

陈云霞,薛晓明,史洪飞,等. 4 种樟属木材 GC-MS 化学辅助鉴别研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(8):202-207.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.08.038

4 种樟属木材 GC-MS 化学辅助鉴别研究

陈云霞,薛晓明,史洪飞,侯森林

(南京森林警察学院/国家林业局森林公安司法鉴定中心/野生动植物物证技术国家林业和草原局重点实验室,江苏南京 210023)

摘要:采用温浴及超声辅助正己烷/无水乙醇(1:1)双液相萃取技术提取 4 种樟属木材的挥发油成分,结合气相色谱-质谱(GC-MS)联用法对木材中挥发性化学组分进行分析,从猴樟、辣汁树、卵叶桂、钝叶桂中分别鉴定出 32、24、14、22 种挥发油成分,各占挥发油总量的 40.8602%、52.3494%、52.5156%、63.4214%。结果表明,4 种樟属木材挥发油成分各有异同,均含有左旋樟脑、1,3-二叔丁基苯、2,4-二叔丁基苯酚、1-羟基环己基苯基甲酮、正十六烷、正十四烷等主要成分,但同时各种化学组分之间也具有一定差异。通过木材中特有的挥发性代谢标记物可对本研究中的 4 种樟属木材进行种间鉴别,为樟属木材的鉴别提供化学辅助识别手段。

关键词:樟属;GC-MS;挥发油成分;种属鉴别

中图分类号:S792.230.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2020)08-0202-05

樟科(Lauraceae)植物是集材用、药用、化工、香料及生态于一身的多用途重要植物资源,在经济社会发展中具有重要地位^[1]。因此樟科植物中一些优良的材用树种常被一些不法分子偷伐盗伐,如楠属的桢楠、细叶楠及樟属的香樟、猴樟等。而在此类案件中,涉案树木物种的确定是对案件定性与量刑的关键。在木材种属来源识别中,传统的形态识别法一直占据主导地位,该方法建立在木材解剖学的基础上,主要通过木材宏观及微观特征相结合的方法实现,对鉴定者的鉴定知识和经验要求较高,通常只能确定到属的水平,很难鉴定到种的水平。而对于樟科一些属间亲缘关系较近的树种,其解剖构造极为相似,没有枝叶花果的情况下,将其鉴定到种的现实困境尤为明显。例如 DNA 条形码分子鉴定技术,由于樟科植物存在一致性进化不完全和假基因现象,导致其在条形码序列上的测序成功率远远低于其他类群,以及木材中高质量 DNA 提取方法不完善,暂时无法解决樟科木材鉴定的这个难题^[2-4]。所以要解决樟科木材难以鉴定到种的现实困境还须借助其他的分子或化学方法。

樟科植物大部分有挥发性腺体,具有特殊气味,其木质部也不例外。本研究采用双液相萃取,

对樟属 4 种木材的木质部挥发性成分进行提取,结合气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术进行定性和定量分析,实现其种间鉴别,以期为樟科这一优良林木资源的保护以及木材类物证在法庭科学中的进一步应用提供技术支持,同时也为樟科木材在医药、化工等方面的进一步开发和利用提供科学依据及理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试猴樟(*Cinnamomum bodinieri*)、辣汁树(*Cinnamomum tsangii*)、卵叶桂(*Cinnamomum rigidissimum*)、钝叶桂(*Cinnamomum bejolghota*)木材样本分别采集自贵州省遵义市、广东省广州市、广西壮族自治区南宁市、广东省湛江市,树龄均为 10~20 年,且均为准确定种属的样品。以上 4 种木材试样均取自同一株主干的木质部,且进行多位点取样。

1.2 试验方法

1.2.1 样品制备 将低温烘干处理的木材样品用冷冻研磨仪进行粉碎,粉碎后通过 40 目筛网过筛,将样品粉末放入 10mL 离心管中,置于具有干燥剂的气密容器,备用。

1.2.2 挥发油成分提取 分别称取制备好的木材粉末样品 1 g,置于 10 mL 离心管中,分别加入 1:1 的正己烷/无水乙醇双液相萃取液 5 mL,混匀,65 °C 温浴辅助提取 30 min,而后再进行超声辅助提取

