

# 11 个铁皮石斛杂交家系鲜花的挥发性成分分析

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]** **目的:** 为了对铁皮石斛主栽品种森山 1 号和 11 个杂交家系鲜花进行挥发性成分分析, 并鉴定香气成分组成, 比较不同家系铁皮石斛花的挥发性成分差异, 同时也能够为进一步完善铁皮石斛新品种选育提供技术支持。**方法:** 采用顶空固相微萃取 (solid phase micro-extraction, HS-SPME) 技术和气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 法对铁皮石斛花中挥发性成分进行提取分析, 将检测到的不同家系铁皮石斛花成分组成及含量通过 SPSS 18.0 软件进行聚类分析, 分析亲缘关系的远近。**结果:** 铁皮石斛花挥发性成分主要以萜类、脂肪族、芳香族化合物为主, 各类型成分在不同品种及家系中的分布存在着一定差异。聚类分析结果基于亲缘关系较近的家系在性状及挥发性成分组成上都较为接近, 11 个家系铁皮石斛按亲缘关系被分为 3 类。**结论:** 固相微萃取技术在保证充分检测物质含量的基础上, 将挥发性物质的流失降低到最小, 简便精准。同时利用铁皮石斛鲜花挥发性成分组成和亲缘关系聚类可为铁皮石斛杂交选育及品系评价提供理论参考。

**[关键词]** 铁皮石斛花; 森山 1 号; 固相微萃取; 气相色谱-质谱联用

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)06-0052-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016060052

## Studies on Volatile Constituents of 11 Families of *Dendrobium officinale* Flowers

LYU Su-hua, XU Meng, ZHANG Xin-feng\*, LIU Jing-jing, SI Jin-ping

(Nurturing Station for State Key Laboratory of Subtropical Silviculture,  
Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an 311300, China)

**[Abstract]** **Objective:** In order to analyze the volatile constituents in cultivars Senshan 1 and the other 11 *Dendrobium officinale* fresh flowers, and identify of aroma chemical composition. The volatile components compared the in different *D. officinale* flowers, should be used as an indicator to provide a theoretical reference for *D. officinale* strain evaluation. **Method:** Extract and analyze the volatile components through head space solid phase micro-extraction (HS-SPME) and GC-MS, and then through SPSS 18.0 software to judge distance kinship using the volatile components in each *D. officinale* flowers. **Result:** The main compounds include terpenes, esters, aliphatic, aromatic compounds, various types volatile components appeared differences among 11 families of *D. officinale* flowers. The cluster analysis results based on close kinship families are relatively close in properties and composition of the volatile components, then the 11 families *Dendrobium* should divided into three categories according to kinship clustering. **Conclusion:** The advantage of solid phase micro extraction technology ensure the full content material content and reduce the loss of volatile substances. And at the same time take advantage of the volatile chemical composition and phylogenetic relationships can also provide theoretical reference for *D. officinale* hybrid breeding and strain evaluation.

