大, 腥臭味来源于花绽开时花盘释放的大量苯乙腈。

关键词: 腥臭卫矛; 固相微萃取; 气相色谱-质谱联用; 苯乙腈; 主成分分析

中图分类号: S793

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2020)06-0131-08

腥臭卫矛 (*Euonymus sanguineus* Loes. var. *paedidus* L. M. Wang) 是卫矛属 (*Euonymus* L.) 植物石枣子 (*E. sanguineus* Loes.) 的变种, 落叶灌木, 秋季叶色变红, 为彩色叶树种。二歧聚伞花序, 花基数 4, 花瓣卵形, 淡黄色; 花期 4 月底至 6 月, 开花时植株周围弥漫着强烈的腥臭味, 是迄今发现的唯一具刺激性气味的卫矛属植物^[1-2], 有些人近距离吸入会有头痛、恶心等不良反应, 花凋谢后刺激性气味随之消失。卫矛属植物大多用于杀虫消毒、治疗跌打损伤、活血止血及抗肿瘤等作用。目前, 已对卫矛 (*E. alatus* (Thunb.) Sieb.)^[3-4]、扶芳藤 (*E. fortune* (Turcz.) Hand.-Mazz.)^[5]、冬青卫矛 (*E. japonicas* Thunb.)^[6]、白杜 (*E. maackii*

Rupr)^[7]、刺果卫矛 (*E. acanthocarpus* Franch.)^[8-9]、疏花卫矛 (*E. laxiflorus* Champ. ex Benth.)^[10]、黄心卫矛 (*E. macropterus* Rupr.)^[11]、陕西卫矛 (*E. schensianus* Maxim.)^[12] 等多个树种的化学成分进行了分析, 主要成分有生物碱、萜类、黄酮类、甾体和强心苷等, 如卫矛碱、异卫矛碱、雷公藤碱、卫矛鞣碱、新卫矛鞣碱、槲皮素、香橙素、儿茶素、无羁萜、熊果醇、 β -谷甾醇、卫矛酮、草酰乙酸钠等, 这些成分并未使植株在生命周期中产生不良气味。

植物器官或组织随着结构的分化和成熟, 所含挥发性成分的种类和相对含量会产生不同程度的差异^[13-16]。那么, 使腥臭卫矛在开花时呈现刺激性气

收稿日期: 2020-03-14 修回日期: 2020-08-06

基金项目: 山西农业大学引进人才科研启动基金项目 (2015YJ15, 2015YJ16); 山西省面上青年基金项目 (201901D2113600); 北方功能油料树种培育与研发山西省重点实验室 (201805D111010)

* 通讯作者: 解庆, 博士, 讲师。研究方向: 林木遗传改良。E-mail: qingxie183@163.com

味的主要挥发性成分是什么？由花的哪个结构释放？这些问题未见研究报道，制约了对腥臭卫矛的认知与应用。

顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用技术 (SPME-GC-MS) 是研究挥发性成分的有效手段^[17-19]，为了探明与腥臭卫矛开花时所释放刺激性气味相关的化合物和结构来源，利用 SPME-GC-MS 法，对腥臭卫矛花序中不同发育时期的花 (苞) 以及花绽放时的花瓣和花盘挥发性成分进行了分析鉴定，为腥臭卫矛刺激性气味的产生提供科学参考，为卫矛属植物的分类、演化与应用提供化学依据。

1 材料与仪器

供试材料为新鲜腥臭卫矛二歧聚伞花序中不同发育时期的小花 (苞)，于 2018 年 4—5 月采于山西农业大学植物园。小花苞形成 (V1)，花苞膨大呈绿色 (V2)，花苞膨大顶端露出部分黄色花瓣 (V3)，花瓣完全露出花萼但聚拢未展开 (V4)，小花完全展开 (V5)，小花 (苞) 各时期 V1、V2、V3、V4、V5 宽度 (最宽处) 分别为 1.43±0.24、1.88±0.11、2.84±0.06、3.16±0.10、8.25±0.13 mm。解剖处于 V5 期小花的花瓣 (Y1) 与花盘 (Y2) 两部分亦作为试验材料。

50/30 μm DVB/CAR/PDMS 三相萃取头，美国

Supelco 公司；Triplus RSH 型多功能自动进样器，美国 Thermo Scientific 公司；OM-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 色谱柱，美国 Omni Gene LLC 公司；Trace 1300 ISQ 气相色谱质谱联用仪，美国 Thermo Scientific 公司。

2 研究方法

2.1 腥臭卫矛花 SPME 条件

根据 Uekane 等^[20]的方法并做相应修改，即取供试材料各 0.5 g 置入 5 mL 顶空瓶中，在 50℃ 下萃取 30 min 后，萃取头于气相色谱进样口 250℃ 解吸 5 min，进行 GC-MS 分析。

