

· 基础研究 ·

基于柱前衍生 UPLC-MS/MS 的宁陕地区
猪苓单糖组成差异研究[△]宋瑞琦^{1,2}, 南铁贵², 张敏³, 胡开永³, 袁媛^{2*}

1. 广东药科大学 中药学院, 广东 广州 510006; 2. 中国中医科学院 中药资源中心, 北京 100700;

3. 湖北梦阳药业股份有限公司, 湖北 荆门 448124

[摘要] 目的: 研究宁陕地区猪苓多糖中单糖组成的差异。方法: 采用柱前衍生-超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法检测不同生长条件下猪苓多糖中单糖组成及含量。结果: 不同生长年限、不同种植地点及地势、种植过程中是否翻窝、不同发育时期的猪苓多糖的单糖组成均存在差异。3年生猪苓相对2年生猪苓, 半乳糖、核糖和木糖等9种单糖的含量降低, 而葡萄糖醛酸含量增加; 黑苓与灰苓中葡萄糖含量差异明显, 黑苓葡萄糖含量均值最高可达灰苓的1.9倍; 种植过程中不翻窝、选择坡地种植可能有利于猪苓中单糖成分的积累。结论: 对宁陕地区不同猪苓样品单糖组成差异进行初步研究, 为宁陕地区猪苓的规范化种植提供依据。

[关键词] 猪苓; 柱前衍生法; 超高效液相色谱-串联质谱; 单糖

[中图分类号] R284.18 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)09-1514-07

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20190703009

Study on Difference of Monosaccharide Composition of *Polyporus umbellatus* in
Ningshan Based on Pre-column Derivatization Procedure UPLC-MS/MSSONG Rui-qi^{1,2}, NAN Tie-gui², ZHANG Min³, HU Kai-yong³, YUAN Yuan^{2*}

1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. National Resource Center for Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. Monyan Pharma, Jingmen 448124, China

[Abstract] **Objective:** To study the difference of monosaccharide composition in *Polyporus umbellatus* polysaccharides from Ningshan. **Methods:** Ultra performance liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method was applied to determine the composition and content of monosaccharides. **Results:** There were differences in the monosaccharide composition of *P. umbellatus* polysaccharides in different ages, different planting location and topography, whether to turn over the nest in the planting process, and different growth period. Compared with 2-year-old *P. umbellatus*, the content of 9 monosaccharides in 3-year-old *P. umbellatus* decreased, while the content of glucuronic acid increased; the average content of glucose in black *P. umbellatus* is 1.9 times higher than that in gray *P. umbellatus*; the accumulation of monosaccharides in *P. umbellatus* was facilitated by not turning over the nest and planting on sloping land. **Conclusion:** The differences of monosaccharide composition of different samples of *P. umbellatus* in Ningshan area were studied, which provided the basis for the standardized cultivation of *P. umbellatus* in Ningshan area.

[Keywords] *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries; pre-column derivation; UPLC-MS/MS; monosaccharide

猪苓为多孔菌科多孔菌属猪苓 *Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries 的干燥菌核^[1], 是1种名贵的真菌类药材, 最早记载于《神农本草经》。猪苓的主要化学成分是多糖、甾体、氨基酸、蛋白质、

[△] [基金项目] 国家科技基础性工作专项(2015FY111500); 国家自然科学基金重大项目(81891013, 81891010); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ10-008); 中央本级重大增支减项目(2060302); 国家重点研发项目(2017YFC1700706)

* [通信作者] 袁媛, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 中药鉴定与分子生药学; Tel: (010)64087649, E-mail: y_yuan0732@163.com

维生素及微量元素等^[2]。其中现代药理研究表明,猪苓多糖为其主要活性成分,具有较好的抗肿瘤、延缓衰老、增强免疫和保护肝脏等作用,临床疗效明显^[3-4]。多糖为10个及以上的单糖通过糖苷键连接的高分子聚合物,多糖的单糖组成与其药理活性密切相关。

