

GC-MS 法测定杨树叶中挥发性物质研究

朱敬芳, 周永斌

(沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110161)

摘要:采用 GC-MS 方法分析用水蒸气蒸馏法提取的杨树叶中的挥发性物质。结果表明:杨树叶共检测出 28 种挥发性化合物,包括烷烃类、烯烃类、酚类、酯类、萜类、酮类、醛类、酸类、胺类、抗氧化剂 BHT。其中除一些常见的烷烃类外还有 14 种化合物,其中酚类有 3 种,分别是苯酚、对乙烯基愈疮木酚、丁香酚;酯类有 3 种,分别是苯甲酸叶醇酯、棕榈酸乙酯、亚麻酸乙酯;1,2-环己二酮;2-羟基苯甲醛;萜类物质叶绿醇;Nonahexacontanoic acid;1-十九烯;2,6-二叔丁基对甲酚;还有 1-溴二十二烷和邻异丙基苯胺。这些挥发性物质中的丁香酚、苯酚、亚麻酸乙酯等对杨树的抗病性起一定作用。

关键词:杨树;水蒸气蒸馏法;挥发性物质;GC-MS

中图分类号:S 792.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)06-0074-03

杨树为杨柳科(Salicaceae)杨属(*Populus* L.)高大乔木,是我国重要的速生树种,在我国种植的大约就有 50 多种。随着科技的发展,人们对杨树全树的开发利用进行了全方位的研究,并取得了显著的进展,也提出了杨树周身是宝的说法^[1-2]。对杨树叶的生理生化指标方面的研究不少,其中有测定杨树叶片中蛋白质含量的变化的^[3]、内源激素变化的^[4]、总酚与黄酮类次生代谢物含量

变化的^[5]等。目前从整体出发,系统地、全面地研究杨树中所有的小分子物质方面的研究还比较欠缺^[6]。虽然有用气相色谱-质谱仪分析杨树树皮中的挥发性物质及酚类化合物^[7-8]、有机溶剂提取杨树芽中溶性物质^[9]、杨树木醋液化学成分^[10],但目前用气相色谱-质谱仪测定杨树叶中的所有小分子物质方面的研究还比较少。现采用气相色谱质谱仪分析杨树叶片中的小分子物质,旨在找出何种小分子化合物对杨树抗病性起作用。近年来随着杨树种植面积不断扩大,由栅锈菌属(*Melampsora* Cast)引起的杨树锈病的蔓延日趋严重。感染锈病的叶片背面呈现黄色的粉堆,严重时形成大片的枯斑,严重影响叶片正常的生长,还会造成叶片提前

第一作者简介:朱敬芳(1987-),女,在读硕士,研究方向为森林培育。E-mail:zhujingfang2008@163.com。

责任作者:周永斌(1970-),女,博士,教授,现主要从事森林生态学的教学与研究工作。E-mail:yyzyb@163.com。

收稿日期:2011-12-21

[4] 韩照祥.植物修复污染水体和土壤的研究进展[J].水资源保护,2007,23(1):9-12.

[5] 张建梅.植物修复技术在环境污染治理中的应用[J].环境科学技术,2003,26(6):55-57.

[6] 魏树和,周启星.重金属污染土壤植物修复基本原理及强化措施探讨[J].生态学报,2004,23(1):65-72.

[7] Brooks R R. Plants that hyperaccumulate heavy metals[M]. Wallingford: CAB International, 1998.

Study on the Contents of Heavy Metals in Several Compositae Plants in Gold Area

LI Geng-fei

(College of Chemical and Life Sciences, Weinan Teachers University, Weinan, Shanxi 714000)

Abstract: Taking 3 Compositae plants: *Bidentis bipinnate*, *Artemisia divaricata* and *Artemisia sieversiana* around the gold area as test materials, the contents of the heavy metals such as Cu, Cd and Zn were determined. The results showed that the root of *Bidentis bipinnate* had the highest contents of Cu and it was 98.58 mg/kg, and the leave of *Bidentis bipinnate* had the highest contents of Zn, and stalk of *Bidentis bipinnate* had the highest contents of Cd. Overground part of *Bidentis bipinnate* had a strong absorptive capacity for Cd, and it was 405.9 mg/kg.