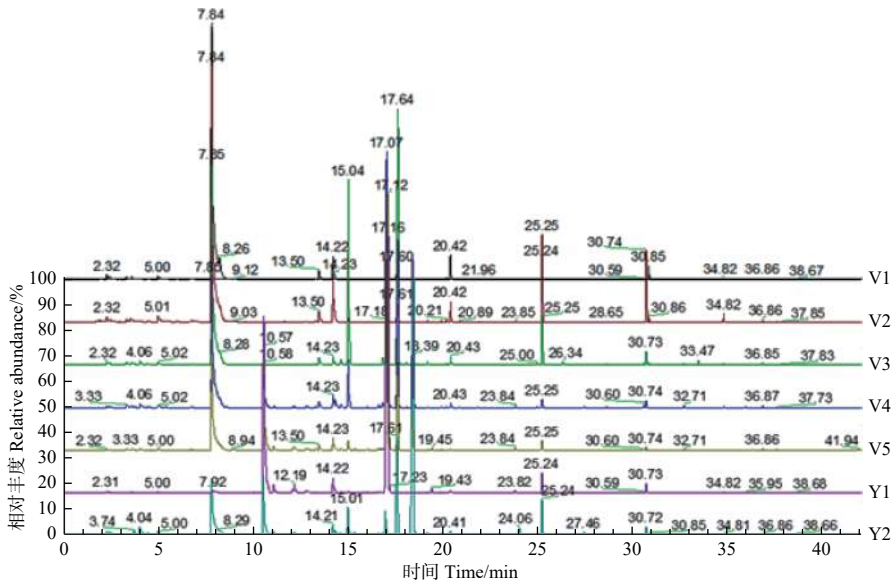
2.2 腥臭卫矛花 GC-MS 条件

2.2.1 色谱条件 载气为氦气，进样口温度 250℃，柱温采用程序升温，40℃ 初始温度保持 3 min，以 4℃·min⁻¹ 升至 160℃，再以 20℃·min⁻¹ 升至 240℃，保持 5 min 不分流进样。

2.2.2 质谱条件 离子源为 EI 源；离子源温度为 280℃；质谱传输线 280℃；电子能量为 70 eV；质核比扫描范围 30~500 amu。

2.3 数据分析

GC-MS 分析所得总离子流色谱图 (图 1)，不同阶段分离出的化合物，试验出报告时根据含量多少取前 100 种进行后续分析。各组分经 NIST



注：图中数字为离子流保留时间

Note: The data in the figure showed the retention time of the ion stream

图 1 腥臭卫矛花不同发育时期及部位挥发性成分总离子流程图

Fig. 1 The total ion chromatogram of chemical constituents of *E. sanguineus* var. *paedidus* flowers

(MS Search 2.0) 标准质谱库检索比对, 并参考已发表文献^[21]进行初步确认, 再与 Adams^[22]所述各化合物出峰顺序进行核对, 按峰面积归一化法确定成分含量。运用 Excel 2016 软件对所得的成分进行统计分析, 并用 XLSTAT2018 软件进行主成分分析 (PCA), 利用 SPSS21.0 软件进行多重比较 (MC) 和聚类分析 (HCA)。

3 结果与分析

3.1 腥臭卫矛花挥发性成分分析

采用 SPME-GC-MS 法对腥臭卫矛花的挥发性成分进行分析, 共鉴定出 58 个化合物 (表 1), 总含量范围从 96.51% (V2 期) 到 98.56% (V5 期), 相对含量较高的化合物包括芳樟醇 (0.15%~70.79%)、叶醇 (0.41%~65.51%)、苯乙腈 (0.04%~62.20%)、2-乙炔基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷 (0.02%~32.99%)、(E)- β -罗勒烯 (0.25%~21.26%)、 α -蒎烯 (0.02%~20.41%)、D-柠檬烯 (1.01%~11.74%)、水杨酸甲酯 (0.14%~6.14%)。

不同发育时期的腥臭卫矛花挥发性成分差异较大, V1 期共鉴定出 44 种成分, 其含量合计达 97.08%, 主要成分为叶醇 (65.51%)、水杨酸甲酯 (5.79%)、D-柠檬烯 (5.21%), 占全部成分的 76.51%; V2 期共鉴定出 43 种成分, 其含量合计达 96.51%, 主要成分为叶醇 (62.26%)、D-柠檬烯 (11.74%)、水杨酸甲酯 (6.14%)、2-乙炔基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷 (5.30%), 占全部成分的 85.44%; V3 期共鉴定出 48 种成分, 其含量合计达 97.57%, 主要成分为 2-乙炔基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷 (32.99%)、叶醇 (26.56%)、(E)- β -罗勒烯 (21.26%)、芳樟醇 (5.17%), 占全部成分的 85.98%; V4 期共鉴定出 48 种成分, 其含量合计达 98.41%, 主要成分为芳樟醇 (30.17%)、2-乙炔基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷 (19.69%)、叶醇 (17.14%)、苯乙腈 (15.00%)、(E)- β -罗勒烯 (5.96%), 占全部成分的 87.96%; V5 期共鉴定出 47 种成分, 其含量合计达 98.56%, 主要成分为芳樟醇 (51.21%)、 α -蒎烯 (10.90%)、苯乙腈 (10.30%)、叶醇 (9.86%)、2-乙炔基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷 (8.08%), 占全部成分的 90.35%。由花苞分化到开花, 叶醇

显著减少, 芳樟醇显著增多, 苯乙腈激增。

花瓣与花盘的挥发性成分也存在较大差异, 花瓣 (Y1) 共鉴定出 37 种成分, 其含量合计达 98.44%, 主要为芳樟醇 (70.79%) 和 α -蒎烯 (20.41%), 占全部成分的 91.20%; 花盘 (Y2) 共鉴定出 46 种成分, 其含量合计达 98.48%, 主要为苯乙腈 (62.20%)、2-乙炔基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷 (10.89%)、叶醇 (7.37%)、 α -蒎烯 (6.28%), 占全部成分的 86.74%。

3.2 腥臭卫矛花挥发性化学成分 PCA 和 HCA 分析

以 58 种腥臭卫矛花挥发性成分均值构成 7×58 的矩阵, 运用 XLSTAT 2018 软件进行 PCA 分析, 结果 (图 2) 表明: 第 1 主成分 (F1) 方差贡献率为 58.89%, 第 2 主成分 (F2) 方差贡献率为 30.53%, 累计贡献率达 89.42%, 说明前 2 个主成分可代表样品主要挥发性成分的组成。因此, 提取前 2 个主成分进行腥臭卫矛花的特征挥发性成分分析。第 1 主成分中异戊醇、己醛、1-戊烯-3-醇、芳樟醇、叶醇、 α -蒎烯和 2-蒎烯的贡献率最大, 对应的特征向量均大于 0.80; 第 2 主成分中苯乙腈、苯甲醛、桉烯和顺-2-己烯醇贡献最大, 对应的特征向量分别为 0.923、0.866、0.866、0.806。