收稿日期:2018-12-11

基金项目:江苏省自然科学基金面上项目(编号:BK20181338)。

作者简介:陈云霞(1982—),女,山西吉县人,博士,副教授,主要从事野生动植物的鉴定及保护研究。E-mail:yunaini@163.com。

2 h,结束后室温静置 30 min,收集液相,备用^[5-7]。

1.2.3 GC-MS 分析条件 色谱条件:采用安捷伦 7890A-5975C 气相色谱-质谱仪,TR-5MS 石英弹性毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序:柱起始温度 40 ℃,保持 3 min,以 3 ℃/min 升温至 170 ℃,再以 15 ℃/min 升温至 300 ℃,载气 He (≥99.999%),流量 1 mL/min,分流进样,分流比 20:1,进样口温度 220 ℃,接口温度 230 ℃;溶剂延迟 3 min^[5-7]。

质谱条件:电离方式 EI,离子源温度 280 ℃,电离能 70 eV,倍增电压 400 V,扫描质量范围 40~650 amu,溶剂延迟 3 min^[5-7]。

1.2.4 样品测定 通过 HP MSD 化学工作站的标准质谱图库 DATABASE/NIST2005 进行检索,并结合有关质谱图文献解析,确认样品中的挥发性物质成分^[5-7];同时利用工作站的数据处理系统,按照峰面积归一化法进行计算,求出各挥发性物质成分的相对百分含量。

