

# HS-SPME-GC-MS 分析‘粉蕴’含笑不同开花时期花器官挥发性成分的变化规律

郑超荣<sup>1</sup>,胡莹冰<sup>1,2</sup>,谭雨晴<sup>1</sup>,  
雍玉冰<sup>1</sup>,巢瑾<sup>3</sup>,张哲<sup>1</sup>,陈燕<sup>1</sup>,金晓玲<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>中南林业科技大学风景园林学院,长沙 410004;

<sup>2</sup>浙江广厦建设职业技术大学建筑工程学院,东阳 322100;

<sup>3</sup>湖南省茶业集团股份有限公司,长沙 410126

**摘要:**为探究‘粉蕴’含笑(*Michelia platypetala* ‘Fenyun’ )花朵挥发性成分的时空变化规律,本研究以花蕾期、初开期和盛开期的花被片、雄蕊和雌蕊为试验材料,采用顶空固相微萃取与气质联用技术(HS-SPME-GC-MS)对其挥发性成分进行测定。结果表明,在‘粉蕴’含笑花朵中共鉴定出93种挥发性成分,包括11大类,以萜烯类分数量最多;并且,其总挥发性成分在花蕾期的花被片中释放量最高。在花被片、雄蕊和雌蕊中分别鉴定出73、86和86种挥发性成分,其中,相对含量大于2%的主要挥发性成分分别有8、10和11种,以2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、 $\gamma$ -杜松烯和 $\beta$ -异可烯为主。花被片中的特异性成分为乙酸桃金娘烯酯;雄蕊中的特异性成分为伞形花酮、木薄荷衍生物和反-2-辛醛;雌蕊中的特异性成分是别罗勒烯、十二烷、甲酸法呢酯、己醇和3,4-二氢-2H-吡喃。本研究进一步采用SIMCA14.1对鉴定出的挥发性成分进行主成分分析(PCA)和偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)发现,从‘粉蕴’含笑不同花器官中释放的挥发性成分能很好区分,其中有12种在不同花器官释放量有显著差异(VIP>1)。综上所述,‘粉蕴’含笑的挥发性成分在花蕾期的花被片中含量最高,2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、 $\gamma$ -杜松烯和 $\beta$ -异可烯是‘粉蕴’含笑开花过程中的主要挥发性成分。

**关键词:**‘粉蕴’含笑;HS-SPME-GC-MS;花器官;挥发性成分;PCA;PLS-DA

中图分类号:S685.99

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2024)3-0453-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2024.3.009

## HS-SPME-GC-MS analysis of the change pattern of volatile components in floral organs of *Michelia platypetala* ‘Fenyun’ during different flowering stages

ZHENG Chao-rong<sup>1</sup>, HU Ying-bing<sup>1,2</sup>, TAN Yu-qing<sup>1</sup>,  
YONG Yu-bing<sup>1</sup>, CHAO Jin<sup>3</sup>, ZHANG Zhe<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>, JIN Xiao-ling<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>College of Landscape Architecture, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China;

<sup>2</sup>School of Civil Engineering, Zhejiang Guangsha Vocational and Technical University of Construction, Dongyang 322100, China;

<sup>3</sup>Hunan Tea Group Corporation Limited, Changsha 410126, China

**Abstract:** In order to investigate the spatiotemporal variations of volatile components in the flowers of *Michelia platypetala* ‘Fenyun’, this study used the tepals, stamens, and pistils at the bud stage, initial flowering stage, and full flowering stage as experimental materials. The volatile components were determined by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry (HS-SPME-GC-MS). The results showed that a total of 93 volatile components, belonging to 11 major groups, were identified in the flowers of *M. platypetala* ‘Fenyun’, with sesquiterpenes being the most abundant. Furthermore, the highest release of total volatile components was observed in the tepals at the bud stage. A total of 73, 86, and

86 volatile components were identified in the tepals, stamens, and pistils, respectively. Among them, there were 8, 10, and 11 major volatile components with relative abundances greater than 2%. The main volatile components included 2,6,10-trimethyltetradecane, Isohecadecane,  $\gamma$ -cadinene, and  $\beta$ -isocomene. The specific components identified in the tepals were myrtenyl acetate, while the specific components in the stamens were umbellulone, prostantherol, derivative of and (*E*)-2-Octenal. In the pistils, the specific components included (*E,Z*)-2,6-Dimethylocta-2,4,6-triene, dodecane, farnesol formate, 1-hexanol and 3,4-Dihydro-2H-pyran. In this study, further principal component analysis (PCA) and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) were performed on the identified volatile components using SIMCA 14.1. It was found that the volatile components released from different floral organs of *M. platypetala* ‘Fenyun’ could be well distinguished. Among them, 12 components showed significant differences in their release quantities among floral organs (VIP > 1). In summary, the volatile components of *M. platypetala* ‘Fenyun’ were found to be most abundant in the tepals at the bud stage. Among the identified compounds, 2,6,10-trimethyltetradecane, isohecadecane,  $\gamma$ -cadinene, and  $\beta$ -isocomene were identified as the major volatile components during the flowering process of *M. platypetala* ‘Fenyun’.

**Key words:** *Michelia platypetala* ‘Fenyun’; HS-SPME-GC-MS; flower organs; volatile components; PCA; PLS-DA

花香是指由植物花朵中释放出的一系列分子量低、挥发性强的芳香物质而组成的复杂混合物。适宜浓度的花香对人体身心健康有积极影响。因而,花香也被誉为“花卉的灵魂”,是植物重要的观赏性状之一<sup>[1]</sup>。花朵挥发性成分的提取方法主要有蒸馏法、有机溶剂提取法、微波辅助提取法、超临界CO<sub>2</sub>萃取法、顶空固相微萃取法(HS-SPME)和同时蒸馏萃取法等。顶空固相微萃取法由于操作简单、样品用量少、成本低、应用范围广、实验结果准确可靠等优点而被广泛采用<sup>[2]</sup>。花挥发性成分的测定方法有气相色谱-质谱联用、气相色谱-离子迁移谱、气相色谱-嗅闻和电子鼻技术等。气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)所需样品量少、灵敏度高、检测速度快,其在植物挥发性成分中广受欢迎<sup>[3]</sup>。目前,国内外大多是采用HS-SPME-GC-MS来测定植物花挥发性成分的组成。

含笑属(*Michelia*)植物是著名的芳香植物,其花、叶和枝条等部位均具有丰富的芳香化合物。目前,对含笑属植物提取物的大量研究已证实,其具有保鲜、抑菌、抗癌和抗氧化等功能,因而被广泛应用于食品保鲜、香料和医药等领域<sup>[4]</sup>。值得注意的是,花作为植物的繁殖器官,其挥发性成分十分丰富<sup>[5]</sup>。已有研究对含笑属的白兰<sup>[6]</sup>、含笑<sup>[7]</sup>、深山含笑<sup>[8]</sup>和黄兰<sup>[9]</sup>等树种进行了花朵挥发性成分分析。