腥臭卫矛花发育的 5 个时期与开花期不同部位在 PCA 双标图中被聚成 4 大类 (化学型), 其中, V1 和 V2 期聚为 1 类, 属于叶醇型; V3 与 V4 期聚为 1 类, 此类成分复杂, 化学型不明显; V5 期和 Y1 (花瓣) 聚为 1 类, 为芳樟醇型; Y2 (花盘) 独自为 1 类, 属于苯乙腈型。聚类分析结果 (图 3) 与主成分分析结果完全一致, 亦可将其分为 4 大类。可见叶醇、芳樟醇和苯乙腈 3 种成分在腥臭卫矛花发育的不同时期及部位中相对含量差异显著, 可以用于区分花发育的时期及花瓣和花盘。

3.3 腥臭卫矛开花期刺激性气味分析

腥臭卫矛开花期的刺激性气味为强烈的鱼腥草气味, 起初推测该气味主要来源于鱼腥草素 (癸酰乙醛), 在腥臭卫矛花中并未检出鱼腥草素, 腥臭卫矛开花期的刺激性气味与鱼腥草素无关。

在腥臭卫矛开花时含量激增的成分可能与刺激性气味有关, 主要是苯乙腈。苯乙腈俗名氰化苄, 具刺激性, 吸入后出现头痛头晕、恶心、呕吐、倦睡、上呼吸道刺激、神志丧失等, 可引起死亡。苯乙腈在 V5 期的花瓣中未检出, 在花盘中相对质量

表1 腥臭卫矛花不同发育时期及部位挥发性成分及其相对含量

Table 1 Relative content of essential oil compositions in different development stages and parts of *E. sanguineus* var. *paedidus* flowers