2 结果与分析

通过 GC-MS 联用技术对 4 种樟属木材的挥发性化学组分进行分析,4 种木材木质部的总离子色谱质谱见图 1;通过检索比对得到的挥发性化学成分及含量见表 1。

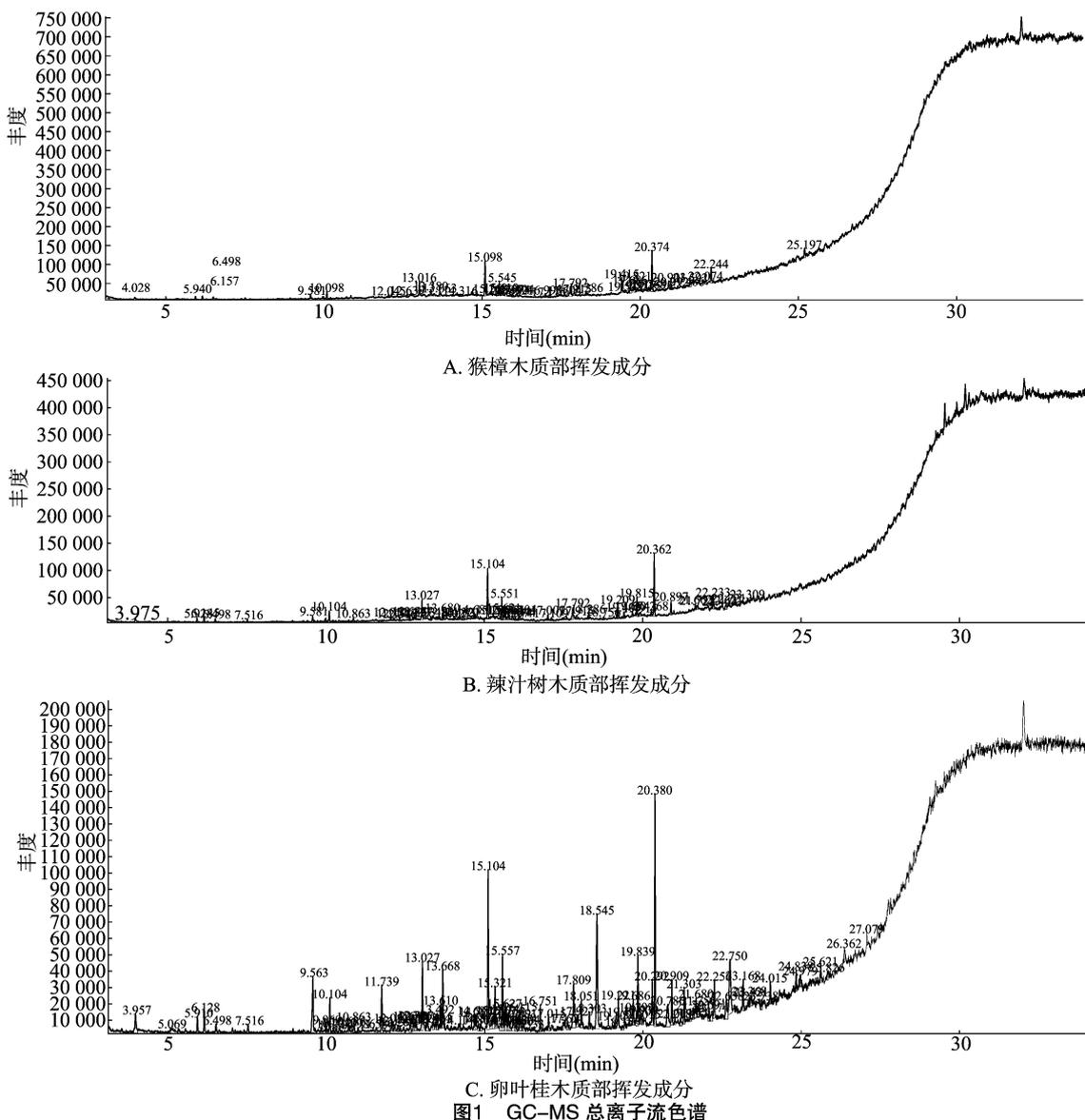


图1 GC-MS 总离子流色谱

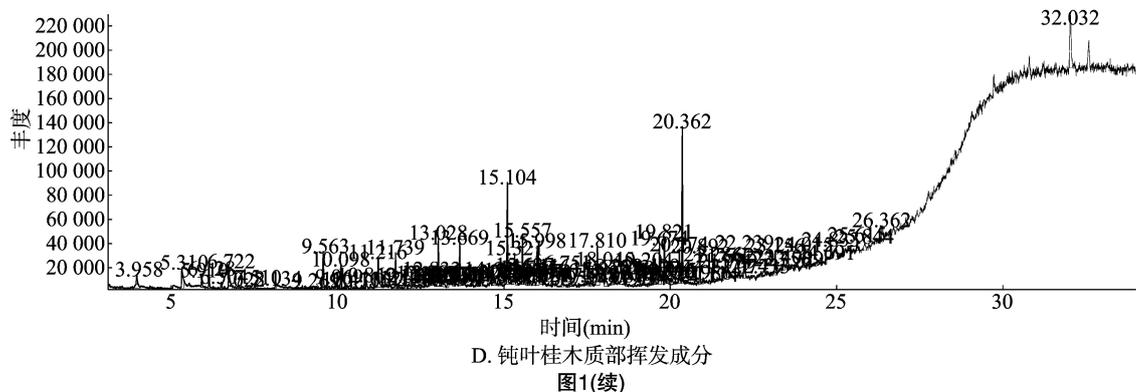


表1 4种樟属木材挥发油化学成分

序号	保留时间 (min)	化合物	相对百分含量(%)			
			猴樟 <i>C. bodinieri</i>	辣汁树 <i>C. tsangii</i>	卵叶桂 <i>C. rigidissimum</i>	钝叶桂 <i>C. bejloghota</i>
1	4.488 1	3,6-二甲基癸烷	0.672 9	—	—	—
2	4.904 3	正十二烷	—	0.717 8	—	—
3	4.945 4	2,6-二甲基-十一烷	—	0.579 4	—	—
4	4.969 8	桉树脑	0.499 7	—	—	—
5	5.457 2	2,6,11-三甲基-十二烷	0.378 4	3.097 9	2.654 5	3.153 7
6	5.774 9	左旋樟脑	1.518 3	1.367 3	1.476 3	2.086 6
7	5.833	1-碘代十三烷	0.891 8	—	—	—
8	5.869	安息香酸	—	—	5.908 1	—
9	5.939 5	2,6,10,15-四甲基十七烷	—	—	—	0.926 3
10	6.057 1	1,3-二叔丁基苯	1.203 4	2.9583	2.652 2	3.193 7
11	6.158 3	松油醇	0.754 4	—	—	—
12	6.421 8	甘菊环	—	—	—	4.239 3
13	6.704 1	10-甲基-十九烷	—	0.854 1	—	—
14	6.774 7	正十四烷	0.559 8	2.006 8	1.921 2	2.148 9
15	6.865 1	黄樟素	6.789 1	—	—	—
16	7.098 2	正十五烷	—	0.667 9	—	—
17	7.192 4	2,6,10,15-四甲基-十七烷	—	0.649 2	—	—
18	7.221 8	正十九烷	—	0.520 4	—	—
19	7.351 1	正二十七烷	—	4.066 8	—	—
20	7.357 1	1-碘代十二烷	—	—	3.470 8	—
21	7.459 4	三癸基环氧乙烷	0.490 5	—	—	—
22	7.515 7	4-丙基苯酚	1.002 3	—	—	—
23	7.715 9	正十八烷	1.358 6	1.436 1	—	—
24	7.786 5	2-丙基-十四烷-亚硫酸酯	—	—	1.233 1	4.029 5
25	7.792 3	正二十七烷	—	—	—	1.501 2
26	7.872 3	棕榈醛	2.686 3	—	—	—
27	8.034 9	1,3-benzodioxole,4-methoxy-6-(2-propenyl)-	0.772 6	—	—	—
28	8.260 1	蒎烷	0.840 2	—	—	—
29	8.327 6	β -古巴烯	—	—	—	0.333 8
