

枸杞多糖的气相色谱-质谱分析

1 前言

枸杞为我国传统的滋补中药材,研究表明枸杞中含有多种营养成分,其中的有效成分枸杞多糖有着广泛药理学作用,具有抗衰老、降血糖、提高免疫力等功效。本文采用气相色谱质谱联用技术对其结构和组成进行了初步的研究。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

枸杞,乙醇,三氯甲烷,正丁醇,三氟乙酸,吡啶,衍生化试剂(BSTFA+TMCS 99:1)

GC-MS3100 型气质联用仪,超声波仪,离心机,涡旋混合器,氮吹仪,烘箱,天平

2.2 样品处理

2.2.1 枸杞多糖的提取

称取一定量的枸杞粉末样品于锥形瓶中,按液料比 10:1 加入蒸馏水进行超声提取 1h,离心,合并上清液,加入 95%乙醇水溶液沉淀过夜,再离心,合并沉淀,于 105℃烘箱中烘干,得到枸杞粗多糖。

2.2.2 Sevag 法脱蛋白

称取一定量的粗多糖,加蒸馏水使其溶解,然后加入三氯甲烷(多糖水溶液体积的 20%),再加入正丁醇(三氯甲烷体积的 20%),振摇,使其充分混匀,静置分层,弃去下层三氯甲烷和中间层变性蛋白,然后往上清液中再加入 95%乙醇沉淀过夜,离心,合并沉淀,105℃烘干得脱蛋白多糖。

2.2.3 多糖的水解与衍生

称取约 10mg 脱蛋白多糖,加入 10mL 4mol/L 的三氟乙酸溶液,密封于 100℃恒温水解 4h,水解过程中每隔 30min 涡旋混合一次,水解完成后冷却至室温,用 0.45μm 滤膜过滤,取 5mL 滤液氮吹至干,冷却至室温,加入 200μL 吡啶和 200μL 衍生化试剂(BSTFA+TMCS 99:1),涡旋混合 1min,于 60℃烘箱中衍生 1h 后,放置冰箱中待上机分析。

2.3 仪器条件

2.3.1 气相色谱仪条件

色谱柱：Equity-5 (30m×0.25mm×0.25μm) 石英毛细管柱；载气流量(氦气)：1ml/min 柱箱升温程序：80℃保持 1min，以 20℃/min 升至 180 度，再以 5℃/min 升至 260 度保持 5min。汽化室：260℃；柱前压：60kPa；进样方式：分流进样，分流比 30:1；进样量：0.4μL，吹扫流量：2 ml/min。

2.3.2 质谱仪条件

离子源：EI 源；电子能量：70eV；离子源温度：200℃；接口温度：260℃；

溶剂延迟：5min；扫描方式：全扫描定性，扫描范围：35~550u。

3 结果与讨论

枸杞多糖经提取、纯化和水解后，与试剂 (BSTFA+TMCS 99:1) 进行衍生化后上 GC-MS 分析检测，衍生物总离子流图见下图。根据 NIST 标准谱图库检索结果，并结合人工分析对各组分进行定性，主要检测出阿拉伯糖、甘露糖、木糖、葡萄糖等，详细结果见表 1。