目前,中药材中单糖组分的研究已取得一定进展,不同种质、近缘种^[5]、产区及生长时期^[6-7]都可能导致药材中单糖组成的差异。猪苓在我国分布广泛,其主要产区包括陕西、四川、云南、吉林及黑龙江等地,陕西省安康市宁陕县是猪苓的重要产区。近年来,猪苓多糖的研究仅限于提取工艺、含量测定、药理活性等方面,而对猪苓多糖的组成、不同生长条件下猪苓中单糖组分的差异仍缺乏系统研究。本研究以宁陕县所产猪苓为材料,利用柱前衍生化超高效液相色谱-质谱联用技术比较了不同生长条件下猪苓多糖中单糖组成的差异,从而为调整优化宁陕地区猪苓种植结构提供技术支撑,也可作为猪苓质量控制及进一步的药理活性研究提供参考。

1 材料

1.1 仪器

ACQUITY UPLC I-Class 系统(美国 Waters 公司,包括二元高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器和柱温箱);QTRAP 6500 型三重四极杆-线性离子阱质谱仪(美国 AB Sciex 公司,配有离子喷雾接口);MS-S 十万分之一电子天平[梅特勒-托利多(上海)有限公司];MM 400 型球磨机(Retsch 公司);Centrifuge 5415D 型离心机(德国 Eppendorf 公司);Pacific T-II 型超纯水仪(美国 Thermo 公司);SB-800DTD 型超声波清洗器(宁波新芝生物科技股份有限公司);D9145AZ 型电热干燥箱(上海恒科仪器有限公司)。

1.2 试药

对照品 *D*-果糖(Fruc, 纯度:99%)、*D*-甘露糖(Man, 纯度:98%)、*D*-阿洛糖(Allose, 纯度:98%)、*D*-半乳糖(Gal, 纯度:98%)、*D*-木糖(Xyl, 纯度:99%)、*D*-阿拉伯糖(Ara, 纯度:99%)、*D*-鼠李糖(Rha, 纯度:98%)、*D*-无水葡萄糖(Glu, 纯度:98%)、*L*-岩藻糖(Fuc, 纯度:98%)、*D*-核糖(Rib, 纯度:98%)、*D*-葡萄糖醛酸(GlcA, 纯

度:98%)和 *D*-半乳糖醛酸(GalA, 纯度:98%)购于上海源叶生物科技有限公司;蒽酮、硫酸、乙醇(色谱纯,西陇化工股份有限公司);甲醇和乙腈(色谱纯,美国 Merk 公司);三氟乙酸(TFA)、1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP)购于 Sigma 公司;0.22 μm PTFE 滤膜(天津津腾实验设备有限公司)。

实验材料为采自宁陕地区的34份猪苓菌核(见表1),经统一干燥后作为分析样品。研究样品经中国中医科学院中药资源中心金艳副研究员鉴定为猪苓 *P. umbellatus* (Pers.) Fries 的菌核。

表1 猪苓样品采集信息

样品 编号	采集 地点	生长 年限	种植 地势	是否 翻窝	生长 时期	采集 时间
1~4	江口镇	3	坡地	不翻窝	黑苓	2018-03
5~8	江口镇	2	坡地	不翻窝	灰苓	2018-03
9~13	江口镇	3	坡地	翻窝	黑苓	2018-03
14~18	城关镇	3	坡地	不翻窝	黑苓	2018-03
19~22	四亩地镇	2	坡地	不翻窝	黑苓	2018-03
23~26	四亩地镇	2	坡地	不翻窝	灰苓	2018-03
27~30	四亩地镇	3	坡地	不翻窝	黑苓	2018-03
31~34	四亩地镇	3	平地	不翻窝	黑苓	2018-03

2 方法

猪苓多糖中单糖组成采用本实验室建立的高效液相色谱-点喷雾串联三重四极杆质谱(UPLC-MS/MS)测定。经方法学考察12种单糖在各自范围内线性关系良好($r > 0.995$);精密度试验结果RSD值 $< 1.4\%$;重复性试验RSD值 $< 2.9\%$;稳定性试验在0~24 h RSD值 $< 5.0\%$;加样回收率试验中,平均加样回收率为92.1%~105.6%,RSD $< 3.9\%$ ^[8]。

