

气相色谱-质谱联用法测定荷叶表面蜡质成分

罗倩,瞿国润,吕霁烺,孙伟,张薇,祝新德,石建新

(上海交通大学生命科学与技术学院,上海 200240)

摘要:荷叶表面蜡质成分及其分布方式是荷叶效应的化学基础。本研究建立了气相色谱-质谱法检测荷叶表面蜡质成分,完成了荷叶中蜡质结构以及同系物和同分异构体含量的测定。本方法共鉴定出18种长链直链二醇和18种长链次级醇的同系物及同分异构体、6种伯醇及脂肪酸和烷烃。分析发现,荷叶蜡质成分中C27~C35的长链直链二醇和C27~C38的长链直链次级醇的同系物及同分异构体分别占荷叶表面蜡质总量的71%和20%;直链二醇同系物中C29二醇占87%,直链次级醇同系物中C29次级二醇占86%。该研究可为荷叶蜡质的生物调控机制研究提供方向,也可为荷叶效应的应用研究提供技术支持。

关键词:荷叶;蜡质;荷叶效应;二醇;次级醇;气相色谱-质谱(GC-MS)

中图分类号:O657.63

文献标志码:A

文章编号:1004-2997(2021)01-0056-09

doi:10.7538/zpxb.2019.0134

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Determination of Wax Components on Lotus Leaves by GC-MS

LUO Qian, QU Guo-run, LYU Ji-yang, SUN Wei,

ZHANG Wei, ZHU Xin-de, SHI Jian-xin

(School of Life Sciences and Biotechnology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: Lotus (*Nelumbonucifera*), a perennial aquatic herb has been cultivated for a long time in China for not only ornamental but also medicinal and edible purposes. One unique feature of lotus leaf is the Lotus Leaf Effect (LLE), which is characterized by its perfect water blocking function and self-cleaning function. It is known that LLE stems from the special surface structure of the lotus leaf, while wax compositions and their deposition patterns on the lotus leaf surface form the chemical basis of LLE. Thus, studies elucidating the chemical basis of the LLE has great potential for multiple practical applications. Nevertheless, previous studies revealed waxy chemical compositions on the surface of lotus leaves, but hardly mentioned the detailed detection methods, let alone the in-depth analyses of homologs and isomers. In this study, a method of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was established for the determination of

收稿日期:2019-10-14;修回日期:2020-04-15

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31971907);上海交通大学实验室创新研究课题(17SJ-16)资助

作者简介:罗倩(1968—),女(汉族),吉林延吉人,高级实验师,从事生物学研究。E-mail: qluo@sjtu.edu.cn

通信作者:石建新(1966—),男(汉族),江苏如皋人,副研究员,从事生化与分子生物学研究。E-mail: jianxin.shi@sjtu.edu.cn

wax components on lotus leaf surface, which was approved to be effective in the identification of the structure and contents of various wax molecules, homologues and isomers of lotus leaf surface. In total, 18 homologues and isomers each of long-chain straight-chain diols and long-chain secondary alcohols, 6 primary alcohols, and several fatty acids and alkanes were identified in the extract of lotus leaf surface. Among them, the homologues and isomers of C27-C35 long-chain straight-chain diols and C27-C38 long-chain straight-chain secondary alcohols accounted for 71% and 20% of the total wax contents, respectively, while C29 diols accounted for 87% of the total long-chain straight-chain diols and C29 secondary alcohols accounted for 86% of long-chain straight-chain secondary alcohols, respectively. Altogether, the results provide not only a future study direction on regulatory mechanisms of lotus leaf wax, but also a technical support for the potential application of LLE such as in hydrophobic, bionic and textile materials.

Key words: lotus leaf; cuticular wax; lotus effect; alkanediol; secondary alcohol; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

原生种荷花(*Nelumbonucifera*)在中国有着悠久的栽培历史。荷花是莲科(*Nelumbonaceae*)莲属(*Nelumbo*)多年生水生宿根草本植物,不仅有独特的观赏功能,还具有药用和食用价值。

荷叶正面拥有阻水功能和表面自清洁功能,称为荷叶效应^[1-2]。该功能源于荷叶表面的特殊结构、蜡质成分及其分布。荷叶的气孔位于叶片的正面,其周边表面是由微米到纳米级的乳突状小丘铺成,上面覆盖有管状的蜡质成分。这些管状结构是直链二醇(diols)和直链次级醇(secondary alcohol)因其结构特点发生弯折围拢而成的^[2-4]。该密集结构造就了荷叶独特的阻水功能,形成了荷叶效应。

