

吹扫-捕集-气质联用法分析测定侧柏挥发物

武晓颖¹, 许志春², 关 玲³, 金幼菊^{1,*}, 陈华君¹

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083;

2. 北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083; 3. 北京市林业保护站, 北京 100029)

摘要: 采用吹扫捕集-气质联用法分析了侧柏 (*Platycladus orientalis* L.) 韧皮部的挥发物, 并与常用的热脱附-气质联用法进行了比较。结果表明, 仅用 0.2 g 材料, 吹扫 5 min 即可得到较好的分离鉴定结果, 通过增加 2 min 反吹时间能明显降低空气峰和水峰的影响; 该方法测得的各组分与热脱附法测的组分种类相同, 均检测到 9 种单萜和 3 种倍半萜, 但各组分在相对含量上有差异。与热脱附法相比, 吹扫捕集法具有采样量少, 不受吸附剂干扰和不受穿透体积影响的特点, 有利于低沸点挥发物的测定, 适于针叶植物挥发物的快速检测。

关键词: 吹扫捕集-气质联用法; 热脱附-气质联用法; 侧柏韧皮部; 挥发物

文章编号: 1000-0933(2009)10-5708-05 中图分类号: S718.5 文献标识码: A

Determination of volatiles in *Platycladus orientalis* L. phloem by a purge and trap injector -GC/MS

WU Xiao-Ying¹, XU Zhi-Chun², GUAN Ling³, JIN You-Ju^{1,*}, CHEN Hua-Jun¹

1 College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

2 The Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

3 Beijing Forestry Protection Center, Beijing 100029, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(10): 5708 ~ 5712.

Abstract: A purge & trap injector (PTI)-GC/MS was used to detect volatiles in *Platycladus orientalis* L. phloem. Data were compared with the thermo-desorption & cold trap (TCT)-GC/MS method. Results showed that sample quantity of 0.2 g and purge time of 5 minutes were adequate for separation and identification, and that backflash time of 2 minutes was sufficient for effectively removing the water vapor from the air and deicing the trap. Nine monoterpenes and three sesquiterpenes were identified by using both methods. Compared with TCT-GC/MS, PTI-GC/MS has the advantages of less quantity of samples required, no interference by absorbent, no thermal decomposition, and more sensitive to the monoterpenes, making it effective for rapid and accurate determination of conifer volatiles.

Key Words: PTI-GC/MS; TCT-GC/MS; *Platycladus orientalis* L. phloem; volatiles

近年来常用植物挥发物的分析鉴定方法有动态顶空吸附-热脱附-气质联用法 (TCT-GC/MS)^[1] 和固相微萃取-气质联用法 (SPME-GC/MS)^[2], 但是二者均有采样系统仪器成本较高的缺点。TCT-GC/MS 法还受到不同种类 (或特性) 吸附剂的限制而影响挥发物的采集效果。目前还很难找到一种理想的吸附剂用于采集所有极性范围的挥发性有机化合物^[3]。

吹扫捕集-气质联用法 (PTI-GC/MS) 能从液体或固体样品中提取沸点低于 200℃, 溶解度小于 2% 的挥发性和半挥发性有机物, 已广泛用于空气^[4,5]、水^[6,7]、土壤^[8] 和食品^[9] 中挥发性有机物的检测, 在食品卫生和环

基金项目: 北京市科委资助项目 (D0705002040391); 长江学者和创新团队发展计划资助项目 (IRT0607)

收稿日期: 2008-11-10; 修订日期: 2008-12-30

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: youjujin@163.com

境监测方面发挥了重要的作用。目前将该技术直接应用于检测林业类植物挥发物的报道尚不多见,方法也还不够成熟。何洪巨等人^[10]利用吹扫捕集法测定了6种十字花科蔬菜的挥发性物质,鉴定出了五大类共86种挥发物质;丁翔等人^[11]利用甲醇萃取/吹扫捕集/气质法测定了植物叶片中单萜烯的含量。虽然获得良好的结果,但由于使用甲醇浸提样品,既增加了操作的复杂性,又可能使某些有效成分遭到破坏而丢失,同时还容易对环境造成污染。

本文采用吹扫捕集-气质联用法分析了针叶植物侧柏(*Platycladus orientalis* L.) 韧皮部的挥发物,并通过分析不同吹扫时间、不同样品量和反吹与否对测定结果的影响对分析方法进行了优化,同时与目前常用的热脱附-GC/MS 法比较了分析结果。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