30	8.353 9	(E)-2,6-dimethoxy-4-(prop-1-en-1-yl)phenol	0.278 5	—	—	—
31	8.422 7	肉豆蔻酸	0.620 9	—	—	—
32	8.433 4	β -甜没药烯	—	—	—	0.264 7
33	8.498 1	正十六烷	0.904 8	2.499 7	2.421 3	2.667 3

表 1 (续)

序号	保留时间 (min)	化合物	相对百分含量(%)			
			猴樟 <i>C. bodinieri</i>	辣汁树 <i>C. tsangii</i>	卵叶桂 <i>C. rigidissimum</i>	钝叶桂 <i>C. bejolghota</i>
34	8.501 5	二十四烷	0.901 4	—	—	—
35	8.560 3	1,3,5 - 三羟基苯	0.524 8	—	—	—
36	8.629 1	顺 - 9 - 十六烷烯醛	0.550 9	—	—	—
37	8.768 7	2,4 - 二叔丁基苯酚	1.802 9	3.589 3	2.941 5	3.312 8
38	8.785 5	十五酸	0.580 8	—	—	—
39	8.921 6	香草醛	—	2.224 5	—	0.740 7
40	8.948 2	3 - (1,3 - 苯并二氧杂环戊烯 - 5 - 基) - 2 - 丙烯醛	1.776 9	—	—	—
41	9.056 9	正二十一烷	—	2.280 5	—	0.973 2
42	9.057 1	正二十六烷	—	—	1.901 4	—
43	9.062 8	9 - 辛基十七烷	—	—	—	1.976 7
44	9.135 8	正十六碳酸	1.417 4	—	—	—
45	9.179 6	正十七烷	1.742 9	—	—	—
46	9.215 7	邻苯二甲酸二甲酯	—	—	—	0.561 8
47	9.423 6	邻苯二甲酸二异丁酯	0.570 6	—	—	—
48	9.439 2	2 - 甲基 - 二十八烷	—	1.353 3	—	—
49	9.580 4	肉豆蔻醚	—	0.347 9	—	—
50	9.592 4	邻苯二甲酸丁基酯 2 - 乙基己基酯	0.624 3	—	—	—
51	9.755 1	(<i>E</i>) - 5 - 十八烯	3.445 6	—	—	—
52	9.830 1	1 - 氯 - 二十碳烷	1.751 0	—	—	—
53	10.586 2	正二十八烷	—	1.545 6	2.034 8	2.026 0
54	10.668 6	正三十烷	—	0.582 8	—	—
55	10.670 2	1,54 - 二溴 - 五十四烷	—	—	—	0.475 6
56	10.786 2	正三十一烷	—	—	—	0.478 6
57	11.156 8	1 - 羟基环己基苯基甲酮	1.760 3	8.529 0	5.062 9	7.769 2
58	11.268 5	丁香醛	—	1.270 4	—	—
59	11.745 1	苯甲酸苄酯	—	—	14.075 2	12.978 8
60	12.715 6	邻苯二甲酸二丁酯	—	8.969 9	4.762 3	7.583 0
61	15.827 1	邻苯二甲酸二(2 - 乙基己基)酯	—	1.234 5	—	—
62	16.435 7	萆澄茄内脂	1.187 9	—	—	—

