

2 种方法收集 3 种豆科植物挥发物的成分分析

白泽珍¹, 杨美红¹, 赵祥²

(1. 山西农业大学化学生态研究所, 山西 太谷 030801; 2. 山西农业大学草业学院, 山西 太谷 030801)

摘要:采用活体植物动态顶空吸附法(DHA)和固相微萃取法(SPME)收集扁蓿豆(*Medicago ruthenica*)、黑豆(black soybean)和野大豆(*Glycine soja*)3种豆科植物气味挥发物,利用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对3种植物挥发物的主要成分进行分析鉴定,探究了不同收集方法对豆科植物挥发物组分分析的影响。结果表明:3种植物通过2种方法收集到7类化合物:醇、醛、酸、酯、酮、萜和烃类,动态顶空法收集到的挥发物组分与固相微萃取收集到的组分不同。挥发物扁蓿豆动态顶空法收集到33种,固相微萃取法收集到24种;黑豆和野大豆动态顶空法收集到18种和16种,固相微萃取法收集到24种和22种。2种收集方法检测出扁蓿豆中有6种相同化合物,黑豆和野大豆中的相同化合物分别为3种和4种;其中,4-乙基苯甲醛和乙酸叶醇酯是3种豆科植物的共有化合物。动态顶空吸附法收集的挥发物以酯类为主,固相微萃取法收集挥发物以醇类为主。动态顶空吸附法可反映植物近自然状态,因此建议使用该法收集活体植物挥发物。该研究结果可初步确定豆科植物挥发性成分,为进一步筛选豆科植物中对昆虫具有引诱活性的挥发物提供参考。

关键词:动态顶空吸附法;固相微萃取法;扁蓿豆;黑豆;野大豆

中图分类号:S565.1;Q657.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2021)02-0084-08

DOI: 10.13817/j.cnki.cyycp.2021.02.012

植物挥发性物质是植物在不同的生长发育时期,由表面或器官内部贮存点散发出来的化学物质。它的相对分子量一般在100~200,沸点低于340℃,主要包括醇类、醛类、酮类、酯类、有机酸类、萜烯类和芳香族类化合物等,并以一定的比例组成不同植物种的化学指纹图^[1-3]。近年来,随着对植物挥发物研究的深入,人们发现它们在生态系统中的作用越来越突出,已经引起了极大的关注^[4-5],例如研究证明植食性昆虫都可以通过感受植物挥发物来寻找和选择寄主植物,植

物则通过释放挥发物来干扰害虫定位和抵御昆虫取食^[6]。目前,国内外已报道了多种豆科植物的挥发性成分^[7-9],刘健等^[10]借助固相微萃取和气质联用技术,对健康、蚜虫为害和机械损伤的大豆(*Glycine max*)的挥发物进行了提取和组分分析,共检测出31种挥发性化学物质;李存满等^[11]采用水蒸气蒸馏法提取得到了紫花苜蓿(*Medicago sativa*)挥发油的43种挥发物,并找到5种主要化学成分;郭淑政等^[12]采用炭阱吸附装置对利马豆(*Phaseolus lunatus*)的挥发物进行了收集,并采用内标法对其挥发性有机物进行了初步的定量。但目前尚未见对扁蓿豆(*Medicago ruthenica*)、黑豆(black soybean)、野大豆(*Glycine soja*)的挥发物成分及其相对含量的相关研究报道。因此,本研究以上述3种豆科植物为试材,采用目前最常用的动态顶空吸附法(dynamic headspace adsorption, DHA)和固相微萃取法(solid-phase microextraction, SPME),对这3种植物挥发物进行收集,并利用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技

收稿日期:2020-09-24; **修回日期:**2020-11-05

基金项目:山西省专利推广实施资助专项(20200728);山西省优秀人才创新项目(201805D211018);山西省重点研发计划项目(201903D211012)

作者简介:白泽珍(1995-),女,山西太原人,硕士研究生。

E-mail:18435203477@163.com

杨美红为通讯作者。

E-mail:zxymh123@163.com

术进行挥发物的鉴定,对比分析不同收集方法对相同植物挥发物种类和相对含量的影响,探索豆科植物挥发物的化学组成,进而筛选豆科植物中引诱昆虫的活性物质,为进一步开发豆科植物防治害虫的植物源引诱剂提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试植物

供试的扁蓊豆采自山西农业大学草业学院试验田,黑豆和野大豆采自山西农业大学农学院实验站。

1.2 仪器设备

试验所用仪器设备有大气采样仪(KDY-1.5A,盐城市科源电子仪器有限公司);吸附管(一端尖口的玻璃吸附管,外径 0.8 cm,内径 0.6 cm,长 14.7 cm);热风筒(BKL-4160,贝克洛 1600 W 数显);气体流量计(LZM-6T,广州永城机电设备);气相色谱-质谱联用仪(Thermo Scientific TRACE 1300-TRACE ISQ);全自动固相微萃取装置(85 μm 聚丙烯酸酯 PA 固相微萃取萃取头,美国 Supelco 公司);美国烤鸡袋(Oven Bags,482 mm $\times$ 596 mm);Porapak Q 80-100 目吸附剂(美国 Waters 公司);聚四氟乙烯管(50 mm $\times$ 80 mm);硅胶连接管(65 mm $\times$ 80 mm)。

