

不同生长年限巨尾桉叶挥发性成分 GC-MS 分析

刘真一^{1,2}, 陈月圆¹, 李典鹏^{1*}

(1. 广西壮族自治区广西植物研究所(广西植物功能物质研究与利用重点实验室),
中国科学院

广西 桂林 541006; 2. 广西中医学院, 南宁 530001)

摘要: 为了分析不同年限巨尾桉叶挥发油的化学成分及生长年限对化学成分组成的影响, 采用水蒸气蒸馏法, 分别提取 2006~2010 年种植的巨尾桉叶片中的挥发性成分, 并用气相色谱质谱联用技术分析鉴定其化学成分。结果表明: 不同生长年限的巨尾桉叶片挥发油产量在 0.55%~1.35% 之间, 随生长年限的增加而升高。利用 GC-MS 共鉴定出 63 个化合物, 占总挥发油的 93.00%~97.07%。其中相对含量较高的物质为: 1,8-桉叶油素(55.72%~63.47%)、 α -松油醇(9.78%~14.15%)、乙酸松油酯(4.96%~7.06%)、 α -蒎烯(0.99%~4.31%)、龙脑(2.40%~4.89%)。由于生长年限的不同, 挥发油中物质的组成及相对含量均存在差异。

关键词: 巨尾桉; 挥发油; GC-MS

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)05-0701-05

* Analysis of volatile constituents of different years old of *E. grandis* × *E. urophylla* leaf by GC-MS

LIU Zhen-Yi^{1,2}, CHEN Yue-Yuan¹, LI Dian-Peng^{1*}

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences

(Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization), Guilin 541006,

China; 2. Guangxi Traditional Medical University, Nanning 530001, China)

Abstract: In order to analyze chemical composition of volatile leaf oil of *E. grandis* × *E. urophylla* with different years old in 2006-2010 and explore the influence of growth years. Steam distillation was used to obtain the essential oil and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS). The essential oils in yields varied from 0.55% to 1.35%, with the growth years longer, the oil yeild of *E. grandis* × *E. urophylla* increased. 63 compounds were identified by GC-MS, representing 93.00% to 97.07% of the total oil composition. The main components were 1,8-cineole(55.72%-63.47%), followed by α -terpineol(9.78%-14.15%), α -Terpinyl acetate(4.96%-7.06%), α -pinene (0.99%-4.31%) and Fenchol(2.40%-4.89%). The composition and relative contents of volatile components varied a lot in different years.

Key words: *E. grandis* × *E. urophylla*; volatile oil; GC-MS

桉树是一种四季常青原产于澳大利亚的外来树种, 属于桃金娘科, 包括 900 个种和亚种(陈月圆等, 2010)。桉树由于其生长速度快、轮伐期短、适应性

强、用途广泛等特点, 能够带来巨大的经济效益, 目前被世界很多国家引种栽培, 我国也是世界上第二大的植桉国(刘小香等, 2004)。桉树给我国带来经

* 收稿日期: 2012-02-15 修回日期: 2012-05-17

基金项目: 国家自然科学基金(31100473); 广西自然科学基金(1123014, 2010GXNSFD169007); 广西科学院基本科研业务费(10YJ25zw01)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31100473); the Natural Science Foundation of Guangxi(1123014, 2010GXNSFD169007); Fundamental Scientific Research Fund of Guangxi Academy of Sciences(10YJ25zw01)]

作者简介: 刘真一(1986-), 男, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事天然产物开发与利用研究, (E-mail)634751579@qq.com.

* 通讯作者: 李典鹏, 博士, 研究员, 主要从事植物功能物质的研究与利用开发工作, (E-mail) ldp@gxib.cn.

