

铁皮石斛茎部和叶部多糖的性质和活性

张又元^{1,2}, 陈乃伟³, 丁重阳^{*1,2}, 顾正华², 张梁^{1,2}, 石贵阳²

(1. 江南大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214122; 3. 绍兴儒林生物科技有限公司, 浙江 绍兴 312000)

摘要: 铁皮石斛是一种含有多种活性物质的名贵中药, 目前主要利用其茎部进行活性和结构等方面的研究。作者通过研究和比较铁皮石斛茎部和叶部中的各种物质的质量分数和分布, 发现茎部与叶部中物质组成相同, 但茎部中多糖和石斛碱质量分数分别是叶部的 2.71 和 3.02 倍, 而脂溶性成分和粗蛋白在叶部的质量分数要明显高于茎部。将提取后的茎部和叶部多糖进行分析, 发现两种多糖的单糖组成具有较大差异, 茎部多糖主要由甘露糖和葡萄糖组成, 摩尔比为 3.07:1, 叶部多糖主要由甘露糖、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成, 摩尔比为 8.81:1:0.57:0.37。此外, 茎部和叶部多糖特性粘度分别为 56.26、8.05 dL/g, 与之对应的相对分子质量分别为 1 207 000 和 318 000, 为高相对分子质量高粘度的生物大分子。在抗氧化活性实验中, 清除 DPPH 自由基的结果显示, 叶部多糖明显优于茎部多糖, 表明其具有较高的抗氧化应用价值。在对提取条件中的温度、提取时间和料液比进行考察后, 最终确定了茎部和叶部多糖提取的最优条件。

关键词: 铁皮石斛; 多糖; 单糖组成; DPPH 自由基; 多糖提取

中图分类号: TS 24 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2017)09—0959—07

Characterization and Bioactivity Analysis of *Dendrobium officinale* Stem and Leaf Polysacchrude

ZHANG Youyuan^{1,2}, CHEN Naiwei³, DING Zhongyang^{*1,2},
GU Zhenghua², ZHANG Liang^{1,2}, SHI Guiyang²

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Shaoxin Rulin Biological Technology Co., LTD, Shaoxing 312000, China)

Abstract: *Dendrobium officinale* is a precious medicinal plant containing many bioactive compounds and its stem was the main subject for structure and bioactivity research. In this study, the types and contents of active compounds in *D. officinale* stem and leaf were compared. Although *D. officinale* stem and leaf had similar compounds, the content of polysaccharide and dendrobine in stem was 2.71 and 3.02 times as high as in leaves, while the content of fat-soluble composition and

收稿日期: 2015-03-19

基金项目: 国家 863 计划项目(2012AA021505); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(JUSRP51319B)。

* 通信作者: 丁重阳(1975—), 男, 江苏南通人, 工学博士, 教授, 博士生导师, 主要从事发酵过程优化及食药真菌微生物技术方面的研究。E-mail: zyding@jiangnan.edu.cn

引用本文: 张又元, 陈乃伟, 丁重阳, 等. 铁皮石斛茎部和叶部多糖的性质和活性[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(09): 959-965.

crude protein in leaves was significantly higher than that in stem. After monosaccharide composition analysis of purified stems and leaves polysaccharide, *D. officinale* stem polysaccharide (DOSP) was composed of mannose and glucose with mole ratio of 3.07:1. However, *D. officinale* leaf polysaccharide (DOLP) mainly contained mannose, glucose, galactose and arabinose with mole ratio 8.81:1:0.57:0.37. In addition, the intrinsic viscosity of DOSP was 56.26 dL/g and DOLP was 8.05 dL/g, while the corresponding molecular weight of DOSP and DOLP were 1 207 000 and 318 000, respectively. The results of free radical scavenging capacity shows that DOLP has higher DPPH free radical scavenging capacity than DOSP indicating a high potential for applied as the antioxidant. Finally the extracted condition of DOSP and DOLP was optimized by comparing various temperatures, extracted times and solid-liquid ratio to enhance the yield of this active compound.