1.3 挥发物的采集方法

1.3.1 动态顶空吸附法 于 2019 年 7 月 10—25 日,选择晴朗无风的天气,对扁蓊豆、黑豆和野大豆 3 种豆科植物根部以上茎叶进行挥发物采集。采样时间统一在 8:00~12:00,以避免环境日变化引起的干扰。每种植物都随机采集 3 次作为平行样,以采样袋内不套入植物做对照。

试验前首先对吸附剂和硅胶进行活化^[13],然后在试验大田中使用自制的动态循环吸附装置,按大气采样仪(出气口)→硅胶→活性炭→套袋植物→吸附管→气体流量计→大气采样仪(进气口)的顺序用无味的聚四氟乙烯管和硅胶连接管连成密闭系统^[14]。具体试验步骤为:(1)抽气:选取长势良好的植株用美国烤鸡袋罩住并绑紧,在短时间内使用大气采样仪将袋内空气抽出;(2)充气:经过硅胶和活性炭双重过滤的洁净空气充入袋中(大气采样仪泵入气体流量为 1 L/min),待收集袋中充满干净空气后,保持 30 min;(3)采气:在袋的另一端按装置连接顺序连接吸附管和大气采样仪(大气采样仪泵出气体流量为 500 mL/min),开始循

环采样。4 h 后拔出吸附管,使用 3 mL 色谱级正己烷洗脱至 2 mL 棕色进样瓶中(为减少样品成分的损失,洗脱时间控制在 2 min),氮气吹扫浓缩至 0.5 mL,密封保存于 4℃冰箱备用^[15]。

1.3.2 固相微萃取法 分别选择长势良好的 3 种植物采集株,蒸馏水冲洗干净后用大滤纸吸干水分并剪碎,分别称取各植物样品 2 g 放入 20 mL 顶空进样瓶中,然后置于 GC-MS 联用仪中进行分析,各植物均在相同条件下进行 3 次重复测定^[16]。

1.3.3 挥发物成分的鉴定 用 GC-MS 对上述收集到的植物挥发物进行分析和鉴定。GC 条件:毛细管柱为 TG-5MS(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm ,5% Phenyl Methylpolysiloxane);进样口温度 250℃;程序升温:开始温度 40℃保持 3 min,以 6℃/min 升温至 160℃保持 1 min,再以 20℃/min 的速率升至 250℃,保持 5 min。载气:高纯氮气,流速 1.0 mL/min;不分流进样,进样量为 1 μL 。MS 条件:传输线温度 280℃,四级杆温度 150℃,离子源温度 280℃,;电离方式为 EI;离子化能量 70 eV;数据获得通过全扫描,扫描范围 45~550 amu。化合物鉴定通过 NIST 2.0 质谱库自动检索分析组分的质谱数据,兼顾色谱保留时间并参考标准图谱对全部检索结果进行核对补充;定量分析采用峰面积归一化法确定各成分的相对含量。

单一组分百分含量(%)=(单一组分的峰面积/挥发物总面积) $\times$ 100%

1.4 数据分析

采用 Excel 2010 和统计软件 SPSS 20.0 进行分析,用单因素 ANOVA 检验,并用 Duncan 氏多重比较分析差异显著性,使用 Origin 8.5 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 3 种豆科植物挥发物成分及相对含量

利用 GC-MS 对 2 种方法(DHA 和 SPME 法)收集的扁蓊豆、黑豆、野大豆 3 种豆科植物挥发物成分进行分析,并获得相应的色谱图(图 1)。扣除本底空气杂质、乙醇及其他干扰成分。因动态顶空吸附法采用溶剂洗脱后液体进样,故扣除保留时间位于前 3 min 以溶剂为主的干扰成分。工作站数据处理系统对数据进行面积归一化法处理,确定 3 种植物挥发物的化合物成分及其相对百分含量。