Key words: Compositae; heavy metal; gold area

脱落,甚至叶片的枯死。针对杨树锈病的防治,喷洒一些抗菌药可以起到一定作用,但是要想从根本解决问题还需要从其内部的生理方面着手研究^[2]。因此有必要弄清杨树叶中的一些挥发性的小分子物质的生理功能,才有可能从根本找到解决和预防杨树锈病的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

于2011年3月份从大连市甘井子区辛寨子街道的西沟苗木试验中心取杨树插穗进行扦插培养,9月初随机采集树叶。试验仪器有电加热套(98-1-B型电子调温电热套)、旋转蒸发器(RE-52AA型旋转蒸发器)。

1.2 试验方法

1.2.1 挥发物质的制备 采用水蒸气蒸馏法处理样品,将刚采的200 g杨树叶洗净擦干、剪碎,放入电加热套中,再加入玻璃珠数粒和3 000 mL蒸馏水,从开始沸腾时计时,大约煮沸7 h,得到的蒸馏液用适量乙醚萃取,用旋转蒸发器把乙醚萃取液中的溶剂乙醚蒸干,然后再加适量乙醚溶解后GC-MS分析。

1.2.2 挥发物质的检测 将乙醚溶解样用Agilent 5973 Network气质联用仪检测。GC分析条件:HP-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)弹性石英毛细管柱,载气为高纯氦气,流速为0.8 mL/min,分流比为100:1,进样量0.2 μL。进样口温度为230℃,柱温升温程序:初始温度100℃,保持2 min,以10℃/min升至200℃,保持5 min。MS条件:E I离子源,电子能量70 eV,离子源温度230℃,扫描范围50~550 U。

1.3 数据分析

将分离所得的杨树叶挥发性物质总离子流图,通过查询NIST谱库,进行成分鉴定。

2 结果与分析

根据上述GC-MS分析条件,采用峰面积归一化法得出各组分的相对含量,应用气相色谱-质谱-计算机联用系统对各组分进行定性分析,并与标准图谱对照。通过分析获得的各组分的名称、分子式、相对含量及相似度见图1和表1。

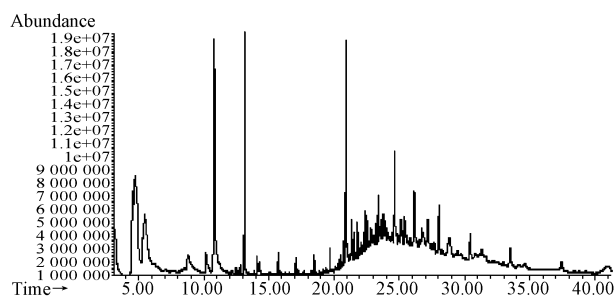


图1 杨树叶总离子色谱图

表1 水蒸气蒸馏法得杨树叶的化学成分

峰号	保留时间 /min	化学成分	分子式	相对含 量/%	相对分 子量	相似度 /%
1	4.560	苯酚	C ₆ H ₆ O	7.45	94.11	60
2	4.740	1,2-环己二酮	C ₆ H ₈ O ₂	13.72	108.14	55
3	5.486	2-羟基苯甲醛	C ₇ H ₆ O ₂	10.72	122.12	95
4	8.828	邻异丙基苯胺	C ₉ H ₁₃ N	2.30	135.21	64
5	10.173	对乙烯基愈疮木酚	C ₉ H ₁₀ O ₂	1.95	150.17	93
6	10.807	丁香酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	16.73	164.20	98
7	13.154	2,6-二叔丁基对甲酚	C ₁₅ H ₂₄ O	7.83	220.24	96
8	14.091	苯甲酸叶醇酯	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	1.00	204.29	72
9	14.289	十六烷	C ₁₆ H ₃₄	0.42	226.44	98
10	15.704	十七烷	C ₁₇ H ₃₆	0.38	240.47	99
11	17.043	十八烷	C ₁₈ H ₃₈	0.29	254.49	98
12	18.475	十九烷	C ₁₉ H ₄₀	0.35	268.52	97
13	19.663	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	0.25	284.48	98
14	19.692	二十烷	C ₂₀ H ₄₂	0.36	282.56	97
15	20.903	(E)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇	C ₂₀ H ₄₀ O	6.40	296.54	83
16	21.345	亚麻酸乙酯	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	0.79	306.47	90
17	21.538	二十二烷	C ₂₂ H ₄₆	0.36	310.61	98
18	21.763	(E)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇	C ₂₀ H ₄₀ O	0.59	296.53	70
19	22.294	正丁基环己烷	C ₁₀ H ₂₀	0.31	140.26	64
20	23.325	正十一烷环己烷	C ₁₇ H ₃₄	0.62	238.45	58
21	23.424	二十四烷	C ₂₄ H ₅₀	0.88	338.65	98
22	23.669	1-十九烯	C ₁₉ H ₃₈	0.74	266.51	95
23	25.398	2,6,10,14-四甲基十五烷	C ₁₉ H ₄₀	1.56	268.52	86
24	26.719	1-溴二十二烷	C ₂₂ H ₄₅ Br	0.56	388.27	91
25	28.862	Nonahexacontanoic acid	C ₆₉ H ₁₃₈ O ₂	1.25	999.83	87
26	30.428	二十八烷	C ₂₈ H ₅₈	1.37	394.76	99
27	33.502	N-二十九烷	C ₂₉ H ₆₀	1.44	408.78	99
28	37.432	正三十烷	C ₃₀ H ₆₂	0.81	422.80	98

