

# 白木香内生真菌枝顶孢属两菌株的挥发油成分

张秀环 梅文莉 戴好富\*

(中国热带农业科学院 热带生物技术研究所 海南 海口 571101)

**摘要:** 采用溶剂萃取法提取白木香内生真菌 R1(*Acremonium* sp.)和 R2(*Acremonium* sp.)的挥发油,经 GC-MS 联用技术进行分析,从 R1 和 R2 的挥发油中分别鉴定出 20 个和 16 个成分,均以油酸、亚油酸、棕榈酸等脂肪酸为主要成分,并且均含有 1,8-桉叶油素、姜烯、芳姜黄烯等萜类成分。本研究首次报道白木香内生真菌的挥发油成分。

**关键词:** 白木香, 内生真菌, 挥发油, GC-MS

## Volatile Oil Constituents of Two *Acremonium* Endophyte Isolates from *Aquilaria sinensis*

ZHANG Xiu-Huan MEI Wen-Li DAI Hao-Fu\*

(Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571101, China)

**Abstract:** The volatile oils of endophyte isolates R1 (*Acremonium* sp.) and R2 (*Acremonium* sp.) from *Aquilaria sinensis* were extracted by solvent method. Twenty and sixteen ingredients were identified from the volatile oils of R1 and R2 by GC-MS, respectively. Fatty acids, such as oleic acid, linoleic acid, hexadecanoic acid etc., were the main components, whereas terpenoids like 1,8-cineole, zingiberene, ar-curcumene were also found in both oils. It's the first report about the volatile oil constituents of endophyte isolates from *A. sinensis*.

**Keywords:** *Aquilaria sinensis*, Endophyte isolates, Volatile oil, GC-MS

白木香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg] 为瑞香科 (Thymelaeaceae) 沉香属 (*Aquilaria*) 植物, 是一种热带及亚热带常绿乔木, 主产于海南、广东、广西等省区, 为我国特有的珍贵药用植物, 现已被列为国家二级濒危保护树种<sup>[1]</sup>。白木香含树脂的木材即为沉香, 沉香是一种传统的名贵药材和天然香料, 具有行气止痛、温中止呕、纳气平喘之功效<sup>[2]</sup>; 也常被用来制造高级香水、高级香皂、高级香精等。白木

香作为国产沉香唯一的药源植物, 其化学成分、药理作用和组织培养方面的研究已有报道<sup>[3-5]</sup>。

目前, 许多学者认为沉香是由于白木香木材组织感染真菌后形成的。戚树源<sup>[6]</sup>等研究发现, 沉香中的白木香醛等成分的形成与从沉香中分离得到的黄绿墨耳真菌 (*Melanotus flavolivens*) 有关。但是目前未见关于白木香内生真菌的研究报道, 因此不能确定白木香内生真菌是否也与沉香的形成有关。本课题

基金项目: “973 计划”前期研究专项(No. 2007CB116306); 中国热带农业科学院科技基金(No. RKY0726); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金资助项目(No. ITBBZD 2007-4-3)

\* 通讯作者: Tel: 86-898-66988061; ✉: hfdai2001@yahoo.com.cn  
收稿日期: 2008-05-19; 接受日期: 2008-07-29

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

组已从海南产白木香木质部分离获得 42 株内生真菌, 并应用 GC-MS 联用技术从 R1 和 R2 的挥发油中分别鉴定出 20 个和 16 个成分。本研究首次报道白木香内生真菌 R1 和 R2 的挥发油成分。

## 1 材料

### 1.1 供试材料

白木香内生真菌 R1 和 R2 由本实验室从白木香木质部的健康部位分离获得。白木香木质部样品于 2007 年 8 月 25 日采自海南省定安县。白木香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg] 由中国热带农业科学院热带生物技术所代正福副研究员鉴定, 标本编号为 AS20070825, 保存在中国热带农业科学院热带生物技术研究所。R1 和 R2 由本实验室经显微观察初步鉴定, 均为枝顶孢霉属 (*Acremonium* sp.) 真菌。