济效益的同时,对环境的影响也产生了一些争论。桉树可以释放具有很强活性的化感物质,抑制其他植物生长导致林间植物多样性下降和严重的水土流失,其中化感物质的一种主要释放方式就是叶片挥发(Ahmed等,2008)。桉树的叶片挥发油也具有抗菌、抗真菌、抗高血糖和抗氧化等很多生物效应(Takahashi等,2004)。

桉树挥发油中主要成分为1,8-桉叶油素、 α -蒎烯等物质(Elaissi等,2010),为了研究在桉树生长期叶片挥发油中物质及其相对含量变化,本文对1年生至5年生的巨尾桉叶挥发性成分进行GC-MS分析,为进一步研究桉树化感物质的代谢提供物质基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料、仪器和试剂

样品采摘于广西柳州波寨林场内,经广西植物研究所分类室韦发南研究员鉴定为巨尾桉(*E.*

grandis×*E. urophylla*)1年生至5年生叶片,种植时间分别为2006~2010年。7890A/5975C型GC-MS联用仪(美国Agilent公司生产)、圆底烧瓶、电热套、挥发油提取器、注射器、0.45 μm 微孔滤膜;正己烷、无水硫酸钠等化学试剂均为分析纯。

1.2 叶片挥发性成分提取

将新鲜桉树叶切成小块,称200 g置于2 000 mL的圆底烧瓶内,加800 mL去离子水,用挥发油提取器按常规水蒸气蒸馏法加热微沸6 h,得到油水混合物经分液漏斗用正己烷萃取分离,无水硫酸钠干燥24 h,回收正己烷,称重,得油率以鲜重计。然后在所得挥发油中加入适量正己烷溶解,再用0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液用于GC-MS分析。

1.3 GC-MS条件

气相色谱条件:色谱柱HP-5MS 5% Phenyl-Methyl Siloxane(30 m×0.25 mm×0.25 μm)弹性石英毛细管柱;柱温70 $^{\circ}\text{C}$,以1 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 速率升温至100 $^{\circ}\text{C}$,又以2 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 速率升温至180 $^{\circ}\text{C}$;汽化室温度250 $^{\circ}\text{C}$;FID检测器加热器290 $^{\circ}\text{C}$,载气为