**[Key words]** *Dendrobium officinale* flowers; Senshan 1; SPME; GC-MS; volatile composition

**[收稿日期]** 20150413(006)

**[基金项目]** 浙江省产业技术创新战略联盟项目(2012LM201); 浙江省公益技术研究项目(2015C32097); 浙江农林大学研究生创新项目(3122013240227)

**[第一作者]** 吕素华, 在读硕士, 从事药用植物遗传改良研究, Tel:18757177205, E-mail:1037420126@qq.com

**[通讯作者]** \*张新风, 博士, 副教授, 从事药用植物遗传改良研究, Tel:13968021946, E-mail:zhangxf73@163.com

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 具有益胃生津、滋阴清热等独特功效<sup>[1]</sup>, 主要以茎入药。铁皮石斛花是非药用部分, 多在 5—6 月开放, 气味清淡, 在栽培生产中产量较大, 在产地多加工为花茶使用。铁皮石斛的花中含有挥发油<sup>[2]</sup>、多糖<sup>[3]</sup>、黄酮类<sup>[4]</sup> 等成分, 且部分成分与茎、叶中相同。课题组在铁皮石斛主要分布区搜集了大量铁皮石斛种质进行杂交选育, 研究中发现不同亲本杂交组合的铁皮石斛花在花期、外观、颜色及气味上差异较大。有关铁皮石斛花挥发性成分的研究报道较少<sup>[5-7]</sup>, 有研究采用水蒸气蒸馏法提取花中挥发油进行分析<sup>[8]</sup>, 但低沸点挥发性物质损耗较大; 现有研究多集中在挥发性物质定性鉴别上, 但对于铁皮石斛栽培品种及杂交选育品系的鲜花进行挥发性成分研究尚属首次。本试验采用顶空固相微萃取结合气相-质谱联用技术 (HS-SPME-GC-MS)<sup>[9-10]</sup> 摸索铁皮石斛鲜花的分析条件, 对主栽品种和 11 个杂交组合的铁皮石斛鲜花进行分析鉴定, 比较其挥发性成分差异, 并利用主要挥发性成分进行聚类分析, 判断铁皮石斛的亲缘关系, 为铁皮石斛鲜花的合理利用和杂交育种提供理论支持。

## 1 材料

铁皮石斛鲜花样本均于 2013 年 6 月 5 日—6

日在浙江省临安市潘山村铁皮石斛种植基地采集, 包括 1 个主栽品种 (森山 1 号) 及 11 个铁皮石斛杂交家系的盛开鲜花 (绽开花苞 24 h 内)。其中 11 个杂交组合的亲本主要来自于铁皮石斛主要分布区<sup>[11-12]</sup>, 亲本名称及子代农艺性状详见表 1; 在所有的杂交组合中, 78 × 69 和 6A × 2B 已分别通过浙江省林业厅新品种和新品系审定, 目前已在多家铁皮石斛种植基地推广种植。ISQ™ 系列气相色谱-质谱联用仪 (单四级杆型 GC-MS 联用仪, 美国 Thermo Scientific™); SPME/PDMS 固相微萃取装置及萃取纤维 (100 μm, 上海安谱科学仪器有限公司生产)。

## 2 方法与结果

**2.1 SPME 条件** 采用固相微萃取 (SPME) 方式吸附鲜花样品中挥发性成分<sup>[13]</sup>。固相微萃取纤维有多种, 其种类及萃取条件对挥发性成分的分析有较大的影响, 对于铁皮石斛香气成分的分析采用优化的 SPME 萃取条件。样品处理时将新鲜采集的铁皮石斛鲜花 10 朵放入 20 mL 顶空瓶中, 密封, 用 100 μm 萃取纤维于室温下吸附 45 min, 解析温度 250 °C, 脱附时间 10 min。每次进样后, 萃取纤维需要在 GC 进样口 250 °C 下老化 10 min。

表 1 11 个铁皮石斛杂交组合的农艺性状

Table 1 Agronomic trait of 11 *Dendrobium officinale* families

No.	杂交组合	主要特点
1	30 × 83	苗中等高度, 茎基部较细, 叶大小适中, 花淡黄, 瓣心浅黄
2	83 × 34	苗较高, 茎较粗, 叶较大且狭长, 花微绿, 瓣心浅黄
3	17 × 30	苗中等高度, 茎基部较细, 叶大小适中, 花浅黄, 瓣心橙色
4	17 × 71	苗较高, 茎较粗, 叶较大且狭长, 花淡黄, 瓣心浅黄
5	69 × 91	苗较高, 茎最粗, 叶大且狭长, 花淡黄, 瓣心橙色
6	70 × 91	苗较高, 茎最粗, 叶大且狭长, 花浅黄, 瓣心橙色
7	78 × 68	苗较高, 茎较粗, 叶较大且狭长, 花浅黄, 瓣心黄色
8	78 × 69	苗较高, 茎最粗, 叶大且狭长, 花浅黄, 瓣心橙色
9	78 × 72	苗高与茎粗均中等, 叶稍宽厚大小适中, 花浅黄, 瓣心黄绿
10	78 × 76	苗高与茎粗均中等, 叶稍宽厚大小适中, 花浅黄, 瓣心橙色
11	6A × 2B	苗最高, 茎较粗, 叶大且狭长, 花微绿, 瓣心深红

