

超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法 测定阳荷花苞中的化学成分

罗梦兰¹, 任廷远², 殷明月¹, 董令¹, 郑启健¹, 谢姣^{1*}

(1. 贵州医科大学环境污染与疾病监控教育部重点实验室公共卫生学院, 贵州贵阳 550025)

(2. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵州贵阳 550025)

摘要: 作为药食两用的绿色蔬菜, 阳荷花苞因其特殊的鲜食风味及丰富的营养价值而逐渐被人们所认知。其中, 阳荷鲜食口感有关的营养成分主要包括化学组分糖类、有机酸类、氨基酸和脂肪酸类, 但目前对其组成尚无相关系统研究。以阳荷为材料, 利用 UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS 法分析阳荷糖类、有机酸、氨基酸和脂肪酸组成及相对含量。结果表明: 鉴定了 4 类共计 105 个化学成分, 其中 16 个定性糖类中含量最高的是单糖类即 D-葡萄糖、D-果糖等, 其次为其他糖类和双糖类; 39 个有机酸组分中三羧酸循环过程所涉及的有机酸即异琥珀酸、琥珀酸等相对含量最高, 其次为其他有机酸如壬二酸等; 25 个氨基酸中 9 个必需氨基酸(含组氨酸)相对含量较 16 个非必需氨基酸高; 25 个脂肪酸中 22 个脂肪酸为非饱和脂肪酸(含必需脂肪酸亚油酸和 α -亚麻酸), 其相对含量高于饱和脂肪酸。该研究首次系统阐明阳荷中主要化合物糖类为单糖类、有机酸为三羧酸循环相关有机酸、氨基酸为人体必需氨基酸、脂肪酸为非饱和脂肪酸, 这为其营养价值开发利用提供了相应的参考。

关键词: 阳荷; 高效液相色谱-串联三重四极杆质谱; 化学成分

文章编号: 1673-9078(2022)01-355-363

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.1.0224

The Chemical Components in the Buds of *Zingiber mioga* Roscoe Detected by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Triple Quadrupole Mass Spectrometry

LUO Menglan¹, REN Tingyuan², YIN Mingyue¹, DONG Ling¹, ZHENG Qijian¹, XIE Jiao^{1*}

(1. The Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control, Ministry of Education, School of Public Health, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

(2. School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: As a green vegetable for both medicine and food, the bud of *Zingiber mioga* Roscoe is gradually recognized by people for its special fresh flavor and high nutritional value. Among them, the nutrients related to the taste sensation of fresh *Zingiber mioga* Roscoe mainly include chemical components such as sugars, organic acids, amino acids and fatty acids. However, currently there is no relevant systematic research on its composition above in *Zingiber mioga* Roscoe. Taking *Zingiber mioga* Roscoe as the material, the compositions and relative contents of sugars, organic acids, amino acids and fatty acids of *Zingiber mioga* Roscoe were analyzed by UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS. The

引文格式:

罗梦兰,任廷远,殷明月,等.超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法测定阳荷花苞中的化学成分[J].现代食品科技,2022,38(1):355-363

LUO Menglan, REN Tingyuan, YIN Mingyue, et al. The chemical components in the buds of *Zingiber mioga* Roscoe detected by ultra performance liquid chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(1): 355-363

收稿日期: 2021-03-04

基金项目: 贵州省科技厅项目(黔科合基础[2020]1Y431); 贵州省大学生创新创业训练计划项目(20195200890); 贵州医科大学博士启动基金项目(院博合J字[2018]015号); 贵州省高等学校工程研究中心(黔教合KY字[2021]008)

作者简介: 罗梦兰(1999-),女,本科生,研究方向: 食品卫生与营养学, E-mail: 1093803756@qq.com

通讯作者: 谢姣(1985-),女,博士研究生,研究方向: 食品营养、农产加工及贮藏, E-mail: lxj4516@126.com

results showed that a total of 105 chemical components from 4 groups were identified. Among the 16 qualitative sugars, monosaccharides (D-glucose, D-fructose, etc.) had the highest content, followed by other sugars and disaccharides. Among the 39 organic acids, the relative contents of the organic acids involved in the tricarboxylic acid cycle, namely iso-succinic acid and succinic acid, were the highest, followed by other organic acids such as azelaic acid. The relative contents of 9 essential amino acids (including histidine) in the 25 amino acids were higher than those of the 16 non-essential amino acids. Twenty-two fatty acids in the 25 fatty acids were unsaturated fatty acids (including essential fatty acids, linoleic acid and α -linolenic acid), and their relative contents were higher than those of saturated fatty acids. This study, for the first time, systematically clarifies that the main composition of *Zingiber mioga* Roscoe: monosaccharides for the class of carbohydrates, the tricarboxylic acid cycle-related organic acids for the class of organic acids, essential amino acids for the human body for the class of amino acids, unsaturated fatty acids for the class of fatty acids. The research provides a corresponding reference for the development and utilization of the nutrients in *Zingiber mioga* Roscoe.

Key words: *Zingiber striolatum* Diels; UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS; chemical component

阳荷 (*Zingiber mioga* Roscoe), 又名野姜、山姜、猴姜等, 属姜科姜属多年生草本植物, 是一种药食同源的膳食纤维蔬菜^[1,2]。其中, 阳荷食用部位花苞, 是由阳荷地下根茎发育而长出地面, 主要呈紫红色松果状^[3]。近年来, 随着国民经济的增长以及人们对营养健康的认识逐渐加深, 成熟阳荷花苞不仅因其鲜艳的色泽及独特的辛香气味, 还因这种抗逆性强、适用性广且基本无病虫害并含多种营养物质如糖类、有机酸、氨基酸、脂类等代谢产物逐渐受到人们的关注^[4-9]。

