

# SPME-GC 指纹图谱法鉴别北五味子和南五味子研究

李小亭, 相海恩, 李瑞盈, 赵志磊, 刘秀华

(河北大学 质量技术监督学院, 河北 保定 071002)

**摘要:**采用顶空固相微萃取技术提取五味子药材中的挥发性成分,用毛细管色谱柱进行气相色谱分析,建立五味子药材的气相色谱指纹图谱,并用中药色谱指纹图谱相似度评价软件和 SPSS 软件进行相似度评价及聚类分析和判别分析,对南、北五味子进行鉴别。结果表明:南、北五味子的挥发性成分存在明显的差异,可以用于鉴别南、北五味子,能够建立稳定的判别分析模型;在 7 个产地中,不同产地的南五味子之间的相似度均大于 0.95,不同产地的北五味子之间的相似度也均大于 0.95,而南五味子与北五味子的相似度低于 0.26;聚类分析法能够将南、北五味子各自聚成 1 类,对 4 个未知样品进行判别分析,正确率达到了 100%。

**关键词:**北五味子;南五味子;聚类分析;判别分析;SPME;气相色谱法

**中图分类号:**S 567.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)09-0181-04

五味子属木兰科植物五味子(*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill)的干燥成熟果实,俗称“北五味子”,是辽宁省和黑龙江省的道地药材,又称“辽五味子”。南五味子属木兰科植物华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd. et Wils.)的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>。五味子果实酸、甘、辛、苦、咸五味俱全,故而得名五味子。五味子是一种著名的滋补强壮药材,始载于《神农本草经》,列为上品。其味酸,性甘、温,归肺、肾、心经,有收敛固涩、益气生津、补肾宁心之功效<sup>[2]</sup>。五味子药材中含有木脂素、挥发油、多糖等化学成分。现代药理研究表明,五味子药材的药理作用涉及中枢神经系统<sup>[3]</sup>、心血管系统<sup>[4]</sup>、消化系统、生殖系统及抗衰老<sup>[5-6]</sup>、抗艾滋病病毒<sup>[7]</sup>、抗肿瘤、降血脂等各个方面。临床研究表明,北五味子的药效优于南五味子<sup>[8]</sup>。因而,北五味子的市场价格要高于南五味子。由于南、北五味子在外观上相似,不易辨别,时有不法商贩将南五味子冒充北五味子,侵犯消费者的权益,扰乱了市场秩序。因此,有必要建立有效识别方法以鉴别南、北五味子的真伪。

近年来,识别南、北五味子的研究主要集中在用 HPLC 法测定其脂溶性成分的指纹图谱。沈振铎等<sup>[9]</sup>提取了五味子药材中的挥发油,建立了南、北五味子的 GC 指纹图谱,利用指纹图谱相似度评价软件对南、北五味子进行了有效识别。但该方法都需要较复杂的样品

预处理。顶空固相微萃取技术集取样、萃取、浓缩和进样于一体,操作方便,测定快速高效,无需任何有机溶剂,是真正意义上的固相萃取,避免了对环境的二次污染;仪器简单,适于现场分析,也易于操作。现采用顶空固相微萃取技术提取了五味子药材中的挥发性成分,建立五味子药材的 GC 指纹图谱,并利用 SPSS 软件进行聚类分析和判别分析,以期建立稳定可靠的模式识别方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

3 种北五味子药材分别来源于辽宁抚顺、黑龙江、吉林;4 种南五味子药材分别来源于山西、陕西、河南和湖北。Agilent 6820 气相色谱仪(美国 Agilent 公司);电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);B-260 型恒温水浴锅(上海亚荣生化仪器厂);手动 SPME 萃取装置及 85  $\mu\text{m}$  聚丙烯酸酯(PA)萃取头和 75  $\mu\text{m}$  Carboxen<sup>TM</sup>-PDMS 萃取头(美国 SUPELCO 公司);101-2AB 型电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 固相微萃取(SPME)过程** 将五味子药材在 65℃ 下干燥 24 h 后粉碎。精确称取五味子药材粉末 2.0000 g 置于萃取瓶中,密封。将 SPME 装置的萃取头插入到萃取瓶中,35℃ 顶空萃取 20 min。气相色谱的进样解吸 10 min。