**2.2 GC-MS 分析条件** GC 条件为采用 TR-5MS 石英毛细管柱 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm), 进样口温度 250 °C, 传输线温度 250 °C; 升温程序为初始柱温 40 °C, 保持 2 min, 以 3 °C · min<sup>-1</sup> 升至 200 °C, 保持 3 min, 然后以 5 °C · min<sup>-1</sup> 升至 280 °C, 保持 10 min; 载气高纯氦气 (纯度 ≥ 99.99%), 流速 0.9 mL · min<sup>-1</sup>, 不分流进样。

MS 条件为 EI 电离源, 电离能量 70 eV, 离子阱温度 200 °C, 歧管温度 40 °C, 传输线温度 250 °C, 质量扫描范围为 *m/z* 40 ~ 500, 扫描速度 3 scans · s<sup>-1</sup>, 采样时间 2.5 ~ 75 min。

系列正构烷烃以丙酮溶解, 然后按照上述 GC-MS 条件进样记录 C<sub>8</sub> ~ C<sub>30</sub> 各正烷烃的保留时间, 再利用线性升温公式计算各组分的保留指数 RI, RI =

$100 \times (t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n) + 100 \times n$ , 其中,  $t_x, t_n$  和  $t_{n+1}$  分别为被分析组分和碳原子数处于  $n$  和  $n+1$  之间的正烷烃 ( $t_n < t_x < t_{n+1}$ ) 的流出峰的保留时间 (min)。

**2.3 铁皮石斛鲜花挥发性成分分析** 基地主要栽培品种森山 1 号鲜花及 11 个家系鲜花样品, 分别经固相微萃取纤维吸附后, 按 2.2 项 GC-MS 分析条件测定得总离子流图, 见图 1。对各峰质谱图利用 NIST08 谱库进行检索, 按照保留时间结合文献和质谱匹配度进行核对, 对各组分进行定性分析, 采用峰面积归一化法计算得到各组分占挥发性成分的

相对含量(组分峰面积占总峰面积的百分比), 见表 2。

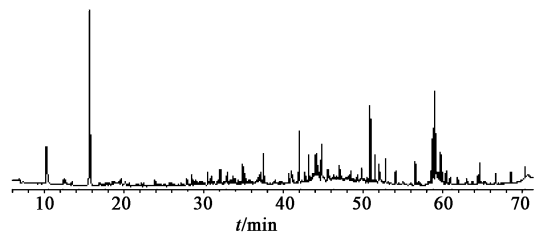


图 1 铁皮石斛鲜花挥发性物质总离子流  
Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile composition of *Dendrobium officinale* flowers

表 2 铁皮石斛花的挥发性成分相对百分含量

Table 2 Volatile composition of *Dendrobium officinale* flower

No.	保留指数	保留时间 /min	化合物名称	化学式	相对分子质量	森山 1 号相对含量 /%	11 个家系	
							平均相对含量 /%	变异系数
1	954	10.21	蒎烯 1 <i>R</i> - $\alpha$ -pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	4.27	4.64	0.51
2	1 006	12.43	$\beta$ -水芹烯 $\beta$ -phellandrene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.69	0.80	0.62
3	1 084	16.00	柠檬烯 <i>D</i> -limonene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.30	1.03	0.61
4	1 087	16.17	桉油素 cineole	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	16.83	12.72	0.45
5	1 160	19.50	芳樟醇 $\alpha$ -linalool	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	-	0.74	1.22
6	1 162	19.60	正十二烷 dodecane	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	170	0.88	2.03	0.30
7	1 203	21.45	异环柠檬醛 isocyclocitral	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	0.19	0.60	0.50
8	1 266	24.41	$\alpha$ -松油醇 <i>p</i> -menth-e-en-ol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	-	4.07	1.58
9	1 304	25.89	2-羟基桉叶素 exo-2-hydroxycineole	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	170	0.25	0.84	0.33
10	1 342	27.80	3,5-二甲氧基甲苯 3,5-dimethoxytoluene	C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	152	-	0.21	3.32
11	1 368	28.56	正十三烷 <i>n</i> -tridecane	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	184	0.89	1.04	0.29
12	1 428	30.99	薄荷脑 menthol	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> O	228	0.72	0.86	0.26
13	1 441	31.48	1,13-十三二醛 tridecanedial	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	212	0.34	0.49	0.38
14	1 450	31.83	异戊酸香叶酯 geranyl isovalerate	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	238	0.37	0.70	0.40
15	1 455	32.04	2-丁基-2-辛醇 2-butyl-2-octenal	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O	182	1.05	0.92	0.41
16	1 459	32.18	正十一烷 undecane	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224	0.96	1.15	0.64
17	1 475	32.82	金合欢烯 farnesene	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	0.67	0.90	0.34
18	1 479	32.98	正十四烷 tetradecane	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	198	0.84	1.55	0.57
19	1 457	33.23	肉桂酸甲酯 methyl cinnamate	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	162	-	0.75	1.28
20	1 489	33.37	六氢假紫罗酮 hexahydropseudoionone	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	168	0.43	0.64	0.45
21	1 496	33.65	长叶烯 (+)-longifolene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.55	0.78	0.64
22	1 504	33.93	$\alpha$ -柏木烯 cedr-8-ene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.48	0.72	0.49
23	1 514	34.31	$\beta$ -紫罗兰酮 $\beta$ -ionone	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O	192	0.35	0.36	0.19
24	1 536	35.12	棕榈醇 2-methylhexadecan-1-ol	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> O	256	0.84	1.52	0.38
25	1 544	35.41	植烷 ohytane	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	282	0.67	1.77	0.84