近年来, 有关阳荷的研究主要以野生型为主, 对阳荷花苞中化学成分的研究已见蛋白质、氨基酸、粗脂肪、粗纤维、总糖、可滴定酸、黄酮化合物、多糖类、红色素、皂苷类、生物碱、维生素 C 等营养成分的报道^[4-14]; 另外, galanal A、galanal B、miogadial 已证实为阳荷特征成分^[1,3,7]。阳荷花苞主要以鲜食为主^[10], 而探索影响其鲜食风味品质的相关研究将为正确理解其鲜食风味形成提供重要的理论依据, 目前影响阳荷花苞鲜食风味品质的相关研究未见报道。据报道糖类和有机酸是影响阳荷鲜食口感的 2 种最重要的指标, 糖类可作为合成其他物质过程的重要单体^[11,12], 是合成氨基酸、有机酸、脂类等营养成分的基础^[13]。然而近年来对阳荷中糖类的研究主要集中在部分糖类如蔗糖、果糖、葡萄糖的定性定量上^[4,14,15], 并未对阳荷中存在的其他糖类进行鉴定和分析。另外, 近年来对阳荷中有机酸的研究主要关注在部分氨基酸如亮氨酸、异亮氨酸、天门冬氨酸、谷氨酸等的鉴定上^[5,14], 并未涉及其他有机酸种类。研究 Li 等^[16]绘制的整体代谢网络图发现, 三羧酸循环是部分氨基酸如谷氨酸、精氨酸和丙氨酸合成的上游物质。此外, 三羧酸循环作为重要的循环过程, 可连接糖酵解、氨基酸及脂肪酸生物合成途径^[17,18]。因此, 研究影响阳荷鲜食风味的有机酸种类不仅仅局限于氨基酸, 还应包括三羧酸循环在内的其他有机酸。此外, 据报道氨基酸对风味

品质的形成具有重要影响^[16], 且氨基酸的代谢沟通脂肪酸的生物合成。而脂肪酸是构成脂类的重要成分, 由饱和脂肪酸和不饱和脂肪组成。目前, 对阳荷中脂类的研究仅有粗脂肪的分析^[15], 而对阳荷中脂肪酸种类的定性及定量研究还未见相关报道。

因此, 本研究以阳荷花苞为研究对象, 通过代谢产物常用检测方法 UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS (超高效液相色谱-电喷雾离子源-三重四极杆-线性离子阱质谱, 简称超高效液相色谱-串联三重四极杆质谱法)^[19], 系统分析阳荷中化学成分糖类、有机酸、氨基酸和脂肪酸的种类和相对含量。而目前作为药食两用的蔬菜风味品质研究仅有植物乳杆菌发酵对生姜氨基酸的变化研究^[20], 故研究阳荷鲜食风味品质形成相关化合物即糖类、有机酸、氨基酸和脂肪酸种类和含量, 不仅将为研究其他药食两用蔬菜的鲜食风味品质形成提供思路, 同时也为阳荷作为鲜切蔬菜的质量控制、开发与利用提供相应化学成分层面基础数据的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验样品为花期 50 d 左右的阳荷花苞, 采自贵州省黔东南苗族侗族自治州从江县, 挑选无机械损伤、无病虫害、大小均匀一致的健康花苞, 于室温下洗净, 晾干后立即液氮冷冻后, 存于 -80 °C 冰箱备用。

甲醇, 色谱纯, 德国默克公司; 乙腈, 色谱纯, 德国默克公司; 表 2 中化合物对应标准品, 色谱纯, BioBioPha/WAKO/Sigma-Aldrich 公司。

1.2 仪器与设备

Scientz-100F 冻干机新芝生物有限公司; MM400, Retsch 研磨仪德国莱驰公司; UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS (UPLC, SHIMADZU Nexera X2, 日

本岛津公司; MS/MS, Applied Biosystems 4500 QTRAP, 美国 Applied Biosystems 公司)。

1.3 方法

1.3.1 UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS 样品制备

样品制备参考 Chen 等^[21]方法并加以修改, 经冻干机真空冷冻干燥后的样品于研磨仪(30 Hz, 1.5 min)作用下研磨至粉末状; 称取以上粉末状样品 100 mg, 溶于 1.2 mL 70% 甲醇提取液中, 每 30 min 涡旋 30 s, 共 6 次, 其后样品置于 4 °C 冰箱放置 12 h; 其后样品于 12000 r/min 离心 10 min 后, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤上清液, 并保存于进样瓶中, 供 UPLC-MS/MS 分析, 实验重复 3 次。

1.3.2 UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS 条件

使用 UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS 系统分析 1.2.1 所制备的样品。分析条件如下:

1.3.2.1 UPLC 条件

色谱柱为安捷伦 SB-C18 (2.1 mm×100 mm, 1.8 μm), 流速 0.35 mL/min, 柱温 40 °C, 进样量为 4 μL, 其中流动相 A 相, 超纯水(添 0.1% 甲酸); 流动相 B 相, 乙腈(添 0.1% 甲酸), 样品测量采用梯度洗脱。

表 1 阳荷中化学成分的流动相梯度

Table 1 Flow phase gradient for chemical component in

Zingiber mioga Roscoe

时间/min	流速/(mL/min)	流动相 A/%	流动相 B/%
0	0.35	95	5
9	0.35	5	95
10	0.35	5	95
11	0.35	95	5
14	0.35	95	5

1.3.2.2 ESI-Q TRAP-MS/MS 条件

AB4500QTRAP UPLC/MS/MS 系统配置有 LIT 和三重四极(QQQ)扫描, 该系统配备了 ESI 涡轮离子喷雾接口, 由 Analyst 1.6.3 软件(ABSciex)控制运行正负 2 种离子模式, 其中 ESI 源运行参数为: 电喷雾离子源, 涡轮喷雾; 源温度 550 °C; 离子喷雾电压(IS) 5500 V (正离子模式)/-4500 V (负离子模式); 离子源气体 I (GSI), 气体 II (GSII) 和帘气(CUR) 分别设置为 50、60 和 25.0 psi; 碰撞诱导电离参数设置为高。在 QQQ 和 LIT 模式下, 分别用 10 和 100 μmol/L 聚丙二醇溶液进行仪器调谐和质量校准。QQQ 扫描使用 MRM (多反应检测模式) 模式, 碰撞气体(氮气) 设置为中等。优化 DP (射入电压) 和 CE (碰撞电压), 完成各个 MRM 离子对的 DP 和 CE 参数确定。通过每个时期洗脱的代谢物, 检测每个时期其中一组特定的 MRM 离子对。

