

王 峰, 乔 飞, 江雪飞. 改进的变色酸分光光度法测海南粗榧生物碱总碱含量[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(10): 146–150.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.10.041

改进的变色酸分光光度法测海南粗榧生物碱总碱含量

王 峰¹, 乔 飞², 江雪飞¹

(1. 海南大学热带农林学院/海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海南海口 570228;

2. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/农业部华南作物基因资源与种质创制重点开放实验室, 海南儋州 571737)

摘要:以传统测定海南粗榧生物碱的方法为对照, 参照改良的测甲醛含量的方法对其进行优化, 以建立安全、快捷、准确测定海南粗榧生物碱总碱含量的新方法。结果表明, 新方法兼备以上 2 种方法的优点, 同时又避免了其缺点, 具体表现为(1)用磷酸、过氧化氢取代 98% 浓硫酸, 更安全;(2)用微波加热取代水浴加热, 更快捷;(3)增加了挥发干甲醇溶剂的试验步骤, 排除了甲醇溶剂的干扰, 更准确;(4)试验进一步明确了最佳加热时间为 35 s, 最佳检测波长为 558 nm。结果还表明, 新方法在 0~20 μg/mL 范围内, 三尖杉碱标准曲线回归方程为 $y = 0.0184x$, 线性相关系数 $r = 0.9995$; 重复性检测样品的 $RSD = 0.59\%$; 标样回收率 98.85%~106.86%, 且 24 h 内显色稳定, 测定结果与传统方法无显著差异。综上, 新方法安全、快捷、可靠, 可作为测定海南粗榧生物碱总碱含量的新方法。

关键词:生物碱; 总碱含量; 海南粗榧; 变色酸分光光度法; 测定方法改进

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)10-0146-04

海南粗榧(*Cephalotaxus hainanensis*)为三尖杉科三尖杉属孑遗植物, 是三尖杉科分布位置最南的树种, 主产于我国海南省, 为国家二级重点保护植物^[1-2]。自 20 世纪 70 年代至今, 科研人员从海南粗榧的树皮、茎、叶、种子中已分离鉴定出 50 种生物碱, 其中三尖杉碱 3 位羟基被酰化后的三尖杉酯碱、高三尖杉酯碱、脱氧三尖杉酯碱和异三尖杉酯碱经动物试验和临床实践证实, 对各类白血病及急性淋巴细胞的治疗有明显疗效^[3-5], 是目前抗癌最有潜力的自然药源之一。因而, 加强对海南粗榧资源的保护和开发利用研究具有重要的理论和现实意义。然而不同产地、不同树龄、不同部位的海南粗榧生物碱的含量差异很大, 因而建立准确、快捷、安全的测定海南粗榧生物碱含量的方法, 不仅有利于开展海南粗榧生物碱分布、影响生物碱含量的因素等各方面的研究工作, 而且有利于对海南粗榧及其同属植物资源开展药用价值的评价工作。

目前分析植物生物碱及其制剂的方法主要有滴定法、分光光度法(酸性染料比色法)、薄层扫描法、高效液相色谱法、毛细管电泳法、红外光谱法等^[6]。其中分光光度法因其投资成本低、操作简便、适用于总碱测定而被广泛应用。海南粗榧生物碱分子中含有亚甲二氧基结构, 亚甲二氧基在酸性条件下能水解生成甲醛, 甲醛与变色酸反应可生成紫色络合物, 因而可以通过变色酸分光光度法测定其含量^[7]。目前测定海南粗榧生物碱总碱含量的方法就是参考传统测定甲醛的变色

酸分光光度法建立的(以下简称“方法 1”)^[7], 该方法具有价格便宜、操作简单、反应色泽灵敏和选择性好等优点, 但最大的缺点是试验过程中需要使用热浓硫酸氧化与脱水, 具有潜在的危险性、腐蚀性, 并且需要水浴加热显色, 试验耗时长。

