

王广政, 巩晴晴, 俞年军, 等. 液相色谱-串联质谱法检测药食两用杂交天麻及其亲本品种中的氨基酸、核苷类成分 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(3): 269–278. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030299

WANG Guangzheng, GONG Qingqing, YU Nianjun, et al. Determination of Amino Acids and Nucleosides in Medicinal and Edible Hybrid *Gastrodia elata* and Its Parent Varieties Based on Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(3): 269–278. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030299

· 分析检测 ·

液相色谱-串联质谱法检测药食两用杂交天麻及其亲本品种中的氨基酸、核苷类成分

王广政^{1,2}, 巩晴晴^{1,2}, 俞年军^{1,2,3,4,5,*}, 高翰博^{1,2}, 邢丽花^{1,3}, 杜方平⁶

(1.安徽中医药大学药学院, 安徽合肥 230012;

2.安徽省中医药科学院中药资源保护与开发研究所, 安徽合肥 230012;

3.安徽道地中药材品质提升协同创新中心, 安徽合肥 230012;

4.中药研究与开发安徽省重点实验室, 安徽合肥 230012;

5.新安医学教育部重点实验室, 安徽合肥 230012;

6.金寨县药用菌种植专业合作社, 安徽六安 237000)

摘 要: 实验采用超高效液相色谱与质谱联用技术精确检测金寨红乌杂交天麻及其亲本云南乌天麻、金寨红天麻中的氨基酸、核苷类成分, 结合统计学方法阐明三个品种天麻之间的氨基酸、核苷类成分组成与含量差异并综合评价, 为后续金寨杂交天麻的资源利用与食品开发提供科学依据。C₁₈ 柱 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流动相用 0.2% 甲酸水 (A) -乙腈 (B), 体积流量为 0.2 mL/min, 柱温 30 ℃, 梯度洗脱; 电喷雾离子源以多反应监测 (MRM) 模式测定, 喷雾电压 5500 V; 离子化温度 550 ℃; 离子源气压 (Gas) 为 241.3 kPa, 雾化气 (GS1) 为 379.2 kPa, 辅助气 (GS2) 为 379.2 kPa。实验结果运用主成分分析 (PCA) 和优劣解距离法 (TOPSIS) 进行分析并综合评价。结果显示, 31 种成分在 0~144.58 μg/mL 范围内线性关系良好, 决定系数 R^2 均大于 0.999, 精密度、稳定性、重复性峰面积 RSD 均不大于 3.0%, 平均回收率 92.69%~99.5%, 回收率 RSD 1.3%~2.9%。天麻内含有丰富的氨基酸与核苷类成分, 其中谷氨酸与天门冬氨酸为主要成分, 杂交天麻总氨基酸、总核苷含量较亲代天麻更高, 且总氨基酸呈显著性差异 ($P<0.05$), PCA 与 TOPSIS 法评价结果也以 S1、S2 杂交天麻品质最优。该实验为天麻的质量评价建立了新方法, 并为金寨杂交品种的推广提供了科学依据。

关键词: 天麻, 液相色谱-串联质谱法, 氨基酸, 核苷, 主成分分析, TOPSIS 法, 药食两用, 质量评价

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)03-0269-10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022030299

本文网刊:



Determination of Amino Acids and Nucleosides in Medicinal and Edible Hybrid *Gastrodia elata* and Its Parent Varieties Based on Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

WANG Guangzheng^{1,2}, GONG Qingqing^{1,2}, YU Nianjun^{1,2,3,4,5,*}, GAO Hanbo^{1,2}, XING Lihua^{1,3}, DU Fangping⁶

(1.School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

2.Institute of Traditional Chinese Medicine Resources Protection and Development,
Anhui Academy of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China;

3.Collaborative Innovation Center for Quality Improvement of Daodi Chinese Medicinal Materials, Hefei 230012, China;

收稿日期: 2022-03-25

基金项目: 国家自然科学基金联合基金项目 (U19A2009); 安徽高校协同创新项目 (GXXT-2019-043); 安徽道地中药材品质提升协同创新中心项目 (皖教科 [2013] 2 号); 安徽省教育厅项目 (皖教科 [2014] 44 号); 2019 年中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目” (财社 [2019] 43 号)。

作者简介: 王广政 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 中药资源与中药质量, E-mail: 2054332851@qq.com。

*** 通信作者:** 俞年军 (1965-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 中药质量评价, E-mail: ynj2005288@sina.com。

4. Anhui Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Research and Development, Hefei 230012, China;

5. Xin'an Medical and Education Ministry Key Laboratory, Hefei 230012, China;

6. Jinzhai County Medicine Mushroom Planting Professional Cooperative, Liuan 237000, China)

Abstract: To provide a scientific basis for the follow-up resource utilization and food development of Jinzhai hybrid *G. elata*, the ultra-high performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry was utilized to accurately determine the contents of amino acids and nucleosides in Jinzhai Hongwu hybrid *Gastrodia elata* Bl. and its parents Yunnan *G. elata* Bl. f. *glauca* S. Chow and Jinzhai *G. elata* Bl. f. *elata*. Statistical methods were also applied to clarify and comprehensively evaluate the composition and content differences in amino acids and nucleosides among the three varieties of *G. elata*. C₁₈ column (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm) was used with 0.2% formic acid water (A)-acetonitrile (B) as the mobile phase at a flow rate of 0.2 mL/min. The column temperature was 30 °C with gradient elution. Moreover, electrospray ion source was measured in multiple reaction monitoring (MRM) mode, which was set as spray voltage at 5500 V; ionization temperature at 550 °C; ion source gas pressure (Gas) at 241.3 kPa, atomizing gas (GS1) at 379.2 kPa, and auxiliary gas (GS2) at 379.2 kPa. The results revealed that there was a good linear relationship in the range of 0~144.58 μg/mL of the 31 components. The coefficient of determination R^2 was greater than 0.999, and the RSD of the precision, stability, and repeatability of the peak area was not greater than 3.0%. The average recovery rate was between 92.69% and 99.5%, while recovery rate RSD ranged from 1.3% to 2.9%. Based on all above, *G. elata* was rich in amino acids and nucleotides, of which glutamic acid and aspartic acid were the main components. The contents of total amino acids and nucleosides in hybrid *G. elata* were higher than those of its parents *G. elata*. And there was a significant difference in the amino acids contents of different varieties ($P<0.05$). In the evaluation results of PCA and TOPSIS methods, the qualities of S1 and S2 hybrid *G. elata* were the best. This paper established a new method for evaluating the quality of *G. elata* and provided a scientific basis for the development and exploitation of Jinzhai hybrid varieties.

Key words: *Gastrodia elata*; liquid chromatography-tandem mass spectrometry; amino acid; nucleoside; principal component analysis; TOPSIS; homology of medicine and food; quality evaluation

天麻为兰科植物天麻(*Gastrodia elata* Bl.)的块茎,因其具有药用以及食用的双重功效而受到消费者的高度关注,国家卫计委在 2019 年底就将天麻列入《按照传统既是食品又是中药材物质》名单,天麻现已广泛应用于日常饮食以及营养保健中^[1-3]。天麻具有很高的食用价值,含有多人体必需的营养成分,如氨基酸^[4-8]、核苷^[9-10]、多糖^[11-15]、微量元素^[16-18]、蛋白质^[19-21]等。氨基酸参与体内众多生命活动,其含量已经成为评价药食两用中药质量的关键指标;核苷为核酸的主要组分,另外核苷还作为神经递质,参与调节脑内不同的生理和病理过程。因此研究天麻氨基酸、核苷类等营养成分,明确其营养价值对药食两用天麻品质的提升与质量的控制具有重大意义。

现代学者将天麻划分为乌天麻、红天麻、绿天麻、松天麻、黄天麻 5 个变型^[22],目前市场主要流通的天麻品种为云南、贵州乌天麻以及长江、黄河流域的红天麻^[23]。安徽金寨县地处大别山区,自然环境优越,是全国天麻主产区之一。金寨县主要栽培品种为红天麻,当地种植户为提高天麻产量与质量从云南小草坝引种乌天麻与本地红天麻进行杂交,根据杂交优势原理培育出具有亲本优良特性的新品种“红乌天麻”^[24]。周娜^[25]对金寨天麻的栽培情况与质量标准展开研究,发现红乌天麻与亲本红天麻的农艺性状与显微性状呈显著性差异,通过建立指纹图谱得出杂交天麻中天麻素、对羟基苯甲醇含量符合 2020 版《中国药典》规定。但查阅国内外文献后发现,目前尚未