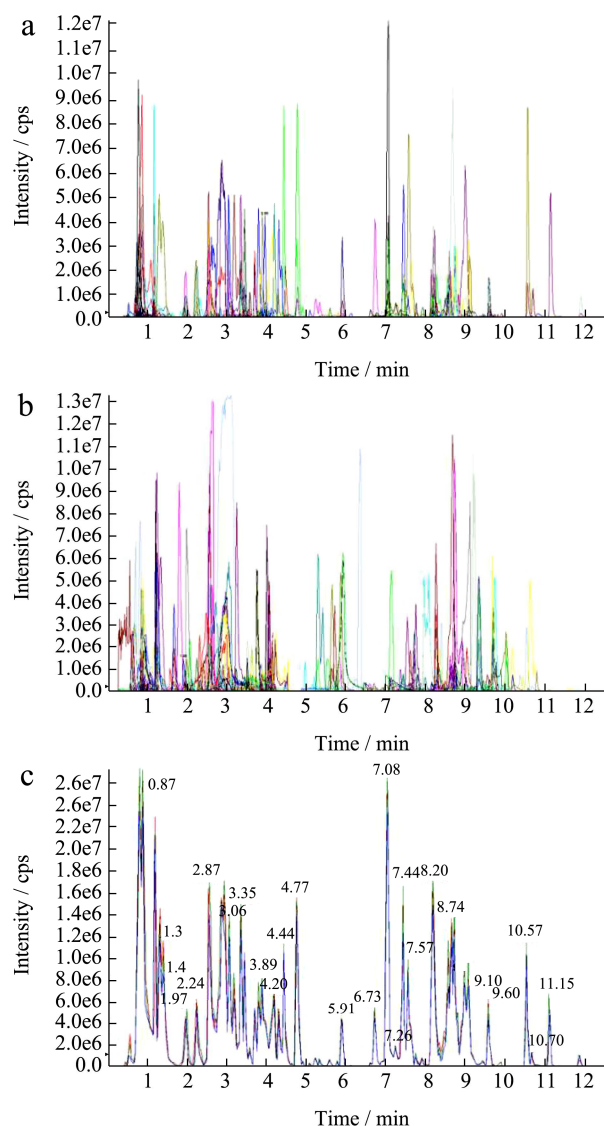
1.3.3 阳荷花苞化学成分的定性

根据二级谱信息以及化学成分标准品进行物质定性, 分析时去除同位素信号, 含 K⁺离子、Na⁺离子、NH₄⁺离子的重复信号以及本身是其他更大分子量物质的碎片离子的重复信号。阳荷花苞中化学成分是利用三重四级杆质谱的 MRM 分析完成, MRM 模式中, 四级杆首先筛选目标物质的母离子, 排除其他分子量物质对应的离子以初步排除干扰, 其后母离子经碰撞室诱导电离后断裂形成碎片离子, 再通过三重四级杆过滤选出所需的一个特征碎片离子, 排除非目标离子干扰。利用软件 Analyst 1.6.3 处理质谱数据, 采用峰面积归一化法测定各化学成分的相对百分含量。

1.4 数据分析与处理

使用 Graphpad Prism 7.0 和 Photoshop 软件绘图, 使用 Graphpad Prism 7.0 进行数据统计。

2 结果与分析



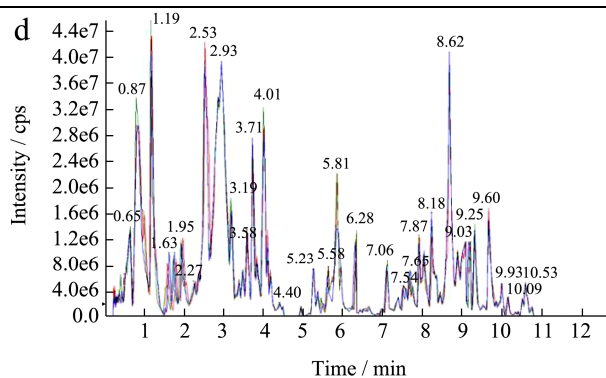


图1 阳荷花苞中化学成分中各组分MRM代谢物多峰图及总离子流图

Fig.1 Total ion current chromatograms of various constituents for chemical component in bud of *Zingiber mioga* Roscoe

注: a、b 图为 MRM 代谢物多峰图, 其中 a 图为负离子模式, b 图为正离子模式; c、d 图为阳荷质谱分析总离子流图, 其中 c 图为负离子模式, d 图为正离子模式。

2.1 阳荷花苞中化学成分的鉴定

阳荷花苞化学成分用 UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS 分析, 根据质谱图参数同数据库母离子分子量、特征碎片离子、DP、CE 以及标准品核对进行化学成分的

鉴定; 其中样品总离子流图 (Total ions current, TIC) 及 MRM 代谢物检测多峰图, 如图 1 所示。表 2~表 5 结果显示, 试验共鉴定了 105 个化学成分, 其中包括了 16 个糖类、39 个有机酸、25 个氨基酸和 25 个脂肪酸。

2.2 阳荷花苞中糖类组分及相对含量分析

如表 2 所示, 对阳荷花苞化学成分中糖类组分进行鉴定分析, 共发现 16 个糖类包括单糖、双糖及其他糖类等。利用面积归一法对这 16 个组分进行相对定量分析, 结果发现相对含量较高的糖类为单糖类如 D-葡萄糖、D-果糖等, 其相对含量占鉴定的 16 个糖类的 79.73%, 而其相对含量依次为含 2.97% 的 D-葡萄糖、2.95% 的 D-果糖等; 其次为其他糖类如葡萄糖-1-磷酸、D-葡萄糖-6 磷酸、D-景天庚酮糖 7-磷酸等, 双糖类如 D-蔗糖、麦芽糖、乳二糖等。以上鉴定到的阳荷单糖即 D-葡萄糖、D-果糖以及双糖如蔗糖同梁帅等^[4]研究中提取的阳荷多糖组分结果一致, 但梁帅等^[4]提取的多糖中含量最高的是蔗糖, 这和结果中鉴定到的糖类含量最高的 D-葡萄糖结果不一致, 这可能是产地等差异引起含糖量高低顺序不一致的原因。

表 2 UPLC-ESI-MS/MS 鉴定的阳荷花苞糖类分析结果

Table 2 Identification of the sugar components in bud of *Zingiber mioga* Roscoe by UPLC-ESI-MS/MS