近年来, 测定甲醛的变色酸分光光度法已经得到改良, 如试验过程中的浓硫酸被磷酸取代, 水浴加热被微波加热取代等, 既增加了试验的安全性, 又缩短了试验时间, 提高了测定效率^[8-12]。至于海南粗榧生物碱总碱含量能否用改良测甲醛的方法(以下简称“方法 2”)^[13]进行测定, 如果能用, 试验条件需要哪些优化等问题, 都有待试验验证。本研究拟以方法 1 为对照, 优化方法 2 的试验条件, 以期建立一种安全、快捷又准确的测定海南粗榧生物碱含量的方法(以下简称“方法 3”)。

1 材料与与方法

1.1 主要仪器与试剂

主要仪器: 紫外分光光度计(Beckman DU800), 微波炉, 水浴锅。

主要试剂: 变色酸(临用前现配成 0.1 g/mL 溶液), 过氧化氢(临用前现配成 0.025 mol/L 溶液), 浓硫酸(98%), 磷酸(86%), 甲醇(99.9%), 三尖杉碱标样(购自上海源叶生物科技有限公司), 除三尖杉碱标样、甲醇为色谱纯外, 其他试剂均为分析纯。

1.2 植物材料

本试验以海南粗榧的嫩枝、叶片为材料, 采自中国热带农业科学院海南热带植物园(儋州), 将采摘的嫩枝、叶片迅速置于电热鼓风干燥箱中于 105 ℃杀青, 80 ℃烘干后研磨成细粉备用。

1.3 试验设计

首先以三尖杉碱标样为试验材料, 参照方法 1、方法 2 制作三尖杉碱标准曲线, 根据试验比对结果进一步对方法 2 的

收稿日期: 2016-02-25

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(编号: 31570326); 海南省自然科学基金(编号: 20153059); 海南大学中西部计划学科建设项目(编号: ZXBHJH-XK008)。

作者简介: 王 峰(1990—), 女, 河南驻马店人, 硕士, 主要从事天然产物化学研究。E-mail: 991956885@qq.com。

通信作者: 江雪飞, 博士, 副教授, 主要从事园艺植物逆境生理与分子生物学研究。E-mail: hnjiangxuefei@gmail.com。

试验试剂、检测波长、加热时间、试验过程等各条件进行逐一优化,综合各优化条件建立方法 3。再以三尖杉碱标样、海南粗榧嫩枝、叶片提取的样液为试验材料,对方法 3 的重复性、标样回收率、有色化合物的稳定性等各方面进行检验,最后以方法 1 的测定结果为参照,判断方法 3 的准确性,以期建立一种安全、准确、便捷的测定海南粗榧生物碱总碱含量的新方法。

1.4 试验方法

1.4.1 三尖杉碱标准溶液的配制方法 精确称取 10.0 mg 三尖杉碱标准品,溶于甲醇并定容至 5 mL 容量瓶中,配制成浓度为 2 mg/mL 的母液。再将母液分别稀释成浓度梯度为 0、250、500、1 000、2 000 $\mu\text{g/mL}$ 的工作液,各 1 mL,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.4.2 三尖杉碱标准曲线的制作方法 方法 1^[7]:分别取按“1.4.1”节配制的不同浓度梯度的三尖杉碱标准溶液 100 μL ,放入 50 mL 烧杯中,加现配的 500 μL 0.1 g/mL 变色酸溶液,再加入 3.5 mL 98% 浓硫酸,摇匀,于沸水浴中加热 20 min,取出后迅速用冷水浴冷却,再加 3 mL 蒸馏水摇匀,待冷却至室温后,转移至 10 mL 容量瓶内并加水定容,于 570 nm 处比色,以三尖杉碱浓度为横坐标、 $D_{570\text{ nm}}$ 为纵坐标制作三尖杉碱标准曲线。

方法 2^[13]:分别取按“1.4.1”节配制的不同浓度梯度的三尖杉碱标准溶液 100 μL ,放入 50 mL 烧杯中,加新配制的 300 μL 0.1 g/mL 变色酸溶液,加入 3 mL 86% 浓磷酸,70 μL 0.025 mol/L 过氧化氢,摇匀,于 1 200 W 微波炉中加热 35 s,取出后室温下冷却,再加蒸馏水 3 mL 摇匀,待冷却至室温后,转移至 10 mL 容量瓶内并加水定容,于 570 nm 处比色,以三尖杉碱浓度为横坐标、 $D_{570\text{ nm}}$ 为纵坐标制作三尖杉碱标准曲线。