考虑有的检测物的含量大而匹配度不高的问题,所以留下的化合物的匹配度均是≥55的。在杨树叶的挥发性物质中共检测到28种化合物,除常见的烷烃外,还剩14种物质占总含量的72.28%。其中酚类有3种,分别是苯酚、对乙烯基愈疮木酚、丁香酚;酯类有3种,分别是苯甲酸叶醇酯、棕榈酸乙酯、亚麻酸乙酯;酮类只有1,2-环己二酮;醛类只有2-羟基苯甲醛;萜类物质(E)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇;抗氧化剂2,6-二叔丁基对甲酚;酸类Nonahexacontanoic acid;烯烃类1-十九烯;还有1-溴二十二烷和邻异丙基苯胺。各挥发性物的相对含量见表1。由表1可知,杨树叶挥发物的主要成分是酚类,占挥发物总含量的26.13%,酮类13.72%、醛类10.72%、抗氧化剂BHT 7.83%、萜类物质6.4%、胺类2.30%、酯类占1.94%、酸类1.25%、烯烃类0.74%、带有卤族元素的烃类物质0.56%。酚类物质中丁香酚含量最高,其次是苯酚和对乙烯基愈疮木酚。酯类物质中苯甲酸叶醇酯最高,其次是亚麻酸乙酯和棕榈酸乙酯。从表1化合物出现的顺序还可以看出,相同碳原子数直链烷烃的沸点比环烷烃和烯烃要低。

3 结论与讨论

水蒸气蒸馏法所得挥发性物质主要为烃类、酚类、酯类、醛酮酸类、萜类物质、烯炔类等,与唐进根等^[7]的固相微萃取-气相色谱-质谱测定杨树叶片的挥发性物质部分相同。杨树新鲜叶片挥发油具有的独特香味,与含有大量烃类、酯类、醛酮类、萜类化合物有关。

在所检测的物质中具有抗菌作用的化学成分有以下几种。丁香酚具有抗菌和降血压的作用,而且杀菌力很强。丁香酚也是其它一些香料的中间体,衍生物有异丁香酚、甲基丁香酚、甲基异丁香酚、乙酰丁香酚等。邻异丙基苯胺是重要的农药、染料及医药中间体,是合成新型杀虫剂杀螨隆的关键中间体。农药上常用于合成除草剂、杀螨剂、杀菌剂。苯酚是生产某些树脂、杀菌剂、防腐剂以及药物阿司匹林的重要原料。因此可以得出,丁香酚、邻异丙基苯胺和苯酚 3 种物质的含量大小会影响杨树对锈病的抗性强弱。

具有增强植物免疫力的化学成分有亚麻酸乙酯,它是一种不饱和脂肪酸,能明显提高超氧化物歧化酶 SOD 的活力,降低自由基代谢产物 MDA,具有很强的抗衰老作用;萜类化合物(E)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇又名叶绿醇、植物醇,生理生态功能增强植物的抗病能力,帮助植物抵御天敌等^[11];2,6-二叔丁基对甲酚又名 BHT,是重要的抗氧化剂主要用于合成橡胶、聚乙烯及聚丙烯纤维的稳定剂,此外还可作为抗氧化剂加入食品中。因此杨树叶片中的亚麻酸乙酯、(E)-3,7,11,15-四甲基-2-十六碳烯-1-醇和 2,6-二叔丁基对甲酚可以增强植物在逆境条件下的抗性。

