

气相色谱-质谱分析不同树种檀香木心材

晏婷婷, 陈媛, 王茜, 尚丽丽, 李改云

(中国林业科学研究院木材工业研究所, 北京 100091)

摘要: 以檀香科(Santalaceae)两个属6个树种心材的72个样本为研究对象,采用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)分析石油醚提取物的成分组成特征,确定可能用于树种识别的指标。结果表明:檀香科6个树种心材的挥发性成分主要为倍半萜类;檀香属(*Santalum* spp.)5个树种与沙针属非洲檀香(*Osyris lanceolata*)心材挥发性成分有较大差异;用主要倍半萜含量建立的判别分析模型,对檀香木(*Santalum album*)、新喀里多尼亚檀香(*Santalum austrocaledonicum*)和斐济檀香(*Santalum yasi*)3个树种的识别准确率可达94%。

关键词: 檀香科木材; 树种识别; 气相色谱-质谱(GC-MS)

中图分类号: O657.7; Q949.741.4; S781.4; TS67

文献标识码: B

文章编号: 1001-8654(2020)04-0048-04

Identification of Heartwood from Different Santalaceae Species by Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS)

YAN Ting-ting, CHEN Yuan, WANG Qian, SHANG Li-li, LI Gai-yun

(Research Institute of Wood Industry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: The composition characteristics of petroleum ether extract from 72 heartwood samples of Santalaceae obtained from 5 species of *Santalum* and 1 species of *Osyris* were analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometer (GC-MS). Results showed that sesquiterpenes were the main petroleum ether extracts from the Santalaceae heartwood. The compositions of volatiles from *Santalum* species were different from those from *Osyris lanceolata*. An identification model was developed to evaluate the major sesquiterpene content. For *S. album*, *S. austrocaledonicum* and *S. yasi*, the accuracy of identification by the model was above 94%.

Key words: Santalaceae; species identification; GC-MS

檀香木(*Santalum* spp.)属檀香科(Santalaceae)木材,因其心材富含特殊香气的精油,有很高的经济价值^[1],其中檀香属的檀香木(*Santalum album*)心材最为昂贵^[2]。檀香属的大花澳洲檀香(又称披针叶檀香木, *Santalum lanceolatum*)、大果澳洲檀香(又

称穗花檀香木, *Santalum spicatum*)、新喀里多尼亚檀香(*Santalum austrocaledonicum*)^[3-5]和斐济檀香(*Santalum yasi*),以及沙针属的非洲檀香(*Osyris lanceolata*)等^[6],在市场上亦被称作檀香木^[7],但其精油含量和成分不同,价格相差甚远。快速准确地识别檀香木树种,有利于檀香资源保护和市场监管。

传统木材识别能鉴定到属^[8],近年来DNA识别技术开始用于檀香木树种鉴别^[9-10]。植物种属识别研究中,已有使用特有的代谢产物成分与含量作为分类参考报道^[11-14]。檀香木含特有的次级代谢产物,

收稿日期: 2019-05-21; 修改日期: 2020-06-12

基金项目: 浙江省与中国林科院林业科技合作项目“基于植物化学分类学的印度檀香识别技术研究”(2016SY14)。

作者简介: 晏婷婷(1979—),女,助理研究员。Email: yanttt@criwi.org.cn

主要成分是倍半萜类^[3-6, 13], 不同树种来源的檀香木倍半萜类成分及含量存在一定差异^[14]。本研究以市场流通较多的檀香科心材为研究对象, 用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS) 分析其挥发性成分种类及含量, 用多种统计方法找到区分檀香树种的指标化合物, 旨在为檀香木快速准确识别提供方法依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

檀香木样本: 72 个样本来自市场或国内种植园, 信息列于表 1。

表 1 檀香木心材样品编号及信息
Tab.1 Sample list from different Santalaceae species

样品编号	树种	产地
SA 1~17	檀香木 (<i>Santalum album</i>)	印度、印度尼西亚
SA 18~30	檀香木 (<i>Santalum album</i>)	中国
SL 31~34	大花澳洲檀香 (又称披针叶檀香木) (<i>Santalum lanceolatum</i>) ^[2]	澳大利亚
SS 35~38	大果澳洲檀香 (又称穗花檀香木) (<i>Santalum spicatum</i>) ^[2]	澳大利亚
SC 39~47	新喀里多尼亚檀香 (<i>Santalum austrocaledonicum</i>)	瓦努阿图
SY 48~62	斐济檀香 (<i>Santalum yasi</i>)	斐济
OL 62~72	非洲檀香 (<i>Osyris lanceolata</i>)	非洲

