

文章编号: 1673-1689(2007)01-0065-06

亚麻籽胶中的中性多糖 NFG-1 一级结构的研究

陈海华^{1,2}, 许时婴², 王璋²

(1. 莱阳农学院 食品科学系, 山东 青岛 266109; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘要: 采用高碘酸氧化、Smith 降解、甲基化分析、部分酸水解、¹H-NMR 和¹³C-NMR 等方法对亚麻籽胶中的 NFG-1 的结构进行研究。结果表明: NFG-1 的主链主要由木糖和葡萄糖组成。大部分阿拉伯糖和部分木糖位于 NFG-1 的侧链或末端; 木糖主要以 1→4 位键合为主, 并存在少量的 1→2 位键合和 1→3 位键合, 约有 1/3 的木糖位于非还原末端, 葡萄糖主要以 1→6 或 1→2 位键合为主; 阿拉伯糖有 1→4、1→2、1→3 位键合, 有 1/3 的阿拉伯糖位于非还原末端, 半乳糖存在 1→4 或 1→6 位键合, 约有 1/5 位于非还原末端。木糖是 β-型, 葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖均为 α-型。

关键词: 亚麻籽胶; 中性多糖(NFG-1) 结构

中图分类号: S 563.2

文献标识码: A

Study on the Primary Structure of NFG-1 from Flaxseed Gum

CHEN Hai-hua^{1,2}, XU Shi-ying², WANG Zhang²

(1. Department of Food Science, LaiYang Agriculture College, Qingdao 266109, China; 2. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The structure of NFG-1 was analyzed by method of periodate oxydation, smith degradation, partial hydrolysis, methylation analysis, ¹H and ¹³C-NMR. The results showed that the backbone of NFG-1 was composed of xylose and glucose. Most of arabinoses and part of xyloses were in the side-chain or at the end group. Xyloses were mainly of 1→4 linkage, and there were also a few of 1→2 or 1→3 linkage, in which about 1/3 of xyloses were located at the end of unreduced group. Glucoses were mainly of 1→6 or 1→2 linkage. Arabinoses were of 1→4, 1→2 or 1→3 linkage, and about 1/3 of arabinoses were located at the end of unreduced group. Galactoses were of 1→4 or 1→6 linkage, and about 1/3 of galactoses were located at the end of unreduced group. Xyloses were characterized as β-linked glycosidic bond, but for glucose, galactose and arabinose, were α-linked glycosidic bonds.

Key words: flaxseed gum; neutral polysaccharide (NFG-1); structure

NFG-1 是从亚麻籽胶中分离纯化得到的一种中性多糖, 采用 CTAB 络合法、离子交换柱层析法和凝胶柱层析法对亚麻籽胶进行分离纯化, 可以得到中性多糖 NFG-1 纯品^[1]。NFG-1 主要由木糖、阿拉伯糖、半乳糖和葡萄糖组成, 相对分子质量为 $1.19 \times$

10^6 , 苯酚-硫酸法测得其总糖质量分数为 84.9%。UV 的结果表明 NFG-1 不含蛋白质, IR 测定的结果表明 NFG-1 具有多糖的特征吸收, 其糖环的连接方式有两种, 即 α-糖苷键和 β-糖苷键。作者报道了采用高碘酸氧化、Smith 降解、甲基化分析、部分酸水

收稿日期: 2006-01-07.

作者简介: 陈海华(1973-), 女, 山东招远人, 工学博士, 副教授。主要从事食品科学研究。Email: haihchen@163.com

解、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 等方法^[2]对 NFG-1 的一级结构进行分析研究的结果。

1 材料和设备

1.1 材料

NFG-1 :实验室制备 ;EDC(1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺) :Fluka 公司产品 ;3A 分子筛 :上海化学试剂公司产品 ,280 °C 活化 12 h 后备用 ;二甲亚砜 :加入 1/4 体积已活化的 3A 分子筛 ,放置 2 d 后使用 ;NaOH :迅速研磨成粉末 ,密封放置于干燥器中备用 ; D_2O (纯度 99.9%) :北京化工厂产品 ,其余为分析纯试剂。