蜡质是覆盖在植物表面最外层的一层脂类保护物质,主要由长链脂肪酸、烷烃、醛、酮、长链脂肪醇(伯醇)、次级醇、长链二醇等成分组成。植物叶片表面蜡质的组成及含量因植物种类而异,而不同的蜡质组合构成了植物叶片丰富多样的表面形态和性质,荷叶效应就是其中的典型代表。一直以来,荷叶效应的研究是材料、纺织、防腐甚至军事等领域的关注点。有研究者提取荷叶表面蜡质成分进行自组装,开发新型疏水材料^[5];还有学者模仿荷叶表面张力特性进行仿生材料研究^[6-7]。因此,更好地了解荷叶蜡质化学成分组成能够为这些研究提供理论依据和基础数据。国外对荷叶效应的早期研究涉及到荷叶

表面的细胞结构及覆盖其上的蜡质类型和分布^[3-4]。这些研究对荷叶表面蜡质化学成分进行了描述,但是均未对其检测方法,尤其是鉴定方法进行说明,且对同系物和同分异构体的分析不够深入。

本实验拟采用气相色谱-质谱法检测荷叶表面蜡质成分,结合成分鉴定手段对蜡质成分中的同系物和同分异构体及其相对百分含量进行测定和比较,以期为荷叶生长发育相关机理研究和荷叶效应的应用研究提供方法支持。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

TSQ8000 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS), GC-Orbitrap™ 高分辨气相色谱-质谱联用仪(GC-HRMS);美国 Thermo Fisher 公司产品。

正构烷烃标准品混合液(C7~C40),内标物正二十四烷烃(C24ALK),衍生化试剂 BSTFA(*bis*-*N,N*-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide),吡啶(Pyridine):美国 Sigma 公司产品;氯仿(色谱纯):美国 Tedia 公司产品。

实验使用的器皿和移液器等均为玻璃制品,使用前需用氯仿冲洗。

1.2 标准品制备

准确称取一定量的 C24ALK 标准品于容量瓶中,用氯仿溶解并配制成浓度为 0.2 g/L

的标准品母液,密封后置于 4 ℃ 冰箱保存。

1.3 实际样品处理

新鲜成熟荷叶采摘自上海交通大学裨闾塘中,每次摘取 3 片荷叶。剪取每片荷叶的中间部分(2 cm×2 cm),每个叶片取 5 个样品,分别置于 5 个玻璃瓶内用于分析。加入 2 mL 氯仿、50 μ L 内标,提取 1 min,再重复提取 1 次,收集 2 次的提取液至玻璃反应瓶中,使用氮吹仪将其吹干至 100 μ L,加入 20 μ L 吡啶、20 μ L BSTFA,密封后于 70 ℃ 衍生 40 min。反应结束后,将降至常温的反应液转移至 GC 样品瓶,准备上样。

1.4 仪器条件

仪器的实验条件参考文献[8],具体条件为:DB-5ms 毛细管气相色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μ m);脉冲不分流进样,压力 275.8 kPa,保持 0.7 min;Agilent 分流衬管;进样体积 1 μ L;进样口温度 300 ℃;炉温箱起始温度 50 ℃,保持 1 min,以 40 ℃/min 升温至 200 ℃,保持 1 min,以 3 ℃/min 升温至 300 ℃,保持 15 min;传输线温度 300 ℃;离子源温度 300 ℃;EI 电离能 70 eV;全扫描模式,质量扫描范围 m/z 50~650。

1.5 高分辨气相色谱-质谱参数

采用与 1.4 节相同的气相色谱采集条件和

离子源条件,分辨率 60 000 FWHM;质量扫描范围 m/z 50~650。

2 结果与讨论

2.1 蜡质成分的鉴定

荷叶蜡质成分的总离子流图示于图 1。其主要成分是直链伯醇(primary alcohol, 1-ol)、直链次级醇(secondary alcohol, sec-ol)和直链二醇(alkanediol, diol),此外,还有直链脂肪酸(fatty acid, FA)、直链烷烃(alkane, ALK)等,详情列于表 1。该检测结果与文献^[3-4]报道的荷叶蜡质组分基本一致。