### 1.2 仪器

HP6890/HP5973 GC/MS 毛细管气相色谱-质谱联用仪(美国惠普公司)。

## 2 方法

### 2.1 白木香内生真菌的培养

从保藏的试管斜面挑取适量菌种 R1 和 R2, 分别接种于 PDA 平板上活化, 在长出的菌落边缘取直径 3 mm 的菌丝块, 转入装有 300 mL PD 的摇瓶中, 160 r/min 摇床培养 7 d。

### 2.2 挥发油的提取

将所得培养液中的菌丝体细胞超声破碎, 12000 r/min 离心 10 min, 弃去沉淀。采用溶剂萃取法, 将上清液用乙酸乙酯于室温下浸提 3 次, 减压浓缩后得到乙酸乙酯提取物。用乙醚溶解乙酸乙酯提取物, 过滤弃去沉淀, 回收乙醚后得到黄色油状物。R1 和 R2 的挥发油得率分别为 0.82 mL/L 和 0.67 mL/L。

### 2.3 GC-MS 成分测定

气相色谱条件: 色谱柱为 HP-Innowax Polyethylene Glycol(30.0 m×320 μm×0.25 μm)弹性石英毛细管柱, 柱温 50°C(保留 2 min), 以 4°C/min 升温至 230°C, 保持 20 min; 汽化室温度 250°C; 载气为高纯 He(99.999%); 柱前压 5.08 psi, 载气流量 2.0 mL/min; 进样量 1 μL(正己烷溶液); 分流比 40:1。

质谱条件: 离子源为 EI 源; 离子源温度 230°C;

四极杆温度 150°C; 电子能量 70 eV; 发射电流 34.6 μA; 倍增器电压 1925 V; 接口温度 280°C; 质量范围 10 amu~500 amu。

数据处理及质谱检索: 通过 HPMSD 化学工作站, 结合 NIST2005 标准质谱图库和 WILEY275 质谱图库进行鉴定, 采用色谱峰面积归一化法计算相对含量。

## 3 结果与分析

应用 GC-MS 技术, 分别对白木香内生真菌 R1 和 R2 的挥发油进行了成分分析, 结果见表 1 和表 2。

从 R1 中检出 32 个成分, 鉴定出 20 个化合物, 占总油量的 88.2%, 主要化学成分为有机酸类(71.4%)、萜类(9.5%)、醛类(5.1%)、酮类(1.5%)和酯类(0.7%)化合物。含量在 1% 以上的成分有油酸(33.2%)、亚油酸(12.5%)、乙酸(10.0%)、棕榈酸(8.1%)、(Z)-9,17-十八碳二烯醛(5.1%)、芳姜黄烯(4.9%)、硬脂酸(3.2%)、姜烯(2.9%)、丁酸(1.1%)、4-戊基苯甲酸(1.0%)。

从 R2 中检出 23 个成分, 鉴定出 16 个化合物, 占总油量的 87.7%, 主要化学成分为有机酸类(75.2%)、醇类(5.1%)、萜类(3.8%)、烷烃类(1.9%)、酚类(1.4%)和酮类(0.3%)化合物。含量在 1% 以上的成分有油酸(34.7%)、棕榈酸(14.1%)、亚油酸(14.0%)、硬脂酸(6.2%)、苯乙醇(4.2%)、乙酸(4.1%)、芳姜黄烯(2.3%)、2,3-二羟基丁烷(1.9%)、苯乙酸(1.5%)、2-甲氧基对苯二酚(1.4%)。

## 4 讨论

GC-MS 分析结果表明, 白木香内生真菌 R1 和 R2 的挥发油成分很相似, 均以油酸、亚油酸和棕榈酸等脂肪酸为主, 并含少量萜类、醇类、醛类等化合物, 其中 9 个化合物为共有成分。戚树源<sup>[6]</sup>和梁振益<sup>[7]</sup>曾报道健康白木香木材组织和白木香挥发油中的主要成分为油酸、亚油酸和棕榈酸等脂肪酸, 没有沉香的倍半萜类成分。但白木香木材组织感染真菌后, 脂肪酸含量逐渐减少, 沉香倍半萜类成分逐渐形成<sup>[6]</sup>。因此, 我们推测脂肪酸等成分可能为沉香中倍半萜类成分的形成提供了物质基础。沉香挥发油中的成分以倍半萜类为主<sup>[4]</sup>, 虽然也曾检测到油酸、亚油酸和棕榈酸等脂肪酸成分, 但可能是由于白木香植物中的脂肪酸没有被完全代谢所残留下的<sup>[8]</sup>。白木香内生真菌 R1 和 R2 的挥发油的主要成