1.4.3 海南粗榧嫩枝、叶片中生物碱的提取方法^[14] 分别称取“1.2”节制备的海南粗榧嫩枝、叶片干粉 3 g,加 2 mL 28% 的氨水,加 30 mL 三氯甲烷后,用磁力搅拌器搅拌均匀,浸泡过夜后于 3 000 r/min 离心 15 min,取三氯甲烷层溶液 10 mL,于通风橱内挥发干三氯甲烷,残渣再用甲醇溶解,定量转移至 1 mL 小容量瓶中备用。试验设 3 次重复。海南粗榧生物碱总碱含量以三尖杉碱计^[7]。

2 结果与分析

2.1 2 种方法制作三尖杉碱标准曲线的比较

用方法 1 建立的三尖杉碱标准曲线(图 1)的相关系数 $r=0.998\ 8$,回归方程为 $y=0.020\ 5x$ 。用方法 2 建立的三尖杉碱标准曲线(图 2)的相关系数 $r=0.931\ 0$,回归方程为 $y=0.015\ 3x$ 。通过比较发现,将测甲醛的方法 2 直接用于测定三尖杉碱时,制作的标准曲线的相关系数有所降低,与方法 1 的 0.998 8 相差较大,有待改良。分析可能导致这种结果的原因较多,因此拟从样品前处理溶剂、加热时间、比色波长等逐一进行优化。

2.2 样品前处理溶剂的优化

有研究表明,甲醇作为溶剂可参与变色反应^[15-16],那么在制备三尖杉碱标准溶液时所用的甲醇溶剂是否也参与了变色反应,从而干扰了试验结果,导致方法 2 制作的标准曲线相

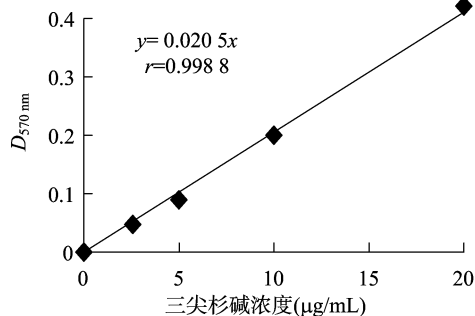


图1 用方法1制作的三尖杉碱标准曲线

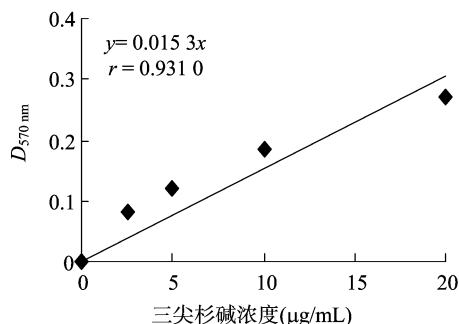


图2 用方法2制作的三尖杉碱标准曲线

关系系数较低?为排除这一可能干扰,本研究分别以各 100 μL 甲醇、乙醇、叔丁醇为样液,用方法 2 分别测定其吸光度。图 3 结果表明,3 种溶剂确实 570 nm 波长下检测时都存在吸收峰,即它们均有可能参与显色反应,从而对测定三尖杉碱含量的结果造成干扰。

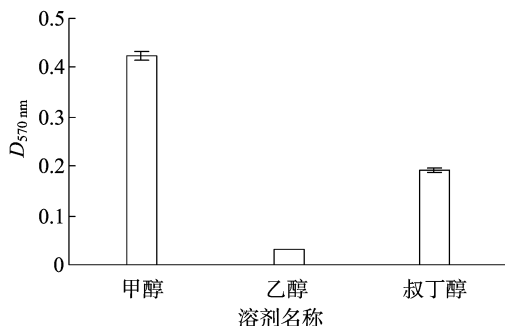


图3 用方法 2 测定不同溶剂的显色反应结果

为排除溶剂干扰影响试验准确性的问题,本研究拟在正常制备三尖杉标准溶液后,增加 1 个试验步骤,即对于制备好的三尖杉碱标准溶液首先通过通风挥发干其溶剂甲醇,再继续用方法 2 制作三尖杉碱标准曲线。由图 4 可知,挥发干甲醇溶剂后所建的标准曲线的相关系数 r 由原来的 0.931 0 提高到 0.999 7,经方差分析,两者差异达到显著水平($P < 0.05$)。

