

· 化学与分析 ·

芍药花瓣与被斑蝥采食花瓣挥发性成分 GC-MS 分析

程明, 冯学锋*, 闫寒, 杨连菊, 杨立新, 张永欣, 格小光, 吉力, 胡世林

(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 目的: 野生芍药花瓣与被斑蝥采食花瓣挥发性成分比较分析。方法: 采用水蒸气蒸馏法提取芍药干燥花瓣挥发油, 石油醚浸出法提取新鲜花瓣挥发性物质, GC-MS 分析、鉴定其化学成分。结果: 斑蝥咬食的干燥花瓣挥发油的得率较未被咬食的有明显增高, 分别为 0.13% 和 0.06% ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$), 斑蝥的采食对芍药花瓣的挥发性成分组分影响不大, 但是其相对含量会有所变化。从芍药干燥和新鲜花瓣挥发性物质中分别鉴定出 34 种和 19 种化学成分。新鲜花瓣含有更多的分子量小的芳香成分, 如苯甲醛, 苯乙醛, 苯乙醇等。结论: 斑蝥的采食对芍药花瓣的挥发性成分总量和各组分的相对含量有影响。干燥花瓣和新鲜花瓣的主要成分变化较大。

[关键词] 芍药花瓣; 丽斑芫青; 取食; 挥发性成分; 气质联用

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)05-0030-04

GC-MS Analysis on Volatile Compounds of *Peaonia lactiflora* Petals after Eaten by *Mylabris speoiosa*

CHEN Ming, FENG Xue-feng*, YAN Han, YANG Lian-ju, YANG Li-xin,
ZHANG Yong-xin, GE Xiao-guang, JI Li, HU Shi-lin

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] Objective: To analysis *Peaonia lactiflora* Pall. flower petal volatile compounds after eaten by *Mylabris speoiosa* Pallas. **Method:** By steam distillation to extract dry petals volatile compounds, petroleum ether soak extract fresh petals volatile compounds, GC-MS analysis, identify the chemical components. **Result:** The eaten dry flowers volatile compounds rate is obviously higher. It is 0.13% and 0.06% ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$), but it is not change the relative content. Dry and fresh flower were identified about 34 and 19 species of chemical composition. Fresh flower contains more small molecular component, such as formaldehyde, benzene, phenylethyl acetaldehyde, etc. **Conclusion:** The eaten flower petals total volatile compounds and the relative content of each component has affected. The main components of fresh and dry flower petals are different.

[Key words] Flower petal of *Peaonia lactiflora* Pall.; *Mylabris speoiosa* Pallas; Eat; volatile compounds; GC-MS

野生芍药根是中药赤芍的来源, 具有清热凉血,

活血化瘀功效, 根主要含有芍药苷、羟基芍药苷等单萜类及鞣质类成分, 花瓣中含多种高级脂肪酸和挥发性物质^[1-2]。中药斑蝥能破血逐瘀, 攻毒散结, 体内含斑蝥素。作者在中药赤芍资源野外考察时, 发现当芍药 *Peaonia lactiflora* Pall. 处于盛花期间, 有大批丽斑芫青 *Mylabris speoiosa* Pallas(东北地区药用斑蝥资源之一^[3]) 咬食其花蕊和花瓣。赤芍和斑蝥都是重要的常用中药, 其原植物和原动物在自然界

[收稿日期] 2010-01-21

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30772733)

[第一作者] 程明, 男, 助理研究员, 中药资源, Tel: (010) 64014411-2983

[通讯作者] * 冯学锋, 女, 副研究员, 中药资源, Tel: (010) 64014411-2983; E-mail: hfjj@mx.cei.gov.cn

中两者的相互利用和影响的关系是中药研究的空白点之一,很有必要进行探讨。

芍药与丽斑芫青相互关系研究主要见于传粉学研究。有学者认为丽斑芫青(斑蝥)是芍药的传粉昆虫,也是花的啃食者^[4-6],因为丽斑芫青往往会将一朵芍药花的雄蕊和花瓣啃食干净。野生芍药的花具有花型大、白色、花瓣肥厚、芳香气等吸引甲虫传粉的特征。花的芳香气味被认为可以引导昆虫行为,如吸引昆虫传粉,吸引害虫天敌,达到防御植食性昆虫的目的等。但有关芍药被斑蝥咬食后挥发成分的变化,以及芍药芳香气味与昆虫的关系未见研究报道。本文就野生芍药花瓣及被斑蝥咬食芍药花瓣的挥发性成分进行比较分析,试图发现两者的差异,为进一步进行芍药与丽斑芫青在挥发性次生物质方面的联系研究做出基础工作。