序号 No.	保留时间 Retention time/min	化合物 Components	相对质量分数 Contents/%							
			V1	V2	V3	V4	V5	Y1	Y2	
1	2.48	3-甲基呋喃 3-Methylfuran	1.15 ± 0.15 a	0.59 ± 0.28 b	0.31 ± 0.04 bcd	0.17 ± 0.03 cd	0.10 ± 0.00 d	0.08 ± 0.05 d	0.45 ± 0.04 bc	
2	3.34	1-戊烯-3-醇 1-Penten-3-ol	0.83 ± 0.02 a	0.74 ± 0.12 a	0.48 ± 0.03 b	0.37 ± 0.10 b	0.18 ± 0.03 c	0.03 ± 0.02 c	0.12 ± 0.01 c	
3	4.47	异戊醇 Isoamyl alcohol	0.41 ± 0.01 a	0.32 ± 0.05 b	0.22 ± 0.03 c	0.12 ± 0.02 d	0.07 ± 0.03 de	0.01 ± 0.01 e	0.12 ± 0.05 d	
4	5.38	(Z)-2-戊烯醇 (Z)-2-Pentenol	0.27 ± 0.02 a	0.16 ± 0.02 b	0.10 ± 0.01 c	0.07 ± 0.02 cd	0.04 ± 0.01 de	0.02 ± 0.01 e	0.06 ± 0.00 cd	
5	6.01	己醛 Hexanal	0.24 ± 0.04 a	0.21 ± 0.07 a	0.10 ± 0.02 b	0.08 ± 0.03 bc	0.04 ± 0.02 bc	0.01 ± 0.00 c	0.06 ± 0.01 bc	
6	7.87	叶醇 Leaf alcohol	65.51 ± 0.40 a	62.26 ± 0.45 a	26.56 ± 4.09 b	17.14 ± 3.04 c	9.86 ± 1.64 d	0.41 ± 0.11 e	7.37 ± 0.33 d	
7	8.25	(Z)-3-己烯醇 (Z)-3-Hexenol	2.25 ± 0.40 a	1.11 ± 0.24 b	0.31 ± 0.05 c	0.17 ± 0.01 c	0.04 ± 0.03 c	-	0.24 ± 0.04 c	
8	8.38	顺-2-己烯醇 (Z)-2-hexenol	0.01 ± 0.01 b	-	0.02 ± 0.03 a	-	0.03 ± 0.02 a	-	0.08 ± 0.03 a	
9	9.12	2-甲基-4-戊烯醇 2-methyl-4-Pentenol	0.09 ± 0.02 a	0.05 ± 0.01 b	-	-	-	0.01 ± 0.00 c	0.04 ± 0.00 b	
10	10.11	甲酸叶醇酯 (Z)-3-Hexenyl formate	-	-	-	-	0.04 ± 0.00 b	0.07 ± 0.02 a	0.04 ± 0.01 b	
11	10.20	三环萜 Tricyclene	0.04 ± 0.02 a	0.04 ± 0.00 a	-	0.01 ± 0.01 b	-	-	-	
12	10.58	α -蒎烯 α -Pinene	0.02 ± 0.02 d	0.07 ± 0.01 d	0.39 ± 0.24 d	2.62 ± 0.97 cd	10.90 ± 1.23 b	20.41 ± 4.57 a	6.28 ± 1.87 c	
13	10.67	(Z)-3-己烯酸甲酯 (Z)-3-Hexenoic acid methyl ester	0.13 ± 0.01 a	0.09 ± 0.01 b	-	-	-	-	-	
14	11.10	茨烯 Camphene	-	-	0.03 ± 0.01 c	0.11 ± 0.03 c	0.40 ± 0.05 b	0.79 ± 0.21 a	0.31 ± 0.11 b	
15	11.79	苯甲醛 Benzaldehyde	-	-	-	-	-	-	0.08 ± 0.00 a	
16	12.18	桉烯 Sabinen	-	-	-	-	-	-	0.26 ± 0.08 a	
17	12.20	β -蒎烯 β -Pi β -Pinene	-	-	-	0.10 ± 0.03 c	0.45 ± 0.06 b	0.86 ± 0.27 a	-	
18	12.85	β -月桂烯 β -Myrcene	0.08 ± 0.01 d	0.13 ± 0.04 cd	0.14 ± 0.02 cd	0.20 ± 0.03 c	0.41 ± 0.03 b	0.52 ± 0.04 a	0.10 ± 0.03 d	
19	13.51	乙酸叶醇酯 Leaf acetate	2.83 ± 0.34 a	2.50 ± 0.26 a	0.93 ± 0.08 b	1.01 ± 0.54 b	0.60 ± 0.23 bc	0.02 ± 0.01 c	0.08 ± 0.03 c	
20	14.23	D-柠檬烯 D-Limonene	5.21 ± 1.68 b	11.74 ± 0.78 a	1.36 ± 0.40 c	1.01 ± 0.33 c	2.00 ± 0.53 c	1.80 ± 0.07 c	1.25 ± 0.36 c	
21	14.36	桉叶油醇 Eucalyptol	-	-	0.08 ± 0.03 b	0.61 ± 0.09 a	-	-	0.47 ± 0.10 a	
22	14.64	β -罗勒烯 β -Ocimene	0.05 ± 0.01 c	0.05 ± 0.01 c	0.71 ± 0.11 a	0.32 ± 0.03 b	0.30 ± 0.02 b	0.23 ± 0.00 b	0.22 ± 0.03 b	
23	15.02	(E)- β -罗勒烯 (E)- β -Ocimene	0.71 ± 0.31 c	1.00 ± 0.13 c	21.26 ± 3.05 a	5.96 ± 0.92 b	1.28 ± 0.15 c	0.25 ± 0.01 c	2.70 ± 0.92 c	
24	15.40	γ -松油烯 γ -Terpinene	0.02 ± 0.01 cd	0.01 ± 0.01 d	0.12 ± 0.02 bc	0.04 ± 0.00 cd	0.18 ± 0.05 ab	0.08 ± 0.02 bcd	0.25 ± 0.11 a	
25	16.04	(Z)-氧化芳樟醇 (Z)-Linalool oxide	0.03 ± 0.01 c	0.05 ± 0.01 c	0.04 ± 0.01 c	0.09 ± 0.02 b	0.12 ± 0.01 b	0.16 ± 0.04 a	0.03 ± 0.01 c	
26	16.62	(E)-氧化芳樟醇 (E)-Linalool oxide	-	-	0.09 ± 0.01 b	0.23 ± 0.01 a	0.23 ± 0.01 a	0.24 ± 0.05 a	0.25 ± 0.01 a	
27	16.76	苯甲酸甲酯 Methyl benzoate	-	-	-	0.04 ± 0.02 b	0.06 ± 0.01 b	0.16 ± 0.04 a	-	
28	16.85	1,3,7-三甲基-2,6-二烯乙酸酯 Acetic acid 1,3,7-trimethylocta- 2,6-dienyl ester	0.20 ± 0.04 c	0.20 ± 0.02 c	0.84 ± 0.08 a	0.40 ± 0.09 b	0.13 ± 0.05 c	-	0.23 ± 0.06 c	
29	17.06	芳樟醇 Linalool	0.16 ± 0.02 d	0.15 ± 0.04 d	5.17 ± 0.72 d	30.17 ± 2.52 c	51.21 ± 2.89 b	70.79 ± 5.09 a	3.08 ± 0.21 d	
30	17.18	壬醛 Nonanal	0.42 ± 0.14 a	0.55 ± 0.25 a	0.19 ± 0.03 a	0.58 ± 0.31 a	0.39 ± 0.18 a	-	0.14 ± 0.08 a	
31	17.24	二氢芳樟醇 Dihydrolinalool	-	-	0.07 ± 0.02 b	0.02 ± 0.00 c	-	0.21 ± 0.01 a	-	
32	17.63	2-乙基-1,1-二甲基-3- 亚甲基环己烷 2-ethenyl-1,1-dimethyl-3- methylene-Cyclohexane	4.65 ± 1.20 d	5.30 ± 1.38 d	32.99 ± 1.18 a	19.69 ± 1.84 b	8.08 ± 0.94 cd	0.02 ± 0.01 e	10.89 ± 2.30 c	
33	18.10	波斯菊萜 Cosmene	-	-	0.24 ± 0.04 a	0.07 ± 0.01 b	0.03 ± 0.00 b	0.02 ± 0.00 b	0.03 ± 0.01 b	
34	18.38	苯乙腈 Phenylacetone nitrile	0.66 ± 0.46 c	0.04 ± 0.01 c	1.65 ± 0.66 c	15.00 ± 2.40 b	10.30 ± 1.26 b	-	62.20 ± 6.16 a	

