

# GC-MS 结合保留指数分析囊谦杜鹃挥发成分

陈文娟<sup>1,2</sup>, 姚 晶<sup>1,2</sup>, 林鹏程<sup>1,2\*</sup>

(1. 青海民族大学 化学与生命科学学院, 青海 西宁 810007;

2. 青藏高原植物资源化学重点实验室, 青海 西宁 810007)

**摘要:** 为了分析囊谦杜鹃叶和茎的挥发性成分及异同, 采用顶空加热提取挥发性成分的方法, 对其进行气相色谱-质谱(GC-MS)分析, 并结合 Kovats 保留指数对其主要成分进行定性分析。结果表明, 囊谦杜鹃叶中共测定出 38 种挥发性化学成分, 主要成分为  $\alpha$ -毕澄茄油烯(13.49%)、 $\alpha$ -蒎烯(12.20%)、 $\alpha$ -金合欢烯(8.61%); 囊谦杜鹃茎中鉴定出 20 种挥发性成分, 主要成分为  $\alpha$ -蒎烯(8.80%)、 $\alpha$ -毕澄茄油烯(6.56%)、左旋- $\beta$ -蒎烯(6.19%)。囊谦杜鹃叶与茎中的挥发油在成分结构上比较相似, 但在含量上差异较大。

**关键词:** 囊谦杜鹃; 顶空进样; GC-MS; Kovats 保留指数

中图分类号: S685.21 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2014)07-0126-04

## Analysis of Volatile Compounds by GC-MS Combined with Kovats Retention Indices in *Rhododendron yushuense*

CHEN Wen-juan<sup>1,2</sup>, YAO Jing<sup>1,2</sup>, LIN Peng-cheng<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Life Science and Chemistry, Qinghai University for Nationalities, Xining 810007, China;

2. Key Laboratory of Plant Resources and Chemistry of Qinghai Tibet Plateau, Xining 810007, China)

**Abstract:** To compare the difference of volatile compounds between leaves and stems of *Rhododendron yushuense*, volatile components in *Rhododendron yushuense* treated with head-space injection were identified and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) combined with the Kovats retention indices(KI). The results showed that 38 volatile compounds in leaves of *Rhododendron yushuense* were identified, the main volatile compounds were  $\alpha$ -Cubebene(13.49%),  $\alpha$ -Pinene(12.20%) and  $\alpha$ -Farnesene(8.61%); 20 volatile compounds were identified in stems of *Rhododendron yushuense*, the main volatile compounds were  $\alpha$ -Pinene(8.80%),  $\alpha$ -Cubebene(6.56%) and (1S)- $\beta$ -Pinene(6.19%). The chemical components of essential oils were similar, but the contents of essential oils were different between leaves and stems of *Rhododendron yushuense*.

**Key words:** *Rhododendron yushuense*; head-space injection; GC-MS; Kovats retention indices

囊谦杜鹃(*Rhododendron yushuense* Z. J. Zhao)是杜鹃花科(Ericaceae)杜鹃花属(*Rhododendron*)的一种小灌木, 又名玉树杜鹃, 生长于海拔 4 200 m 的青海南部<sup>[1-2]</sup>。具有清热解毒、止咳平喘等功效, 常用于治疗气管炎<sup>[3-4]</sup>, 藏区广泛用于治疗肺病、喉炎、水土不服所致气喘及其他疾病<sup>[5]</sup>。目

前, 国内外对于囊谦杜鹃挥发性成分的研究尚未见报道, 鉴于此, 采用顶空直接进样技术首次对囊谦杜鹃叶和茎的挥发性成分进行了采集和 GC-MS 分析, 并结合 Kovats 保留指数(Kovats retention indices, KI)对其主要成分进行了定性分析, 以期为进一步开发治疗气管炎新药、指导临床用药提供理论依据。

收稿日期: 2013-11-15

作者简介: 陈文娟(1988-), 女, 河南南阳人, 在读硕士研究生, 研究方向: 藏药质量控制。E-mail: 812053111@qq.com

\* 通讯作者: 林鹏程(1966-), 男, 河南洛阳人, 教授, 主要从事藏药的研究与开发。E-mail: qhlpc@163.com

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

囊谦杜鹃(产地:青海省玉树州囊谦县)由青海民族大学化学与生命科学学院林鹏程教授鉴定。7890/5975C-GC/MSD 气相色谱-质谱联用仪、G1888 顶空进样器、色谱数据处理系统(MSD Chemstation D.03.00.611)由美国 Agilent 公司生产;质谱检索数据库:NIST MS search 2.0;正构烷烃系列化合物( $C_7-C_{30}$ )购自上海安谱科学仪器有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