2.1 猪苓多糖的提取及衍生化产物制备

分别精密称取12种单糖对照品各1.0 mg,制成质量浓度为1.0 g·L⁻¹的储备液,准确移取各储备液100 μL,以超纯水定容至2.0 mL,得到各单糖混合标准液。将12种单糖的混合标准溶液连续稀释至质量浓度为0.01~1 000 μg·L⁻¹。精密称取猪苓粉末1.0 g,加入90℃去离子水15 mL,超声提取30 min,离心取上清液,上清液加95%乙醇使乙醇最终浓度为80%,4℃醇沉12 h,再次离心后挥干乙醇,研细即得到猪苓多糖。精密称取猪苓多糖1.0 mg,加入2.0 mol·L⁻¹ TFA 2.0 mL,110℃酸水解6 h,冷

却，真空冷冻干燥机内挥干 TFA，加 500 μL 水复溶。精密吸取猪苓多糖的水解液及 12 种单糖的混合标准溶液各 50 μL ，与 200 μL 氨水溶液及 200 μL 0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PMP 甲醇溶液混和。混合物在 70 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 30 min，冷冻干燥。以 500 μL 三氯甲烷洗涤 2 次，吸取水相，过 0.22 μm 微孔滤膜。其中猪苓单糖衍生化样品稀释 100 倍进样^[8]。

2.2 色谱条件

色谱柱：安捷伦 ZORBAX RRHD Rclipse Plus C₁₈ 色谱柱 (100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.8 μm)；流动相：A 为 95% 乙腈，B 为 25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵-5% 乙腈，氨水调 pH=8.2；梯度洗脱(0~7.0 min, 13% A；7.0~9.0 min, 13%~1% A；9.0~9.10 min, 1%~12% A；

9.10~12.00, 12% A)；体积流量 0.6 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ；柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ ；进样量 1 μL ^[8]。

2.3 质谱条件

离子源：电喷雾离子源(ESI)；负离子模式；离子源温度：500 $^{\circ}\text{C}$ ；多反应监测模式(MRM)进行定量分析；雾化气 GSI 压力：55.00 kPa；辅助气 GS2 压力：60.00 kPa。质谱参数见表 2^[8]。

3 结果与分析

3.1 不同生长年限猪苓多糖中单糖组成的差异

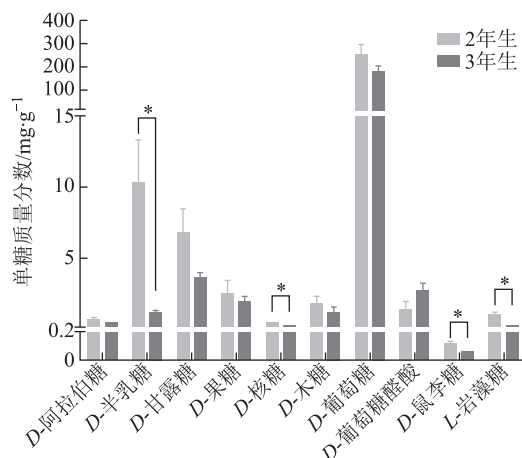
不同生长年限猪苓多糖中各单糖含量及比较见表 3 及图 1。2 年生与 3 年生样品中半乳糖、核糖、鼠李糖及岩藻糖的含量存在显著性差异，其中 2 年

表 2 12 种单糖类成分的质谱条件参数

成分	相对分子质量	t_{R}/min	MRM 参数				
			母离子	子离子	去簇电压 (DP)/V	碰撞电压 (CE)/V	碰撞室射出电压 (CXP)/V
D-果糖	180.2	0.61	511.2	175.0, 217.1	165	34	6
D-甘露糖	180.2	2.22	511.2	175.0, 217.1	165	34	6
D-阿洛糖	180.2	2.63	511.2	175.0, 217.1	165	34	6
D-核糖	150.1	2.63	481.2	175.0, 217.1	157	31	20
D-葡萄糖醛酸	194.2	2.81	525.2	175.0, 217.1	186	35	6
D-鼠李糖	164.2	2.97	495.2	175.0, 217.1	168	31	6
D-半乳糖醛酸	194.2	3.41	525.2	175.0, 217.1	186	35	6
D-葡萄糖	180.2	5.21	511.2	175.0, 217.1	165	34	6
D-木糖	150.1	6.07	481.2	175.0, 217.1	157	31	20
D-半乳糖	180.2	6.10	511.2	175.0, 217.1	165	34	6
D-阿拉伯糖	150.1	6.57	481.2	175.0, 217.1	157	31	20
L-岩藻糖	164.2	7.27	495.2	175.0, 217.1	168	31	6