侧柏:北京林业大学校内生长健康的侧柏,取材部位为侧柏树干韧皮部。

PTI/TCT-GC/MS 联用仪:CP-4010 PTI/4020 TCT(Chrompack 公司)、TraceTM 2000 GC(CE Instrument 公司);Voyager MS(Finnigan, Thermo-Quest)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品的采集

a. 吹扫捕集法:先用剪刀刮去侧柏树干外层的老熟粗皮,露出白色韧皮部后,迅速用刀片刮取下韧皮部并称重,然后将其剪碎为0.5cm 长短的碎片,迅速放到样品瓶中,连接到仪器进行分析测定。

b. 动态顶空吸附法:采用动态顶空套袋法^[1],用装有吸附剂 Tenax-TA 的吸附管采集5g 侧柏韧皮部挥发物,采样15min,结束后立即分析测定。

1.2.2 仪器的操作条件

PTI-GC/MS 的操作条件:通过 PTI/TCT 控制面板设定预冷时间为2min,温度为-100℃,此时将样品瓶连接到 PTI 装置的 sample 处,反吹2min 后,用氦气作为吹扫气体吹扫,样品瓶中的挥发物被氦气带到-100℃的冷阱中富集;吹扫时间因材料不同和样品量不同而异。吹扫结束后,冷阱快速升温至250℃(进样1min),使被捕集物再次气化并被载气带至 GC-MS 进行分析鉴定。程序升温:始温40℃,保持3min,以15℃/min 速率升温至280℃,保持10min。不分流进样。载气恒压20kPa。

TCT-GC/MS 的操作条件:通过 PTI/TCT 控制面板设定3min 预冷(冷阱温度-100℃),10min 脱附(脱附温度250℃),1min 进样(进样口温度250℃)。程序升温:始温40℃,保持3min,以6℃/min 速率升温至250℃,保持3min;柱后升温至270℃,保持5min。不分流进样。载气恒压20kPa。

1.2.3 GC/MS 分析条件

GC 条件:色谱柱 DB-5 Low Bleed MS 柱(60m×0.32mm×0.25μm);

MS 条件:质谱检测器采用全扫描(full scan)方式,EI 源,电子能量70 eV,质量范围为15~435u,扫描速率0.4s/次,接口温度250℃,离子源温200℃,灯丝电流150μA,检测器电压300V。

挥发物定性:采用数据系统软件:Xcalibur(FINNIGAN),检索谱图库:NIST98。采用谱图库检索和 GC 保留指数兼顾(与标样保留时间对照)的方法。

挥发物定量:采用峰面积归一化法确定各成分相对含量。

用 LSD 多重比较法统计分析 PTI-GC/MS 和 TCT-GC/MS 两种方法检测的挥发物的差异。

2 结果与分析

2.1 材料用量对侧柏萜烯类挥发物的影响

分别取0.2g,0.4g,1g 侧柏韧皮部样品进行 PTI-GC/MS 法分析,所得各组分相对百分含量如图1所示。结果表明,当样品量为0.2g 时,样品中各组分的相对百分含量与其他两组较多样品量时基本一致,因此采用较少材料用量即可分析该样品的成分。

2.2 吹扫时间对侧柏韧皮部单萜类挥发物的影响

为了确定不同吹扫时间对侧柏挥发物捕集和鉴定的影响,分别设定吹扫3min,吹扫5min 和吹扫10min 的条件来分析相同重量(0.2g)材料挥发物的变化。总离子流图(图2)表明:吹扫10min 时挥发物的信号太强,各组间分离不好,无法鉴定;吹扫5min 时各挥发物组分分离好、信号适宜,能正常进行分离鉴定,且主要组分(9种单萜)均能检测到。吹扫3min 时与5min 时图形效果基本相同,但是苧烯、3-萜烯、柠檬烯3种组分没有检测到,有报道表明3-萜烯与柠檬烯在昆虫对植物的趋性行为反应中,起着很重要的作用^[12]。为了避免有效成分的丢失,在测定侧柏萜烯类挥发物时选用5min 的吹扫时间。