Keyword: *Dendrobium officinale*, polysaccharide, monosaccharide composition, DPPH free radical, polysaccharide extraction

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*),俗称石斛兰,是一种集观赏和药用为一体的名贵中草药,自古就有“药中黄金”之称,在我国主要分布在西南及江南各省^[1]。我国药典收藏的石斛有5种,但其中以具有较高的药用价值的铁皮石斛最为珍稀^[2]。通过现代分析手段检测后发现,铁皮石斛中主要活性成分为多糖、生物碱、氨基酸、萜类化合物等,其中多糖作为主要的活性物质备受研究者关注^[3]。在本草考证中石斛的药用部位是茎部,但在《中国药典》(95年版)、《中药志》、《中药鉴定学》等现代文献中均将石斛列为以全草为药用部位的全草类中药,市场上的铁皮石斛制品亦多为以枫斗、胶囊等石斛茎部的粗加工原料为产品,而以石斛叶部为原料的产品较少^[4-6]。国内外对铁皮石斛研究中也以其茎部为主要对象,鲜有以石斛叶部为研究对象。为达到合理利用铁皮石斛资源的目的,作者通过比较铁皮石斛茎部和叶部中的活性物质种类和质量分数,并分析其结构和活性方面的差异,为石斛资源的综合开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)由绍兴儒林生物科技有限公司提供。鲜植株洗净泥沙等杂质,茎部和叶部分离后切碎,冷冻干燥至恒质量。中药粉碎机粉碎,过50目筛,保存在干燥器中备用。

DPPH 自由基、石斛碱标样:购自北京万佳首化生物科技有限公司;葡萄糖、阿拉伯糖、鼠李糖标

样:购自中国药品生物制品鉴定所;甘露糖、半乳糖标样:购自上海江莱生物科技有限公司;岩藻糖、木糖、牛血清白蛋白:购自Sigma公司;浓硫酸、苯酚等其他试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

1.2.1 总糖和多糖质量分数测定 精确称取样品干粉1g,放入三角瓶中,加入30mL水,90℃超声水浴1.5h,抽滤,滤渣重复上述步骤两次,合并3次所得滤液,滤液定容至100mL,即得总糖供试液;取一定体积总糖供试液,适当浓缩后,加入4倍体积95%乙醇醇沉,用无水乙醇洗涤沉淀,挥干乙醇后用蒸馏水溶解,定容到100mL,即得多糖供试液。取一定体积供试液,适当稀释后用苯酚硫酸法测定总糖和多糖质量分数。

1.2.2 粗蛋白质与粗脂肪质量分数测定 采用凯氏定氮法测定粗蛋白质质量分数:精确称取样品干粉0.5g于消化管,加入6.0g硫酸铜硫酸钾混合物和12mL浓硫酸,400℃消化2h,用凯氏定氮仪定氮,计算粗蛋白质质量分数(换算系数按6.25计)。

采用索氏提取法测定粗脂肪质量分数:精确称取样品干粉2.0g,用滤纸筒包裹好后精确称质量,放入抽提筒内于索氏抽提器中用无水乙醚抽提6h。抽提完成后,取下滤纸筒在烘箱内干燥至恒质量,精确称质量。用失重法计算粗脂肪质量分数。

1.2.3 总灰分和石斛碱质量分数测定 总灰分测定按照国标GB 50094-2010《食品中灰分的测定》方法测定^[7]。石斛碱参考欧德明^[8]等报道的方法测定:精确称取0.5g样品粉末,加50mL氯仿回流提

取,取适量提取液减压蒸干,加甲醇溶解定容,用0.45 μm微孔滤膜过滤后用HPLC法检测石斛碱含量。

1.2.4 铁皮石斛粗多糖制备及特性粘度测定 铁皮石斛多糖制备参照李强等人^[9]的方法进行。即称取50目干粉末样品,依次用丙酮和甲醇索氏抽提脱脂直至提取液无色。弃去提取液,50℃烘干24h得脱脂样品。脱脂后的茎部和叶部干粉在90℃热水提取2h,料液比1:100,分两次提取。提取液醇沉后用水溶解,冷冻干燥即得粗多糖。

特性粘度通过系列稀释法测定^[10],即用蒸馏水配置1mg/mL多糖样品溶液,稀释成不同质量浓度,用乌式粘度计在25℃下测定,特性粘度 $[\eta]$ 为 $\ln(\eta_r/c)$,对 c 作图在 Y 轴上的截距。其中 η_r 为多糖溶液的相对粘度, c 为样品质量浓度。