有研究说明金寨杂交品种与其亲本品种之间存在质量差异,杂交红乌天麻除在性状上区别于亲代天麻,其内在质量是否较亲代天麻得到提升,这影响到杂交品种今后的推广种植以及金寨天麻产业的发展。

目前测定氨基酸含量的主要方法是将其柱前或柱后衍生后加入仪器中测定,包括氨基酸分析法、高效液相色谱法和毛细管电泳法等^[26-28],但衍生化操作复杂,衍生物稳定性较差,其衍生效果无法直接判断。而液相色谱-质谱将液相的分离能力与质谱的高灵敏度和选择性相结合,该方法比高效液相色谱更适合于多组分复杂系统的分离和分析,操作简便,结果准确。通过查阅文献, Wang 等^[29]建立高效液相-电喷雾串联质谱法同时鉴定出天麻提取物中的 15 种酚类化合物和 6 种核苷类成分; Chen 等^[4]采用超高效液相色谱串联三级四极杆质谱仪器对不同地区新鲜天麻根茎中的酚类、核苷以及氨基酸类成分进行鉴定并测定含量,结果成功鉴定出 4 种氨基酸和 2 种核苷并发现不同产地采集的天麻样本中检测到的氨基酸存在显著的含量差异。除此外,再未查阅到有关液质联用技术测定天麻氨基酸与核苷的相关学术报告。本文首次采用液质联用技术系统性地对天麻中氨基酸与核苷两类生物活性成分的组成与含量进行测定,旨在从营养物质差异方面评价杂交天麻与其亲本品种的品质优劣,为金寨杂交红乌天麻的推广栽培种植提供依据,有利于药食两用天麻的资源开发与利用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

3 个品种共 9 批天麻样品(乌天麻、红天麻、红乌天麻)均为实地采集, 详细信息见表 1。

表 1 天麻样品采集信息

Table 1 Collection information of <i>Gastrodia elata</i> samples				
样品编号	采集地点	品种	海拔(m)	栽培方式
S1	安徽金寨班竹园	红乌天麻	581.2	林下
S2	安徽金寨汤家汇	红乌天麻	593.7	林下
S3	安徽金寨双河镇	红乌天麻	554.9	大棚
S4	安徽金寨果子园	红天麻	348.7	大棚
S5	安徽金寨吴家店	红天麻	366.0	大棚
S6	安徽金寨沙河乡	红天麻	273.1	大棚
S7	云南昭通小草坝	乌天麻	1934.2	大棚
S8	云南昭通小草坝	乌天麻	1883.7	大棚
S9	云南昭通小草坝	乌天麻	1745.4	大棚

实验所用水 为超纯水; 甲酸 购于上海阿拉丁工业公司; 乙腈 购于安徽天地高纯溶剂有限公司, 二者均为色谱级, 纯度均≥98%。对照品苏氨酸(B21933)、苯丙氨酸(B21910)、异亮氨酸(B21937)、亮氨酸(B21925)、酪氨酸(B21924)、胱氨酸(B21919)、丙氨酸(B21911)、谷氨酸(B21916)、甲硫氨酸(B21913)、脯氨酸(B21914)、组氨酸(B21938)、天冬氨酸(B21934)、天冬酰胺(B21935)、丝氨酸(B21932)、甘氨酸(B21915)、缬氨酸(B21936)、精氨酸(B21920)、羟脯氨酸(B21928)、色氨酸(B21930)、赖氨酸(B21923)、 γ -氨基丁酸(B21979)、尿嘧啶(B20908)、腺嘌呤(B21357)、胞苷(B20073)、鸟嘌呤(B20906)、肌苷(B20582)、胸苷(B30633)、鸟苷(B20905)、腺苷(B21356)、尿苷(B20907)、次黄嘌呤(B20211)、胞嘧啶(B20074) 购于上海源叶公司, 纯度均≥98%。

ExionLC AD 超高效液相色谱仪 日本 Shimadzu; ABSciex QTRAP 5500 三重四级杆-线性离子阱串联质谱仪 美国 SCIEX; PALL -Cascada II 纯水机 美国颇尔; AX324ZH 电子天平 常州奥豪斯; CENTRIFUGE 5810 R 高速离心机 德国艾本德; AS 系列超声波清洗机 天津奥特赛恩斯。

1.2 实验方法

1.2.1 标准品溶液制备 精密称取 31 种待测成分的对照品适量, 置于 15 mL 的离心管中加入超纯水溶解, 获得单一成分的标准品溶液, 再从各单标溶液中吸取 1 mL 移至离心管中配制成混合标准品溶液。标准品溶液使用前, 用超纯水逐级稀释至所需浓度, 过 0.22 μ m 的微孔滤膜后, 置于 4 $^{\circ}$ C 环境中保存。

1.2.2 样品的前处理 将采集到的天麻样品洗净, 用热水隔水蒸至透心, 然后切片置于 70 $^{\circ}$ C 环境下烘干, 最后用打粉机粉碎过 60 目筛备用。精密称定上述处理后的天麻样品粉末 1.0 g, 置于 50 mL 离心管中, 加入 40 mL 超纯水, 超声(25 $^{\circ}$ C, 功率 200 W, 频

率 40 kHz) 处理 50 min, 过滤后静置, 滤液在 11000 r/min 下离心 8 min, 吸取上清液过 0.22 μ m 微孔滤膜, 最后取滤液上机测定。

1.2.3 测定条件

1.2.3.1 色谱条件 色谱柱为 ZORBAX RRHD Eclipse Plus C₁₈(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μ m); 将含有 0.2% 甲酸的水作为流动相 A, 将乙腈作为流动相 B, 梯度洗脱(0~4 min, 85% B; 4~6 min, 85%~48% B; 6~8 min, 48% B; 8~9 min, 48%~85% B; 9~12 min, 85% B); 进样体积 1 μ L, 流速 0.2 mL/min, 柱温 30 $^{\circ}$ C。

1.2.3.2 质谱条件 在 ESI⁺(正离子化)模式下进行多反应监测(MRM)检测; 喷雾电压 5500 V; 离子化温度 550 $^{\circ}$ C; Gas 为 241.3 kPa(35 psi), Gas1 为 379.2 kPa(55 psi), Gas2 为 379.2 kPa(55 psi)。另外对碰撞能量、去簇电压以及检测离子对优化处理, 优化后的条件参数见表 2。

表 2 31 种成分测定中优化的质谱条件参数

Table 2 Optimized MS parameters for the determination of 31 components

化合物	保留时间 (min)	母离子	子离子	去簇电压 (V)	碰撞电压 (V)
甘氨酸	5.83	76.04	30.00*, 49.00	73	6
丙氨酸	6.36	90.06	44.02*, 46.78	79	10
丝氨酸	6.18	106.05	59.99*, 74.30	67	8
天门冬氨酸	6.51	134.05	87.96*, 73.80	59	10
天门冬酰胺	4.12	132.80	115.70*, 73.90	46	13
缬氨酸	6.41	118.09	72.06*, 55.06	67	8
谷氨酸	3.46	147.08	83.92*, 130.58	83	14
异亮氨酸	2.98	132.00	86.00*, 69.00	66	15
甲硫氨酸	7.01	150.06	104.03*, 133.00	91	10
精氨酸	6.88	175.12	70.20*, 116.00	88	18
组氨酸	3.52	156.08	110.03*, 93.17	95	16
苏氨酸	3.54	120.30	76.80*, 104.70	54	11
苯丙氨酸	3.55	166.10	120.05*, 103.00	56	14
亮氨酸	6.92	132.10	86.05*, 42.30	98	10
胱氨酸	3.65	240.80	151.90*, 120.00	71	18
羟脯氨酸	4.43	133.80	71.80*, 69.60	52	25
酪氨酸	3.56	182.16	136.08*, 165.10	46	17
色氨酸	5.31	205.00	188.00*, 72.2	202	15
脯氨酸	7.01	116.07	70.02*, 68.03	68	10
赖氨酸	4.29	147.00	84.00*, 130.00	52	24
γ -氨基丁酸	5.68	103.70	86.90*, 87.00	32	14
鸟嘌呤	4.20	151.80	135.00*, 135.00	62	24
腺嘌呤	6.57	136.06	119.00*, 92.00	51	24
尿嘧啶	1.78	113.04	70.00*, 95.00	111	21
次黄嘌呤	6.96	137.05	110.00*, 118.70	46	15
胸苷	5.68	243.10	127.07*, 99.00	61	13
鸟苷	4.21	284.30	152.00*, 135.00	62	15
肌苷	3.34	269.00	137.05*, 137.05	46	15
尿苷	4.21	244.90	113.00*, 70.05	103	13
腺苷	3.47	267.9	118.70*, 135.00	86	23
胞苷	1.54	244.09	94.65*, 111.80	61	10