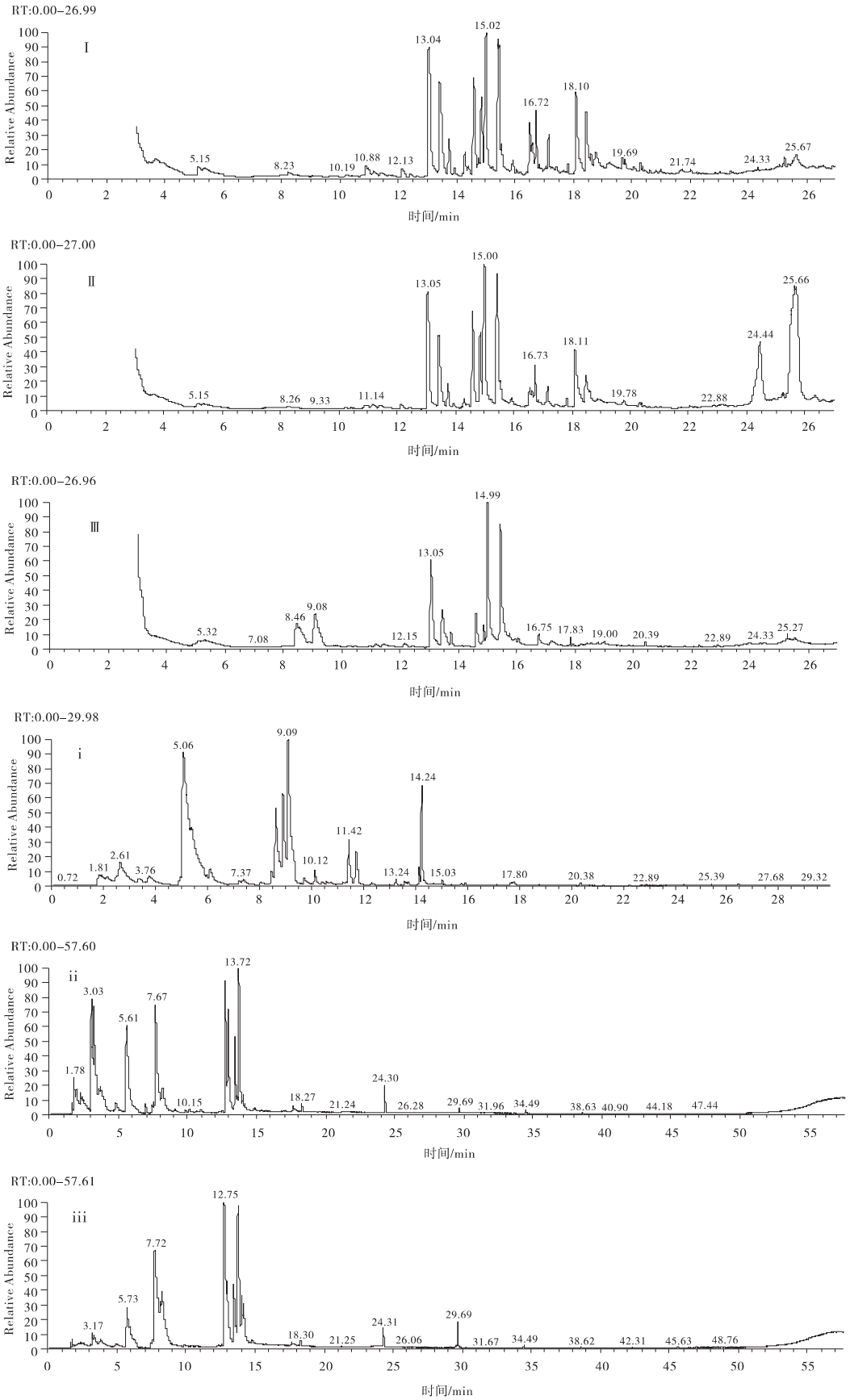


图 1 3 种豆科植物挥发物成分总离子流色谱

Fig. 1 TIC of VOCs from three legume species

注：I、i：扁蓿豆；II、ii：黑豆；III、iii：野大豆；I、II、III：动态顶空吸附法；i、ii、iii：固相微萃取法，下同

2.1.1 动态顶空吸附法(DHA)收集的挥发物成分分析 经 GC-MS 分析,DHA 法收集的 3 种豆科植物挥发物共有 45 种,其中,扁蓿豆 33 种,黑豆 18 种,野大豆 16 种(表 1)。扁蓿豆中主要成分为 3,4-二甲基苯乙酮(19.17%)、4-乙基苯甲醛(18.61%)、4-异丙基苯甲醇(9.55%)等;黑豆中主要成分为四十四烷(25.84%)、3,4-二甲基苯乙酮(22.14%)、4-乙基苯甲醛(13.96%)等;野大豆中主要成分为 3,4-二甲基苯乙酮(40.54%)、4-乙基苯甲醛(19.84%)、1-辛烯-3-醇(7.63%)等。DHA 法收集到 3 种豆科植物的 6 种共有组分为:4-乙基苯甲醛、乙酸叶醇酯、4-异丙基苯甲醇、3,4-二甲基苯乙酮、4-乙基苯丙酮和 1,4-二乙酰苯。

