

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВМІСТУ ВУГЛЕВОДІВ У СИРОВИНІ ДЕЯКИХ ВИДІВ РОДУ *ELSHOLTZIA* *Willd.*

Зоценко Л.О.<sup>1</sup>, Кисличенко В.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Державна лабораторія з контролю якості  
лікарських засобів,

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН  
України», м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Національний фармацевтичний  
університет, м. Харків, Україна

### Вступ

Вуглеводи відіграють важливу роль в життєдіяльності рослин: вони є структурними речовинами (клітковина, геміцелюлоза, пектин), беруть безпосередню участь в обміні речовин (крохмаль, інулін, цукри), є одними з основних джерел енергії.

Полісахариди – полімерні високомолекулярні вуглеводи, які широко використовуються у фармацевтичній та медичній практиці [1]. Даний клас природних сполук виявляє обволікаючу, пом'якшувальну, протизапальну, ранозагоювальну дію та застосовується при захворюваннях носоглотки, бронхітах, захворюваннях кишечника. Встановлено, що деякі полісахариди підвищують імунітет, володіють кровоспинними властивостями та проявляють детоксикаційну, антибіотичну, протипухлинну, антисклеротичну активності [2-5]. Розчини декстрану використовують як заміники плазми крові. Багато полісахаридів є допоміжними речовинами у фармацевтичному виробництві [6]. Тому пошук нових перспективних рослинних джерел полісахаридів є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки.

Рослини роду *Elsholtzia* (*Lamiaceae*), зокрема однорічної ельшольції в'їчної (*Elsholtzia cilata* Thun.) та багаторічної ельшольції Стаунтона (*Elsholtzia stauntonii* Benth.), широко застосовуються в традиційній медицині Сходу та проявляють широкий спектр фармакологічної дії. Але комплексного дослідження вуглеводів у рослинах даного роду не проводилось [7]. Тому доцільним було вивчення вуглеводів у сировині представників роду *Elsholtzia*.

### Мета

Мета досліджень – порівняльне вивчення вуглеводів у ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона трави, листі, суцвіттях і стеблах.

### Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона трава, листя, суцвіття та стебла, заготовлені у фазу цвітіння рослин у Київській області у серпні-вересні 2018-2019 років.

Для виявлення полісахаридів в досліджуваній сировині використовували реакцію з 96% етанолом, яку

проводили у водних витяжках з досліджуваних видів сировини.

Кількісне визначення загального вмісту полісахаридів проводили за методикою ДФУ 2.0 т. 3 монографії «Подорожника великого листа»<sup>N</sup> гравіметричним методом [8]. Для вилучення полісахаридів сировину екстрагували водою очищеною у співвідношенні сировина-екстрагент (1:13). Екстракцію повторювали тричі новими порціями екстрагенту (2 рази – по 50 мл, 1 раз – 25 мл). Осадженні полісахаридів із водних витяжок здійснювали двократним об'ємом 96% етанолу. Осад кількісно переносили на фільтр за допомогою 15 мл суміші вода – 96% етанол (1:2) і послідовно промивали 10 мл 96% етанолу, 15 мл ацетону, 15 мл етилацетату. Фільтр з осадом висушували на повітрі, а потім до постійної маси за температури 100-105°C і зважували.

Вміст суми водорозчинних полісахаридів (X, %), у перерахунку на абсолютно суху сировину, розраховували за формулою :

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}$$

де:

$m_1$  – маса з осадом, г;

$m_2$  – маса фільтра, г;

$m$  – маса наважки досліджуваної сировини, г;

$W$  – втрата в масі при висушуванні сировини, %

[9-10].

Для виділення полісахаридних фракцій нами була використана методика послідовної фракційної екстракції полісахаридів Бейлі. За допомогою цієї методики полісахаридні комплекси були розділені на фракції, що містять водорозчинні полісахариди (ВРПС), пектинові речовини (ПР), геміцелюлози А і Б (ГЦ А і ГЦ Б). Кількісний вміст кожної фракції полісахаридів визначали гравіметричним методом. Для визначення фракцій полісахаридів висушену сировину здрибнювали до порошку (сито 750) та знежирювали хлороформом в апараті Соскслета до знебарвлення розчинника. Для вилучення спирторозчинних сполук висушений шрот екстрагували 82% етанолом при кімнатній температурі у співвідношенні сировина-екстрагент (1:10) протягом 2 год. Екстракцію повторювали ще раз тим же екстрагентом [11].

