

凹叶厚朴不同组织器官挥发性物质比较分析

杨占南¹, 罗世琼², 余正文², 胡光平^{1,2}, 王帆^{1,2}, 周欣¹, 赵超^{1*}

(1. 贵州师范大学贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵阳 550001;
2. 贵州师范大学生命科学院, 贵阳 550001)

[摘要] **目的:**评价不同组织器官的挥发性成分的累积分布。**方法:**利用顶空固相微萃取(HS-HPME)结合气相色谱-质谱联用(GC-MS)对凹叶厚朴不同组织器官(叶芽、根皮、茎皮、枝皮、叶、果皮和种子)的挥发性成分进行分析。**结果:**这些组织的挥发性成分主要是 α -芳樟醇0.21%~4.92%、 α -石竹烯7.48%~38.71%、 β -石竹烯1.53%~14.43%、4(14)、11-桉叶二烯0.15%~10.02%、 β -花柏烯0.56%~10.68%、石竹烯氧化物1.68%~36.01%、 α -桉叶醇1.56%~33.79%和 β -桉叶醇0.19%~28.89%,精油产率为0.12%~0.96%。**结论:**植株的叶芽、根皮、茎皮、枝皮、叶、果皮和种子挥发精油的产率、挥发性成分以及这些成分的累积含量差异显著。

[关键词] 凹叶厚朴; 组织器官; 挥发性物质; 评价

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0115-05

Evaluation of Volatiles of the Different Tissues from *Magnolia officinalis*

YANG Zhan-nan¹, LUO Shi-Qiong², YU Zhen-wen², HU Guang-ping^{1,2},
WANG Fan^{1,2}, ZHOU Xin¹, ZHAO Chao^{1*}

(1. Key Laboratory for Information System of Mountainous Area and Protection of Ecological Environment of Guizhou Province, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China;
2. School of Life Science, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate accumulation of the volatiles of the different tissues in *Magnolia officinalis*. **Method:** The volatiles of leaf buds, root skins, barks, twig skins, leaves, pericarps and seeds of *M. officinalis* were analyzed using headspace solid phase micro-extraction (HS-SPME) following by capillary gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). **Result:** The volatiles were α -linalool 0.21%-4.92%, α -caryophyllene 7.48%-38.71%, β -caryophyllene 1.53%-14.43%, eudesma-4 (14), 11-diene 0.15%-10.02%, β -chamigrene 0.56%-10.68%, caryophyllene oxide 1.68%-36.01%, α -eudesmol 1.56%-33.79% and β -eudesmol 0.19%-28.89%. The yields of essential oils in the different tissues were 0.12%-0.96%. **Conclusion:** The essential oil, the volatiles composition and their accumulation content of leaf buds, root skins, barks, twig skins, leaves, pericarps and seeds of *M. officinalis* were significantly different.

[Key words] *Magnolia officinalis*; tissue; volatiles; evaluation

凹叶厚朴为木兰科木兰属植物,其干皮、根皮及枝皮被《中国药典》2010年版所收载入药^[1],由于过度滥伐剥取树皮药用,野生植株极少,已濒临枯

竭^[2]。因此,凹叶厚朴资源的可持续合理开发,已经受到了广泛的关注。凹叶厚朴含有 α -蒎烯、桉叶醇、桉叶油素、石竹烯、氧化石竹烯、龙脑、 α -萜品醇、

[收稿日期] 20120604(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(No.31060056);贵州省科学技术联合基金项目(黔J字LKS[2009]23号);贵州省科技创新人才团队建设项目[黔科合人才团队(2011)4008]

[第一作者] 杨占南, 硕士, 副教授, 从事分析化学方面研究, Tel:0851-6702710, E-mail: yangzhannan@163.com

[通讯作者] * 赵超, 硕士, 副研究员, 从事天然药物化学研究, Tel:0851-6702710, E-mail: zhaochao@126.com

香芹醇、香芹酮、愈创醇、丁香酚和甲基丁香酚等挥发性物质^[3]。具有酶抑制、抗过敏、抗肿瘤和抗菌作用以及对中枢系统、呼吸系统和平滑肌的作用等^[4,6]。最近研究表明,凹叶厚朴挥发油的含量差异显著,含量高低受树龄、生长部位的影响明显^[7],同一株枝皮挥发油含量远高于根皮和干皮,干皮自下而上含量逐渐升高,茎基部含量最低;树龄不同,挥发油含量各异^[8]。而凹叶厚朴不同组织器官挥发性成分的累积状况,未见相关的文献报道。