阔瓣含笑(*M. platypetala*)是木兰科含笑属常绿乔木,花色纯白,花香浓郁,是湖南地区的乡土树种,也是一种优良的园林观赏植物<sup>[10,11]</sup>。对于阔瓣含笑的研究,现多集中在生理特性<sup>[12]</sup>、栽培繁育<sup>[13]</sup>和杂交育种<sup>[14]</sup>等方面,对其花香成分的解析目前未见

相关文献报道。‘粉蕴’含笑(*M. platypetala* Fenyun)是由中南林业科技大学从阔瓣含笑中通过实生选育的方法培育的新品种(品种权号20190034),其主要特点是:花期早(1月底或2月初)、花型优美、花香浓郁,具有很高的观赏价值和开发利用潜力<sup>[15]</sup>。本研究以‘粉蕴’含笑不同开花时期(花蕾期、初开期、盛开期)下的不同花器官(花被片、雄蕊、雌蕊)为研究对象,采用HS-SPME-GC-MS技术检测其花朵挥发性成分,并通过主成分分析(PCA)和偏最小二乘法判别分析(PLS-DA),探讨‘粉蕴’含笑不同开花时期下不同花器官的挥发性成分释放规律。本研究可为后续‘粉蕴’含笑的景观应用和挥发性成分的开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验材料‘粉蕴’含笑(*Michelia platypetala* ‘Fenyun’)栽植于湖南省林业科技示范园,位于长沙市南郊。其长势良好,无病虫害。于2023年2月20日在‘粉蕴’含笑开花期间,晴朗的上午分别从树冠东南西北四个方向随机采集3个不同开花时期的花朵,即花蕾期S1(花苞片开裂,露出上表面白色,下部淡红色的花被片)、初开期S2(花被片微展开,雄蕊无散粉)、盛开期S3(花被片展开,雄蕊大量散粉)。采摘后迅速分离花被片(T)、雄蕊(S)和雌蕊(P)(见图1)于5mL冻存管中,随后立即放入-196℃液氮中冷冻,用液氮罐运送到湖南省茶业集团股份有限公司进行挥发性成分的测定。

### 1.2 实验仪器与设备

7890B-5977A气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司);手动固相微萃取进样器、50/30 μm DVB/

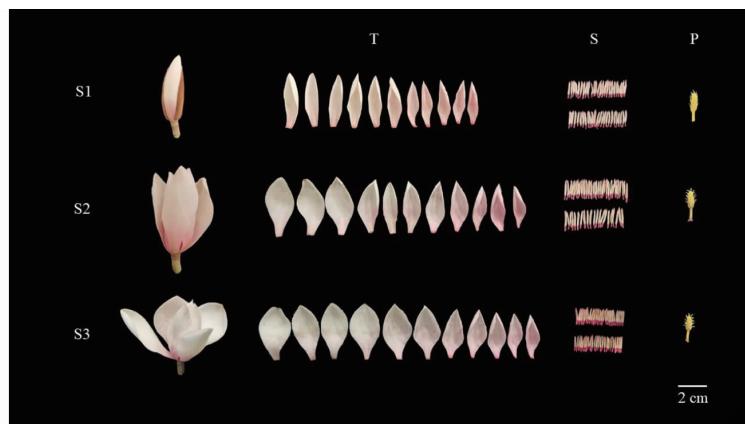


图 1 ‘粉蕴’含笑不同开花时期的 3 个花器官(花被片、雄蕊、雌蕊)

Fig. 1 Three flower organs (tepals, stamens and pistil) of *M. platypetala* ‘Fenyun’ at different flowering stages

CAR/PDMS 萃取头(美国 Supelco 公司)。

### 1.3 样品前处理和进样处理

取 3 个开花时期的花被片、雄蕊和雌蕊,用液氮将其快速研磨成粉末,混匀后称取 5 g 放进 20 mL 顶空瓶中,同时加入 10  $\mu$ L 0.0802 mg/mL 的内标 4-甲基-2-戊醇,密封进样,每个样品进行三次独立的重复。

将顶空瓶置于 60  $^{\circ}$ C 下平衡 10 min, SPME 固相微萃取头萃取前在气相色谱仪的进样口 250  $^{\circ}$ C 老化 30 min,再插入加热平衡后的顶空瓶进行顶空萃取 40 min,提取结束后,将固相微萃取头立即插入气相色谱仪进样口,在 250  $^{\circ}$ C 解析 5 min。

### 1.4 气相色谱质谱(GC-MS)条件

色谱条件:以氦(99.999%)为载气,流速为 1 mL/min,不分流进样,进样口温度 250  $^{\circ}$ C。初始温度 70  $^{\circ}$ C,持续 5 min,以 15  $^{\circ}$ /min 的速度升至 100  $^{\circ}$ C,接着以 5  $^{\circ}$ /min 的速度升至 125  $^{\circ}$ C,然后以 2  $^{\circ}$ /min 的速度升至 150  $^{\circ}$ C,最后以 20  $^{\circ}$ /min 的速度升至 280  $^{\circ}$ C,并在 280  $^{\circ}$ C 下保持 4 min。

质谱条件:电子电离源,离子源温度为 230  $^{\circ}$ C,四极杆温度 150  $^{\circ}$ C,质谱扫描范围  $m/z$  30~500;传输线温度 280  $^{\circ}$ C。

### 1.5 数据分析

通过 AnalysisBaseFileConverter 软件将采集的原始质谱数据转换成 abf 格式导入 MS-DIAL4 软件,选择合适的质谱图作为参比谱图,进行目标峰的提取、匹配和对齐,以 NIST 20 数据库的质谱信息和保留指数(retention index, RI)信息,匹配度 > 80 为标准,对质谱峰进行定性。用内标 4-甲基-2-戊醇的峰面积校正各代谢物峰面积。化合物的定量采用峰面积

归一法计算,挥发性成分的含量计算公式为:挥发性成分含量(mg/kg) = (待测化合物的峰面积 × 内标浓度 × 内标体积)/(内标的峰面积 × 样品质量)。使用 Microsoft Excel 2021 对挥发性成分的种类、相对含量进行数据分析,使用 GraphPad Prism 8 绘图,使用 SIMCA 14.1 进行主成分分析(PCA)和偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)。

## 2 实验结果

### 2.1 ‘粉蕴’含笑不同开花时期花器官挥发性成分的鉴定和相对含量分析

对‘粉蕴’含笑花挥发性成分进行 GC-MS 分析,将其总离子流图(见图 2)与质谱数据进行比对,并查阅相关文献,最终鉴定出 93 种挥发性成分,包括萜烯类化合物 43 种(单萜类 25 种,倍半萜类 18 种)、烷烃类化合物 11 种、酯类化合物 9 种、醛类和醇类化合物各 8 种、烯烃类和酮类化合物各 4 种、醚类和芳香族化合物各 2 种、酚类和杂环类各 1 种(见表 1)。其中,萜烯类数量最多,烷烃类和酯类次之。可见,‘粉蕴’含笑花朵挥发性成分组成丰富,萜烯类和烷烃类是其最主要的种类构成。