表 1 白木香内生真菌 R1 挥发油成分及含量  
Table 1 Constituents and contents of volatile oil of endophyte isolate R1 from *A. sinensis*

编号 No.	保留时间 Retention time	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	相对含量 Relative content (%)
1	5.08	1,8-Cineole 1,8-桉叶油素	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	0.9
2	6.55	Cyclohexanone 环己酮	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	98	0.4
3	8.28	4-Hydroxy-4-methyl-2-pentanone 4-羟基-4-甲基-2-戊酮	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	116	0.9
4	10.40	γ-Terpinene γ-萜品烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.8
5	10.50	Acetic acid 乙酸	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60	10.0
6	14.73	Butanoic acid 丁酸	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88	1.1
7	15.67	Isovaleric acid 异戊酸	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	102	0.5
8	17.40	Zingiberene 姜烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	2.9
9	18.28	Ar-Curcumene 芳姜黄烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202	4.9
10	19.16	4-Pentyl-benzoic acid 4-戊基苯甲酸	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	192	1.0
11	19.44	Octanoic acid 辛酸	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	144	0.2
12	21.59	3,5-Dimethyl cyclopentenolone 3,5-二甲基环戊烯醇酮	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	126	0.2
13	21.72	Decyl butyl phthalate 邻苯二甲酸癸丁酯	C <sub>22</sub> H <sub>34</sub> O <sub>4</sub>	362	0.7
14	25.22	Sorbic acid 山梨酸	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	112	0.7
15	30.23	4-Pentylbenzoic acid 4-正戊基苯甲酸	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	192	0.9
16	37.62	Hexadecanoic acid 棕榈酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	8.1
17	40.81	(Z)-9,17-Octadecadienal (Z)-9,17-十八碳二烯醛	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O	264	5.1
18	41.18	Octadecanoic acid 硬脂酸	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284	3.2
19	41.78	Oleic acid 油酸	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	33.2
20	42.90	Linoleic acid 亚油酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280	12.5

表 2 白木香内生真菌 R2 挥发油成分及含量  
Table 2 Constituents and contents of volatile oil of endophyte isolate R2 from *A. sinensis*

编号 No.	保留时间 Retention time	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	相对含量 Relative content(%)
1	5.02	1,8-Cineole 1,8-桉叶油素	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	128	0.5
2	8.26	4-Hydroxy-4-methyl-2-pentanone 4-羟基-4-甲基-2-戊酮	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	116	0.3
3	10.51	Acetic acid 乙酸	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>	60	4.1
4	13.51	2,3-Dihydroxybutane 2,3-二羟基丁烷	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	90	1.9
5	14.73	Butanoic acid 丁酸	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	88	0.4
6	15.67	Isovaleric acid 异戊酸	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	102	0.2
7	17.40	Zingiberene 姜烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	1.0
8	18.30	Ar-Curcumene 芳姜黄烯	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202	2.3
9	20.54	Phenylethylalcohol 苯乙醇	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O	122	4.2
10	32.11	Benzeneacetic acid 苯乙酸	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	136	1.5
11	37.65	Hexadecanoic acid 棕榈酸	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	14.1
12	38.06	2-Methoxyhydroquinone 2-甲氧基对苯二酚	C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	140	1.4
13	38.72	4-Hydroxy-benzeneethanol 4-羟基苯乙醇	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	138	0.9
14	41.26	Octadecanoic acid 硬脂酸	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284	6.2
15	41.88	Oleic acid 油酸	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	282	34.7
16	42.96	Linoleic acid 亚油酸	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	280	14.0