表 3 不同生长年限猪苓多糖中单糖质量分数

组别	样品编号	质量分数									
		D-阿拉伯糖	D-半乳糖	D-甘露糖	D-果糖	D-核糖	D-木糖	D-葡萄糖	D-葡萄糖醛酸	D-鼠李糖	L-岩藻糖
2 年生	19	0.17	5.97	1.89	0.43	0.34	0.27	122.44	0.36	0.05	0.55
	20	0.46	17.89	8.93	1.91	0.44	1.95	188.38	0.54	0.14	1.33
	21	1.05	12.30	7.91	5.36	0.50	2.19	373.42	2.40	0.15	1.13
	22	1.00	5.05	8.39	2.34	0.62	2.70	286.06	2.34	0.09	0.84
3 年生	27	0.52	1.31	5.04	1.60	0.24	2.27	229.11	4.54	0.04	0.53
	28	0.45	0.95	2.76	0.85	0.29	0.73	143.36	2.13	0.05	0.37
	29	0.52	1.28	3.20	2.15	0.33	0.87	173.40	2.15	0.06	0.26
	30	0.33	1.12	3.05	2.93	0.21	0.87	176.63	1.91	0.04	0.21



注：与2年生猪苓样品比较，* $P < 0.05$ 。

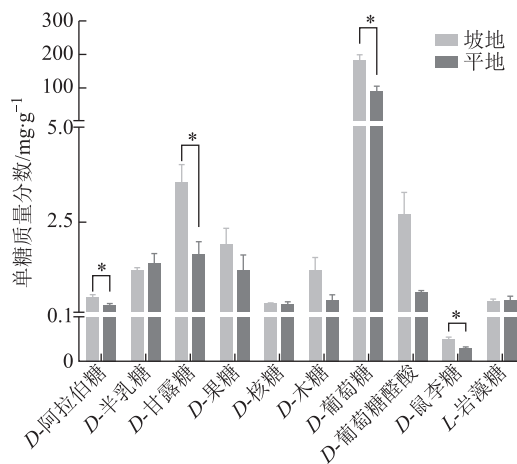
图1 不同生长年限猪苓多糖中各单糖的含量比较

生与3年生样品半乳糖质量分数分别为10.30、1.17 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，3年生样品相较于2年生样品半乳糖质量分数降低了88.6%；木糖质量分数分别为1.78、1.19 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，3年生样品相较于2年生样品木糖质量分数降低了33.1%；鼠李糖质量分数分别为0.11、0.05 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，3年生样品相较于2年生样品鼠李糖质量分数降低了54.5%；岩藻糖质量分数分别为0.96、0.34 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，3年生样品相较于2年生样品岩藻糖质量分数降低了64.6%。2年生猪苓中单糖含量均一定程度高于3年生猪苓，但葡萄糖醛酸含量低于3年生。

3.2 不同种植地势猪苓单糖组成的差异

不同地势种植地猪苓多糖中各单糖含量及比较见图2及表4，供试平地与坡地种植地猪苓样品中阿拉伯糖、甘露糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸及鼠李糖的含量存在显著性差异。实验结果表明，坡地种植样品阿拉伯糖、甘露糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸及鼠李糖

的质量分数分别为0.46、3.51、180.63、2.68、0.05 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ；平地种植样品5种单糖的质量分数分别为0.25、1.56、88.70、0.56、0.03 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。坡地种植猪苓可能有利于核糖、阿拉伯糖等8种单糖组分的积累而有利于半乳糖、岩藻糖的积累，这可能与猪苓喜山坡的生物学特性有关^[9]。