表 1 动态顶空吸附法收集的 3 种豆科植物挥发物成分及相对含量

Table 1 Volatile components and their relative contents from three legume species by DHA				
保留时间/min	化合物名称	相对含量/%		
		扁蓿豆	黑豆	野大豆
3.22	2,3-二甲基庚烷	0.18±0.23	—	—
3.24	环己烷	—	0.21±0.05 ^b	2.17±0.95 ^a
4.93	叶醇	0.75±0.05	—	—
5.15	乙苯	—	0.22±0.03	—
5.26	反-3-己烯醇	1.76±0.06	—	—
8.26	苯甲醛	0.20±0.09 ^a	0.13±0.07 ^{ab}	—
8.45	1-辛烯-3-醇	—	—	7.63±2.04
8.46	蘑菇醇	4.43±0.03	—	—
8.88	辛醇	—	—	0.21±0.11
9.35	4-乙基苯醇	3.71±0.14 ^a	0.81±0.04 ^b	—
9.86	(E)- β -罗勒烯	0.15±0.05	—	—
10.19	对二乙苯	0.31±0.02	—	—
10.22	4,6-癸二炔	0.18±0.06 ^{ab}	—	0.37±0.10 ^a
10.91	苯乙酮	0.72±0.02 ^a	0.29±0.05 ^b	—
11.14	3-乙基苯甲醛	0.37±0.04 ^b	0.62±0.05 ^a	—
11.16	反式-1-苯基-1-丁烯	—	—	0.59±0.05
11.43	4-烯丙基甲苯	0.49±0.06	—	—
13.05	4-乙基苯甲醛	18.61±0.35 ^a	13.96±1.63 ^b	19.84±0.22 ^a
13.74	2,5-二甲基苯乙酮	2.30±0.31 ^a	1.38±0.68 ^b	—
13.92	桂皮醛	0.52±0.03	—	—
13.94	反式肉桂醛	—	0.27±0.07	—
14.28	乙酸叶醇酯	7.42±0.42 ^a	0.37±0.17 ^c	6.21±0.20 ^b
14.74	间苯二甲醛	0.22±0.08	—	—
14.85	4-异丙基苯甲醇	9.55±0.66 ^a	10.65±1.16 ^a	6.29±0.76 ^b
15.03	3,4-二甲基苯乙酮	19.17±0.92 ^b	22.14±2.45 ^b	40.54±1.53 ^a
15.76	2-甲基萘	3.04±2.03	—	—
15.93	4-异丙基苯甲醛	—	1.06±0.06 ^a	0.44±0.10 ^b
16.73	4-乙基苯丙酮	3.22±0.55 ^a	3.34±0.72 ^a	2.43±0.45 ^a
17.15	正十六烷	0.17±0.01	—	—
17.23	联苯	0.54±0.08	—	—
17.47	1-乙基萘	0.37±0.02	—	—
17.92	2,6-二甲基萘	1.26±0.10 ^a	—	0.20±0.20 ^b
18.11	1,4-二乙酰苯	6.38±0.83 ^a	5.18±0.52 ^b	0.50±0.02 ^c

续表 1				
保留时间/min	化合物名称	相对含量/%		
		扁蓿豆	黑豆	野大豆
18.61	桔萜醛	0.18±0.07	—	—
18.78	氯代十六烷	—	—	0.14±0.03
18.93	α -法尼烯	0.30±0.21	—	—
19.97	三甲基萘	0.20±0.02	—	—
22.23	正十九烷	—	—	0.17±0.02
23.92	菲	0.42±0.09 ^a	—	0.23±0.06 ^b
24.44	二十八烷醇	—	7.10±0.33	—
25.06	邻苯二甲酸二丁酯	0.22±0.04	—	—
25.09	Paullinic 酸	—	0.41±0.25	—
25.66	四十四烷	—	25.84±3.01	—
26.14	正二十八烷	0.28±0.02	—	—
26.22	正二十七烷	1.04±0.46	—	—

注:—:未检测到;不同小写字母分别表示同行数据(同一化合物)不同植物挥发物相对含量比较差异显著($P<0.05$),下同

2.1.2 固相微萃取法收集的挥发物成分及相对含量 经 GC-MS 分析,SPME 法收集的 3 种豆科植物挥发物共有 44 种,其中,扁蓿豆 24 种,黑豆 24 种,野大豆 22 种(表 2)。扁蓿豆中主要成分为叶醇(22.77%)、乙酸叶醇酯(15.48%)、2-乙基己醇(14.60%)等;野大豆中主要成分为 1-辛烯-3-醇(21.28%)、乙酸叶醇酯(17.77%)、2-己烯醛(13.35%)等。SPME 法收集到 3 种豆科植物的 6 种共有组分,其在各植物中均有较高含量,分别为 1-辛烯-3-醇、3-辛酮、辛醇、芳樟醇、4-乙基苯甲醛和乙酸叶醇酯。

表 2 固相微萃取法收集的 3 种豆科植物挥发物成分及相对含量

Table 2 Volatile components and their relative contents from three legume species by SPME				
保留时间/min	化合物名称	相对含量/%		
		扁蓿豆	黑豆	野大豆
1.63	草酸	—	0.72±0.00 ^a	0.47±0.03 ^b
1.79	3-甲基-4-戊醇	—	—	0.62±0.06
1.95	4-庚炔-2-醇	—	1.39±0.01	—
2.46	trans-4-甲基环己醇	2.60±0.36	—	—
2.74	三羟甲基丙烷	—	—	0.40±0.04
2.94	3-戊酮	0.68±0.10 ^b	4.81±0.07 ^a	—
3.05	4-甲基-1-戊烯-3-醇	—	—	0.13±0.04
3.35	正辛烷	1.45±0.48	—	—
3.56	氨基异丁酸	—	—	0.45±0.12
3.57	1-戊烯-3-醇	—	10.00±0.23 ^a	1.61±0.05 ^b
3.74	叶醇	22.77±2.13	—	—
3.98	3-甲基-2-辛醇	—	1.73±0.04 ^a	0.77±0.02 ^b
4.47	2-己烯醛	—	11.31±0.12 ^b	13.35±0.13 ^a
4.79	顺-2-戊烯醇	—	0.93±0.06 ^a	0.64±0.03 ^b
5.26	反-3-己烯醇	0.13±0.04	—	—