续表 1

序号 No.	保留时间 Retention time/min	化合物 Components	相对质量分数 Contents/%						
			V1	V2	V3	V4	V5	Y1	Y2
35	18.54	γ -焦烯 γ -Pyronene	-	-	0.17 \pm 0.09 a	-	-	0.04 \pm 0.01 b	-
36	19.47	2-茨醇 2-Borneol	-	-	-	0.03 \pm 0.01 c	0.17 \pm 0.04 b	0.45 \pm 0.04 a	0.01 \pm 0.00 c
37	19.76	环氧芳樟醇 Epoxylinalol	-	0.02 \pm 0.01 c	0.08 \pm 0.01 a	0.05 \pm 0.01 b	0.02 \pm 0.01 c	0.01 \pm 0.00 c	0.03 \pm 0.01 c
38	20.21	丁酸叶醇酯 Leaf butyrate	0.71 \pm 0.05 a	0.55 \pm 0.10 b	0.16 \pm 0.00 c	0.09 \pm 0.04 c	0.03 \pm 0.00 d	-	0.04 \pm 0.01 d
39	20.42	水杨酸甲酯 Methyl salicylate	5.79 \pm 1.14 a	6.14 \pm 1.59 a	0.95 \pm 0.24 b	0.31 \pm 0.07 b	0.14 \pm 0.04 b	0.40 \pm 0.02 b	0.39 \pm 0.09 b
40	20.89	癸醛 Decanal	0.10 \pm 0.02 ab	0.14 \pm 0.03 ab	0.10 \pm 0.02 ab	0.20 \pm 0.11 a	0.04 \pm 0.01 b	0.02 \pm 0.00 b	0.04 \pm 0.00 b
41	21.83	戊酸叶醇酯 Leaf pentanoate	0.08 \pm 0.00 ab	0.12 \pm 0.02 ab	0.14 \pm 0.06 ab	0.17 \pm 0.10 a	0.04 \pm 0.02 b	-	0.02 \pm 0.01 b
42	21.98	异戊酸叶醇酯 (Z)-3-Hexenyl isovalerate	0.15 \pm 0.00 a	-	0.07 \pm 0.01 b	0.04 \pm 0.02 b	0.02 \pm 0.00 b	-	0.02 \pm 0.00 b
43	23.84	吲哚 Indole	0.04 \pm 0.01 b	0.07 \pm 0.04 b	0.05 \pm 0.01 b	0.26 \pm 0.04 a	0.23 \pm 0.04 a	0.14 \pm 0.13 a	0.07 \pm 0.01 b
44	24.17	正十三烷 Tridecane	0.04 \pm 0.02 a	0.04 \pm 0.01 a	0.03 \pm 0.01 a	0.02 \pm 0.00 a	0.01 \pm 0.00 a	0.01 \pm 0.00 a	-
45	25.93	2-甲基丙烯酸-2,2-二甲基-1-(2-羟基-1-甲基)丙烯酯 2-methyl-Propanoic acid-2,2-dimethyl-1-(2-hydroxy-1-methylethyl)propyl ester	-	-	0.08 \pm 0.04 a	0.01 \pm 0.00 b	0.02 \pm 0.01 b	0.01 \pm 0.00 b	-
46	26.34	2,5-二甲基正己烷-2,5-二甲羟基过氧化物 2,5-Dimethylhexane-2,5-dihydroperoxide	0.04 \pm 0.03 b	0.06 \pm 0.05 b	0.19 \pm 0.11 a	0.03 \pm 0.01 b	0.02 \pm 0.01 b	0.03 \pm 0.02 b	0.02 \pm 0.02 b
47	27.46	(Z)-茉莉酮 (Z)-Jasmone	0.15 \pm 0.03 b	0.10 \pm 0.02 c	0.09 \pm 0.02 c	0.05 \pm 0.00 cd	0.03 \pm 0.00 d	0.03 \pm 0.01 d	0.25 \pm 0.01 a
48	28.00	四甲基癸烷二醇 Tetramethyl decnediol	0.06 \pm 0.01 b	0.13 \pm 0.03 a	0.07 \pm 0.00 b	0.05 \pm 0.01 bc	0.02 \pm 0.00 cd	-	0.01 \pm 0.00 d
49	28.16	异丁香烯 Isocaryophyllene	0.09 \pm 0.02 a	0.05 \pm 0.00 bc	0.07 \pm 0.01 ab	0.04 \pm 0.01 c	0.01 \pm 0.01 d	-	-
50	28.65	α -香柑油烯 α -Bergamotene	0.07 \pm 0.01 b	0.19 \pm 0.06 a	0.14 \pm 0.01 ab	0.08 \pm 0.01 b	0.07 \pm 0.03 b	-	0.02 \pm 0.01 c
51	29.28	(E)- β -金合欢烯 (E)- β -Farnesene	0.04 \pm 0.03 a	0.06 \pm 0.04 a	0.06 \pm 0.00 a	0.02 \pm 0.00 a	0.01 \pm 0.00 a	-	0.01 \pm 0.01 a
52	30.08	大根香叶烯 D-Germacren	0.07 \pm 0.03 a	0.05 \pm 0.01 a	0.01 \pm 0.01 b	-	-	-	-
53	30.45	(Z,E)- α -金合欢烯 (Z,E)- α -Farnesene	0.09 \pm 0.01 a	0.04 \pm 0.00 b	0.03 \pm 0.01 b	-	-	-	-
54	30.86	α -金合欢烯 α -Farnesene	3.23 \pm 0.10 a	1.02 \pm 0.05 b	0.18 \pm 0.07 c	0.03 \pm 0.00 d	0.01 \pm 0.01 d	-	0.05 \pm 0.02 cd
55	31.36	δ -杜松烯 δ -Cadinene	0.05 \pm 0.00 a	0.02 \pm 0.00 b	-	-	-	-	-
56	32.71	(Z)-苯甲酸叶醇酯 (Z)-3-Hexenyl benzoate	0.06 \pm 0.01 cd	0.10 \pm 0.02 c	0.21 \pm 0.03 b	0.26 \pm 0.04 a	0.08 \pm 0.01 c	0.02 \pm 0.00 d	0.02 \pm 0.01 d
57	33.47	2-甲基丙酸-1-叔丁基-2-甲基-1,3-丙烷二基酯 2-methyl propanoic acid-1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester	0.10 \pm 0.03 b	0.07 \pm 0.01 b	0.36 \pm 0.19 a	0.04 \pm 0.01 b	0.04 \pm 0.01 b	0.05 \pm 0.03 b	0.02 \pm 0.00 b
58	36.87	邻苯二甲酸二异丁酯 Diisobutyl phthalate	0.15 \pm 0.02 ab	0.18 \pm 0.04 ab	0.09 \pm 0.01 ab	0.23 \pm 0.18 a	0.08 \pm 0.02 ab	0.03 \pm 0.02 ab	0.03 \pm 0.01 b
总计 Total identified /%			97.08 \pm 0.18	96.51 \pm 0.99	97.57 \pm 0.15	98.41 \pm 0.16	98.56 \pm 0.17	98.44 \pm 0.18	98.48 \pm 0.18
化合物组成 Grouped compounds/%	烃类 Hydrocarbons		14.47 \pm 0.77 d	19.77 \pm 2.37 cd	57.94 \pm 5.51 a	30.35 \pm 0.92 b	24.13 \pm 2.12 bc	25.04 \pm 7.33 bc	22.37 \pm 8.29 bcd
	醇类 Alcohols		69.62 \pm 0.87 ab	65.03 \pm 0.60 bc	33.42 \pm 5.03 e	49.78 \pm 1.09 d	62.19 \pm 1.27 c	72.36 \pm 7.42 a	11.93 \pm 0.02 f
	含氮化合物 Nitrogenous		0.63 \pm 0.53 c	0.09 \pm 0.03 c	1.52 \pm 0.71 c	15.88 \pm 2.87 b	10.14 \pm 1.45 b	0.14 \pm 0.12 c	62.27 \pm 9.23 a
	脂类 Lipids		10.23 \pm 1.45 a	10.00 \pm 1.90 a	3.73 \pm 0.03 b	3.77 \pm 0.87 bc	1.26 \pm 0.38 c	0.76 \pm 0.13 c	0.87 \pm 0.18 c
	呋喃类 Furans		1.15 \pm 0.15 a	0.59 \pm 0.28 b	0.31 \pm 0.04 bcd	0.27 \pm 0.03 cd	0.10 \pm 0.00 d	0.08 \pm 0.05 d	0.45 \pm 0.04 bc
	醛类 Aldehydes		0.76 \pm 0.20 ab	0.90 \pm 0.30 a	0.38 \pm 0.07 bc	0.52 \pm 0.30 ab	0.47 \pm 0.25 ab	0.03 \pm 0.01 c	0.33 \pm 0.14 b
	酮类 Ketones		0.15 \pm 0.03 b	0.10 \pm 0.03 c	0.09 \pm 0.02 c	0.05 \pm 0.01 cd	0.03 \pm 0.01 d	0.03 \pm 0.01 d	0.26 \pm 0.02 a

