

本文引用:李家宇,左之文,王曦璠,陈林,王玺,贺炜,周卿意骏,张水寒.不同品种党参游离糖成分的气相色谱-质谱研究[J].湖南中医药大学学报,2018,38(12):1398-1402.

不同品种党参游离糖成分的气相色谱-质谱研究

李家宇^{1,2},左之文³,王曦璠¹,陈林²,王玺⁴,贺炜⁵,周卿意骏^{1,2},张水寒^{1,2*}

(1.湖南中医药大学,湖南长沙410208;2.湖南省中医药研究院,湖南长沙410013;3.定西市党参干燥加工工程技术研究中心,甘肃定西748200;4.海军航空大学,山东烟台264000;5.绿之韵生物工程集团有限公司,湖南长沙410329)

[摘要] 目的 运用气相色谱-质谱联用技术对党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、素花党参 *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 及川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv. 的游离糖成分进行分析鉴定。方法 采用震荡提取法从党参中提取多种游离糖化合物,游离糖成分经乙酰化后利用气相色谱-质谱法分析其组成、结构。结果 通过气相色谱-质谱分析结合标准品数据以及相关文献,鉴别出3种党参中7种游离糖成分,分别为山梨糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、果糖、肌醇、蔗糖,游离糖含量存在差异。结论 气相色谱-质谱联用技术可以对党参游离糖成分进行定性及定量分析,为党参品质分析提供科学依据。

[关键词] 党参;乙酰化;游离糖;气相色谱-质谱联用

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.12.010

Identification of Free Sugar Components in Different Species of *Codonopsis* by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

LI Jiayu^{1,2}, ZUO Zhiwen³, WANG Xifan¹, CHEN Lin², WANG Xi⁴, HE Wei⁵, ZHOU Qingyijun^{1,2}, ZHANG Shuihan^{1,2*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410013, China; 3. Dingxi *Codonopsis* Dryness and Processing Engineering Technology Research Center, Dingxi, Gansu 748200, China; 4. Naval Air University, Yantai, Shandong 264000, China; 5. Resgreen Group, Changsha, Hunan 410329, China)

[Abstract] **Objective** To identify the free sugar components in three species of *Codonopsis* [*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf., *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen, and *Codonopsis tangshen* Oliv.] by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** A variety of free sugar compounds were extracted from *Codonopsis* by shaking extraction. The composition and structure of free sugar components were analyzed by GC-MS after acetylation. **Results** Seven free sugar components were identified in the three species of *Codonopsis* by GC-MS according to the data of reference standard and the relevant literature, including sorbose, galactose, glucose, D-mannose, fructose, inositol, and sucrose. There were differences in the content of these free sugar components between the three species of *Codonopsis*. **Conclusion** GC-MS can be used for the qualitative and quantitative analysis of free sugar components in *Codonopsis*. It can provide a scientific basis for the quality analysis of *Codonopsis*.

[Keywords] *Codonopsis*; acetylation; free sugar; gas chromatography-mass spectrometry

[收稿日期] 2018-05-31

[基金项目] 特色中药资源综合开发和利用研究(2060302-1607-01)。

[作者简介] 李家宇,男,在读硕士研究生,研究方向:中药资源质量标准及制剂研究。

[通讯作者] *张水寒,女,研究员,博士研究生导师, E-mail:592249880@qq.com。

党参作为一味传统的名贵中药材,来源为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、素花党参 *Codonopsis pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 或川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv.的干燥根^[1]。其味甘性平,具有补中益气、健脾益肺之功效^[2]。主治脾肺虚弱、气短心悸、食少便溏、虚喘咳嗽、内热消渴等症^[3]。党参之名始见于《本草从新》,书中所述的“真党参”系指产于山西上党(今山西长治)的五加科人参^[4]。随着五加科人参资源的减少,形似人参的替代品被采用,至清代已将根有狮子盘头的一类替代药材独立出来作为新的药材品种,并定名党参。