Для виділення фракції ВРПС висушений шрот екстрагували водою очищеною у співвідношенні сировина-екстрагент (1:10) при нагріванні на водяній бані протягом 1 год при постійному перемішуванні. Екстракцію повторювали ще раз в описаних вище умовах. Одержані витяжки об'єднували і випаровували до 1/5 від початкового об'єму. ВРПС осаджували трикратним об'ємом 96% етанолу при кімнатній температурі. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали 96% етанолом, етилацетатом, висушували до постійної маси і зважували.

Зі шроту, що залишився після одержання ВРПС, виділяли ПР. Екстракцію проводили двічі сумішшю 0,5% розчинів кислоти щавлевої та амонію оксалату (1:1) у співвідношенні сировина-екстрагент 1:20 при нагріванні за температури 80-85 °С протягом 2 год. Одержані екстракти об'єднували, концентрували та ПР осаджували трикратним об'ємом 96% етанолу. Одержаний осад відфільтровували, промивали етанолом, етилацетатом, висушували до постійної маси та зважували.

ГЦ вилучали зі шроту, що залишився після виділення ВРПС та ПР, дворазовою екстракцією 7% розчином натрію гідроксиду у співвідношенні сировина-екстрагент (1:10) при кімнатній температурі протягом 12 год. Лужну витяжку відфільтровували. До одержаної витяжки додавали кислоту оцтову льодяну до появи осаду. Осад відфільтровували, висушували до постійної маси та зважували. Одержували фракцію ГЦ А. До фільтрату додавали двократний об'єм 96% етанолу, при цьому утворився осад, який відфільтровували, промивали етанолом, етилацетатом, висушували до постійної маси та зважували. Одержували фракцію ГЦ Б [12, 13].

Вміст кожної полісахаридної фракції (X, %), у перерахунку на суху сировину, розраховували за формулою:

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 100 \times 100}{m \times (100 - W)}$$

де:

$m_1$  – маса з осадом, в г;

$m_2$  – маса фільтра, в г;

$m$  – маса наважки досліджуваної сировини, в г;

Статистичну обробку результатів проводили відповідно до статті ДФУ 2.0 «Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту» [14] за допомогою програми Microsoft Excel 2019 для ОС Widows.

Мономерний склад одержаних полісахаридних фракцій досліджували у гідролізатах відповідних фракцій методом хроматографії у тонкому шарі сорбенту (ТШХ) на пластинках для високоефективної тонкошарової хроматографії. Як стандартні зразки моносахаридів використовували арабінозу, галактозу, глюкозу, ксилозу, рамнозу, манозу та фруктозу у концентрації 1 мг/мл. Кислотний гідроліз виділених полісахаридних фракцій здійснювали 20% розчином кислоти сульфатної протягом 5 год. Одержані гідролізати нейтралізували барію карбонатом за універсальним індикатором і концентрували до сухого залишку, який розчиняли в 0,5 мл метанолу. На хроматографічну пластинку HPTLC Alugram Sil G/UV254 наносили по 5 мкл випробовуваних розчинів та розчинів порівняння. Пластинку поміщали у хроматографічну камеру з рухомою фазою ацетонітрил для ВЕРХ–вода (85:15). Після проходження фронту розчинників та висушування пластинку обробляли тимолсірчанним реактивом в етанолі, висушували

протягом 2 хв і поміщали в сушильну шафу за температури 103±2°C протягом 10 хв, після чого хроматограму вивчали в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

Подальше дослідження вільних і зв'язаних моносахаридів здійснювали методом високоефективної рідинної хромато-мас-спектрометрії, що базується на екстракції вільних моносахаридів та одержанні ацетатів їх альдонітрильних похідних з їх подальшим аналізом [15, 16]. Хроматографічне розділення здійснювали на хроматографі Agilent technologies 6890N/5973 (США). Колонка капілярна HP-5ms (30m×0,25mm×0,25mkm). Розділення проводили в режимі програмування температури – початкову температуру 160°C витримували впродовж 8 хв., піднімали з градієнтом 5°C/хв до 240°C. Кінцеву температуру витримували протягом 6 хв. Пробу об'ємом 1 мкл вводили в режимі поділу потоку 1:50. Детектування здійснювали в режимі SCAN в діапазоні (38-400 m/z). Швидкість потоку газу носія крізь колонку 1,2 мл/хв.