1 材料

实验样品均采自内蒙古自治区多伦县野生芍药,经作者鉴定为毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的花瓣和被丽斑芫青咬食过的花瓣。

2 方法

2.1 样品制备 方法 1,采集的芍药花瓣自然干燥,分别取花瓣样品 41.3 g 和被丽斑芫青咬食过的花瓣样品 38.5 g,粉碎,置挥发油提取器中分别提取 11 h,得淡黄色挥发油 0.025 mL 和 0.05 mL,得率为 0.06% 和 0.13% ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)。挥发油用少量乙醚稀释,备用。

方法 2,取新鲜花瓣 100 g,置 200 mL 石油醚(沸点 60~90)溶剂中浸泡,过滤,挥发石油醚至总体积为 10 mL,备用。

2.2 挥发性物质化学成分分析 样品用气相色谱-质谱联用仪进行分析鉴定。通过 NIST 图谱库检索,鉴定化学成分,定量采用面积归一化法。

2.3 GC 实验条件 方法 1,干燥花瓣水蒸气蒸馏提取物 GC: HP-5 石英毛细管色谱柱(0.32 mm × 30 mm, 0.25 μm),程序升温起始温度 100,以 3 $\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 230,保持 20 min;进样口温度 250,检测器温度 250,进样量 0.4 μL ,分流比 20:1;采用面积归一化法计算各化合物的相对百分含量。

方法 2,新鲜花瓣石油醚浸出物 GC: 程序升温起始温度 80,停 5 min,然后以 10 升至 250,再以 3 $\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 250,保持 20 min,进样口温度 280 $\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 280,其他条件同方法 1。

2.4 GC-MS 实验条件 色谱柱: DB-5 MS 色谱柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),电离方式: EI,离子源温度 200,接口温度 240,电子能量 70 eV,发射电流 150 μA ,质量范围 35~455,扫描周期 0.4 s,数据处理系统 Xcalibur 1.2,图谱库 NIST Version 1.7,其余条件同气相色谱。

2.5 仪器 GC: 美国 Finnigan 公司 TRACE GC 气相色谱仪。GC-MS: 美国 Finnigan 公司 TRACE GC-TRACE MS 气相色谱-质谱联用仪。数据处理系统 Xcalibur 1.2,图谱库 NIST Version 1.7。

3 结果

干燥芍药花瓣水蒸气蒸馏提取、分析结果干燥芍药花瓣挥发油得率为 0.06%,被丽斑芫青咬食过的干燥花瓣挥发油得率较高,为 0.13% ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$)。

芍药花瓣挥发油 GC-MS 分析,并与图谱库对照得到 34 种化学成分(见表 1),其中含量较高的成分有均为高沸点的烷烃或烷烃酸,有十六烷酸干燥芍药花瓣相对含量为 36.13%,被丽斑芫青咬食过的为 37.67%;十八碳二烯酸相对含量分别为 17.78%, 19.26%;廿三烷分别为 12.10%, 12.38%;廿五烷分别为 6.78%, 10.89%。

在实验操作中发现新鲜芍药花瓣具有清淡的香气,但是芍药花瓣干燥后气味明显不同,为了能够捕捉到这种香气的化学成分,作者在野外操作条件许可情况下,将采到新鲜的芍药花瓣立即放入携带的石油醚溶剂中,再带回实验室进行分离、分析。新鲜芍药花瓣挥发物质经 GC-MS 分析,并对照图谱库,得到 19 种化学成分(见表 2),其中含量较高的成分有廿三烷芍药花瓣的相对含量为 24.79%,被咬食过花瓣的为 27.61%;廿五烷相对含量分别为 23.95% 和 24.50%。与干燥花瓣比较,新鲜芍药花瓣挥发性成分中出现一些分子量较小的成分,如苯甲醛, 1,8-桉叶醇,苯乙醛,苯乙醇等。其中苯乙醇相对含量较高,未被咬食的芍药花瓣为 5.67%,被咬食过芍药花为 10.75%。苯甲醛分别为 0.19%, 0.48%。与干花瓣相比,成分有显著差异。

4 讨论

实验显示斑蝥咬食的干燥花瓣挥发油的得率较未被咬食的明显增高,分别为 0.13% 和 0.06% ($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$),说明咬食行为可能促进挥发成分的生物合成,有待今后深入研究。实验结果还显示,干燥与新鲜花瓣被斑蝥咬食后挥发性成分组分变化不明显,