2.3 最佳微波加热时间的确定

方法 2 中的微波加热时间即为有色化合物的显色时间,加热时间过短,显色反应不充分,时间过长,又会出现炭化反应^[13],因而本试验拟对方法 3 的微波加热时间进行筛选。试验设定微波加热功率为 1 200 W,微波加热时间分别设 0、10、15、25、30、35、40、45、50、55、60 s,共 11 个处理。取 2 000 $\mu\text{g/mL}$

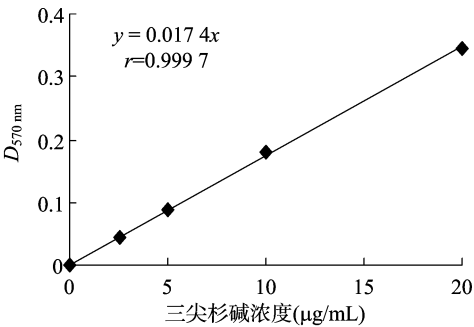


图4 排除甲醇干扰后,方法2制作的三尖杉碱标准曲线

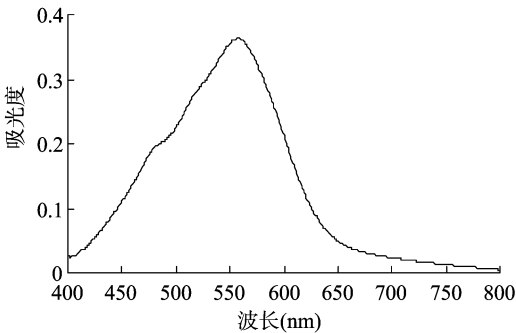


图6 不同检测波长的吸收光谱

三尖杉碱标准溶液 100 μL,挥发干甲醇后,用方法2 比较不同加热时间测得的 $D_{570\text{ nm}}$ 变化。

图5 结果表明,随着加热时间的增加, $D_{570\text{ nm}}$ 也随之提高,但不同时间段 $D_{570\text{ nm}}$ 提高的幅度并不一致;大致变化趋势表现为在加热 0 ~ 10 s 范围内, $D_{570\text{ nm}}$ 缓慢提高;在 10 ~ 30 s 范围内, $D_{570\text{ nm}}$ 快速提高;30 s 后 $D_{570\text{ nm}}$ 增幅则逐渐趋于平稳。经 Logistic 方程拟合发现,加热 22 s 时, $D_{570\text{ nm}}$ 达最大值的 50%;加热 35 s 时, $D_{570\text{ nm}}$ 则已达最大 $D_{570\text{ nm}}$ 的 80%;而当加热时间超过 40 s 后,反应体系出现了炭化反应,即有黑色颗粒物生成,从而导致测得的 $D_{570\text{ nm}}$ 比实际值增大。综上,最终确定测定三尖杉碱时最佳的微波加热时间为 35 s。

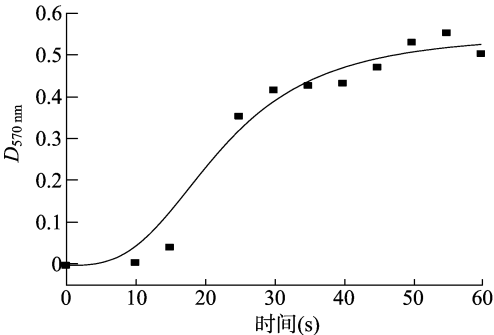


图5 不同微波加热时间 $D_{570\text{ nm}}$ 的变化

2.4 最佳检测波长的确定

随着反应体系中溶剂的种类、浓度及样品溶液成分的改变,都会导致吸光度变化,最佳检测波长也会随之发生变化^[8]。本试验拟对方法3 的最佳检测波长进行筛选,吸取 100 μL 2 000 μg/mL 三尖杉碱标准溶液,通风挥发干甲醇后,用方法2 在 400 ~ 800 nm 波长范围内连续扫描测定有色化合物的吸光度。结果表明:在 400 ~ 558 nm 范围内,随着检测波长增大,测得的吸光度也随之增加;当波长超过 558 nm 后,随着波长的增大,吸光度反而减小,即方法3 反应获得的有色化合物在波长 558 nm 处有最大吸收峰(图6)。