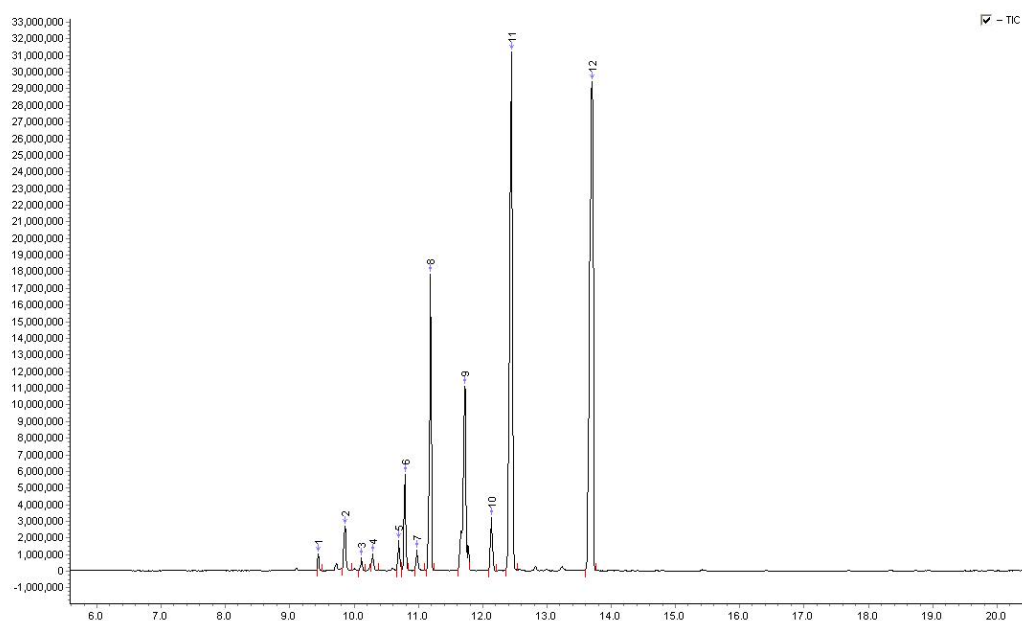
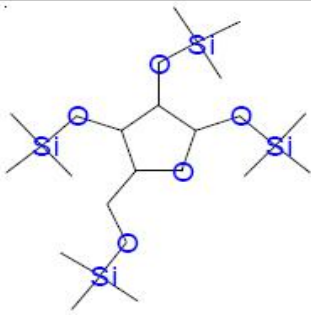
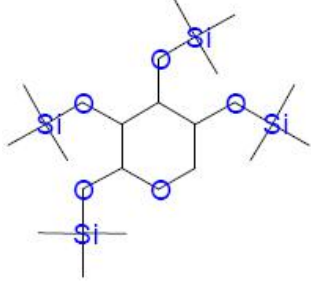
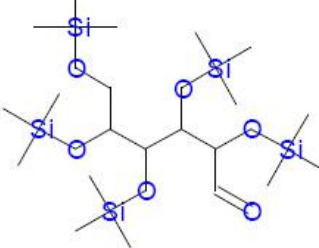
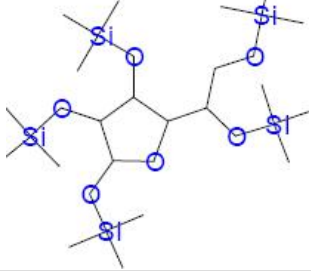
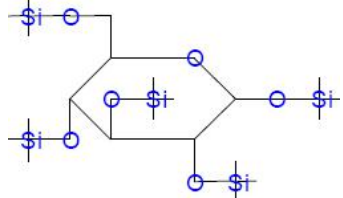


图 5 枸杞 5 号总离子流图

表 1 枸杞多糖 GC-MS 检测结果

序号	保留时间	英文名称	结构式
1	9.44	D-Ribofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	
2	9.86	D-Xylopyranose, 1,2,3,4-tetrakis-O-(trimethylsilyl)-	
3	10.12	L-Altrose, 2,3,4,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	
4	10.29	.beta.-DGalactofuranose 1,2,3,5,6-pentakis-O-(trimethylsilyl)-	
5	10.70	Glucopyranose, pentakis-Otrimethylsilyl	

序号	保留时间	英文名称	结构式
6	10.79	Arabinofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O- (trimethylsilyl)-	
7	10.98	.alpha.-LMannofuranose 6-deoxy- 1,2,3,5-tetrakis-O- (trimethylsilyl)-	
8	11.19	Gulose, 2,3,4,5,6- pentakis-O- (trimethylsilyl)-	
9	11.72	D-Altrose, 2,3,4,5,6- pentakis-O- (trimethylsilyl)-	
10	12.13	L-Ribofuranose, 1,2,3,5-tetrakis-O- (trimethylsilyl)-	
11	12.45	Mannose, 2,3,4,5,6- pentakis-O- (trimethylsilyl)-, D-	
12	13.70	Glucopyranose, 1,2,3,4,6-pentakis-O- (trimethylsilyl)-, D-	