

安捷伦科技 (Agilent)

气相色谱-质谱法评价 NaCl 胁迫对椒样薄荷精油产量和品质的影响^{*}

李 哲¹ 郭 凯¹ 胡雪艳² 王雯雯³ 魏艳丽¹ 李纪顺¹ 杨合同^{1**}

(1. 山东省科学院生物技术研究中心, 济南, 250014; 2. 中国检验检疫科学研究院, 北京, 100123;

3. 安捷伦科技有限公司, 北京, 100102)

摘 要 利用气相色谱-质谱法研究了不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷精油产量和品质的影响. 实验结果显示, 在 $150\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫下, 椒样薄荷能够保持正常生长, 而 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫显著抑制了其生长. 而且 $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫明显降低了耐盐椒样薄荷的精油产量和含量. 气相色谱-质谱法 (GC-MS) 的检测结果表明, $200\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 胁迫改变了精油组分和含量, 大大降低了椒样薄荷精油的品质. 本文初步探讨了不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷精油产量和品质的影响, 为椒样薄荷在盐渍地的开发利用提供了理论基础.

关键词 NaCl 胁迫, 椒样薄荷, 精油, 气相色谱-质谱法.

土壤盐渍化是影响农作物产量的一个重要因素, 在耕地有限、人口不断增长的今天, 快速开发和有效利用盐渍化土壤资源具有重要的现实意义^[1-2]. 通过种植耐盐植物改良盐碱地不仅可以提高土地的生产能力, 还有利于改善盐渍环境下农业生态的良性循环^[3].

椒样薄荷是唇形科薄荷属多年生草本植物, 它是天然香料, 主要含薄荷酮、薄荷醇、乙酸薄荷酯等 118 种成分, 其香气纯正, 清爽宜人, 广泛用于日用化妆品、医药和糖果食品^[4-5]. 本实验室在盐渍化土壤经多年驯化筛选出了抗盐椒样薄荷品系——科院 1 号, 后经在山东东营、河北唐海等滨海盐碱地多年连续种植, 性状表现稳定, 确定为耐盐新品种, 适合在黄河三角洲地区盐渍土壤上大规模推广种植. 课题组还开展了椒样薄荷响应 NaCl 胁迫的生理特性的研究, 发现它能够耐受 0.8% 的 NaCl 胁迫, 在该浓度下, 植株能正常生长, 叶片能够保持正常的光合活性, 并维持较高的含水量、较低的渗透势、较低的电导率和丙二醛 (MDA) 含量以及较高的抗氧化酶活性^[6-8].

椒样薄荷精油中约有 230 个化合物, 绝大多数化合物的含量甚微. 其中, 最主要的有效成分是薄荷醇, 它是环类单萜的一种, 对薄荷精油的品质和香气质量起主导作用^[9-10]. 精油成分的差异是影响精油品质优劣的重要因素之一, 因此对薄荷精油成分进行研究是薄荷品种选育极为重要的环节^[11-12]. 薄荷精油成分受外界环境因子和内在遗传因子的影响很大^[13-14], 对不同环境条件下的薄荷精油成分进行研究对于今后生产高品质薄荷精油具有重要意义. Dolzhenko 和 Behn 的研究分别指出 UV-B 胁迫改变了椒样薄荷中精油合成相关基因的表达, 降低了精油产量并改变了精油的成分^[15-16]. 窦宏涛和陈琳对陕西不同海拔高度地区栽培的椒样薄荷精油的研究结果表明, 不同海拔高度下栽培的椒样薄荷精油中主要组成成分相同, 但其相对含量有较大差异^[17]. Burbott 等的研究表明低光照和高温对椒样薄荷精油的合成也有显著影响, 造成薄荷呋喃和薄荷酮含量的增加^[18]. 目前, 盐碱胁迫对椒样薄荷精油产量和品质影响的研究还是空白.

本试验以耐盐椒样薄荷品系为试材, 利用 GC-MS 评价不同浓度 NaCl 胁迫对椒样薄荷精油产量和品质的影响, 这有助于深入了解耐盐椒样薄荷的生理生化特性, 为实现精油产量和品质的人工调控以及培育椒样薄荷新品种提供可靠的科学依据, 对椒样薄荷在盐碱地的开发利用具有重要的科学意义.