2.5 方法3 的确定

取适量供试样品溶液,放入 50 mL 烧杯中,挥发干样品溶液中的甲醇溶剂后,加新配制的 300 μL 0.1 g/mL 变色酸溶液,再加入 3 mL 86% 浓磷酸、70 μL 0.025 mol/L 过氧化氢,摇匀,于 1 200 W 微波炉中加热 35 s,取出后加 3 mL 蒸馏水摇匀,室温下冷却,最后转移至 10 mL 容量瓶加水定容,于 558 nm 处比色。其中三尖杉碱的检测线性范围为 0 ~ 20 μg/mL。

2.6 方法3 的检验

2.6.1 方法3 制作三尖杉碱标准曲线的检验 由方法3 制作的三尖杉碱标准曲线(图7)的回归方程为 $y = 0.0184x$,相关系数 $r = 0.9995$,达到显著水平($P < 0.05$)。说明在 0 ~ 20 μg/mL 浓度范围内,三尖杉碱的浓度与方法3 测得的吸光度呈良好的线性关系,可以通过该比色方法测定样品中三尖杉碱含量。

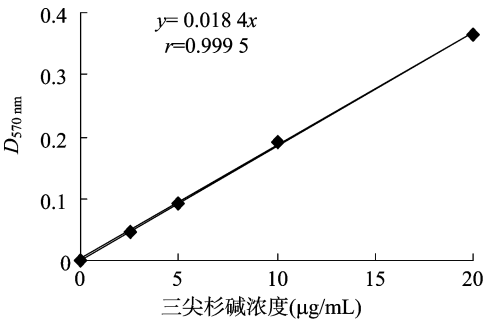


图7 方法3制作的三尖杉碱标准曲线

2.6.2 方法3 的重复性检验 用方法3 对 2 000 μg/mL 三尖杉碱标准溶液进行 6 次重复测定。由表1 可见,6 次重复测定的 $D_{570\text{ nm}}$ 变化范围为 0.423 7 ~ 0.433 6,平均 $D_{570\text{ nm}}$ 为 0.430 7。此外,相对标准偏差(RSD)为 0.59%,说明方法3 的测定重复性较好。

表1 方法3 的重复性检验结果

重复	$D_{570\text{ nm}}$
1	0.433 6
2	0.430 5
3	0.431 8
4	0.423 7
5	0.432 5
6	0.432 4

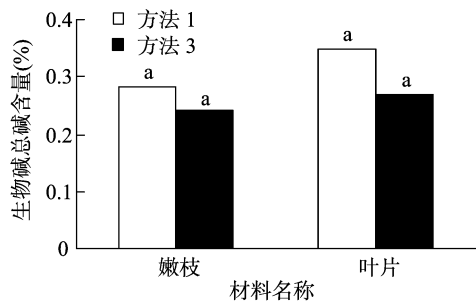
2.6.3 方法3 的标样回收率检验 用方法3 分别测定已知含碱量的样液及添加标样后的样液,通过计算标样回收率检验方法3 的准确性,试验设3 次重复。具体试验步骤:取已知含碱量的海南粗榧嫩枝和叶片样品溶液各 20 μL,分别添加 25 μL 1 000 μg/mL 三尖杉碱标准溶液,用方法3 测定其 $D_{570\text{ nm}}$ 并计算标样回收率。结果表明,方法3 测得的海南粗榧嫩枝、叶片样品中的标样平均回收率分别为 106.86%、98.85%,RSD 分别为 3.31%、4.78%,说明方法3 的系统误差较小,符合试验要求。

2.6.4 方法 3 的有色化合物稳定性检验 将方法 3 反应获得的有色化合物放置不同时间后再比色测定吸光度, 检验方法 3 反应获得有色化合物的稳定性。本试验分别以 2 000 $\mu\text{g/mL}$ 三尖杉碱标准溶液、海南粗榧嫩枝、叶片提取液为试样, 用方法 3 反应生成有色化合物, 分别在常温下放置