注: 表中“*”标注离子为定量离子。

1.2.4 定性定量方法 31 种待测成分采用试样与标准品溶液间相对保留时间、各成分特征离子与定量离子对应的离子峰相对丰度进行定性。定量方法采用外标法,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,拟合标准曲线,再将实测得到的样品峰面积代入标曲公式中计算各成分含量。

1.2.5 方法学考察

1.2.5.1 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 1 μL ,在 1.2.3 项所得条件下 1 d 内连续进样 6 次,计算日内精密度。再连续 3 d 内重复进样 6 次,计算日间精密度。

1.2.5.2 重复性试验 精密称取同批次样品(S1),按照 1.2.3 项的制备方法制备供试品溶液 6 份,再以 1.2.3 项所得条件进样测定。

1.2.5.3 稳定性试验 取同一样品溶液,分别在 0、2、4、8、12、24 h 时按照 1.2.3 项所得条件进样测定。

1.2.5.4 加样回收率试验 精密称取同一批样品(S1),平行六份,分别以 1:1 加入各目标成分对照

品,按照 1.2.2 项方法制备供试品溶液,再按照 1.2.3 项所得条件进样测定,计算加样回收率和 RSD。

1.3 数据处理

实验数据运用 Excel2019、SPSS25.0 和 SPSSAU 软件进行 PCA 与 TOPSIS 法分析,图片数据用 Origin 2021 软件绘制。

2 结果与分析

2.1 线性关系考察、检测限和定量限

精密量取 1.2.1 项配制的对照品溶液各 1 μL ,按照 1.2.3 项下优化后的条件参数测定,测得 31 种目标成分的 MRM 色谱图见图 1。以峰面积积分值 Y 为纵坐标,其相应的对照品的质量浓度 X($\mu\text{g/mL}$)为横坐标,作出回归方程,并计算决定系数(R^2)和线性范围。分别计算信噪比(S/N)约为 3 和 10 时各成分的检测限(LOD)与定量限(LOQ)。表 3 数据显示 31 种目标成分在 0~144.58 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,且决定系数 R^2 均大于 0.999,方法的检测限与定量限分别在 0.15~6.87 ng/mL、0.57~22.76 ng/mL 范围内。

表 3 21 种氨基酸和 10 种核苷的线性关系考察

Table 3 Linear relationship of 21 amino acids and 10 nucleosides

化合物	回归方程	线性范围($\mu\text{g/mL}$)	R^2	LOD(ng/mL)	LOQ(ng/mL)
甘氨酸	$Y=3 \times 10^6 X + 147.2$	0.034~5.68	0.9992	6.8	22.76
丙氨酸	$Y=5 \times 10^6 X - 10^6$	0.15~61.43	0.9994	3.03	11.04
丝氨酸	$Y=4 \times 10^8 X - 4250.3$	0.11~10.28	0.9991	0.82	3.26
天门冬氨酸	$Y=2 \times 10^8 X + 12493$	0.024~38.29	0.9991	2.74	9.63
天门冬酰胺	$Y=6 \times 10^8 X - 2 \times 10^5$	0.13~89.45	0.9996	4.09	13.88
缬氨酸	$Y=4 \times 10^6 X - 48932$	0.097~14.53	0.9993	1.68	5.47
谷氨酸	$Y=3 \times 10^8 X + 28292$	0.19~144.58	0.9991	0.15	0.65
异亮氨酸	$Y=2 \times 10^7 X - 192213$	0.093~10.02	0.9992	4.2	13.74
甲硫氨酸	$Y=5 \times 10^7 X - 273.7$	0.027~1.805	0.9997	3.25	10.75
精氨酸	$Y=3 \times 10^6 X - 1 \times 10^5$	0.31~59.34	0.9998	3.47	12.31
组氨酸	$Y=82104 X - 29.7$	0.40~6.86	0.9995	0.76	2.39
苏氨酸	$Y=8 \times 10^8 X + 10682.9$	0.32~10.59	0.9996	2.11	7.03
苯丙氨酸	$Y=4 \times 10^8 X - 4564.6$	0.068~2.83	0.9998	4.45	14.61
亮氨酸	$Y=1 \times 10^6 X - 614.9$	0.51~34.30	0.9990	6.87	19.54
胱氨酸	$Y=32921 X - 342.4$	0.75~13.23	0.9992	0.16	0.57
羟脯氨酸	$Y=4 \times 10^7 X - 28312.4$	0.29~7.41	0.9997	0.23	0.72
酪氨酸	$Y=6 \times 10^7 X - 72791$	0.092~4.24	0.9994	2.49	8.63
色氨酸	$Y=4 \times 10^7 X - 1 \times 10^6$	0.058~3.92	0.9999	5.68	16.82
脯氨酸	$Y=8 \times 10^7 X - 34258.3$	0.11~3.08	0.9992	2.6	8.97
赖氨酸	$Y=74453 X - 435.6$	0.015~10.12	0.9991	3.64	12.06
γ -氨基丁酸	$Y=2 \times 10^8 X - 432350$	0.062~3.66	0.9997	1.74	6.08
鸟嘌呤	$Y=4 \times 10^8 X + 2123.9$	0.032~3.14	0.9998	3.91	12.97
腺嘌呤	$Y=5 \times 10^8 X - 234321$	0.026~2.98	0.9992	1.68	5.78
尿嘧啶	$Y=1 \times 10^9 X - 33241$	0.067~4.02	0.9995	3.32	10.42
次黄嘌呤	$Y=1 \times 10^9 X - 9283.7$	0.031~3.29	0.9991	2.41	8.73
胸苷	$Y=7 \times 10^7 X - 3124.9$	0.056~3.92	0.9991	5.75	18.14
鸟苷	$Y=8 \times 10^7 X - 15467$	0.23~5.82	0.9993	6.1	18.56
肌苷	$Y=1 \times 10^7 X - 146520$	0.14~4.12	0.9996	4.72	16.07
尿苷	$Y=4 \times 10^7 X + 129202$	0.096~4.43	0.9992	4.14	15.83
腺苷	$Y=5 \times 10^6 X - 146342$	0.029~3.87	0.9998	3.31	10.75
胞苷	$Y=4 \times 10^9 X + 547650$	0.024~8.46	0.9996	4.52	14.84