1.2.5 铁皮石斛多糖的单糖组成和相对分子质量分布分析 单糖组成用气相色谱法测定。多糖样品用硫酸法水解,水解样品和单糖标样衍生生化后用于气象色谱分析,具体方法参照文献[11]进行;多糖相对分子质量分布用高效凝胶过滤色谱(HPGFC)法测定。多糖样品用流动相溶解,用0.45 μm微孔滤膜过滤后用高效凝胶过滤色谱(HPGFC)分析。具体方法参照文献[11]进行。

1.2.6 铁皮石斛多糖的自由基清除能力测定 羟基自由基清除能力测定参考文献[12]进行。即在1mL磷酸钠缓冲液(15mmol/L,pH7.4)、1mL番红花T(360mg/L)、0.5mLEDTA-Fe(2mmol/L)和1mL3% H_2O_2 组成的反应体系中加入不同质量浓度的多糖样品溶液,37℃水浴反应30min,自由基含量由分光光度计在520nm测定。对照组样品用蒸馏水代替, H_2O_2 用缓冲液代替,VC为阳性对照。

$$S_c(\%) = (1 - \frac{A_s}{A_c}) \times 100\%$$

其中, S_c 为清除率, A_s 为样品组吸光值, A_c 为对照组吸光值。

DPPH自由基清除能力测定参考宾宇波^[13]的方法进行。取1mgDPPH于20mL甲醇超声溶解。整个过程尽量避光,现配现用。取样品和VC溶液2mL和DPPH自由基溶液2mL混合,摇匀后在室温下避光反应30min,于515nm处测定吸光值,计算多糖对DPPH自由基清除率。

$$\text{清除率} = 1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}$$

其中, A_0 为对照组吸光度, A_i 为样品组吸光值, A_j 为对应的本底吸收。

1.2.7 铁皮石斛多糖提取条件的优化 在优化铁皮石斛茎部和叶部多糖提取条件时,采用单因素实验方法分析不同温度、提取时间和料液比对多糖提取效率的影响。在考察不同条件的影响时,仅改变考察条件,保持其他条件与基本提取条件一致。铁皮石斛茎部多糖提取的基本条件为:90℃下、料液比为1:90提取90min,选取考察的温度为50、65、80、90、95℃,考察的提取时间为30、60、90、120、180、240min,考察的料液比为1:30,1:50,1:70,1:90,1:120。铁皮石斛叶部多糖提取的基本条件为:90℃下、料液比为1:50提取90min,提取优化中考察的温度为30、50、70、90、95℃,考察的提取时间为10、30、60、90、120、180min,考察的料液比为1:10,1:20,1:30,1:40,1:60。

2 结果与讨论

2.1 铁皮石斛茎部和叶部位化学成分分析

对于铁皮石斛成分的测定,不同采收时间、不同产地及不同的培养方式都对其成分有着很大影响^[14]。在分别对铁皮石斛茎部和叶部中的成分进行分析后发现,铁皮石斛的主要活性成分多糖和石斛碱在茎部中的质量分数分别为叶部含量的2.71倍和3.02倍,见表1。此结果与周桂芬、尚喜雨等^[15-17]对铁皮石斛成分分析的结果相似。在其他成分含量中,粗蛋白和粗脂肪在叶部明显高于茎部,水分质量分数相近。虽然叶部活性物质如多糖和石斛碱质量分数低于茎部,但石斛全草中石斛叶部资源所占比例很可观,因此采用合理的分离纯化手段可以达到提高石斛资源利用率的目的。

2.2 铁皮石斛茎部和叶部多糖理化性质分析

为比较铁皮石斛茎部和叶部多糖的差异,分别将茎部和叶部进行多糖提取及纯化,得到纯度分别为67.58%和42.11%的多糖DOSP和DOLP,将DOSP和DOLP用于气相色谱分析,结果见图1-2。在多糖中的单糖组成方面,DOSP主要由甘露糖和葡萄糖组成,摩尔比为3.07:1,DOLP主要由甘露糖、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖组成,摩尔比为8.81:1:0.57:0.37。虽然茎部和叶部多糖单糖组成有较大差异,但主要单糖皆为甘露糖和葡萄糖,茎部多糖中甘露糖和葡萄糖质量分数占多糖的98.59%,可以认