表 2 3 种样品的有色化合物放置不同时间后测得的 $D_{570\text{ nm}}$

样品	不同放置时间的 $D_{570\text{ nm}}$							RSD (%)
	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	12 h	24 h	
三尖杉碱标样	0.431 5	0.429 0	0.429 8	0.422 9	0.432 5	0.432 8	0.382 8	1.61
嫩枝	0.205 8	0.205 7	0.208 4	0.212 9	0.212 7	0.212 4	0.193 9	1.23
叶片	0.289 4	0.283 6	0.281 2	0.281 5	0.281 6	0.281 9	0.259 3	1.28

2.6.5 方法 3 与方法 1 测定结果的比较 以海南粗榧的嫩枝、叶片提取液为试验材料, 分别用方法 1、方法 3 测定其生物碱总碱含量。由图 8 可见, 用方法 1 测得的嫩枝、叶片的生物碱含量分别为 0.281 1%、0.350 3%, 用方法 3 测得的嫩枝、叶片的生物碱含量分别为 0.242 4%、0.267 4%, 由此可知, 方法 3 测得的 $D_{570\text{ nm}}$ 均比方法 1 的低, 但经方差分析, 2 种方法测的结果差异并不显著, 说明方法 3、方法 1 均可用于测定海南粗榧生物碱总碱含量。



同一材料不同处理间标有不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 8 2 种方法测定海南粗榧生物碱总碱含量的比较

3 讨论与结论

三尖杉生物碱仅存于三尖杉科植物中, 由 Wall 等于 1954 年首次发现^[17], 我国于 20 世纪 70 年代起开展相关研究, 并利用浓硫酸处理检测甲醛方法对国内不同种三尖杉植物中的三尖杉总碱含量进行了系统检测, 结果表明: 三尖杉生物碱总碱含量在 0.1%~0.4% 范围内^[18], 这与本试验用磷酸处理的变色反应检测结果一致。三尖杉生物碱总碱的含量随着产地、植株年龄等变化, 并且随着诱导方法的不同有变化^[19]。快速鉴定三尖杉生物碱的含量对于评估收获时期、诱导效果有重要意义。

Egriwe 于 1937 年建立了用变色酸光度法测定甲醛含量的方法^[20], 该方法被不断优化并广泛应用于食品、化工、环境中甲醛含量的测定^[21-22], 并且该方法还进一步被用于其他结构中含有亚甲二氧基化合物的测定^[23]。由于海南粗榧生物碱总碱均含有亚甲二氧基结构, 本研究参考优化测定甲醛的方法, 建立了测定海南粗榧生物碱总碱的方法, 该方法准确、快捷、安全, 并且与传统方法相比可取得一致的结果。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 50 卷)

1、2、4、6、8、12、24 h 后测定其吸光度 $D_{570\text{ nm}}$, 试验设 3 次重复。由表 2 可知, 3 种样品反应的有色化合物在放置不同时间后测得的 $D_{570\text{ nm}}$ 的 RSD 分别为 1.61%、1.23%、1.28%, 反应络合物基本稳定。说明用方法 3 测定三尖杉碱时获得的有色化合物在 24 h 内稳定性很好。

[M]. 北京: 科学出版社, 1978: 430-433.

