

# 冬青树叶表面的红外光谱特征

姚 杰, 林 俊, 顾晓天, 王克宇, 莫祥银

(南京师范大学 分析测试中心, 江苏 南京 210097)

**[摘要]** 用红外衰减全反射技术(ATR)研究了各生长期和不同环境中冬青树叶表面的红外光谱特征. 当用黑色塑料袋套在冬青枝条上 48 h 后, 树叶表面的水分有所增加, 其它成分变化甚微. 当用透明塑料袋套在枝条上 48 h 后, 树叶表面酯类物质的特征峰  $1\,730$ 、 $1\,682\text{ cm}^{-1}$  增加, 且峰强度相当. 当冬青叶片与甲苯气体接触 48 h 后, 叶片反面酯类物质的特征峰 ( $1\,730$ 、 $1\,168$ 、 $1\,039\text{ cm}^{-1}$ ) 有所减少. 同样, 叶片正面的酯类物质 ( $1\,730$ 、 $1\,168$ 、 $1\,039\text{ cm}^{-1}$ ) 也有所减少. 扫描电镜能谱也证实了叶片反面酯类物质确有减少.

**[关键词]** 植物生理学, 红外光谱, ATR, 树叶

**[中图分类号]** O 637.33 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1672-1292(2006)04-0041-04

## The Infrared Spectroscopic Character of Ilex Leave Surface

YAO Jie, LIN Jun, GU Xiaotian, WANG Keyu, MO Xiangying

(Analysis and Testing Center, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

**Abstract** In this paper, the infrared spectrum of chemical composition of ilex leave surface and its change with environment have been studied by infrared spectroscopy with OMNI sampler. If covering ilex leaves with black plastic packing sock for 48 h, the amount of water on the leaves increases. While covering ilex leaves with transparent packing sock for the same time, the peaks ( $1\,730$ 、 $1\,682\text{ cm}^{-1}$ ) on the leaves surface increase and the heights of both peaks are similar. When the leaves contact in  $100\mu\text{L}$  toluene vapor for 48 h, the peaks ( $1\,730$ 、 $1\,168$ 、 $1\,039\text{ cm}^{-1}$ ) on the reverse surface of ilex leaves decrease a bit. It means that the amount of ester decreases. Also the amount of the other kind of ester ( $1\,730$ 、 $1\,168$ 、 $1\,039\text{ cm}^{-1}$ ) on the position surface of ilex leaves decreases. The conclusion has been proved by the data of SEM.

**Key words** plant physiology; infrared spectroscopy; ATR; leaves

植物生理学是以高等绿色植物为主要研究对象, 揭示生命活动规律及其与外界环境相互关系的一门学科. 近年来, 人们对植物生命活动奥秘的认识, 已从整体、器官、细胞水平, 深入到分子水平. 另一方面, 植物生理学与环境科学、生态学等诸多科学紧密结合, 转向从生物圈及群体的角度进行综合研究. 代谢是植物生命活动过程中各种化学变化的总称. 植物最基本、最主要的两大生理代谢(光合作用、呼吸作用)都发生在叶片上, 叶片通过气孔与外界进行着活跃的气体交换. 因此, 在植物生理学中, 研究叶片表面化学成分的变化显得十分重要. 其一, 可以从更深层次了解植物的代谢机理. 其二, 大气污染物进入植物的主要通道是植物叶片上的气孔. 所以, 研究植物叶片化学成分的变化, 可以间接地监测大气污染.

在植物生理学中, 研究细胞中各种化学成分和酶的分布常使用冷冻干燥法. 它的原理是采用瞬间冷冻, 使细胞中的化学成分来不及发生变化. 这种方法十分费时、费事. 将光谱学的方法引入植物生理学的研究, 已成为该领域的一种有用的研究工具<sup>[1-5]</sup>. 本文用红外光谱法初探了植物树叶表面的红外光谱特征, 着重研究了各生长期冬青树叶表面的红外光谱特征及叶片表面化学成分随外部环境变化的规律.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

FT-IR Nexus-670 (Nicolet), OMNI Sampler

收稿日期: 2006-04-10

作者简介: 姚杰(1958-), 女, 高级工程师, 主要从事光谱分析的教学和研究. E-mail: yaojie@njnu.edu.cn

测试条件: 扫描范围:  $4\,000\sim 650\text{ cm}^{-1}$ , 扫描次数: 32 次, 分辨率:  $4\text{ cm}^{-1}$ .