### 1.2 挥发性成分的提取

顶空直接进样:取刚粉碎的囊谦杜鹃叶及茎的粉末(过孔径为 0.425 mm 筛)0.5 g,平行 5 份,分别置于 10 mL 顶空瓶中密封,置顶空进样器中按顶空进样条件进样。顶空进样条件:样品瓶加热温度 100 °C;样品环温度 120 °C;传输线温度 140 °C;样品瓶加热时间 25 min,样品环平衡时间 0.05 min,进样时间 1 min。

### 1.3 GC-MS 分析条件

色谱条件:色谱柱为 HP-5 弹性石英毛细管柱(30 m×250  $\mu$ m,0.25  $\mu$ m);进样口温度 250 °C;载气为 He,载气流量:1 mL/min;用于顶空直接进样的程序升温条件:初始温度 45 °C,保持 0 min,以 1.5 °C/min 升至 80 °C,保持 1 min;以 10 °C/min 升

到 120 °C,保持 1 min;以 0.8 °C/min 升至 170 °C,保持 1 min;以 8 °C/min 升至 260 °C,保持 5 min。

质谱条件:标准质谱调谐;EI 离子源;电子能量 70 eV;离子源温度:230 °C;四级杆温度:150 °C;辅助区温度:295 °C;数据采集扫描模式:全扫描;溶剂延迟时间:0 min;质谱扫描质量范围:50~550 u。

### 1.4 KI 值测定

精密移取正构烷烃混合对照品 20  $\mu$ L 加入 10 mL 顶空瓶中,按照 1.3 条件顶空进样分析,用于挥发油各组分的 KI 值计算;分别记录不同条件下各正构烷烃保留时间,采用线性升温公式计算各组分的 KI 值, $KI=100n+100(t_x-t_n)/(t_{n+1}-t_n)$ ,其中  $t_x$ 、 $t_n$  和  $t_{n+1}$  分别为被分析组分和碳原子数为  $n$  和  $n+1$  的正烷烃( $t_n < t_x < t_{n+1}$ )的流出峰的保留时间<sup>[6]</sup>。

## 2 结果与分析

按 1.3 分析条件,对囊谦杜鹃叶及茎的挥发性成分进行 GC-MS 分析,以峰面积归一化法计算挥发油各组分相对含量,对相对峰面积大于 0.05% 的组分进行鉴定。对各峰质谱图进行 NIST 标准谱库检索,选取质谱匹配度高的前 10 个可能物质,计算其 KI 值,并与 NIST 库 KI 值检索结果相比较,结合有关质谱图文献[7-12]解析,以质谱和 KI 值匹配度最高的化学结构为最佳鉴定结果,结果见表 1。

表 1 囊谦杜鹃叶与茎挥发性化学成分( $n=5$ )

英文名称	名称	分子式	KI <sub>1</sub>	KI <sub>2</sub>	含量/%	
					叶	茎
Tricyclene	三环烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	922	922	0.79	—
$\alpha$ -Pinene	$\alpha$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	928	928	12.20	8.80
Camphene	莰烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	941	953	6.16	2.18
(1S)- $\beta$ -Pinene	左旋- $\beta$ -蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	970	981	8.07	6.19
Myrcene	月桂烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	989	992	3.23	0.89
$\beta$ -Carene	$\beta$ -萜烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1 004	1 004	0.14	—
$\alpha$ -Terpinen	$\alpha$ -萜品烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1 013	1 012	0.15	—
Acetylthiazole	乙酰基噻唑	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> NOS	1 020	1 020	0.78	—
Limonene	柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1 024	1 033	—	0.71
$\alpha$ -Ocimene	$\alpha$ -罗勒烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1 054	1 056	2.36	2.08
Artemisia alcohol	蒿醇	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	1 084	1 084	0.13	—
Myrtenal	桃金娘烯醛	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	1 176	1 233	0.08	—
Carveol	香芹醇	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	1 197	1 197	0.02	—
Cuminic alcohol	枯茗醇	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	1 284	1 284	1.89	0.82
Artemisia triene	黏蒿三烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1 333	1 334	—	0.07
$\alpha$ -Cubebene	$\alpha$ -毕澄茄油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 346	1 345	13.49	6.56
Neryl acetate	橙花醇乙酸酯	C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub>	1 362	1 362	0.06	—
$\gamma$ -Nonalactone	$\gamma$ -壬内酯	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	1 367	1 366	0.05	—
$\alpha$ -Ylangene	$\alpha$ -衣兰烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 372	1 371	3.56	1.86
Geranyl acetate	乙酸香叶酯	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	1 381	1 382	0.09	—

续表 1 囊谦杜鹃叶与茎挥发性化学成分 ( $n=5$ )