- [2] 符文英, 杜道林, 邢诒旺. 海南粗榧保护和开发利用的研究[J]. 分子植物育种, 2003 (增刊 1): 795-799.
- [3] Abdelkafi H, Nay B. Natural products from *Cephalotaxus* sp.: chemical diversity and synthetic aspects [J]. Natural Product Reports, 2012, 29 (8): 845-869.
- [4] 叶玉梅, 徐承熊, 孙润华, 等. 海南粗榧新碱衍生物 HH07A 的抗肿瘤作用[J]. 药学报, 1995, 30 (1): 12-16.
- [5] 康淑卿, 蔡胜勇, 滕立. 海南粗榧内酯 (Hainanolide) 的抗病毒作用[J]. 药学报, 1981, 16 (11): 867-868.
- [6] 王楠楠, 唐玉海, 韩小年, 等. 生物碱类物质含量测定方法研究进展[J]. 西北药学杂志, 2006, 21 (6): 287-288.
- [7] 杜道林, 符文英. 珍稀濒危植物海南粗榧种群保护生物生态学 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2003: 117-119.
- [8] West P W, Sen B. Spectrophotometric determination of traces of formaldehyde [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 1956, 153 (3): 177-183.
- [9] Sawicki E, Hauser T R, Mcpherson S, et al. Spectrophotometric determination of formaldehyde and formaldehyde-releasing compounds with chromotropic acid, 6-amino-1-naphthol-3-sulfonic acid (J Acid), and 6-anilino-1-naphthol-3-sulfonic acid (Phenyl J Acid) [J]. Analytical Chemistry, 1962, 34 (11): 1460-1464.
- [10] Georgiou P E, Chi K H. The chemistry of the chromotropic acid method for the analysis of formaldehyde [J]. Canadian Journal of Chemistry, 1989, 67: 871-876.
- [11] Fagnani E, Melios C B, Pezza L, et al. Chromotropic acid-formaldehyde reaction in strongly acidic media. The role of dissolved oxygen and replacement of concentrated sulphuric acid [J]. Talanta, 2003, 60 (1): 171-176.
- [12] Genest C, Smith D M, Chapman D G. Pepper analysis, a critical study of two procedures for the determination of piperine in black and white pepper [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 1963, 11 (6): 508-512.
- [13] Gigante A C, Gotardo M A, Tognolli J O, et al. Spectrophotometric determination of formaldehyde with chromotropic acid in phosphoric acid medium assisted by microwave oven [J]. Microchemical Journal, 2004, 77 (1): 47-51.
- [14] 杜道林, 符文英. 珍稀濒危植物海南粗榧种群保护生物生态学 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2003: 119-120.
- [15] 柏林洋, 李方实. 变色酸光度法测定甲醛的改进 [J]. 理化检验 (化学分册), 2007, 43 (4): 285-286, 289.
- [16] 刘芬, 马先锋. 变色酸法测定甲醇的改进 [J]. 环境科学与技术, 2014, 37 (增刊 1): 212-214.

罗绪强,周金星,张桂玲,等. 黔产铁皮石斛不同部位多糖、氨基酸及必需元素含量[J]. 江苏农业科学,2017,45(10):150-153.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.10.042

黔产铁皮石斛不同部位多糖、氨基酸及必需元素含量

罗绪强^{1,2}, 周金星², 张桂玲³, 杨秀群³, 邓家彬¹, 郜红娟¹

(1. 贵州师范学院地理与旅游学院, 贵州贵阳 550018; 2. 北京林业大学水土保持学院, 北京 100083;

3. 贵阳学院化学与材料科学学院, 贵州贵阳 550005)

摘要:为探讨铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)药用及保健功能的高效利用途径,以黔产铁皮石斛为研究对象,分别对其下茎、上茎、叶片中多糖、氨基酸、必需元素含量进行测定分析。结果表明,黔产铁皮石斛下茎、上茎、叶片中的多糖含量分别为 $27.50\% \pm 2.43\%$ 、 $28.04\% \pm 0.9\%$ 、 $15.03\% \pm 2.15\%$,叶片与上茎、下茎间的多糖含量存在显著差异($P < 0.05$)。各氨基酸含量在不同部位中均表现为叶片 > 上茎 > 下茎,下茎、上茎、叶片中的总氨基酸质量分数分别为 (22.10 ± 4.70) 、 (37.21 ± 9.14) 、 (89.00 ± 10.09) mg/g; Ser, Gly, Cys, Met, Phe 含量和芳香族氨基酸总量在各部位间差异均显著($P < 0.05$)。黔产铁皮石斛不同部位中必需元素含量和分配模式均有所不同且均具有富钙特征。Ca、Cu、Zn 含量在叶片与下茎、上茎间的差异均显著($P < 0.05$),上茎与叶片间的 K 含量、叶片与下茎间的 Mn 含量、上茎与下茎间的 Fe 含量也存在显著差异($P < 0.05$)。铁皮石斛多糖含量与 7 种必需元素含量均呈负相关关系且与 K、Ca、Mn、Cu、Zn 含量相关性显著($P < 0.05$)。各氨基酸与 7 种必需元素间除去 Fe、Cys、Met 含量外均呈正相关关系,其中, K、Cu 含量除与 Cys、Met 含量外, Ca 含量除与 Cys 含量外,其余均相关性显著($P < 0.05$), Zn、Mn 含量与各氨基酸含量均相关性显著($P < 0.05$)。铁皮石斛多糖含量与各氨基酸含量均呈显著负相关关系。