1 材料与方法

1.1 实验材料及 NaCl 处理

实验所用椒样薄荷为本实验室在盐渍化土壤多年驯化筛选出的抗盐品系 (科院 1 号). 在人工气候室内于光暗周期为 10 h/14 h, 昼夜温度为 $26\text{ }^{\circ}\text{C}/20\text{ }^{\circ}\text{C}$, 空气相对湿度为 50%—70% 的条件下, 大量培养椒样薄荷植株, 选取生长期 (10 叶期) 一致的植株进行实验.

^{*} 山东省科学院青年科学基金项目 (2013QN012); 国际科技合作项目 (2007DFA30630); 国际科技合作项目 (2011DFA30990) 资助.

^{**} 通讯联系人, E-mail: yanght@sdas.org

取普通耕作土和营养基质按 1:1 比例混合,混匀过筛后装于塑料盆中.选取生长良好、大小一致(10 叶期)的椒样薄荷植株,移于塑料盆(每盆 3 株)中.培养一周后,分别以含有不同浓度 NaCl(浓度分别为 0、150、200 mmol·L⁻¹)的 Hoagland 溶液处理 12 d,每个处理设 5 次重复.为了避免盐激作用对植株的影响,采用每 12 h 递增 50 mmol·L⁻¹,直至达到最终 NaCl 浓度.每天用相应的 NaCl 溶液浇灌 1 次,浇灌量为土壤持水量的 2 倍,约 2/3 的溶液流出,从而将以前的积余盐冲洗掉,以保持 NaCl 浓度恒定.

1.2 椒样薄荷植株生长状况的测定

分别取不同浓度 NaCl 处理 12 d 后的 3 株椒样薄荷植株地上部,利用电子天秤称量鲜重.然后选取 3 株椒样薄荷的叶片(从下往上数第 3 对叶),利用 LI-COR LI-3100C 叶片面积测量仪来测定叶片面积.

1.3 椒样薄荷精油的提取

水蒸馏法提取椒样薄荷植物精油.不同浓度 NaCl 处理 12 d 后,取 300 g 新鲜椒样薄荷材料加入含有 900 mL 蒸馏水的蒸馏釜中蒸馏 90 min,植物精油与水蒸气混合物经冷凝管冷凝后,在油水分离器中实现油水分离,油层在上,水层在下,将油层用吸管吸出,使用无水硫酸钠对精油进行脱水处理,最后用针筒吸出,称重.3 次重复,取平均值.精油装入棕色小瓶中,-20 ℃ 储存.

1.4 利用 GC-MS 测定椒样薄荷精油成分及含量

精油经无水乙醇稀释(1:10),气质联用仪为安捷伦气相色谱 7890A-质谱 5975C 分析.气相色谱条件:色谱柱 HP-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm);进样量 0.1 μL,分流比 20:1;载气为氦气,流速 0.8 mL·min⁻¹;进样口 280 ℃;程序升温条件,初温 55 ℃,以 2 ℃·min⁻¹ 的升温速率升至 160 ℃,恒温保持 3 min,再以 5 ℃·min⁻¹ 的升温速率升至 230 ℃,恒温保持 2 min.质谱条件:EI 离子源,电子能量 70 eV;离子源温度 230 ℃;四极杆温度 150 ℃;扫描范围 35—500 amu;溶剂延迟 2 min.采用面积归一法计算,含量超过 5% 以上的成分作为主要成分.

2 结果与讨论

2.1 不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷生长的影响

在 150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,与对照相比,耐盐椒样薄荷的生长表型、鲜重以及叶片面积没有受到明显影响,而在 200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,其生长表型、鲜重以及叶片面积均呈现出显著的抑制和下降(图 1).200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 12 d 后,鲜重以及叶片面积的下降与同期对照相比十分显著($P < 0.05$),分别降到了同期对照的 71.1%±5.3%和 62.9%±7.9%(图 1).