党参的质量评价一直备受关注,“味甜者佳”的观点作为民间判断党参质量优劣的方式,但存在缺陷,如何更加客观、科学地评价党参甜度与质量的关系值得研究。通常,“甜味”的强弱用甜度来表示^[5],而甜度与游离糖的含量相关。气相色谱-质谱联用(GC-MS)方法具有高分离度、高速度、高灵敏度等特点,已在众多领域中得到广泛应用^[6-8]。因而,本文采用 GC-MS 分析方法对不同品种、不同产地党参中的游离糖成分进行了快速测定和比较,以期对党

参品种甄别和品质分析提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

甲醇(德国 Merck 公司)、乙酸(美国 Tedia 公司)为色谱纯;其他试剂均为分析纯;实验用水采用重蒸纯净水(华润怡宝饮料长沙有限公司)。单糖标准品:D-木糖、鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、核糖醇、L-阿拉伯糖醇、木糖醇、山梨糖、半乳糖、葡萄糖、果糖、D-甘露糖、肌醇、甘露醇、D-山梨醇、蔗糖、半葡胺标准品(长沙锦农生物科技有限公司)。

本实验所采用的 24 批党参药材(见表 1)分别采集自山西省晋城市、甘肃省文县、湖北省恩施县及四川省甘孜州等地,经湖南省中医药研究院湖南中药研究所刘浩助理研究员鉴定,分别为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.的干燥根、素花党参 *Codonopsis pilosula* Nannf var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 的干燥根、川党参 *Codonopsis tangshen* Oliv.的干燥根,均为 2015 版《中华人民共和国药典》所收录的品种。

表 1 党参供试材料的品种及产地

序号	样品名称	产地	基原	序号	样品名称	产地	基原
1	CP-01	山西晋城	党参	13	CN-07	甘肃文县	素花党参
2	CP-02	山西晋城	党参	14	CN-08	甘肃文县	素花党参
3	CP-03	山西晋城	党参	15	CN-09	甘肃文县	素花党参
4	CP-04	山西晋城	党参	16	CN-10	甘肃文县	素花党参
5	CP-05	山西晋城	党参	17	CN-11	甘肃文县	素花党参
6	CP-06	山西晋城	党参	18	CN-12	甘肃文县	素花党参
7	CN-01	甘肃文县	素花党参	19	CT-01	湖北恩施	川党参
8	CN-02	甘肃文县	素花党参	20	CT-02	湖北恩施	川党参
9	CN-03	甘肃文县	素花党参	21	CT-03	湖北恩施	川党参
10	CN-04	甘肃文县	素花党参	22	CT-04	四川甘孜	川党参
11	CN-05	甘肃文县	素花党参	23	CT-05	四川甘孜	川党参
12	CN-06	甘肃文县	素花党参	24	CT-06	四川甘孜	川党参

1.2 仪器

GC-2014 气相色谱仪(日本岛津公司);NDK200-1 氮吹仪(杭州米欧仪器厂);RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);SHZ-DIII 循环水式真空泵(上海贝仑仪器设备有限公司);KM-500DB 台式超声波清洗器(昆山市美美超声仪器有限公司);HC-700 高速多功能粉碎机(永康市天祺盛世工贸有限公司);

AE240 电子天平(瑞士梅特勒-托利多国际有限公司)。

1.3 气相色谱检测条件

VF-23 ms(30 m×0.25 mm×0.25 μm) 毛细管柱;载气为高纯氦;柱流量 1.0 mL/min;分流比 45:1;进样口温度 220 °C;柱压 73.0 kPa;程序升温:起始温度 100 °C,10 °C/min 升至 180 °C,保持 1 min,1 °C/min

升至 190 ℃,保持 2 min,30 ℃/min 升至 220 ℃,保持 2 min,0.5 ℃/min 升至 222 ℃,保持 3 min,0.5 ℃/min 升至 230 ℃,保持 5 min。