Підготовка проб для аналізу полягала в тому, що сировину перетирали до порошкоподібного стану в скляній ступці. Наважку сировини поміщали у віалу, додавали 10 мл розчину 80% етанолу. Екстракцію вільних моносахаридів проводили на ультразвуковій бані за температури 80°C впродовж 4 год. Відбирали екстракт, випаровували до сухого залишку та ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 250 мкг на пробу. Для визначення зв'язаних моносахаридів до наважки сировини додавали 2 мл 2М кислоти трифтороцтової. Гідроліз проводили за температури 100°C протягом 6 год. Відбирали 2 мл гідролізату випаровували та промивали водою до видалення трифтороцтової кислоти. Ресуспендували додаванням водного розчину внутрішнього стандарту із розрахунку 250 мкг на пробу.

Для одержання альдонітрильних похідних моносахаридів відбирали 2 мл екстракту, випаровували до сухого залишку на роторному випаровувачі та додавали 0,3 мл дериватизуючого реактиву (32 мг/мл гідроксиламіну солянокислого в суміші піридин/метанол (4:1 v/v)). Розчинений екстракт витримували протягом 25 хв за температури 75°C. Для ацетилювання альдонітрильних похідних моносахаридів додавали 1 мл оцтового ангідриду та витримували протягом 15 хв за температури 75°C. До реакційної суміші додавали 2 мл дихлоретану, надлишок дериватизаційних реагентів видаляли подвійною екстракцією 1N розчином кислоти хлористоводневої та води. Дихлоретановий шар висушували до сухого залишку та розчиняли в 300 мкл суміші гептан/етилацетат (1:1 v/v).

Ідентифікацію проводили за часом утримання стандартних зразків моносахаридів та з використанням бібліотеки мас-спектрів NIST 02. Кількісний аналіз проводили шляхом додавання розчину внутрішнього

стандарту в досліджувані проби. Як внутрішній стандарт використовували розчин сорбітолу.

Вміст моносахаридів (X, в мг на 1 кг сировини) розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_x \times C_{\text{вст}} \times V_{\text{роз}} \times 1000}{S_{\text{вст}} \times m \times V_{\text{екстр}}}$$

де:

S<sub>x</sub> – площа піку моносахариду;

C<sub>вст</sub> – концентрація внутрішнього стандарту;

V<sub>роз</sub> – об'єм розчинника для екстракції/гідролізу проби, мл;

S<sub>вст</sub> – площа піку внутрішнього стандарту;

m – наважка сировини, г;

V<sub>екстр</sub> – об'єм екстракту для аналізу, мл.

### Результати та обговорення

При додаванні до 3-кратного об'єму 96% етанолу водних витяжок сировини ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона утворювалися коричневі аморфні осадки, що свідчило про присутність полісахаридів в досліджуваних витяжках.

Результати визначення кількісного вмісту суми водорозчинних полісахаридів у ельшольції Стаунтона та ельшольції в'їчної трави, листі, суцвіттях і стеблах наведено в таблиці 1.

**Таблиця 1. Вміст суми водорозчинних полісахаридів в сировині *E.ciliata* та *E.stauntonii***

Вид	Досліджувана сировина			
	трава	суцвіття	листя	стебла
<i>Elsholtzia ciliata</i>	8,54±0,58	13,29±0,90	5,59±0,38	1,65±0,11
<i>Elsholtzia stauntonii</i>	10,88±0,76	9,10±0,64	9,82±0,69	3,65±0,26

У результаті проведеного кількісного аналізу було встановлено, що вміст суми водорозчинних полісахаридів у перерахунку на абсолютно суху сировину у ельшольції в'їчної трави склав 8,54±0,58%, у ельшольції Стаунтона трави – 10,88±0,76%. Вміст суми водорозчинних полісахаридів у стеблах був незначним, тому подальші дослідження для них не проводились.