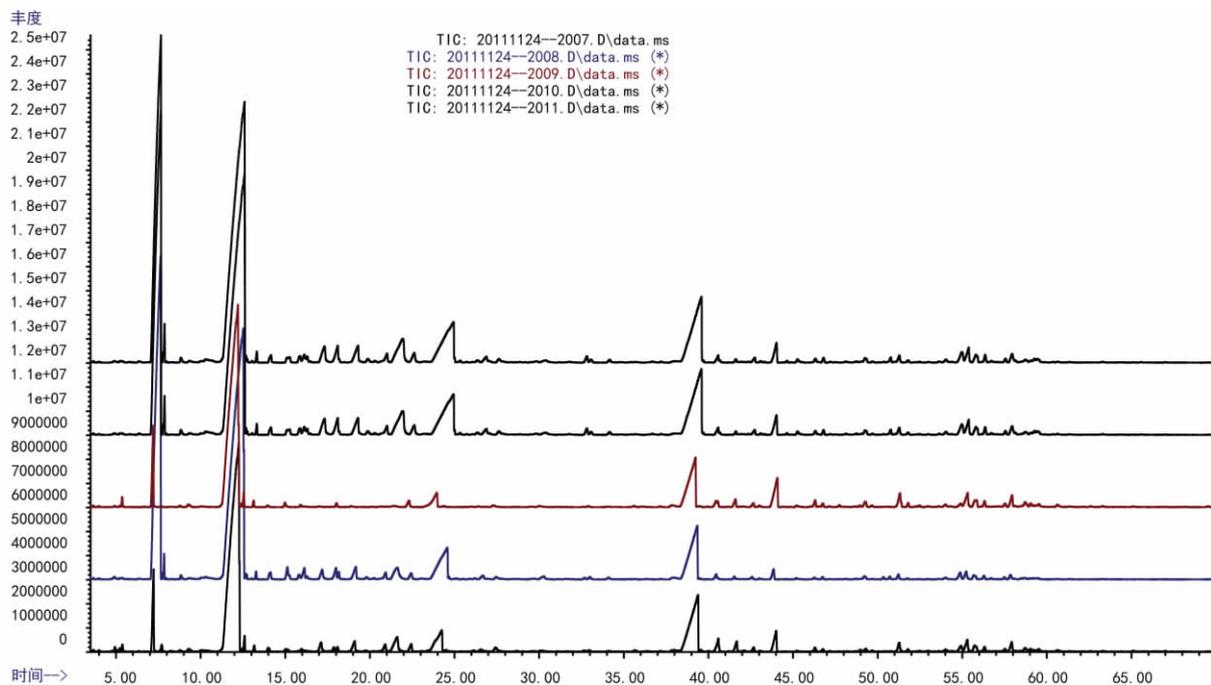


图1 不同生长年限巨尾桉叶挥发油成分总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile constituents in the leaves *E. grandis*×*E. urophylla* in different years

体积分数99.999%的高纯氦气;载气流量为1.0 mL·min⁻¹;进样方式为GC自动进样器,进样量为1.0 μL ,分流进样,分流比为60:1。

质谱条件:EI离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$;MS四级杆温

度150 $^{\circ}\text{C}$;电子能量70 eV;接口温度280 $^{\circ}\text{C}$;溶剂延迟4 min;质量范围20~400 amu。

1.4 分析方法

取1 μL 挥发油的正己烷溶液,通过GC-MS分

析鉴定,采用 Agilent Chemstation 化学工作站通过 NIST05a 质谱数据库检索,结合文献并与标准图谱对照鉴定各组分峰化学结构。用面积归一化法计算各化学成分在挥发油中的相对质量分数。

2 结果与分析

2.1 不同年份巨尾桉叶挥发油的得率

利用水蒸气蒸馏法分别得到 1 年生、2 年生、3 年生、4 年生和 5 年生巨尾桉叶挥发油 1.1、1.7、2.1、2.5、2.7 g,得油率分别为 0.55%、0.85%、1.05%、1.25%、1.35%(以鲜重计)。从挥发油得率可以看出,巨尾桉生长年限越长,挥发油含量越高。

2.2 不同年份巨尾桉叶挥发性成分及相对含量分析

利用气相色谱-质谱联用技术按上述条件分别

对五种桉树叶样品挥发性成分进行分析,得总离子流色谱图(图 1)。通过计算机对各峰质谱图进行 NIST05a 质谱数据库检索,根据质谱裂解规律和查阅相关文献(田玉红等,2005,2006a,b)确定化学结构。分别从 1 年生、2 年生、3 年生、4 年生、5 年生的巨尾桉叶挥发性成分中鉴定出 43,44,60,61,58 个成分,占挥发性成分总量的 94.45%、93.00%、95.73%、97.07%、94.67%。其各挥发性成分及相对含量结果见表 1。

在确认的巨尾桉叶挥发性成分中,相对含量较高的物质为 1,8-桉叶油素(55.72%~63.47%), α -松油醇(9.78%~14.15%),乙酸松油酯(4.96%~7.06%), α -蒎烯(0.99%~4.31%),龙脑(2.40%~4.89%),松香芹醇(1.00%~2.72%)和葑醇(0.85%~1.96%)。根据其结构可将确定的挥发性

表 1 不同年限巨尾桉叶挥发性成分及相对含量

Table 1 Volatile constituents and their relative contents in the leaves of *E. grandis* × *E. urophylla* in different years