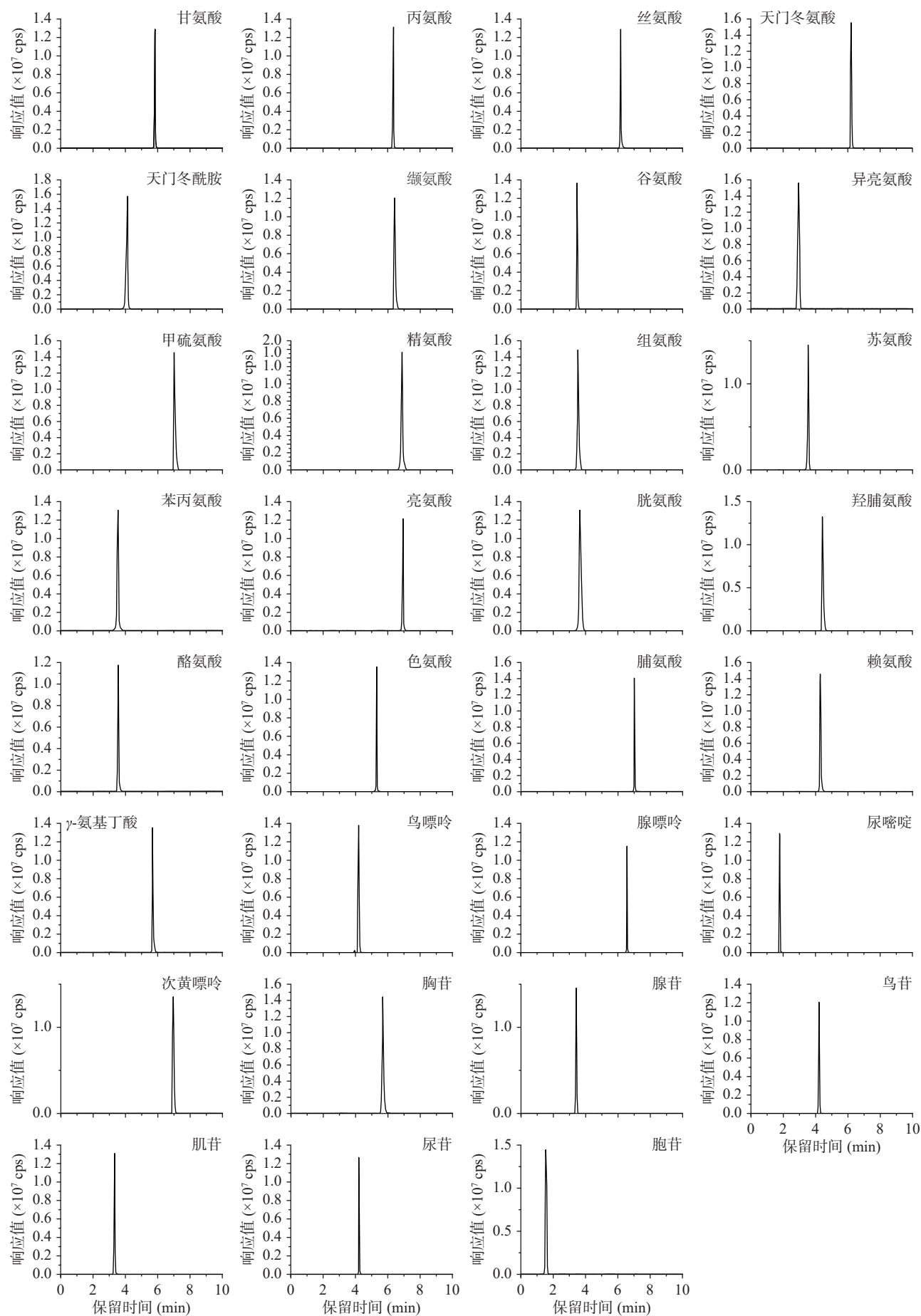


图 1 31 种标准品的 MRM 图

Fig.1 MRM diagrams of 31 standard components

2.2 精密度、重复性、稳定性及加样回收率

为验证实验的可靠性,对仪器的精密度、重复性、稳定性以及加样回收率进行进样测定,结果显示31种成分日间与日内精密度RSD在0.28%~1.40%,表明仪器精密度良好;重复性RSD在0.98%~2.60%,表明重复性良好;稳定性RSD在0.93%~2.9%,表明供试品溶液在24 h内稳定性良好;平均回收率在92.69%~99.50%,回收率RSD在1.3%~2.9%。详细数据见表4。

表4 天麻中31种测定成分的精密度、重复性、稳定性及加样回收率(n=6, %)

Table 4 Precision, repeatability, stability and sample recovery of 31 components in *Gastrodia elata* (n=6, %)

化合物	精密度RSD		重复性RSD	稳定性RSD	平均回收率	回收率RSD
	日间	日内				
甘氨酸	1.25	0.34	1.6	1.7	98.47	1.8
丙氨酸	0.86	0.52	2.1	1.8	97.25	1.7
丝氨酸	0.76	0.73	1.3	1.6	96.38	2.0
天门冬氨酸	0.95	1.0	1.8	2.1	98.12	2.6
天门冬酰胺	0.76	0.82	2.3	1.9	97.75	1.9
缬氨酸	0.35	0.29	1.6	2.1	96.51	2.4
谷氨酸	0.71	0.67	1.5	2.4	98.68	2.1
异亮氨酸	0.93	1.1	1.9	1.7	97.37	2.0
甲硫氨酸	1.38	1.4	2.4	2.9	95.54	1.8
精氨酸	0.87	0.72	2.6	2.5	98.38	2.3
组氨酸	0.92	0.91	2.0	1.1	95.69	2.2
苏氨酸	0.47	0.35	1.9	2.1	97.43	2.4
苯丙氨酸	1.0	0.92	1.7	1.9	96.89	2.8
亮氨酸	0.77	0.74	1.4	1.6	95.01	1.6
胱氨酸	0.48	0.39	2.3	1.2	99.50	2.7
羟脯氨酸	0.72	0.62	2.1	1.6	94.86	2.1
酪氨酸	0.57	0.69	1.7	1.1	95.33	1.9
色氨酸	0.46	0.44	2.2	1.9	97.37	2.9
脯氨酸	0.38	0.41	1.5	1.7	98.13	2.4
赖氨酸	0.31	0.28	1.4	2.1	95.34	1.3
γ -氨基丁酸	0.64	0.76	1.5	2.4	96.08	2.1
鸟嘌呤	0.86	1.2	1.2	0.93	97.21	2.6
腺嘌呤	1.12	0.91	1.9	1.2	98.48	2.9
尿嘧啶	0.92	0.87	2.3	2.0	92.69	2.8
次黄嘌呤	0.64	0.79	1.9	1.2	98.23	2.6
胸苷	0.67	0.71	1.8	1.8	99.02	2.3
鸟苷	0.93	0.82	2.0	1.4	93.31	1.4
肌苷	0.69	0.57	1.7	2.1	95.47	1.5
尿苷	0.41	0.32	0.98	2.9	96.81	2.7
腺苷	0.37	0.48	1.8	1.7	96.42	2.5
胞苷	0.64	0.56	1.4	2.4	97.40	2.6

2.3 样品测定

按照1.2.2项方法将天麻样品制备供试品溶液,按照1.2.3项所得条件进样测定,每份样品平行测定3次,得到每种指标性成分峰面积,并根据已建立的标准曲线,计算出不同品种天麻中31种目标成分的含量。

由实验数据可知,各批次天麻均存在测定的

31种化学成分。氨基酸成分中9批天麻氨基酸总量在7549.43~9816.83 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,总量由高到低依次为: S1>S2>S3>S9>S4>S7>S8>S5>S6,不同品种天麻的氨基酸总量差异较大($P<0.05$)。其中谷氨酸、天门冬氨酸两种氨基酸含量最高,分别占氨基酸总量的13.5%~16.5%和12.0%~14.5%,这与涂雪莲等^[8]研究结果相似。9批天麻中谷氨酸含量无显著差异($P>0.05$),但天门冬氨酸含量上S1(金寨杂交天麻)与S4~S6(金寨红天麻)、S8~S9(云南小草坝乌天麻)呈显著差异($P<0.05$)。

此外,9批天麻样品均测出8种人体必需氨基酸,数据表明9批天麻中必需氨基酸的相对含量总量为25.3%~28.8%,其中亮氨酸为主要的必需氨基酸,占总量的30.8%~39.7%。以必需氨基酸总量为评价指标,由高到低依次为: S1>S2>S3>S5>S4>S9>S8>S6>S7,金寨杂交天麻均排在前列,且与其它品种天麻呈显著差异($P<0.05$),其中S1金寨班竹园含量达到2533.93 $\pm$ 95.46 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 最高,S2金寨汤家汇含量2436.25 $\pm$ 73.39 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 次之,S3金寨双河镇含量2386.66 $\pm$ 83.03 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 最低,同地区同种天麻必需氨基酸总量未见显著差异($P>0.05$)。