1.2 实验仪器与设备

Agilent 6890 型气相色谱仪 :安捷伦科技有限公司产品 ;Nicolet 5DXB FT-IR 红外光谱仪 :美国 Nicolet 公司产品 ;Trace MS 气相色谱-质谱联用仪 :美国 Finigan 公司产品 ;AV300 型核磁共振仪 :Bruker 公司产品 ;KQ 2200 DB 型超声波仪 :昆山超声仪器有限公司产品 ;755B 紫外可见分光光度计 :上海分析仪器总厂产品。

2 实验方法

2.1 高碘酸氧化

取 42.0 mg 多糖 ,加 100 mL 15 mmol/L 的高碘酸钠溶液 ,4 °C 暗处反应。间隔一定时间取样 ,测定 223 nm 处的吸光值 ,至吸光值恒定。取 10 mL 样品溶液 ,加 1 mL 乙二醇 ,振荡 10 min 后中止反应 ,还原剩余的高碘酸。加入 2 滴酚酞指示剂 ,用 0.01 mol/L NaOH 滴定 ,测定甲酸的生成量。另取 10 mL 15 mmol/L 高碘酸钠溶液 ,加 1 mL 乙二醇 ,振荡 10 min ,再加入 4.2 mg 多糖 ,溶解后用 0.01 mol/L NaOH 溶液滴定 ,作为滴定空白值^[2]。

2.2 Smith 降解

高碘酸氧化完成后 ,取 40 mL 反应液 ,加 4 mL 乙二醇 ,搅拌 30 min ,还原剩余的高碘酸。对水透析后 ,加入 100 mg NaBH_4 ,室温、暗处反应 24 h。加冰醋酸分解剩余的 NaBH_4 。对水透析后 ,减压蒸发至干 ,加 2 mol/L 的 TFA 溶液 ,于 121 °C 水解 1 h。水解产物进行 GC 分析^[2]。

2.3 甲基化分析

2.3.1 甲基化反应 取 10 mg 样品 ,加 2 mL DM-SO ,室温下超声波作用 2 min ,再加热 20 min。加 100 mg 干燥的 NaOH 粉末 ,充 N_2 ,室温下超声波作用 10 min。加 0.7 mL CH_3I ,充 N_2 ,室温下超声波作用 30 min。加数据 mL 水中止反应 ,加 1 mol/L 的乙酸

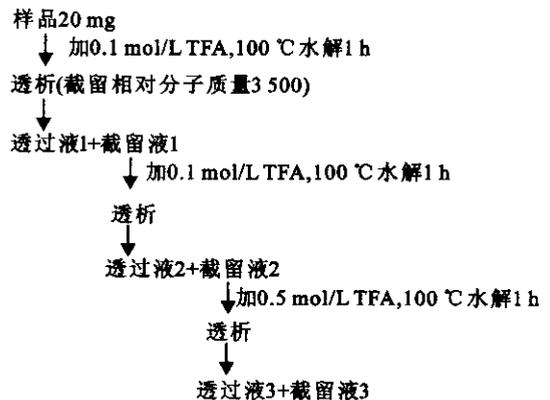
溶液中和 ,对水透析 ,减压蒸发至干 ,红外光谱检测甲基化是否完全^[3]。

2.3.2 甲基化产物的水解、还原和乙酰化 完全甲基化的多糖用 2 mol/L 的 TFA 溶液 ,在 121 °C 下水解 1 h ,然后旋转蒸发至干。加入 4 mL 新配的 0.5 mol/L 硼氢化钠(溶于 2 mol/L 氨水中) ,60 °C 反应 60 min ,加入 1 mL 丙酮终止反应 ,旋转蒸发至干。用 0.5 mL 乙酸溶液溶解残渣 ,加 2 mL 乙酸乙酯和 6 mL 乙酸酐混匀 ,再加入 0.2 mL 体积分数 70% 的高氯酸溶液 ,室温反应 10 min。冰浴冷却 ,加 10 mL 水和 0.4 mL 1-甲基咪唑 ,反应 5 min。加 2 mL 二氯甲烷萃取 ,相分离后取二氯甲烷相 ,用 GC/MS 进行分析^[4]。

