

不同杂交家系铁皮石斛花多糖、浸出物及氨基酸 质量分数分析

吕素华, 徐 萌, 张新风, 刘京晶, 斯金平

(浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300)

摘要: 铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 花是铁皮石斛药材的非药用部位, 为测定其多糖、浸出物、氨基酸的质量分数, 探讨 3 种成分之间的内在关系, 全面了解铁皮石斛花中的物质分布规律, 利用药典方法测定铁皮石斛花的多糖、浸出物质量分数, 并采用 17 种氨基酸标准品, 通过酸水解法提取、异硫氰酸苯酯(PITC)柱前衍生处理样品, 结合反相高效液相色谱法(RP-HPLC)测定 10 个不同杂交家系铁皮石斛花中的氨基酸组成与质量分数。结果表明: 铁皮石斛花中多糖质量分数平均为 $71.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 浸出物质量分数为 $300.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 从铁皮石斛花中检测到 16 种氨基酸, 总氨基酸平均质量分数为 7.88%; 3 种成分质量分数差异显著($P < 0.05$)。利用 SPSS 17.0 分析 3 种成分之间的相关性, 多糖和浸出物在合成积累上呈现负相关, 与氨基酸之间相关性不明显($P > 0.05$)。铁皮石斛花中含有较丰富的多糖、浸出物及氨基酸等营养及功效成分, 具有一定的保健开发价值。图 1 表 3 参 11

关键词: 中草药学; 铁皮石斛花; 氨基酸; 多糖; 浸出物; 相关性

中图分类号: S567.9

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2016)05-0749-07

Polysaccharides, extracts, and amino acids in hybrid *Dendrobium officinale* flowers

LÜ Suhua, XU Meng, ZHANG Xinfeng, LIU Jingjing, SI Jinping

(The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: *Dendrobium officinale* flowers, which have many non-medicinal folk applications, were studied to determine the distribution and correlation of substances. Using pharmacopeia methods 1) the polysaccharide content, 2) the extracts, and 3) the amino acid content were determined by acid hydrolysis and phenyl iso-thiocyanate (PITC) pre-column derivatization combined with a Reversed-phase-high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) assay. SPSS 17.0 was used for the analysis. Results showed *D. officinale* flowers had an average of $71.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ polysaccharides and $300 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ extracts; 16 kinds of amino acids having 7.9% of total amino acids were found. The SPSS 17.0 analysis for the relationship of the three ingredients revealed a negative correlation for the synthetic accumulation between polysaccharide and extracts, but no significant correlation with amino acids. In all, *D. officinale* flowers had nutritional and functional components including polysaccharides, extracts, and amino acids offering potential health benefits. [Ch, 1 fig. 3 tab. 11 ref.]

Key words: Chinese herbology; *Dendrobium officinale* flowers; amino acids; polysaccharide; extracts; correlation

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 主要以茎入药, 其质量主要以多糖、浸出物含量作为评价依据^[1]。铁

收稿日期: 2015-09-17; 修回日期: 2015-10-27

基金项目: 浙江省科学技术公益技术应用项目(2015C32097)

作者简介: 吕素华, 从事药用植物遗传改良研究。E-mail: 1037420126@qq.com。通信作者: 张新风, 副教授, 博士, 从事天然产物及药用植物质量评价。E-mail: zhangxf73@163.com

皮石斛花虽是非药用部位,但在栽培生产中产量较大,民间多用来制作花茶,已有报道其含有黄酮类^[2]、多糖^[3]、氨基酸^[4]等成分。本课题组在铁皮石斛杂交选育中发现:不同来源的铁皮石斛亲本杂交出来的子代鲜花在外观、气味、颜色等方面表现差异较大,但关于铁皮石斛杂交家系鲜花在多糖、醇溶性成分、氨基酸等成分上的分布规律及质量分数还未见报道。本试验采集不同杂交家系铁皮石斛鲜花,参照药典方法测定多糖及浸出物质量分数,并以17种氨基酸为标准,采用异硫氰酸苯酯(PITC)进行柱前衍生^[5-6],结合反相高效液相色谱法(RP-HPLC)^[7]分析铁皮石斛花中氨基酸质量分数,探讨多糖、浸出物和氨基酸等成分之间的相关性,比较样本之间的品质差异,揭示铁皮石斛花中主要营养及功效成分的分布及比例,对铁皮石斛花的品质研究及资源开发利用具有重要的理论意义。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