核苷成分中9批天麻核苷总量在376.49~746.67 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,核苷总量由高到低依次为: S1>S2>S8>S9>S5>S7>S3>S4>S6,不同品种天麻的核苷总量差异较大($P<0.05$)。其中腺苷、鸟苷两种核苷含量最高,分别占核苷总量的17.7%~35.1%和9.3%~25.9%,这与肖远灿等^[9]研究结果相似。9批天麻中腺苷含量无显著差异($P>0.05$),但鸟苷含量上不同品种天麻呈显著差异($P<0.05$)。详细结果见表5。

利用Excel2019软件分别对不同品种天麻氨基酸与核苷成分进行方差分析。氨基酸方面,红乌天麻与红天麻呈极显著差异($P<0.01$),与乌天麻呈显著差异($P<0.05$)(详见图2);核苷方面,红乌天麻与红天麻呈显著差异($P<0.05$),与乌天麻未见显著差异($P>0.05$)(详见图3)。从氨基酸、核苷含量高低来评价不同品种天麻,金寨红乌天麻要优于亲代乌天麻、红天麻的质量,这可能与不同品种天麻的地理分布(云南与金寨),生长环境(海拔、光照、降水量等)以及栽培方式(大棚栽培、林下仿野生栽培)等因素有关。因此,对于金寨杂交天麻品质研究还需要多指标、多因素综合分析,从单一成分并不能客观评价天麻品质的优劣。

2.4 主成分分析及综合评价

2.4.1 氨基酸类主成分分析 采用SPSS25.0软件先对原始数据进行无量纲化标准化后,再进行主成分分析。以特征值>1,方差贡献率>5%为筛选标准,系统提取了5个PCs。前5个主成分F1、F2、F3、F4、F5特征值分别为9.850、3.481、2.875、2.120、1.088,方差贡献率为46.905%、16.574%、13.690%、10.094%、5.180%。根据5个组成分及各方差贡献率权重得出各

表 5 不同品种天麻中 21 种氨基酸和 10 种核苷的含量测定结果(±s, μg/g, n=3)

Table 5 Contents of 21 amino acids and 10 nucleosides in *Gastrodia elata* of different varieties (±s, μg/g, n=3)

No.	红乌天麻					乌天麻				
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	
甘氨酸	790.62±38.24 ^a	790.12±27.24 ^a	786.69±31.41 ^a	592.64±21.48 ^c	585.13±22.95 ^c	523.82±17.38 ^d	559.03±24.16 ^{cd}	611.55±27.47 ^e	683.15±28.58 ^b	
丙氨酸	733.34±26.52 ^a	669.02±35.12 ^b	709.33±37.15 ^{ab}	386.05±27.67 ^{ef}	349.83±12.77 ^f	414.84±10.56 ^c	530.33±27.17 ^{cd}	502.53±28.67 ^d	564.23±12.76 ^e	
丝氨酸	81.81±1.35 ^b	74.93±2.22 ^{bc}	110.86±7.34 ^a	62.97±4.74 ^{cd}	52.99±4.96 ^d	66.35±5.93 ^c	75.49±2.36 ^{bc}	55.37±6.74 ^{cd}	71.71±7.62 ^{bc}	
天门冬氨酸	1181.16±49.42 ^a	1091.34±41.56 ^{ab}	1084.25±37.54 ^{ab}	1024.61±36.06 ^b	1036.74±42.77 ^b	1006.24±46.36 ^b	1124.83±54.56 ^{ab}	1012.54±27.74 ^b	1045.71±48.46 ^b	
天门冬酰胺	19.13±0.27 ^c	30.18±0.51 ^{bc}	31.26±1.74 ^{bc}	24.01±1.52 ^c	32.07±1.04 ^b	28.97±1.54 ^{bc}	24.54±0.17 ^c	88.87±7.73 ^a	30.13±1.77 ^{bc}	
缬氨酸	585.76±36.64 ^a	511.72±29.22 ^b	578.56±28.33 ^a	562.86±41.86 ^{ab}	369.33±14.16 ^c	427.55±26.43 ^c	430.81±36.62 ^c	408.12±19.47 ^c	496.54±32.87 ^b	
谷氨酸	1357.44±78.28 ^a	1304.14±77.39 ^a	1218.85±69.59 ^a	1267.18±84.96 ^a	1183.00±65.77 ^a	1245.37±92.43 ^a	1196.75±79.26 ^a	1252.34±103.21 ^a	1161.75±87.32 ^{ab}	
异亮氨酸 [*]	410.93±43.48 ^{ab}	459.28±39.26 ^{ab}	380.36±31.49 ^{bc}	288.73±24.78 ^c	367.16±41.79 ^c	291.09±17.84 ^c	286.38±36.35 ^c	376.28±32.85 ^{bc}	472.78±51.85 ^a	
甲硫氨酸 [*]	327.84±14.56 ^a	347.04±9.66 ^a	148.46±10.74 ^c	200.87±18.94 ^b	209.06±12.52 ^b	94.48±8.74 ^d	188.56±20.57 ^b	138.32±15.44 ^c	87.52±4.76 ^d	
精氨酸 [*]	481.59±39.54 ^c	542.41±16.66 ^{bc}	682.42±33.73 ^a	667.66±28.23 ^a	593.56±32.83 ^b	650.46±33.32 ^a	518.91±21.56 ^c	556.12±28.36 ^{bc}	583.54±30.36 ^{bc}	
组氨酸	263.42±11.31 ^a	252.90±9.25 ^{ab}	244.64±11.21 ^{ab}	169.61±11.66 ^c	194.71±9.93 ^d	190.35±8.52 ^{de}	236.43±12.76 ^b	181.13±8.85 ^{de}	214.93±10.45 ^c	
苏氨酸 [*]	483.24±39.45 ^a	265.81±29.63 ^c	357.21±32.77 ^b	170.92±15.71 ^d	207.86±19.62 ^d	180.26±10.43 ^d	166.03±9.44 ^d	165.71±14.89 ^d	178.21±16.63 ^d	
苯丙氨酸 [*]	37.72±1.82 ^a	26.56±0.94 ^b	24.82±1.76 ^b	17.97±1.01 ^c	16.84±0.72 ^c	15.13±1.89 ^c	14.03±2.74 ^c	16.25±1.92 ^c	10.88±0.86 ^d	
亮氨酸 [*]	780.69±19.31 ^a	783.5±21.54 ^a	782.43±32.86 ^a	782.27±65.21 ^a	794.57±24.74 ^a	776.03±53.9 ^a	780.19±32.6 ^a	778.2±35.2 ^a	790.2±22.1 ^a	
胱氨酸	1102.35±42.71 ^a	1052.11±76.2 ^b	998.41±64.76 ^{bc}	933.15±24.96 ^{bc}	950.11±51.66 ^{bc}	897.63±64.96 ^c	793.22±63.96 ^c	859.31±54.43 ^c	1088.16±46.81 ^a	
羟脯氨酸	505.74±18.53 ^a	443.75±27.86 ^b	411.13±22.51 ^{bc}	393.43±12.96 ^{bc}	335.73±16.68 ^{cd}	376.13±13.96 ^c	442.11±27.63 ^b	313.67±42.36 ^d	483.72±28.33 ^{ab}	
酪氨酸	50.96±2.41 ^b	29.84±4.52 ^c	22.66±1.63 ^{cd}	30.78±2.56 ^c	17.62±1.33 ^d	27.48±3.76 ^{cd}	24.45±3.41 ^{cd}	71.02±10.43 ^a	23.46±1.69 ^{cd}	
色氨酸 [*]	8.18±0.21 ^a	7.67±0.12 ^b	4.43±0.28 ^c	5.74±0.02 ^d	6.62±0.11 ^c	6.58±0.25 ^c	4.37±0.36 ^c	4.16±0.24 ^c	8.02±0.33 ^{ab}	
脯氨酸	534.23±28.26 ^a	403.13±16.75 ^b	385.61±18.87 ^b	376.92±9.45 ^b	309.65±8.57 ^{cd}	286.14±13.77 ^d	328.46±12.82 ^c	290.44±15.34 ^d	269.96±20.48 ^d	
赖氨酸 [*]	3.74±0.09 ^c	3.98±0.13 ^c	6.53±0.52 ^a	3.63±0.08 ^c	2.84±0.16 ^d	3.49±0.08 ^c	5.2±0.06 ^b	4.91±0.25 ^b	5.1±0.22 ^b	
γ-氨基丁酸	77.25±7.63 ^b	95.30±5.78 ^a	32.08±4.64 ^{cd}	44.41±5.89 ^d	26.73±1.13 ^f	41.34±2.52 ^{de}	40.9±3.65 ^{de}	81.2±4.28 ^b	53.81±7.32 ^c	
鸟嘌呤	7.34±0.53 ^a	8.07±0.35 ^a	5.61±0.52 ^c	3.32±0.06 ^c	4.61±0.38 ^d	2.37±0.08 ^f	2.06±0.07 ^f	0.55±0.03 ^g	3.07±0.24 ^e	
腺嘌呤	5.11±0.42 ^a	7.65±0.62 ^a	3.67±0.21 ^b	3.54±0.05 ^b	0.88±0.04 ^d	2.75±0.12 ^c	3.09±0.25 ^b	1.12±0.09 ^d	2.61±0.21 ^e	
尿嘧啶	172.41±15.3 ^a	11.83±0.82 ^f	35.31±2.91 ^c	90.97±4.12 ^{bc}	79.45±8.34 ^c	21.04±1.41 ^f	89.02±4.85 ^{bc}	97.15±4.23 ^b	54.00±1.90 ^d	
次黄嘌呤	53.73±3.24 ^{bc}	42.74±2.49 ^c	61.61±7.42 ^b	40.66±4.95 ^c	34.81±1.77 ^e	31.61±8.53 ^c	56.68±4.85 ^b	38.11±2.98 ^c	117.1±12.6 ^a	
胸苷	18.64±2.52 ^{ab}	20.82±1.95 ^a	6.31±0.53 ^d	8.82±1.06 ^{cd}	16.77±2.74 ^b	8.12±0.72 ^{cd}	8.15±0.93 ^{cd}	5.06±0.12 ^d	10.92±1.05 ^e	
鸟苷	142.26±4.73 ^b	179.86±12.64 ^a	94.19±10.82 ^c	42.54±0.84 ^e	130.08±7.84 ^b	39.55±2.74 ^e	57.47±4.95 ^d	132.38±10.6 ^b	87.46±9.21 ^c	
肌苷	95.91±3.49 ^a	90.01±2.31 ^a	72.36±4.62 ^b	77.41±3.27 ^b	71.69±5.28 ^b	74.08±7.32 ^b	74.35±4.12 ^b	89.49±5.22 ^a	75.93±2.51 ^b	
尿苷	113.12±6.56 ^c	193.44±11.86 ^a	55.09±6.57 ^c	54.72±4.56 ^c	59.39±6.96 ^c	59.24±7.24 ^e	74.27±4.91 ^e	161.5±13.5 ^b	96.39±7.22 ^d	
腺苷	131.97±7.49 ^a	132.24±12.63 ^a	131.91±9.25 ^a	132.07±10.98 ^a	132.12±6.33 ^a	132.78±9.98 ^a	131.28±8.36 ^a	132.07±11.3 ^a	131.98±16.52 ^a	
胞苷	6.34±0.24 ^b	7.47±0.23 ^a	5.76±0.38 ^b	4.16±0.13 ^c	4.61±0.11 ^c	5.78±0.18 ^b	6.46±0.72 ^b	4.21±0.21 ^c	4.02±0.15 ^c	
氨基酸总量	9816.83±210.56 ^a	9108.51±254.68 ^b	9000.67±195.36 ^b	8005.34±206.95 ^{cd}	7641.36±276.29 ^d	7549.43±158.35 ^d	7771.55±269.63 ^{cd}	7767.61±384.51 ^{cd}	8322.87±295.57 ^c	
核苷总量	746.67±21.56 ^a	693.97±29.26 ^b	471.81±17.67 ^c	458.07±29.34 ^c	534.31±27.94 ^d	376.49±16.63 ^f	503.33±19.26 ^{de}	661.76±26.26 ^b	583.33±18.43 ^c	
必需氨基酸总量	2533.93±95.46 ^a	2436.25±73.39 ^a	2386.66±83.03 ^a	2137.79±63.20 ^{bc}	2198.51±72.13 ^b	2017.52±83.48 ^{bc}	1963.67±62.15 ^c	2039.95±92.09 ^{bc}	2136.25±69.25 ^{bc}	