英文名称	名称	分子式	KI <sub>1</sub>	KI <sub>2</sub>	含量/%	
					叶	茎
Isolongifolene	异长叶烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 388	1 389	1.77	—
$\alpha$ -Gurjunene	$\alpha$ -古香油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 407	1 412	0.85	4.56
1-Caryophyllene	1-石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 416	1 421	2.66	—
(-)- $\gamma$ -Elemene	$\gamma$ -榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 425	1 425	0.16	3.89
$\beta$ -Gurjunene	$\beta$ -古香油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 429	1 430	0.87	—
trans- $\alpha$ -Bergamotene	反式- $\alpha$ -香柑油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 433	1 431	0.79	—
Aromadendrene	香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 441	1 445	—	0.12
Clovene	丁香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 448	1 450	0.51	—
$\gamma$ -Selinene	$\gamma$ -蛇床烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 455	1 455	0.77	—
Alloaromadendrene	别香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 463	1 462	—	0.07
$\gamma$ -Decalactone	$\gamma$ -香树烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 472	1 472	0.91	—
$\gamma$ -Muurolene	$\gamma$ -依兰油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 476	1 475	0.83	—
$\beta$ -Guaiene	$\beta$ -愈创木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 481	1 483	—	0.33
Germacrene D	大根香叶烷	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 488	1 487	2.61	—
Valencene	朱桉倍半萜	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 491	1 490	0.65	—
Alloaromadendrene	别香橙烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 498	1 496	0.99	4.86
$\alpha$ -Farnesene	$\alpha$ -金合欢烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 504	1 500	8.61	5.41
Elemicin	榄香烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	1 510	1 514	1.09	0.13
Citronellyl butyrate	丁香酸茅酯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1 527	1 528	2.01	—
Myristicin	肉豆蔻醚	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1 531	1 532	0.17	—
Nerolidol	橙花叔醇	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1 536	1 539	0.96	—
Isopropyl benzoate	苯甲酸异丙酯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1 569	1 566	—	0.09
levomenol	左旋环烯庚烯醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1 620	1 620	0.27	—
$\gamma$ -Eudesmol	桉叶油醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1 630	1 630	0.13	—
$\alpha$ -Acorenol	$\alpha$ -菖蒲烯醇	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	1 634	1 634	—	0.16

注: KI<sub>1</sub> 为测定值; KI<sub>2</sub> 为 NIST 谱库检索值(非极性 HP-5 MS 柱)。

由表 1 可以看出,囊谦杜鹃叶中含量较高的为  $\alpha$ -毕澄茄油烯(13.49%)、 $\alpha$ -蒎烯(12.20%)、 $\alpha$ -金合欢烯(8.61%)、左旋- $\beta$ -蒎烯(8.07%)、苾烯(6.16%)、 $\alpha$ -衣兰烯(3.56%)、月桂烯(3.23%)、1-石竹烯(2.66%)、大根香叶烷(2.61%)、 $\alpha$ -罗勒烯(2.36%)、丁香酸茅酯(2.01%)、枯茗醇(1.89%)、异长叶烯(1.77%)、榄香烯(1.09%)。这些相对含量较高的挥发性成分中大都含有不饱和双键,具有一定的生物活性<sup>[13]</sup>。

囊谦杜鹃茎中含量最高的为  $\alpha$ -蒎烯(8.80%);含量大于 1% 的有  $\alpha$ -毕澄茄油烯(6.56%)、左旋- $\beta$ -蒎烯(6.19%)、 $\alpha$ -金合欢烯(5.41%)、别香橙烯(4.86%)、 $\alpha$ -古香油烯(4.56%)、 $\gamma$ -榄香烯(3.89%)、苾烯(2.18%)、 $\alpha$ -罗勒烯(2.08%)、 $\alpha$ -衣兰烯(1.86%)。

从囊谦杜鹃叶中共鉴定出 38 种挥发性成分,占挥发油总量的 80.86%;囊谦杜鹃茎中共鉴定出 20

种挥发性成分,占挥发油总量的 49.78%。

### 3 结论与讨论

本试验采用气质联用技术首次分析了囊谦杜鹃茎、叶中挥发性成分及其相对含量,采用 MS 定性与 Kovats 保留指数相结合的方法对囊谦杜鹃的挥发性成分进行鉴别,使定性结果更加准确可信。

本试验结果表明,囊谦杜鹃叶和茎的挥发油有着相似的组成。但其挥发油含量有较大差异,囊谦杜鹃叶中挥发油总含量明显高于茎中总含量,以蒎烯为主要成分,均含有  $\alpha$ -蒎烯、苾烯、月桂烯、 $\alpha$ -衣兰烯、 $\alpha$ -罗勒烯等。国内关于囊谦杜鹃药理的研究基本没有,李少泓等<sup>[14]</sup>的研究表明,杜鹃花属植物普遍具有祛痰、止咳、抗炎等药理活性,其有效成分主要为黄酮类化合物和挥发油,因此囊谦杜鹃挥发性成分具有重要的研究价值。