#### 2.1.1 花被片的挥发性成分种类和相对含量

在 3 个不同开花时期的花被片中共鉴定出 72 种挥发性物质,其中花蕾期 66 种、初开期 67 种、盛开期 71 种,主要成分是烷烃类,有 7 种,在 3 个开花时期的相对含量分别为 66.91%、68.91%、62.59%(见表 1)。由图 3 可知,花被片中相对含量大于 2% 的挥发性成分有 8 种,按相对含量大小排序依次为 2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、 $\beta$ -异可烯、 $\gamma$ -杜松烯、1,2-二甲氧基苯、3,9-愈创木二烯、 $\delta$ -榄香烯和 2-甲氧基苯酚。其中,烷烃类化合物 2,6,10-三甲基十四烷和异十六(碳)烷均在初开期达到最大

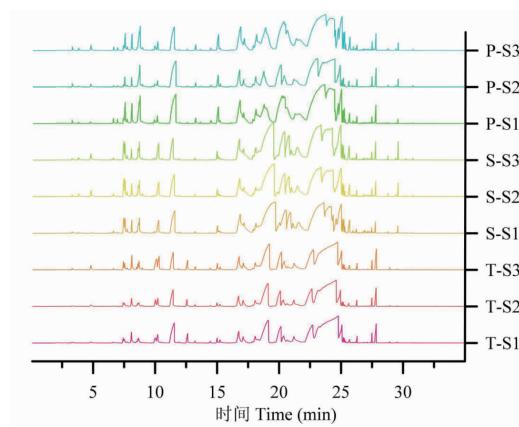


图 2 ‘粉蕴’含笑不同开花时期花器官挥发性成分的总离子流图

Fig. 2 Total ion chromatograms of volatile constituents in flowering organs of *M. platypetala* ‘Fenyun’ at different flowering stages

表 1 ‘粉蕴’含笑不同开花时期花器官挥发性成分种类及相对含量

Table 1 Volatile components and relative content of various flower organs at different flowering stages of *M. platypetala* ‘Fenyun’

序号 No.	类型 Type	化合物 Compound	$t_R$ ( min )	保留 指数 RI	相对含量 Relative content (%)									
					T			S			P			
					S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
1	萜烯类 Terpenes	单萜烯类 Monoterpenes	$\alpha$ -侧柏烯 $\alpha$ -Thujene	6.514	937.17	0.04	0.04	0.05	0.13	0.14	0.14	0.02	—	0.02
2			$\alpha$ -蒎烯 (-)- $\alpha$ -Pinene	6.669	945.06	0.15	0.14	0.17	0.36	0.35	0.31	0.55	0.17	0.37
3			莰烯 Camphene	6.983	959.42	0.05	0.05	0.06	0.11	0.10	0.08	0.34	0.12	0.23
4			$\beta$ -蒎烯 $\beta$ -Pinene	7.515	983.34	1.23	1.13	1.60	3.98	3.76	3.41	2.74	1.38	2.39
5			月桂烯 $\beta$ -Myrcene	7.772	996.8	0.22	0.20	0.28	0.69	0.68	0.62	0.64	0.25	0.53
6			$\alpha$ -水芹烯 $\alpha$ -Phellandrene	8.127	1 011.61	1.98	1.72	1.67	1.71	1.39	1.23	1.92	1.19	1.73
7			$\alpha$ -蒈品烯 $\alpha$ -Terpinene	8.383	1 024.96	0.02	0.02	0.02	0.06	0.05	0.05	0.03	0.01	0.02
8			对异丙基甲苯 p-Cymene	8.566	1 032.43	0.39	0.41	0.51	0.57	0.58	0.42	0.63	0.28	0.76
9			D-柠檬烯 D-Limonene	8.697	1 039.19	0.22	0.28	0.31	0.90	0.87	0.84	1.58	0.83	1.38
10			桉油精 Eucalyptol	8.777	1 042.1	0.15	0.14	0.21	0.49	0.47	0.47	1.10	0.84	0.95
11			(E)- $\beta$ -罗勒烯 (E)- $\beta$ -Ocimene	9.008	1 050.65	0.06	0.13	0.15	0.12	0.24	0.16	0.15	0.21	0.20
12			$\gamma$ -松油烯 $\gamma$ -Terpinene	9.297	1 053.56	0.04	0.04	0.04	0.11	0.11	0.12	0.04	0.02	0.05
13		反-桧烯水合物 trans-Sabinene hydrate		9.498	1 074.71	—	—	—	0.01	0.01	0.01	0.01	—	—
14			蒈品烯 Terpinolene	9.973	1 097.24	0.03	0.03	0.04	0.07	0.06	0.06	0.12	0.07	0.12
15			芳樟醇 Linalool	10.275	1 109	0.71	0.66	1.17	1.63	1.66	1.73	0.52	0.46	0.58
16			别罗勒烯 (E,Z)-2,6-Dimethylocta-2,4,6-triene	10.863	1 133.73	—	—	—	—	—	—	0.01	—	—
17			DL-异胡薄荷醇 DL-Isopulegol	11.541	1 163.33	—	—	0.01	—	0.01	0.01	0.03	0.02	0.07
18			左旋龙脑 Linderol	11.933	1 178.61	0.11	0.07	0.11	0.11	0.12	0.10	0.13	0.08	0.09
19			草蒿脑 Estragole	12.619	1 206.35	0.01	0.01	0.02	0.03	0.04	0.03	0.08	0.07	0.08
20			香茅醇 Citronellol	13.262	1 227.32	0.09	0.10	0.16	0.09	0.11	0.11	0.35	0.24	0.36
21			橙花醇 Neral	13.68	1 242.09	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.08	0.05	0.06

续表1(Continued Tab. 1)