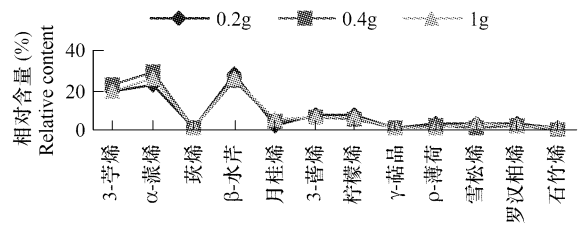


图1 PTI-GC/MS 法分析不同重量侧柏韧皮部挥发物含量
Fig. 1 The comparison of relative content of different weights *Platycladus orientalis* L. phloem by PTI-GC/MS

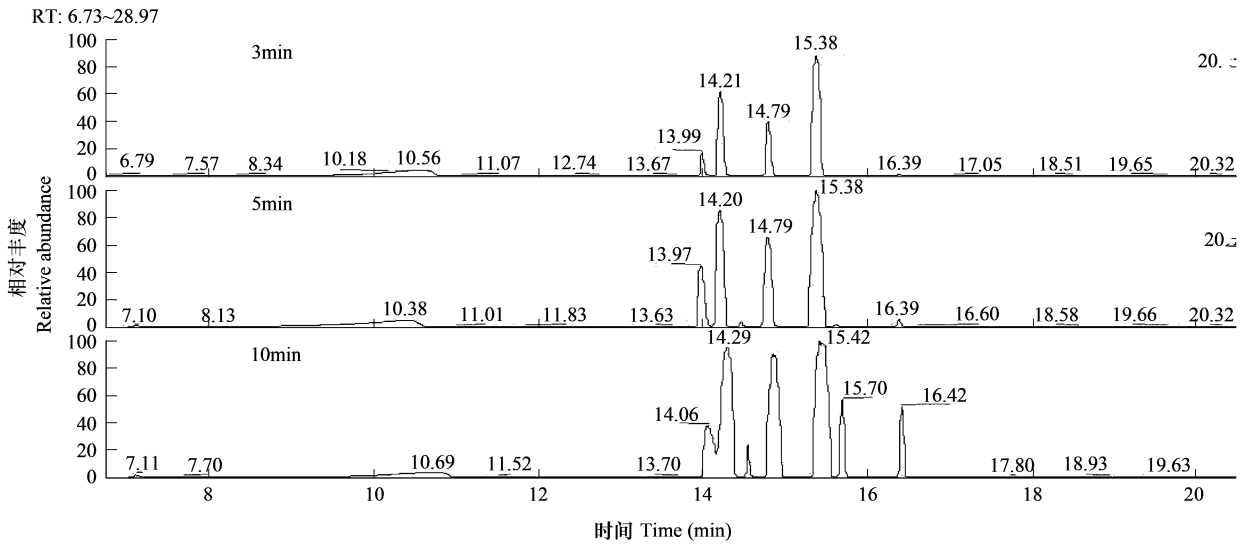


图2 不同吹扫时间下的侧柏韧皮部单萜类挥发物的总离子流图
Fig. 2 TIC of monoterpenes volatiles from *Platycladus orientalis* L. phloem under different purge times

2.3 吹扫前增加反吹对捕集侧柏韧皮部挥发物的影响

由于样品须装入一定体积的样品瓶中才能进行吹扫,因此每次拆卸样品瓶时瓶内不可避免地会进入一定体积的空气,而空气中的水汽被吹扫进入冷阱(10cm × 0.5mm 的一段 DB-5 毛细管柱)时会在 -100℃ 下结冰,从而堵塞冷阱,造成随后的挥发物无法继续被捕集,从而大大降低了结果的可靠性和灵敏度。为了避免这种现象,本实验在吹扫样品前增加了2min 的反吹时间。结果证明,反吹可以明显降低样品总离子流图中空气峰和水峰的强度,提高分析灵敏度。

2.4 侧柏韧皮部的 PTI-GC/MS 与 TCT-GC/MS 分析结果比较

用 PTI-GC/MS 和 TCT-GC/MS 分析侧柏韧皮部挥发物的总离子流图(图3)结果显示,两种方法均能检测到9种单萜烯和3种倍半萜烯,但各组分的相对含量有所不同(表1)。统计分析结果表明,用 PTI-GC/MS 法测得的单萜 β-水芹烯、月桂烯和柠檬烯的相对含量显著高于 TCT-GC/MS 法,然而3种倍半萜烯(雪松烯、罗汉柏烯和石竹烯)的相对含量均显著低于后者,其余组分则无显著差异。