由表 1 可知,猴樟木质部样品中共分离出 40 个组分,解析出挥发油中的 32 种成分,占挥发油总量的 40.860 2%。其中,主要成分(>1%)有黄樟素(6.789 1%)、(*E*) - 5 - 十八烯(3.445 6%)、棕榈醛(2.686 3%)、2,4 - 二叔丁基苯酚(1.802 9%)、3 - (1,3 - 苯并二氧杂环戊烯 - 5 - 基) - 2 - 丙烯醛(1.776 9%)、1 - 羟基环己基苯基甲酮(1.760 3%)、1 - 氯 - 二十碳烷(1.751 0%)、正十七烷(1.742 9%)、左旋樟脑(1.518 3%)、正十六碳酸(1.417 4%)、正十八烷(1.358 6%)、1,3 - 二叔丁基苯(1.203 4%)、萆澄茄内脂(1.187 9%)、4 - 丙基苯酚(1.002 3%)等。

辣汁树木质部样品中共分离出 36 个组分,解析

出挥发油中的 24 种成分,占挥发油总量的 52.349 4%。其中,主要成分(>1%)有邻苯二甲酸二丁酯(8.969 9%)、1 - 羟基环己基苯基甲酮(8.529 0%)、正二十七烷(4.066 8%)、2,4 - 二叔丁基苯酚(3.589 3%)、2,6,11 - 三甲基 - 十二烷(3.097 9%)、1,3 - 二叔丁基苯(2.958 3%)、正十六烷(2.499 7%)、正二十一烷(2.280 5%)、香草醛(2.224 5%)、正十四烷(2.006 8%)、正二十八烷(1.545 6%)、正十八烷(1.436 1%)、2 - 甲基 - 二十八烷(1.353 3%)、左旋樟脑(1.367 3%)、丁香醛(1.270 4%)、邻苯二甲酸二(2 - 乙基己基)酯(1.234 5%)、4 - 丙基苯酚(1.002 3%)等。

卵叶桂木质部样品中共分离出 22 个组分,解析

出挥发油中的14种成分,占挥发油总量的52.5156%。其中,主要成分(>1%)有苯甲酸苄酯(14.0752%)、1-羟基环己基苯基甲酮(5.0629%)、安息香酸(5.9081%)、邻苯二甲酸二丁酯(4.7623%)、1-碘代十二烷(3.4708%)、2,4-二叔丁基苯酚(2.9415%)、2,6,11-三甲基-十二烷(2.6545%)、1,3-二叔丁基苯(2.6522%)、正十六烷(2.4213%)、正二十八烷(2.0348%)、正十四烷(1.9212%)、正二十六烷(1.9014%)、左旋樟脑(1.4763%)、2-丙基-十四烷-亚硫酸酯(1.2331%)等。

钝叶桂木质部样品中共分离出32个组分,解析出挥发油中的22种成分,占挥发油总量的63.4214%。其中,主要成分(>1%)有苯甲酸苄酯(12.9788%)、1-羟基环己基苯基甲酮(7.7692%)、邻苯二甲酸二丁酯(7.5830%)、甘菊环(4.2393%)、2-丙基-十四烷-亚硫酸酯(4.0295%)、2,4-二叔丁基苯酚(3.3128%)、1,3-二叔丁基苯(3.1937%)、2,6,11-三甲基-十二烷(3.1537%)、正十六烷(2.6673%)、正十四烷(2.1489%)、左旋樟脑(2.0866%)、正二十八烷(2.0260%)、9-辛基十七烷(1.9767%)、正二十七烷(1.5012%)等。