利用顶空固相微萃取(HS-SPME)结合气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对凹叶厚朴植株的叶芽、根皮、茎皮、枝皮、叶、果皮和种子不同组织器官的挥发性物质进行分析,明确挥发性物质的累积状况。

1 材料

凹叶厚朴 *Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils. 收集于贵州省锦屏县(N, 26°40'33.94"; E, 109°11'35.20"),海拔 309 m,人工林;采集时间为 2009 年 9 月 27,标本编号 SD-OH02,植株由贵州师范大学生命科学学院余正文教授鉴定,并按不同组织器官编号叶芽(SD-OH02-1)、根皮(SD-OH02-2)、茎皮(SD-OH02-3)、枝皮(SD-OH02-4)、叶(SD-OH02-5)、果皮(SD-OH02-6)和种子(SD-OH02-7)。样品经保鲜处理后,及时对精油进行提取和挥发性物质分析。

GCMS-QP2010 气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司),GCMS solution 色谱工作站(日本岛津公司),HP-5 弹性石英毛细管色谱柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)(惠普公司),顶空固相微萃取(HS-SPME)装置(美国 Supelco 公司);100 μm 聚乙烯二甲硅氧烷萃取头(PDMS)(美国 Supelco 公司);5 mL 顶空瓶。

2 方法

2.1 精油的提取 将 SD-OH02-1, SD-OH02-2, SD-OH02-3, SD-OH02-4, SD-OH02-5, SD-OH02-6, SD-OH02-7 称约 1 000 g(准确称定)分别用 7 个挥发油提取装置进行水蒸气蒸馏提取 4 h,收集其精油成分,用无水硫酸钠干燥后,称重计算精油产率。

2.2 HS-SPME 提取 将 SD-OH02-1, SD-OH02-2, SD-OH02-3, SD-OH02-4, SD-OH02-5, SD-OH02-6, SD-OH02-7 分别取 0.05 g 样品(精密称定)置于 5 mL 顶空瓶中密闭,使用 PDMS 100 μm 黑色萃取头,水浴 60 ℃,萃取 40 min,GC 解吸 5 min,用于 GC-MS 分析。

2.3 GC-MS 分析条件

2.3.1 气相色谱(GC)条件^[9] 升温程序:初始温度 40 ℃保持 3 min,以 10 ℃·min⁻¹至 100 ℃,保持 2 min,以 10 ℃·min⁻¹至 250 ℃,保持 16 min。载气氦气(99.999%);流速 0.7 mL·min⁻¹;分流比 20:1;进样口温度 250 ℃。

2.3.2 质谱(MS)条件 离子源为 EI,电离电压 70 eV,离子源温度 230 ℃,溶剂延迟时间 2 min,质谱范围 *m/z* 33 ~ 450,扫描周期 0.5 scan/s,离子源电压 1.2 kV,接口温度 250 ℃。

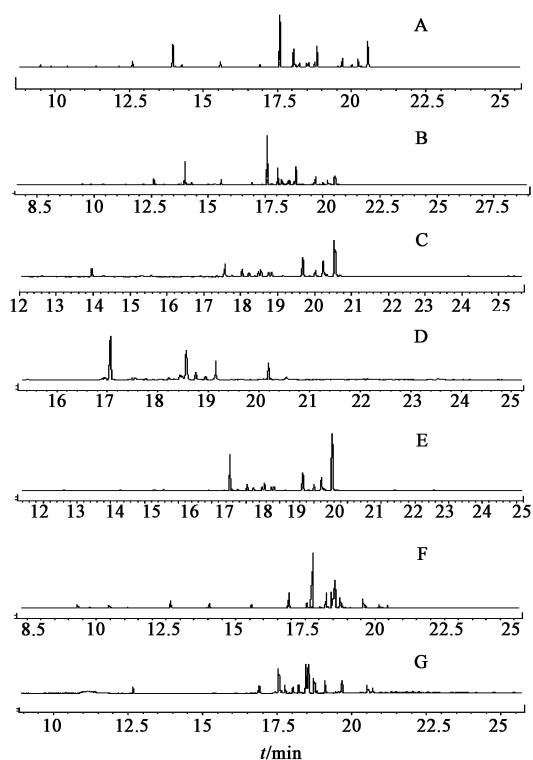
2.3.3 挥发性物质的鉴定 挥发性物质 GC-MS 的鉴定是基于 NIST147 和 NIST27 标准谱库(Hewlett Packard, Palo Alto, California, USA)检索与样品质谱特征比对的可信度确定的,有些不确定的化合物是根据参考文献以及保留时间证实。离子流的产生依靠化合物的特征,由于这个原因总离子流图的峰面积是不能完全定量的。用 GC-MS 获得的结果可以利用在研究植物有机体生物多样性特征,也可以用在不同代谢产物的定量比较上。因此,这个方法适应在不同有机体化学成分的比较,因为离子碎片的强度导致的差异是相同的^[10]。