表 1 铁皮石斛茎部和叶部化学成分比较

Table 1 Chemical composition of stem and leaf of *Dendrobium officinale*

铁皮石斛	水分质量分数/ %	在干粉中的质量分数/%					
		总糖	多糖	粗蛋白	粗脂肪	总灰分	石斛碱
茎部	78.91	33.19	25.61	7.16	15.46	4.08	0.13
叶部	86.37	12.70	9.44	14.95	19.86	3.78	0.043

为其主体是甘露葡聚糖。其他研究者分析铁皮石斛多糖的单糖组成时发现，石斛多糖包含了甘露糖、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、鼠李糖和木糖等几乎所有常见单糖,单糖组成也随着分离纯化片段及原材料的不同有很大区别^[17]。

考马斯亮蓝比色法测定 DOSP 和 DOLP 水溶性蛋白质质量分数为 0.32%和 0.43%,见表 2。全波长检测显示 260 nm 和 280 nm 检测均无明显吸收峰,表明多糖中无明显核酸和蛋白质等大分子。粘度是一种重要的理化指标,也是食品药品加工过程及食用过程中的重要指标,特性粘度反映了生物大分子的相对分子质量,对大分子溶解度、溶液特性有很大影响。表 2 结果显示,铁皮石斛茎部多糖 DOSP 是高相对分子质量、高粘度的生物大分子,相对叶部多糖 DOLP 有着更高的相对分子质量和粘度。高相对分子质量和高粘度往往导致低溶解度及理化不稳定性,不利于加工过程控制及临床应用。和茎部多糖 DOSP 相比,叶部多糖 DOLP 具有较低的粘度,与实验过程中茎部多糖和叶部多糖表现出的溶液特征吻合。

表 2 铁皮石斛多糖部分理化性质

Table 2 Physical and chemical properties of DOSP and DOLP

	单糖质量分数/%							纯度/%	蛋白质 质量分数/%	特性粘度[η]/ (dL/g)
	鼠李糖	阿拉伯糖	岩藻糖	木糖	甘露糖	葡萄糖	半乳糖			
DOSP	-	0.14	0.76	0.10	78.90	19.69	0.38	67.58	0.32	56.26
DOLP	0.87	2.56	1.02	0.22	83.22	7.26	4.85	42.11	0.43	8.05

2.3 铁皮石斛茎部和叶部多糖相对分子质量分布

对铁皮石斛茎部和叶部多糖进行相对分子质量分析后发现，铁皮石斛多糖相对分子质量较高，其中茎部多糖 DOSP 达到百万级，重均相对分子质量 M_w 1 207 000,为高相对分子质量物质;叶部多糖 DOLP 包含两种组分,DOLP1 和 DOLP2 重均相对分子质量 M_w 为分别为 318 000 和 1 986 000，相对分子质量均低于茎部多糖 DOSP。在比较铁皮石斛茎部和叶部多糖的均一性时发现,仅 DOLP2 具有较好