注:“-”表示未检出;同行不同小写字母表示不同发育时期期间差异显著($P < 0.05$)。Notes:“-” indicated as not contain. Different letters in the same line indicated significant in different development stages at $P < 0.05$.

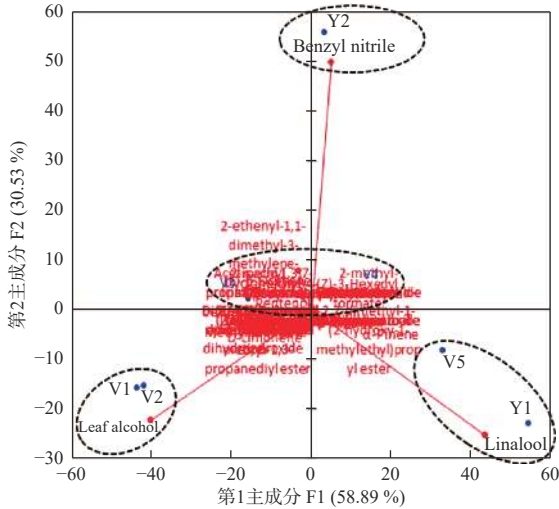


图2 腥臭卫矛花不同发育时期及部位挥发性成分 PCA 分析所得 biplot 双标图

Fig. 2 Biplot obtained by PCA of chemical constituents of *E. sanguineus* Loes. var. *paedidus* L. M. Wang flowers

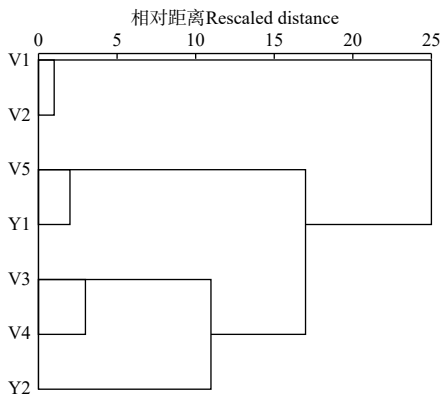


图3 腥臭卫矛花不同发育时期及部位挥发性成分的聚类分析

Fig. 3 HCA analysis based on chemical constituents of *E. sanguineus* Loes. var. *paedidus* L. M. Wang flowers

分数高达 62.20%，说明苯乙腈主要由花盘中释放。

虽然 V5 期存在大量香气成分，如芳樟醇 (51.21%)、 α -蒎烯 (10.90%)、叶醇 (9.86%)、D-柠檬烯 (2.00%)、(E)- β -罗勒烯 (1.28%) 等，但是花盘释放高含量的苯乙腈掩盖了美好的气味，使植株呈现刺激性气味。另外，V5 期的花瓣和花盘中分别含有微量的 2-萜醇 (0.45% 和 0.01%)，也可能是刺激性气味的来源成分。2-萜醇，吸收后有微毒，可能引起过敏反应，接触后可引起头痛、恶心、呕吐及惊厥^[23]。