蜡质成分的鉴定包括可能的结构组成、碳链长度和羟基功能团位置等。基于 GC-MS 联用检测到的离子峰和特征离子碎片,以及二醇和次级醇的质谱碎裂规律,结合相关文献^[9-11],鉴定得到 GC-HRMS 对碎片精确质量数的验证(结构精确质量偏差在 1 ppm 以内),结果示于图 2。

2.1.1 直链伯醇同系物系列 硅烷化后的长碳链伯醇同系物共同的特征是含有 m/z 57、71、73、85、103 和 M-15 系列碎片(M 是指硅烷化后的产物分子质量,15 为失去 CH₃)。其中 m/z 73 是硅烷化特征碎片, m/z 103 碎片丰度较显著,示于图 2a。

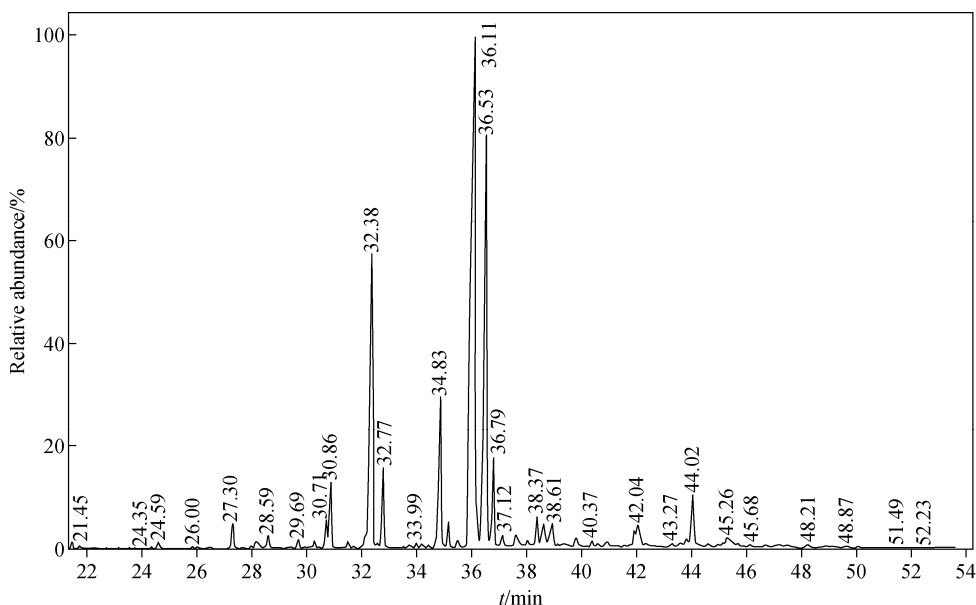


图 1 荷叶表面蜡质成分的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of wax components on lotus leaf surface