GC/MS 条件 :OV1707 毛细管柱(30 m × 0.25 mm) 程序升温 :起始温度 150 °C ,以 3 °C/min 升温至 250 °C ,停留 10 min ,载气为 He ,EI 源 ,70 eV。

2.4 部分酸水解

样品的部分酸水解工艺路线如下 :



透过液平分成两份 ,一份直接测定单糖组成 ,此为透过液中的游离单糖 ;另一份透过液加 2 mol/L TFA ,100 °C 水解 2 h 后测定单糖组成 ,此为透过液总的单糖组成。二者之差即为透过液中低聚糖的单糖组成。

截留液 3 的分析 :加 2 mol/L TFA ,121 °C 水解 1 h 后测定单糖组成。

2.5 核磁共振测定

25 ~ 40 mg 样品溶于 0.5 mL D_2O ,用核磁共振仪进行 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 分析。

3 结果与讨论

3.1 高碘酸氧化

从图 1 可知 ,氧化反应在 48 h 后趋于稳定。经计算 42.0 mg NFG-1 消耗 0.247 7 mmol 高碘酸。以 NFG-1 的总糖质量分数 84.9% 计算^[1] ,每 1 mol 单糖的高碘酸消耗量为 1.12 mol。42.0 mg NFG-1

产生 0.011 9 mmol 甲酸,即每 1 mol 单糖的甲酸生成量为 0.054 mol。

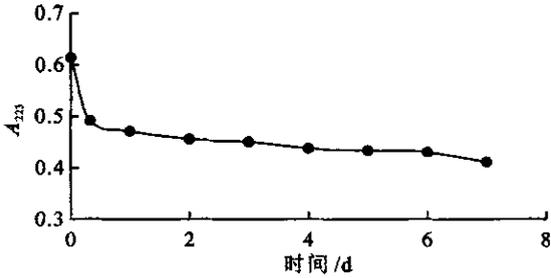


图 1 NFG-1 在 15 mmol/L 高碘酸钠溶液中的氧化曲线

Fig. 1 Oxidant curve of NFG-1 reacted in 15 mmol/L NaIO₄ solution

3.2 Smith 降解

由于实验中加入乙二醇以终止反应,终产物中检测乙二醇没有意义,一般以甘油、赤藓醇和其它糖等作为糖苷键的特征终产物^[2]。

由表 1 可知,Smith 降解产物中检出甘油、赤藓醇、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和半乳糖单体。

表 1 NFG-1 经 Smith 降解后产物的组成

Tab. 1 Production of NFG-1 after Smith degradation

样品	质量分数/%					
	甘油	赤藓醇	阿拉伯糖	木糖	葡萄糖	半乳糖
Smith 降解后产物	71.35	3.95	4.93	15.43	3.58	0.79
NFG-1 单糖	0	0	21.37	46.05	24.86	7.70

由高碘酸氧化和 Smith 降解的结果,可以得到以下结论:

- 1) 甘油是由 1→2 或 1→4 位键合的戊糖,或由 1→2 或 1→6 位键合的己糖产生;
- 2) 赤藓醇是由 1→4 位键合的己糖产生;
- 3) 葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和半乳糖单体的存在说明有 1→3 位键合的糖基;
- 4) 甲酸可由 1→6 位键合的己糖产生,也可由 1 位键合的吡喃型木糖产生。

从高碘酸氧化和 Smith 降解前后单糖组成的变化可以推测:大部分的戊糖是以 1→2 或 1→4 位键合,少量的戊糖是以 1→3 位键合;大部分的己糖是以 1→2 或 1→6 位键合,少量的己糖是以 1→4 或 1→3 位键合。