3 讨论与结论

木材作为物证第1次应用于法庭科学是发生于1932年曾轰动一时的“林德伯格(Lindbergh)幼子被绑架杀害案”^[8],这也是首次将植物物证作为证据提供给法庭,开创了植物物证作证的新纪元。木材是在林木盗伐、非法走私、入室盗窃甚至故意伤害等案件中都会遇到的一类植物物证。木材作为法庭物证,其种属来源的鉴别是最大需求。种属来源无法确定,涉及相关案件就无法定性量刑,市场上就会出现以次充好、以假乱真的现象,对执法部门、消费者协会以及木材行业都是一大困扰。

樟科植物中不乏许多优良材用树种,因此也是经常涉案的一类木材。但樟科木材依然面临无法鉴定到种的困境。近年来,为了解决樟科亲缘关系较近、解剖构造相似的木材之间的种属鉴别问题,不少学者开始尝试将分子、化学等技术手段与传统的木材构造识别相结合,以突破传统鉴定方法的局限。其中FTIR与GC-MS是应用最广的化学辅助鉴别方法^[9-12]。如Xu等利用GC-MS技术对楠木

和润楠的木材进行分析,得出二者的总离子色谱存在明显差异,为这2种解剖构造相似的木材种间鉴别提供了新的思路^[13];陈云霞等通过GC-MS对楠木和香樟木材中的挥发油成分进行分析比对发现,两者之间挥发油成分相似度较高,但通过其主要成分的差异依然可以对香樟和楠木进行鉴别^[6];王天石等利用GC-MS技术建立桢楠指纹图谱,研究发现不同产地桢楠木材挥发性成分基本相同,但桢楠与同属其他几种木材具有一定差异^[14]。但大多数研究都集中在樟科楠属木材,而樟科樟属木材却涉及很少。

本研究采用温浴及超声辅助双液相萃取技术,结合气相色谱-质谱(GC-MS)联用法对猴樟、辣汁树、卵叶桂、钝叶桂4种樟属木材中的挥发性化学组分进行分析,结果表明:(1)4种樟属木材均含有2,6,11-三甲基-十二烷、左旋樟脑、1,3-二叔丁基苯、2,4-二叔丁基苯酚、正十六烷、正十四烷、1-羟基环己基苯基甲酮等主要挥发油成分,具有一定相似性;(2)4种樟属木材之间挥发油组分具有一定差异;(3)黄樟素、棕榈醛是猴樟区别于其他3种樟属木材的特有标记物,同时猴樟不具有其他3种樟属木材含有的邻苯二甲酸二丁酯成分;(4)辣汁树具有其他3种樟属木材不具备的丁香醛;(5)卵叶桂含有特有的安息香酸与1-碘代十二烷;(6)钝叶桂含有特有的甘菊环,可作为其区别于其他3种樟属木材的特征标记物。由此可见,本研究中的4种樟属木材可以通过其木质部挥发油成分的GC-MS分析进行种间鉴别。但由于木材试样有限,且并未考虑产地、树龄、部位等样本间的差异,该研究结果还须进一步验证。

参考文献:

- [1]刘玉香. 樟科主要属种核型研究及其亲缘关系的ISSR分析[D]. 南昌:江西农业大学,2013.
- [2]陈云霞,南程慧,薛晓明. 楠木种属及其近缘属叶绿体*matK*基因序列的鉴定[J]. 贵州农业科学,2014,42(2):27-31.
- [3]王英,骆嘉言,钟文翰,等. 3种楠木DNA提取及其ISSR标记鉴别[J]. 四川农业大学学报,2016,34(4):450-455,477.
- [4]陈柏旭. 基于DNA条形码技术的楠属与润楠属木材识别研究[D]. 南宁:广西大学,2016.
- [5]李权,王晓娟,林金国,等. 香樟木质部挥发性成分的SPME-GC/MS分析[J]. 质谱学报,2014,35(6):555-562.
- [6]陈云霞,史洪飞,宋小娇,等. 樟木与楠木木材挥发油成分的比较与分析[J]. 四川农业大学学报,2016,34(3):312-316.
- [7]陈云霞,史洪飞. 基于GC-MS红脉钓樟与狭叶山胡椒木质部挥发油成分分析[J]. 绵阳师范学院学报,2018,37(8):19-23.