序号 No.	类型 Type	化合物 Compound	$t_R$ (min)	保留 指数 RI	相对含量 Relative content (%)									
					T			S			P			
					S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	
22	萜烯类 Terpenes	单萜烯类 Monoterpenes	香叶醇 Geraniol	13.99	1 254.98	0.01	0.01	0.03	0.02	0.02	0.02	0.08	0.04	0.05
23			柠檬醛 Citral	14.436	1 271.09	0.21	0.15	0.21	0.08	0.09	0.07	0.48	0.25	0.30
24			醋酸桧酯 trans-Sabinyl acetate	15.164	1 300.04	0.08	0.07	0.12	0.25	0.33	0.34	0.17	0.10	0.17
25			$\alpha$ -雪松烯 (+)- $\alpha$ -himachalene	20.763	1 450.61	0.72	0.70	0.80	3.66	2.98	3.80	2.44	1.80	4.14
26	倍半萜烯类 Sesquiterpenes	倍半萜烯类 Sesquiterpenes	$\delta$ -榄香烯 $\delta$ -Elemene	16.799	1 346.91	2.41	2.21	2.84	8.10	5.84	6.35	6.48	3.49	6.94
27			$\alpha$ -荜澄茄油烯 $\alpha$ -Cubebene	16.811	1 347.9	0.08	0.07	0.10	0.21	0.16	0.14	0.22	0.14	0.25
28			古巴烯 Copaene	17.952	1 380.95	0.10	0.11	0.11	0.27	0.25	0.32	0.22	0.20	0.30
29			$\beta$ -荜澄茄油烯 $\beta$ -Cubebene	18.199	1 388.36	0.92	1.11	1.04	1.35	1.33	1.32	1.39	1.81	1.92
30			$\beta$ -榄香烯 $\beta$ -Elemene	18.424	1 394.89	0.16	0.16	0.11	0.27	0.27	0.20	0.24	0.09	0.23
31			$\beta$ -异可烯 $\beta$ -Isocomene	19.233	1 414.01	4.03	4.33	4.93	13.12	10.95	11.37	2.70	1.38	3.38
32			(+)-香橙烯 Aromandendrene	20.403	1 443.56	1.80	1.68	1.84	3.40	2.87	3.41	6.11	2.99	7.01
33			缬草-4,7(11)-二烯 Valeren-4,7(11)-diene	21.168	1 463.75	0.27	0.23	0.26	1.07	0.86	0.93	0.29	0.32	0.48
34			(+)-表双环倍半水芹烯 (+)-epi-Bicyclo- esquiphellandrene	21.781	1 479.59	0.35	0.34	0.47	0.15	0.29	0.51	0.58	0.39	0.62
35			$\gamma$ -杜松烯 $\gamma$ -Cadinene	23.043	1 509.23	3.99	3.85	4.43	15.06	11.02	12.57	18.38	10.04	18.68
36			3,9-愈创木二烯 Guaia-3,9-diene	24.947	1 563.25	2.95	3.11	3.17	9.18	7.53	7.41	6.12	4.65	7.41
37			(-)-蓝桉醇 (-)-Globulol	25.652	1 587.36	0.15	0.14	0.18	0.78	0.57	0.62	0.37	0.22	0.55
38			胡萝卜醇 Carotol	25.956	1 596.39	0.03	0.02	0.03	0.13	0.09	0.09	0.12	0.07	0.18
39	烷烃类 Alkanes	环氧化物异芳香树烯 Isoaromadendrene epoxide	26.146	1 603.6	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.03	
40		$\tau$ -毕澄茄醇 $\tau$ -Cadinol	26.766	1 642.98	-	-	0.01	0.04	0.03	0.03	0.02	-	0.03	
41		$\beta$ -菖蒲醇 $\beta$ -Acorenol	26.888	1 650.66	0.01	0.01	0.01	0.05	0.05	0.05	0.02	0.01	0.04	
42		$\alpha$ -桉叶醇 $\alpha$ -Eudesmol	26.911	1 655.97	-	0.01	-	0.12	0.07	0.06	0.04	0.02	0.05	
43		缬草萘烯醇 Valerianol	27.148	1 665.14	0.03	0.03	0.03	0.07	0.06	0.05	0.02	0.01	0.04	
44		双环戊烷 1,1'-Bicyclopentyl	9.744	1 083.56	-	-	-	0.02	0.02	0.03	0.06	0.10	0.08	
45		十二烷 Dodecane	12.488	1 204.77	-	-	-	-	-	-	-	0.01	-	
46		十三烷 Tridecane	15.296	1 302.96	0.44	0.33	0.28	0.15	0.14	0.10	0.19	0.28	0.13	
47		2,6,10-三甲基十四烷 2,6,10-trimethyltetradecane	24.145	1 532.77	32.3	33.34	30.12	10.82	16.9	15.82	14.73	26.20	13.05	
48		异十六(碳)烷 Isoheptadecane	24.29	1 547.23	32.18	33.13	29.99	10.76	16.88	15.76	14.60	25.98	12.96	
49		十六烷 Hexadecane	26.274	1 611.21	0.35	0.37	0.32	0.18	0.29	0.27	0.30	0.41	0.21	

续表1(Continued Tab. 1)

序号 No.	类型 Type	化合物 Compound	$t_R$ (min)	保留 指数 RI	相对含量 Relative content (%)									
					T			S			P			
S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
50	烷烃类 Alkanes	十七烷 Heptadecane	27.791	1 710.64	1.61	1.72	1.84	0.55	0.88	0.94	1.02	1.27	0.87	
51		十八烷 Octadecane	28.777	1 806.17	-	-	0.01	0.04	0.08	0.09	0.02	0.04	0.04	
52		十九烷 Nonadecane	29.583	1 907.36	0.02	0.02	0.02	0.19	0.42	0.52	0.08	0.19	0.17	
53		二十烷 Eicosane	30.228	2 005.53	-	-	-	0.01	0.03	0.03	-	0.01	0.01	
54		二十一烷 Heneicosane	30.795	2 105.51	-	-	-	0.02	0.03	0.04	0.01	0.03	0.02	
55	酚类 Phenols	2-甲氧基苯酚 2-Methoxyphenol	10.137	1 099.51	1.69	1.90	3.68	0.32	0.26	0.27	0.32	0.48	0.48	
56	醚类 Ethers	甲基苯乙基醚 Methyl phenethyl ether	9.816	1 089.05	0.03	0.03	0.06	0.09	0.09	0.10	0.06	0.05	0.07	
57		香芹酚甲醚 Methyl carvacrol (3E,5Z)-1,3,5-	13.744	1 246.75	0.02	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	-	-	-	
58	烯烃类 Olefins	十二烷三烯 (3E,5Z)-1,3,5- Undecatriene	11.911	1 179.59	0.02	0.01	0.02	0.05	0.04	0.04	0.02	0.01	0.02	
59		顺-3-十七烯 (Z)-3-Hep-tadecene	27.489	1 688.43	0.21	0.20	0.19	0.09	0.14	0.13	0.11	0.20	0.15	
60		十七烯 1-Heptadecene	27.489	1 689.58	0.18	0.17	0.16	0.09	0.12	0.12	0.10	0.18	0.13	
61		十六碳烯 Cetene	25.859	1 593.44	-	-	-	0.01	0.02	0.02	-	0.02	0.01	
62	酯类 Esters	辛酸甲酯 Octanoic acid, methyl ester	10.721	1 127.75	-	-	-	0.02	0.01	-	0.01	-	-	
63		水杨酸甲酯 Methyl salicylate	12.572	1 205.43	1.78	1.25	1.76	0.05	0.04	0.04	0.01	0.02	0.02	
64		龙脑乙酸酯 (+)-Borneol acetate	15.066	1 294.98	0.42	0.34	0.54	0.72	0.71	0.67	2.03	1.25	2.04	
65		反式松果芸香酯乙酸酯 <i>trans</i> -Pinocarvyl acetate	15.474	1 307.94	0.02	0.01	0.02	0.10	0.09	0.12	0.01	-	0.02	
66		反香叶酸甲酯 <i>trans</i> -Geran-ic acid methyl ester	16.024	1 324.78	0.04	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	0.11	0.10	0.17	
67		乙酸桃金娘烯酯 Myrtenyl acetate	16.27	1 331.03	-	-	0.01	-	-	-	-	-	-	
68		乙酸香茅酯 Citronellol acetate	17	1 354.18	0.04	0.03	0.03	0.05	0.03	0.04	0.11	0.07	0.11	
69		己酸苯乙酯 Hexanoic acid, 2-phenylethyl ester	27.028	1 660.31	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	-	-	-	-	
70		甲酸法呢酯 Farnesol formate	28.04	1 739.11	-	-	-	-	-	-	-	0.02	0.02	
71	酮类 Ketones	2-庚酮 2-Heptanone	5.642	895.62	-	-	-	-	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	
72		2-壬酮 2-Nonanone	9.999	1 096.11	0.01	0.01	0.02	0.12	0.12	0.16	0.16	0.26	0.19	
73		伞形花酮 Umbellulone	11.88	1 176.18	-	-	-	-	0.01	-	-	-	-	
74		顺十二烷-6-烯-2-酮 (Z)-Undec-6-en-2-one	14.659	1 280.21	-	-	-	0.03	0.03	0.04	0.04	0.05	0.05	