续表 2				
保留 时间/min	化合物名称	相对含量/%		
		扁蓊豆	黑豆	野大豆
5.35	2,4-二甲基己烷	—	0.12±0.01	—
5.96	3-甲基-4-戊醇	0.22±0.02	—	—
6.10	正壬烷	1.53±0.11 ^a	0.32±0.14 ^b	-
6.58	2-甲基-4-戊醛	—	0.12±0.09 ^b	8.02±0.02 ^a
7.21	α-蒎烯	0.38±0.16	—	—
7.66	3-己烯-1-醇	—	12.38±0.43 ^a	1.47±0.04 ^b
8.21	叔丁基环己烷	—	1.9±0.14 ^b	3.48±0.03 ^a
8.46	1-辛烯-3-醇	1.28±0.12 ^b	0.15±0.02 ^c	21.28±0.07 ^a
8.61	3-辛酮	8.68±0.02 ^a	6.96±0.03 ^b	2.04±0.05 ^c
8.89	辛醇	8.76±0.04 ^a	6.67±0.03 ^c	8.09±0.03 ^b
9.71	2-乙基己醇	14.60±0.27	—	—
10.12	(E)-β-罗勒烯	1.50±0.27	—	—
10.15	2-戊炔-1-醇	—	0.38±0.09	—
10.41	3-羟基月桂酸	0.29±0.04	—	—
10.59	丙位己内酯	0.32±0.01	—	—
11.21	2,3-二甲基环己醇	0.11±0.03	—	—
11.43	芳樟醇	4.49±0.24 ^a	0.84±0.03 ^b	0.46±0.05 ^c
13.05	4-乙基苯甲醛	0.13±0.05 ^b	12.24±1.44 ^a	0.13±0.02 ^b
13.24	顺-3-己烯基丁酯	0.62±0.03	—	—
13.59	奥昔菊环	0.39±0.03 ^a	0.14±0.07 ^b	—
13.64	水杨酸甲酯	0.57±0.04	—	—
13.72	乙酸己酯	—	11.49±0.50 ^a	4.32±0.03 ^b
14.01	反式-2-己烯-醋酸盐	—	0.77±0.08 ^b	3.88±0.29 ^a
14.14	Z-3-甲基丁酸-3-己烯酯	1.57±0.04	—	—
14.28	乙酸叶醇酯	15.48±0.14 ^b	0.17±0.02 ^c	17.77±0.14 ^a
14.79	2-乙基己醇	—	—	0.40±0.04
14.83	4-乙基-1-辛炔-3-醇	—	0.33±0.04	—
15.35	罗勒烯	—	0.13±0.01	0.12±0.04
17.15	正十六烷	0.12±0.13	—	—

2.1.3 2 种方法收集的 3 种植物挥发物成分比较

用 2 种方法收集 3 种豆科植物挥发物,每种植物中均存在相同成分(表 3)。其中,2 种方法收集的扁蓊豆挥发物中包括 6 种相同成分;黑豆挥发物中包括 3 种相同成分;野大豆挥发物中包括 4 种相同成分。用 DHA 和 SPME 法收集的 3 种豆科植物挥发物中均检测到乙酸叶醇酯和 4-乙基苯甲醛这 2 种化合物。在 3 种植物中,采用 DHA 法收集的 4-乙基苯甲醛相对含量均高于 SPME 法的收集结果。

2.2 2 种方法收集的 3 种植物挥发物种类

在扁蓊豆中,2 种方法收集的挥发物主要包括醇类 12 种、醛类 6 种、酸类 1 种、酯类 5 种、酮类 6 种、萜类 3 种、烃类 17 种。其中,DHA 法收集的挥发物中酮类挥发物相对含量最高(25.41%),其次为醛类(20.10%)和醇类(19.20%);SPME 法收集的挥发物中醇类相对含量极高,占总相对含量的 54.96%,酯类次之(18.56%),酮类挥发物的相对含量(9.36%)约为酯类的 1/2。DHA 法收集的扁蓊豆挥发物中不存在任何酸类物质,SPME 法收集结果中有 1 种酸类化合物,且含量最少,仅占总相对含量的 0.29%。

在黑豆中,2 种方法收集的挥发物主要包括醇类 13 种、醛类 8 种、酸类 1 种、酯类 4 种、酮类 6 种、萜类 1 种、烃类 6 种。其中,DHA 法收集的黑豆挥发物中没有酸类和萜类物质,烃类相对含量最高(31.24%),其次为醛类(30.00%)和酮类(27.15%)。SPME 法的收集结果中相对含量较高的两类物质为醇类