本文利用红外光谱附件 (Om in Sampler) 进行红外测试, 其工作原理是衰减全反射. 傅利叶变换红外衰减全反射 (ATR) 技术是一种表面技术, 所测的样品深度与入射光的波长有关:

$$d = \frac{\lambda_c}{2\pi \left[ \sin^2 i - \left( \frac{n_2}{n_1} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}}}$$

( 1 )

式中,  $d$  为穿透深度,  $\lambda_c$  为入射波长,  $i$  为入射角,  $n_1$  和  $n_2$  分为锗晶体材料和待测样品的折射率. 光谱学中的衰减全反射技术是一种表面技术, 它可以在不破坏被观察样品的情况下得到其表面的光谱图.

1. 2 对冬青叶片进行模拟大气污染的实验

对冬青叶片进行人为的污染, 污染物为甲苯. 将一定量的甲苯用微量注射器注入脱脂棉球中. 用甲苯污染时, 做了以下对照试验: 冬青枝条上分别套上黑色塑料袋、透明塑料袋和装有含 20、100、200  $\mu\text{L}$  甲苯棉球的透明塑料袋, 污染 48 h 后进行检测.

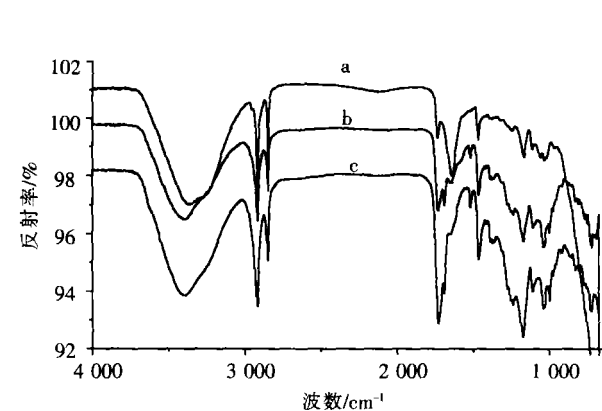
1. 3 采样及测试

将植物叶片从活体上摘下, 测试前先将叶片表面的灰尘和水用棉花轻轻拭去, 再对叶片进行长度和宽度的测量. 最后用 OMN I 采样器测其正面和反面的红外光谱.

2 结果与讨论

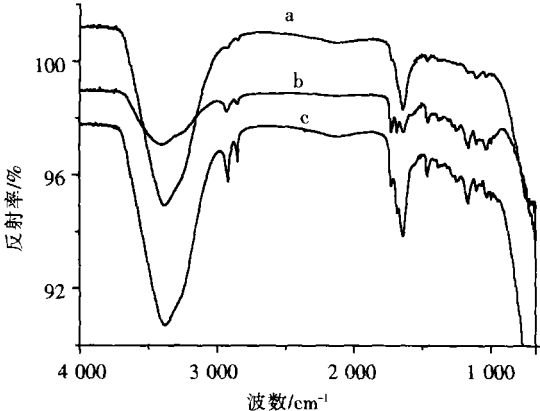
2. 1 冬青叶片表面的红外光谱

在研究植物树叶表面的红外光谱特征随外部环境变化的规律前, 首先必须弄清植物叶片表面的红外光谱特征. 经过连续两年对生长发育期的冬青树叶的红外光谱测定, 结果表明: 不同生长期的冬青树叶表面的确有其特征的红外光谱. 由图 1 可见, 刚发出的新嫩叶表面主要是水和含  $1\,730\ 1\,168\ 1\,039\text{ cm}^{-1}$  特征峰的脂肪酸酯. 随着叶片长大, 表面原有的含  $1\,730\ 1\,168\ 1\,039\text{ cm}^{-1}$  特征峰的酯类物质增加, 同时有新的酯类物种生成 ( $1\,683\ 1\,253\ 1\,105\text{ cm}^{-1}$ ). 在  $997\text{ cm}^{-1}$  处还出现了新峰. 叶面上水的相对含量有所下降. 当叶片继续长大成成龄叶时, 表面两种酯类物质含量趋于恒定. 同时出现  $1\,517\text{ cm}^{-1}$  峰, 该峰随叶片的长大而出现, 当叶片长成成龄叶后该峰强度达到最大. 所以可用该特征峰来判断冬青叶片是否成熟. 该峰可能与含氮类物质或取代芳环有关. 图 2 是冬青树叶反面的红外光谱图. 由图 2 可见, 不同叶龄叶片的反面化学成分变化也非常明显. 嫩叶表面主要含水, 酯类物质很少. 叶片在生长发育过程中, 酯类物质 ( $1\,730\ 1\,168\ 1\,039\text{ cm}^{-1}$  和  $1\,683\ 1\,253\ 1\,105\text{ cm}^{-1}$ ) 增多. 当叶片长成成龄叶时, 酯类物质趋于恒定, 同时含有较多的水. 说明叶片的上下表皮细胞的生长发育情况是不同的. 比较图 1、图 2 可进一步看出, 生长发育过程中叶片正反面的化学成分相差很大, 前者主要是酯, 后者主要是水. 且叶反面不含有带  $1\,685\text{ cm}^{-1}$  峰的酯类物质. 随着叶片长大, 叶正面和反面的化学成分的差别缩小, 带有  $1\,685\text{ cm}^{-1}$  的酯类物质也开始出现在叶反面, 此时正反两面有相同的酯类物种. 叶正面酯类物质多, 水分含量少, 而叶反面则相反.