续表 1(Continued Tab. 1)

序号 No.	类型 Type	化合物 Compound	$t_R$ (min)	保留 指数 RI	相对含量 Relative content (%)								
					T			S			P		
					S1	S2	S3	S1	S2	S3	S1	S2	S3
75	醇类 Alcohols	己醇 1-Hexanol	5.104	868.75	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.02
76		2-甲基-2-庚醇 2-Methyl-2-heptanol	5.468	886.04	-	-	-	0.01	-	-	0.01	-	-
77		苯乙醇 Phenylethyl Alcohol	10.646	1124.58	0.06	0.07	0.13	0.24	0.24	0.27	0.16	0.20	0.24
78		2-羟基醋酸樟香醇 2-Hydroxycineole, acetate	16.858	1349.8	0.16	0.14	0.18	0.42	0.32	0.26	0.38	0.21	0.40
79		木薄荷衍生物 Prostantherol, derivative of	26.507	1626.55	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-
80		顺-11-十四烯-1-醇 cis-11-Tetradecen-1-ol	27.375	1681.26	-	-	0.01	0.02	0.02	0.02	-	0.02	0.01
81		6-异丙烯基-4,8a-二甲基-1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢萘-2-醇 6-Isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-naphthalen-2-ol	27.678	1700.74	-	-	-	0.02	0.01	0.01	0.01	-	0.02
82		十六醇 1-Hexadecanol	29.404	1889.39	-	-	-	0.01	0.02	0.02	-	0.02	0.02
83	醛类 Aldehydes	3-己烯醛 3-Hexenal	3.846	805.6	-	-	-	-	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02
84		己醛 Hexanal	3.852	805.72	0.01	0.04	0.06	0.08	0.25	0.26	0.10	0.09	0.17
85		反-2-己烯醛 (E)-2-Hexenal	4.841	855.35	0.11	0.21	0.33	0.05	0.48	0.53	0.11	0.21	0.37
86		苯甲醛 Benzaldehyde	7.23	970.97	-	-	-	0.02	0.02	0.03	-	-	0.01
87		苯乙醛 Benzenoacetaldehyde	8.985	1050.56	0.04	0.08	0.1	0.1	0.14	0.11	0.08	0.14	0.14
88		反-2-辛醛 (E)-2-Octenal	9.233	1062.5	-	-	-	0.01	-	-	-	-	-
89		壬醛 Nonanal	10.27	1110.13	0.03	0.03	0.06	0.06	0.06	0.07	0.03	0.03	0.03
90		十六醛 Hexadecanal	28.954	1826.31	0.01	0.01	0.03	-	-	-	-	-	-
91	芳香族类 Aromatics	1,2-二甲氧基苯 1,2-Dimethoxybenzene	11.455	1159.05	4.18	2.76	2.44	5.62	4.34	3.2	7.15	7.29	4.47
92		1,2,3-三甲氧基苯 1,2,3-Trimethoxybenzene	15.77	1316.57	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01
93	杂环类 Heterocycles	3,4-二氯-2H-吡喃 3,4-Dihydro-2H-pyran	2.775	701.22	-	-	-	-	-	-	0.02	0.01	0.02

注: - 表示未检测出该物质。

Note: - means that the substance was not detected.

值, 相对含量分别为 33.34% 和 33.13%。萜烯类化合物  $\gamma$ -杜松烯、 $\beta$ -异可烯、3,9-愈创木二烯和  $\delta$ -榄香烯在盛开期相对含量最高。乙酸桃金娘烯酯是花被片中的特异性成分。

### 2.1.2 雄蕊的挥发性成分种类和相对含量

在 3 个不同开花时期的雄蕊中共鉴定出 86 种

挥发性物质, 其中花蕾期 82 种、初开期 83 种、盛开期 80 种, 主要成分为萜烯类化合物, 有 42 种, 在 3 个开花时期的相对含量分别为 68.81%、56.44%、59.60% (见表 1)。由图 3 可知, 雄蕊中相对含量大于 2% 的挥发性成分有 10 种, 按相对含量大小排序依次为 2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、 $\gamma$ -杜

松烯、 $\beta$ -异可烯、3,9-愈创木二烯、 $\delta$ -榄香烯、1,2-二甲氧基苯、(+) -香橙烯、 $\beta$ -蒎烯和 $\alpha$ -雪松烯。萜烯类化合物在花蕾期相对含量达到最大值,烷烃类化合物相对含量在初开期均高于花蕾期和盛开期。与花被片进行对比,雄蕊中烷烃类化合物相对含量有所下降,萜烯类化合物相对含量上升。此外,伞形花酮、木薄荷衍生物和反-2-辛醛是雄蕊中的特异性成分。

### 2.1.3 雌蕊的挥发性成分种类和相对含量

在3个不同开花时期雌蕊中共鉴定出86种挥发性物质,其中花蕾期78种、初开期77种、盛开期81种。花蕾期和盛开期雌蕊中萜烯类化合物相对含量最高,相对含量分别为57.59%、62.82%。初开期雌蕊中烷烃类化合物相对含量最高,相对含量