表 3 2 种方法收集的扁蓊豆、黑豆和野大豆的共有成分						
Table 3 The common components of <i>M. ruthenica</i> L., Black soybean and <i>Glycine soja</i> Sieb. & Zucc. by two different methods						
化合物名称	相对含量/%					
	扁蓊豆		黑豆		野大豆	
	DHA	SPME	DHA	SPME	DHA	SPME
叶醇 Leaf alcohol	0.75±0.05	22.77±2.13	—	—	—	—
反-3-己烯醇	1.76±0.06	0.13±0.04	—	—	—	—
(E)-β-罗勒烯	0.15±0.05	1.50±0.27	—	—	—	—
4-乙基苯甲醛	18.61±0.35	0.13±0.05	13.96±1.63	12.24±1.44	19.84±0.22	0.13±0.02
乙酸叶醇酯	7.42±0.42	15.48±0.14	0.37±0.17	0.17±0.02	6.21±0.20	17.77±0.14
正十六烷	0.17±0.01	0.12±0.13	—	—	—	—
环己烷	—	—	0.21±0.05	0.12±0.01	—	—
1-辛烯-3-醇	—	—	—	—	7.63±2.04	21.28±0.07
辛醇 3-Octanol	—	—	—	—	0.21±0.11	8.09±0.03

(34.80%)和醛类(23.67%),其余 5 类物质相对含量较低。

在野大豆中,2 种方法收集的挥发物包括醇类 12 种、醛类 4 种、酸类 2 种、酯类 3 种、酮类 3 种、萜类 1 种、烃类 9 种。其中,DHA 法收集的野大豆挥发物中,酮类物质(42.97%)相对含量最高,醇类(20.34%)和醛类(20.28%)次之,该方法未收集到酸类和萜类成分。在 SPME 法收集结果中,野大豆醇类挥发物(35.47%)含量最高,其次为酯类(25.97%)和醛类(21.50%);酮类物质含量较少,仅占 2.04%。该方法收集到 2 种酸类(0.92%)和 1 种萜类(0.12%)化合物,但是含量均不足 1%。

综合分析,扁蓿豆挥发物的主要成分为酮类和醇类物质,黑豆挥发物的主要成分为醛类物质,野大豆挥发物以醇类和醛类为主要成分(图 2)。

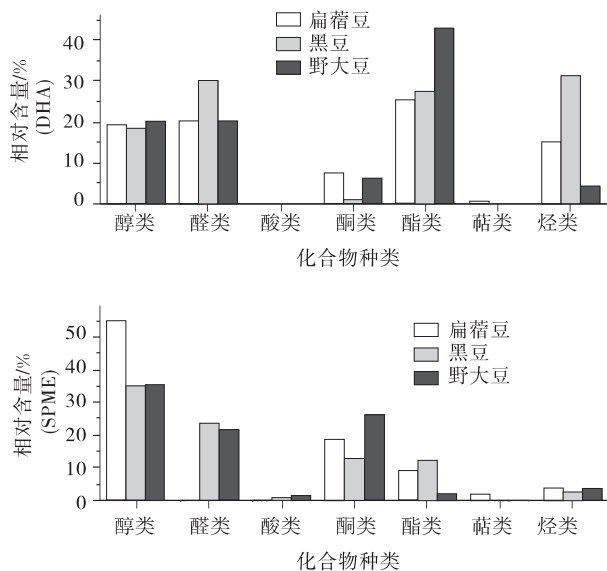


图 2 DHA 和 SPME 法收集 3 种豆科植物挥发物的相对含量

Fig. 2 Relative content of VOCs in three legume species by DHA and SPME

3 讨论

植物种类、年龄、生理状态、空间分布、季节、温度、湿度、光照,以及生物胁迫(昆虫、致病菌等)都可影响植物挥发物的组成^[17],且不同的挥发物收集方法也会影响试验结果。本研究通过动态顶空吸附法和固相微萃取法收集扁蓿豆、黑豆、野大豆 3 种豆科植物的挥发物成分,分别检测出扁蓿豆挥发物 51 种(DHA 法:33 种,SPME 法:24 种,有 6 种相同化合物);黑豆挥发物

39 种(DHA 法:18 种,SPME 法:24 种,有 3 种相同化合物);野大豆挥发物 34 种(DHA 法:16 种,SPME 法:24 种,有 4 种相同化合物)。其中,仅乙酸叶醇酯和 4-乙基苯甲醛为 3 种豆科植物的共有化合物,使用 2 种方法均可在 3 种豆科植物中检测到。张静静等^[16]采用固相微萃取法对豆科牧草紫花苜蓿不同部位进行挥发物收集,乙酸叶醇酯为其叶、茎、花三个部位挥发物中的一种共有化合物;4-乙基苯甲醛仅存在于紫花苜蓿叶片挥发物中,与本试验结果基本相符。王蕾等^[15]采用动态顶空吸附收集法对 5 种豆科植物挥发物进行收集,鉴定结果中均有乙酸叶醇酯的存在,与本试验结果一致。乙酸叶醇酯极可能为豆科植物中的一种特征组分,4-乙基苯甲醛是否为豆科植物的特征组分则有待进一步研究。