编号	化合物	相对峰面积/%	定性						
			Q1	Q3	M	分子式	电离模式	RT	Level
1	D-氨基葡萄糖	0.06±0.01	180.09	163.06	179.08	C ₆ H ₁₃ NO ₅	[M+H] ⁺	0.61	B
2	松二糖	0.04±0.00	365.11	203.05	364.08	C ₁₂ H ₂₁ O ₁₁ Na	[M+H] ⁺	0.86	B
3	D-葡萄糖-6-磷酸	0.29±0.01	259.02	97.00	260.03	C ₆ H ₁₃ O ₉ P	[M-H] ⁻	0.69	A
4	D-果糖	2.95±0.14	179.06	59.01	180.06	C ₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	0.76	A
5	麦芽糖	0.14±0.01	341.11	89.02	342.12	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	0.76	A
6	葡萄糖-1-磷酸	0.31±0.01	259.02	97.00	260.03	C ₆ H ₁₃ O ₉ P	[M-H] ⁻	0.78	A
7	D-蔗糖	0.16±0.01	341.11	119.03	342.12	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	0.78	B
8	景天庚酮糖	0.01±0.00	209.07	59.01	210.07	C ₇ H ₁₄ O ₇	[M-H] ⁻	0.79	B
9	D-葡萄糖	2.97±0.17	179.06	59.01	180.06	C ₆ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	0.82	A
10	D-阿拉伯糖	0.06±0.01	149.05	59.01	150.05	C ₅ H ₁₀ O ₅	[M-H] ⁻	0.83	A
11	D-果糖-6-磷酸	0.17±0.01	259.00	97.00	260.03	C ₆ H ₁₃ O ₉ P	[M-H] ⁻	0.97	B
12	乳二糖	0.13±0.01	341.11	89.02	342.12	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	1.01	A
13	核酮糖-5-磷酸	0.03±0.00	229.01	96.97	230.02	C ₅ H ₁₁ O ₈ P	[M-H] ⁻	1.05	B
14	D-乳果糖	0.02±0.00	341.11	89.02	342.12	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	[M-H] ⁻	1.15	A
15	D-景天庚酮糖 7-磷酸	0.12±0.03	289.00	97.00	290.04	C ₇ H ₁₅ O ₁₀ P	[M-H] ⁻	1.08	B
16	D-果糖-1,6-二磷酸	0.04±0.01	339.00	97.00	340.00	C ₆ H ₁₄ O ₁₂ P ₂	[M-H] ⁻	1.22	B

注: Q1: 母离子; Q3: 特征碎片离子; M: 相对分子质量; Level: 物质鉴定类别, A: 样本物质二级质谱、RT (即 Retention time, 保留时间, 单位为 min) 与标准品核对一致; B: 样本物质 Q1、Q3、RT、DP、CE 与标准品核对一致; 相对峰面积, 阳荷花苞中具体化学成分的峰面积与其总化学成分峰面积之和的比值, 以下类同。

表3 UPLC-ESI-MS/MS 鉴定阳荷花苞有机酸分析结果

Table 3 Identification of the organic acids in bud of *Zingiber mioga* Roscoe by UPLC-ESI-MS/MS

编号	化合物	相对峰面积/%	定性						
			Q1	Q3	M	分子式	电离模式	RT	Level
1	反式乌头酸	0.3±0.01	175.02	99.00	174.02	C ₆ H ₆ O ₆	[M+H] ⁺	0.59	B
2	己二烯二酸	0.39±0.01	141.02	59.00	142.03	C ₆ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	0.69	A
3	精氨基琥珀酸	0.01±0.00	289.1	97.10	290.12	C ₁₀ H ₁₈ N ₄ O ₆	[M-H] ⁻	0.69	B
4	葡萄糖酸	0.10±0.01	195.05	74.90	196.06	C ₆ H ₁₂ O ₇	[M-H] ⁻	0.70	B
5	D-蔗糖酸	0.03±0.00	209.03	85.03	210.04	C ₆ H ₁₀ O ₈	[M-H] ⁻	0.72	A
6	D-葡萄糖醛酸	0.01±0.00	193.04	73.00	194.04	C ₆ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	0.72	B
7	D-半乳糖醛酸	0.01±0.00	193.04	72.8	194.03	C ₆ H ₁₀ O ₇	[M-H] ⁻	0.76	B
8	2,2-二甲基琥珀酸	0.02±0.00	145.06	109.04	146.06	C ₆ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	0.83	A
9	D-半乳糖二酸	0.02±0.00	209.03	85.03	210.04	C ₆ H ₁₀ O ₈	[M-H] ⁻	0.86	B
10	柠檬酸	1.54±0.09	191.02	111.01	192.03	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	0.88	A
11	D-木糖酸	0.73±0.01	165.04	75.00	166.05	C ₅ H ₁₀ O ₆	[M-H] ⁻	0.95	A
12	L-苹果酸	7.80±0.16	133.01	71.01	134.02	C ₄ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	0.97	A
13	6-磷酸葡萄糖酸	0.15±0.01	289.00	97.00	290.00	C ₆ H ₁₁ O ₁₁ P	[M-H] ⁻	1.09	B
14	磷酸烯醇式丙酮酸	0.05±0.00	166.98	78.70	167.98	C ₃ H ₅ O ₆ P	[M-H] ⁻	1.09	B
15	4-羟基-2-酮戊二酸	0.01±0.00	161.00	73.00	162.02	C ₅ H ₆ O ₆	[M-H] ⁻	1.11	B
16	延胡索酸	0.05±0.02	115.00	71.00	116.01	C ₄ H ₄ O ₄	[M-H] ⁻	1.11	B
17	α-酮戊二酸	0.06±0.01	145.01	101.00	146.02	C ₅ H ₆ O ₅	[M-H] ⁻	1.13	B
18	奎宁酸	1.29±0.10	191.06	85.00	192.06	C ₇ H ₁₂ O ₆	[M-H] ⁻	1.13	A
19	2-氧代己二酸	0.30±0.00	159.10	87.00	160.04	C ₆ H ₈ O ₅	[M-H] ⁻	1.17	B
20	3-羟基丙酸	0.01±0.00	89.00	59.00	90.03	C ₃ H ₆ O ₃	[M-H] ⁻	1.19	B
21	缩苹果酸	0.40±0.03	103.00	59.00	104.06	C ₃ H ₄ O ₄	[M-H] ⁻	1.23	A
22	异柠檬酸	3.08±0.24	191.02	111.01	192.03	C ₆ H ₈ O ₇	[M-H] ⁻	1.27	A
23	琥珀酸	7.82±0.08	117.02	73.00	118.03	C ₄ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	1.31	A
24	异琥珀酸	8.15±0.14	117.02	73.00	118.03	C ₄ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	1.32	A
25	氨基丙二酸	0.31±0.01	118.00	74.00	119.02	C ₃ H ₅ NO ₄	[M-H] ⁻	1.32	A
26	琥珀酸酐	0.11±0.01	101.02	55.02	100.02	C ₄ H ₄ O ₃	[M+H] ⁺	1.35	B
27	3-羟基丁酸	0.30±0.03	103.04	59.10	104.05	C ₄ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	1.39	A
28	柠康酸	0.06±0.01	129.02	85.00	130.03	C ₅ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	1.65	B
29	乙基丙二酸	0.01±0.00	131.03	69.03	132.04	C ₅ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	1.89	A
30	戊二酸	0.43±0.01	131.03	87.05	132.04	C ₅ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	1.90	A
31	3-甲基-2-氧代-丁酸	0.30±0.00	115.04	71.00	116.05	C ₅ H ₈ O ₃	[M-H] ⁻	1.99	B
32	焦酒石酸	0.44±0.02	131.03	87.05	132.04	C ₅ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	2.08	A
33	β-羟基异戊酸	0.40±0.00	117.06	59.00	118.06	C ₅ H ₁₀ O ₃	[M-H] ⁻	2.09	B
34	二甲基丙二酸	0.07±0.00	131.03	87.05	132.04	C ₅ H ₈ O ₄	[M-H] ⁻	2.12	A
35	2-甲基戊二酸	0.01±0.00	145.05	101.00	146.06	C ₆ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	2.63	A
36	焦儿茶酸	0.35±0.01	153.02	109.03	154.03	C ₇ H ₆ O ₄	[M-H] ⁻	2.64	B
37	2-异丙基苹果酸	0.12±0.01	175.06	115.00	176.07	C ₇ H ₁₂ O ₅	[M-H] ⁻	2.74	B
38	2-羟基异己酸	0.28±0.01	131.07	85.00	132.08	C ₆ H ₁₂ O ₃	[M-H] ⁻	3.51	B
39	壬二酸	2.59±0.13	187.10	125.00	188.11	C ₉ H ₁₆ O ₄	[M-H] ⁻	4.43	A