为54.52%(见表1)。由图3可知,雌蕊中相对含量大于2%的挥发性成分有11种,按相对含量大小排序依次为2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、 $\gamma$ -杜松烯、1,2-二甲氧基苯、3,9-愈创木二烯、 $\delta$ -榄香烯、(+) -香橙烯、 $\alpha$ -雪松烯、 $\beta$ -异可烯、 $\beta$ -蒎烯和龙脑乙酸酯。2,6,10-三甲基十四烷和异十六(碳)烷在初开期相对含量达到最大值,占比为26.20%和25.90%。雌蕊中相对含量大于2%的化合物均比花被片和雄蕊中多。 $\gamma$ -杜松烯在萜烯类化合物中相对含量最高,在3个不同开花时期占比分别为18.38%、10.04%和18.68%。别罗勒烯、十二烷、甲酸法呢酯、己醇和3,4-二氢-2H-吡喃是雌蕊中的特异性成分。

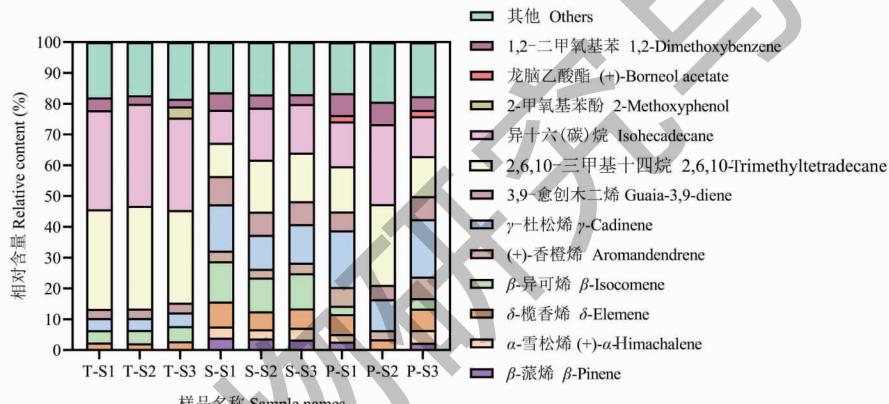


图3 ‘粉蕴’含笑不同开花时期花器官中挥发性成分的相对含量( >2%)

Fig. 3 Relative content of volatile components ( >2%) in the floral organs of *M. platypetala* ‘Fenyun’ at different flowering stages

### 2.2 挥发性成分的释放量分析

由图4可知,花被片中的挥发性成分含量最高,雄蕊次之,雌蕊最低。随着花朵的开放,3个开花时

期的花被片挥发性成分含量呈显著下降趋势,雄蕊在3个开花时期没有显著差异,而雌蕊的挥发性成分含量在花蕾期显著高于初开期和盛开期,但初开

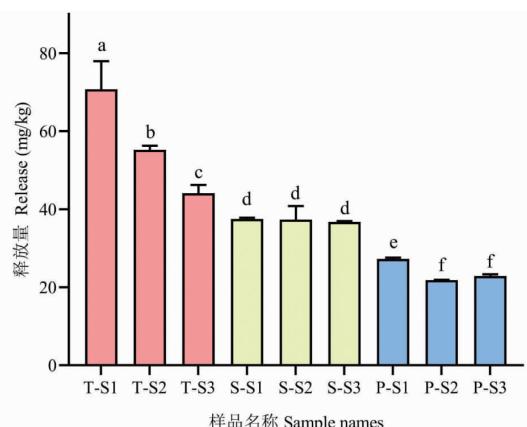


图4 ‘粉蕴’含笑不同开花时期花器官中挥发性成分的释放量

Fig. 4 Volatile component release from organs of *M. platypetala* ‘Fenyun’ at different flowering stages

期和盛开期没有显著差异。由此,‘粉蕴’含笑在花蕾期挥发性成分释放量最高,3 种花器官中花被片的挥发性成分含量最高。

### 2.3 挥发性成分的 PCA 和 PLS-DA 分析

为进一步分析‘粉蕴’含笑不同开花时期花器官挥发性成分的差异,本研究采用 PCA 对‘粉蕴’含笑各样品挥发性成分的相对含量进行分析。结果表明,主成分 1 和主成分 2 的方差贡献率分别为 57.40% 和 21.40%,说明这两个主成分包含了所有样品中的大部分信息。花蕾期、初开期、盛开期花被片与主成分 1 呈正相关,花蕾期、初开期、盛开期雄蕊与主成分 1 呈负相关,花蕾期、初开期、盛开期雌蕊与主成分 2 呈正相关,表明 3 种花器官(T、S、P)之间区分良好,不同花器官的挥发性成分有较大差异;同种花器官 3 个开花时期(S1、S2、S3)的样品较为靠近,表明同种花器官不同时期的挥发性成分差异较小(见图 5A)。

从 PCA 的载荷图(见图 5B)可知,2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、十三烷、十七烷、水杨酸

甲酯、十七烯、十六碳烯和 2-甲氧基苯酚等与主成分 1 有较大的正相关。 $\delta$ -榄香烯、 $\alpha$ -雪松烯、3,9-愈创木二烯、古巴烯、月桂烯、 $\gamma$ -杜松烯和 2-羟基醋酸樟香醇等与主成分 1 有较大的负相关。柠檬醛、香茅醇、龙脑乙酸酯、莰烯、桉油精、(+)-表双环倍半水芹烯和 (+)-香橙烯等与主成分 2 有较大的正相关。由此可知,2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、十三烷、香茅醇、龙脑乙酸酯和莰烯是导致花被片和雌蕊差异较大的物质, $\delta$ -榄香烯、 $\alpha$ -雪松烯、3,9-愈创木二烯和  $\gamma$ -杜松烯是导致雄蕊有别于花被片和雌蕊的化合物。

为进一步得出不同开花时期花器官中的差异挥发性化合物,采用 PLS-DA 对挥发性成分进行判别分析,计算变量投影重要度(variable importance in projection, VIP)可以衡量挥发性成分对各样品的影响强度。从 PLS-DA 模型 VIP 得分图(见图 5C)可知,共有 12 种挥发性成分可以作为区分 3 种花器官的差异性物质(VIP > 1),包括  $\beta$ -异可烯、 $\gamma$ -杜松烯、2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、1,2-二甲氧