З трави двох видів ельшольції були виділені полісахаридні фракції – ВРПС, ПР, ГЦ А і ГЦ Б. Результати визначення полісахаридних фракцій в траві двох видів ельшольції представлені в таблиці 2.

**Таблиця 2. Кількісний вміст виділених полісахаридних фракцій в траві *Elsholtzia ciliata* та *Elsholtzia stauntonii* методом гравіметрії**

Полісахаридна фракція	Трава <i>Elsholtzia ciliata</i>	Трава <i>Elsholtzia stauntonii</i>
ВРПС	6,70 ± 0,45	7,78 ± 0,52
ПР	2,93 ± 0,20	3,26 ± 0,22
ГЦ А	4,25 ± 0,28	5,38 ± 0,36
ГЦ Б	2,46 ± 0,16	3,49 ± 0,23

Проведений гравіметричний аналіз показав, що за кількісним вмістом переважаючими фракціями в обох досліджуваних видах ельшольції є ВРПС. Дещо меншим є вміст ГЦ А, а найменший вміст мають фракції ПР і ГЦ Б.

Комплекси ВРПС, виділені з трави обох видів, являли собою аморфні порошки бурувато-коричневого кольору, які при розчиненні у воді утворювали опалесцюючі розчини, розчинялися також у водних розчинах кислот і лугів і не розчинялися в органічних розчинниках; ПР – аморфні порошки світло-жовтого кольору, що при нагріванні добре розчинялися у воді з утворенням в'язких розчинів; геміцелюлози (ГЦ А і ГЦ Б) є аморфними порошками темно-коричневого кольору, добре розчинними у гарячій воді та лугах.

Як видно із одержаних результатів, у ельшольції Стаунтона траві кількісний вміст усіх фракцій полісахаридів вищий, ніж у ельшольції в'їчної трави.

У гідролізатах полісахаридних фракцій методом ТШХ були ідентифіковані глюкоза, галактоза, ксилоза, арабіноза, рамноза, маноза та фруктоза. У гідролізаті фракції ПР трави обох досліджуваних видів ідентифіковано найбільшу кількість моносахаридів. Дані якісного аналізу моносахаридного складу полісахаридних фракцій методом ТШХ у порівнянні зі стандартними зразками з представлені в таблиці 3. Хромато-мас-спектрометричним методом визначено вміст зв'язаних та вільних цукрів у траві, суцвіттях і листі досліджуваних видів ельшольції. Результати проведеного аналізу наведено в таблиці 4.

**Таблиця 3. Моносахаридний склад полісахаридних фракцій трави *Elsholtzia ciliata* та *Elsholtzia stauntonii* методом ТШХ**

Вид	Група полісахаридів	Ara	Gal	Rha	Man	Glu	Xyl	Fru
<i>Elsholtzia ciliata</i>	ВРПС	-	-	-	+	+	+	+
	ПР	-	-	+	+	+	+	+
	ГЦ А	+	+	+	-	+	+	-
	ГЦ Б	-	+	+	-	+	+	-
<i>Elsholtzia stauntonii</i>	ВРПС	+	-	-	+	+	-	-
	ПР	-	-	+	+	+	+	+
	ГЦ А	+	-	+	-	+	+	-
	ГЦ Б	+	-	-	-	-	+	+

Примітка: "+" наявний моносахарид, "-" відсутній моносахарид; Ara – арабіноза, Gal – галактоза, Rha – рамноза, Man – маноза, Glu – глюкоза, Xyl – ксилоза, Fru – фруктоза.