4 讨论

本研究利用 SPME-GC-MS 技术，对腥臭卫矛

花序中不同发育时期的花 (苞) 及花绽开时的花瓣和花盘中的挥发性成分进行了分析鉴定，从中鉴定出了绝大多数 (96.51%~98.56%) 成分。研究表明，腥臭卫矛花的挥发性成分主要为芳樟醇、叶醇、苯乙腈、2-乙炔基-1,1-二甲基-3-亚甲基环己烷、(E)- β -罗勒烯、 α -蒎烯、D-柠檬烯和水杨酸甲酯，且腥臭卫矛花不同发育时期或开花期花瓣和花盘中的挥发性成分差异较大。从腥臭卫矛开花期 (V5) 鉴定出了 47 种成分，未检出 53 种成分，其中，未检出成分含量占比极少，仅 1.13%，未检出成分种类庞杂且占比极少，对腥臭卫矛花的风味影响不大。腥臭卫矛开花时激增的刺激性成分主要为苯乙腈，且仅存在于花盘中，占总成分的 62.20%。

苯乙腈属芳香性烃类物质，在玛咖 (*Lepidium meyenii* Walp.) 根^[24]、日本枇杷 (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) 花^[25] 以及某些柑橘属植物品种 (*Citrus unshiu* Blanco ‘Chahara’、*C. unshiu* Blanco ‘Okitsu’、*C. unshiu* Blanco ‘Zorica’) 的蜜腺^[21] 等植物器官中均有发现，但并未使植物本身产生不良气味。腥臭卫矛在花开时苯乙腈急剧释放，浓度激增，可能苯乙腈达到一定浓度时，便由芳香性气味变为令人不愉悦的味道。

苯乙腈存在于腥臭卫矛的花苞分化到开花的过程中，V1 和 V2 期含量极少，随着花瓣和花盘的分化，在 V4 期含量大量增加，但 V4 期的花并未呈现刺激性，说明此时苯乙腈仍未释放，直到 V5 期才经花盘中的外分泌结构释放出来。Konarska^[26] 发现，扶芳藤和欧洲卫矛 (*E. europaeus* Linnaeus) 的特化花托中都存在缺乏维管组织的光合蜜腺，花蜜通过蜜腺气孔 (扶芳藤) 或蜜腺气孔和分泌细胞壁 (欧洲卫矛) 流出。腥臭卫矛可能也存在类似的结构，苯乙腈随花蜜一起释放。

巨型虎杖 (*Fallopia sachalinensis* Houtt.)、苹果 (*Malus pumila* Mill.) 等叶器官受到食草动物侵害时，会释放包括苯乙腈在内的挥发性混合物^[27-28]。Yamaguchi 等^[29] 证实，日本弧丽金龟 (*Popillia japonica* Newman) 侵染或茉莉酸甲酯 (MeJA) 处理巨型虎杖叶片时，由 L-苯丙氨酸 (L-phenylalanine) 合成苯乙腈，细胞色素 P450 催化合成前体 (E/Z)-苯乙醛肟 (PAOx) 向苯乙腈转化，*CYP71AT96* 基因可能参与了苯乙腈的生物合成。与原变种石枣子相比，腥臭卫矛在开花期释放腥臭味的现象可能与调控苯乙腈合成的基因序列发生变异有关。

5 结论

腥臭卫矛花序中不同发育时期的花及开花时花瓣和花盘挥发成分差异显著。PCA 和 HCA 分析将腥臭卫矛花发育的 5 个时期与开花时 (V5 期) 不同部位的挥发性成分被聚成 4 大类, V1 和 V2 期属于叶醇型; V3 与 V4 期聚为 1 类, 成分复杂, 化学型不明显; V5 期和 Y1 为芳樟醇型; Y2 属于苯乙腈型。腥臭卫矛开花期的刺激性气味主要来源于花绽开时 (V5 期) 花盘释放的大量苯乙腈, 与鱼腥草素无关。