## 参考文献:

- [1] 青海木本植物志编委会. 青海木本植物志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1987.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第五十七卷第一册)[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 110.
- [3] 中国科学院西北高原生物研究所. 藏药志[M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991: 261.
- [4] 戴云华, 杜芳年. 挥发油与中草药(二)[J]. 云南中医学院学报, 1987, 10(1): 40-42.
- [5] 钟国华, 胡美英. 杜鹃花科植物活性成分及作用机制研究进展[J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(6): 509-514.
- [6] Isidorov V A, Krajewska U, Vinogorova V T, et al. Gas chromatographic analysis of essential oil from buds of different birch species with preliminary partition of components[J]. Biochem Syst Ecol, 2004, 32(1): 1-13.
- [7] 丛浦珠. 质谱学在天然产物研究中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [8] Slavica G, Dzamic M, Mihailo S, et al. Essential oil composition of stachys anisochila [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2011, 47(5): 823-825.
- [9] Slavkovska V, Couladis M, Bojovic S, et al. Essential oil and its systematic significance in species of *Micromeria Bentham* from Serbia & Montenegro[J]. Plant Systematics and Evolution, 2005, 10: 1-15.
- [10] Ramona A, Debra M, Anita B, et al. Chemical composition and cytotoxic activity of the leaf essential oil of *Eugenia zuchowskiae* from Monteverde[J]. Costa Rica J Nat Med, 2007, 61: 414-417.
- [11] Hu Haobin, Zheng Xudong, Hu Huaisheng, et al. Chemical compositions and antimicrobial activities of essential oils extracted from *Acanthopanax brachyopus* [J]. Archives of Pharmacal Research, 2009, 32(5): 699-710.
- [12] Nadhir G, Mohamed Y, Isabelle B, et al. Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Pistacia atlantica* Desf. leaves [J]. J Am Oil Chem Soc, 2010, 87: 157-166.
- [13] 谭仁祥. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [14] 李少泓, 孙欣. 杜鹃属植物的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(11): 2435-2437.

(上接第 92 页)

试验中还发现,即使经过套袋并进行化学防治的处理,在储藏期仍有一定的烂果率。3 a 间总烂果率差异较大,2010 年防治处理烂果率高达 29.71%,而 2011 年和 2012 年烂果率相对较小,分别为 1.52%和 1.67%。分析原因,一方面是由于气候的差异,另一方面可能是由于 2010 年套袋较晚,且所使用的果袋质量较差的缘故。

对于苹果病害的产量损失测定,在试验设计方面难以像大田作物一样采用小区试验设计。按照单因素试验的要求,应在同一果园中开展试验。在同一果园中,由于前期管理基本一致,病害发生程度也基本一致。在本试验中,枝干轮纹病的病株率为 100%,且发病程度均为中度以上,多数为重病株,难以找到不发病植株或发病轻微的植株作为对照。因此,只能以发病程度类似的果树开展科学防治作为对照,并以此作为参考进行损失估测。苹果为多年生果树,病害严重发生不但影响当年的产量,也可能对后续年份的产量造成影响,因此,开展相关试验风险较大。如本研究中所用 15 株不进行杀菌剂防治的试验树,在 3 a 试验结束后,由于枝干轮纹病发生严重,造成大量结果枝枯死,树势极度衰弱,导致果

农将这几株果树刨除从而造成更严重损失。而本研究中只计算了当年的产量损失,没有涉及对果树后续年份产量的影响。

## 参考文献:

- [1] 刘晓琳,马丽亚. 苹果轮纹病致病菌的生物学特性初探[J]. 天津农业科学, 1998, 4(2): 10-12.
- [2] 张海齐,郭建平,高九思. 豫西丘陵地区苹果轮纹病发生原因及防治技术[J]. 现代农业科技, 2010(18): 159.
- [3] 郭聪琴,王栋. 3%中生菌可湿性粉剂防治苹果轮纹病药效研究[J]. 现代农业科技, 2012(12): 118.
- [4] 国立耘,李金云,李保华,等. 中国苹果枝干轮纹病发生和防治情况[J]. 植物保护, 2009, 35(4): 120-123.
- [5] 毛建辉,刘万才,何忠全,等. 水稻主要病虫害综合危害损失评估试验初探[J]. 西南农业学报, 2012, 25(5): 1662-1667.
- [6] 徐海莲,曾宜杰,徐善忠,等. 水稻病虫危害损失和防治效益评估研究初报[J]. 植物保护, 2010, 36(4): 148-151.
- [7] 冯成玉,陆晓峰. 玉米粗缩病的发生及危害损失分析[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(10): 122-124.
- [8] 文家富,陈光华,王刚云,等. 小麦条锈病危害损失估计研究[J]. 陕西农业科学, 2012(1): 49-50.