3.3 部分酸水解

部分酸水解可以把大分子裂解成较小的片断,

有利于进行结构分析。一般来说,吡喃型糖基比呋喃型糖基稳定,己糖比戊糖稳定,1→6 位糖苷键对酸水解相对稳定,主链的糖基比支链的糖基稳定^[5]。因此,通过部分酸水解可判断糖苷键的断裂次序,推断可能的糖苷键类型。

从表 2 可知,NFG-1 经 0.01 mol/L TFA 水解后,透过液水解产物主要是阿拉伯糖,另有少量木糖;经 0.1 mol/L TFA 水解后,透过液水解产物主要是木糖,其次是阿拉伯糖,另有少量的葡萄糖;经 0.5 mol/L TFA 水解后,透过液水解产物主要是木糖,其次是葡萄糖和半乳糖,另有少量的阿拉伯糖;经 0.5 mol/L TFA 水解后的截留液主要是葡萄糖,另有少量的木糖。

表 2 NFG-1 部分酸水解产物的单糖组成

Tab. 2 Monosaccharide composition of NFG-1 after partial hydrolysis by acid

样品	质量分数/%			
	阿拉伯糖	木糖	葡萄糖	半乳糖
透过液 1 (游离*)	100	0	0	0
透过液 1 (总)**	87	13	0	0
透过液 2 (游离)	12	56	11	0
透过液 2 (总)	28	61	11	0
透过液 3 (游离)	1	18	3	8
透过液 3 (总)	4	61	18	18
截留液 3	0	12	88	0

注:* 为透过液中的游离单糖,** 为透过液中的总单糖。

由上述结果可以推测,大部分阿拉伯糖和部分木糖可能位于 NFG-1 的侧链或末端,部分木糖可能位于 NFG-1 的主链;大部分的葡萄糖可能位于 NFG-1 的主链,少部分葡萄糖和半乳糖可能位于 NFG-1 的侧链或末端。

由于 NFG-1 经 0.01 mol/L TFA 水解的程度较小,而经 0.5 mol/L TFA 水解的程度又过大,得不到有效的结构信息,因此又采用 0.03、0.1 mol/L 的 TFA 溶液对 NFG-1 进行水解,分别对截留液 JL003 和截留液 JL01 进行单糖组成的分析。

由表 3 可知,JL003 中木糖和葡萄糖的含量最多,阿拉伯糖和半乳糖含量较少;JL01 中葡萄糖的含量最高,其次是木糖,阿拉伯糖和半乳糖的含量最少。结合表 3 的结果可以进一步推测,部分木糖和大部分葡萄糖可能位于 NFG-1 的主链,阿拉伯糖位于 NFG-1 的侧链或末端,半乳糖可能位于 NFG-1 的侧链或末端。

表3 NFG-1 部分酸水解后截留液的单糖组成

Tab.3 Monosaccharide composition of NFG-1 after hydrolyzed by 0.01 and 0.1 mol/L TFA

样品	质量分数/%			
	阿拉伯糖	木糖	葡萄糖	半乳糖
JL003	4	47	42	6
JL01	1	20	73	5

3.4 甲基化分析

甲基化分析是研究多糖结构最经典的方法,用于阐明单糖残基间的连接方式。其原理是将多糖的游离羟基全部甲基化,水解后得到部分甲基化的单糖,其羟基所在的位置,即为原来单糖残基的连接点^[6]。