试剂: 分析纯石油醚 (北京化工厂), 无水硫酸钠 (北京化工厂), 正构烷烃混标 (D-2887 Calibration Solution, 百灵威)。

1.2 试验设备及仪器

GC-MS 2010 (岛津): EI 离子源, 四极杆质量分析器; 色谱柱: DB-5HT (安捷伦, 30m×0.25mm), 超声波清洗仪 (舒美)。

1.3 样品制备

样品心材部分沿径向取样 3~5 个点, 混合后粉碎。取 1 g 粉末用 10 mL 石油醚浸泡 2 h, 再于室温 20 Hz 超声处理 1 h。无水硫酸钠脱水干燥后过滤, 避光保存于 4 °C 环境中。依据《中国药典》(2015) 中实验验证指导原则^[15], 对所用提取和测试方法进行稳定性和重复性考察, 重复性 RSD<2%。

1.4 测试和分析

GC-MS 测试: 检测器温度 230 °C; 进样口温度

250 °C。进样量 1 μL, 分流比 1:100, 载气为高纯氦气, 流速 0.7 mL/min。

升温程序: 70 °C 保持 10 min, 2 °C/min 升温至 220 °C, 保持 10 min。总离子流图 (total ion chromatograms, TIC) 用全扫描模式获得, 扫描范围 50~500 m/z。溶剂延迟 5 min。

1.5 数据处理和多变量分析

GC-MS Postrun Analysis (岛津) 去卷积处理色谱峰, 用质谱数据和保留指数检索 NIST2014 (National Institute of Standards and Technology), 根据参考文献^[14]列出可能的化合物。化合物含量用色谱峰面积百分比表示, 并作为变量, 用于统计分析 (Origin9)。

为区分檀香木、新喀里多尼亚檀香和斐济檀香, 进行主成分分析 (principle components analysis, PCA)。主成分 (principle component, PC) 个数通过交互验证确定。层次聚类分析 (Hierarchical cluster analyses, HCA) 使用组平均法, 用变量间的欧式距离 (euclidean distance) 显示各变量相关性。通过线性判别分析 (liner discriminative analysis, LDA) 建立檀香木判别模型。