1.4 质谱检测条件

电子轰击(EI)离子源,离子源温度 220 ℃,接口温度 250 ℃,质量扫描范围 45~550 m/z。

1.5 标准品及供试品溶液的制备

1.5.1 标准品溶液的制备 精密称取 5.0 mg 核糖醇标准品,溶于 50.0 mL 二甲亚砜(DMSO)中,定容^[9]。配制成 0.1 mg/mL 的核糖醇-二甲亚砜溶液备用。精密称取 0.1 mg 标准品,溶于 0.2 mL 核糖醇-二甲亚砜溶液(0.1 mg/mL)中。以 0.03 mL 1-甲基咪唑为催化剂,0.2 mL 乙酸酐为乙酰化试剂^[10],30 ℃水浴,振荡、搅拌 10 min,加 1.0 mL 蒸馏水,除去过量乙酸酐,终止反应。以 0.2 mL 二氯甲烷萃取 2 次,合并后用无水硫酸钠除去残留水分,过 0.22 μm 滤膜,备用。

1.5.2 党参供试液的制备 将样品置于烘箱中干燥至恒重。精密称取样品细粉 50.0 mg,置于 10.0 mL 离心管中。加入 1 mL 含 0.1 mg/mL 核糖醇提取液(三氯甲烷:甲醇:水=12:5:1),4 ℃震荡过夜。3 000 r/min 离心 10 min,取上层清液,挥干。复溶于 0.1 mL 二甲亚砜中,以 0.03 mL 1-甲基咪唑为催化剂,0.2 mL 乙酸酐为乙酰化试剂,30 ℃水浴,振荡、搅拌 10 min,加 1.0 mL 蒸馏水终止反应。以 0.5 mL 二氯甲烷萃取 2 次,将下层有机层提取,合并后用无水硫酸钠除去残留水分,过 0.22 μm 滤膜,备用。

1.6 方法学考察

1.6.1 精密度试验 取 CT-01 号样品溶液,按“1.5.1”项下方法制备供试品溶液,按“1.3”项色谱条件连续进样 5 次,记录峰面积,分别计算相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。

1.6.2 重复性试验 取同一批党参样品 5 份,按“1.5.1”项下方法制备供试品溶液,按“1.3”项色谱条件进行分析测定,分别计算 RSD。

1.6.3 稳定性试验 取同一份置于 4 ℃冰箱内的供试品溶液,按“1.3”项色谱条件在 0.2、4、8、12、24 h 分别进行测定,分别记录峰面积,分别计算 RSD。

1.7 GC-MS 测定党参中的游离糖的含量

按“1.5.1”项下方法制备标准品供试溶液,以核

糖醇标准品为内标试样,分别进样 0.1、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 μL 分别计算核糖醇的标准曲线以及各标准品与核糖醇的相对校正因子。

按“1.5.2”项下方法制备样品供试溶液,取 2.0 μL 供试溶液注入气相色谱质谱联用分析系统。根据单糖及糖醇标准品的气相色谱质谱的色谱图进行分辨,对样品中的糖类化合物进行定量分析。

糖类化合物含量计算公式:

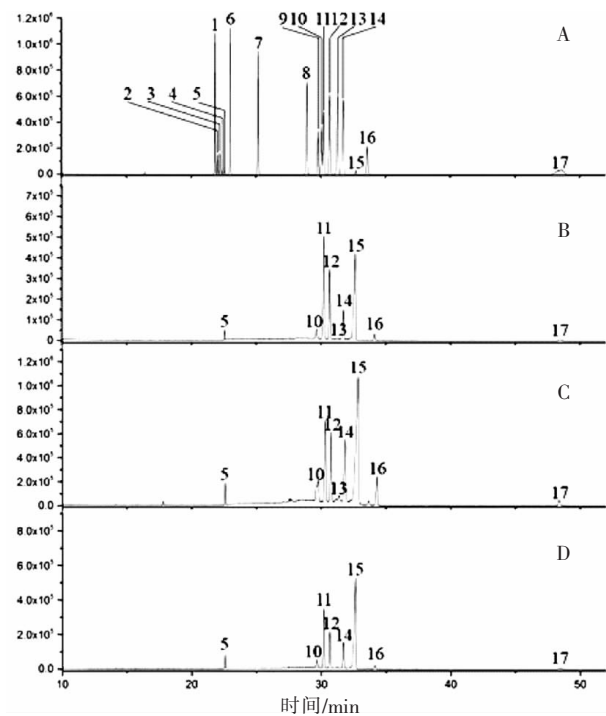
$$m_i = f \times (A_i \times m_s) / A_s$$

m_i 、 m_s 分别表示待测糖以及内标试样的质量, A_i 、 A_s 分别表示待测糖以及内标试样的峰面积, f 表示待测糖和内标的相对校正因子。

2 结果

2.1 党参游离糖组成及含量

17 个标准物质的混合样品,经过气相色谱-质谱联用色谱分析所得色谱图见图 1(A),不同党参的样品中游离糖衍生物经过气相色谱-质谱联用色谱分析所得色谱图见图 1。