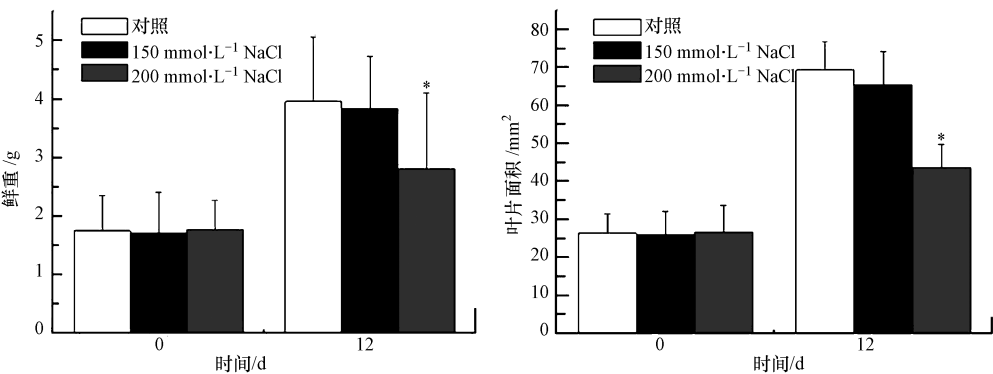


图 1 不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷生长状况的影响
(数据为 5 次重复的平均值和标准差,* 代表在 0.05 水平上差异显著.)

2.2 不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷精油产量的影响

检测不同浓度 NaCl 胁迫下耐盐椒样薄荷精油产量和精油含量的变化.实验结果显示,在 150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 12 d 后,与对照相比,耐盐椒样薄荷的精油产量和精油含量没有受到明显影响,而在 200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,其精油产量和精油含量均呈现出显著的下降(图 2).200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 12 d 后,精油产量和精油含量与同期对照相比十分显著($P < 0.05$),分别降到了同期对照的 64.7%±6.1%和 61.8%±4.6%(图 2).

2.3 不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷精油组分含量和品质的影响

薄荷精油具有重要的经济价值,精油成分的差异是影响精油品质优劣的重要因素之一,因此对薄荷精油成分进行研究是薄荷品种选育极为重要的环节^[11-12].利用 GC-MS 法分别对经不同浓度 NaCl 胁迫的椒样薄荷中提取的精油进行分析,检测到 89 个化合物成分,大部分成分含量甚微,选取其中的 9 种主要成分进行分析,结果见表 1.结果显示,在 150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 12 d 后,与对照相比,9 种精油主要成分的含量没有受到明显影响,而在 200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,9 种精油主要成分的含量呈现出显著的变化(表 1).

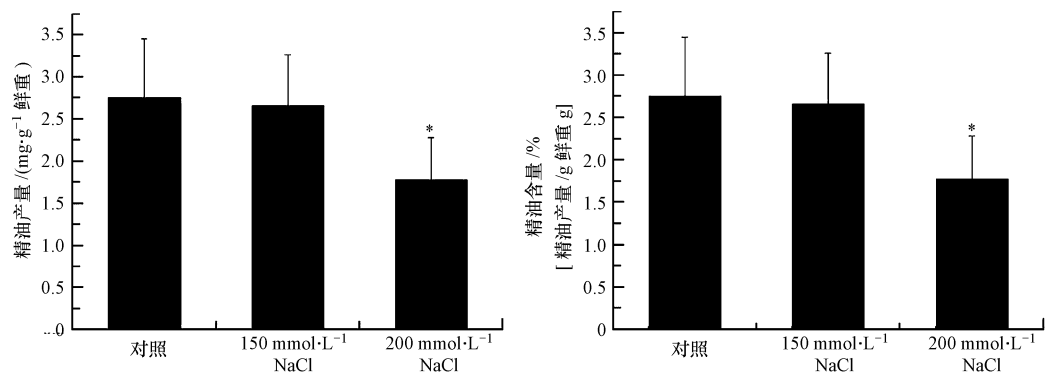


图 2 不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷精油产量和含量的影响
(数据为 5 次重复的平均值和标准差, * 代表在 0.05 水平上差异显著)

根据中华人民共和国轻工行业标准《椒样薄荷精油 QB/T4228—2011》对椒样薄荷精油成分的含量范围要求,在经 150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 12 d 后提取的精油中,9 种主要成分的含量与对照无明显差异,仍在合格范围内,精油保持了较好品质,而在经 200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理 12 d 后提取的精油中,9 种主要成分的含量大多不在合格范围内,造成精油品质的下降(表 1)。