表4 UPLC-ESI-MS/MS 鉴定阳荷花苞氨基酸分析结果

Table 4 Identification of the amino acids in bud of *Zingiber mioga* Roscoe by UPLC-ESI-MS/MS

编号	化合物	相对峰面积/%	定性						
			Q1	Q3	M	分子式	电离模式	RT	Level
1	L-谷氨酰胺	3.93±0.02	147.08	84.00	146.07	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	[M+H] ⁺	0.68	A
2	L-赖氨酸*	3.93±0.05	147.11	84.00	146.11	C ₆ H ₁₄ N ₂ O ₂	[M+H] ⁺	0.68	A
3	L-组氨酸*	0.42±0.07	156.08	110.00	155.07	C ₆ H ₉ N ₃ O ₂	[M+H] ⁺	0.68	B
4	高精氨酸	0.05±0.00	189.13	144.00	188.13	C ₇ H ₁₆ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	0.68	B
5	环亮氨酸	0.06±0.00	130.09	84.08	129.08	C ₆ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	0.70	A
6	L-酵母氨酸	0.01±0.00	275.00	257.00	276.13	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₆	[M-H] ⁻	0.71	B
7	L-天冬氨酸	1.50±0.12	132.03	88.00	133.04	C ₄ H ₇ NO ₄	[M-H] ⁻	0.71	A
8	L-精氨酸	5.78±0.37	175.12	116.00	174.11	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	[M+H] ⁺	0.73	A
9	L-天冬酰胺	0.11±0.02	133.06	74.00	132.05	C ₄ H ₈ N ₂ O ₃	[M+H] ⁺	0.74	B
10	L-丝氨酸	0.07±0.01	106.00	60.00	105.04	C ₃ H ₇ NO ₃	[M+H] ⁺	0.74	B
11	L-瓜氨酸	0.07±0.01	176.10	113.00	175.10	C ₆ H ₁₃ N ₃ O ₃	[M+H] ⁺	0.76	B
12	L-脯氨酸	0.11±0.02	116.07	70.10	115.06	C ₅ H ₉ NO ₂	[M+H] ⁺	0.79	A
13	L-苏氨酸*	0.16±0.03	120.07	74.00	119.06	C ₄ H ₉ NO ₃	[M+H] ⁺	0.81	A
14	L-高胱氨酸	0.02±0.00	269.06	136.00	268.06	C ₈ H ₁₆ N ₂ O ₄ S ₂	[M+H] ⁺	0.81	B
15	L-高瓜氨酸	0.01±0.00	190.12	127.00	189.11	C ₇ H ₁₅ N ₃ O ₃	[M+H] ⁺	0.83	B
16	L-谷氨酸	0.35±0.05	148.06	84.00	147.05	C ₅ H ₉ NO ₄	[M+H] ⁺	0.83	A
17	L-缬氨酸*	2.52±0.21	118.09	72.10	117.08	C ₅ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	0.84	A
18	L-别异亮氨酸	0.28±0.03	132.00	86.00	131.10	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	0.87	B
19	L-酪氨酸	0.54±0.06	182.08	136.10	181.07	C ₉ H ₁₁ NO ₃	[M+H] ⁺	1.13	A
20	L-甲硫氨酸*	2.37±0.36	150.06	61.00	149.05	C ₅ H ₁₁ NO ₂ S	[M+H] ⁺	1.18	A
21	L-亮氨酸*	1.56±0.10	132.10	86.20	131.10	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	1.20	A
22	L-异亮氨酸*	1.59±0.09	132.10	86.00	131.10	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	1.23	A
23	L-正亮氨酸	1.59±0.10	132.10	86.00	131.10	C ₆ H ₁₃ NO ₂	[M+H] ⁺	1.35	A
24	L-苯丙氨酸*	0.32±0.01	166.09	120.08	165.07	C ₉ H ₁₁ NO ₂	[M+H] ⁺	1.94	A
25	L-色氨酸*	3.83±0.06	203.08	116.05	204.09	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	[M-H] ⁻	2.47	A