表 1 干燥芍药花瓣挥发物质化学成分

No.	保留时间 t_R /min		化合物名称	分子量	分子式	相对含量 /%	
	未食	咬食				未食	咬食
1	4.51	4.51	-linalool 芳樟醇	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.04	0.01
2	4.59	4.59	n-nonaldehyde 壬醛	142	C ₉ H ₁₈ O	0.10	0.09
3	5.59	5.6	camphor 樟脑	152	C ₁₀ H ₁₆ O	0.05	0.04
4	5.78	5.78	1-nonanol 壬醇	144	C ₉ H ₂₀ O	0.01	0.01
5	6.49	6.49	p-menth-1-en-8-ol 松油醇	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.36	0.22
6	7.97	7.91	n-nonanoic acid 壬酸	158	C ₉ H ₁₈ O ₂	0.11	0.03
7	13.04	13.02	caryophyllene 石竹烯	204	C ₁₅ H ₂₄	0.13	0.03
8	13.83	13.81	6, 10-Dimethyl-5, 9-undecadien-2-one 6, 10-二甲基-5, 9-十一双烯-2-酮	194	C ₁₃ H ₂₂ O	0.20	0.04
9	15.82	15.82	-farnesene -法呢烯	204	C ₁₅ H ₂₄	0.02	0.01
10	17.89	17.81	nerolidol 橙花叔醇	222	C ₁₅ H ₂₆ O	0.38	0.23
11	17.92	17.92	n-dodecanoic acid 十二酸	200	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	0.19	0.01
12	20.60	20.59	4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-butanone 4-(4-羟基-3-甲氧苯基)-2-丁酮	194	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	0.12	0.01
13	21.17	21.14	-cadinol 杜松醇	222	C ₁₅ H ₂₆ O	0.16	0.03
14	22.27	22.25	2, 3-dihydro-farnesol 2, 3-二氢法呢醇	224	C ₁₅ H ₂₈ O	0.48	0.10
15	23.27	23.25	(Z, E)-farnesol (Z, E) 法呢醇	222	C ₁₅ H ₂₆ O	0.19	0.08
16	24.96	24.97	myristic acid 肉豆蔻酸	228	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	1.09	0.76
17	26.84	26.81	hexadecanal(palmitaldehyde) 棕榈醛	240	C ₁₆ H ₃₂ O	0.07	0.05
18	27.28	27.27	(E, E)-farnesol (E, E) 法呢醇	222	C ₁₅ H ₂₆ O	0.08	0.03
19	27.66	27.63	hexahydrofarnesyl acetone 六羟基法呢丙酮	268	C ₁₈ H ₃₆ O	2.62	1.63
20	28.17	28.13	phthalic acid, diisobutyl ester 邻苯二甲酸二异丁酯	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0.59	0.49
21	28.95	28.92	1-tridecanol 1-十三烷醇	200	C ₁₃ H ₂₈ O	0.07	0.10
22	29.91	29.86	farnesyl acetone 法呢酮	262	C ₁₈ H ₃₀ O	3.24	1.12
23	30.44	30.41	palmitic acid, methyl ester 棕榈酸甲酯	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.07	0.06
24	31.26	31.22	dibutyl phthalate 邻苯二甲酸二丁酯	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	1.14	0.45
25	32.43	32.28	n-hexadecanoic acid 十六烷酸	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	36.13	37.67
26	35.99	35.96	heneicosane 廿一烷	296	C ₂₁ H ₄₄	2.60	1.27
27	37.38	37.32	9, 12-octadecadienoic acid 9, 12-十八碳二烯酸	280	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	17.78	19.26
28	37.51	37.44	linolenic acid 亚麻酸	278	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	4.37	4.81
29	38.96	38.94	docosane 廿二烷	310	C ₂₂ H ₄₆	0.94	0.63
30	39.65	39.62	octadecanal 硬脂醛(十八碳醛)	268	C ₁₈ H ₃₆ O	0.05	0.07
31	41.92	41.88	tricosane 廿三烷	324	C ₂₃ H ₄₈	12.1	12.38
32	44.64	44.61	tetracosane 廿四烷	338	C ₂₄ H ₅₀	1.20	1.63
33	48.16	48.15	Pentacosane 廿五烷	352	C ₂₅ H ₅₂	6.78	10.89
34	48.94	48.91	bis(2-ethylhexyl) phthalate 邻苯二甲酸二甲氧乙酯	390	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	0.54	0.02