注:不同字母标注表示同一行数据具有显著性差异(P<0.05);“*”标记表示人体必需氨基酸。

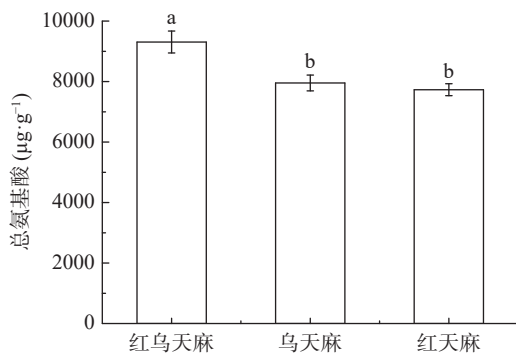


图2 不同品种天麻总氨基酸比较

Fig.2 Comparison of total amino acids of different *Gastrodia elata* varieties

注: 不同字母标注表示呈显著性差异($P<0.05$), 图3同。

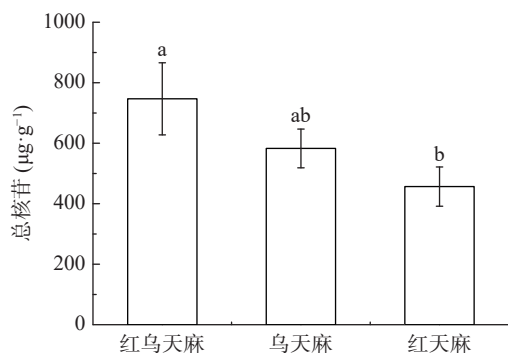


图3 不同品种天麻总核苷比较

Fig.3 Comparison of total nucleosides in different *Gastrodia elata* varieties

地区天麻的综合评分 F 值, $F=0.46905F_1+0.16574F_2+0.1369F_3+0.10094F_4+0.0518F_5$, 见表6, 结果说明从氨基酸方面评价样品中的天麻品质, $S1>S2>S3>S9>S8>S7>S4>S5>S6$, $S1$ 安徽金寨班竹园红乌天麻评价最高, $S6$ 金寨沙河乡红天麻评价最低, 总体评价结果呈现乌红天麻>乌天麻>红天麻的差异趋势。

表6 氨基酸主成分分析及综合评价

Table 6 Principal component analysis and comprehensive evaluation of amino acids

样品	主成分					F	排名
	F1	F2	F3	F4	F5		
S1	6.68	-0.38	-1.65	-0.48	0.09	2.80	1
S2	2.90	0.78	-0.44	0.94	-0.39	1.50	2
S3	1.35	-1.07	3.63	-1.06	0.29	0.86	3
S4	-1.53	-1.40	-0.64	-0.82	1.72	-1.03	7
S5	-2.74	-1.41	-1.67	1.82	0.04	-1.56	8
S6	-2.88	-1.33	-0.70	-1.36	-0.17	-1.81	9
S7	-1.26	-0.77	0.41	-0.18	-2.26	-0.80	6
S8	-1.99	4.22	-0.59	-1.45	0.08	-0.46	5
S9	-0.53	1.36	1.64	2.60	0.59	0.49	4

2.4.2 核苷类主成分分析 按照 2.4.1 项下的数据分析方法, SPSS 软件提取了 2 个 PCs。主成分 F1 与 F2 的特征值分别为 4.673、1.368; 方差贡献率分别为 46.727%、13.676%。根据 2 个主成分及各方差贡献率权重计算各地区天麻的综合评分 F 值,