注：与坡地种植猪苓样品比较，* $P < 0.05$ 。

图2 不同地势种植猪苓多糖中各单糖的含量比较

3.3 翻窝与不翻窝猪苓单糖组成的差异

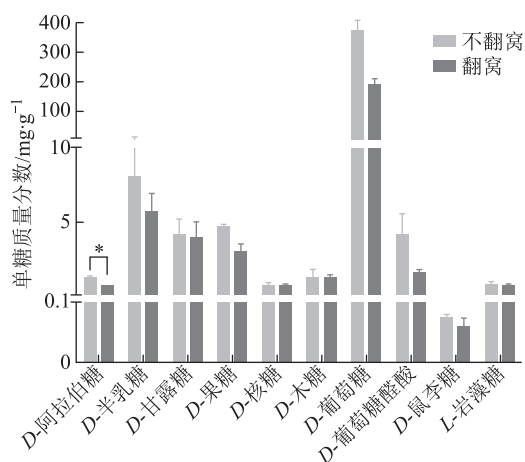
翻窝与不翻窝猪苓多糖中单糖含量及比较见表5及图3，供试翻窝与不翻窝猪苓样品中阿拉伯糖与葡萄糖含量存在显著性差异。翻窝与不翻窝样品阿拉伯糖质量分数分别为0.67、1.13 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，不翻窝为翻窝的1.69倍；葡萄糖质量分数分别为187.17、367.21 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，不翻窝为翻窝的1.96倍。此外，种植过程中不翻窝的猪苓样品中各单糖的含量高于翻窝样品，据此推测，种植过程中翻窝改变了猪苓生长环境从而影响了猪苓单糖的积累。

表4 不同种植地势猪苓多糖中单糖质量分数

组别	样品编号	质量分数									
		D-阿拉伯糖	D-半乳糖	D-甘露糖	D-果糖	D-核糖	D-木糖	D-葡萄糖	D-葡萄糖醛酸	D-鼠李糖	L-岩藻糖
坡地	27	0.52	1.31	5.04	1.60	0.24	2.27	229.11	4.54	0.04	0.53
	28	0.45	0.95	2.76	0.85	0.29	0.73	143.36	2.13	0.05	0.37
	29	0.52	1.28	3.20	2.15	0.33	0.87	173.40	2.15	0.06	0.26
	30	0.33	1.12	3.05	2.93	0.21	0.87	176.63	1.91	0.04	0.21
平地	31	0.18	0.73	2.73	0.23	0.14	0.75	64.01	0.68	0.02	0.14
	32	0.33	1.65	0.90	2.37	0.20	0.21	113.77	0.57	0.01	0.60
	33	0.29	1.98	1.65	1.38	0.51	0.26	120.62	0.43	0.03	0.53
	34	0.19	0.99	0.97	0.61	0.14	0.19	56.38	0.57	0.04	0.21

表 5 翻窝与不翻窝猪苓多糖中单糖质量分数

组别	样品 编号	质量分数									
		D-阿拉伯糖	D-半乳糖	D-甘露糖	D-果糖	D-核糖	D-木糖	D-葡萄糖	D-葡萄糖醛酸	D-鼠李糖	L-岩藻糖
不翻窝	1	1.26	2.25	7.55	5.24	0.29	2.94	276.56	8.20	0.08	0.79
	2	1.12	12.05	2.47	4.92	0.83	0.33	415.15	1.20	0.07	1.03
	3	0.72	4.48	2.62	3.92	0.66	0.80	321.03	1.48	0.06	0.38
	4	1.43	13.21	3.68	4.11	0.93	0.68	456.08	4.88	0.08	0.87
翻窝	9	0.85	4.89	2.97	5.04	0.25	0.87	288.44	1.90	0.04	0.54
	10	0.59	9.99	7.66	2.67	1.15	2.22	148.77	1.69	0.12	1.28
	11	0.53	7.13	4.40	1.45	0.67	1.17	132.68	1.44	0.06	0.56
	12	0.59	3.92	1.28	1.96	0.46	0.21	183.38	0.38	0.02	0.31
	13	0.80	2.67	3.12	3.32	0.20	1.11	182.59	2.03	0.05	0.30