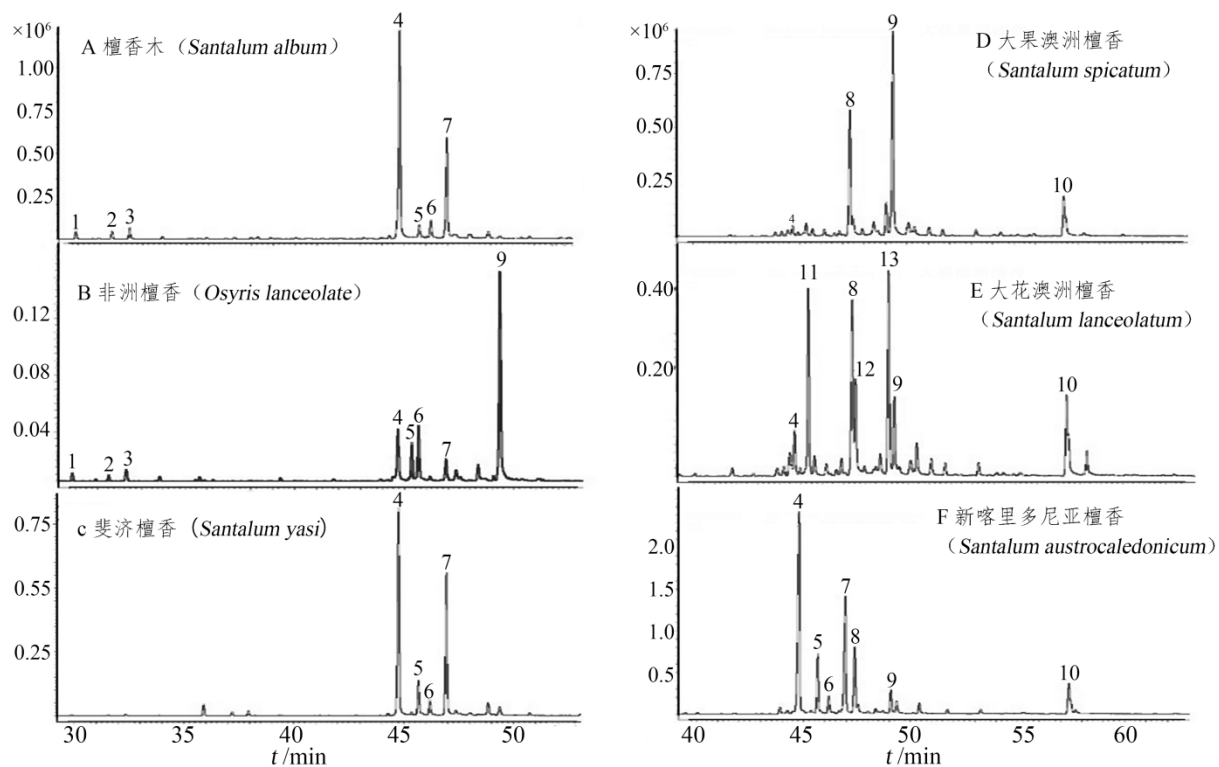
2 结果与讨论

2.1 檀香木心材 GC-MS 特征图谱

6 个树种的檀香木挥发性成分特征图谱如图 1 所示, 根据 NIST2014 检索结果和参考文献, 主要成分均为倍半萜类^[14]。

檀香木、斐济檀香和部分新喀里多尼亚檀香中, α-檀香醇与 β-檀香醇 (图 1A, C, F) 含量最高, 这两个成分在大花澳洲檀香、大果澳洲檀香则较低 (图 1D、1E), 与已有研究结果类似^[3]。大花澳洲檀香中反式香榧醇和澳白檀醇为最高峰。大果澳洲檀香中检出的成分种类较多, 包括 α-没药醇 (α-Bisabolol)、金合欢醇 (Farnesol) 和白菖醇 (6-epi-Shyobunol) 等 (图 1E)。

非洲檀香与其他檀香属树种的图谱差异较大, 澳白檀醇 (9[#]) 的相对含量最高 (图 1B)。五个檀香属木材中, 澳白檀醇的相对含量较低 (图 1D、E、F) 或低于检出限 (图 1A、C), 能够据此将非洲檀香与其他檀香属木材进行区分。



1 α -檀香烯; 2 Epi- β -檀香烯; 3 β -檀香烯; 4 α -檀香醇; 5 Z- α -trans-香柠檬醇; 6 E-顺,表-檀香醇; 7 β -檀香醇; 8 trans-香榧醇; 9 溴白檀醇; 10 白菖醇; 11 α -没药醇; 12 金合欢醇; 13 E-香榧醇。

图1 6个树种试样的 GC-MS TIC 特征图

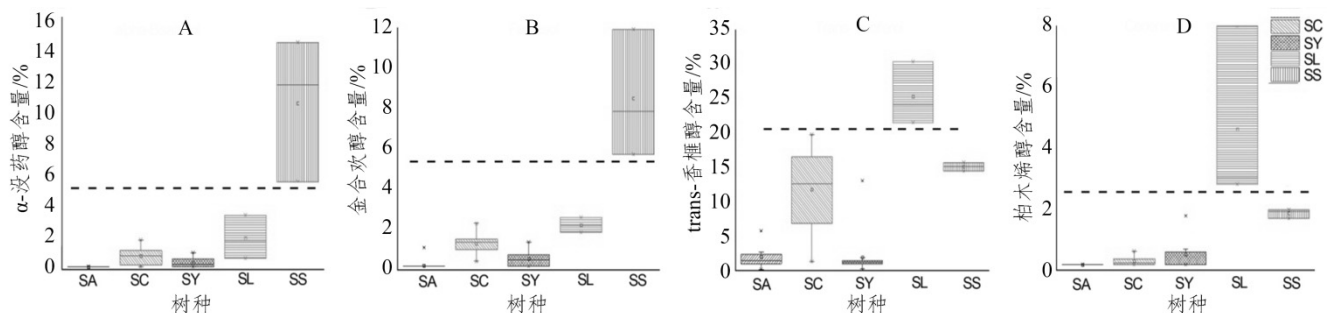
Fig.1 The representative TIC of 6 species of Santalaceae wood samples

檀香、新喀里多尼亚檀香和斐济檀香的TIC图谱相似(图1A、C、F),三者主要区别在保留时间(retention time, RT) 40 min前。檀香木在RT 30~35 min出现了三个峰,斐济檀香只在RT 35~40 min间出现了色谱峰,而新喀里多尼亚檀香在RT 40 min之前没有明显的色谱峰。确认所有检出色谱峰代表的化合物并比较其含量,可能有助于进一步识别檀香属树种。