$F=0.46727F_1+0.13676F_2$, 见表7, 结果说明, 从核苷方面评价天麻品质, $S2>S1>S3>S5>S7>S9>S4>S6>S8$, $S2$ 安徽金寨汤家汇红乌天麻评价最高, $S8$ 云南昭通小草坝乌天麻品质评价最低, 总体评价结果较氨基酸结果变化不大, 乌红天麻评价依然高于其它两个品种天麻。

表7 核苷主成分分析及综合评价

Table 7 Principal component analysis and comprehensive evaluation of nucleosides

样品	主成分		F	排名
	F1	F2		
S1	2.53	-0.41	1.13	2
S2	3.38	0.77	1.68	1
S3	-0.42	0.83	-0.08	3
S4	-0.68	-1.16	-0.48	7
S5	0.35	-1.92	-0.10	4
S6	-0.95	-0.54	-0.52	8
S7	-1.29	1.08	-0.46	5
S8	-1.44	-0.36	-0.72	9
S9	-1.48	1.69	-0.46	6

2.4.3 基于 TOPSIS 法综合评价 以核苷和氨基酸含量为指标, 采用 TOPSIS 法对 3 个天麻品种的 31 个成分进行综合评价和分析, 得出比较排序结果。将 $S1\sim S9$ 样品中的 21 种氨基酸及 10 种核苷成分含量的初始化决策数据矩阵进行归一化处理, 建立相应矩阵, 计算 Z 值。

$$Z_{ij} = x_{ij} / \sqrt{\sum_{i=1}^n x_{ij}^2} \quad \text{式 (1)}$$

式中: X_{ij} 表示第 i 个评价对象在第 j 个指标上的测量值; Z_{ij} 表示第 i 个评价对象在第 j 个指标上归一化处理后的取值。

确定最优方案和最劣方案, 最优方案 Z^+ 表示评价指标的最大值, 最劣方案 Z^- 表示评价指标的最小值。最优方案、最劣方案是计算正负距离(D^+ 和 D^-)时的中间过程值。根据下列公式计算相对贴近度(C_i), 得到的 C_i 值可以作为评价天麻综合品质的指标。

$$D_i^+ = \sqrt{\sum_{j=1}^m w_j (Z_j^+ - Z_{ij})^2} \quad \text{式 (2)}$$

$$D_i^- = \sqrt{\sum_{j=1}^m w_j (Z_j^- - Z_{ij})^2} \quad \text{式 (3)}$$

$$C_i = D_i^- / (D_i^- + D_i^+) \quad \text{式 (4)}$$

式中: D_i^+ 表示各个评价对象与最优方案的距离; D_i^- 表示各个评价对象与最劣方案的距离; w_j 为第 j 个属性的权重(重要程度)。

当 C_i ($0 \leq C_i \leq 1$) 越接近 1 时, 表明样品的综合品质越高, 将各评价对象 C_i 值大小进行排序。样品中 21 种氨基酸、10 种核苷类 TOPSIS 分析结果见

表 8。结果表明,以总成分为分析指标, $S1>S2>S8>S3>S9>S4>S5>S7>S6$, 其中 S1 安徽金寨班竹园红乌天麻综合评价最高, S6 安徽金寨沙河乡红天麻综合评价最低。该方法评价结果与主成分评价结果一致, 乌红天麻排序结果皆在前列。结合主成分分析和 TOPSIS 法分析结果综合来看, 金寨杂交天麻营养价值较其亲代品种天麻更高, 更适合作为食品资源进一步开发利用。

表 8 样品中 31 种成分 TOPSIS 分析结果
Table 8 TOPSIS analysis results of 31 components in the samples

项	总成分			排序结果
	正理想解距离 D^+	负理想解距离 D^-	相对贴近度 C_i	
S1	0.916	1.789	0.661	1
S2	1.305	1.433	0.523	2
S3	1.634	0.897	0.355	4
S4	1.690	0.700	0.293	6
S5	1.784	0.693	0.28	7
S6	1.923	0.366	0.16	9
S7	1.864	0.499	0.211	8
S8	1.731	1.049	0.377	3
S9	1.703	0.894	0.344	5

3 结论

本实验首次通过超高效液相色谱-三重四级杆/线性离子阱质谱技术测定杂交天麻与亲本品种红、乌天麻中 31 种生物活性成分的含量, 包括 21 种氨基酸和 10 种核苷, 考察了不同品种天麻其内在质量差异并进行了方法学考察, 证明该技术适用于天麻中氨基酸以及核苷类成分的分析评价, 为其资源的合理利用提供思路以及科学依据。实验结果表明, 天麻中含有丰富的氨基酸与核苷类成分, 9 批天麻的氨基酸总量 $7549.43\sim 9816.83\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 核苷总量 $376.49\sim 746.67\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 均以 S1 金寨班竹园杂交天麻含量最高, S6 金寨沙河乡红天麻含量最低。3 种天麻中谷氨酸含量最高, 天门冬氨酸含量次之, 二者占氨基酸总量的 13.5%~16.5% 和 12.0%~14.5%; 核苷类成分中腺苷最高, 鸟苷次之, 二者占核苷总量的 17.7%~35.1% 和 9.3%~25.9%。杂交品种与亲本品种氨基酸总量、核苷总量差异显著($P<0.05$)。各批次天麻样品均存在 8 种必需氨基酸, 其中 S1 金寨班竹园杂交天麻含量最高达到 $2533.93\pm 95.46\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, S7 云南小草坝乌天麻含量最低 $1963.67\pm 62.15\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 二者相差 $570.26\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。亮氨酸为天麻中主要的必需氨基酸, 含量达到 $776.03\sim 794.57\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 占必需氨基酸总量的 30.8%~39.7%。主成分分析法分别从氨基酸成分和核苷成分两个角度对 3 种天麻的进行质量评价, 评价结果一致, 均以 S1、S2、S3 金寨杂交天麻为优; TOPSIS 法以氨基酸、核苷含量为指标, 综合评价 3 种天麻, 结果与主成分方法相似, S1、S2 金寨杂交天麻排列在前, 优于其亲本品种。

不同品种间的质量差异初步推测与天麻的生长

环境、栽培方式等外界因素有关, 林下栽培天麻质量优于大棚栽培天麻, 高海拔天麻质量优于低海拔天麻。曾勇等^[30]在研究不同海拔两种天麻仿野生栽培模式下的质量差异中提出天麻对高海拔具有良好的适应性, 低海拔的高温低湿会影响天麻的生长。因此, 杂交技术对金寨天麻质量提升效果显著, 后续可对杂交后代反复自交以得到稳定遗传性状, 便于推广; 氨基酸、核苷作为食品中主要营养指标, 可衡量食用天麻的品质优劣, 金寨杂交天麻后续可朝天麻食品或者保健品产业方向发展。但实验仅从氨基酸以及核苷类营养成分比较天麻质量差异较为片面, 后续研究将多方面综合评价杂交天麻与其亲本的品质。

参考文献

- [1] 郭佳欣, 谢佳, 蒋丽施, 等. 天麻保健食品开发现状分析[J]. 中草药, 2022, 53(7): 2247-2254. [GUO J X, XIE J, JIANG L S, et al. Analysis on the development status of *Gastrodiae Rhizoma* health food[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(7): 2247-2254.]
- [2] 国家两部门发文: 对灵芝、天麻等 9 种物质试点既是食品又是中药材管理[J]. 食药同源, 2020, 28(1): 16. [Two national departments issued a document: The pilot program of 9 substances such as *Ganoderma lucidum* and *Gastrodiae Rhizoma* is both food and traditional Chinese medicine management[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2020, 28(1): 16.]
- [3] 赵杨, 康志娇, 周欣, 等. 药食两用植物-天麻[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2013, 31(4): 9-12. [ZHAO Y, KANG Z J, ZHOU X, et al. An edible medicinal plant-*Gastrodia elata* Bl.[J]. Journal of Guizhou Normal University(Natural Sciences), 2013, 31(4): 9-12.]
- [4] CHEN S, LIU J Q, XIAO H, et al. Simultaneous qualitative assessment and quantitative analysis of metabolites (phenolics, nucleosides, and amino acids) from the roots of fresh *Gastrodia elata* using UPLC-ESI-Triple quadrupole ion MS and ESI-linear ion trap high-resolution MS[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150647.
- [5] FU Y Y, SHAN M Q, HU M H, et al. Chemical profiling of Banxia-Baizhu-Tianma decoction by ultra-fast liquid chromatography with tandem mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2019, 174: 595-607.
- [6] 康明, 李刚凤, 霍蓓, 等. 德江天麻营养成分分析与评价[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(24): 128-131. [KANG M, LI G F, HUO P, et al. Composition analysis and nutritional evaluation in Dejiang *Gastrodia elata*[J]. Food Research and Development, 2017, 38(24): 128-131.]
- [7] 陈仕学, 陈雪梅, 骆礼祥, 等. 德江两种天麻中氨基酸的提取工艺及含量比较分析[J]. 食品工业, 2016, 37(4): 131-134. [CHEN S X, CHEN X M, LUO L Y, et al. Study on the extraction process of amino acids and content of the comparative analysis from *Gastrodia elata* of Dejiang[J]. The Food Industry, 2016, 37(4): 131-134.]
- [8] 涂雪莲, 范巧佳. 不同产地天麻氨基酸的含量测定[J]. 氨基酸和生物资源, 2013, 35(4): 64-67. [TU X L, FAN Q J. Determination of amino acid contents in *Gastrodia elata* from different re-