序号 No.	保留时间 R. T. (min)	化合物名称 Compound name	相对含量 Relative contents (%)				
			1 年生	2 年生	3 年生	4 年生	5 年生
1	6.307	2-甲基-2-甲基丙基丙酸酯 Propanoic acid,2-methyl,2-methylpropyl ester	0.05	0.06	0.06	0.05	0.06
2	7.111	α -蒎烯 α -pinene	2.51	0.99	1.42	2.28	4.31
3	7.640	莰烯 Camphene	0.04	0.04	0.05	0.09	0.13
4	8.716	β -蒎烯 β -pinene	—	—	—	—	0.02
5	9.188	β -月桂烯 β -Myrcene	0.03	0.05	0.05	0.03	0.06
6	9.942	α -水芹烯 α -Phellandrene	—	0.04	0.34	0.53	0.64
7	10.229	对伞花烃 p-Cymene	0.14	0.15	0.23	0.37	0.39
8	11.755	1,8-桉叶油素 Eucalyptol	63.47	58.48	57.49	56.97	55.72
9	12.124	苯乙醛 Benzeneacetaldehyde	0.05	0.05	0.03	0.04	0.04
10	12.967	α -松油烯 α -Terpinene	—	—	0.03	0.04	0.06
11	13.854	氧化芳樟醇 Linalool Oxide	0.39	0.41	0.31	0.36	0.31
12	14.906	异松油烯 Terpinolene	0.19	0.25	0.20	0.22	0.22
13	15.027	对- α -二甲基苯乙烯 p- α -Dimethylstyrene	0.09	0.09	0.09	0.16	0.13
14	15.666	2-甲基-3-甲基丁基辛酸酯 Butanoic acid,2-methyl,3-methylbutylester	0.07	0.05	0.05	0.06	0.06
15	15.815	芳樟醇 linalool	0.24	0.25	0.25	0.19	0.21
16	16.057	异戊酸异戊酯 Isopentyl isovalerate	0.13	0.07	0.05	0.07	0.06
17	16.966	葑醇 Fenchol	0.85	1.64	1.68	1.96	1.64
18	17.754	α -龙脑烯醛 α -campholenic aldehyd	0.65	0.73	0.77	1.09	1.00
19	18.916	松香芹醇 Pinocarveol	2.72	1.00	1.35	1.86	1.66
20	19.627	莰酮 Camphor	0.23	0.35	0.29	0.31	0.26
21	20.745	松香芹酮 Pinocarvone	1.71	0.42	0.25	1.08	0.70
22	21.428	龙脑 Borneol	2.40	4.89	4.77	4.71	4.65
23	22.238	松油-4-醇 Terpinene-4-ol	0.61	0.97	0.84	0.73	0.76
24	22.943	隐酮 Crypton	—	—	0.10	0.17	0.17
25	24.056	α -松油醇 α -terpineol	9.78	14.15	12.31	11.19	10.76
26	24.226	桃金娘烯醇 Myrtenol	0.16	0.09	0.09	0.16	0.12
27	25.168	反式-香芹醇 trans-carveol	0.06	0.04	—	0.07	0.04
28	26.075	对孟烷-1(7),8-二烯-6-醇 p-menth-1(7),8-dien-6-ol	0.05	—	0.05	0.07	0.06