表 1 不同浓度 NaCl 胁迫对耐盐椒样薄荷精油重要成分含量的影响

成分	合格范围 /%	相对含量/%		
		对照	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	200 mmol·L ⁻¹ NaCl
α-蒎烯	0.5—2.0	0.67±0.05	0.62±0.23	0.11±0.02 *
β-蒎烯	1.0—3.0	1.13±0.59	1.03±0.41	0.13±0.05 *
柠檬烯	1.0—3.0	2.24±0.73	2.31±0.68	0.76±0.21 *
薄荷酮	15.0—26.0	21.42±3.56	18.56±3.01	14.82±3.57 *
异薄荷酮	2.0—6.0	5.31±1.22	4.92±1.87	6.19±2.33 *
薄荷醇	32.0—49.0	39.95±5.78	36.21±4.36	28.56±5.14 *
新薄荷醇	0.5—2.0	0.78±0.12	0.88±0.12	0.21±0.07 *
薄荷呋喃	3.0—8.0	6.77±1.63	6.97±2.35	10.55±3.01 *
乙酸薄荷酯	3.0—8.0	6.32±2.11	6.64±1.99	2.84±1.14 *

数据为 3 次重复的平均值和标准差, * 代表在 0.05 水平上差异显著。

3 结论

- (1)150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理对耐盐椒样薄荷的生长表型、鲜重以及叶片面积没有明显影响,而在 200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,其生长表型、鲜重以及叶片面积均呈现出明显的抑制和下降,表明耐盐椒样薄荷能够耐受 150 mmol·L⁻¹ NaCl 胁迫。
- (2)150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理对耐盐椒样薄荷的精油产量和精油含量没有明显影响,而在 200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理下,其精油产量和精油含量显著下降。
- (3)150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理的椒样薄荷植株,精油主要成分的含量与对照无明显差异,保持了较好品质,而 200 mmol·L⁻¹ NaCl 处理的椒样薄荷植株,精油主要成分的含量发生明显变化,精油品质的下降。

参 考 文 献

[1] Yokoi S, Bressan R A, Hasegawa P M. Salt stress tolerance of plant[R]. JIRCAS Working Reports, 2002; 25-33

[2] Greenway H, Munns R. Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1980, 31: 149-190

[3] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 651-681

[4] 陈小军. 椒样薄荷高产栽培技术[J]. 新疆中草药, 2008 (7) : 72-73

[5] Zheljzakov V D, Cantrell C L, Astatkie T, et al. Peppermint productivity and oil composition as a function of nitrogen, growth stage, and harvest time[J]. Agronomy Journal, 2010, 102: 24-28

[6] 张侠, 宋莉璐, 任艳, 等. 椒样薄荷对 NaCl 胁迫的生理响应[J]. 安徽农业科学, 2009, 37 (13) : 5967-5969

[7] 李哲, 吴晓青, 魏艳丽, 等. NaCl 胁迫对椒样薄荷生长剂抗氧化系统的影响[J]. 广东农业科学, 2014, 41 (3) : 46-51

[8] 李哲, 吴晓青, 赵晓燕, 等. NaCl 胁迫对椒样薄荷光合作用和 PSII 光化学活性的影响[J]. 山东科学, 2014, 27 (1) : 27-33

[9] 李娟娟, 王羽梅. 薄荷精油成分和含量的影响因素综述[J]. 安徽农业科学, 2011, 39: 22313-22316

[10] 窦宏涛,冯武焕.薄荷优质高产栽培与加工[M].北京:中国农业出版社,2007: 26-31

[11] Kumar S, Suresh R, Singh V, et al. Economic analysis of menthol mint cultivation in Uttar Pradesh: A case study of Barabanki district[J]. Agricultural Economics Research Review, 2011, 24: 345-350

[12] Kumar S, Bahl J R S. High economic returns from companion and relay cropping of bread wheat and enthol mint in the winter-summer season in north Indian plains[J]. Industrial Crops and Products, 2002, 3: 103-114