续表 2

No.	保留指数	保留时间 /min	化合物名称	化学式	相对分子质量	森山 1 号相对含量/%	11 个家系	
							平均相对含量/%	变异系数
26	1 590	37.13	正十五烷 <i>n</i> -pentadecane	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	212	0.84	1.12	0.32
27	1 600	37.55	2,6-二叔丁基对甲酚 butylated hydroxytoluene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	2.31	4.54	0.44
28	1 702	41.08	正十六烷 <i>n</i> -cetane	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	226	0.52	1.01	0.29
29	1 729	42.01	雪松醇 cedrol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	4.67	3.61	0.41
30	1 751	42.72	十七烷 heptadecane	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	1.15	0.97	0.37
31	1 772	43.45	六水金合欢醇 hexa-hydro-farnesol	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub> O	228	0.29	0.38	0.32
32	1 789	43.99	2-甲基十六烷醇 2-nethylhexadecan-1-ol	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub> O	256	2.14	0.45	1.57
33	1 795	44.21	正十九醇 1-nonadecanol	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub> O	284	2.23	0.46	1.52
34	1 814	44.82	正十九烷 <i>n</i> -nonadecane	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub>	240	3.28	2.37	0.37
35	1 823	45.09	2,4,4,6,6,8,8-七甲基-1-壬烯 2,4,4,6,6,8,8-heptamethyl-1-nonene	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub>	224	0.26	0.52	0.76
36	1 839	45.6	1,2,3-三甲基-4-[(1E)]-1-丙烯基萘 1,2,3-trimethyl-4-[(1E)]-1-propenyl]naphthalene	C <sub>16</sub> H <sub>18</sub>	210	0.99	0.67	0.42
37	1 862	46.32	己基癸醇 2-hexyl-1-decanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	242	0.49	0.40	0.41
38	1 886	47.08	3-甲基-Z,Z-4,6-十六烷二烯 3-methyl-Z,Z-4,6-hexadecadiene	C <sub>17</sub> H <sub>32</sub>	236	1.36	0.69	0.43
39	1 933	48.55	2,6,10-三甲基十四烷 2,6,10-trimethyltetradecane	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	240	1.10	1.20	0.69
40	1 961	49.37	肉豆蔻酸异丙酯 tetradecanoic acid, 1-methylethyl ester	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	0.41	2.44	0.54
41	2 081	52.89	棕榈酸甲酯 palmitic acid, methyl ester	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	1.70	0.58	0.65
42	2 125	54.13	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	278	1.15	1.62	0.65
43	2 264	58.35	山嵛醇 1-docosanol	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O	326	0.34	0.44	0.76
44	2 279	58.83	油酸甲酯 oleic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	5.43	1.46	0.93
45	2 287	59.08	反油酸甲酯 elaidic acid, methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	10.88	2.61	0.74
46	2 310	59.78	12,15-十八碳二烯酸甲酯 12,15-octadecadiynoic acid methyl ester	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	290	2.82	0.80	0.92
47	2 338	60.5	9-邻丙基-壬酸甲酯 methyl 9-( <i>o</i> -propylphenyl) nonanoate	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	290	0.95	0.23	1.54
48	2 481	63.91	芥酸 erucic acid	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	338	0.19	0.43	0.52
49	2 508	64.49	正二十一烷 <i>n</i> -heneicosane	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	298	0.67	0.52	0.28
50	2 633	66.71	正二十四烷 <i>n</i> -tetracosane	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	0.64	0.41	0.40
51	2 757	68.66	正二十八烷 <i>n</i> -octacosane	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	0.79	0.44	0.78