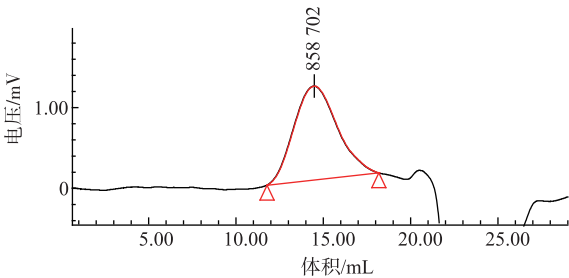


图 1 铁皮石斛茎部多糖 DOSP HPGLC 色谱图
Fig. 1 HPGLC chromatogram of DOSP

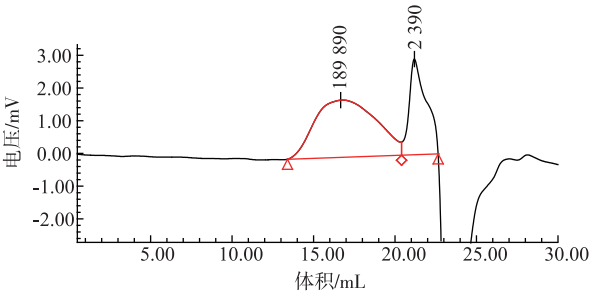


图 2 铁皮石斛叶部多糖 DOLP 的 HPGLC 色谱图
Fig. 2 HPGLC chromatogram of DOLP

的均一性,其 M_w/M_n (数均相对分子质量)为 1.27,而 DOSP 和 DOLP1 的相对分子质量分布呈现对称分布, M_w/M_n 分别为 3.12 和 6.62,均一性较差,见表 3。由于多糖分子的合成过程是不断结合寡糖或多糖等结构单元来延长分子链,不同结构单元的多糖分子以及非多糖类物质共存导致了多糖的复杂性和非均一性,因此 DOLP2 具有较好的均一性,可能是由于其相对分子质量较小且结构简单。相对分子质量是多糖重要的理化指标,与多糖分子的活性息息

相关,保持稳定的相对分子质量是生物大分子发挥生物活性的结构保证,但过高的相对分子质量将会影响到多糖的粘度、溶解度和动力学等溶液性质,同时复杂的多糖结构造成多糖理化性质不稳定性不利于多糖的开发。

表 3 茎部和叶部多糖相对分子质量分布

Table 3 Molecular weight distribution of DOSP and DOLP

峰	M_n (数均相对分子质量)	M_w	M_w/M_n	MP(峰值相对分子质量)	峰面积%
DOSP	386 648	1 207 104	3.12	858 702	100.00
DOLP1	47 661	318 098	6.62	189 890	68.25
DOLP2	1 567	1 986	1.27	2 390	31.75

2.4 铁皮石斛多糖自由基清除能力比较

作为铁皮石斛的主要活性成分,铁皮石斛多糖具有多种生物活性,如抗氧化、抗肿瘤、降血糖和免疫调节等。自由基通过强氧化与蛋白质、脂肪等生物大分子发生修饰性反应,进而引起急性损伤、慢性疾病及衰老现象,对机体产生明显的损伤作用,因此把自由基看作是致病“元凶”和促进衰老的“祸根”^[20]。为比较铁皮石斛多糖的抗氧化活性,作者以 VC 为阳性对照,利用提取得到的多糖 DOSP 和 DOLP 进行了清除羟基自由基和 DPPH 自由基的能力比较,见图 3。羟基自由基是对生物体危害较大的一种自由基,可以与几乎所有生物大分子反应而导致机体受损,长时间接触会引起机体衰老或者癌变^[13]。作为铁皮石斛主要的活性物质,铁皮石斛多糖和机体受体争夺自由基,从而起到清除自由基保护机体的作用^[13]。由图 3a 可以看出,铁皮石斛多糖 DOSP、DOLP 及阳性对照 VC 都具有自由基清除能力,但 DOSP 和 DOLP 对自由基的清除率明显低于阳性对照,随着多糖质量浓度的增加,羟基自由基清除率也随之升高。在增加多糖质量浓度的过程中,DOSP 和 DOLP 对羟基自由基的清除效率并没有明显差异,表明对于清除羟基自由基而言,铁皮石斛茎部和叶部多糖具有相同的药用价值。但在清除 DPPH 自由基过程中,DOSP 和 DOLP 具有明显差异,DOSP 对 DPPH 自由基的清除率随多糖质量浓度增加一直保持较低水平,而 DOLP 随质量浓度增加对 DPPH 自由基的清除率明显提高。此结果表明,茎部多糖和叶部多糖在清除羟自由基方面具有相似的功能,但在 DPPH 自由基的清除过程具有较

大的差异性。虽然目前铁皮石斛茎部为主要研究主体,但本研究结果表明,虽然叶部多糖质量分数低于茎部多糖,但在某些生物活性方面较茎部多糖仍具有一定优势。

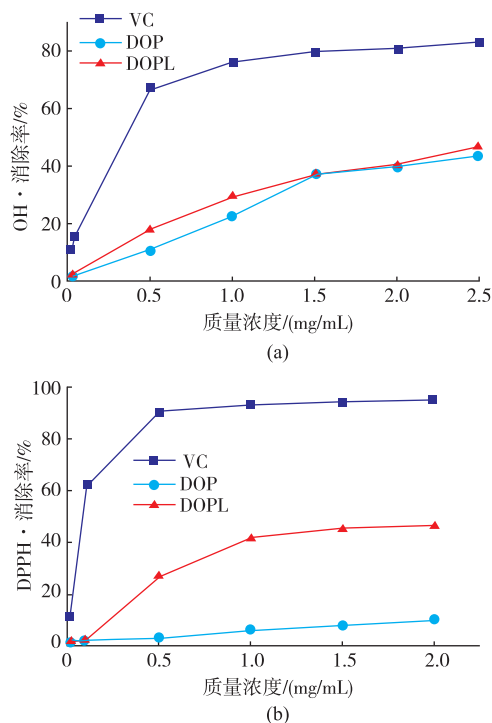


图 3 不同质量浓度的铁皮石斛多糖自由基清除能力比较
Fig. 3 Comparison of free radicals scavenging activity under different DOSP and DOLP concentration