根据 JL003 的单糖组成,结合标准图谱对 JL003 甲基化碎片的 GC 图(见图 2)中含量较高的峰进行归属,结果见表 4。

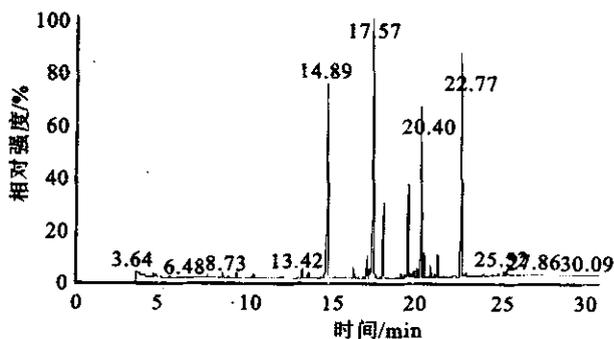


图2 NFG-1-JL003 的甲基化碎片的 GC 图

Fig.2 GC chromatography of of NFG-1-JL003 methylated fragments

表4 NFG-1-JL003 的甲基化分析

Tab.4 Methylation analysis of NFG-1-JL003

保留时间/min	甲基化碎片	构型	相对摩尔比
14.80	2,3,4-Me ₃ -Ara	Ara(1→	1.0
17.57	2,3-Me ₂ -Xyl	→4)Xyl(1→	8.6
18.17	2,3,4,6-Me ₄ -Gal	Gal(1→	1.8
20.40	2,3,4-Me ₃ -Glc	→6)Glc(1→	4.4

综合分析上述结果,可以得到以下结论:NFG-1-JL003 主要由→4)Xyl(1→和→6)Glc(1→构成。

根据 JL01 的单糖组成,结合标准图谱对 JL01 甲基化碎片的 GC 图(见图 3)中含量较高的峰进行归属,结果见表 5。

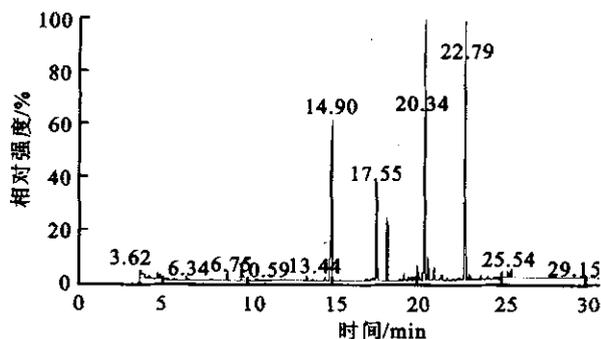


图3 NFG-1-JL01 甲基化碎片的 GC 图

Fig.3 GC chromatography of of NFG-1-JL01 methylated fragments

表5 NFG-1-JL01 的甲基化分析

Tab.5 Methylation analysis of NFG-1-01

保留时间/min	甲基化碎片	构型	相对摩尔比
14.82	2,3,4-Me ₃ -Ara	Ara(1→	1.0
17.55	2,3-Me ₂ -Xyl	→4)Xyl(1→	3.8
18.19	2,3,4,6-Me ₄ -Gal	Gal(1→	2.3
20.43	2,3,4-Me ₃ -Glc	→6)Glc(1→	10.7

综合分析上述结果,可以得到以下结论:NFG-1-JL01 主要由→6)Glc(1→构成,还含有一定量的→4)Xyl(1→。

根据 NFG-1 的单糖组成,结合标准图谱对 NFG-1 甲基化碎片的 GC 图(见图 4)中含量较高的峰进行归属,结果见表 6。

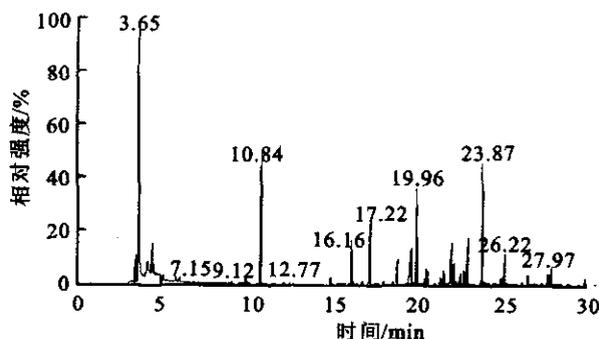


图4 NFG-1 甲基化碎片的 GC 图

Fig.4 GC chromatography of of NFG-1 methylated fragments

综合分析上述结果,可以得到以下结论:木糖主要以 1→4 位键合,并存在少量的 1→2 和 1→3 位键合,约有 1/3 的木糖位于非还原末端;葡萄糖主要以 1→6 位键合;阿拉伯糖有 1→4、1→2、1→3 位键合,约有 1/3 的阿拉伯糖位于非还原末端;半乳糖存在 1→4 或 1→6 位键合,约有 1/5 位于非还原末端。