从铁皮石斛鲜花样品中共鉴定出 51 个挥发性化合物,成分组成主要以萜类、脂肪族类和芳香族类为主。萜类化合物包括单萜、倍半萜类及他们的含氧衍生物,其中单萜及其含氧衍生物占有比例较高,包括蒎烯、桉油素、松油醇、柠檬烯等;倍半萜类化合物数量相对较少,主要有长叶烯和雪松醇。脂肪族类成分是铁皮石斛花中重要的挥发性成分类型之一,在铁皮石斛鲜花检测鉴定出的脂肪族类物质多达 33 个,且 11 个家系的相对含量均超过 30%,成分组成丰富,类型主要包括烷烃、醇类、酸类、酮类、醛类及酯类等,有十一烷、十三烷、十四烷、棕榈醇、十六烷、十七烷、植烷、十九烷、肉豆蔻酸异丙酯、油

酸甲酯、反油酸甲酯等。从铁皮石斛鲜花中检测到的主要芳香族挥发性成分有 2,6-二叔丁基对甲酚和 1,2,3-三甲基-4-[(1E)]-1-丙烯基]萘,2 种成分在所有鲜花中都有分布。在主栽品种森山 1 号中大多数挥发性成分与 11 个家系鲜花检测到的一致,只有芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇、3,5-二甲氧基甲苯、肉桂酸甲酯 4 个成分未检测到。

将不同父本和母本进行杂交,其杂交子代在花期、外观、农艺性状、器官及气味等方面会有不同的表现见表 1。11 个家系的鲜花共有挥发性成分多达 34 个,但不同类型成分所占的比例有一定的差异见表 3。在所有家系中,83×34 与 30×83 共 2 个家系

鲜花中单萜类物质相对含量高达 50% 左右,蒎烯、柠檬烯、桉油素、芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇等单萜类成分表

现突出;而其余 9 个家系鲜花的脂肪族类成分明显高于总单萜类成分,相对含量均超过 30%,见图 2。

表 3 11 个家系铁皮石斛鲜花挥发性成分类型 相对百分含量

Table 3 Volatile composition types of 11 families of *Dendrobium officinale* flower

家系	含氧单萜	总单萜	含氧倍半萜	总倍半萜	脂肪族	酯类	芳香族	挥发性组分总量
83 × 34	22.01	53.52	2.82	4.77	20.69	6.41	2.41	81.39
30 × 83	19.58	46.41	2.69	4.73	24.36	7.57	2.12	77.62
17 × 30	11.30	21.16	3.95	6.49	36.52	8.59	6.81	70.98
17 × 71	21.98	29.62	2.70	6.35	30.01	8.40	6.86	72.84
69 × 91	6.51	8.71	5.70	8.45	47.75	20.73	5.23	70.14
70 × 91	14.10	22.39	4.01	6.59	34.52	12.71	7.20	70.7
78 × 68	12.86	23.62	3.04	5.28	36.87	11.80	6.70	72.47
78 × 69	7.38	14.08	5.32	8.41	33.06	9.79	3.38	58.93
78 × 72	8.01	16.33	5.84	8.75	33.59	10.45	6.25	64.92
78 × 76	7.39	29.50	4.97	7.06	32.33	10.57	3.58	72.47
6A × 2B	15.38	21.46	7.08	11.16	31.88	7.79	6.76	71.26
平均值	13.32	26.07	4.37	7.09	32.87	10.44	5.21	
变异系数	2.27	1.95	2.91	3.62	4.72	2.68	2.66	