AB104-N 电子分析天平(中国梅特勒托利多仪器上海有限公司);DK-S24 型电热恒温水浴锅(中国上海森信实验仪器有限公司);D-37520 型高速离心机(德国 Heraeus 公司);GENESYS 10S UV-Vis 紫外分光光度计;DHG-9070HA 精密性强制对流干燥箱(中国杭州蓝天化验仪器厂);Agilent 1200 高效液相色谱系统(美国 Agilent 公司,含四元梯度泵、自动进样器、二极管阵列检测器)。

安捷伦氨基酸分析柱,17种氨基酸混合标准溶液:天冬氨酸(Asp),谷氨酸(Glu),丝氨酸(Ser),甘氨酸(Gly),组氨酸(His),精氨酸(Arg),苏氨酸(Thr),丙氨酸(Ala),脯氨酸(Pro),酪氨酸(Tyr),缬氨酸(Val),蛋氨酸(Met),胱氨酸(Cys),异亮氨酸(Ile),亮氨酸(Leu),苯丙氨酸(Phe),赖氨酸(Lys),购自中国天津博纳艾杰尔公司。

葡萄糖标准品(购自中国药品生物制品鉴定所,110833-200904);重蒸酚(中国北京索莱宝科技有限公司);其他试剂均为分析醇,水为自制蒸馏水。

1.2 供试样品

供试样品10个杂交家系铁皮石斛亲本来自于中国主要分布区内^[8-9],所有杂交子代鲜花均于2014年5月12号采自浙江省义乌丹溪药博园,杂交家系有1×6,80×27,6A×2B,78×69,9×66,森山1号,83×34,80×56,17×30,68×72。采集的铁皮石斛花样品均于65℃烘箱中烘干,粉碎,过60目筛,干燥器中保存备用。

1.3 方法

1.3.1 多糖质量分数测定方法 参照《中华人民共和国药典:2010年版一部》,精密称量不同家系铁皮石斛花粉各0.30 g,加入200.00 mL蒸馏水2.00 h回流提取,过滤定容至250.00 mL。移液管精密量取5.00 mL于50.00 mL离心管中,加25.00 mL无水乙醇,4℃冰箱静置1.00 h后,4 000 r·min⁻¹离心20.00 min,弃上清液加入体积分数为80.00%乙醇20.00 mL离心20.00 min,重复2次,弃上清液,沉淀加水助溶,定容至50.00 mL。加1.00 mL样品溶液于试管中,冰水中加体积分数5.00%苯酚1.00 mL,混匀后加入5.00 mL浓硫酸,充分混匀,冰水中静置5.00 min,沸水浴20.00 min,取出在冰水中放凉,于488.00 nm处测定吸光度,试验平行3次。以葡萄糖标准品制作标准曲线,回归方程为 $y=8.7171x+0.0147$, $R^2=0.999$,其中 y 为吸光度, x 为质量浓度。

1.3.2 浸出物质量分数测定方法 参照《中华人民共和国药典:2010年版一部》附录VA项下热浸法测定,以体积分数为95.00%无水乙醇做溶剂。精密称定供试样品2.00 g,置于100.00 mL具塞圆底烧瓶中,精密加乙醇50.00 mL,密塞称定质量静置1.00 h,85℃水浴回流煮沸1.00 h,放冷取下密塞并补足差质量,摇匀过滤,移液管精密量取25.00 mL,置于干燥至恒量的蒸发皿中,水浴蒸干,105℃烘箱干燥3.00 h,干燥器冷却30.00 min,迅速精密称定质量,以干燥品计算供试品中醇溶性浸出物的质量(%),试验平行3次。

1.3.3 氨基酸质量分数测定方法 ①标准溶液及试剂配制。标准溶液:氨基酸混合标准溶液除胱氨酸浓度为1.25 mmol·L⁻¹,其余16种氨基酸浓度均为2.50 mmol·L⁻¹,置于冰箱中备用,使用前室温放置30.00 min。异硫氰酸苯酯乙腈溶液:准确移取25.00 μL异硫氰酸苯酯溶液与2.00 mL乙腈混匀。三乙胺乙腈溶液:准确移取1.40 mL三乙胺,乙腈定容至10.00 mL容量瓶中。正亮氨酸内标溶液:精确称取正亮