关键词:铁皮石斛;不同部位;多糖;氨基酸;必需元素;分配模式;相关关系

中图分类号: Q949.95; R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2017)10-0150-04

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)是石斛属植物中药用价值最高的一种石斛,也是我国三级珍稀濒危保护植物和二类药材品种^[1-6]。据报道,铁皮石斛多糖具有抗肿瘤、抗氧化损伤、抗癌、抗菌、增强机体免疫等多种生物活性,氨基酸是其发挥药效、调节口感的物质基础,而 K、Ca、Mg、Fe、Mn、Cu、Zn 等微量元素与铁皮石斛药效关系密切^[7-13]。传统用药上铁皮石斛以茎为主,但近期研究发现占

其总生物量 50% 左右的叶片也具有滋补保健功效^[2-3,14]。贵州简称黔,地处中国西南腹地,属亚热带湿润季风气候区,境内气候温暖湿润,土壤类型多样,是我国铁皮石斛主要产区之一^[3-5]。本研究以黔产铁皮石斛为对象,分别对其下茎、上茎、叶片中的多糖、氨基酸、必需元素含量进行测定分析,以期铁皮石斛药用及保健功能的高效利用途径提供基础数据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试铁皮石斛样品取样时间为 4 月中旬,由贵州金茂生物科技有限公司桐木岭铁皮石斛培育基地、荔波石上森中药材开发有限公司水甫村铁皮石斛种植基地、荔波普生铁皮石斛开发有限责任公司白岩村铁皮石斛种植基地共同提供。3 个基地铁皮石斛样品的种植方式、种植基质、生长期等条件均相对一致。采集样品时,3 个基地按相同标准各随机选择 5 株成熟、健康的植株,每株按下茎、上茎、叶片分别采集,不同植株铁皮石斛相同部位样品混合成 1 个样装入干净透气的信

收稿日期:2017-02-03

基金项目:国家自然科学基金(编号:41563007);贵州省优秀青年科技人才培养对象专项(编号:黔科合人字[2015]21 号);贵州省优秀科技教育人才省长资金(编号:黔省合专字[2012]80 号);贵州省高层次创新型人才资金(编号:黔人领发[2015]3 号);贵州省自然科学基金(编号:黔科合 J 字 LKG[2013]14 号);贵州省教育厅自然科学基金[编号:黔教合 KY 字(2012)059 号]。

作者简介:罗绪强(1976—),男,贵州绥阳人,博士,教授,主要从事生态环境地球化学研究。Tel: (0851) 85811045; E-mail: xuqiangluo@163.com。

- [17] Wall M E, Krider M M, Krewson C F, et al. Steroidal sapogenins. VII. Survey of plants for steroidal sapogenins and other constituents [J]. Journal of the American Pharmaceutical Association. American Pharmaceutical Association, 1954, 43(1): 1-7.
- [18] 杜道林, 符文英. 珍稀濒危植物海南粗榧种群保护生物生态学 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2003, 108-109.
- [19] 龙晓娟, 李永成. 诱导子对海南粗榧悬浮细胞生长及三尖杉酯类碱合成的影响 [J]. 热带作物学报, 2015, 36(6): 1125-1130.
- [20] Eegriwe E. Reaktionen und reagenzien zum nachweis organischer

verbindungen IV [J]. Analytical Chemistry, 1937, 110(1/2): 22-25.

- [21] 丁兴华. 变色酸法检测水产品中甲醛分析方法的研究 [J]. 广州化工, 2009, 37(9): 166-167, 170.
- [22] 张秀芝, 辛雨家, 何鑫巍, 等. 甲醛的危害及检测 [J]. 山西建筑, 2013, 39(7): 208-209.
- [23] Lee L A. Determination of free and combined formaldehyde using modified chromotropic acid procedure - application to determination of piperine content of pepper [J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(10): 1621-1623.