- gions[J]. *Biotic Resources*, 2013, 35(4): 64-67.]
- [9] 肖远灿, 董琦, 迟晓峰, 等. HPLC 同时测定西藏栽培天麻中天麻素和 8 种核苷及碱基类成分[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(19): 3798-3802. [DONG Y C, DONG Q, CHI X F, et al. Simultaneous determination of gastrodin and 8 kinds of nucleosides and bases in Tibetan cultivated *Gastrodia elata* by HPLC[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2014, 39(19): 3798-3802.]
- [10] 刘红, 陈燕芹, 罗树常, 等. 反相高效液相色谱法同时测定天麻中天麻素和 3 种核苷[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2014, 20(17): 81-83. [LIU H, CHEN Y Q, LUO S C, et al. Determination of three glycosides and gastrodine contents in *Gastrodiae Rhizoma* by RP-HPLC[J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2014, 20(17): 81-83.]
- [11] 吴国真, 贾传青, 王晓, 等. 天麻多糖的提取、纯化及药理活性研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2022, 40(7): 135-139. [WU G Z, JIA C Q, WANG X, et al. Research progress in the extraction, purification and pharmacological activities of *Gastrodia* polysaccharides[J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2022, 40(7): 135-139.]
- [12] 唐文文, 王丹丹, 沈易华. 鲜天麻及其不同炮制品有效成分含量比较[J]. *江西化工*, 2021, 37(5): 29-32. [TANG W W, WANG D D, SHEN Y H. Comparison of active ingredient content of fresh *Gastrodia elata* and its different processed products[J]. *Jiangxi Chemical Industry*, 2021, 37(5): 29-32.]
- [13] ZHU H, LIU C, HOU J, et al. *Gastrodia elata* Blume polysaccharides: A review of their acquisition, analysis, modification, and pharmacological activities[J]. *Molecules*, 2019, 24(13): 2436.
- [14] ZHU X X, LUO X G. Optimization of extraction parameters and deprotein process for *Gastrodia elata* polysaccharides[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2007, 30(6): 724-726.
- [15] ZHU Z Y, CHEN C J, SUN H Q, et al. Structural characterization and ACE-inhibitory activities of polysaccharide from *Gastrodia elata* Blume. [J]. *Natural Product Research*, 2019, 33(12): 1721-1726.
- [16] 师睿, 王锐, 邱文慧, 等. 昭通天麻微量元素的测定与分析[J]. *昭通学院学报*, 2017, 39(5): 35-41. [SHI R, WANG R, QIU W H, et al. Determination and analysis of trace elements in Zhaotong *Gastrodia elata*[J]. *Journal of Zhaotong University*, 2017, 39(5): 35-41.]
- [17] 陈英, 孙传芳. 不同产地天麻中微量元素含量测定[J]. *绵阳师范学院学报*, 2016, 35(8): 54-58. [CHEN Y, SUN C F. Determination of trace elements in *Gastrodia elata* from different origins[J]. *Journal of Mianyang Teachers' College*, 2016, 35(8): 54-58.]
- [18] 李蒙禹, 陶飞, 段敏, 等. 贵州道地药材天麻微量元素含量测定[J]. *贵阳中医学院学报*, 2013, 35(6): 14-16. [LI M Y, TAO F, DUAN M, et al. Determination of trace elements in the authentic medicinal material *Gastrodia elata* in Guizhou[J]. *Journal of Guiyang College of Traditional Chinese Medicine*, 2013, 35(6): 14-16.]
- [19] 叶红, 汪莹植, 谭德福, 等. 天麻不同生长期对氨基酸和蛋白质含量变化的研究[J]. *中医药学刊*, 2004(9): 1753-1762. [YE H, WANG Y Z, TAN D F, et al. Study on the changes of amino acid and protein contents of *Gastrodia elata* in different growth periods[J]. *Study Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2004(9): 1753-1762.]
- [20] ZENG X, LING H, YANG J, et al. LEA proteins from *Gastrodia elata* enhance tolerance to low-temperature stress in *Escherichia coli*[J]. *Gene*, 646: 136-142.
- [21] CHEN C, LI X X, LI J, et al. Purification and characterization of an antimicrobial protein from *Gastrodia elata* Blume tubers[J]. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2018, 17(9): 1717-1723.
- [22] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志第十八卷兰科[M]. 北京: 科学出版社, 1999. [Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Chinese flora volume 18 Orchidaceae[M]. Beijing: Science Press, 1999.]
- [23] 李慧, 钱润, 田娜, 等. 红天麻、乌天麻及其杂交天麻的 PCR 鉴别[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(15): 3666-3671. [LI H, QIAN R, TIAN N, et al. Identification of *Gastrodia elata* and its hybrid by polymerase chain reaction[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(15): 3666-3671.]
- [24] 吴佳新, 胡洪涛. 大别山低海拔地区乌红天麻杂交及栽培试验初报[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(19): 6206, 6228. [WU J X, HU Z T. A preliminary report on the hybridization and cultivation experiments of Wuhong *Gastrodia elata* in the low-altitude area of Dabie Mountains[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014, 42(19): 6206, 6228.]
- [25] 周娜. 安徽金寨天麻栽培资源调查、加工工艺与质量标准研究[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2021. [ZHOU N. Investigation of cultivation resources, processing technology and quality standards of *Gastrodia elata* Bl. In Jinzhai, Anhui[D]. Hefei: The Anhui University of Chinese Medicine, 2021.]
- [26] LIN H, YU X, FANG J, et al. Flavor compounds in Pixian broad-bean paste: Non-volatile organic acids and amino acids[J]. *Molecules*, 2018, 23(6): 1299.
- [27] QU L, GU S, ZHANG J, et al. Determination of 18 amino acids in three different kinds of milk powder by ultra performance liquid chromatography coupled with precolumn derivatization[J]. *Se Pu*, 2021, 39(5): 472-477.
- [28] 闻静, 李薇, 杨涓. 毛细管电泳在氨基酸分析检测中的应用研究[J]. *轻工科技*, 2020, 36(2): 111-113, 132. [WEN J, LI W, YANG J. Application of capillary electrophoresis in amino acid analysis and detection[J]. *Guangxi Journal of Light Industry*, 2020, 36(2): 111-113, 132.]
- [29] WANG L, XIAO H B, LIANG X M, et al. Identification of phenolics and nucleoside derivatives in *Gastrodia elata* by HPLC-UV-MS[J]. *Journal of Separation Science*, 2007, 30(10): 1488-1495.
- [30] 曾勇, 蔡传涛, 刘贵周, 等. 不同海拔两种天麻仿野生栽培下产量和品质变化[J]. *植物科学学报*, 2011, 29(5): 637-643. [ZENG Y, CAI C T, LIU G Z, et al. Yield and quality variation in two varieties of *Gastrodia elata* Blume in bionic wild cultivation at different altitudes[J]. *Plant Science Journal*, 2011, 29(5): 637-643.]