张志,高畅,付玲玲. 基于星点设计法优化马齿苋多糖的提取工艺[J]. 江苏农业科学,2020,48(8):207-212.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.08.039

基于星点设计法优化马齿苋多糖的提取工艺

张志,高畅,付玲玲

(吉林农业科技学院生物与制药工程学院,吉林吉林 132101)

摘要:旨在用星点设计-响应面法优化马齿苋多糖的提取工艺。采用超声辅助提取法提取马齿苋多糖,以多糖提取率为评价指标,通过提物温度、提取时间、料液比、提取次数等单因素结合星点设计法-响应面试验进一步优化提取工艺条件。结果表明,最佳提取工艺为提取温度 70 ℃、提取时间 43 min、料液比 1 g : 23 mL、超声功率 230 W,在该条件下,马齿苋多糖提取率的预测值为 6.419%,实测平均值为 6.524%。由结果可知,该方法模型的预测性良好,提取条件稳定,提取过程简便合理、可靠。

关键词:马齿苋;多糖;超声提取;响应面-星点设计;提取率

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)08-0207-06

马齿苋(*Portulaca oleracea* L.),别称马苋、五行草、长命菜等,属于一年生肉质类草本植物。《本草纲目》记载“其叶并比如马齿,而性滑利似苋,故名马齿苋”^[1]。马齿苋是被世界卫生组织提名的最有用处的药用植物之一,也是药食同源的野生植物之一^[2]。目前,市场上研发的主要是马齿苋食用产品,如功能饮料,此外还有含有马齿苋的化妆品等,而作为药品使用的马齿苋的利用率较低。马齿苋的活性成分主要有多糖、黄酮、有机酸、生物碱等,目前对于马齿苋多糖的研究主要集中在药理活性方面,对马齿苋多糖的相关研究显示,其药理活性主要是降低血糖数值,也可以降低血脂,同时具有抗氧化、抗病毒等功效,具备很好的药用功能^[3-6]。

近年来,关于马齿苋多糖提取工艺的研究也陆续有不少报道,大多数采用传统的水提醇沉的提取方法,但是由于水的极性大,容易将马齿苋中溶于水的其他成分一起浸提出来,给后续的分离纯化增加了难度^[7]。因此,本试验采用星点响应面法优化马齿苋多糖的超声提取工艺,以期实现马齿苋多糖提取的新突破,从而为后续马齿苋多糖的药用价值开发奠定一定的物质基础。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

具有根、茎、叶的新鲜马齿苋全株采摘于花期前,采摘地点为吉林省吉林地区,经吉林农业科技学院鉴定确认。

1.2 试验试剂

D-葡萄糖(分析纯),天津市恒兴化学试剂制造有限公司;苯酚(分析纯),天津基准化学试剂有限公司;石油醚、丙酮、乙醚(分析纯),天津市致远化学试剂有限公司。

收稿日期:2019-04-01

基金项目:吉林农业科技学院青年基金(编号:吉农院合字[2018]第3004号)。

作者简介:张志(1981—),男,黑龙江哈尔滨人,硕士,讲师,主要从事药物有效成分提取及药物制剂研究。Tel:(0432)63509964; E-mail:zz004@163.com。

[8]林德伯格绑架案[J]. 陈俊强,译. 海外英语,2012(11):48-49.

[9]罗莎. 四种红木抽提物的 FTIR 与 GC-MS 指纹图谱鉴别研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2013.

[10]杨柳,方崇荣,于海霞,等. 顶空/气质联用鉴别交趾黄檀与微凹黄檀[J]. 中南林业科技大学学报,2013,33(12):151-156.

[11]朱涛. 基于 GC-MS 技术不同进样方式的红木识别研究及其指纹图谱构建[D]. 合肥:安徽农业大学,2013.

[12]薛晓明,谢春平,孙小苗,等. 樟和楠木的木材解剖结构特征和红外光谱比较研究[J]. 四川农业大学学报,2016,34(2):178-184.

[13]Xu B, Zhu T, Li J, et al. Identification of wood between *Phoebe zhennan* and *Machilus pingii* using the gas chromatography-mass spectrometry direct injection technique[J]. European Journal of Mass Spectrometry, 2013, 19(3): 187-193.

[14]王天石,时浩,陶相宇,等. 基于 GC-MS 技术的桢楠化学辅助鉴定[J]. 东北林业大学学报,2017,45(6):57-60.