注：与不翻窝猪苓样品比较，* $P < 0.05$ 。

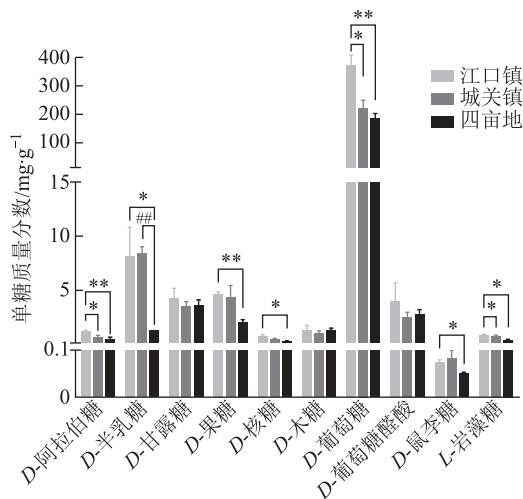
图 3 翻窝与不翻窝猪苓多糖中各单糖的含量比较

3.4 不同种植地点猪苓单糖组成的差异

宁陕地区不同种植地点猪苓多糖中单糖含量及比较见表 6 及图 4。江口镇样品与城关镇样品相比，阿拉伯糖、岩藻糖含量存在显著性差异；江口镇样品与四亩地镇样品相比，阿拉伯糖、半乳糖、核糖、鼠李糖、岩藻糖、果糖和葡萄糖含量具有显著性差异；城关镇与四亩地镇样品相比仅半乳糖含量存在显著性差异。江口镇、城关镇及四亩地镇 3 地样品阿拉伯糖质量分数分别为 1.13、0.67、0.46 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，江口镇为城关镇的 1.68 倍，为四亩地镇的 2.49 倍；半乳糖质量分数分别为 8.00、8.30、1.12 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，江口镇为四亩地镇的 6.86 倍，

表 6 不同种植地点猪苓多糖中单糖质量分数

组别	样品 编号	质量分数									
		D-阿拉伯糖	D-半乳糖	D-甘露糖	D-果糖	D-核糖	D-木糖	D-葡萄糖	D-葡萄糖醛酸	D-鼠李糖	L-岩藻糖
江口	1	1.26	2.25	7.55	5.24	0.29	2.94	276.56	8.20	0.08	0.79
	2	1.12	12.05	2.47	4.92	0.83	0.33	415.15	1.20	0.07	1.03
	3	0.72	4.48	2.62	3.92	0.66	0.80	321.03	1.48	0.06	0.38
	4	1.43	13.21	3.68	4.11	0.93	0.68	456.08	4.88	0.08	0.87
城关	14	0.58	6.82	3.35	8.28	0.21	1.06	278.83	3.89	0.02	0.71
	15	1.02	6.68	1.96	4.74	0.30	0.37	236.83	1.58	0.12	0.41
	6	0.77	10.60	4.94	4.82	0.57	1.77	270.33	3.50	0.13	0.97
	17	0.33	9.26	3.93	1.80	0.61	0.87	123.00	1.36	0.05	0.58
四亩地	18	0.66	8.14	2.80	1.32	0.55	0.56	178.55	1.39	0.06	0.82
	27	0.52	1.31	5.04	1.60	0.24	2.27	229.11	4.54	0.04	0.53
	28	0.45	0.95	2.76	0.85	0.29	0.73	143.36	2.13	0.05	0.37
	29	0.52	1.28	3.20	2.15	0.33	0.87	173.40	2.15	0.06	0.26
	30	0.33	1.12	3.05	2.93	0.21	0.87	176.63	1.91	0.04	0.21



注：与江口镇样品比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与城关镇样品比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

图4 不同种植地点猪苓多糖中各单糖的含量比较

城关镇为四亩地镇的7.12倍；果糖质量分数分别为4.55、4.19、1.88 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，江口镇为四亩地镇的2.41倍；核糖质量分数分别为0.68、0.45、0.27 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，江口镇为四亩地镇的2.53倍；葡萄糖质量分数分别为367.21、217.51、180.63 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，江口镇为城关镇的1.69倍，为四亩地镇的2.03倍；鼠李糖质量分数分别为72.25、74.87、46.08 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ，江口镇为四亩地镇的1.52倍；岩藻糖质量分数分别为0.77、