2.5 铁皮石斛茎部和叶部多糖提取条件初步优化

为提高铁皮石斛茎部多糖的提取得率,作者对多糖提取条件中的温度、提取时间和料液比进行了优化,见图 4。不同提取温度下茎部多糖的得率结果显示(图 4a),随着提取温度由 50 ℃提高到 95 ℃,多糖的得率由 11.7%提高到 25.41%,但在温度由 90 ℃提高至 95 ℃时得率变化较小,因此较适于茎部多糖的提取温度为 90 ℃。在考察提取时间对多糖得率影响时发现,提取时间由 30 min 提高到 2 h 时,多糖得率明显提高,但超过 2 h 后多糖得率基本保持不变(图 4b),因此选取 2 h 为铁皮石斛茎部多糖的提取时间。铁皮石斛茎部多糖具有高相对分子质量、高粘度、较难溶解的性质,较低的料液比有利于多糖的溶解。图 4c 结果显示,随着料液比由 1:30 提高至 1:90,茎部多糖得率也随之提高,而料液比由 1:90 提高至 1:120 对多糖得率并无较大影响,因此选择 1:90 作为铁皮石斛茎部多糖的料液比。

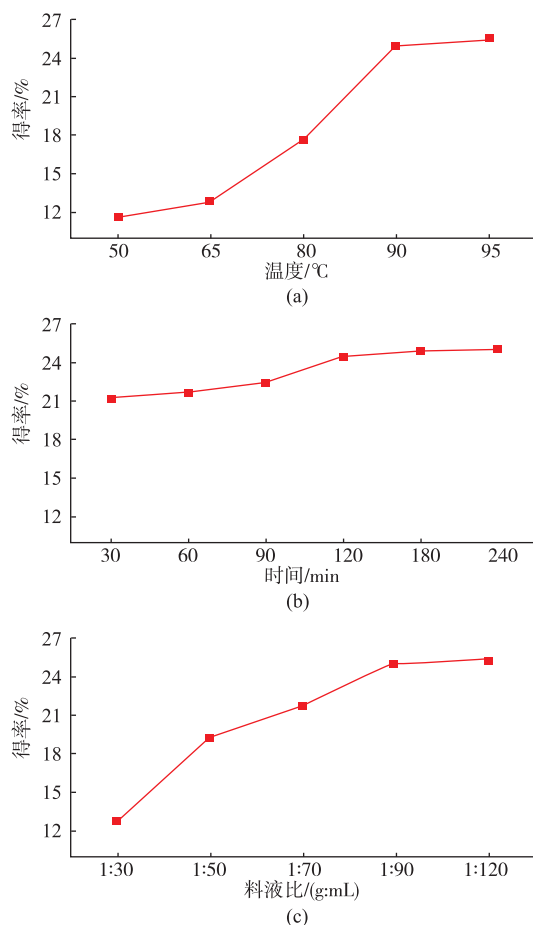


图 4 提取条件对茎部多糖得率的影响

Fig. 4 Influence of extracting conditions of DOSP on the yield of polysaccharide

铁皮石斛叶部多糖在 DPPH 自由基清除方面比茎部多糖具有更大的优势,表明铁皮石斛叶部作为被人们忽视的副产物所具有的研究和利用价值。与铁皮石斛叶部多糖相比,茎部多糖质量分数较低,因此需要考察不同的提取条件对叶部多糖的影响,从而提高其提取得率,为其实现工业应用提供参考。图 5 为不同提取条件对叶部多糖得率的影响。结果显示,随着提取温度由 30 °C 提高至 70 °C,多糖得率亦由 8.02% 提高至 9.02%,继续提高温度无助于多糖提取得率的提高(图 5a);在不同提取时间中,叶部多糖的得率在提取时间由 30 min 提高至 1 h 有明显的提高,但在提取 1 h 再增加提取时间对多糖得率基本无影响(图 5b);对茎部多糖而言,料液比的不同会对其提取得率有较明显的影响,但不同料液比对叶部多糖的影响较小(图 5c)。结果显示铁皮石斛不同部位进行多糖提取具有差异性,因此