表 6 NFG-1 的甲基化分析

Tab. 6 Methylation analysis of NFG-1

保留时间/min	甲基化碎片	构型	相对摩尔比
16.16	2 β 4-Me ₃ -Ara	Ara (1 \rightarrow)	4.4
17.23	2 β 4-Me ₃ -Xyl	Xyl (1 \rightarrow)	6.9
18.87	2 5-Me ₂ -Xyl	\rightarrow 3 4) Xyl (1 \rightarrow)	2.5
19.59	2 4-Me ₂ -Ara	\rightarrow 3) Ara (1 \rightarrow)	2.0
19.66	2 β 5-Me ₃ -Gal	\rightarrow 4 β) Gal (1 \rightarrow)	3.6
19.97	2 β 5-Me ₃ -Xyl	\rightarrow 4) Xyl (1 \rightarrow)	10.2
20.58	2 β 4 β -Me ₄ -Gal	Gal (1 \rightarrow)	1.1
22.09	3-Me ₁ -Xyl	\rightarrow 2 4) Xyl (1 \rightarrow)	5.4
22.62	2 β 5-Me ₃ -Ara	\rightarrow 4) Ara (1 \rightarrow)	1.0
23.05	3-Me ₁ -Ara	2 4) Ara (1 \rightarrow)	5.0
23.87	2 β 4-Me ₂ -Glc	\rightarrow 6) Glc (1 \rightarrow)	14.2

3.5 核磁共振分析

¹H-NMR 可以确定多糖结构中糖苷键的构型, 通常 α -型糖苷的异头质子的化学位移 δ 大于 5.0, 而 β -型 δ 小于 5.0。耦合常数 ³J_{1,2} 对解析异头质子的构型也有帮助。如果异头质子同时满足化学位移小于 5.0 且 ³J_{1,2} 大于 6, 则认为是 β -型; 反之, 若化学位移大于 5.0 且 ³J_{1,2} 小于 4, 则认为是 α -型。

³J_{1,2} 的计算方法是谱峰的分裂间距 (1 \times 10⁻⁶) 乘以仪器的工作频率。¹³C-NMR 谱图的分辨率好, 谱线很少重叠, 可以确定糖链的连接位置, 也可以确定某些糖类, 还可以确定糖残基的数目和相对含量^[7-8]。

3.5.1 ¹H-NMR 分析 由于 NFG-1 相对分子质量大, 溶解度差, 因此其 ¹H-NMR 的响应信号很弱, 从图中只能得到化学位移分别为 δ 4.86 和 δ 4.75 的两个异头质子 F 和 G 的信号, 其构型为 β -型。从 NFG-1-JL003 的 ¹H-NMR 谱图和 NFG-1-JL01 的 ¹H-NMR 谱图中均可找到 7 个异头质子, 它们的化学位移及由此推出的构型, 以及异头质子的对应关系见表 7。

根据 NFG-1-JL003 和 NFG-1-JL01 的单糖组成, 可以推测:

1) 由于 0.1 mol/L TFA 水解后, NFG-1-JL01 中的 5 变化不大, 而 6 明显下降, 因此 NFG-1-JL003 的 5 和 6 分别对应葡萄糖和木糖;

2) 由于 NFG-1-JL01 中的 2 增加很多, 因此 NFG-1-JL003 的 2 也是葡萄糖;

3) 由于数据 NFG-1-JL01 中的 1 基本消失, 因此

NFG-1-JL003 的 1 是阿拉伯糖;

4) 由于 NFG-1-JL01 中的 4 增加, 因此 NFG-1-JL003 的 4 是葡萄糖;

5) NFG-1-JL01 中的 3 基本不变, 因此 NFG-1-JL003 的 3 是半乳糖;

6) NFG-1-JL01 中的 7 基本不变, 而且经 0.1 mol/L TFA 水解后, NFG-1-JL01 中的木糖含量仍很多, 因此推测 NFG-1-JL003 的 7 是木糖。