2.4 数据处理及统计分析 所有样品重复分析 3 次,采用 Excel(2003)程序(Microsoft Office)对数据进行处理,实验数据是 3 次分析的平均值(*n* = 3),精油产率为提取的精油质量除以提取样品总质量的百分率,挥发性成分的相对含量是总离子峰面积归一化法计算。

3 结果与分析

水蒸气蒸馏提取 SD-OH02-1, SD-OH02-2, SD-OH02-3, SD-OH02-4, SD-OH02-5, SD-OH02-6, SD-OH02-7 的挥发油的含量分别为 0.73%, 0.12%, 0.24%, 0.96%, 0.61%, 0.46%, 0.64%, 表明凹叶厚朴不同器官挥发性物质的含量有明显差异。

凹叶厚朴不同组织器官挥发性物质 GC-MS 分析结果见表 1 和图 1。叶芽鉴定 43 种成分,主要为 α-芳樟醇 4.92%、冰片 8.96%、α-蒎品醇 2.25%、龙脑乙酯 2.81%、α-石竹烯 27.55%、β-石竹烯 11.21%、反-α-香柠檬烯 3.12%、4(14),11-桉叶二烯 2.95%、β-花柏烯 2.49%、异喇叭茶烯 2.76%、1-甲酰乙基-4-(1-丁烯-3-基)-苯 8.23%、石竹烯氧化物 3.74% 和 α-桉叶醇 6.81%;根皮鉴定出 23 种成分,主要为 α-芳樟醇 1.85%、反-香叶醇 2.52%、可巴烯 2.12%、α-石竹烯 10.18%、β-金合欢烯 2.58%、β-石竹烯 5.53%、反-α-香柠檬烯 7.23%、



A. 叶芽;B. 叶;C. 茎皮;D. 种子;E. 枝皮;F. 果皮;G. 根皮

图1 和厚朴不同部位挥发性物质的总离子流

4(14),11-桉叶二烯 1.98%、 α -衣兰油烯 8.80%、 β -花柏烯 10.04%、异喇叭茶烯 13.85%、1-甲酰乙基-4-(1-丁烯-3-基)-苯 1.79%、石竹烯氧化物 1.68%、雪松-3(12), 4-二烯 2.93% 和 α -桉叶醇 10.67%; 茎皮鉴定出 17 种成分,主要为 α -芳樟醇 3.22%、 α -石竹烯 7.48%、 β -金合欢烯 4.80%、 β -石竹烯 3.33%、反- α -香柠檬烯 3.75%、马榄烯 3.17%、4(14),11-桉叶二烯 10.02%、 β -花柏烯 10.68%、异喇叭茶烯 4.44%、1,4-杜松二烯 5.59%、石竹烯氧化物 3.25%、雪松-3(12), 4-二烯 7.683%、 α -桉叶醇 1.56% 和 β -桉叶醇 28.89%; 枝皮鉴定出 16 种成分,主要为 α -石竹烯 24.00%、 β -石竹烯 1.53%、4(14),11-桉叶二烯 7.58%、 β -花柏烯 5.14%、异喇叭茶烯 7.55%、1-甲酰乙基-4-(1-丁烯-3-基)-苯 1.27%、石竹烯氧化物 16.39%、3,5-二甲基-1-环己烯-4-甲醛 3.96%、雪松-3(12), 4-二烯 9.65%、 α -桉叶醇 33.79% 和 β -桉叶醇 1.68%; 叶鉴定出 22 种成分,主要为 α -蒎烯 1.17%、 α -芳樟醇 2.60%、反- α -香柠檬烯 8.71%、 α -石竹烯 14.64%、 β -石竹烯 5.11%、反- α -香柠檬烯 1.52%、4(14),11-桉叶二