**1.2.2 气相色谱条件** 色谱柱:SUPELCO WAX 10 型毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ );载气:高纯氮气,流速:1.0 mL/min;空气流速:400 mL/min;氢气流速:40 mL/min;进样方式:不分流;升温程序:初始温度

**第一作者简介:**李小亭(1958-),女,河北容城人,硕士,教授,现主要从事产品质量检测技术研究等工作。E-mail:zhileizhao@yahoo.cn.

**基金项目:**质检公益性行业科研专项资助项目(201210010-4)。

**收稿日期:**2012-01-08

50℃,以 15℃/min 上升到 115℃,以 2℃/min 上升到 140℃,以 10℃/min 上升到 200℃;以 20℃/min 上升到 270℃,保持 20 min;进样口温度:230℃;FID 检测器温度:270℃。

1.2.3 精密度试验 精密称取 2.0000 g 辽宁抚顺产地五味子按照上述条件平行进样 6 次,记录指纹图谱并将指纹图谱导入中国药典委员会《中药色谱指纹图谱相似度评价系统 2004A 版》进行分析。结果表明,各指纹图谱的相似度均在 0.995 以上,表明仪器的精密度良好。

1.2.4 重复性试验 精密称取 2.0000 g 辽宁抚顺产地的五味子样品 6 份,按照上述条件重复进样 6 次,记录指纹图谱并分析。结果表明,各指纹图谱的相似度均在 0.993 以上,表明仪器的精密度良好。

1.2.5 稳定性试验 精密称取 2.0000 g 辽宁抚顺产地五味子样品 6 份,分别在 0、2、4、8、24 h 进样,考察样品

的稳定性。各谱图的相似度均在 0.997 以上,结果表明样品在 24 h 内稳定。

## 2 结果与分析

### 2.1 五味子药材挥发性成分指纹图谱的建立

按照 1.2.1 的方法处理并采集 7 个不同产地五味子药材的挥发性成分,依 1.2.2 中的色谱条件分别进样分析,记录其色谱图(图 1)。从图 1 可以看出,不同产地五味子药材的 GC 色谱图明显分为 2 类,吉林、黑龙江和辽宁抚顺的 GC 色谱图较为相似,为北五味子的 GC 色谱图;山西、陕西、河南和湖北的 GC 色谱图较为相似,为南五味子的 GC 色谱图。这 2 类色谱图在特征峰的数量及相同保留时间的特征峰的面积之间都存在较大的差异,说明这 7 个产地的五味子药材中所含的挥发性成分有较大差异。这与沈振铎等<sup>[9]</sup>的研究结果一致。