表 1 荷叶表面蜡质伯/次级醇类和二醇成分及其特征碎片

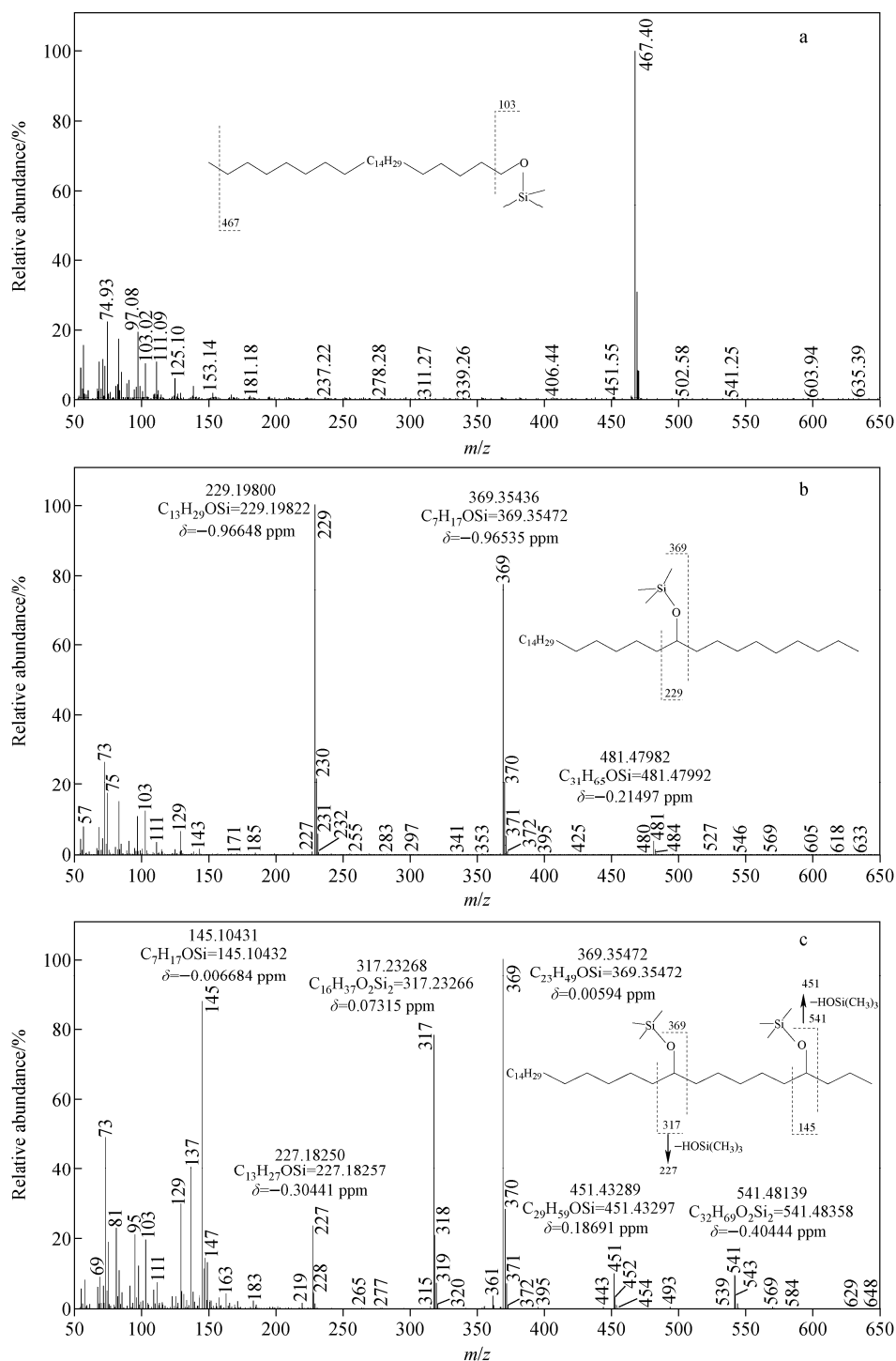
Table 1 Related fragments of primary/secondary alcohol and alkane diol detected on lotus leaf surface

类别 Category	化合物 Compound	衍生物 Derivative	M ⁺	M-15/M-90 ****	相关碎片 Related fragment ***	其他 Others	计算值 RI**	NIST 值 RI**
伯醇	C22 OL	TMSi ether	398	383	383	73,103	2557	2557
	C24 OL	TMSi ether	426	411	411	73,103	2753	2691
	C26 OL	TMSi ether	455	440	439	73,103	2950	2935
	C28 OL	TMSi ether	483	468	467	73,103	3145	3154
	C30 OL	TMSi ether	511	496	495	73,103	3340	3334
	C32 OL	TMSi ether	539	524	524	73,103	3542	3530
	C27-10-OL	TMSi ether	468	453	229,341	73,103	2882	—
	C28-10-OL	TMSi ether	482	467	229,355	73,103	2980	—
	C29-10-OL	TMSi ether	496	481	229,369	73,103	3079	—
	C30-10-OL	TMSi ether	510	495	229,383	73,103	3174	—
次级醇	C31-(12,11,10)-OL Mix*	TMSi ether	524	509	257,369[229,397;243,383]	73,103	3271	—
	C32-10-OL	TMSi ether	538	523	229,411	73,103	3372	—
	C33-(9,10,11)-OL Mix*	TMSi ether	552	537	229,425[243,411;215,439]	73,103	3468	—
	C34-10-OL	TMSi ether	566	551	229,439	73,103	3564	—
	C35-(9,10,11)-OL Mix*	TMSi ether	580	565	229,453[243,439;215,467]	73,103	3661	—
	C36-10-OL	TMSi ether	594	579	229,467	73,103	3758	—
	C37-(10,11)-OL Mix*	TMSi ether	608	593	229,481[243,467]	73,103	3857	—
	C38-10-OL	TMSi ether	622	607	229,495	73,103	3959	—
	C27-5,10-DIOL	bis TMSi ether	556	466	159,341,317(227),499(409)	73,147	3070	—
	C27-4,10-DIOL	bis TMSi ether	556	466	145,341,317(227),513(423)	73,147	3090	—