需要在今后的研究中探索适用于叶部多糖的最优提取方法,进一步提高叶部多糖的得率以实现产业化应用。

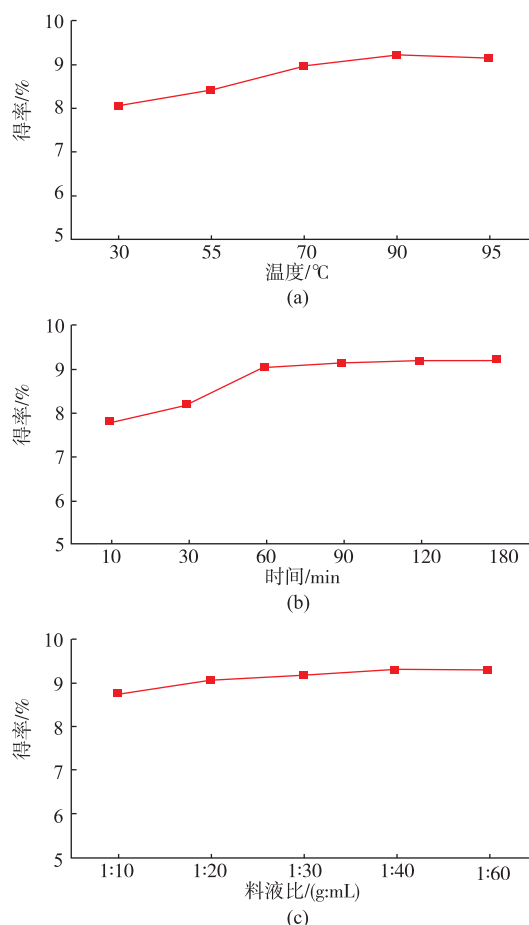


图 5 提取条件对叶部多糖得率的影响

Fig. 5 Influence of extracting conditions of DOLP on the yield of polysaccharide

3 结 语

铁皮石斛是一种传统的名贵中药材,具有滋阴养胃、润肺止咳和清热明目之功效。由于人们健康意识的提升,天然保健产品受到人们青睐。目前铁皮石斛常以茎部入药,其“叶部”、“花”常大量在采收时舍弃,这对铁皮石斛资源造成极大浪费。付玲珠^[2]等通过小鼠试验证实了以铁皮石斛叶部和花配伍的和胃茶煎剂对胃肠运动有较明显抑制作用,能解除肠痉挛。周桂芬等^[18]检测铁皮石斛叶部和花中黄酮碳苷发现,铁皮石斛叶部和花中的黄酮碳苷的质量分数明显高于茎部,测定提取液的 DPPH 自由基清除能力,发现叶部提取液的自由基清除能力优

于茎部。许莉^[19]对叠鞘石斛不同部位进行薄层色谱、HPLC-DAD-ELSD 联用和 GC-MS 联用技术比较分析得出,叠鞘石斛叶部、花与茎部均有一定相似度,且叶部与花中所含化学成分较茎部更为丰富,具有比较大的开发潜力。作者就铁皮石斛茎部和叶部位做了比较研究,对铁皮石斛主要活性成分多糖和生物碱而言,茎部质量分数大约为叶部 3 倍,而脂溶性成分和粗蛋白在叶部质量分数高于茎部质量分数。对初步纯化得到的多糖,DOLP 相比 DOSP 具有较低的纯度、粘度和相对分子质量。单糖组成分析发现,

DOSP 和 DOLP 具有相似的单糖组成,但 DOLP 的单糖组成更丰富。测定 DOSP 和 DOLP 自由基清除能力发现,对羟基自由基清除能力,DOSP 和 DOLP 具有相似水平,但对于 DPPH 自由基清除能力,DOLP 明显优于 DOSP。最后,考察铁皮石斛茎部和叶部多糖提取条件发现,DOSP 和 DOLP 的最优条件相差很大,DOLP 更易于提取,提取时应该差别对待。本研究结果证实了铁皮石斛叶部具有很好的开发潜力,为铁皮石斛资源综合开发利用提供了一定的理论依据,但其生物活性及成分基础有待进一步研究。