注:A.标准品,B.川党参,C.党参,D.素花党参。色谱图中 1-17 分别表示木糖、鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖醇、核糖醇、阿拉伯糖、木糖醇、葡辛胺、卫矛醇、山梨糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、果糖(14、15)、肌醇和蔗糖。5 号峰(核糖醇)为内标峰

图 1 单糖、双糖乙酰化标准品与党参样品的气质联用色谱图

进一步利用 NIST05 库进行搜索与匹配,对 17 种标准物质进行鉴定,所得结果如表 2 所示。其中,内

标核糖醇的标准方程为

$$m_s=2.0\times 10^{-7}A_s+7.7\times 10^{-3},r=0.999\ 0$$

2.2 方法学考察

精密性:山梨糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、果糖、肌醇、蔗糖的 RSD 分别为 0.20%、0.13%、0.16%、0.21%、0.19%、0.22%、0.22%,表明仪器精密性较好。

重复性:山梨糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、果糖、肌醇、蔗糖的 RSD 分别为 0.23%、0.17%、0.18%、0.25%、0.23%、0.22%、0.24%,表明方法的重复性较好。

稳定性:山梨糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、果糖、肌醇、蔗糖的 RSD 分别为 0.19%、0.15%、0.18%、0.22%、0.21%、0.22%、0.23%,表明供试品溶液在 4 ℃ 条件下,24 h 内稳定性良好。

2.3 不同党参样品的游离糖组成及含量分析

对党参样品采用相同的预处理并对党参中的糖及糖醇类成分采用相同分析条件进行定量分析,不同品种党参游离糖组成及含量见表 3。党参主要包括山梨糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、果糖、肌醇、

表 2 单糖以及糖醇标准品的测定

序号	物质名称	保留时间/min	相对校正因子	库搜索相似度
1	鼠李糖	19.158	1.352	93
2	岩藻糖	20.708	1.414	94
3	阿拉伯糖醇	21.229	0.395	89
4	木糖	21.791	1.695	94
5	核糖醇	22.574	1.000	91
6	阿拉伯糖	22.633	1.753	87
7	木糖醇	25.193	1.724	85
8	葡辛胺	27.636	1.848	93
9	卫矛醇	28.866	1.196	79
10	山梨糖	29.963	0.854	85
11	半乳糖	30.465	0.766	94
12	葡萄糖	30.925	0.455	91
13	D-甘露糖	31.564	0.608	92
14	果糖	31.733	3.307	87
15	果糖	32.410	13.603	87
16	肌醇	33.593	1.676	87
17	蔗糖	48.308	115.756	86

蔗糖,且这 7 种糖及糖醇成分的含量在不同党参中存在差异。

表 3 不同党参中游离糖的组成及含量

($\mu\text{g/g}$)