注：化合物列中*表示必需氨基酸。

2.3 阳荷花苞中有机酸组分及相对含量分析

如表3所示,对阳荷花苞中化学成分有机酸组分进行鉴定分析,共发现39个有机酸,包括三羧酸循环所涉及的有机酸及其衍生物等。利用面积归一法对这39个组分进行相对定量分析,结果发现相对含量较高为三羧酸循环过程所涉及的有机酸,如含8.15%异琥珀酸、7.82%琥珀酸、7.80%L-苹果酸、3.08%异柠檬酸、1.54%柠檬酸等,其相对含量占鉴定的39个有机酸的75.86%,其次为其他有机酸如壬二酸、奎宁酸、D-木糖酸、焦酒石酸、戊二酸等。其中,以上结果中阳荷的鉴定中含有机酸类物质,同样地朱仁威等^[15]研究发现铜仁阳荷中可滴定酸含量达0.26%,表示其含有机酸类(包括柠檬酸),说明阳荷花苞中含有机酸物质与朱仁威等^[15]研究结果一致。

2.4 阳荷花苞中氨基酸组分及相对含量分析

如表4所示,对阳荷中化学成分氨基酸进行鉴定分析,共发现25个氨基酸,包括9个必需氨基酸(即必需氨基酸指的是人体自身不能合成或合成速度不能满足人体需要,必须从食物中摄取的氨基酸,主要包括8种必需氨基酸加1种婴儿必需氨基酸即组氨酸)和16个非必需氨基酸等,其中本研究中阳荷花苞的必需氨基酸种类较朱仁威等^[15]研究铜仁阳荷结果中必需氨基酸多1种即色氨酸。利用面积归一法对25个氨基酸进行相对定量,结果发现其含量较高的为必需氨基酸,如L-赖氨酸、L-色氨酸、L-缬氨酸、L-甲硫氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸、L-组氨酸、L-苯丙氨酸、L-苏氨酸,其相对含量占以上定性氨基酸的53.56%,其次为其他非必需氨基酸如L-精氨酸、L-谷氨酰胺、

L-正亮氨酸、L-天冬氨酸、L-酪氨酸、L-谷氨酸等。以上结果中阳荷花苞鉴定到氨基酸种类(25个)较其他研究多(≤ 18 个),如朱仁威等^[15]研究铜仁阳荷花苞氨基酸种类为17种,张成程等^[5]研究来凤县阳荷花苞氨基酸种类为18种;此外,本试验含量最高的为必需氨基酸,这同张成程等^[5]研究阳荷中非必需氨基酸含量高于必需氨基酸的结果不一致,这可能是样品产地不同所致,同时非必需氨基酸中含量最高的是精氨酸,这与张成程等^[5]研究结果一致。与药食两用蔬菜生姜相比^[20,22,23],阳荷花苞中L-谷氨酰胺、高精氨酸、环亮氨酸、L-酵母氨酸、L-精氨酸、L-天冬酰胺、L-瓜氨酸、L-高胱氨酸、L-高瓜氨酸、L-别异亮氨酸、L-正亮氨酸、L-色氨酸为其特有氨基酸,其中L-色氨酸为必需氨基酸,L-瓜氨酸是一种具有极其重要的生理功

能的非蛋白质氨基酸^[24]。

2.5 阳荷花苞中脂肪酸组分及相对含量分析

如表5所示,对阳荷中化学成分脂肪酸组分进行鉴定分析,共发现25个脂肪酸,包括3个饱和脂肪酸和22个非饱和脂肪酸。利用面积归一法对这25个组分进行相对定量分析,结果发现相对含量较高的为非饱和脂肪酸(包括必需脂肪酸即亚油酸和 α -亚麻酸),如 γ -亚麻酸、9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸、亚油酸、反油酸、 α -亚麻酸等,其相对含量占定性脂肪酸的70.00%,其次为3个饱和脂肪酸如硬脂酸、肉豆蔻酸和十一烷酸,其中本研究鉴定的亚油酸、 γ -亚麻酸和 α -亚麻酸和与严小红等^[25]研究结果中亚油酸和亚麻酸是姜科属常见成分的结论一致。

表5 UPLC-ESI-MS/MS 鉴定阳荷花苞脂肪酸分析结果

Table 5 Identification of the fatty acids in bud of *Zingiber mioga* Roscoe by UPLC-ESI-MS/MS