2.2 不同檀香树种中主要倍半萜类含量变化

大果澳洲檀香中的 α -没药醇(α -Bisabolol)和金

合欢醇(Farnesol)含量,远高于其他4个檀香属树种(图2A、B)。澳大利亚产的两个檀香树种检测到柏木烯醇(Cedrenol),在大花澳洲檀香中最高(图2D)。在斐济檀香和新喀里多尼亚檀香中,存在较大的种间差异。新喀里多尼亚檀香中 α -Santalol含量从16.9%~49.56%不等。有些斐济檀香和新喀里多尼亚檀香中, α -檀香醇和 β -檀香醇含量与檀香木样品组接近。主要成分含量范围重叠,使得檀香木、新喀里多尼亚檀香和斐济檀香的识别比较困难,但这三个



SA—檀香木; SL—大花澳洲檀香; SS—大果澳洲檀香; SC—新喀里多尼亚檀香; SY—斐济檀香

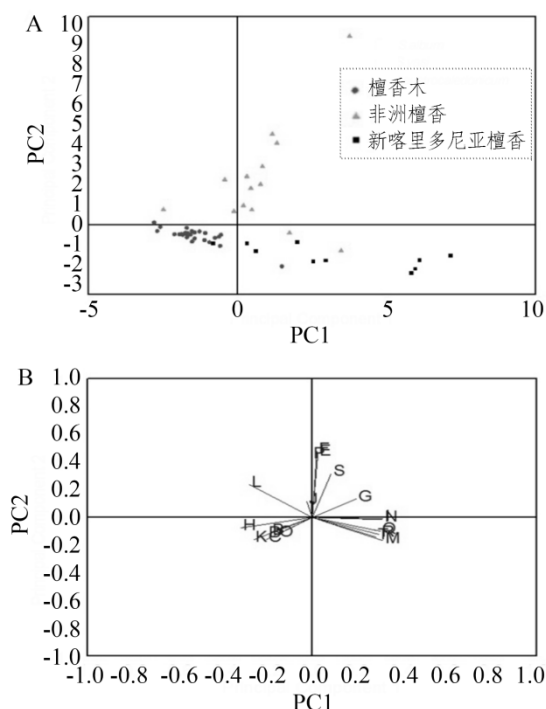
图2 5个檀香属树种心材中的主要倍半萜类含量

Fig.2 The proportion distributions of quantified compounds

树种中一些含量较少的成分存在差异。多数斐济檀香含有萆烯(careen)和檀香三烯(santolinatriene),而在檀香和新喀里多尼亚檀香中未检出这两个成分;在所有新喀里多尼亚檀香中都检出了白菖醇,而在檀香木中未检出。但由于缺乏标准品,且化合物含量较低时,难以区分含量相近的成分。因此使用多变量分析方法,进一步识别三个檀香属树种。

2.3 多变量分析区分檀香属树种

PCA 结果显示,多数檀香样品聚集在左侧象限,唯一被分入右侧象限与新喀里多尼亚檀香和斐济檀香混淆的样品含有少量的金合欢醇(0.94%)。PC1 和 PC2 累计贡献率(cumulative proportion)为 65%。新喀里多尼亚檀香和斐济檀香有较大种内差异,不能很好地聚类。根据 PCA 中各变量对 PC1 和 PC2 的载荷(loadings)(图 3B)和 HCA 分析中变量相关性,进行数据降维处理。



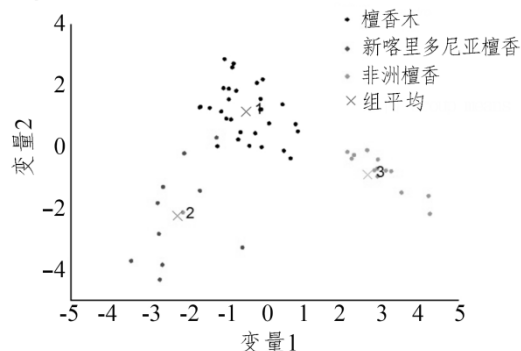
B α -檀香烯, C Epi- β -檀香烯, D β -檀香烯, E 萆烯, F 檀香三烯, G β -没药醇, H α -檀香醇, I α -没药醇, J Z- α -trans-香柠檬醇, K E-顺,表-檀香醇, L β -檀香醇, M 反式-香榧醇, N 金合欢醇, P 冰片烯, Q E-香榧醇, R 溴白檀醇, S 柏木醇, T 白菖醇。