序号	样品	山梨糖	半乳糖	葡萄糖	D-甘露糖	果糖	肌醇	蔗糖
1	CP-01	4.922	15.256	6.792	1.455	758.879	9.845	496.751
2	CP-02	4.701	15.346	6.895	1.187	817.281	11.548	705.255
3	CP-03	4.593	14.892	6.718	1.301	812.378	9.904	637.652
4	CP-04	5.557	13.450	6.022	2.101	922.670	23.119	459.006
5	CP-05	5.101	14.573	6.267	1.974	879.405	17.430	578.540
6	CP-06	4.831	13.936	7.178	2.252	902.363	20.307	521.791
7	CN-01	6.033	37.432	14.678	-	754.941	3.863	581.979
8	CN-02	4.340	34.267	12.932	-	770.029	3.718	556.347
9	CN-03	3.977	31.723	12.143	-	720.891	3.911	73.642
10	CN-04	9.662	23.920	13.052	-	1342.541	7.343	273.138
11	CN-05	10.125	30.034	10.293	-	1107.762	6.299	235.768
12	CN-06	3.042	33.628	12.495	-	845.597	23.518	214.554
13	CN-07	4.037	14.649	8.200	0.311	655.046	19.369	104.462
14	CN-08	5.532	22.758	10.646	-	866.774	24.174	193.690
15	CN-09	4.364	22.521	11.974	-	803.846	21.190	160.751
16	CN-10	9.097	38.855	16.415	0.664	1406.249	19.625	94.935
17	CN-11	10.253	23.735	11.873	-	1126.489	29.044	168.435
18	CN-12	9.750	36.814	18.451	0.104	1414.392	28.249	80.949
19	CT-01	2.144	13.385	4.773	-	518.138	2.005	38.381
20	CT-02	1.259	12.729	4.562	-	540.445	1.814	49.945
21	CT-03	2.471	12.667	4.635	-	536.176	1.721	58.051
22	CT-04	3.000	11.870	4.984	0.286	418.992	3.294	-
23	CT-05	4.083	11.459	5.628	0.167	530.671	11.573	48.709
24	CT-06	1.325	8.415	3.409	0.276	405.935	8.397	44.986

3 讨论

研究系首次通过 GC-MS 联用技术分析 2015 版《中华人民共和国药典》中收录的 3 种党参游离糖的含量,发现不同品种的党参游离糖有相同点及差异性。相同点为不同党参所含游离糖种类基本相同,均包括山梨糖、半乳糖、葡萄糖、果糖、肌醇、蔗糖在内的 6 种游离糖。差异性则表现在不同品种党参游离糖的百分含量有显著差异性;桔梗科植物党参的干燥根中可检出 D-甘露糖,而素花党参及川党参的干燥根中未检出 D-甘露糖。D-甘露糖可作为辨别桔梗科植物党参的标志性单糖成分。3 种党参中最主要的游离糖成分均为果糖和葡萄糖。在对党参甜度的贡献上,果糖对甜度的影响最大,其次为蔗糖,这两种糖类成分在党参中的含量较高,占游离糖成分 90%以上,对党参的甜味的影响相较于其他糖明显。山梨糖、半乳糖、葡萄糖、D-甘露糖、肌醇等糖类成分,由于在党参中的含量较低,对党参的甜度影响作用较小。

本研究通过 GC-MS 分析结合标准品数据以及相关文献,在保留时间、分子式等方面对党参游离糖成分进行定性及定量分析。建立了一种准确、快速的中药党参游离糖分析方法,此方法可为党参品质分析提供游离糖成分方面的参考,并为党参干燥加

工提供指导。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部.北京:化学工业出版社,2015:264.
- [2] 杨鹏飞,楚世峰,陈乃宏.党参的药理学研究进展及其抗脑缺血再灌注损伤的机制[J].湖南中医药大学学报,2015,35(12):5-10.
- [3] 焦红军.党参的药理作用及其临床应用[J].中国中医药现代远程教育,2012,25(19):92-92.
- [4] 邹荫甲.党参的本草学考证[J].中草药,2000,31(6):466-467.
- [5] BELITZ H D, GROSCH W, SCHIEBERLE P.食品化学:第 3 版[M].中国农业大学出版社,2008.
- [6] 陈晓水,侯宏卫,边照阳,等.气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)的应用研究进展[J].质谱学报,2013,34(5):308-320.
- [7] DIMITRA J D, BASIL N Z, MOSCHOS G P, et al. GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *penicillium digitatum* [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2000, 48(6):2576-2581.
- [8] LUEDEMANN A, STRASSBURG K, ERBAN A, et al. TagFinder for the quantitative analysis of gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)-based metabolite profiling experiments [J]. Bioinformatics, 2008, 24(5):732-737.
- [9] 高凡草.黄芪药材甜味与品质关联性研究及黄芪糖谱分析方法的建立[D].太原:山西大学,2015.
- [10] 廖洪梅,戴玲,魏晓飞,等.单糖乙酰化条件的优化[J].理化检验·化学分册,2008,44(5):441-443.

(本文编辑 苏 维)