续表 1

类别 Category	化合物 Compound	衍生物 Derivative	M ⁺	M-15/M-90****	相关碎片 Related fragment***	其他 Others	计算值 RI**	NIST 值 RI**
	C28-5,10-DIOL	bis TMSi ether	570	480	159,355,317(227),513(423)	73,147	3164	—
	C28-4,10-DIOL	bis TMSi ether	570	480	145,355,317(227),527(427)	73,147	3186	—
	C29-10,13-DIOL	bis TMSi ether	584	494	229,327,457(367),359(269)	73,147	3207	—
	C29-7,10-DIOL	bis TMSi ether	584	494	187,369,317(227),499(409)	73,147	3221	—
	C29-6,10-DIOL	bis TMSi ether	584	494	173,369,317(227),513(423)	73,147	3237	—
	C29-5,10-DIOL	bis TMSi ether	584	494	159,369,317(227),527(437)	73,147	3264	—
	C29-4,10-DIOL	bis TMSi ether	584	494	145,369,317(227),541(451)	73,147	3288	—
	C30-7,10-DIOL	bis TMSi ether	598	508	187,369,317(227),513(423)	73,147	3318	—
	C30-5,10-DIOL	bis TMSi ether	598	508	159,383,317(227),541(451)	73,147	3349	—
	C31-12,15-DIOL	bis TMSi ether	612	522	257,327,387(297),457(367)	73,147	3388	—
	C31-7,10-DIOL	bis TMSi ether	612	522	187,397,317(227),513(423)	73,147	3512	—
	C33-8,10-DIOL	bis TMSi ether	640	550	201,425,317(227),541(451)	73,147	3584	—
	C34-5,10-DIOL	bis TMSi ether	654	564	159,439,317(227),599(509)	73,147	3733	—
	C35-8,10-DIOL	bis TMSi ether	668	578	201,453,317(227),569(479)	73,147	3773	—
	C35-7,10-DIOL	bis TMSi ether	668	578	187,453,317(227),583(493)	73,147	3783	—
	C36-5,10-DIOL	bis TMSi ether	682	592	159,467,317(227),625(535)	73,147	3935	—
	Unidentified Diols ^a	bis TMSi ether		522		73,147	3500	—
	Unidentified Diols ^b	bis TMSi ether		550		73,147	3594	—
	Unidentified Diols ^c	bis TMSi ether		578		73,147	3783	—

注：* 为 3 种醇的混合物；** 为 NIST 谱库保留指数；*** 第 5 列中方括号内为相应同系物特征碎片，圆括号内为 M-90 特征碎片；**** 伯醇和次级醇生成 M-15，二醇生成 M-90；
a. 推测为 C31 DIOL 混合物；b. 推测为 C33 DIOL 混合物；c. 推测为 C35 DIOL 混合物



注: a. 伯醇硅烷化产物; b. 次级醇硅烷化产物; c. 二醇硅烷化产物; 特征碎片标注精确质量偏差

图 2 荷叶蜡质成分的质谱图及其特征碎片示意图

Fig. 2 Mass spectra and fragmentation diagram of wax components of lotus leaf

2.1.2 直链次级醇同系物及同分异构体 硅烷化后的长碳链次级醇同系物产物共同的特征是含有 m/z 57、71、73、85 和 M-15 系列碎片, 羟基在 EI 源轰击碎裂会得到 2 个特征碎片。例

如, C₂₉-10-OL(nonacosan-10-ol)是荷叶典型的次级醇, 含有一对 m/z 229 ([C₁₀H₂₀OTMSi]⁺) 和 m/z 369 ([C₂₀H₄₀OTMSi]⁺) 特征离子, 以及 m/z 481 (M-15)。根据这对特征碎片以及