氨酸 10.00 mg，加 0.10 mol·L⁻¹ 盐酸溶液 10.00 mL 溶解，混匀。流动相 A(乙酸钠缓冲盐溶液)：精密称取 15.20 g 无水乙酸钠，去离子水 1 850.00 mL，溶解后冰醋酸调 pH 6.50，然后加乙腈 140.00 mL，混匀，0.45 μm 滤膜过滤，超声 30.00 min 备用；流动相 B：体积分数为 80.00%乙腈水溶液。②色谱条件。Venusil AA 氨基酸分析柱(4.60 mm×250 mm，5.00 μm)，流动相：A，B 柱温 40.00 ℃，进样量 10.00 μL，波长 254 nm，流速 1.00 mL·min⁻¹。流动相梯度(B)：0~2.00 min，0.00%~0.00%；2.00~15.00 min，0.00%~10.00%；15.00~25.00 min，10.00%~30.00%；25.00~33.00 min，30.00%~45.00%；33.00~33.10 min，45.00%~100.00%；33.10~38.00 min，100.00%~100.00%；38.00~38.10 min，100.00%~0.00%；38.10~45.00 min，0.00%~0.00%。③样品水解液制备。参照 GB/T 5009.124-2003《食品中氨基酸的测定》。精密称取铁皮石斛花样品各 0.20 g，精确到 0.000 1 g，置于 20.00 mL 水解管中，加 10.00 mL 含体积分数为 0.10%苯酚的 6.00 mol·L⁻¹ 盐酸，振摇使样品均匀分散于溶液中，-20.00 ℃冰箱冷冻 3.00~5.00 min，N₂ 封管。(105.00±1.00) ℃烘箱中水解 24.00 h，取出冷却至室温。水解液 1.00 mL，浓缩至干后加 1.00 mL 浓度为 0.10 mol·L⁻¹ 盐酸助溶，0.45 μm 微孔滤膜过滤后储于冰箱，衍生备用。④铁皮石斛花水解液 HPLC 柱前衍生。1.50 mL 离心管中分别准确吸取氨基酸标准溶液及样品 200.00 μL，加入正亮氨酸内标溶液 20.00 μL，三乙胺乙腈溶液 100.00 μL，异硫氰酸苯酯乙腈溶液 100.00 μL，混匀，室温静置 1.00 h。加入正己烷 400.00 μL，振摇后放置 10.00 min，取下层溶液，0.45 μm 微孔滤膜过滤，待测。样品溶液中各种氨基酸质量浓度(mg·L⁻¹)= $f_1/f_2 \times c$ 。其中： f_1 为样品溶液中各氨基酸峰面积/内标峰面积； f_2 为混合氨基酸标准溶液中各氨基酸峰面积/内标峰面积。 c 为氨基酸对照品质量浓度(mg·L⁻¹)。⑤氨基酸数据分析。利用方差分析比较不同家系铁皮石斛花各氨基酸含量的差异，使用 SIMCA-P 统计软件(Version 11.0, Umea, 瑞典)进行偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)。该分析方法可提供变量重要性投影参数(V_{IP})定量估计每个单元的区分能力， V_{IP} 值可根据自己区分不同类别的能力对描述对象进行分类^[10]。以不同氨基酸含量为变量进行偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)，分析不同家系之间氨基酸含量的差异。

2 结果与分析

2.1 铁皮石斛花多糖、浸出物质量分数

利用苯酚-硫酸法和热浸法分别对不同品系铁皮石斛花中多糖和浸出物质量分数进行测定，结果如表 1 所示。《中华人民共和国药典：2010 年版一部》中规定铁皮石斛茎多糖质量分数不得低于 250.00 mg·g⁻¹，醇溶性浸出物不得低于 65.00 g·kg⁻¹(6.50%)。本试验测定铁皮石斛花中多糖约为 71.00 mg·g⁻¹，比茎中要低；花中浸出物平均约为 300.00 mg·g⁻¹，远远高于药典标准，说明其含有丰富的次生代谢物质。由表 1 可以看出：不同家系间铁皮石斛花多糖、浸出物差异显著，其中 68×72，6A×2B，78×69 和森山 1 号 4 个家系铁皮石斛花多糖质量分数显著高于其他家系，1×6，80×27，9×66 和 83×34 浸出物质量分数显著高于其他家系。

表 1 不同杂交家系铁皮石斛花中多糖及浸出物质量分数

Table 1 Polysaccharide and extracts contents of 10 *Dendrobium officinale* hybrids flowers

杂交家系	多糖/(mg·g ⁻¹)	浸出物/(mg·g ⁻¹)	杂交家系	多糖/(mg·g ⁻¹)	浸出物/(mg·g ⁻¹)
1×6	56.70 ± 0.19 c	330.00 ± 0.02 a	83×34	68.20 ± 1.20 bc	310.00 ± 0.05 abc
80×27	62.50 ± 0.28 bc	310.00 ± 0.01 abc	80×56	68.20 ± 0.77 bc	300.00 ± 0.03 bcd
6A×2B	82.60 ± 1.63 abc	280.00 ± 0.02 de	17×30	70.10 ± 0.75 bc	290.00 ± 0.02 cd
78×69	79.70 ± 0.11 ab	300.00 ± 0.03 bcd	68×72	67.30 ± 2.42 a	300.00 ± 0.03 bcd
9×66	69.20 ± 0.83 bc	320.00 ± 0.01 ab	平均值	71.00	300.00
森山 1 号	85.40 ± 1.63abc	260.00 ± 0.02 e			