分与健康白木香木材组织中的主要成分相似,以脂肪酸为主,而其中的倍半萜成分也与沉香挥发油中的倍半萜成分不同。因此,目前还没有证据表明它们与沉香的形成有关。

近年来,内生真菌的次生代谢产物研究发展迅速,已经分离得到生物碱、甾体、萜类、醌类、木脂素等多种类型化合物,并多具有抗菌、抗肿瘤、促进宿主植物生长、生物防治等药理和生物活性<sup>[9]</sup>。但目前对内生真菌挥发油成分的研究少有报道,而植物中具有药理或生物活性的单萜或倍半萜类化合物通常存在于挥发油中。本次研究在内生真菌 R1 和 R2 的挥发油中发现了几个植物中常见的萜类成分。其中,桉叶油素为单萜化合物,主要存在于桉叶油中,具有抗菌、杀虫等多种活性<sup>[10]</sup>。姜烯、芳姜黄烯均为生姜挥发油中主要的倍半萜化合物<sup>[11]</sup>,其中姜烯具有胃粘膜细胞保护作用<sup>[12]</sup>。因此真菌的挥发油成分值得进行深入研究。

## 参 考 文 献

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国植物红皮书-稀有濒危植物. 第1册. 北京: 科学出版社, 1992, pp.670-671.
- [2] 戴好富, 梅文莉. 海南药用植物现代研究. 北京: 中国科学技术出版社, 2007, pp.54-211.
- [3] 刘军民, 徐鸿华. 国产沉香研究进展. 中药材, 2005, 28(7): 627-632.
- [4] 杨峻山. 沉香化学成分的研究概况. 天然产物研究与开发, 1996, 10(1): 99.
- [5] 杜 勤, 王振华, 刘书芬, 等. 白木香组织培养的初步研究. 中国中药杂志, 2001, 26(10): 679-680.
- [6] 戚树源, 陆碧瑶, 朱亮锋, 等. 白木香中白木香醛形成的研究. 植物生理学通讯, 1992, 28(5): 336.
- [7] 梁振益, 张德拉, 刘长生, 等. GC-MS 法测定白木香挥发油的化学成分. 海南大学学报(自然科学版), 2005, 23(3): 228-232.
- [8] 梅文莉, 曾艳波, 戴好富, 等. 五批国产沉香挥发性成分的 GC-MS 分析. 中药材, 2007, 30(5): 551-555.
- [9] Zhang HW, Song YC, Tan RX. Biology and chemistry of endophytes. *Natural product report*, 2006, 23: 753-771.
- [10] 王文元, 顾丽莉, 吴志民. 1,8-桉叶油素的研究进展. 食品与药品, 2007, 9(2): 56-59.
- [11] 余 珍, 巫华美, 丁靖坤. 生姜的挥发性化学成分. 云南植物研究, 1998, 20(1): 113-118.
- [12] 何文珊, 严玉霞, 郭宝江. 生姜的化学成分与生物活性研究概况. 中药材, 2001, 24(5): 376-379.

## 征订启事

### 2009 年《腐植酸》杂志征订启事

《腐植酸》杂志于 1979 年创刊,由中国腐植酸工业协会主办,是全国唯一的腐植酸类专业科技期刊,面向国内外公开发行人。本刊为国际标准大 16 开,内设 60 页。《腐植酸》杂志为双月刊,国际刊号:ISSN1671-9212;国内刊号:CN11-4736/TQ。《腐植酸》杂志集学术性、专业性和实用性于一身,内容广泛、指导性强、信息量大,自 1979 年创刊以来,深受广大读者的关注与好评。主要栏目包括:“卷首语”“专题评述”“研究论文”“译文”“腐植酸文摘”“腐植酸专利简介”“腐植酸环保应用”“协会(专业)标准讨论”“腐植酸质量检测”“‘两会’动态”“信息传真”“‘乌金杯’采风”等。

在“腐植酸是关怀人类的新产业”主题思想的指引下,我国腐植酸产业呈现了蓬勃发展的大好形势。《腐植酸》杂志在 2009 年将把更新的内容、更高的质量、更优的服务展现给广大读者。欢迎各位新老读者及时订阅!如需要过刊,请直接与编辑部联系。

2009 年《腐植酸》杂志每期定价 15.00 元(含邮费),全年 6 期,年定价 90.00 元(含邮费)。

《腐植酸》杂志订购时,请从邮局汇款至编辑部。

地址:北京市西城区六铺炕街 1 号《腐植酸》编辑部收 邮编:100011

电话:010-82784950 传真:010-82784970

邮箱:chaia@126.com 网址:www.chinaha.org