图3 PCA 分析檀香、新喀里多尼亚檀香和斐济檀香主要成分含量

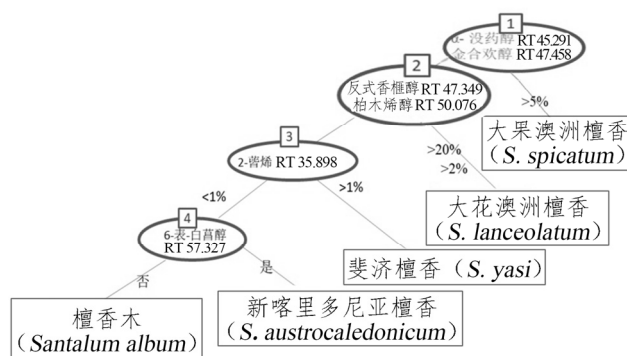
Fig.3 PCA of proportions of dominant components in *S. album*, *S. austrocaledonicum* and *S. yasi*

选择 α -檀香醇(H)、E-顺,表-檀香醇(K)、 β -檀香醇(L)、反式-香榧醇(M)和溴白檀醇(R) 5 个变量,建立判别模型(图 4A)。这些成分是檀香木样品中含量较高的化合物,在试验中易检出,结果准确性更有保障。基于这 5 个变量的 LDA 模型分类训练正确率为 90%。经过计算发现, α -檀香醇和 β -檀香醇比值在檀香中为 1.5~1.9 之间,斐济檀香低于 1.45,多个新喀里多尼亚檀香样品高于 1.9。引入 α -檀香醇与 β -檀香醇比值这个新变量,分类正确率提高到 94%以上(图 4A)。说明基于以上六个变量构成的判别模型能够较好的区分檀香、新喀里多尼亚檀香和斐济檀香。

综合上述统计分析(图 2)和判别模型(图 4A),提出基于 GC-MS 分析(图 1)的简化识别流程(图 4B),可用于识别檀香科五个树种的檀香木。使用文章建立的 GC-MS 方法分析,确定檀香木中主要挥发性成分保留时间及含量,根据图 4B 所示的 1-4 步,可识别价值最高的檀香心材。



A. LDA 区分檀香、新喀里多尼亚檀香和斐济檀香



B.基于 GC-MS 分析识别檀香和其他四个檀香树种的流程。

RT—保留时间, min。

图4 区分檀香与其他四个檀香属树种

Fig.4 Discrimination of *S. album* from other 4 *Santalum* species (下转第 55 页)

- [7] 曹平祥. 强化木地板生产的关键设备[J]. 木材工业, 2010, 24(3): 19-21.
CAO P X. Key equipments for laminated flooring production[J]. China Wood Industry, 2010, 24(3): 19-21.
- [8] 黄玲玲, 肖飞, 吉军, 等. 强化地板液体耐磨纸性能的研究[J]. 林产工业, 2012, 39(4): 35-37.
HUANG L L, XIAO F, JI J, et al. Research on the properties of liquid wear-resisting paper for laminate flooring[J]. China Forest Products Industry, 2012, 39(4): 35-37.
- [9] 郭晓磊, 张清, 朱兆龙, 等. 切削速度对 CrN 涂层刀具铣削饰面刨花板表面质量及磨损的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2018, 38(10): 112-116.
GUO X L, ZHANG Q, ZHU Z L, et al. Effect of cutting speed on cutting surface quality and tool wear during the milling of decorative particleboard using CrN coated tool[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2018, 38(10): 112-116.
- [10] ZHU Z L, CAO P X, GUO X L, et al. Machinability of luxury vinyl tiles during plain milling using a helical cutter[J]. Materials, 2019, 12(13): 2174.
- [11] 钱海云. 浅谈螺旋铣削在数控铣加工中的运用[J]. 科技视界, 2015(24): 235-236.
- QIAN H Y. Application of spiral milling in CNC milling[J]. Science & Technology Vision, 2015(24): 235-236.
- [12] 董如何, 肖必华, 方永水. 正交试验设计的理论分析方法及应用[J]. 安徽建筑大学学报, 2004, 12(6): 103-106.
DONG R H, XIAO B H, FANG Y S. The theoretical analysis of orthogonal test designs[J]. Journal of Anhui Institute of Architecture & Industry, 2004, 12(6): 103-106.
- [13] Camposeco-Negrete, Carmita. Optimization of cutting parameters for minimizing energy consumption in turning of AISI 6061 T6 using Taguchi methodology and ANOVA[J]. Journal of Cleaner Production, 2013, 53(15): 195-203.
- [14] 郑凯, 陈燕, 晏超仁, 等. GFRP 铣槽加工铣削力及表面粗糙度研究[J]. 航空制造技术, 2017, 60(16): 103-108.
ZHEN K, CHEN Y, YAN C R, et al. Research on milling force and surface roughness of GFRP in slot milling[J]. Aeronautical Manufacturing Technology, 2017, 60(16): 103-108.
- [15] 曹欢玲, 李延军, 侯英奇. 木材切削表面粗糙度的分形表征[J]. 木材加工机械, 2015, 26(2): 8-10.
CAO H L, LI Y J, HOU Y K. Fractal characterization of the wood surface roughness[J]. Wood Processing Machinery, 2015, 26(2): 8-10.
- (本文编校 孟凡丹、向 琴)