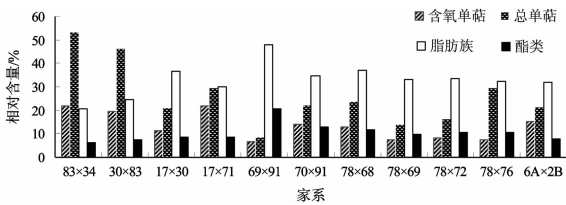


图 2 11 个家系各类型组分比较

Fig. 2 Compounds proportion of 11 families of *Dendrobium officinale* flower

在 4 种以 78 号铁皮石斛做母本的家系中,脂肪族类和单萜类成分在挥发性成分中所占比例较为均匀,但在个别成分上有些差异,如 78 × 72 中未检测到  $\alpha$ -松油醇。与家系 30 × 83 相比,从家系 17 × 30 中未检测到  $\beta$ -水芹烯、芳樟醇,且另一单萜类成分  $\alpha$ -松油醇检测量也较低,说明以 83 号铁皮石斛花做亲本时,子代鲜花中萜类化合物的合成代谢比较突出。和家系 78 × 69 相比,69 × 91 家系的萜类成分不太突出,但其脂肪族类成分在所有家系中相对含量最高,其酯类成分也在所有家系中最高,说明不同的亲本对子代的代谢成分类型会有影响。

**2.4 11 个铁皮石斛鲜花挥发性成分聚类分析** 以铁皮石斛鲜花的主要挥发性成分作为指标,采用 SPSS 18.0 软件利用欧氏距离、离差平方和法对 11 个杂交组合样本进行聚类分析。见图 3。

选取指标性的挥发性成分,采用 SPSS 18.0 软

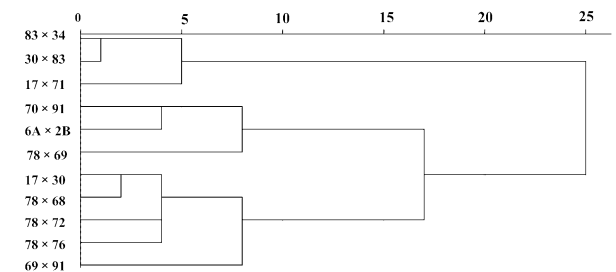


图 3 11 个铁皮石斛家系聚类分析

Fig. 3 Cluster diagram of 11 families of *Dendrobium officinale* flower

件利用欧氏距离、离差平方和法进行聚类分析,以 10(15) 间距为轴,可将 11 个铁皮石斛家系聚为 3 大类。其中,30 × 83,83 × 34 和 17 × 71 共 3 个家系聚为一类,3 个家系的单萜类成分桉油素相对含量较为接近,它们的花瓣心均为浅黄色,外观性状和成分含量的相似性也可以作为 3 个家系亲缘关系相近的参考依据;17 × 30,78 × 68,78 × 72,78 × 76 及 69 × 91 共 5 个家系脂肪族类成分相对含量较高,且在聚类分析中归为一类。6A × 2B,70 × 91 和 78 × 69 3 个家系聚为一类,3 个家系花瓣心均为橙色,且萜类、脂肪族类和酯类等成分相对含量较一致。课题组前期对 6A × 2B 和 78 × 69 共 2 个家系进行过农艺性状<sup>[14]</sup>、多糖等功效成分<sup>[15]</sup>的调查,确定 2 个家系为优良品系,从此次挥发性成分的研究结果来

看,两个家系被聚为一类,且它们的主要挥发性组成成分相对含量也较为接近,说明以花的挥发性组成成分也可为前期工作提供参考。

### 3 讨论

霍昕采用水蒸气蒸馏法提取铁皮石斛花中的挥发油<sup>[8]</sup>,检测峰数较多,但萜类物质的损耗相对较大;顶空固相微萃取(HS-SPME)可吸附样本中的挥发性物质,具有不破坏样本,处理简便,分析速度快等优点。本试验利用顶空固相微萃取方法对 12 个铁皮石斛鲜花样本进行吸附分析,共有峰数量较多,在所有的样本中都检测到萜类、脂肪族类及芳香族类等挥发性成分,且萜类物质损耗较小,基本上能够反映铁皮石斛鲜花中的挥发性物质分布情况,说明利用顶空固相微萃取方式具有一定的可行性。但本试验未能检测到报道中含量最高的物质壬醛,此外在铁皮石斛花中检测到的一些挥发性物质在茎条和叶中也有分布<sup>[7,16]</sup>,如芳樟醇、十二烷、 $\beta$ -紫罗兰酮等。