**Таблиця 4. Вміст зв'язаних та вільних цукрів хромато-мас-спектрометричним методом у траві *Elsholtzia ciliata* та *Elsholtzia stauntonii* (мг/г)**

Назва вуглеводу	<i>Elsholtzia ciliata</i>			<i>Elsholtzia stauntonii</i>		
	Трава	Суцвіття	Листя	Трава	Суцвіття	Листя
<b>Зв'язані цукри</b>						
Рамноза	1,38	3,69	3,0	1,87	1,88	3,05
Арабіноза	1,55	7,63	2,0	2,37	4,13	5,44
Фукоза	3,39	-	-	2,91	-	-
Ксилоза	0,43	12,51	2,11	0,50	16,75	3,12
Маноза	1,99	2,47	1,45	1,56	1,65	2,20
Глюкоза	30,99	25,60	52,68	32,12	20,57	44,91
Галактоза	0,48	11,49	7,06	6,09	5,40	9,7
Інозит	2,59	-	-	2,38	-	-
Фруктоза	6,43	4,14	1,96	5,97	4,71	2,51
Цукроза	-	-	0,46	-	-	-
<b>Вільні цукри</b>						
Рамноза	-	-	-	-	-	-
Арабіноза	-	0,42	-	-	0,36	-
Фукоза	-	-	-	-	-	-
Ксилоза	-	-	-	-	-	-
Маноза	-	-	-	-	-	-
Глюкоза	13,38	11,66	18,52	19,80	6,57	5,45
Галактоза	-	0,55	-	-	-	0,27
Інозит	-	-	-	2,49	-	-
Фруктоза	1,91	-	-	2,78	-	-
Цукроза	13,76	2,88	8,32	6,41	18,51	10,41

Як видно з таблиці, у сировині обох видів ельшольції в порівнянні із зовнішніми стандартами виявлено 10 цукрів, з яких для обох видів у траві знайдено 9 зв'язаних та 3 вільних, у суцвіттях – 7 зв'язаних та 4 вільних, у листі обох видів ельшольції – 3 вільних, зв'язаних в *Elsholtzia ciliata* – 8, в *Elsholtzia stauntonii* – 7 моносахаридів.

Глюкоза є домінуючим компонентом серед зв'язаних цукрів в усіх досліджуваних зразках зазначених видів, зокрема найбільший її вміст спостерігався у листі – 52,68 мг/г для ельшольції вільчатої та 44,91 мг/г для ельшольції Стаунтона. Інші

визначені цукри зустрічаються у значно меншій кількості. Серед вільних цукрів переважають глюкоза і сахароза, а саме, сахароза домінує в траві ельшольції вільчатої та в листі та суцвіттях ельшольції Стаунтона. В інших зразках мажоритарним компонентом є глюкоза. Загалом якісний склад цукрів трави досліджуваних видів подібний. Відмінності полягають здебільшого в кількісному вмісті компонентів.

#### **Висновки**

1. Вперше проведено порівняльне визначення вмісту полісахаридів та моносахаридного складу 2 видів роду *Elsholtzia* – *Elsholtzia ciliata* та *Elsholtzia stauntonii*.

2. Вперше виділено та визначено вміст полісахаридних фракцій ельшольції в'їчної та ельшольції Стаунтона суцвіть, листя та трави – ВРПС, ПР, ГЦ А і Б та встановлено їх моносахаридний склад.
3. Вперше було визначено якісний склад та вміст цукрів методом ГХ/МС у сировині двох видів ельшольції.
4. Одержані експериментальні дані свідчать про достатньо різноманітний та багатий вміст цукрів у цих видах сировини та будуть враховані в подальших дослідженнях.

### The study of carbohydrate contents in raw materials of some *Elsholtzia* Willd. genus species

Zotsenko L., Kyslychenko V.