a. 嫩叶; b. 发育中的树叶; c. 成龄叶

图 1 不同生长期冬青树叶(正面)的红外光谱



a. 嫩叶; b. 发育中的树叶; c. 成龄叶

图 2 冬青树叶(反面)不同生长期的红外光谱

## 2.2 外部环境的变化对冬青叶片表面化学成分的影响

图 3是在冬青枝条上分别套上透明塑料袋和黑色塑料袋 48h后所测得的叶片的红外光谱.由图 3可见,套透明塑料袋的叶片  $1\,733$ 、 $1\,685\text{ cm}^{-1}$ 两峰强度相当,水峰增加.而套黑色塑料袋的叶片表面红外光谱变化不大.这一现象可作如下解释:在透明袋中,叶子的环境湿度,温度较外界高,叶子的代谢过程更旺盛,故可观察到叶面水分增加,含羧基类的物质增加.而在黑色塑料袋中,黑色薄膜吸收了可见光,故其中的叶子很难发生光合作用,叶子的代谢过程与其在夜间的代谢过程相似.

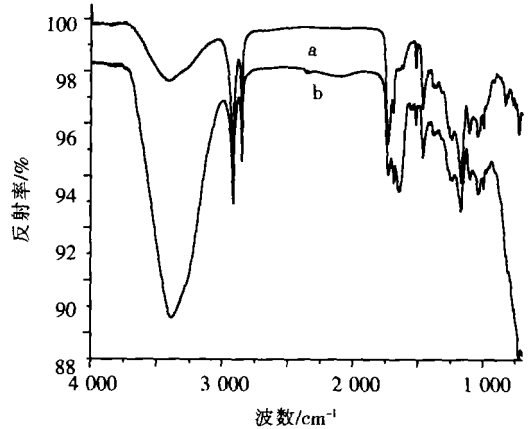
随后,分别用  $20$ 、 $100$ 和  $200\text{ }\mu\text{L}$ 的甲苯对叶片进行污染,作进一步观察,并与上述两袋中的叶片进行对比.48 h之后,发现被甲苯污染的叶片袋中水分明显比另外两袋多,其中含  $200\text{ }\mu\text{L}$ 甲苯的袋中水分最多.图 4是用  $10\text{ }\mu\text{L}$ 的甲苯污染活体冬青树叶 48 h后所得其背面的红外光谱.与本底相比,  $1\,730\text{ cm}^{-1}$ 峰有所减弱,水峰有所减少.说明甲苯的存在导致酯类物质发生部分分解.扫描电镜能谱也显示本底叶背面的 C与 O含量分别为:  $68.42\%$ 和  $29.12\%$ ;被污染的叶背面的 C与 O含量分别为:  $80.66\%$ 和  $18.99\%$ .说明甲苯污染后叶背面某种酯类物质减少.将受污染树叶正面的红外光谱与本底叶片相比,被甲苯污染的叶片  $1\,731\text{ cm}^{-1}$ 峰也相应减少.

## 3 结 论

上述实验表明:冬青叶片表面有其特征的红外光谱.嫩叶表面主要是水和含  $1\,730$ 、 $1\,168$ 、 $1\,039\text{ cm}^{-1}$ 特征峰的脂肪酸酯.叶片在生长发育过程中,酯类物质( $1\,730$ 、 $1\,168$ 、 $1\,039\text{ cm}^{-1}$ 和  $1\,683$ 、 $1\,253$ 、 $1\,105\text{ cm}^{-1}$ )增多.当叶片长成成龄叶时,酯类物质趋于恒定.随着叶片的长大出现了  $1\,517\text{ cm}^{-1}$ 特征峰,在叶片长成成龄叶后该峰强度达到最大.故可用该特征峰来判断冬青叶片是否成熟.外部环境的变化确实能引起植物叶片表面化学成分的变化.当叶片套上透明塑料袋后,在合适的温度下,可以加速叶片表面光合作用,而黑色塑料袋则阻止或减缓其光合作用.当用甲苯气体人为污染活体树叶时,由于叶子的呼吸作用,在叶片表面用红外光谱尚未发现甲苯吸附的痕迹,但甲苯的存在影响了叶子的呼吸作用和光合作用,导致叶子表面酯类物质有所减少.可见,植物叶片表面特征物质的红外光谱会随外界环境规律,即能用植物去揭示环境的污染状况.