表1 凹叶厚朴不同组织器官精油的产率及挥发性物质的结构及含量

No.	t/min	化合物	不同组织器官的相对百分含量/%						
			SD-OH02-1	SD-OH02-2	SD-OH02-3	SD-OH02-4	SD-OH02-5	SD-OH02-6	SD-OH02-7
1	9.47	α -pinene (α -蒎烯)	0.34	-	-	-	1.17	1.66	-
2	9.83	camphene (莰烯)	0.23	-	-	-	-	-	-
3	10.09	β -linalool (β -芳樟醇)	-	-	-	-	1.01	-	-
4	10.40	β -pinene (β -蒎烯)	0.43	-	-	-	-	1.18	-
5	11.37	D-limonene (香芹烯)	0.11	-	-	-	-	0.14	-
6	11.45	eucalyptol (桉树脑)	0.28	-	-	-	-	0.24	-
7	12.14	trans-4-thujanol (水合桉烯)	0.69	-	-	-	-	-	-
8	12.59	α -linalool (α -芳樟醇)	4.92	1.85	3.22	0.21	2.60	4.53	-
9	12.69	trans-sabinenehydrate(反-桉烯)	0.59	-	-	-	-	-	-
10	13.03	(1S-endo)-fenchol (小茴香醇)	0.43	-	-	-	-	0.73	-
11	13.16	cis-2-pinanol(顺-2-马鞭草醇)	0.20	0.16	-	-	-	0.60	-
12	13.41	pinocarveol(松香芹醇)	0.15	-	-	-	-	-	-
13	13.51	cis-2-pinanol(顺-2-马鞭草醇)	0.21	-	-	-	-	-	-
14	13.67	2-norbornanol,1,3,3-trimethyl-(1,3,3-三甲基-2-降莰醇)	0.24	-	-	-	-	0.35	-
15	13.94	borneol(冰片)	8.96	-	-	-	1.23	2.55	-
16	14.02	p-menth-1-en-4-ol (4-萜品醇)	0.65	-	-	-	-	0.87	-
17	14.12	p-cymen-8-ol (对甲基苯异丙醇)	0.11	-	-	-	-	-	-