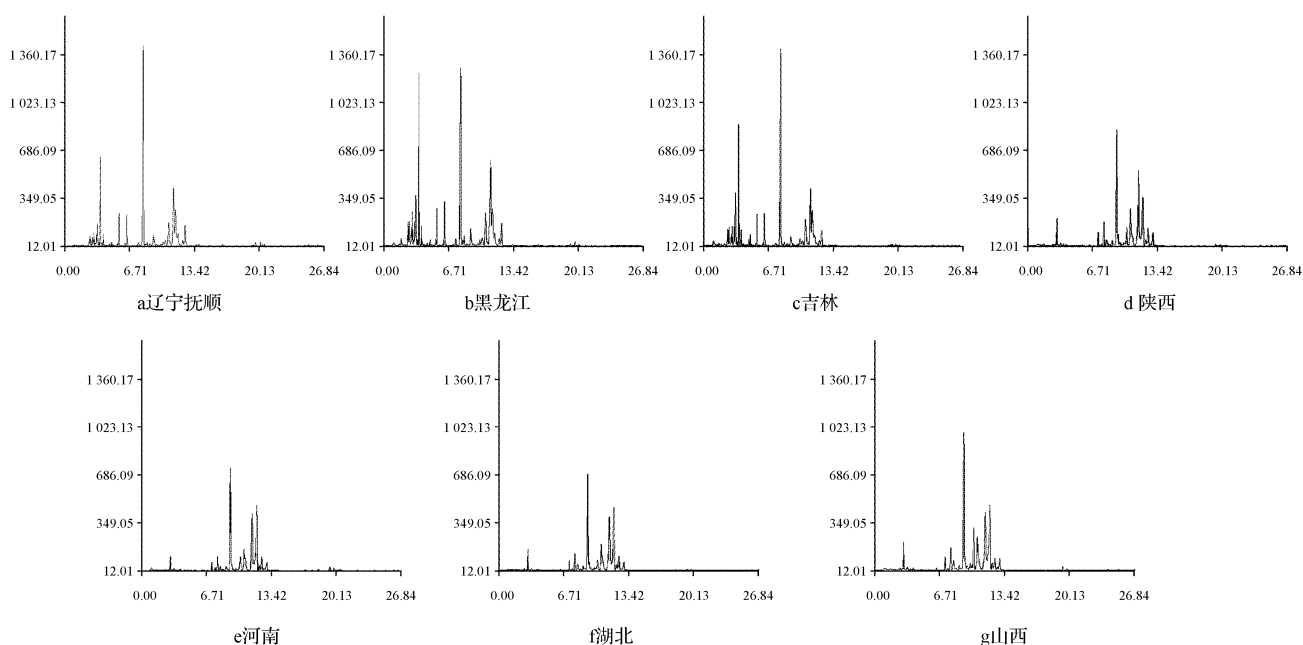


图 1 不同产地五味子药材挥发性成分指纹图谱

### 2.2 五味子气相色谱指纹图谱共有峰的标定

将 7 个不同产地五味子药材的 GC 色谱图导入到色谱指纹图谱软件中,以辽宁抚顺产五味子药材的色谱图为对照谱图,结果表明,有 17 个共有峰为 7 个产地五味子共有的挥发油成分,将其编号为 1~17。

### 2.3 五味子药材指纹图谱的相似度评价

由表 1 可知,7 个产地的五味子药材明显分为 2 类:黑龙江和吉林产五味子的 GC 色谱图与辽宁抚顺的相似度均大于 0.95;河南、湖北、陕西和山西所产五味子的 GC 色谱图与抚顺的相似度均低于 0.26。以北五味子对照指纹图谱为对照,二者的相似度仅有 0.218,说明了南、北五味子之间存在较大的差别。

表 1 不同产地五味子药材的相似度

产地	抚顺	黑龙江	吉林	河南	湖北	山西	陕西
相似度	1.000	0.951	0.983	0.212	0.224	0.221	0.254

### 2.4 五味子药材系统聚类分析

利用 SPSS 17.0 软件对 7 个产地五味子药材的 17 个共有峰的原始数据进行标准化处理后,对其进行聚类分析。采用离差平方和法,以欧式平方距离为测度标准,将五味子药材分为 2 类,聚类分析结果见图 2 所示。图 2 表明,在阈值为 25 时,25 份样品聚成了 2 类,陕西、山西、河南、湖北的图谱聚在一起,黑龙江、吉林、辽宁抚顺的图谱聚在一起,聚类分析能够清晰的将南、北五味子分开。