M-15特征离子可以鉴定不同碳链长度及羟基位点的次级醇(图 2b),以及碳链长度相同但羟基位点不同的同分异构体(表 1)。

2.1.3 直链二醇 (diol) 同系物及同分异构体 硅烷化后的长碳链二醇同系物产物均含有 m/z 57、71、85 系列特征离子, m/z 73、147 特征硅烷基化碎片及 M-15 和 M-90(M-TMSiOH) 特征碎片。不同位点的羟基会在 EI 源轰击后形成多个系列的特征碎片。例如 C29-4, 10-diol(nonacosane-4, 10-diol)形成含有 1 个硅烷基团的 m/z 145 ($[C_4H_8OTMSi]^+$)、 m/z 369 ($[C_{20}H_{40}OTMSi]^+$),以及含有 2 个硅烷基团的 m/z 317 ($[C_{10}H_{19}(OTMSi)_2]^+$)、 m/z 541 ($[C_{26}H_{51}(OTMSi)_2]^+$),这 2 个硅烷基团也会丢失 TMSiOH,形成 m/z 227、451 特征碎片。此外,还可观察到 m/z 569(M-15)和 m/z 494 (M-90)碎片(图 2c)。

这些直链二醇同系物因为 2 个羟基位点不同,构成的同分异构体可根据质谱特征碎片进行鉴定,结果列于表 1。

2.1.4 直链脂肪酸和直链烷烃 直链脂肪酸

和直链烷烃通过 NIST 谱库进行鉴定。

2.1.5 保留指数 将 C7~C40 正构烷烃标准品混合液按照 1.4 节条件上样,获得烷烃保留时间^[12],然后根据线性保留指数计算公式,计算出荷叶各个组分的保留指数(RI)。

$$RI = 100Z + 100[t_{R(x)} - t_{R(Z)}] / [t_{R(Z+1)} - t_{R(Z)}]$$

(1)

式中, t_R 为保留时间(min); x 为待分析的化合物; $Z, Z+1$ 为两个相邻正构烷烃的碳原子数,且 $t_{R(Z)} < t_{R(x)} < t_{R(Z+1)}$ 。

2.2 蜡质成分的定量分析

2.2.1 各组分的含量及占比 以 C24ALK 为内标,计算每个成分的相对百分含量和同系物系列化合物的比例。根据 GC-MS 提取的特征离子响应比例,计算同系物内各个同分异构体的比例。

2.2.2 荷叶中长碳链次级醇成分 鉴定出的长碳链次级醇的碳链长度在 29~37 之间,都是奇数次级醇。这组同系物以 C29ol 为主,相对百分含量约占 86.6%,其他各成分含量列于表2,这些次级醇的羟基位点基本以第10位为

表 2 荷叶表面蜡质中次级醇和二醇的同系物及其同分异构体的相对百分含量
Table 2 Relative composition of the homologue and isomer of secondary alcohols, alkane diols in the total wax of lotus leaf

同系物碳链长度 Homologue chain length	同系物占比 Homologue Composition/%	同系物内同分异构体占比 ¹ Isomer composition within homologues/%				
		C9	C10	C11	C12	
<i>Secondary alcohol</i>						
C29	86.6		100			
C31	6.8		23.9±4.0	2.6±0.4	73.5±4.1	
C33	3.5	21.6±6.0	67.3±7.0	11.1±1.5		
C35	1.1	18.6±5.2	66.8±4.8	14.6±2.3		
C37	1.1		58.7±3.7	41.3±3.7		
C27,C28,C30,C32,C34,C36,C38	trace ²					
<i>Alkanediol</i>						
C29	87.3	C-10,13 12.32±1.8	C-7,10 2.4±1.2	C-6,10 0.6±0.2	C-5,10 47.1±6.3	C-4,10 37.5±4.6
C31 ³	5.1	C-12,15	C7,10			
C33 ⁴	3.5	C-8,10				
C35 ⁵	2.1	C-8,10	C-7,10			
C27,C28,C30,C32,C34,C36	trace ²					

注:1. 计算值为 3 组结果平均值,同分异构体占比在碳链长度内进行比较;
2. trace<0.5%;
3. 3、4、5. 因有混合未确定位点的二醇,未进行比较

主。值得一提的是,C31、C33 和 C35 这 3 种次级醇均为不同羟基位点的混合物,利用 GC-MS 法提取特征离子进行比较分析,发现 C33 的次级醇应该是羟基分别在 11、10 和 9 位(按流出顺序)的混合物,以 C33-10-ol 为主,三者百分比分别约为 $(11.1 \pm 1.5)\%$ 、 $(67.3 \pm 7.0)\%$ 和 $(21.6 \pm 6.0)\%$;碳链长度为 35 的次级醇应该是羟基分别在 11、10 和 9 位(按流出顺序)的混合物,以 C35-10-ol 为主,三者百分比分别约为 $(14.6 \pm 2.3)\%$ 、 $(66.8 \pm 4.8)\%$ 和 $(18.6 \pm 5.2)\%$;比较特殊的是碳链长度为 31 的次级醇,其羟基位点分别在第 12、11 和 10 位(按流出顺序)的混合物,以 C31-12-ol 为主,三者百分比分别约为 $(73.5 \pm 4.1)\%$ 、 $(23.9 \pm 4.0)\%$ 和 $(2.6 \pm 0.4)\%$,该结果与文献^[3]报道一致。此外,还发现了偶数碳链的次级醇,包括 C28~C38 的次级醇,与奇数次级醇相比,它们的含量很低。