3 结论与讨论

本研究采用吹扫捕集法分析了侧柏植物韧皮部的挥发物。通过改变吹扫时间、材料用量以及增加反吹等条件,优化了该技术在针叶类植物挥发物研究中的分析条件。由于针叶类植物释放的气味物质浓度较大,样

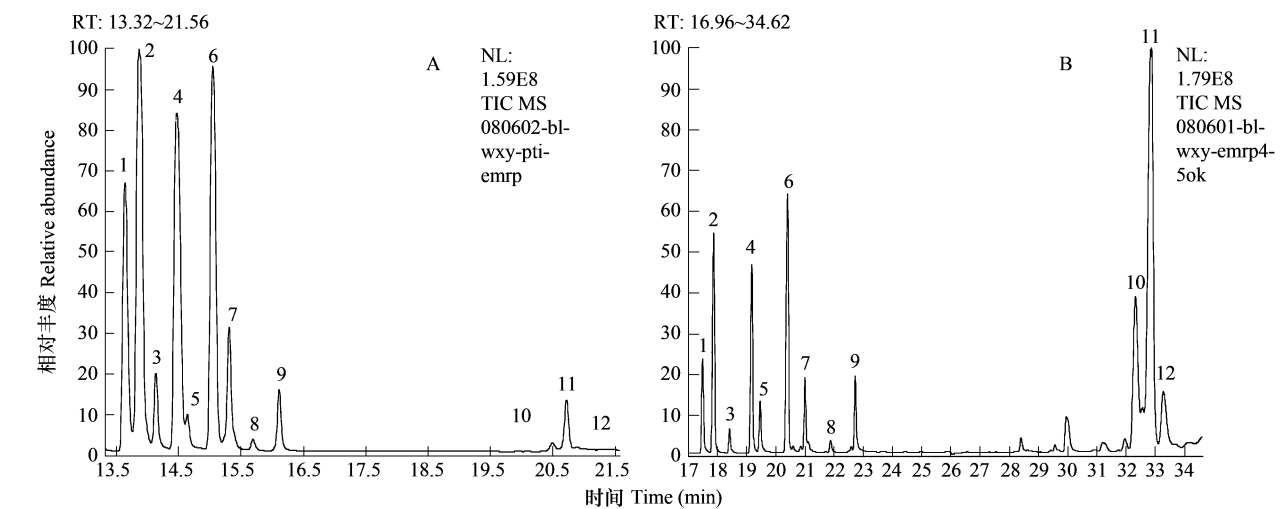


图3 PTI-GC/MS法(A)和TCT-GC/MS法(B)分别测定侧柏挥发物的总离子流图

Fig. 3 The comparison of volatiles from *Platycladus orientalis* L. phloem by PTI-GC/MS(A) and TCT-GC/MS(B)

单萜:1. 3-*thujene*(3-*桉烯*); 2. α -*pinene*(α -*蒎烯*); 3. *Camphene*(*莰烯*); 4. β -*phellandrene*(β -*水芹烯*); 5. *Myrcene*(*月桂烯*); 6. 3-*Carene*(3-*萜烯*); 7. *Limonene*(*柠檬烯*); 8. γ -*terpinen*(γ -*萜品烯*); 9. ρ -*menth-1,4(8)-diene*(ρ -*薄荷-1,4(8)二烯*) 倍半萜 *Sesquiterpene*; 10. *Cedrene*(*雪松烯*); 11. *Thujopsene*(*罗汉柏烯*); 12. *Caryophyllene*(*石竹烯*)

量不宜过多,吹扫时间不宜过长,否则会造成谱峰变形、分离度变差等问题。实验结果表明,选用5min的吹扫时间和0.2g的样品量即可达到分离完全,又不丢失主要组分的目的;此外,在吹扫之前增加2min的反吹时间可以进一步降低空气中水峰的干扰。