续表 1

序号 No.	保留时间 R. T. (min)	化合物名称 Compound name	相对含量 Relative contents (%)				
			1 年生	2 年生	3 年生	4 年生	5 年生
29	26.380	正式-香芹醇 cis-carveol	0.49	0.46	0.36	0.58	0.48
30	26.700	对孟烷-1(7)-烯-2- p-Menth-1(7)-en-2-one	—	0.15	0.11	0.11	0.07
31	27.217	对孟烷-1(7),8(10)-二烯-9-醇 p-Mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	0.38	0.16	0.12	0.39	0.28
32	27.487	未鉴定	0.07	0.05	—	0.08	0.06
33	28.534	香芹酮 Carvone	0.06	—	—	0.06	—
34	29.415	枯茗醛 Cuminal	0.08	0.06	0.05	0.05	0.02
35	29.917	香叶醇 geraniol	0.11	0.13	0.15	0.07	0.09
36	31.542	水芹醛 Phellandral	0.04	—	0.03	0.06	0.03
37	32.572	乙酸龙脑酯 Bornyl acetate	0.05	0.09	0.14	0.16	0.14
38	32.847	枯茗醇 cuminol	0.16	0.13	0.13	0.12	0.09
39	33.971	百里香酚 Thymol	0.11	0.05	0.06	0.07	0.05
40	35.467	香芹酚 Carvacrol	—	—	0.03	—	—
41	35.679	对伞花-8-醇 p-cymen-8-ol	—	—	0.21	0.05	0.03
42	37.761	Exo-2-羟基桉叶素 Exo-2-hydroxycineole	0.21	0.21	0.24	0.30	0.27
43	38.686	乙酸松油酯 α -Terpinyl acetate	5.4	5.32	7.06	5.18	4.96
44	39.320	丁香酚 Eugenol	—	0.03	0.07	0.23	—
45	41.986	可巴烯 Copaene	0.02	0.04	0.03	0.03	0.03
46	42.405	茉莉酮 Jasmone	0.06	0.05	0.09	0.14	0.16
47	43.688	β -石竹烯 β -caryophyllene	—	—	0.30	0.34	0.36
48	46.182	α -愈创木烯 α -guaiene	—	—	0.04	0.05	—
49	46.448	α -葎草烯 α -Humulene	—	—	0.04	0.06	0.04
50	46.691	香树烯 Aromadendrene	—	—	0.04	0.06	0.05
51	49.164	双环大牻牛儿烯 Bicyclogermacrene	—	—	0.11	0.15	0.19
52	50.651	δ -杜松烯 δ -cadinene	—	—	0.05	0.05	—
53	51.169	去氢白菖烯 Calamenene	—	—	0.08	0.13	0.02
54	53.918	β -芹子烯 β -cadiene	0.05	0.05	0.08	0.13	0.11
55	54.792	斯巴醇 Spathulenol	0.03	0.13	0.87	1.06	1.04
56	55.119	蓝桉醇 Globulol	0.10	0.21	0.60	0.69	0.57
57	55.598	喇叭茶醇 Ledol	0.05	0.14	0.42	0.47	0.39
58	56.221	绿花白千层醇 Viridiflorol	—	0.04	0.19	0.24	0.18
59	57.433	γ -桉叶醇 γ -Eudesmol	—	—	0.11	0.13	0.10
60	57.790	δ -杜松醇 δ -cadinol	0.11	0.15	0.32	0.33	0.15
61	58.457	α -杜松醇 α -cadinol	—	—	0.11	0.20	0.21
62	58.677	α -桉叶醇 α -Eudesmol	—	—	0.09	0.14	0.07
63	58.958	异斯巴醇 isospathulenol	—	—	0.06	0.09	0.03
64	59.141	β -桉叶醇 β -Eudesmol	0.25	0.09	0.19	0.21	0.16
		合计 Tatol	94.45	93.00	95.73	97.07	94.67

成分分为 5 类(表 2),其中相对含量最大是氧化单萜类(84.39%~90.48%),随着年份的增长,此类物质的相对含量逐年降低,其主要成分 1,8-桉叶油素的相对含量也是逐年降低, α -松油醇和龙脑的相对含量在第 2 年急剧升高,并且达到五年内的最高值后开始下降。乙酸松油酯的相对含量在第 3 年急剧增加达到五年内的最高值。第二类主要成分为单萜

烃类,此类物质在巨尾桉叶中的相对含量从第 2 年开始随着年份的增加而增长,但第 1 年到第 2 年相对含量急剧下降,这一类物质中含量占主导地位的是 α -蒎烯,它的相对含量变化规律和本类物质相同,可能是巨尾桉在种植的第 1 年主要生成 1,8-桉叶油素和 α -蒎烯等主要物质,此时 α -蒎烯相对含量较高,但随着植物的生长体内其他物质也开始生成

(由图 1 也可以看出, 1 年生到 2 年生的 TIC 图谱中峰的数目增多), α -蒎烯相对含量急剧下降, 随着年份的增长, 其他物质生成速度相对放慢, α -蒎烯相对含量逐年升高。倍半萜烃类和氧化倍半萜类含量相对较低, 其相对含量在第 3 年急剧升高, 并且在生长的第 4 年达到最高值。其他类物质在此不作为重点研究。