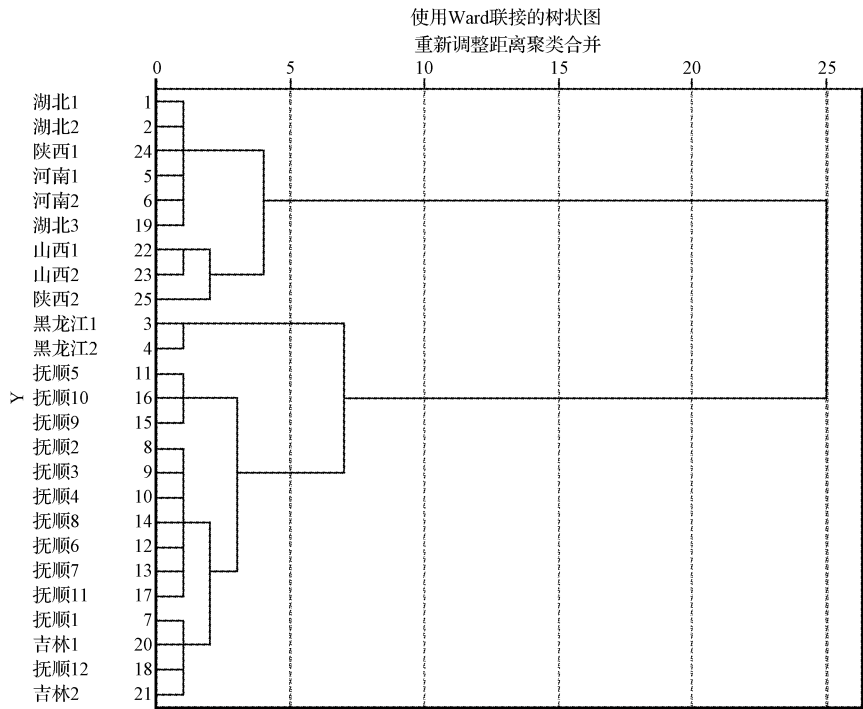


图 2 不同产地五味子聚类分析

2.5 五味子药材的贝叶斯判别分析

试验中的五味子药材可以分为 2 种类型,南五味子用 1 表示,北五味子用 2 表示。将湖北 3、抚顺 7 和抚顺 8 作为未知类型的样品,其余样品类型用 1、2 表示。将其余样品的 17 个共有峰面积及其所属类型作为自变量输入到 SPSS 中进行判别分析。

由表 2 可知,贝叶斯判别函数为:

$$g_1(x) = -721.073 - 0.205x_1 + 2.966x_2 - 0.613x_3 - 1.553x_4 + 2.011x_5 - 10.654x_6 - 1.860x_7 + 0.744x_8 - 0.044x_9 + 2.912x_{10} + 0.189x_{11} + 6.100x_{12} + 0.829x_{13} - 1.658x_{14} - 0.125x_{15} + 3.238x_{16} - 1.863x_{17},$$
$$g_2(x) = -1\ 655.953 - 1.276x_1 - 5.645x_2 + 1.194x_3 + 3.848x_4 - 10.747x_5 + 23.662x_6 + 9.175x_7 - 1.293x_8 - 0.003x_9 - 5.863x_{10} - 0.551x_{11} - 14.796x_{12} - 0.814x_{13} + 1.732x_{14} + 0.116x_{15} - 2.644x_{16} + 2.631x_{17}。$$

将待判样品湖北 3 的 17 个变量值代入上述贝叶斯判别函数可得判别函数值分别为  $g_1(x) = -6.94125$ ,  $g_2(x) = -1\ 672.41$ 。根据贝叶斯后验概率最大原则,可以判断湖北 3 $\in G^{(1)}$ ,即是南五味子。将待判样品抚顺 7 的 17 个变量值代入上述贝叶斯判别函数可得判别函数值分别为  $g_1(x) = -1\ 611.74$ ,  $g_2(x) = 1\ 171.744$ 。可以判断抚顺 7 $\in G^{(2)}$ ,即属于北五味子。按照同样的方法计算抚顺 8 和湖北 1 的判别函数值,根据后验概率最大原则判断抚顺 8 $\in G^{(2)}$ ,即是北五味子;湖北 1 $\in G^{(1)}$ 即是南五味子。

表 2 典型判别式函数系数

共有峰	分组	
	1	2
1	-0.205	-1.276
2	2.966	-5.645
3	-0.613	1.194
4	-1.553	3.848
5	2.011	-10.747
6	-10.654	23.662
7	-1.860	9.175
8	0.744	-1.293
9	-0.044	-0.003
10	2.912	-5.863
11	0.189	-0.551
12	6.100	-14.796
13	0.829	-0.814
14	-1.658	1.732
15	-0.125	0.116
16	3.238	-2.644
17	-1.863	2.631
常量	-721.073	-1 655.953