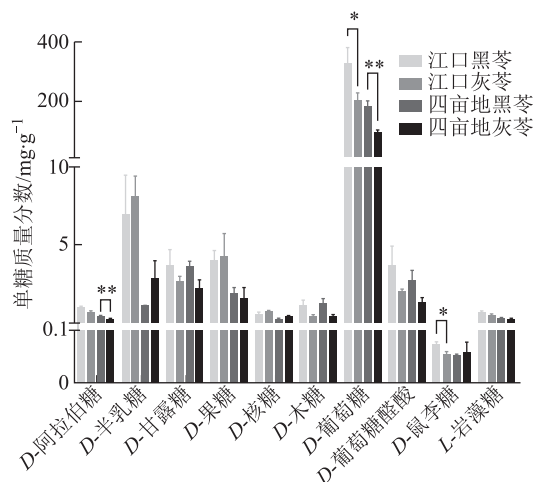
0.70、0.34 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，江口镇为城关镇的1.1倍，为四亩地镇的2.24倍。此外，江口镇猪苓多糖中各单糖含量均高于四亩地镇。

3.5 灰苓与黑苓中单糖组成的差异

灰苓与黑苓多糖中单糖含量及比较见表7及图5，实验选取了江口镇与四亩地镇2个地点的灰苓与黑苓进行了单糖含量比较，结果发现江口镇黑苓与灰苓多糖中葡萄糖含量及鼠李糖含量存在显著性差异，其中葡萄糖质量分数分别为367.21、195.61 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，黑苓为灰苓的1.88倍；鼠李糖质量分数分别为72.25、49.46 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ，黑苓为灰苓的1.4倍。四亩地镇黑苓与灰苓中阿拉伯糖、葡萄糖的含量存在显著性差异，其中阿拉伯糖质量分数分别为0.46、0.23 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，黑苓为灰苓的2倍；葡萄糖质量分数分别为180.63、91.99 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ，黑苓为灰苓的1.96倍。此外，结合两地单糖含量测定结果发现黑苓中阿拉伯糖、甘露糖、木糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸及岩藻糖的含量高于灰苓，而半乳糖、核糖含量则低于灰苓。在猪苓由灰苓时期向黑苓时期转变过程中可能有利于阿拉伯糖等6种单糖的积累，同时半乳糖与核糖有一定的消耗。

表7 灰苓与黑苓多糖中单糖质量分数

组别	样品编号	质量分数									
		D-阿拉伯糖	D-半乳糖	D-甘露糖	D-果糖	D-核糖	D-木糖	D-葡萄糖	D-葡萄糖醛酸	D-鼠李糖	L-岩藻糖
江口黑苓	1	1.26	2.25	7.55	5.24	0.29	2.94	276.56	8.20	0.08	0.79
	2	1.12	12.05	2.47	4.92	0.83	0.33	415.15	1.20	0.07	1.03
	3	0.72	4.48	2.62	3.92	0.66	0.80	321.03	1.48	0.06	0.38
	4	1.43	13.21	3.68	4.11	0.93	0.68	456.08	4.88	0.08	0.87
江口灰苓	5	0.58	7.75	2.15	0.85	0.39	0.41	242.22	2.04	0.05	0.63
	6	0.31	5.40	3.82	1.80	0.68	0.48	103.47	2.09	0.03	0.47
	7	0.94	7.64	2.22	6.48	0.80	0.50	236.45	1.91	0.06	0.61
	8	0.98	11.17	2.26	7.26	1.14	0.31	200.29	2.09	0.06	0.69
四亩地黑	27	0.52	1.31	5.04	1.60	0.24	2.27	229.11	4.54	0.04	0.53
	28	0.45	0.95	2.76	0.85	0.29	0.73	143.36	2.13	0.05	0.37
	29	0.52	1.28	3.20	2.15	0.33	0.87	173.40	2.15	0.06	0.26
	30	0.33	1.12	3.05	2.93	0.21	0.87	176.63	1.91	0.04	0.21
四亩地灰	23	0.26	6.11	2.39	3.83	0.82	0.31	108.24	1.07	0.11	0.44
	24	0.25	2.15	3.65	0.23	0.44	0.85	112.50	2.43	0.03	0.37
	25	0.31	0.91	1.31	1.21	0.10	0.35	94.45	1.07	0.01	0.01
	26	0.09	2.14	1.39	0.89	0.54	0.14	52.75	0.43	0.06	0.24