朱玉永^[7]通过动态顶空吸附法收集蚕豆健康和受蚜虫害植株的挥发性成分,鉴定出健康和虫害后的 22 种挥发物主要有醛类、醇类和酯类等化合物;张静静等^[16]采用固相微萃取法收集分析紫花苜蓿不同部位(茎、叶片、花)的挥发性成分,挥发物都以醇、酮、酯类化合物为主。本研究用这 2 种方法收集的 3 种豆科植物挥发物主要以醇类、醛类和酮类化合物为主,与二者的研究结果基本一致。本研究还发现,动态顶空吸附法收集的 3 种豆科植物挥发物以酮类为主,而固相微萃取法收集的酮类物质含量却相对较少,其挥发物主要为醇类物质。魏明等^[18]使用固相微萃取法萃取豇豆与菜豆的刺孔叶片,结果同样以醇类物质为主,这可能与固相微萃取法对不同挥发物的萃取能力及其萃取纤维头的性质有关,萃取纤维的极性和膜厚度决定了能够萃取到的挥发物的种类^[19],本试验中选用 85 μm 聚丙烯酸酯(PA)固相微萃取萃取头,极性较大,因此萃取结果以醇类为主。要想全面了解植物挥发物的种类、组成和比例,还需要用多种萃取头对目标植物进行分析。

植物挥发物的组成和含量的分析检测会受到植物的生长条件、收集手段及检测方法等多种因素的影响,其中不同的收集方法对不同挥发物的捕集效率不同,因而对检测结果影响较大^[20]。固相微萃取法几乎克服了以往传统样品处理技术的所有缺点,集采样、萃取、浓缩和进样于一体,不使用溶剂,避免了溶剂对样品的污染;但是不同的萃取头对所需平衡萃取时间、分析速度及分析结果存在差异^[21];且进样前对植物进行

剪切处理,机械损伤已然造成了植物挥发物成分的改变,并不能完全准确反映自然状态下的植物挥发物组分,且一次采样只能进行一次分析^[22-23]。动态顶空吸附法具备活体植株取样、操作便捷、对色谱柱的伤害较小等优点^[24],但是该法使用有机溶剂洗脱环节增加了样品污染的危险性,导致空白值增高,溶剂峰常常掩盖保留时间短的痕量组分形成干扰^[25]。为了更好地解析豆科植物挥发物成分并更准确地筛选对昆虫具有引诱作用的活性组分,还需结合多种采集方法,并进行昆虫对豆科寄主植物的电生理和生物行为试验,以确定昆虫识别豆科寄主植物的信号物质。

4 结论

采用2种动态顶空吸附法和固相微萃取法(目前广泛使用的收集方法)收集扁蓿豆、黑豆和野大豆3种豆科植物的挥发性成分,结合气质联用技术对其进行分析。结果发现,2种收集方法得到的组分有差异,但种类相似,初步确定3种豆科植物的挥发物主要以醇类、醛类和酮类为主,酸类和萜类化合物种类和相对含量极少;豆科植物重要特征组分为乙酸叶醇酯。动态顶空吸附法收集的挥发物以酯类为主,固相微萃取法的收集结果以醇类物质为主。动态顶空吸附法能够反映近自然状态下植物挥发物的变化情况,适宜收集活体植株挥发性成分。

参考文献:

- [1] 周琼,梁广文.植物挥发性物质在蚜虫寄主定位中的作用[J].昆虫知识,2001,38(5):334—336.
- [2] 赵冬香,高景林,陈宗懋.植食性昆虫对寄主植物的定向行为研究进展[J].热带农业科学,2004,24(2):62—68.
- [3] Visser J H. Host Odor perception in phytophagous insects[J]. Annual Review of Entomology, 1986, 31(1): 121—144.
- [4] Natalia Dudareva, Eran Pichersky, Jonathan Gershenzon. Biochemistry of plant volatiles[J]. Plant Physiology, 2004, 135(4): 1893—1902.
- [5] Ulland S, Ian E, Stranden M, et al. Plant volatiles activating specific olfactory receptor neurons of the cabbage moth *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera, Noctuidae). [J]. Chemical Senses, 2008, 33(6): 509—522.
- [6] 王倩倩.草地螟对不同寄主植物的选择特性研究[D].昆明:云南农业大学,2014.
- [7] 朱玉永.豌豆蚜与寄主互作关系的研究[D].石河子:石河子大学,2014.
- [8] Evans C A C, Johnson C M. Collection and partial characterization of volatile selenium compounds from *Medicago sativa* L[J]. Australian journal of biological sciences, 1967, 20(4): 737—748.
- [9] Ellner S P, McCauley E, Kendall B E, et al. Habitat structure and population persistence in an experimental community[J]. Nature, 2001, 412(6846): 538—43.
- [10] 刘健,马凤鸣,赵奎军.大豆植株挥发物成分定性分析[J].大豆科学,2009,28(4):719—722.
- [11] 刘照娟,何进,喻子牛.紫花苜蓿挥发性成分的气相色谱-质谱分析[J].化学与生物工程,2006,23(4):60—62.
- [12] 郭淑政,刘苏静,马宣宣,等.自制炭阱吸附装置与气相色谱-质谱联用测定植物的挥发性有机物[J].色谱,2010,28(7):716—719.
- [13] 陈旭鹏.榆木蠹蛾三种寄主树干挥发物分析及植源性引诱剂的筛选[D].晋中:山西农业大学,2016.
- [14] 杨莉.不同顶空分析法对植物挥发物测定的影响[D].北京:北京林业大学,2007.
- [15] 王蕾.草地螟对寄主植物选择性及生物活性物质鉴定[D].哈尔滨:东北农业大学,2012.
- [16] 张静静,白泽珍,李亚勇,等.紫花苜蓿不同部位的挥发性成分分析[J].草原与草坪,2019,39(6):11—18.
- [17] 杜永均,严福顺.植物挥发性次生物质在植食性昆虫、寄主植物和昆虫天敌关系中的作用机制[J].昆虫学报,1994,37(2):233—250.
- [18] 魏明,邓晓军,杜家伟.豇豆与菜豆挥发物中美洲斑潜蝇引诱成分的分析与鉴定[J].应用生态学报,2005,16(5):907—910.
- [19] 莫圣书,赵冬香,陈青.植物挥发物与昆虫行为关系研究进展[J].热带农业科学,2006,26(6):84—89+93.
- [20] Tholl D, Boland W, Hansel A, et al. Practical approaches to plant volatile analysis[J]. Plant Journal, 2006, 45(4): 540—560.
- [21] 丁嘉文,陈易彤,谢晓,等.四种不同方法提取沙枣花挥发物的成分分析[J].植物科学学报,2015,33(1):116—125.
- [22] 郑浩,杨长举,华红霞,等.与昆虫有关的植物挥发性次生物质的研究方法[J].昆虫知识,2002,39(1):9—13.
- [23] 赵冲林,许大年.采样管固相微萃取法分析空气中的微量毒剂及相关化合物[J].分析化学研究简报,2005,33(8):1164—1166.
- [24] Agelopoulos N G, Pickett J A. Headspace analysis in chemical ecology: Effects of different sampling methods

- on ratios of volatile compounds present in headspace samples[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1998, 24(7): 1161–1172.
- [25] 杨莉. 不同顶空分析法对植物挥发物测定的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2007.
- [26] 范培珍, 韩善捷, 韩宝瑜. 灰茶尺蠖为害诱导茶树释放的互利素的鉴定[J]. *中国生物防治学报*, 2020, 36(1): 65–71.
- [27] 孙启祥, 彭镇华, 张齐生. 自然状态下杉木木材挥发物成分及其对人体身心健康的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2004, 31(2): 158–163.

Comparison of two methods for the collection of volatiles from three legumes

BAI Ze-zhen¹, YANG Mei-hong¹, ZHAO Xiang²

(1. *Institute of Chemical Ecology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China*;

2. *College of Grassland science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China*)

Abstract: Volatiles from three legume species, *Medicago ruthenica*, black soybean and *Glycine soja*, were extracted by dynamic headspace extraction and solid-phase microextraction (SPME) to investigate the effects of extraction method on the volatile components. Gas chromatography-mass spectrometry was used to analyze and identify the main components of volatiles. The results showed that the volatile components (mainly alcohols, aldehydes, acids, esters, ketones, terpenes and hydrocarbons) extracted by dynamic headspace extraction were different from those by SPME. There were 33, 18 and 16 components of volatiles extracted by dynamic headspace extraction in *M. ruthenica*, black soybean and *Glycine soja*, respectively, while the corresponding values extracted by SPME were 24, 24 and 22. Some common chemicals were extracted using those two different methods, for example, six chemicals (including leaf alcohol, trans-hex-3-en-1-ol, (E)- β -ocimene, 4-ethylbenzaldehyde, cis-3-hexenyl acetate, hexadecane) in *M. ruthenica*; three chemicals (4-ethylbenzaldehyde, cis-3-hexenyl acetate and cyclohexane) in black soybean; and 4 chemicals (4-ethylbenzaldehyde, cis-3-hexenyl acetate, oct-1-en-3-ol and 3-octanol) in *Glycine soja*. The chemicals, cis-3-hexenyl acetate and 4-ethylpropionophenone were detected in all those three legume species. The main volatile components extracted by dynamic headspace analysis were esters, while the main components extracted by SPME were alcohols. As the dynamic headspace analysis could reflect the near-natural state of plants, it is recommended for the collection of volatiles from plants. This study identified the volatile components of three legume species, which could provide reference for further screening of volatile components in legumes that have attracting activity to insects.

Key words: VOCs; DHA; SPME; *Medicago ruthenica*; black soybean; *Glycine soja*