挥发性物质的香气成分有对乙炔基愈疮木酚,它具有

有香气,是箬叶香气的主要成分^[12];苯甲酸叶醇酯具有香气,天然存在于茉莉花、梔子花和茶叶中,主要用于具有果香的日化 and 食用香精配方中,也可用于柏香基调的配方中,并为整个配方带来青-花香;棕榈酸乙酯可以用于有机合成香料香精等;2-羟基苯甲醛又名水杨醛、邻羟基苯甲醛,属于有毒品,主要用途作分析试剂、香料、汽油添加剂及用于有机合成。

参考文献

- [1] 管根柱. 杨树综合开发利用前景[J]. 林业科技开发, 2006, 20(3): 1-4.
- [2] 刘丽洁, 秦德志. 杨树叶部常见真菌病害及防治[J]. 内蒙古林业科技, 2010, 36(1): 37-38.
- [3] 宁晓光, 邓晓华, 赵鹏. 杨树叶片可溶性蛋白质含量的季节动态[J]. 黑龙江生态工程职业学院学报, 2009, 22(4): 74.
- [4] 杨玉珍, 郭彦青, 彭方仁. 杨树枝叶中内源激素的变化及其与蛋白质代谢的关系[J]. 南京林业大学学报, 2006, 30(6): 114-116.
- [5] 李春明, 李正华, 于文喜, 等. 杨树中总酚与黄酮类次生代谢产物含量的变化[J]. 黑龙江生态工程职业学院学报, 2011, 24(2): 22-23.
- [6] 刘祥东, 罗国安, 王义明. 代谢物组学应用的领域之二-植物代谢物组学[J]. 中成药, 2006, 28(10): 1515-1517.
- [7] 唐进根, 凌娜, 杨晓军. 固相微萃取-气相色谱-质谱测定杨树叶片的挥发性物质[J]. 福建农林大学学报, 2010, 39(2): 151-153.
- [8] 孙丽艳, 韩一凡. 对云斑天牛有不同抗性的杨树品种中化学物质的分析[J]. 林业科学, 1995, 31(4): 339-345.
- [9] 薄采颖, 郑光耀, 宋强. 杨树芽石油醚提取物的化学成分分析[J]. 生物物质化学工程, 2009, 43(6): 36-39.
- [10] 尉芹, 马希汉, 徐明霞. 杨树木醋液的化学成分分析及抑菌试验[J]. 林业科学, 2008, 44(10): 98-102.
- [11] 付佳, 王洋, 阎秀峰. 萜类化合物的生理生态功能及经济价值[J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(6): 60-62.
- [12] 余爱农, 王发松, 杨春海, 等. 箬叶香气成分的研究[J]. 精细化工, 2002, 19(4): 202-203.

Study on Determination of Volatile Compounds of Poplar Leaves by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method

ZHU Jing-fang, ZHOU Yong-bin

(Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract: The volatile compounds from poplar leaves were extracted by steam distillation method and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The results showed that poplar leaves were detected 28 kinds of volatile compounds in total, including alkyl hydrocarbon kind, olefins kind, phenolic kind, esters, terpenoids, ketone, aldehydes, amino acids, class, antioxidant BHT. Except some common alkane among them there were 14 of chemical compounds, of which there were three phenols were phenol, to the vinyl sores wood phenol, eugenol; There were three kinds of esters were benzoic acid alcohol ester, palm leaves acid ethyl ester, flax acid ethyl ester; 1, 2-ring has two ketone; 2-hydroxyl benzaldehyde; Terpenoids material picture of alcohol; Nonahexacontanoic acid; 1-19 ene; 2, 6-two uncle butyl to cresol; And 1-bromine polyurethanes and adjacent isopropyl 22, aniline. These volatile substance to the types of the disease resistance poplar might play a role.

Key words: poplar; steam distillation method; volatiles; gas chromatography-mass spectrometry