[13] Clark R J, Menary R C. Environmental effects on peppermint, I. Effect of day length, photon flux density, night temperature and day temperature on the yield and composition of peppermint oil[J]. Australian Journal of Plant Physiology, 1980, 7: 685- 692

[14] Shasany A K, Gupta S, Gupta M K. Assessment of menthol mint collection for genetic variability and monoterpene biosynthetic potential [J]. Flavour and Fragrance Journal, 2010, 1: 41-47

[15] Dolzhenko Y, Berteau C M, Occhipinti A, et al. UV-B modulates the interplay between terpenoids and flavonoids in peppermint (*Mentha × piperita* L.)[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2010, 100: 67-75

[16] Behn H, Albert A, Marx F, et al. Ultraviolet-B and photosynthetically active radiation interactively affect yield and pattern of monoterpenes in leaves of peppermint (*Mentha × piperita* L.)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58: 7361-7367

[17] 窦宏涛, 陈琳. 陕西省不同海拔高度地区椒样薄荷精油成分分析及品质评价[J]. 中国农学通报, 2009, 25 (23): 132-136

[18] Burbott A J, Loomis W D. Effects of light and temperature on the monoterpenes of peppermint[J]. Plant Physiology, 1967, 42: 20-28

中国科学院生态环境研究中心与安捷伦科技公司合作成立
“安捷伦科技全球思想领袖奖获得者——江桂斌院士实验室”

2014 年 9 月 25 日,中国科学院生态环境研究中心与安捷伦科技公司联合成立的“安捷伦科技全球思想领袖奖获得者——江桂斌院士实验室”揭牌仪式在生态环境研究中心举行.中心主任江桂斌院士,安捷伦科技新任总裁兼首席运营官 Mike McMullen 先生,安捷伦科技副总裁兼化学分析事业部大中华区总经理丁再福博士(Dr. Chai-Hock Teng)等出席揭牌仪式,共同见证双方为推进环境与健康领域研究的重要时刻.

揭牌仪式后,江桂斌院士作了题为“Environmental Pollution and Health Research: Beyond the Molecular Era”的学术报告.江桂斌院士表示:“环境污染所引起健康问题是人类未来发展面临的重大挑战.生态环境研究中心与安捷伦公司长期以来一直共同致力于推动中国环境化学领域的科学研究.我非常感谢安捷伦公司为我们科研项目所提供的技术和支持,希望今后双方可以继续保持深入的合作关系,为改善环境,保护人类健康起到积极的作用.”

安捷伦科技 Mike McMullen 先生表示:“安捷伦是顶级实验室的合作伙伴.安捷伦与生态环境研究中心有超过 15 年的合作历史,我们很高兴看到双方的合作已经取得了许多令人印象深刻的成果.此次合作实验室的建立将充分结合生态环境中心的前沿科研实力以及安捷伦的创新科技和设备,为推动中国环境科学领域的发展,改善生态环境做出积极贡献.”

中国科学院生态环境研究中心与安捷伦公司的合作可以追溯到上世纪 90 年代.2000 年,生态环境研究中心-安捷伦科技亚太环境分析实验室成立,这是安捷伦在亚太地区生命科学与化学分析领域的三大实验室之一.此后,双方多次追加对实验室的投资,使实验室由最初的规模发展目前国内最高规格的应用实验室之一.双方的合作还包括应用安捷伦 GC/QQQ 分析研究环境中持久性有机污染物(POPs)和新型污染物,如 PBDEs、PCNs、短链氯化石蜡等,应用 GC/QTOF 筛查与检测未知环境污染物.

目前实验室的安捷伦设备包括 8800 ICP-QQQ 和 7200 GC/Q-TOF.8800 ICP-QQQ 将主要用于环境和食品中包括纳米颗粒物在内的污染物分析,以及单细胞当中的金属组学分析和有毒物代谢物机理研究.7200 GC/Q-TOF 主要用于土壤和水中的新型环境污染物分析与鉴定,目前正在开发食品和环境样品中短链氯化石蜡的分析方法.未来双方拟应用 ICP-QQQ 技术就环境金属组学和纳米材料的环境分析与毒性研究等方面进行更加深入的合作.