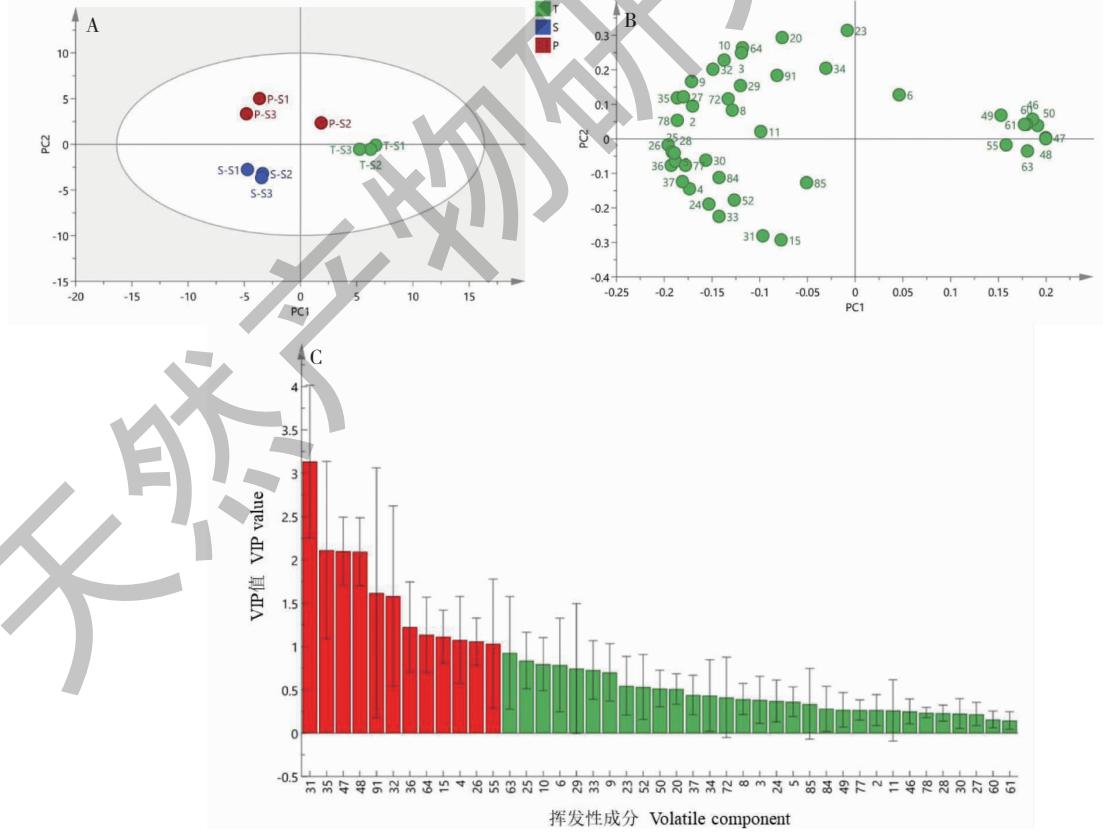


图 5 ‘粉蕴’含笑 3 种花器官的 PCA 与 PLS-DA 分析

Fig. 5 PCA and PLS-DA analysis of three flower organs of *M. platypetala* ‘Fenyun’

注: A. 93 种挥发性成分的 PCA 得分图; B. PCA 荷载图; C. PLS-DA 模型 VIP 得分图; 图 C 中编号对应的化合物同表 1。Note: A. PCA scores of 93 volatile components; B. PCA load diagram; C. VIP score chart of PLS-DA model; The numbers in the figure C corresponds to the compounds in Table 1.

基苯、( + )-香橙烯、3,9-愈创木二烯、龙脑乙酸酯、芳樟醇、 $\beta$ -蒎烯、 $\delta$ -榄香烯和2-甲氧基苯酚。其中2,6,10-三甲基十四烷、6-甲基十五烷和2-甲氧基苯酚在3个开花时期的花被片中的相对含量较高,  $\beta$ -异可烯、3,9-愈创木二烯、芳樟醇、 $\beta$ -蒎烯和 $\delta$ -榄香烯在3个开花时期的雄蕊中相对含量较高,  $\gamma$ -杜松烯、1,2-二甲氧基苯、( + )-香橙烯和龙脑乙酸酯在3个开花时期的雌蕊中相对含量较高。

### 3 讨论与结论

花香是一种重要的次生代谢物, 它由各种低分子量的化合物组成, 含有特定的化学信息<sup>[16]</sup>。花器官特化的腺状表皮细胞或基本薄壁组织细胞通常是产生植物香味的地方<sup>[17]</sup>。在含笑属植物中, 亮叶含笑花被片的主要成分为异长叶烯-5-酮<sup>[18]</sup>, 紫花含笑花被片中的主要成分为 $\alpha$ -愈创木烯<sup>[19]</sup>, 含笑花被片中2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚的相对含量高达83.26%<sup>[7]</sup>。‘粉蕴’含笑花被片中的主要成分为2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷。 $\gamma$ -杜松烯是‘粉蕴’含笑花被片中的主要成分为2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷。可见在同属植物相同花器官之间, 花被片挥发性物质的主要成分也有很大差异。挥发性成分的合成与释放可能受植物基因型和环境条件的共同影响。在未来的研究中, 可基于这两种挥发性成分开发利用‘粉蕴’含笑花被片。

$\gamma$ -杜松烯、3,9-愈创木二烯、 $\delta$ -榄香烯和( + )-香橙烯是‘粉蕴’含笑雄蕊和雌蕊中萜烯类化合物的主要挥发性成分。其中 $\gamma$ -杜松烯可用于调制柑橘、芒果等食用香精<sup>[20]</sup>。研究表明萜类物质是植物释放最多的一类化合物, 有良好的杀菌消毒、降低人体血压、使人镇静放松的作用<sup>[21]</sup>。此外, ‘粉蕴’含笑鉴定出的93种挥发性成分中, 萜烯类物质的种类最为丰富有43种, 与前人研究结果一致, 盛花期西藏虎头兰花朵中共鉴定出89种挥发性成分, 萜烯类化合物种类最多有26种<sup>[22]</sup>。紫玉兰鲜花检测出的43种成分中, 有22种是萜烯类化合物<sup>[8]</sup>。作为优良的芳香植物, ‘粉蕴’含笑可广泛应用于康复花园等健康景观中, 从而为人体的身心健康提供帮助。

目前关于不同花期的花器官挥发性成分含量变化特点的研究报道较少, 不同花器官的挥发性成分含量与花期显著相关。紫花含笑的花挥发性成分释放量在盛开期最高, 在不同开花时期中雌蕊的挥发性成分含量最高<sup>[3,23]</sup>。‘白兰地’海棠在4个开花时期中, 雌蕊的挥发性成分总释放量最高, 花瓣最低, 挥发性成分的总释放量在盛开期达到最高<sup>[24]</sup>。岳