说明：不同小写字母表示家系间差异显著($P<0.05$)。

2.2 铁皮石斛花氨基酸质量分数

通过酸水解、柱前衍生 HPLC 对铁皮石斛花中的氨基酸进行分析，得铁皮石斛花液相色谱图(图 1)。通过氨基酸指纹图谱对比发现，10 个家系花的氨基酸组成基本一致。与标品相比，除了胱氨酸外共检测到了 16 种氨基酸。铁皮石斛花中含有包括苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙

氨酸和赖氨酸等在内的 7 种必需氨基酸, 另外 9 种基本氨基酸有天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、丙氨酸、脯氨酸和酪氨酸。

由表 2 可知: 铁皮石斛花中总氨基酸平均质量分数为 $78.52 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 其中必需氨基酸平均为 $30.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 基本氨基酸平均为 $48.26 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在所有分析的家系中, 83×34 的总氨基酸质量分数最高, 达到 $98.02 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$; 1×6, 78×69, 80×56, 68×72 等 4 个家系的总氨基酸质量分数均大于 $80.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。1×6, 9×66, 78×66 等 3 个家系中必需氨基酸占总氨基酸的比例显著高于其他家系 ($P < 0.05$); 83×34, 68×72 中基本氨基酸占总氨基酸的比例显著高于其他家系 ($P < 0.05$)。

在 10 个铁皮石斛家系花检测到的 7 种必需氨基酸平均质量分数为 $2.57 \sim 8.81 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 7 种必需氨基酸差异显著 ($P < 0.05$), 其中异亮氨酸和亮氨酸是铁皮石斛花中的主要必需氨基酸, 显著高于其他 5 种氨基酸 ($P < 0.05$), 平均质量分数分别为 $8.81 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $6.42 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 约占必需氨基酸总质量分数的 50.00% 以上; 蛋氨酸平均质量分数最少, 仅有 $1.28 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 仅占必需氨基酸的 4.24%。

9 种基本氨基酸在 $1.82 \sim 12.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 范围内。9 种基本氨基酸质量分数差异显著 ($P < 0.05$), 其中天冬氨酸显著高于其他 8 种 ($P < 0.05$), 平均为 $12.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 占基本氨基酸质量分数的 26.02%; 其次是谷氨酸 ($9.94 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 占 20.47%; 组氨酸在基本氨基酸中最低 ($1.82 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$), 仅占基本氨基酸质量分数的 3.75%。

通过表 2 中不同氨基酸方差分析可知: 不同家系氨基酸质量分数差异显著 ($P < 0.05$), 且天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸和脯氨酸对不同家系氨基酸组成贡献值最大。

2.3 铁皮石斛花多糖、浸出物、氨基酸相关性分析

对铁皮石斛花的多糖、浸出物和氨基酸进行相关性分析, 结果见表 3。铁皮石斛花中多糖和浸出物之间存在极显著负相关, 说明在铁皮石斛花中多糖与浸出物的积累中, 随着其中一类成分的增加, 另一类成分就会呈下降的趋势。在植物开花期间, 多糖作为营养成分会有消耗, 因而表现出浸出物的积累增长。多糖、浸出物与氨基酸之间相关性不明显, 说明多糖、浸出物的质量分数对氨基酸的营养积累影响较小。此外, 必需氨基酸和基本氨基酸、总氨基酸存在极显著正相关, 基本氨基酸和总氨基酸之间存在极显著正相关, 浸出物与基本氨基酸、必需氨基酸、总氨基酸相关性不明显。

3 讨论

通过对 10 个铁皮石斛花样本的分析发现, 铁皮石斛花中多糖达 $71.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 浸出物约为 $300.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 多糖质量分数明显低于茎条。不同家系铁皮石斛花多糖、浸出物质量分数差异显著 ($P < 0.05$), 说明不同家系亲本来源不同会影响铁皮石斛花多糖、浸出物的合成积累。铁皮石斛花的浸出物质量分数