本试验发现不同品种及家系的鲜花中挥发性成分的组成及类型存在着一定的差异。通过聚类分析,形成亲缘较为接近的 3 类,每一类中亲缘关系较近的家系在挥发性成分组成上较为接近,且花型及颜色也较为接近。有研究利用植物的挥发性成分进行植物化学分类学研究<sup>[17]</sup>或种质优劣鉴别<sup>[18]</sup>,本试验利用铁皮石斛花挥发性成分组成可划分 11 个家系的亲缘关系,但要明确杂交子代的优劣还需要结合水溶性及醇溶性成分进行综合分析,本试验结果可为杂交选育及品系评价提供理论参考。

#### [参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010.

[2] 陈佳江,郭力,许莉,等. 选鞘石斛茎叶花 HPLC-DAD-ELSD 对比研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(3): 574-575.

[3] 周桂芬,庞敏霞,陈素红,等. 铁皮石斛茎、叶多糖含量及多糖部位柱前衍生化高效液相色谱指纹图谱比较研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5):795-802.

[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, 29(12): 106-110.

[5] 张倩倩,刘守金. 铜皮石斛花挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 中国现代中药, 2011, 13(6):34-40.

[6] 李长田,李成博. 鼓槌石斛干花正己烷提取物的 GC-MS 研究[J]. 云南师范大学学报, 2011, 31(5): 75-78.

[7] 康联伟,宋银. 铁皮石斛挥发油化学成分的 SPME-GC-MS 分析[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(10): 2279-2281.

[8] 霍昕,周建华,杨迺嘉,等. 铁皮石斛花挥发性成分研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 23(8):735-737.

[9] 吕世懂,姜东华. 顶空固相微萃取-GC-MS 分析普洱熟茶与安化黑茶香气成分[J]. 热带作物学报, 2013, 34(8):1583-1591.

[10] Deng C H, Song G X, Hu Y M. Rapid determination of volatile compounds emitted from *Chimonanthus praecox* flowers by HS-SPME-GC-MS [J]. Zeitschrift Fur Naturforschung C, 2004, 59(9/10):636-640.

[11] 章晓玲,斯金平,吴令上,等. 铁皮石斛 F<sub>1</sub> 代田间试验与优良家系选择[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(22): 3861-3865.

[12] 刘志高,朱波,斯金平,等. 铁皮石斛 F<sub>1</sub> 代苗期农艺性状研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(4):498-503.

[13] 吴继红,张美莉,陈芳,等. 固相微萃取 GC-MS 法测定苹果不同品种中主要芳香成分的研究[J]. 分析测试学报, 2005, 24(4):101-104.

[14] 章晓玲,刘京晶,吴令上,等. 铁皮石斛 F<sub>1</sub> 代多糖和醇溶性浸出物变异规律研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21):3687-3690.

[15] 诸燕,斯金平,郭宝林,等. 人工栽培铁皮石斛多糖含量变异规律[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(4): 427-430.

[16] 杨柳,刘守金,胡江苗,等. GC-MS 法检测铁皮石斛茎中挥发性成分[J]. 中药科技, 2013, 15(5): 362-364.

[17] Liu C H, Jiang D, Cheng Y J, et al. Chemotaxonomic study of citrus, poncirus and fortunella genotypes based on peel oil volatile compounds-deciphering the genetic origin of Mangshanyegan (*Citrus nobilis* Lauriro) [J]. J PLoS One, 2013, 8(3):1-10.

[18] Beaulieu, J C, Lea J M. Characterization and semiquantitative analysis of volatiles in seedless watermelon varieties using solid-phase microextraction. [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54(20):7789-7793.

[责任编辑 顾雪竹]