(上接第 51 页)

3 结论

本研究用 GC-MS 结合统计分析檀香木心材可挥发性成分, 找到檀香树木树种材识的化学指标, 建立檀香科 6 个树种的识别方法, 识别正确率可达 94%。这一结果说明树木心材特有次生代谢产物分析可作为一种技术, 用于木材树种特别是芳香木材树种识别。系统研究这些树种心材中挥发性成分组成与含量, 结合多种统计分析, 可发展成一种快速准确的木材识别技术。

参考文献:

- [1] Kumar AN, G Joshi, R H Y Mohan. Sandalwood: history, uses, present status and the future[J]. Current Science, 2012, 103(12): 1408-1416.
- [2] 李应兰. 檀香引种研究[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [3] Brand JE, D Fox, G Pronk, et al. Comparison of oil concentration and oil quality from *Santalum spicatum* and *S. album* plantations, 8-25 years old, with those from mature *S. spicatum* natural stands[J]. Australian Forestry, 2007, 70(4): 235-41.
- [4] Page T, I Southwell, M Russell, et al. Geographic and phenotypic variation in heartwood and essential-oil characters in natural populations of *Santalum austrocaledonicum* in Vanuatu[J]. Chem Biodivers, 2002, 7(8): 1990-2006.
- [5] Brand J E, G M Pron. Influence of age on sandalwood (*Santalum spicatum*) oil content within different wood grades from five plantations in Western Australia[J]. Australian Forestry, 2011, 74(2): 141-148.
- [6] Mwang'ingo P L, G Kibodya, A R Mng'ong'o. Oil yield and quality variation between sexes in *Osyris lanceolata* (African sandalwood) and its value as a fodder plant in Tanzania[J]. Southern Forests, 2010, 72(2): 69-74.
- [7] Thomson L, S Bulai, B Wilikibau. Proceedings of the regional workshop on sandalwood research, development and extension in the pacific islands[C]. 2005.
- [8] IAWA Committee. Standard list of characters suitable for computerized hardwood identification[J]. IAWA Journal, 1981, 2(2): 99-110.
- [9] Chembath A, M Balasundaran, P Sujanal. Phylogenetic relationships of *Santalum album* and its adulterants as inferred from nuclear DNA sequences[J]. International Journal of Agriculture and Forestry, 2012(2): 150-56.
- [10] Harbaugh DT, H L O, K R Wood, et al. Taxonomic revision of the endangered hawaiian red-flowered Sandalwoods (*Santalum*) and discovery of an ancient hybrid species[J]. Systematic Botany, 2010, 35: 827-838.
- [11] Saito K, F Matsuda. Metabolomics for functional genomics, systems biology, and biotechnology [J]. Annu Rev Plant Biol, 2010, 61: 463-489.
- [12] Liu W, Q Q Song, Y Cao, et al. From (1)H NMR-based non-targeted to LC-MS-based targeted metabolomics strategy for in-depth chemome comparisons among four Cistanche species[J]. J Pharm Biomed Anal, 2018. 162: 16-27.
- [13] Simmler C, J G Graham, S N Chen, et al. Integrated analytical assets aid botanical authenticity and adulteration management[J]. Fitoterapia, 2018. 129: 401-414.
- [14] Baldovini N, C Delasalle, D Joulain. Phytochemistry of the heartwood from fragrant Santalum species: a review[J]. Flavour Fragr J, 2011, 26: 7-26.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 4 部. 北京: 化学工业出版社, 2015.
- (本文编校 向 琴)