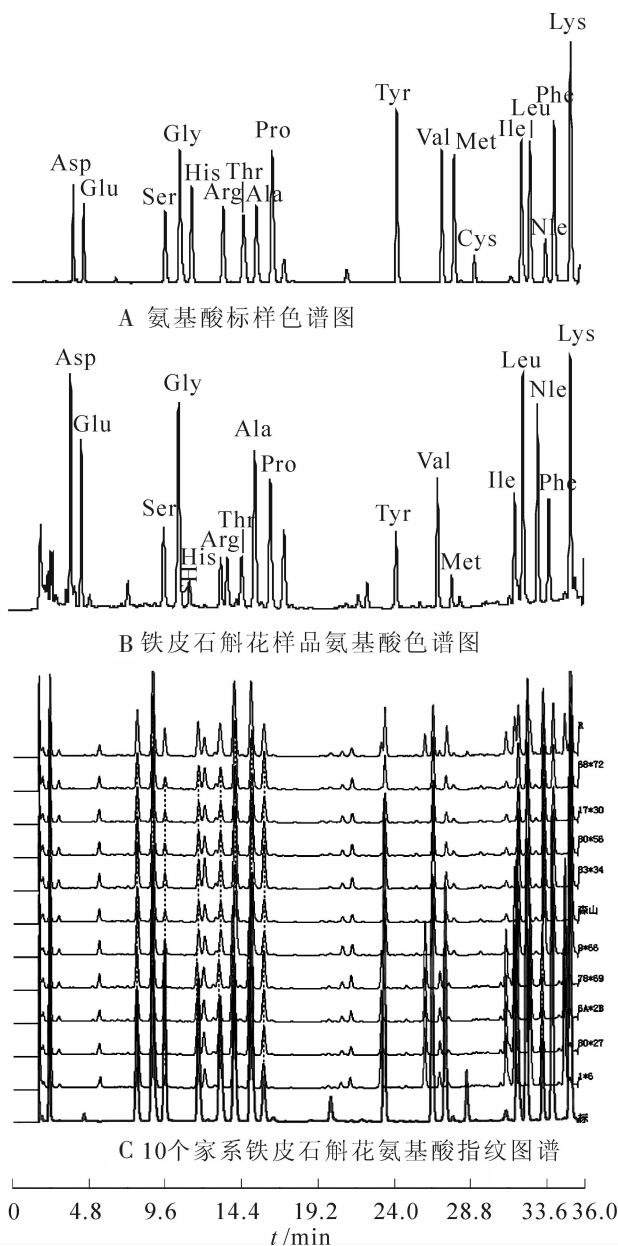


图 1 氨基酸标样和铁皮石斛花样品色谱图

Figure 1 HPLC chromatography of 17 amino acids standard and *Dendrobium officinale* flowers

表 2 不同杂交家系铁皮石斛花的氨基酸质量分数

Table 2 Amino acids contents of 10 hybrids *Dendrobium officinale* flowers

氨基酸	不同家系氨基酸(n=3)/(mg·g ⁻¹)					
	1×6	80×27	6A×2B	78×69	9×66	森山 1 号
天冬氨酸(Asp)	13.28 ± 0.26	12.43 ± 0.02	13.08 ± 0.12	13.11 ± 0.06	9.48 ± 0.08	8.62 ± 0.02
谷氨酸(Glu)	10.34 ± 0.20	9.45 ± 0.02	9.76 ± 0.10	9.76 ± 0.04	9.24 ± 0.08	8.42 ± 0.01
丝氨酸(Ser)	4.38 ± 0.06	3.53 ± 0.01	4.20 ± 0.04	4.13 ± 0.03	4.21 ± 0.05	3.68 ± 0.01
甘氨酸(Gly)	3.95 ± 0.09	3.19 ± 0.01	3.43 ± 0.04	3.73 ± 0.03	2.96 ± 0.02	2.94 ± 0.01
组氨酸(His)	2.02 ± 0.03	1.47 ± 0.00	1.62 ± 0.01	1.90 ± 0.01	1.84 ± 0.02	1.64 ± 0.01
精氨酸(Arg)	5.03 ± 0.09	3.93 ± 0.00	4.31 ± 0.04	4.57 ± 0.01	4.37 ± 0.05	3.90 ± 0.00
苏氨酸(Thr)	2.91 ± 0.06	2.24 ± 0.00	2.49 ± 0.02	2.71 ± 0.01	2.45 ± 0.03	2.16 ± 0.00
丙氨酸(Ala)	6.00 ± 0.12	4.74 ± 0.00	5.18 ± 0.04	5.71 ± 0.01	4.68 ± 0.03	4.59 ± 0.02
脯氨酸(Pro)	3.96 ± 0.10	3.30 ± 0.02	3.42 ± 0.04	3.77 ± 0.03	3.18 ± 0.02	3.02 ± 0.01
酪氨酸(Tyr)	3.10 ± 0.05	2.36 ± 0.00	2.60 ± 0.03	2.70 ± 0.01	2.52 ± 0.02	2.21 ± 0.00
缬氨酸(Val)	4.04 ± 0.08	3.07 ± 0.01	3.27 ± 0.03	3.61 ± 0.02	3.05 ± 0.03	2.87 ± 0.01
蛋氨酸(Met)	1.59 ± 0.02	1.04 ± 0.00	1.19 ± 0.01	1.43 ± 0.02	1.38 ± 0.01	1.12 ± 0.00
异亮氨酸(Ile)	10.82 ± 0.16	8.60 ± 0.06	9.00 ± 0.06	9.56 ± 0.07	7.68 ± 0.05	7.53 ± 0.01
亮氨酸(Leu)	7.53 ± 0.13	5.98 ± 0.01	6.32 ± 0.04	6.87 ± 0.04	5.65 ± 0.05	5.47 ± 0.01
苯丙氨酸(Phe)	4.18 ± 0.07	3.26 ± 0.02	3.49 ± 0.03	3.77 ± 0.03	3.08 ± 0.05	2.95 ± 0.00
赖氨酸(Lys)	4.67 ± 0.08	4.04 ± 0.00	4.18 ± 0.02	4.68 ± 0.01	3.92 ± 0.02	3.91 ± 0.01
必需氨基酸	35.73	28.23	29.95	32.63	27.21	26.01
基本氨基酸	52.05	44.40	47.60	49.38	42.40	39.07
总量	87.78	72.63	77.55	82.01	69.61	65.08