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[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [2] 王良民. 卫矛属一新变种—腥臭卫矛[J]. 西北植物学报, 2013, 33(4): 840-842.
- [3] Yan Z H, Han Z Z, Hu X Q, *et al.* Chemical constituents of *Euonymus alatus*[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, 49(2): 340-342.
- [4] 闫朝辉. 卫矛化学成分研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2012.
- [5] Yan L H, Liu X Q, Zhu H, *et al.* Chemical constituents of *Euonymus fortunei*[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2015, 17(9): 952-958.
- [6] Bae J Y, Park W S, Kim H J, *et al.* Chemical and morphological differentiation between *Euonymus japonica* and *E. fortunei* var. *radicans*[J]. *Planta Medica*, 2014, 80(10): 841-846.
- [7] 朱 辉, 闫朝辉, 王智民, 等. 卫矛属药用植物化学成分及药理活性研究进展[J]. *中国药学杂志*, 2013, 48(4): 241-247.
- [8] Zhu J X, Qin J J, Zhang F, *et al.* Chemical constituents of *Euonymus acanthocarpus*[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2013, 49(2): 383-387.
- [9] 佳 娴. 刺果卫矛化学成分研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2012.
- [10] 王盈盈, 刘寿柏, 王 昊, 等. 疏花卫矛化学成分的研究[J]. *热带亚热带植物学报*, 2012, 20(6): 596-601.
- [11] 朱小迪, 李永慈, 王建忠, 等. 黄心卫矛化学成分的分离与鉴定[J]. *中成药*, 2011, 33(1): 107-110.
- [12] He S L, Zhang Y M, Ma Y H, *et al.* Chemical composition and insecticidal activities of the essential oil from fruits of *Euonymus schensianus*[J]. *Chemistry of Natural Compounds*, 2019, 55(4): 748-750.
- [13] 张 蕾, 倪 穗, 李纪元, 等. 金花茶不同时期花瓣营养与生物活性成分分析[J]. *林业科学研究*, 2019, 32(2): 32-38.
- [14] Liu J, Liu Y, Wang Y, *et al.* GC-MS metabolomic analysis to reveal the metabolites and biological pathways involved in the developmental stages and tissue response of *Panax ginseng*[J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 496-509.
- [15] 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.
- [16] Wang L M, Li M T, Jin W W, *et al.* Variations in the components of *Osmanthus fragrans* Lour. essential oil at different stages of flowering[J]. *Food Chemistry*, 2009, 114(1): 233-236.
- [17] 万友名, 马 宏, 刘雄芳, 等. 馥郁滇丁香‘香妃’成花过程的主要内源物质变化特点[J]. *林业科学研究*, 2019, 32(6): 144-150.
- [18] Odeh I, Abu-Lafi S, Al-Najjar I. Determination of unifloral honey volatiles from *Centaurea iberica* and *Zizyphus spinachristi* by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Acta Chromatographica*, 2014, 26(3): 485-493.
- [19] Shoko T, Saka J D K, Apostolides Z. Headspace volatiles of the edible fruit pulp of *Parinari curatellifolia* growing in Malawi using solid phase microextraction[J]. *South African Journal of Botany*, 2014, 90: 128-130.
- [20] Uekane T M, Nicolotti L, Griglione A, *et al.* Studies on the volatile fraction composition of three native Amazonian-Brazilian fruits: Murici (*Byrsonima crassifolia* L., Malpighiaceae), bacuri (*Platonia insignis* M., Clusiaceae), and sapodilla (*Manilkara sapota* L., Sapotaceae)[J]. *Food Chemistry*, 2017, 219: 13-22.
- [21] Jerkovic I, Prdun S, Marijanovic Z, *et al.* Traceability of satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) honey through nectar/honey-sac/honey pathways of the headspace, volatiles, and semi-volatiles: chemical markers[J]. *Molecules*, 2016, 21(10): 1302-1314.
- [22] Adams R P. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry[M]. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation, 2017.
- [23] 2-苜醇安全技术说明书[DB/OL]. http://www.msdsafe.com/msds_show.php?msds_id=1731#xiazai, 2020-02-06.
- [24] 杨 敏, 贺与平, 殷勤红, 等. 云南不同产地玛咖挥发油成分的 GC-MS 检测及多元统计分析[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(14): 67-72.
- [25] Kuwahara Y, Asano Y. Generation of (2-nitroethyl) benzene and related benzenoids from L-phenylalanine; flower scents of the Japanese loquat *Eriobotrya japonica* [Rosales: Rosaceae][J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2018, 82(11): 1855-1866.
- [26] Konarska A. Comparison of the structure of floral nectaries in two *Euonymus* L. species (Celastraceae)[J]. *Protoplasma*, 2015, 252(3): 901-910.
- [27] Noge K, Tamogami, S. Herbivore-induced phenylacetonitrile is biosynthesized from de novo-synthesized L-phenylalanine in the giant knotweed, *Fallopia sachalinensis*[J]. *Febs Letters*, 2013, 587(12): 1811-1817.
- [28] Judd G J R, Knight A L, El-Sayed A M. Trapping *Pandemis limitata* (Lepidoptera: Tortricidae) moths with mixtures of acetic acid, caterpillar-induced apple-leaf volatiles, and sex pheromone[J]. *Canadian Entomologist*, 2017, 149(6): 813-822.
- [29] Yamaguchi T, Noge K, Asano Y. Cytochrome P450 CYP71AT96 catalyses the final step of herbivore-induced phenylacetonitrile biosynthesis in the giant knotweed, *Fallopia sachalinensis*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2016, 91(3): 229-239.

SPME-GC-MS Analysis of Volatile Components in *Euonymus sanguineus* var. *paedidus* Flowers at Various Development Stages

LIU Zhi-hong, XIE Qing

(College of Forestry, Shanxi Agriculture University, Shanxi Key Laboratory of Northern Functional Oil Tree Cultivation and Research, Taigu 030801, Shanxi, China)

Abstract: [Objective] To study the changes of volatile components in *Euonymus sanguineus* var. *paedidus* flowers at 5 development stages (V1 to V5) and the causes of its pungent odor. [Method] The volatile components at various development stages and in petal (Y1) and disk (Y2) of *E. sanguineus* var. *paedidus* were analyzed by headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) as well as principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA). [Result] A total of 58 components accounting for 96.51%-98.56% of total were separated and identified. The major constituents were linalool (0.15%-70.79%), leaf alcohol (0.41%-65.51%), phenylacetonitrile (0.04%-62.20%), 2-ethenyl-1, 1-dimethyl-3-methylene-cyclohexane (0.02%-32.99%), (E)- β -ocimene (0.25%-21.26%), α -pinene (0.02%-20.41%), D-limonene(1.01%-11.74%)and methyl salicylate(0.14%-6.14%). The volatile components in all samples were dominated by alcohols (11.93%-69.66%), followed by hydrocarbons (14.47%-57.94%). Analysis of the volatile components revealed the qualitative differences among the samples studied. According to principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA), the volatile constituents at various development stages and in parts of *E. sanguineus* var. *paedidus* flowers were grouped into four different chemotypes. V1 and V2 were leaf alcohol (type I), V3 and V4 were complex and not obvious (type II), V5 and Y1 were linalool, (type III) Y2 was phenylacetonitrile (IV). [Conclusion] The volatile constituents of *E. sanguineus* var. *paedidus* are different at different development stages and the pungent odor is mainly related to phenylacetonitrile released by flower disk at flowering.

Keywords: *Euonymus sanguineus* Loes. var. *paedidus* L. M. Wang; SPME; GC-MS; phenylacetonitrile; PCA

(责任编辑: 徐玉秀)