3 结论与讨论

分别采用 75  $\mu\text{m}$  Carboxen<sup>TM</sup>-PDMS 涂层和 85  $\mu\text{m}$  Polyacrylate 萃取头对五味子药材进行萃取、解吸。从色谱峰的个数和总峰面积两方面考虑,85  $\mu\text{m}$  Polyacrylate 涂层纤维的萃取效果优于 75  $\mu\text{m}$  Carboxen<sup>TM</sup>-PDMS 涂

层纤维,确定采用前者进行 SPME 萃取。

该试验比较了 7 种不同的升温程序,最后确定初始温度 50℃,以 15℃/min 上升到 115℃,以 2℃/min 上升到 140℃,以 10℃/min 上升到 200℃;以 20℃/min 上升到 270℃,保持 20 min 这一升温程序所得的色谱图中色谱峰的面积最大,较为稳定,分离度较好,大部分的峰都达到了基线分离。

从指纹图谱相似度和聚类分析 2 个方面区分出了南北五味子,建立了鉴别南北五味子的贝叶斯判别模型,并使用未知样品对建立的模型进行检验,识别正确率达到了 100%,该方法可为准确、快速鉴别出南、北五味子提供技术支撑。

#### 参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2005:44-45.  
[2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科

学技术出版社,1999:902.

- [3] 刘振亮,田伟,安申之. 参茂五味子片治疗神经衰弱 32 例疗效分析[J]. 中国民康医学,2003,15(11):694.  
[4] 李金城,魏家亭. 重用柴胡、五味子治疗血管神经性头痛 106 例[J]. 国医论坛,1997,12(6):31.  
[5] 孙文娟,吕文伟,于晓凤,等. 北五味子粗多糖抗衰老作用的实验研究[J]. 中国老年学杂志,2001,21(11):454-455.  
[6] 苗明三. 五味子多糖对衰老模型小鼠的影响[J]. 中国医药学报,2002,17(3):187-188.  
[7] Chen D F, Zhang S X, Xie L, et al. Anti-aids agents-XXVI. Structure-activity correlations of Gomisin-G-related anti-HIV lignans from *Kadsura interior* and of related synthetic analogues[J]. Bioorganic Medicinal Chemistry, 1997, 5(8):1715-1723.  
[8] 张胜娜,吴素香. 南北五味子挥发油成分及药理作用研究进展[J]. 中药材,2007,30(1):118-120.  
[9] 沈振铎,陈晓辉,熊丽,等. 评价五味子和南五味子质量的 GC 指纹图谱的建立与分析[J]. 沈阳药科大学学报杂志,2008,25(8):650-655.

## Study on Identification of *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill and *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. by SPME-GC Fingerprint

LI Xiao-ting, XIANG Hai-en, LI Rui-ying, ZHAO Zhi-lei, LIU Xiu-hua  
(College of Quality and Technical Supervision, Hebei University, Baoding, Hebei 071002)

**Abstract:** In order to identify *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill and *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. by SPME-GC fingerprint combined with cluster analysis and discriminant analysis, the volatile components from *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill and *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. were extracted by Head Space Solid Phase Microextraction. The chemical components in *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill and *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. was ultrasonically extracted in methanol. The fingerprint of the extract were assayed with capillary gas chromatography to establish the GC fingerprint of *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill and *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. and SPSS were used for similarity evaluation and clustering analysis and discriminant analysis. The results showed in the seven *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill and *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. samples from different cultivation areas, the similarity between *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. from different cultivation areas were greater than 0.95; also the similarity between *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill from different cultivation areas were greater than 0.95; while the similarity between *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill and *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils. were smaller than 0.26. Clustering analysis could discriminate *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill from *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils.. The accurate rate of discriminant analysis of four unknown samples were reached 100%.

**Key words:** *Schisandrae chinensis* (Turcz.) Baill; *Schisandrae sphenanthera* Rehd. et Wils.; cluster analysis; discriminant analysis; SPME; GC