氨基酸	不同家系氨基酸(n=3)/(mg·g ⁻¹)						V _{IP} 值
	83×34	80×56	17×30	68×72	平均值	显著性水平	
天冬氨酸(Asp)	17.92 ± 0.04	13.36 ± 0.04	9.07 ± 0.06	16.05 ± 0.07	12.64	0.002	1.14
谷氨酸(Glu)	12.33 ± 0.03	10.43 ± 0.02	8.97 ± 0.00	10.70 ± 0.04	9.94	0.019	1.13
丝氨酸(Ser)	5.40 ± 0.01	4.51 ± 0.01	3.88 ± 0.00	4.50 ± 0.02	4.24	0.015	1.12
甘氨酸(Gly)	4.36 ± 0.01	3.82 ± 0.01	2.95 ± 0.00	3.91 ± 0.01	3.52	0.013	1.12
组氨酸(His)	2.51 ± 0.00	1.83 ± 0.01	1.57 ± 0.00	1.80 ± 0.01	1.82	0.040	1.11
精氨酸(Arg)	5.53 ± 0.02	4.93 ± 0.01	3.95 ± 0.00	4.94 ± 0.02	4.55	0.008	1.06
苏氨酸(Thr)	3.17 ± 0.01	2.68 ± 0.00	2.20 ± 0.00	2.67 ± 0.01	2.57	0.026	1.04
丙氨酸(Ala)	6.35 ± 0.01	5.86 ± 0.01	4.55 ± 0.06	5.84 ± 0.02	5.35	0.010	1.03
脯氨酸(Pro)	4.41 ± 0.00	3.81 ± 0.01	3.03 ± 0.00	3.83 ± 0.01	3.57	0.031	1.02
酪氨酸(Tyr)	3.07 ± 0.01	2.78 ± 0.00	2.29 ± 0.01	2.74 ± 0.01	2.64	0.010	0.98
缬氨酸(Val)	4.12 ± 0.01	3.40 ± 0.01	2.62 ± 0.00	3.44 ± 0.01	3.35	0.005	0.94
蛋氨酸(Met)	1.48 ± 0.00	1.29 ± 0.00	1.01 ± 0.00	1.27 ± 0.00	1.28	0.004	0.92
异亮氨酸(Ile)	10.39 ± 0.03	8.72 ± 0.02	6.97 ± 0.01	8.85 ± 0.02	8.81	0.003	0.89
亮氨酸(Leu)	7.70 ± 0.02	6.68 ± 0.02	5.26 ± 0.01	6.72 ± 0.02	6.42	0.005	0.89
苯丙氨酸(Phe)	4.02 ± 0.09	3.51 ± 0.01	2.76 ± 0.00	3.54 ± 0.01	3.46	0.004	0.89
赖氨酸(Lys)	5.28 ± 0.01	4.63 ± 0.01	3.80 ± 0.00	4.66 ± 0.01	4.38	0.012	0.54
必需氨基酸	36.15	30.91	24.62	31.15	30.26		
基本氨基酸	61.87	51.31	40.25	54.29	48.26		
总量	98.02	82.22	64.87	85.44	78.52		