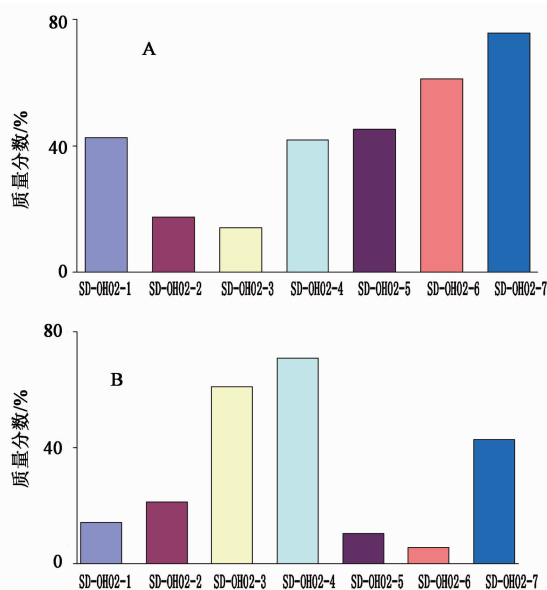
续表 1

No.	t/min	化合物	不同组织器官的相对百分含量/%						
			SD-OH02-1	SD-OH02-2	SD-OH02-3	SD-OH02-4	SD-OH02-5	SD-OH02-6	SD-OH02-7
18	14.25	<i>p</i> -menth-1-en-8-ol (α-萜品醇)	2.25	-	-	-	-	5.90	-
19	14.98	<i>trans</i> -geraniol (反-香叶醇)	0.33	2.52	-	-	8.71	-	-
20	15.54	bornyl acetate (龙脑乙酯)	2.81	-	-	-	1.43	-	-
21	16.44	nerol acetate (橙花醇酯)	0.13	-	-	-	-	-	-
22	16.72	acetic acid, geraniol ester (乙酸香叶醇酯)	0.15	0.20	-	-	1.45	-	-
23	16.88	copaene (可巴烯)	0.88	2.12	1.11	0.80	-	0.23	0.21
24	17.33	<i>trans</i> -α-bergamotene (反-α-香柠檬烯)	0.15	-	-	-	-	-	-
25	17.55	α-caryophyllene (石竹烯)	27.55	10.18	7.48	24.0	14.64	38.71	32.9
26	17.74	1,6,10-dodecatriene,7,11-dimethyl-3-methylene-(β-金合欢烯)	0.51	2.58	4.8	-	-	-	-
27	17.78	seychellene (赛切烯)	0.80	-	-	-	2.42	-	-
29	18.02	β-caryophyllene (α-石竹烯)	11.21	5.53	3.33	1.53	5.11	14.43	6.63
30	18.21	<i>trans</i> -α-bergamotene (反-α-香柠檬烯)	3.12	7.23	3.75	-	1.52	0.0	-
31	18.36	β-maaliene (马榄烯)	-	0.44	3.17	-	-	-	-
32	18.45	eudesma-4(14),11-diene (4(14),11-桉叶二烯)	2.95	1.98	10.02	7.58	4.72	2.67	0.15
33	18.49	α-murolene (α-衣兰油烯)	-	8.8	-	-	-	-	-
34	18.52	β-chamigrene (β-花柏烯)	2.49	10.04	10.68	5.14	4.51	3.24	0.56
35	18.73	isoledene (异喇叭茶烯)	2.76	13.85	4.44	7.55	2.40	1.50	-
36	18.81	benzene, 1-(1-formylethyl)-4-(1-buten-3-yl)-(1-(1-甲酰乙基)-4-(1-丁烯-3-基)-苯)	8.23	1.79	-	1.27	2.65	2.62	-
37	18.94	cadina-1,4-diene (1,4-杜松二烯)	0.20	0.23	5.59	-	-	-	-
38	19.07	α-calacorene (α-二去氢菖蒲烯)	0.13	0.28	-	0.52	-	-	-
39	19.13	1,6,10-dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl-(橙化叔醇)	0.15	-	-	0.37	0.55	-	-
40	19.65	caryophyllene oxide (石竹烯氧化物)	3.74	1.68	3.25	16.39	25.36	7.90	36.01
41	19.83	santolina triene (桑托利纳三烯)	0.19	-	-	0.53	-	0.35	-
42	19.98	3,5-dimethylcyclohex-1-ene-4-carboxaldehyde (3,5-二甲基-1-环己烯-4-甲醛)	1.21	0.67	1.25	3.96	5.55	3.25	-
43	20.20	himachala-3(12),4-diene (雪松-3(12),4-二烯)	1.56	2.93	7.68	9.65	0.56	-	-
44	20.31	cubenol (库贝醇)	0.42	1.07	1.38	-	-	-	-
45	20.52	α-eudesmol(α-桉叶醇)	6.81	10.67	1.56	33.79	4.29	2.08	19.24
46	20.67	β-eudesmol(β-桉叶醇)	0.34	0.19	28.89	1.68	0.88	0.68	2.14
桉叶醇总相对百分含量/%			7.15	10.67	30.45	35.47	5.17	2.76	21.38
石竹烯及其氧化物的总相对百分含量/%			42.5	17.39	14.06	41.92	45.11	61.04	75.54
凹叶厚朴不同组织器官样品精油的产率/%			0.73	0.12	0.24	0.96	0.61	0.46	0.52

注：“-”表示含量在 <0.1%。

烯 4.72%、β-花柏烯 4.51%、异喇叭茶烯 2.40%、1-甲酰乙基-4-(1-丁烯-3-基)-苯 2.65%、石竹烯氧化物 25.36%、3,5-二甲基-1-环己烯-4-甲醛 5.55% 和 α-桉叶醇 4.29%；果皮鉴定出 25 种成分,主要为 α-

蒎烯 1.66%、β-蒎烯 1.18%、α-芳樟醇 4.53%、冰片 2.55%、α-萜品醇 5.90%、α-石竹烯 38.71%、β-石竹烯 14.43%、4(14),11-桉叶二烯 2.67%、β-花柏烯 3.24%、异喇叭茶烯 1.50%、1-甲酰乙基-4-(1-丁烯-