编号	化合物	相对峰面积/%	定性						
			Q1	Q3	M	分子式	电离模式	RT	Level
1	9,10,13-三羟基-11-十八碳烯酸	4.48±0.15	329.23	229.15	330.24	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	[M-H] ⁻	5.91	A
2	9,10,11-三羟基-12-十八碳烯酸	0.28±0.02	329.23	311.23	330.24	C ₁₈ H ₃₄ O ₅	[M-H] ⁻	5.96	A
3	9-羟基过氧-10E,12,15Z-十八碳三烯酸	0.01±0.00	309.21	209.10	310.10	C ₁₈ H ₃₀ O ₄	[M-H] ⁻	7.50	A
4	13-羟基-6,9,11-十八碳三烯酸	0.01±0.00	293.21	193.10	294.22	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	[M-H] ⁻	7.77	A
5	13-氢过氧化-9,11-十八碳二烯酸	0.12±0.00	311.10	171.30	312.23	C ₁₈ H ₃₂ O ₄	[M-H] ⁻	7.82	A
6	9S-羟基-10E,12Z-十八碳二烯酸	0.13±0.01	295.23	195.14	296.24	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	9.03	A
7	13-羟基十八烷基-9,11-二烯酸	0.13±0.01	295.23	195.14	296.24	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	9.08	A
8	9-过氧-10E,12Z-十八碳二烯酸	0.01±0.00	293.21	275.10	294.22	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	[M-H] ⁻	9.12	A
9	十一烷酸	0.08±0.01	185.15	185.16	186.16	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	[M-H] ⁻	9.14	A
10	9-羟基-10,12,15-十八碳三烯酸	0.01±0.00	293.21	235.17	294.22	C ₁₈ H ₃₀ O ₃	[M-H] ⁻	9.20	A
11	12S-羟基-5Z,8Z,10E,14Z-二十碳四烯酸	0.03±0.00	319.23	257.23	320.24	C ₂₀ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	9.24	A
12	12,13-环氧-9-十八碳烯酸	0.08±0.01	295.23	195.20	296.24	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	9.7	A
13	9,10-环氧十八烯酸	0.07±0.01	295.23	171.10	296.24	C ₁₈ H ₃₂ O ₃	[M-H] ⁻	9.84	A
14	3-羟基十八烷酸	0.01±0.00	299.26	299.26	300.27	C ₁₈ H ₃₆ O ₃	[M-H] ⁻	10.15	A
15	α -亚麻酸	0.84±0.10	277.22	277.22	278.23	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	[M-H] ⁻	10.66	A
16	γ -亚麻酸	5.40±0.43	277.22	277.22	278.23	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	[M-H] ⁻	10.78	A
17	硬脂酸	6.61±1.66	283.26	283.26	284.27	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	[M-H] ⁻	10.82	A
18	肉豆蔻酸	0.62±0.08	227.20	227.20	228.21	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	[M-H] ⁻	10.85	A
19	二十碳烯酸	0.05±0.01	309.28	309.28	310.29	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	[M-H] ⁻	11.01	A
20	亚油酸	3.20±0.40	279.23	279.23	280.24	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	11.24	A
21	十五烷酸	0.01±0.00	241.22	241.22	242.23	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	[M-H] ⁻	11.38	A
22	10-十七碳烯酸	0.09±0.00	267.23	267.23	268.24	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	[M-H] ⁻	11.47	A
23	11-十八碳烯酸	0.27±0.04	281.25	281.25	282.26	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	[M-H] ⁻	11.90	A
24	二十碳二烯酸	0.02±0.00	307.26	307.30	308.27	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	[M-H] ⁻	12.09	A
25	反油酸	0.99±0.08	281.25	281.25	282.26	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	[M-H] ⁻	12.11	A

3 结论

本研究利用 UPLC-ESI-Q TRAP-MS/MS 分析阳荷化学成分,结果显示阳荷花苞中共鉴定了包括糖类、有机酸、氨基酸和脂肪酸在内的 4 类共 105 个化学成分。其中,糖类组分共鉴定了 16 个,利用面积归一法对其进行相对定量,含量最高的为单糖类,依次为 D-葡萄糖、D-果糖、D-阿拉伯糖等,其次为其他糖类和双糖类;共鉴定了 39 个有机酸组分,而三羧酸循环过程所涉及的有机酸如异琥珀酸、琥珀酸、L-苹果酸、异柠檬酸、柠檬酸等相对含量最高,其次为其他有机酸如壬二酸、奎宁酸、D-木糖酸等;共发现 25 个氨基酸,其中 9 个必需氨基酸(含组氨酸)相对含量较 16 个非必需氨基酸高;共鉴定了 25 个脂肪酸,其中 22 个脂肪酸为非饱和脂肪酸(包含必需脂肪酸亚油酸和 α -亚麻酸),其相对含量高于饱和脂肪酸。综上,与药食两用蔬菜生姜相比,阳荷花苞中特有氨基酸为 L-谷氨酰胺、高精氨酸、环亮氨酸、L-瓜氨酸、L-色氨酸等 12 种,其中包括了必需氨基酸 L-色氨酸及活性氨基酸 L-瓜氨酸。本研究首次系统揭示了阳荷中化学成分糖类、有机酸、氨基酸和脂肪酸组成,其中包含了人体所需的 9 种必需氨基酸和 2 种必需脂肪酸,这为人们正确认识阳荷的营养价值提供参考,并为阳荷鲜食风味形成理论奠定基础。

参考文献

- [1] Lee D H, Ahn J, Jang Y J, et al. *Zingiber mioga* reduces weight gain, insulin resistance and hepatic gluconeogenesis in diet-induced obese mice [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2016, 12(1): 369-376
- [2] 胡志明.三种药用植物抗菌活性研究[D].甘肃:兰州理工大学,2012
HU Zhiming. Studies on antibacterial activities of three medicinal plants [D]. Gansu: Lanzhou University of Technology, 2012
- [3] Abe M, Ozawa Y, Uda Y, et al. A novel labdane-type trialdehyde from myoga (*Zingiber mioga* Roscoe) that potently inhibits human platelet aggregation and human 5-lipoxygenase [J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2006, 70(10): 2494-2500
- [4] 梁帅,郑尧,邓鑫,等.阳荷主要化学组分分析与抗菌活性评价研究[J].中南民族大学学报(自然科学学报),2020,5:493-499
LIANG Shuai, ZHENG Yao, DENG Xin, et al. Study on main chemical components and antibacterial activity of *Zingiber striolatum* [J]. *Journal of South-Central University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 2020, 5: 493-499
- [5] 张成程,张新欣,江念,等.阳荷氨基酸组成分析与营养价值评价[J].湖北名族学院学报(自然科学版),2014,32(4):380-383
ZHANG Chengcheng, ZHANG Xinxin, JIANG Nian, et al. Analysis of amino acid composition and evaluation of nutritional value of *Zingiber striolatum* Diels [J]. *Journal of Hubei University for Nationalities (Natural Science Edition)*, 2014, 32(4): 380-383
- [6] 中国科学院昆明植物研究所.云南植物志[M].昆明:科学出版社,1997:540
Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences. *Flora of Yunnan* [M]. Kunming: Science Press, 1997: 540
- [7] Jeong G S, Im S I, Jung B M. Comparison of nutritional constituents of native Yangha (*Zingiber mioga*) in Yeosu and Cheju area [J]. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 2005, 37(5): 713-716
- [8] ZHU Feng, CHEN Jiajing, XIAO Xue, et al. Salicylic acid treatment reduces the rot of postharvest citrus fruit by inducing the accumulation of H₂O₂, primary metabolites and lipophilic polymethoxylated flavones [J]. *Food Chemistry*, 2016, 207: 68-74
- [9] 余龙江,赵春芳.次生代谢产物生物合成-原理与应用[M].北京:化学工业出版社,2017:128
YU Longjiang, ZHAO Chunfang. *Biosynthesis of Secondary Metabolites-principles and Applications* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2017: 128
- [10] 唐清苗,颜佳,吴子佳,等.襄荷的营养保健功能及加工现状[J].农产品加工,2019,487(9):89-92
TANG Qingmiao, YAN Jia, WU Zijia, et al. Nutritional & healthy function and processing status of *Zingiber mioga* Rosc [J]. *Farm Products Processing*, 2019, 487(9): 89-92
- [11] Wingler A, Masclaux Daubresse C, Fischer A. Sugars, senescence, and ageing in plants and heterotrophic organisms [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60(4): 1063-1066
- [12] Ruan Y L. Sucrose metabolism: gateway to diverse carbon use and sugar signaling [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2014, 65: 33-67
- [13] 张上隆,陈昆松.果实品质形成与调控的分子生理[M].北京:中国农业出版社,2007:172
ZHANG Shanglong, CHEN Kunsong. *The Molecular Physiology of Fruit Quality Formation and Regulation* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007: 172
- [14] 郝南明,赵保发,胡国海,等.阳荷的化学成分的研究[J].文山