2.2.3 荷叶中长碳链二醇成分 已有文献^[1-2,9]报道,植物中的二醇来源于其对应碳链的次级醇。本实验发现,荷叶中长碳链二醇成分以 C29 二醇为主,经分析,C29 diol 由 6 种系列二醇同分异构体组成。按 2 个羟基位置区分,以 C29-4,10-diol 和 C29-5,10-diol 含量居多,百分比分别为 $(47.1 \pm 6.3)\%$ 和 $(37.5 \pm 4.6)\%$;C31、C33 和 C35 二醇产物比较复杂,通过气相色谱-质谱检测发现三者含量低,存在共流出情况,因此难以单独鉴定,以 MIX 代替。二醇产物的复杂性可能来自于其上游底物次级醇本身的混合性。

2.2.4 荷叶表面蜡质成分的组成分析 各组分计算结果按类别分别合计后,得到每个类别组分在总组分中的占比,结果示于图 3。荷叶蜡质成分中,以二醇含量最高,约占总蜡质的 71%;其次是次级醇,约占 20%;再次是烷烃,约占 7%;脂肪酸及伯醇类蜡质成分很低,小于 1%。

3 结论

荷叶表面细胞的超微结构和分布的蜡质与荷叶效应直接相关。荷叶中含有多种化学组分,不同的化学成分需要使用不同的检测方法。超高效液相色谱-串联四极杆静电场轨道阱质

谱联用技术和 UPLC-Q TOF-MS/MS 技术可用于荷叶中荷叶碱和黄酮类等物质的鉴定^[13-14]。荷叶表面的蜡质成分主要由非极性的脂类小分子化合物组成,因此,气相色谱-质谱是比较理想的检测方法。

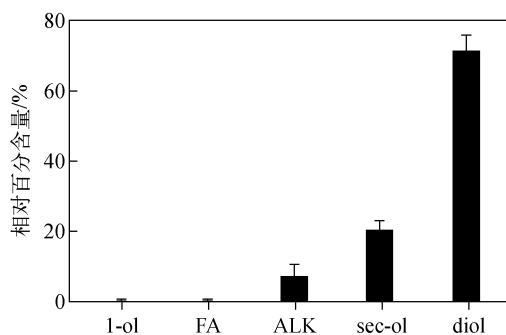


图 3 荷叶表面各类蜡质成分的相对百分含量

Fig. 3 Relative contents of various wax compositions detected in lotus leaf surface

本课题组对植物表面蜡质成分测定中的气相色谱-质谱条件进行了优化,并建立了植物组织蜡质的定性和定量方法^[8]。本实验使用更新的 TSQ8000 GC-MS 联用仪,不仅成功地鉴定出荷叶蜡质中的全部蜡质成分,还利用质谱仪产生的有效离子碎片,对直链次级醇和直链二醇的不同碳链的同系物和相同碳链的同分异构体进行分析。在此基础上,利用高分辨质谱对特征碎片的准确性进行验证。

本方法对于进一步了解荷叶蜡质成分对荷叶乃至整个荷花植株的生长发育,以及对水淹、UV 照射等自然逆境反应都具有极其重要的意义,对于深入了解荷叶效应背后的分子遗传机制及可能的应用具有重要价值。

参考文献:

- [1] BARGEL H, KOCH K, CERMANN Z, NEINHUIS C. Structure-function relationships of the plant cuticle and cuticular waxes-a smart material [J]. Functional Plant Biology, 2006, 33: 893-910.
- [2] KOCH K, ENSIKAT H J. The hydrophobic coatings of plant surfaces: epicuticular wax crystals and their morphologies, crystallinity and molecular self-assembly[J]. Micron, 2008, 39 (7): 759-772.