A. 石竹烯及氧化物; B. 桉叶醇

图2 凹叶厚朴不同组织器官中桉叶醇、石竹烯及氧化物的质量分数

3-基)-苯 2.62%、石竹烯氧化物 7.90%、3,5-二甲基-1-环己烯-4-甲醛 3.25% 和 α -桉叶醇 2.08%; 种子鉴定出 8 种成分, 主要为 α -石竹烯 32.90%、 β -石竹烯 6.63%、石竹烯氧化物 36.01%、 α -桉叶醇 19.24% 和 β -桉叶醇 2.14%。

植物挥发性物质释放到环境中有其特定的生态功能^[11]。凹叶厚朴不同组织器官挥发性成分主要是石竹烯及其氧化物(α -石竹烯、 β -石竹烯和石竹烯氧化物)和桉叶醇(α -桉叶醇和 β -桉叶醇), 见图 2。石竹烯及其氧化物在种子中含量得最多, 茎皮最少; 桉叶醇在枝皮中含量最多, 果实最少。石竹烯及其氧化物以及桉叶醇具有抗菌等作用^[12], 种子中石竹烯及其氧化物以及桉叶醇占挥发性成分的 96.92%, 大量累积可能是保护种子的不受外界的危害, 作出对环境的适应性反应。在叶芽中挥发性成分最多, 表明挥发性物质在叶芽中合成。烷基苯系物是一类引诱剂和信息素物质, 参与植物和昆虫之间的协同进化^[11], 1-甲酰乙基-4-(1-丁烯-3-基)-苯在叶芽中含量最多, 在茎皮和种子未检出, 表明种子和茎皮没有引诱等协同功能。芳樟醇释放起着化感作用, 在种子中没检出, 其他组织器官均检出, 其中叶芽和果皮较高。

3 结论

凹叶厚朴不同组织器官中挥发精油的产率、挥发性成分以及这些成分的含量差异显著, 这个信息可能暗示了挥发性物质的生物合成受到基因的控制以外, 还受环境因素的影响, 其挥发性物质的含量差异有其特定的生态功能。挥发性成分对环境 and 遗传因素适应的特定功能评估需要进一步的研究工作。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2005: 176.
- [2] 李宗, 林晓, 张明. 凹叶厚朴挥发油成分的研究[J]. 中草药, 1999, 30(7): 493.
- [3] 陈建南, 刘中秋, 苏子仁, 等. 凹叶厚朴超临界二氧化碳萃取物成分分析[J]. 中药材, 1998, 21(9): 460.
- [4] 韦熹苑, 郭锦明, 丁扬洲, 等. 湖南道县产凹叶厚朴发汗前后挥发油成分及含量变化的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2010, 30(9): 117.
- [5] 张汶婕, 管大平, 钱世兵. HPLC 测定左归丸中齐墩果酸与熊果酸含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 92.
- [6] 余盛贤, 袁庆军, 杨滨, 等. 厚朴与凹叶厚朴群体遗传学研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16): 2129.
- [7] 李宗, 张明, 林晓. 凹叶厚朴挥发油成分的研究[J]. 福建分析测试, 1997, 6(2): 649.
- [8] 姚亮, 黄健军. 冰糖草挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5): 101.
- [9] Kwon B M, Kim M K, lee S H. Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibitors from *Magnolia obovata* [J]. *Planta Med*, 1997, 63(6): 550.
- [10] Georgieva E, Handjieva N, Popov S, Evstatieva L. Comparative analysis of the volatiles from 306 flowers and leaves of three *Gentiana* species [J]. *Biochem System Ecol*, 2005, 33: 938.
- [11] Matthew G, Blomquist G, Millar J, et al. Role of contact pheromones in mate recognition in *Xylotrechus colonus*[J]. *J Chem Ecol*, 2003, 29: 533.
- [12] Borg-Karlson AK, Tengo J, Valterova I, et al. (S)-(C)-linalool, a mate attractant pheromone component in the bee *Colletes cunicularis*[J]. *J Chem, Ecol*, 2003, 29: 1.

[责任编辑 顾雪竹]