表 2 新鲜芍药花瓣挥发物质化学成分

No.	保留时间 t_R /min		化合物名称	分子量	分子式	相对含量 %	
	未食	咬食				未食	咬食
1	5.00	5.01	benzaldehyde 苯甲醛	106	C ₇ H ₆ O	0.19	0.48
2	6.68	6.69	1,8-cineole 1,8-桉叶醇	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.08	0.09
3	6.96	6.95	benzeneacetaldehyde 苯乙醛	120	C ₈ H ₈ O	0.01	0.14
4	8.48	8.47	benzeneethanol 苯乙醇	122	C ₈ H ₁₀ O	5.67	10.75
5	12.15	13.14	cinnamic acid methyl ester 肉桂酸甲酯	162	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	0.13	0.39
6	14.07	14.07	pentadecane 十五烷	212	C ₁₅ H ₃₂	0.79	1.06
7	15.92	15.90	hexadecane 十六烷	226	C ₁₆ H ₃₄	0.22	0.01
8	17.23	17.23	2,3-dihydro-farnesol 2,3-二氢法呢醇	224	C ₁₅ H ₂₈ O	0.80	0.90
9	19.90	19.90	hexahydrofarnesyl acetone 六羟基法呢丙酮	268	C ₁₈ H ₃₆ O	1.32	0.08
10	21.59	21.59	palmitic acid methyl ester 棕榈酸甲酯	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	2.48	0.94
11	25.57	25.61	heneicosane 廿一烷	296	C ₂₁ H ₄₄	5.12	3.23
12	28.05	28.07	docosane 廿二烷	310	C ₂₂ H ₄₆	1.38	1.45
13	30.54	30.59	tricosane 廿三烷	324	C ₂₃ H ₄₈	24.79	27.61
14	33.04	33.10	lignocerane 廿四烷	338	C ₂₄ H ₅₀	2.89	2.81
15	35.55	35.56	pentacosane 廿五烷	352	C ₂₅ H ₅₂	23.95	24.50
16	37.97	37.97	hexacosane 廿六烷	366	C ₂₆ H ₅₄	0.98	0.93
17	40.62	40.64	heptacosane 廿七烷	380	C ₂₇ H ₅₆	9.48	8.13
18	42.92	42.89	octacosane 廿八烷	394	C ₂₈ H ₅₈	0.01	0.90
19	47.96	48.02	triacontane 三十烷	422	C ₃₀ H ₆₂	3.87	4.26

但各成分的相对含量有所变化,表现为一些成分会相对含量提高,而另一些成分会减少。

实验结果显示,干燥花瓣与新鲜花瓣挥发性物质有所不同。干燥花瓣中的主要挥发性成分为十六烷酸,十八碳二烯酸、廿三烷、廿五烷,而新鲜花瓣的挥发性成分主要为苯乙醇、廿三烷、廿五烷、廿七烷。干燥与新鲜花瓣挥发性成分的不同,可能是花瓣干燥过程中挥发性成分发生变化,植物挥发性成分容易变化的成分,实际上干芍药花和鲜花的气味是不同的;提取方法不同,也可能得到不同挥发性成分的结果。由于野生芍药新鲜花瓣很难带回实验室,在干燥过程中花瓣的香气丧失,作者采用石油醚浸泡新鲜花瓣的方法提取,经 GC-MS 分析鉴定,得到更多的小分子量的芳香成分,如苯甲醛,苯乙醛,苯乙醇等。说明此种方法对捕捉新鲜花瓣芳香气味的化学成分是有效的。

芍药新鲜和干燥花瓣中均检测出法呢醇类成分,有实验表明法呢醇(金合欢醇)可能是生物合成

斑螫素的前体^[7]。斑螫取食物芍药花瓣,是否可从中获得脂肪酸类、法呢醇类成分,以满足营养与合成防御成分斑螫素化学物质的需求,有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 王荣花,刘雅丽.牡丹和芍药花瓣中高级脂肪酸组分及含量的测定[J].中国农学通报,2004,20(6):212.
 [2] 张继振,孙黎明,牛学蒙.芍药化学成分的研究进展[J].1998,24(3):63.
 [3] 高士贤.中国动物药志[M].长春:吉林科学技术出版社,1996:286.
 [4] 红雨,刘强.芍药的访花昆虫和传粉昆虫[J].昆虫知识,2004,41(5):449.
 [5] 红雨,刘强.芍药的传粉生物学研究[J].广西植物,2006,26(2):120.
 [6] 罗毅波,裴颜龙,潘开玉,等.矮牡丹传粉生物学的初步研究[J].植物分类学报,1998,36(2):134.
 [7] 李小飞,陈祥盛,国兴明.昆虫斑螫素的研究与利用[J].山地农业生物学报,2004,23(2),169.