- 师范高等专科学校学报,2004,17(4):379,381
- HAO Nanming, ZHAO Baofa, HU Guohai, et al. Study on chemical constituents from *Zingiber strioatum* [J]. Journal of Wenshan Teacher's College, 2004, 17(4): 379, 381
- [15] 朱仁威, 郭晨晨, 李丽, 等. 铜仁阳荷营养成分测定与分析[J]. 铜仁学院学报, 2018, 20(9): 11-14
- ZHU Renwei, WU Chenchen, LI Li, et al. Determination and analysis of the nutritional components of *Tongren striolatum* [J]. Journal of Tongren University, 2018, 20(9): 11-14
- [16] LI Zhou, YU Jingjin, PENG Yan, et al. Metabolic pathways regulated by abscisic acid, salicylic acid and γ -aminobutyric acid in association with improved drought tolerance in creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*) [J]. Physiologia Plantarum, 2017, 159(1): 42-58
- [17] SHENG Ling, SHEN Dandan, YANG Wei, et al. GABA pathway rate-limit citrate degradation in postharvest citrus fruit evidence from HB pumelo (*Citrus grandis*) \times fairchild (*Citrus reticulata*) hybrid population [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, 65(8): 1669-1676
- [18] Rafael D P A, Carlos E F, Lio L M, et al. NMR-based metabolomics of transgenic and non-transgenic sweet orange reveals different responses in primary metabolism during citrus canker development [J]. Metabolomics, 2017, 13(2): 20
- [19] 李晓伟. 基于高通量转录组测序与植物代谢组学技术研究远志皂苷生物合成途径[D]. 山西: 山西大学, 2014
- LI Xiaowei. Study on high-throughput sequencing-based transcriptome and plant metabolomics in triterpenoid saponins biosynthetic pathway of *Polygala tenuifolia* [D]. Shangxi: Shanxi University of Technology, 2014
- [20] 李萍. 植物乳杆菌发酵对生姜品质及功能影响的研究[D]. 江西: 南昌大学, 2014
- LI Ping. Effect of *Lactobacillus plantarum* fermentation on the quality and function of ginger [D]. Jiangxi: Nanchang University, 2014
- [21] CHEN Wei, GONG Liang, GUO Zilong, et al. A novel integrated method for large-scale detection, identification, and quantification of widely targeted metabolites: application in the study of rice metabolomics [J]. Molecular Plant, 2013, 6(6): 1769-1780
- [22] 鲁焯. 生姜的食疗价值及在烹调中的运用[J]. 江苏调味副食品, 2020, 163(4): 9-12
- LU Xuan. Study on the therapeutic value of ginger and its application in cooking [J]. Jiangsu Condiment and Subsidiary Food, 2020, 163(4): 9-12
- [23] 李佳琪. 仔姜、老姜化学成分含量及保肝作用研究[D]. 吉林: 吉林农业大学, 2014
- LI Jiaqi. The research of the content of chemical components and hepatoprotective effect of young ginger and old ginger [D]. Jilin: Jilin Agricultural University, 2014
- [24] 李蒙蒙. 西瓜种质资源瓜氨酸含量分析评价与合成途径关键酶基因的研究[D]. 郑州: 中国农业科学院, 2017
- LI Mengmeng. The evaluation and analysis of citrulline content in watermelon germplasm resources and study of key genes in citrulline biosynthesis [D]. Zhengzhou: Chinese Academy of Agricultural Science, 2017
- [25] 严小红, 张凤仙, 谢海辉, 等. 木姜子属化学成分研究概况[J]. 热带亚热带植物学报, 2000, 8(2): 171-176
- YAN Xiaohong, ZHANG Fengxian, XIE Haihui, et al. A review of the studies on chemical constituents from *Litsea lam* [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2000, 8(2): 171-176

(上接第 35 页)

- [28] Zhong J C, Zhang S M, Zhang L G, et al. Fine epitope mapping of a human disulphide-stabilized diabody against fibroblast growth factor-2 [J]. Journal of Biochemistry, 2019, 165(6): 487-495
- [29] Farras M, Roman R, Camps M, et al. Heavy chain dimers stabilized by disulfide bonds are required to promote in vitro assembly of trastuzumab [J]. BMC Molecular and Cell Biology, 2020, 21(1): 2
- [30] Zhang S M, Huang J H, Zhang L G, et al. Fermentation, purification, and tumor inhibition of a disulfide-stabilized diabody against fibroblast growth factor-2 [J]. Frontiers in Oncology, 2021, 11: 585457
- [31] Koromyslova A D, Morozov V A, Hefele L, et al. Human Norovirus neutralized by a monoclonal antibody targeting the histo-blood group antigen pocket [J]. Journal Of Virology, 2019, 93(5): e02174-18