**Introduction.** Carbohydrates are a significant part of biological compounds of plants and are an important class of natural compounds with a diverse range of biological effects on the human body. Analysis of carbohydrates (mono- and polysaccharides) is one of the pressing issues of modern phytochemistry. Identification of sugars and their quantification are necessary for the standardization of plant raw materials, they also potentiate the biological activity of herbal extracts. **Purpose.** The carbohydrate content of the raw materials of two *Elsholtzia* specie was studied. Also the determination of the quantitative content of polysaccharide fractions and the establishment of their monomeric composition was carried out. **Materials and methods.** The study object was batches of the *Elsholtzia stauntonii* Benth. (Mint Bush) and *Elsholtzia ciliate* Thun. (Chinese Vietnamese Balm.) herb collected during the blossoming period on the basis of M.M. Grishko National Botanical Garden in Kyiv, Ukraine, in August and September 2018-2019. Qualitative composition and quantitative maintenance of carbohydrates was performed by using gravimetric, TLC and GC-MS methods. **Results.** It was established that water-soluble polysaccharides, pectin substances and hemicelluloses are present in the main raw materials. The total polysaccharides content is higher in all in all studied plant organs of the *E.stauntonii* than in *E.ciliata* . The results of GC-MS analysis showed that both *Elsholtzia* species in herb, inflorescences and leaves have free and bound carbohydrates, namely *D-rhamnose*, *D-arabinose*, *D-xylose*, *D-mannose*, *D-glucose*, *D-galactose*, *D-fructose* and *D-saccharose*. And two more - *Fucosa* *Inositol* -were found only in herb. **Conclusions.** First in raw material of two species of *Elsholtzia* Willd. genus polysaccharides content and composition of 10 carbohydrates was studied. **Keywords:** *Elsholtzia stauntonii*, *Elsholtzia ciliata*, carbohydrates, polysaccharides, TLC, GC/MS.

### References

1. Bochkova A.F., Afanasiev V.A., Zaikov G.E. Carbohydrates. - M.: Nauka, 1980. - 176 p.
2. Antitumor and antioxidant properties of polysaccharide extracts and biomass fractions of *Hypsizygus ulmarius* basidiomycete obtained by deep cultivation / A.V.

- Avtonomova, M.I. Leontiev, E.B. Isakova [et al.] // Biotechnology. - 2008. - No. 2. - S. 23-29.
3. Ruban O.A. Scientific grounding of the warehouse and technology of medicinal preparations in antiallergic medicine based on black currant polysaccharide: author. dis. ... Dr. Pharmac. sciences: spec. 15.00.01. / O.A. Ruban. - Kharkiv, 2009. - 39 p.
4. Sanitary rules and regulations. Food raw materials and food products (SanPiN 2.3.2.1078-01). - M., 2006. - 192 p.
5. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III // Botanical Journal of the Linnean Society London. - 2009. - Vol. 161, № 2. - P. 105-121.
6. Chernykh OP, red. Pharmaceutical encyclopedia, the second edition, revised and supplemented. Kiev, Ukraine: Morion; 2010. 1632 p.
7. *Elsholtzia* phytochemistry and biological activities / Guo Z., Liu Z., Wang X., et al. ChemistryCentralJournal . 2012. № 6. 147.
8. State Pharmacopoeia of Ukraine. - 1st type. 3. Appendix 3. - Kharkiv: SE "Scientific and Expert Pharmacopoeial Center", 2009. - 280 p.
9. Katsuba IK, Novosel OM, Kislichenko VS. The study of polysaccharides from the coltsfoot. Ukr Med Al'm. 2013;16(4):25-7.
10. State Service of Ukraine for Medicines, Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines. State Pharmacopoeia of Ukraine: Volume 3, 2nd edition. Kharkiv, Ukraine; 2014. T 3. 732 p.
11. Tsurkan O.O., Kovalchuk T.V., Gergel O.V. Phytochemical research of carbohydrate 8. components of white and black mulberry // Phytotherapy. Magazine. - 2010. - No 4. - P. 72-75.
12. Katsuba I.K., Novosel O.M., Kislichenko V.S. The study of polysaccharides from the coltsfoot. Ukr Med Al'm.2013;16(4):25-7.
13. Burlaka IS, Kislichenko VS, Pozdnyakov VV. Research of polysaccharides and organic acids of a veynik usual and shchuchnik turf. Ukr Med Al'm. 2011;14(3):51-2.
14. State Service of Ukraine for Medicines, Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines. State Pharmacopoeia of Ukraine: Volume 3, 2nd edition. Kharkiv, Ukraine; 2015. T 1. 1128 p.
15. Guerrant, G.O., Moss, C.W., 1984. Determination of monosaccharides as aldononitrile, O-methylxime, alditol, and cyclitol acetate derivatives by gas-chromatography. Analytical Chemistry 56, 633-638.
16. Chen Y1, Xie MY, Wang YX, Nie SP, Li C. Analysis of the monosaccharide composition of purified polysaccharides in *Ganoderma atrum* by capillary gas chromatography. Phytochem Anal. 2009 Nov-Dec;20(6):503-10.