说明：在测定的 16 种氨基酸中，苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸为必需氨基酸，其他为基本氨基酸。V_{IP} 值为变量重要性投影参数定量估计值。

明显高于茎条，周桂芬等^[2]曾报道铁皮石斛花中含有丰富的黄酮类化合物，说明黄酮类物质是浸出物的主要组成类型之一。

本试验采集了 10 个铁皮石斛家系的样品，样本量丰富，并且采用 17 种标准氨基酸、柱前衍生

HPLC 分析的手段进行氨基酸分析,较全面反映铁皮石斛花中氨基酸的分布及质量分数范围。铁皮石斛花中含有丰富的氨基酸,总氨基酸大约是花干质量的 7.88%。从铁皮石斛花酸水解样品中共测得 16 种氨基酸,其中包括 7 种人体必需氨基酸和 9 种人体基本氨基酸,分别占花干质量的 3.00%和 4.80%。其中异亮氨酸、亮氨酸在必需氨基酸中所占比例较高,而在基本氨基酸中天

冬氨酸分布较多。龚庆芳等^[4]报道,铁皮石斛花中主要氨基酸为精氨酸、脯氨酸,但在本试验所有检测样本中精氨酸与脯氨酸分别是总氨基酸的 5.79%和 4.54%,而天冬氨酸是总氨基酸的 16.10%,与铁皮石斛茎条中的氨基酸分布及质量分数大致相当^[11]。另外,在所有样品中未能检测到胱氨酸,同样在铁皮石斛茎中也未检测到胱氨酸^[11],说明胱氨酸在铁皮石斛各部位中积累较少。在 10 个铁皮石斛家系花样品中,各氨基酸质量分数存在着显著差异($P<0.05$),说明亲本的遗传因素会影响营养成分的积累。

铁皮石斛花中多糖与浸出物在合成积累上呈现负相关,多糖、浸出物与氨基酸的营养积累未表现出明显的相关性,必需氨基酸与基本氨基酸呈显著正相关,质量分数差异明显($P<0.05$)。本试验选取 10 个家系样本进行多糖、浸出物及氨基酸的分析,证实了铁皮石斛花中含有较多的营养及功效成分,与铁皮石斛茎有相似的成分组成,研究结果可作为铁皮石斛花的品质评价的参考。此外,铁皮石斛花在成分分布及质量分数上有独特之处,有必要对它们进行深入研究,发掘其保健功效,对铁皮石斛花的开发利用具有深远的意义。

4 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2010 年版一部[S]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 266.
- [2] 周桂芬, 吕圭源. 铁皮石斛不同部位黄酮碳苷类成分及清除 DPPH 自由基能力比较研究[J]. 中国中药杂志, 2012, **37**(11): 1536 – 1540.
ZHOU Guifen, LÜ Guiyuan. Comparative studies on scavenging DPPH free radicals activity of flavones C-glycosides from different parts of *Dendrobium officinale* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2012, **37**(11): 1536 – 1540.
- [3] 龚庆芳, 周浩, 王新桂, 等. 7 种石斛多糖质量分数的测定及单糖组成分析[J]. 食品科技, 2013, **38**(3): 172 – 175.
GONG Qingfang, ZHOU Hao, WANG Xingui, *et al.* Determination of the content and monosaccharide composition of 7 species of *Dendrobium polysaccharides* [J]. *Food Sci Technol*, 2013, **38**(3): 172 – 175.
- [4] 龚庆芳, 何金祥, 黄宁珍, 等. 铁皮石斛花化学成分及抗氧化活性研究[J]. 食品科技, 2014, **39**(12): 106 – 110.
GONG Qingfang, HE Jinxiang, HUANG Ningzhen, *et al.* Chemical composition and antioxidant activities effects of *Dendrobium officinale* flowers [J]. *Food Sci Technol*, 2014, **39**(12): 106 – 110.
- [5] 高向阳, 游新侠, 牛云辉. 柱前衍生-反相高效液相色谱法测定栎果及黄山栎果中的氨基酸含量[J]. 食品工业科技, 2013, **34**(16): 49 – 52.
GAO Xiangyang, YOU Xinxia, NIU Yunhui. Determination of amino acids in *Koelreuteria paniculata* fruit and *Koelreuteria integrifoliola* Merr fruit by reversed-phase high performance liquid chromatography with precolumn derivatization [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2013, **34**(16): 49 – 52.
- [6] WANG Lin, XU Renjie, HU Bing, *et al.* Analysis of free amino acids in Chinese teas and flower of tea plant by high performance liquid chromatography combined with solid-phase extraction [J]. *Food Chem*, 2010, **123**(4): 1259 – 1266.
- [7] 赵东升, 马晓丽, 李新霞, 等. 柱前衍生-反相高效液相色谱法同时测定可食药用葱属植物中 18 种游离氨基酸含量[J]. 药物分析杂志, 2013, **33**(6): 963 – 968.
ZHAO Dongsheng, MA Xiaoli, LI Xinxia, *et al.* Determination of 18 kinds of free amino acids in edible and medicinal *Allium* using pre-column derivatization HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2013, **33**(6): 963 – 968.
- [8] 章晓玲, 斯金平, 吴令上, 等. 铁皮石斛 F₁ 代田间试验与优良家系选择[J]. 中国中药杂志, 2013, **38**(22):