注：与同产地黑苓比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

图5 灰苓与黑苓多糖中各单糖的含量比较

4 结论与讨论

本实验采用 UPLC-MS/MS 的方法对宁陕地区猪苓单糖组成进行检测。通过与标准品单糖衍生物对比，发现宁陕地区猪苓多糖主要由阿拉伯糖、半乳糖、甘露糖、果糖、核糖、木糖、葡萄糖、葡萄糖醛酸、鼠李糖及岩藻糖 10 种单糖组成，其中葡萄糖所占比例最高。

不同生长年限、不同种植地势、种植过程中是否翻窝、不同种植地点及不同生长时期的猪苓多糖中单糖组成均存在一定的差异。种植过程中翻窝会一定程度降低猪苓中各单糖含量，且阿拉伯糖与葡萄糖含量也发生显著性变化。因此，在猪苓栽培过程中应避免翻窝。除半乳糖、岩藻糖外，其他 8 种单糖在坡地种植猪苓中的含量均高于平地，这与猪苓喜山坡的生物学特性相吻合^[9]。2 年生猪苓中半乳糖、核糖、鼠李糖及岩藻糖含量均显著高于 3 年生猪苓，在 2~5 年生猪苓中多糖含量并非逐年增加^[10]，推测猪苓在不同的生长时期对糖类成分的消耗可能存在差异，但其中机制仍待进一步研究。通过比较灰苓与黑苓单糖组分，发现江口镇二者的葡萄糖与鼠李糖含量存在显著性差异，而四亩地镇则

为葡萄糖与阿拉伯糖含量存在显著性差异。不同种植环境黑苓的单糖组成及含量分析存在一定差异，提示不同种植环境会对猪苓单糖积累产生影响。

在猪苓栽培过程中，发育时期、生长年限、种植地点、种植地势及栽培中是否翻窝对猪苓中单糖组分的含量均造成一定的影响，其中不同种植地点对各单糖组分含量的影响最为明显。因此，进一步研究猪苓中单糖的组分及其变异规律并探究其与产地及指标性成分之间的相关性，可为猪苓种植地区的确定、具体栽培措施的制定、药材产量与质量的提升及品种选育提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015,318.
- [2] 王天媛,张飞飞,任跃英,等. 猪苓化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志,2017,51(4):109-112.
- [3] LI H L, YAN Z, XIONG Q P, et al. Renoprotective effect and mechanism of polysaccharide from *Polyporus umbellatus* sclerotia on renal fibrosis [J]. Carbohydr Polym, 2019, 212:1-10.
- [4] 谭庆龙,周昌园,刘春萍,等. 猪苓多糖对人巨噬细胞形态及免疫功能的影响[J]. 中华中医药杂志,2018,33(5):1891-1896.
- [5] 苑鹤,白燕冰,斯金平,等. 柱前衍生 HPLC 分析铁皮石斛多糖中单糖组成的变异规律[J]. 中国中药杂志, 2011,36(18):2465-2470.
- [6] 段月,刘敦华,李世瑶,等. 不同生长期枸杞多糖变化规律及特性研究[J]. 食品与机械,2016,32(12):55-59.
- [7] 柴雅红,章英才. 宁夏不同地区灵武长枣果实多糖的单糖成分分析[J]. 广西植物,2017,37(9):1187-1194.
- [8] 宋瑞琦,南铁贵,袁媛,等. 不同产地猪苓多糖含量及猪苓多糖中的单糖组成研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(17):3608-3614.
- [9] 李雯瑞,梁宗锁,陈德育. 猪苓生物学特性的研究进展[J]. 西北林学院学报,2012,27(6):60-65.
- [10] 杨海燕,殷莉丽,曾晖,等. 海拔、坡向和年限与猪苓产量、质量相关性研究[J]. 中药与临床,2017,8(2):8-10.

(收稿日期:2019-07-03 编辑:田苗)