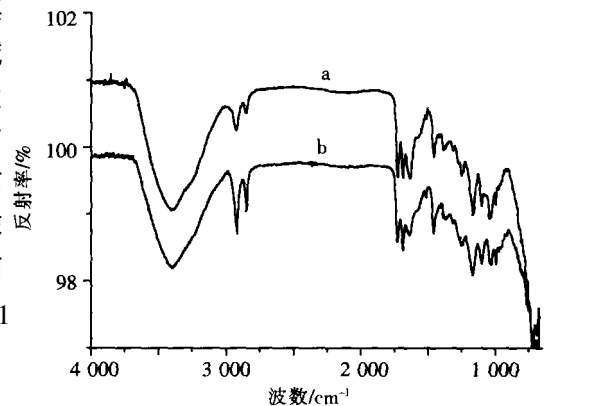
### [参考文献] (References)

- [1] 姚杰,顾晓天.光谱分析法在植物生理学研究中的应用——冬青叶片各生长期的光谱特性[J].光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 153.  
YAO Jie, GU Xiaotian. Application of spectroscopy in plant physiology—the spectroscopic character of the leaves in different growing period[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2004, 24(11): 153 (in Chinese)
- [2] DUBISEN, DUBISAT, POPLASKI J. Determination of the aromatic compounds in plant cuticular waxes[J]. Journal of Molecular Structure, 2001(596): 83–88
- [3] DUBISEN, DUBISAT, MORZYCKI J W. Comparative analysis of plant cuticular waxes using HATR FT-IR reflection technique[J]. Journal of Molecular Structure, 1999(511–512): 173–179.



a. 黑色塑料袋; b. 透明塑料袋

图 3 冬青树叶(正面)分别套上不同的塑料袋 48 h 后所得的红外光谱



a. 发育中的冬青树叶 b. 发育中的冬青树叶被  $100\text{ }\mu\text{L}$  甲苯污染

图 4 正在发育中的冬青叶片(反面)与甲苯蒸汽接触 48 h 后所得的红外光谱

- [4] VAN BEEK TER IS A. Comments on “ an extraction method for determination of ginkgolides and bilobalide in ginkgo leaf extracts” [J]. Anal Chem, 2000, 72: 3398
- [5] LANG G ingyong, WAI C M. An extraction method for determination of ginkgolides and bilobalide in ginkgo leaf extracts [J]. Anal chem, 1999, 71: 2929– 2933
- [6] 李合生. 现代植物生理学 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2002: 1– 91  
LI Hesheng. Modern Plant Physiology [M]. 2nd ed. Beijing: Higher Education Press, 2002: 1– 91. ( in Chinese)

[责任编辑: 严海琳]

(上接第 29 页)

### [参考文献] (References)

- [1] 顾惠祥, 阎宝石. 气相色谱实用手册 [M]. 2 版. 北京: 化学工业出版社, 1990: 62  
GU Hu xiang, YAN Baoshi. The Applied Handbook of Gas Chromatography [M]. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 1990: 62. ( in Chinese)
- [2] POOLE C F, POOLE S K. Chromatography Today [M]. Amsterdam: Elsevier Science, 1991: 144– 156
- [3] 王东新, MALIK A. 溶胶-凝胶法制备用于分离极性有机化合物的毛细管气相色谱柱 [J]. 色谱, 2002, 20(3): 279– 282  
WANG Dongxin, MALIK A. Preparation of capillary gas chromatographic columns for separation of polar organic compounds by sol-gel method [J]. Chinese J Chromatogr, 2002, 20(3): 279– 282. ( in Chinese)
- [4] WANG D X, CHONG S L, MALIK A. Sol-gel column technology for single-step deactivation, coating and stationary-phase immobilization in high-resolution capillary gas chromatography [J]. Anal Chem, 1997, 69(22): 4566– 4576
- [5] 王东新. 新一代气相色谱柱——溶胶-凝胶毛细管柱 [J]. 化学世界, 2003, 44(5): 266– 269, 273  
WANG Dongxin. A new type of sol-gel capillary column for gas chromatography [J]. Chemical World, 2003, 44(5): 266– 269, 273. ( in Chinese)

[责任编辑: 严海琳]