将吹扫捕集法与热脱附法相比较发现,二者所鉴定出的挥发物种类基本一致,但是前者对低沸点的单萜烯表现出较好的捕集效果,后者中则是高沸点的倍半萜类挥发物质含量较高(图3)。这是由于前者是在室温下操作,能真实反映出常温下植物挥发物的组分及含量;而热脱附法的脱附过程则是在一定的升温程序下操作,有利于较高沸点的倍半萜的流出;此外,对于一定体积的吸附剂而言,TCT中各组分都有各自的漏出容量(亦称穿透体积),超过此体积时组分就会穿透吸附管而被排空^[13]。显然,当吸附时间较长时,易挥发的单萜比倍半萜容易穿透,故使峰面积下降;再者,TCT中不同组分在同一吸附剂上的吸附常数可能不同,由此也会影响出峰面积的比例。PTI则不存在穿透体积和吸附常数的影响。

此外,在热脱附法中,吸附剂、吸附管道(如硅胶管)均有可能在高温下热解析出杂质峰,周围空气中的本底也有可能干扰样品峰。因此出峰往往比PTI复杂,一般高温出峰区的杂质干扰更为明显。TCT的最大优点在于它能直接采集活体植物的挥发物,不破坏样品,而且可以实现远距离采样,这是目前的吹扫捕集法所不及的,仍需要在装置及技术上作进一步的研究改进。

表1 两种方法测定侧柏韧皮部挥发物的相对含量

Table 1 The relative contents of volatiles from *Platycladus orientalis* L. phloem by PTI-GC/MS and TCT-GC/MS

No.	化合物 Compounds	相对含量 Relative content(%)	
		TCT-GC/MS	PTI-GC/MS
	单萜 monoterpene		
1	3-桉烯 3-thujene	20.36 ± 1.74 a	11.91 ± 5.21 a
2	α-蒎烯 α-pinene	25.88 ± 2.97 a	11.31 ± 8.16 a
3	莰烯 Camphene	1.25 ± 0.30 a	0.94 ± 0.94 a
4	β-水芹烯 β-phellandrene	26.20 ± 1.59 a	17.38 ± 4.10 b
5	月桂烯 Myrcene	3.82 ± 1.55 a	7.81 ± 0.76 b
6	3-萜烯 3-Carene	7.17 ± 0.71 a	12.02 ± 7.31 a
7	柠檬烯 Limonene	6.53 ± 1.37 a	10.14 ± 1.68 b
8	γ-萜品烯 γ-terpinen	1.15 ± 0.19 a	1.68 ± 1.83 a
9	ρ-薄荷-1,4(8)二烯 ρ-menth-1,4(8)-diene	2.08 ± 0.79 a	6.49 ± 2.69 a
	倍半萜 Sesquiterpene		
10	雪松烯 Cedrene	2.48 ± 0.80 b	11.12 ± 4.39 a
11	罗汉柏烯 Thujopsene	2.43 ± 0.91 b	7.71 ± 3.09 a
12	石竹烯 Caryophyllene	0.65 ± 0.37 b	1.48 ± 0.15 a

表中数据为平均值±标准偏差,数据采用LSD多重比较分析,同一行数据后不同字母表示差异显著($p < 0.05$) The data in the table are mean ± SD; Data were analyzed using LSD test, values within the same row followed by different letters are significantly different($p < 0.05$)

总之,吹扫捕集法与吸附-热脱附法相比,具有采样量少、对单萜烯类挥发物灵敏度高、能避免吸附剂干扰以及分析时间短等优点,是研究针叶植物挥发物的一种快速、简便、可靠的方法,为林业类植物挥发物的检测提供了新的思路 and 条件,具有广泛的应用价值。

References:

- [1] Zhang F J, Wu X Y, Wang J, *et al.* Supercritical CO₂ Fluid Extraction of the Volatiles of Ash-leaf Maple (*Acer negundo*) and Their Analysis by TCT/GC-MS. *Journal of Instrumental Analysis*, 2005, 24(5): 78—81.
- [2] Hao D J, Ma L J. Analysis of Volatile Components of *Pinus teada* L. by Gas Chromatography-Mass Spectrometry with Solid-phase Microextraction. *Journal of Analytical Science*, 2008, 24(1): 88—90.
- [3] Anna L S, Carl A N, Barbro A. Evaluation of adsorbents for sampling and quantitative analysis of microbial volatiles using thermal desorption-gas chromatography. *Journal Chromatography A*, 1995, 699(1-2): 203—214.
- [4] Lee S C, Chiu M Y, Ho K F, *et al.* Volatile organic compounds (VOCs) in urban atmosphere of Hong Kong. *Chemosphere*, 2002, 48(3): 375—382.
- [5] Zhou M, Liu D Q, Lin X, *et al.* Study on volatile organic compounds in Air by T&P GC/FID. *Environmental Monitoring in China*, 2004, 20(4): 12—14.
- [6] Oliver C, Richard S, Walter M. Volatile halogenated organic compounds in European estuaries. *Biogeochemistry*, 2002, 59(1-2): 143—160.
- [7] Chen Y, Yuan D X, Li Q L. Determination of Nitrous Oxide in Seawater by Room Temperature Purge and Trap-Gas Chromatography. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2007, 35(6): 897—900.
- [8] Liu H, Zhu Y F, Xu X B, *et al.* Preliminary Estimation of Volatile Organic Compounds in Soils from Beijing Suburban by Purge-and-Trap/ GC/MS. *Journal of Fudan University*, 2003, 42(6): 856—860.
- [9] Ke Y F, Feng J Y, Chen G X, *et al.* GC determination of residual benzene homologues in cigarette packaging paperboard by sampling with purgetrapping method. *Physical Testing and Chemical Analysis Part B Chemical Analysis*, 2006, 42(7): 509—513.
- [10] He H J, Tang X W, Song S H, *et al.* Analysis of Volatile Components of Brassicas with Purge and Trap Technique Coupled with GC/MS. *China Vegetables*, 2005(S1): 39—42.
- [11] Ding X, Wang X M, Su J, *et al.* Determination of Monoterpenes in Plant Leafs by a Purge and Trap/GC-MS. *Journal of Instrumental Analysis*, 2005, 24(2): 83—85.
- [12] Yan Shan-Chun, Cheng Hong, Yang Hui, *et al.* Effects of plant volatiles on the EAG response and behavior of the grey tiger longicorn, *Xylotrechus rusticus* (L.) (Coleoptera-Cerambycidae). *Acta Entomologica Sinica*, 2006, 49(5): 759—767.
- [13] Wu Feng-wu, Torben Christensen, Niels Haunso. Assessment of the Breakthrough Volumes for 23 Solvents (VOC) on 3 Different Sorbents. *Acta Entomologica Sinica*, 2000, 19(5): 67—69.

参考文献:

- [1] 张凤娟, 武晓颖, 王骏, 等. 复叶槭挥发物的超临界 CO₂ 萃取及其 TCT/GC-MS 分析. *分析测试学报*, 2005, 24(5): 78—81.
- [2] 郝德君, 马良进. 火炬松挥发物的固相微萃取-气相色谱/质谱法分析. *分析科学学报*, 2008, 24(1): 88—90.
- [5] 周密, 刘德全, 林旭, 等. 吹扫捕集/气相色谱法测定空气中挥发性有机物. *中国环境监测*, 2004, 20(4): 12—14.
- [7] 陈勇, 袁东星, 李权龙. 常温吹扫捕集-气相色谱法测定海水中氧化亚氮. *分析化学*, 2007, 35(6): 897—900.
- [8] 刘慧, 朱优峰, 徐晓白, 等. 吹扫-捕集气相色谱法测定北京郊区土壤中挥发性有机物. *复旦学报*, 2003, 42(6): 856—860.
- [9] 柯颖芬, 冯建跃, 陈关喜, 等. 吹扫捕集气相色谱法测定卷烟包装卡纸中苯系物残留. *理化检验*, 2006, 42(7): 509—513.
- [10] 何洪巨, 唐晓伟, 宋曙辉, 等. 用吹扫捕集法测定十字花科蔬菜中挥发性物质. *中国蔬菜*, 2005(增刊): 39—42.
- [11] 丁翔, 王新明, 栗娟, 等. 吹扫捕集/色谱-质谱法测定植物叶片中的单萜烯类化合物. *分析测试学报*, 2005, 24(2): 83—85.
- [12] 严善春, 程红, 杨慧, 等. 青杨脊虎天牛对植物源挥发物的 EAG 和行为反应. *昆虫学报*, 2006, 49(5): 759—767.
- [13] 吴风武, Torben Christensen, Niels Haunso. 23 种挥发性有机化合物在 3 种吸附剂上漏出容量的测定. *分析测试学报*, 2000, 19(5): 67—69.