表 3 铁皮石斛花中多糖、浸出物与氨基酸的相关性

Table 3 Correlation among polysaccharide, extracts, amino acids					
	多糖	浸出物	必需氨基酸	基本氨基酸	总氨基酸
多糖	1.00				
浸出物	-0.85**	1.00			
必需氨基酸	-0.37	0.54	1.00		
基本氨基酸	-0.36	0.44	0.90**	1.00	
总氨基酸	-0.37	0.49	0.96**	0.99**	1.00

说明: ** 表示在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

3861 – 3865.

ZHANG Xiaoling, SI Jinping, WU Lingshang, *et al.* Field experiment of F_1 generation and superior families selection of *Dendrobium officinale* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2013, **38**(22): 3861 – 3865.

- [9] 刘志高, 朱波, 斯金平, 等. 铁皮石斛 F_1 代苗期农艺性状研究[J]. 中国中药杂志, 2013, **38**(4): 498 – 503.

LIU Zhigao, ZHU Bo, SI Jinping, *et al.* Studies on agronomic traits of seedlings from different F_1 generations of *Dendrobium officinale* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2013, **38**(4): 498 – 503.

- [10] WESTERHUIS J A, HOEFSLOOT H C J, SMIT S, *et al.* Assessment of PLSDA cross validation [J]. *Metabolomics*, 2008, **4**(1): 81 – 89.

- [11] 张爱莲, 魏涛, 斯金平, 等. 铁皮石斛中基本氨基酸含量变异规律[J]. 中国中药杂志, 2011, **36**(19): 2632 – 2635.

ZHANG Ailian, WEI Tao, SI Jinping, *et al.* Study on basic amino acid contents in *Dendrobium officinale* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2011, **36**(19): 2632 – 2635.

《浙江农林大学学报》2017 年征订启事

《浙江农林大学学报》是浙江农林大学主办的学术性期刊, 连续 7 次入选全国中文核心期刊, 荣获第二届国家期刊奖百种重点期刊奖, 首届浙江省优秀科技期刊二等奖, 第二届浙江省优秀科技期刊一等奖, 浙江省精品科技期刊, 首届和第二届全国优秀科技期刊三等奖, 全国高校优秀科技期刊一等奖等。

《浙江农林大学学报》主要报道农林基础学科、森林培育学、森林经理学、经济林学、林业工程、植物保护学、林木遗传育种、植物学、生态学、动物学、生物技术、环境保护学、园林学和园艺学等学科的学术论文、问题讨论和研究简报等。供农林科技工作者、园林绿化和规划设计人员、环保工作者、大专院校师生、相关科技信息人员参阅。双月刊, 大 16 开本, 172 页/期。国内外公开发行。ISSN 2095-0756, CN 33-1370/S。所刊文章被国内外 20 多种文摘刊物和数据库收录。附英文目次和英文摘要。

定价: 20.00 元/期, 全年 120.00 元/份。国内订户请向全国非邮发报刊联合发行部订阅, 地址: 300381 天津市大寺泉集北里别墅 17 号。电话: 022-23973378。E-mail: LHZD@public.tpt.tj.cn。也可直接向浙江农林大学学报编辑部汇款订购。邮局汇款: 311300 浙江省临安市浙江农林大学学报编辑部。电话: 0571-63732749。E-mail: zlx@zafu.edu.cn。银行汇款: 建行临安市支行营业部。账号: 33001617335050018761。户名: 浙江农林大学。

国外读者请向中国出版对外贸易总公司办理订阅手续。地址: 100011 北京 782 信箱。

感谢您的订阅, 欢迎投稿。