参考文献:

- [1] SHENG Jiarong, LI Zhihua, YI Yanbo, et al. Advances in the study of polysaccharide from *Dendrobium officinale* [J]. **Journal of Guangxi Academy of Sciences**, 2011, 27(4): 338-340. (in Chinese)
- [2] YANG Hong, WANG Shunchun, WANG Zhengtao, et al. Structural analysis of polysaccharides from *Dendrobium candidum* [J]. **Pharmaceutical Journal of China**, 2004, 39(4): 254-256. (in Chinese)
- [3] 华允峰. 铁皮石斛多糖成分研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- [4] ZHAO Jurun, ZHANG Zhiguo. Development status, issues and countermeasures of *Dendrobium officinale* industry [J]. **Modern Chinese Medicine**, 2014(4): 277-279. (in Chinese)
- [5] LUO Jinming. Exploration to *dendrobium* industry and market development [J]. **Pharmaceutical Journal of China**, 2013, 38(4): 472-474. (in Chinese)
- [6] 马江, 叶琪明. 浙江省铁皮石斛产业发展现状、问题与对策[N]. 环球市场信息导报(理论), 2014(6): 73.
- [7] 中华人民共和国卫生部, 国家卫生与计划生育委员会. GB50094-2010 食品安全国家标准 食品中灰分的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [8] OU Deming, ZHOU Yifan, HU Chang. Content determination of dendrobine and polysaccharide in *Dendrobium nobile* from different processing method [J]. **Asia-Pacific Traditional Medicine**, 2013, 9(8): 22-24. (in Chinese)
- [9] LI Qiang, XIE Yang, SU Jianwei, et al. Isolation and structural characterization of a neutral polysaccharide from the stems of *Dendrobium densiflorum* [J]. **Int J Biol Macromol**, 2012, 50(5): 1207-1211. (in Chinese)
- [10] YAN Jingkun, LI Lin, WANG Zhaomei, et al. Acidic degradation and enhanced antioxidant activities of exopolysaccharides from *Cordyceps sinensis* mycelial culture [J]. **Food Chemistry**, 2009, 117(4): 641-646.
- [11] 郑俊丽. 基于抑制非酶糖基化效果的金耳液体发酵研究及其活性物质的初步分析[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- [12] FAN Yijun, HE Xingjin, ZHOU Songdong, et al. Composition analysis and antioxidant activity of polysaccharide from *Dendrobium denneanum* [J]. **International Journal of Biological Macromolecules**, 2009, 45(2): 169-173.
- [13] 宾宇波. 铁皮石斛多糖结构及抗氧化性初步研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014.
- [14] LIANG Huan, HU Zhigang, LU Jinqing, et al. Comparison and analysis of dendrobine content in the different parts of the *Dendrobium nobile* with different growing year [J]. **The World Science and Technology: Modernization of Traditional Chinese Medicine**, 2014(2): 335-338. (in Chinese)
- [15] ZHOU Guifen, PANG Minxia, CHEN Suhong, et al. Comparison on polysaccharide content and PMP-HPLC finger prints of polysaccharide in stems and leaves of *Dendrobium officinale* [J]. **Pharmaceutical Journal of China**, 2014, 39(5): 795-802. (in Chinese)
- [16] SHANG Yuxi. Research on the distribution of the alkaloids in the different parts of the *Dendrobium candidum* with various origins [J]. **Journal of Anhui Agri Sci**, 2010(23): 12441-12442. (in Chinese)
- [17] NIE Shaoping, CAI Hailan. Research progress in bioactive components and functions of *Dendrobium officinale* [J]. **Food Science**, 2012, 33(23): 356-361. (in Chinese)
- [18] ZHOU Guifen, LU Guiyuan. Comparative studies on scavenging DPPH free radicals activity of flavone C-glycosides from different parts of *Dendrobium officinale* [J]. **Pharmaceutical Journal of China**, 2012, 37(11): 1536. (in Chinese)
- [19] 许莉. 川产道地药材叠鞘石斛品质初步研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2012.