- [3] BARTHLOTT W, NEINHUIS C, JETTER R, RAUELR T B, RIEDERER M. Waterlily, poppy, or sycamore; on the systematic position of *Nelumbo*[J]. *Flora*, 1996, 191(2): 169-174.
- [4] ENSIKAT H J, DISCHE-KURU P, CHRISTOPH N, WILHELM B. Super hydrophobicity in perfection; the outstanding properties of the Lotus leaf[J]. *Beilstein J Nanotechnol*, 2011, 2: 152-161.
- [5] 周文木,王孝杰,胡碧茹,吴文键. 一种基于蜡质自组装的疏水涂层制备方法[J]. *化工新型材料*, 2010,38(11):103-104,118.
ZHOU Wenmu, WANG Xiaojie, HU Biru, WU Wenjian. A novel method to prepare hydrophobic coating based on waxes self-assembly[J]. *New Chemical Materials*, 2010, 38(11): 103-104, 118(in Chinese).
- [6] 余斌,吴学忠,肖定邦. 仿生超疏水表面技术及其军事应用[J]. *国防科技*, 2015,36(5):42-45.
YU Bin, WU Xuezhong, XIAO Dingbang. The bionic superhydrophobic surface technology and its military application[J]. *National Defense Science & Technology*, 2015, 36(5): 42-45(in Chinese).
- [7] 范细秋,赵晓栋,张鸿海. 具有“荷叶效应”的硅基仿生表面的制备及其微摩擦性能[J]. *纳米技术与精密工程*, 2010,8(4):300-306.
FAN Xiqiu, ZHAO Xiaodong, ZHANG Honghai. Fabrication and micro tribological performance of bionic silicon surfaces with Lotus effect[J]. *Nanotechnology and Precision Engineering*, 2010, 8(4): 300-306(in Chinese).
- [8] 罗倩,瞿国润,吕零烺,石建新. 植物表面蜡质测定中气质检测条件的优化[J]. *实验室研究与探索*, 2013,32(10):287-290,307.
LUO Qian, QU Guorun, LV Jiyang, SHI Jianxin. Optimization of GC-MS conditions for plant cuticular wax determination[J]. *Research and Exploration in Lab*, 2013, 32(10): 287-290,307 (in Chinese).
- [9] WEN M, JETTER R. Composition of secondary alcohols, ketones, alkanediols, and ketols in *arabidopsis thaliana* cuticular waxes[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(6): 1 811-1 821.
- [10] JETTER R, RIEDERER M. Long-chain alkanediols, ketoaldehydes, ketoalcohols and ketoalkyl esters in the cuticular waxes of *Osmunda regalis* fonds[J]. *Phytochemistry*, 1999, 52(5): 907-915.
- [11] GUO Y J, BUSTA L, JETTER R. Cuticular wax coverage and composition differ among organs of *Taraxacum Officinale*[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017, 115: 372-379.
- [12] 赵洁,唐军,陈兆慧,符继红. 薰衣草化学成分分析及差异标志物的识别[J]. *质谱学报*, 2016,37(6):517-525.
ZHAO Jie, TANG Jun, CHEN Zhaohui, FU Jihong. Identification of chemical constituents and discrimination markers in lavender by HS-SPME-GC/MS[J]. *Journal of Chinese Mass Spectrometry Society*, 2016, 37(6): 517-525(in Chinese).
- [13] 隋振宇,侯朋艺. 基于超高效液相串联-四极杆静电场轨道阱质谱联用技术对荷叶中化学成分进行快速鉴定[J]. *中国药学杂志*, 2019,54(10): 813-818.
SUI Zhenyu, HOU Pengyi. Rapid identification the components of *Nelumbinis Folium* based on UHPLC-Q-Obitrap platform[J]. *Chin Pharm J*, 2019, 54(10): 813-818(in Chinese).
- [14] 张露,王红红,杨斯涵,涂宗财,李军,陈娟,黄玉珠. 基于 UPLC-Q TOF-MS/MS 技术分析荷叶乙酸乙酯相中主要化学成分[J]. *食品科学*, 2019,40(22):229-235.
ZHANG Lu, WANG Honghong, YANG Sihan, TU Zongcai, LI Jun, CHEN Juan, HUANG Yuzhu. Characterization of the chemical constituents in the ethyl acetate fraction of Lotus leaf by UPLC-Q TOF-MS/MS[J]. *Food Science*, 2019, 40(22): 229-235(in Chinese).