麓连蕊茶与单体红山茶花挥发性成分含量在盛开期达到顶峰, 且雄蕊是不同花期释放香气的主要花器官<sup>[25]</sup>。本研究表明, ‘粉蕴’含笑的花挥发性成分释放量在花蕾期最高, 不同开花时期中花被片的挥发性成分含量最高, 其次是雄蕊, 雌蕊最低。因此不同的植物花香释放有不同的规律, 可能与吸引不同的传粉昆虫有关<sup>[26]</sup>。‘粉蕴’含笑在3个不同开花时期中, 3种花器官的挥发性成分的相对含量并未呈现出规律性的变化。如花被片和雌蕊中醇类化合物在盛开期达到最大值, 雄蕊中其在花蕾期达到最大值。花器官不同开花时期的花挥发性成分的变化, 可能受光照、温度和激素的共同影响<sup>[27]</sup>。

本研究采用顶空固相微萃取与气质联用技术(HS-SPME-GC-MS)从‘粉蕴’含笑不同开花时期的不同花器官中共鉴定出93种挥发性物质。2,6,10-三甲基十四烷、异十六(碳)烷、 $\gamma$ -杜松烯和 $\beta$ -异可烯是‘粉蕴’含笑开花过程中的主要挥发性成分, 不同花器官的挥发性成分存在差异, 花被片是其挥发性成分释放的主要花器官。本研究为进一步开发利用‘粉蕴’含笑中的挥发性成分提供了数据支持。

### 参考文献

- Chen XZ, Wang Q. Studies on Chinese principles in appreciating traditional flowers [J]. J Beijing For Univ(北京林业大学学报), 2001, 23:S16-S21.
- Huang H. Analysis of volatile substances in *Moringa* seeds and study on antioxidant activity [D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce(天津商业大学), 2022.
- Yuan JL. The characteristics of organ and analysis of volatile components of *Michelia crassipes* [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology(中南林业科技大学), 2022.
- Liao TZ. Study on polyphenols constituents and biological activities of extracts of six *Michelia* L. species [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology(中南林业科技大学), 2022.
- Jia YP, Chen L, Zhang J, et al. Analysis of metabolomic composition and medicinal value of *Magnolia denudata* [J]. Plant Physiol J(植物生理学报), 2022, 58:1995-2005.
- Shang C, Hu Y, Deng C, et al. Rapid determination of volatile constituents of *Michelia alba* flowers by gas chromatography-mass spectrometry with solid-phase microextraction [J]. J Chromatogr A, 2002, 942:283-288.
- Gao HJ. The forming and releasing and chemical components of fragrance of three species in *Mickelia* Linn [D]. Fuzhou:

- Fujian Agriculture and Forestry University (福建农林大学), 2009.
- 8 Ding QQ, Wu XB, Liu F, et al. Volatile organic compounds in flowers of four Magnoliaceae species [J]. J Zhejiang A F Univ(浙江农林大学学报), 2013, 30(04): 477-483.
- 9 Bhattacharyya TD, Ghosh M, Brahmachary RL. Comparative study of compounds present in essential oil of two species of *Michelia*[J]. J Indian Chem Soc, 2010, 87: 841-845.
- 10 Sun LX. Comparison study on the cold resistance of three *Michelia platypetala* under different low temperature stress [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology(中南林业科技大学), 2020.
- 11 Li RX, Jin XL, Ning Y, et al. Studies on the resources and geographical distribution of the Magnoliaceae in Hunan Province[J]. J Fudan Univ:Nat Sci(复旦学报:自然科学版), 2016, 55: 267-274.
- 12 Shi P, Jiao Y, Diggle PJ, et al. Spatial distribution characteristics of stomata at the areole level in *Michelia cavaleriei* var. *platypetala* (Magnoliaceae) [J]. Ann Bot-London, 2021, 128: 875-886.
- 13 Cai MY. Study on graft affinity of *Michelia platypetala* ‘Fenyun’ at seedling stage[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology(中南林业科技大学), 2017.
- 14 Chai YX, Hu XJ, Zhang DL, et al. Studies on compatibility of interspecific hybridization between *Michelia crassipes* and *M. figo*, *M. maudiae*, *M. platypetala*[J]. Acta Hortic Sin(园艺学报), 2018, 45: 1970-1978.
- 15 Hu XJ, Jin XL, Xing W, et al. A new *Michelia platypetala* cultivar ‘Fenyun’[J]. Acta Hortic Sin(园艺学报), 2022, 49: 1619-1620.
- 16 Zhang Y, Li C, Wang S, et al. Transcriptome and volatile compounds profiling analyses provide insights into the molecular mechanism underlying the floral fragrance of tree peony [J]. Ind Crops Prod, 2021, 162: 113286.
- 17 Effmert U, Große J, Röse USR, et al. Volatile composition, emission pattern, and localization of floral scent emission in *Mirabilis jalapa*(Nyctaginaceae)[J]. Am J Bot, 2005, 92: 2-12.
- 18 Liu L, Fang XP, Liu YL, et al. Analysis of volatile oils ingredient from the different parts of *Michelia fulgens* Dandy by GC-MS[J]. Mol Plant Breed(分子植物育种), 2017, 15: 339-345.
- 19 Yuan JL, Jin XL, Zhang Z, et al. Volatility components of *Michelia crassipes* tepals at different flowering stages[J]. Acta Hortic Sin(园艺学报), 2023, 50: 1095-1109.
- 20 Li XY, Wu JK, Zhang HJ, et al. Analysis of volatile components in whorl tepals of *Magnolia denudata* ‘Feihuang’ during its development[J]. Acta Hortic Sin(园艺学报), 2019, 46: 2009-2020.
- 21 Jin ZL, Zhang QX, Pan HT, et al. The aromatic characteristics and healthy effects of the aromatic plants[J]. Hubei Agric Sci(湖北农业科学), 2009, 48: 1245-1247.
- 22 Yan FX, Li XR, Tian F, et al. Analysis of flower aroma components of *Cymbidium tracyanum*[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2020, 32: 239-249.
- 23 Yong Y, Yuan J, Jin X, et al. Analysis of aroma volatiles from *Michelia crassipes* flower and its changes in different flower organs during flowering[J]. Horticulturae, 2023, 9: 442.
- 24 Zhou CC, Fang JJ, Tan RN, et al. Aromatics in floral organs of *Malus* Brandywine during different flowering stages[J]. Fujian J Agric Sci(福建农业学报), 2022, 37: 1038-1047.
- 25 Yang M, Li QY, Xiang CL, et al. Comparative analysis of aroma volatiles in different flowering stages and organs of *Camellia handelii* and *Camellia uraku* (Mak.) Kitamura[J]. J Huazhong Norm Univ:Nat Sci(华中师范大学学报:自然科学版), 2023, 57: 539-547.
- 26 Liu C, Zeng XL, Zheng RR, et al. Cloning and expression of the alcohol acyltransferase gene from *Osmanthus fragrans* flowers[J]. J Huazhong Agric Univ(华中农业大学学报), 2016, 35: 36-42.
- 27 Zhang JJ, Xing KX, Zhao SY, et al. Mechanism of plant flower opening and closing[J]. Plant Physiol J(植物生理学报), 2023, 59: 292-302.