3 结论与讨论

桉树由于其生长速度快, 轮伐期短, 能带来巨大的社会经济效应, 巨尾桉则是广西桉树人工林的主

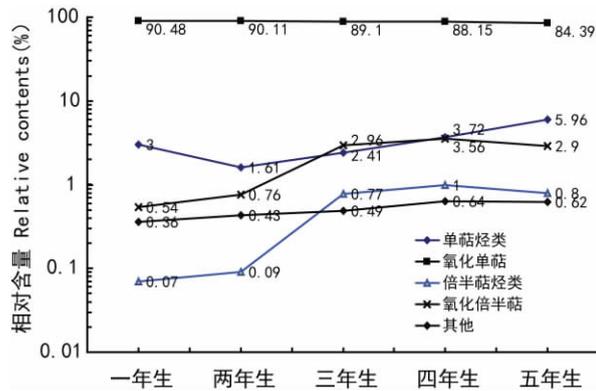


图 2 不同年限巨尾桉叶挥发性成分化学类型及相对含量的变化趋势

Fig. 2 Variation tendency of the chemical type of volatile components and their relative contents in the leaves of *E. grandis* × *E. urophylla* in different years

要造林树种。何龙等(2010)通过建立主伐年龄模型的方法, 将巨尾桉人工林主伐年龄确定为 5.71 a, 本实验研究 5 年生长期内巨尾桉叶挥发性的物质及相对含量变化。由实验结果可知: 不同生长期的巨尾桉叶片挥发油产量在 0.55%~1.35% 之间, 随生长年限的增加挥发油产量升高。由于生长年限的不同, 挥发油中物质的组成及相对含量均存在差异。

巨尾桉叶片挥发油中的每个主要成分都会在生长的某个时期相对含量急剧升高, 并且达到 5 a 内的最高值时开始下降, 这可能是由于物质在桉树体内次级代谢生成的时期不同, 或是物质在体内相互间转换及释放等原因造成的, 这些还有待做进一步研究。

桉树可通过叶片挥发释放挥发性的化感物质, 本实验为化感物质在体内代谢生成及释放等进一步研究提供了基础。经过多个学科的共同深入研究, 桉树环境生态效应方面将会有更大的突破。

参考文献:

- 田玉红, 刘雄民, 周永红, 等. 2006a. 大叶桉叶挥发性成分的提取及分析[J]. 中国药学杂志, 41(18): 1 436—1 437
- 田玉红, 刘雄民, 周永红, 等. 2006b. 不同蒸馏时段的粗皮桉叶精油的化学成分[J]. 中国中药杂志, 31(19): 1 641—1 643
- Ahmed R, Hoque ATM, Hossain MK. 2008. Allelopathic effects of leaf litters of *Eucalyptus camaldulensis* on some forest and agricultural crops[J]. *J Fore Res*, 19(1): 19—24
- Chen YY(陈月圆), Lu FL(卢凤来), Li DP(李典鹏), et al. 2010. Analysis of volatile constituents of different types of *Eucalyptus* leaf by GC-MS(不同品种桉树叶挥发性成分的 GC-MS 分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), 30(6): 895—898
- Elaissi A, Medini R, Marzouki H, et al. 2010. Variation in volatile leaf oil of 13 *Eucalyptus* species harvested from Souinet Arboretum(Tunisia)[J]. *Chem Biodiv*, 7(4): 705—716
- He L(何龙), Lü Y(吕勇), Zhang Z(张震), et al. 2010. Research on cutting age model of short rotation *E. grandis* × *E. urophylla* plantations(短轮伐期巨尾桉人工林主伐年龄模型研究)[J]. *Sichuan Fore Expl Des*(四川林勘设计), (4): 5—7
- Liu XX(刘小香), Chen QB(陈秋波), Xie LL(谢龙莲), et al. 2004. A review of allelopathic researches on *Eucalyptus*(桉树化感作用研究进展)[J]. *Chin J Trop Agric*(热带农业科学), 24(2): 54—61
- Takahashi T, Kokubo R, Sakaino M. 2004. Antimicrobial activities of *Eucalyptus* leaf extracts and avonoids from *Eucalyptus maculata*[J]. *Lett Appl Microbiol*, 39(1): 60—64
- Tian YH(田玉红), Liu XM(刘雄民), Zhou YH(周永红). 2005. Extraction and determination of volatile constituents leaves of *Eucalyptus citriodora*(柠檬桉叶挥发性成分的提取及成分分析)[J]. *Chin J Chrom*(色谱), 23(6): 651—654