表 7 NFG-1、NFG-1-JL003 和 NFG-1-JL01 的异头质子

Tab. 7 Anomeric protons of NFG-1, NFG-1-JL003 and NFG-1-JL01

NFG-1								
异头质子		F		G				
化学位移		4.86	4.75					
NFG-1-JL003		1	2	3	4	5	6	7
异头质子								
化学位移	5.66	5.52	5.38	5.26	5.17	4.86	4.80	
NFG-1-JL01		1'	2'	3'	4'	5'	6'	7'
异头质子								
化学位移	5.66	5.53	5.38	5.25	5.19	4.89	4.79	
构型		α	α	α	α	α	β	β

综合以上分析, 从 ¹H-NMR 可以得到以下结论:

1) NFG-1-JL003 的 6 和 7 是木糖。6 的耦合常数 ³J_{1,2} = (4.88574 - 4.86040) \times 300 = 7.6 Hz, 且其位移 δ 4.86 < 5.0, 因此 6 应该是 β -型; 同理可以推测 7 也是 β -型。即木糖是 β -型。

2) NFG-1-JL003 中的 2、4 和 5 是葡萄糖, 其位移 δ 均大于 5.0, 因此 2、4 和 5 对应的葡萄糖均为 α -型;

3) NFG-1-JL003 中的 1 是阿拉伯糖, 由于其易被水解, 且其位移 δ 均大于 5.0, 因此 1 对应的阿拉伯糖为 α -型, 且位于末端;

4) NFG-1-JL003 中的 3 是半乳糖, 且其位移 δ 大于 5.0, 因此 3 对应的半乳糖为 α -型。

3.5.2 ¹³C-NMR 分析 对 NFG-1-JL003 的 ¹³C-NMR 图谱进行分析, 可得到以下结论:

1) 异头碳区 δ 105.4 ~ 100.0 有 7 个异头碳, 化学位移分别为 105.4、104.0、103.4、103.3、101.8、100.5 和 100.0, 表明存在 7 种糖残基, 这与 ¹H-NMR 的分析结果相同。

2) δ 66.9 的峰是 α -1,6-Glc 的 C-6 的特征信号, δ 78.1 的峰是 β -1,4-Xyl 的 C-4 的特征信号。

3) δ 170 ~ 176 没有信号, 说明不存在己糖醛酸, δ 16 ~ 18 范围内没有信号, 表明不存在 6 位脱氧己糖的甲基。

由于 NFG-1 的相对分子质量很大,单糖组成也很复杂,尚不能得到 NFG-1 确切的一级结构。但是通过高碘酸氧化和 Smith 降解、部分酸水解、甲基化分析和核磁共振分析等手段,初步得到了多糖主链的一些片断的结构信息,为一级结构的进一步研究提供了基础。

4 小 结

NFG-1 的主链主要由木糖和葡萄糖组成。大部

分阿拉伯糖和部分木糖位于 NFG-1 的侧链或末端,木糖主要以 1→4 位键合为主,并存在少量的 1→2 位键合和 1→3 位键合,约有 1/3 的木糖位于非还原末端,葡萄糖主要以 1→6 或 1→2 位键合为主,阿拉伯糖有 1→4、1→2、1→3 位键合,有 1/3 的阿拉伯糖位于非还原末端,半乳糖存在 1→4 或 1→6 位键合,约有 1/5 位于非还原末端。木糖是 β -型,葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖均为 α -型。

参考文献(References):

- [1] 陈海华,许时婴,王璋. 亚麻籽胶中酸性多糖和中性多糖的分离纯化[J]. 食品与发酵工业,2004,(1):96-100.
Chen Hai-hua, Xu Shi-ying, Wang Zhang. Isolation and purification of acid polysaccharide and neutral polysaccharide in flaxseed gum[J]. **Food and Fermentation Industry**, 2004, (1):96-100. (in Chinese)
- [2] 张惟杰. 糖类复合物生化研究技术[M]. 杭州:浙江大学出版社,1994.
- [3] Needs P W, Selvendran R R. Avoiding oxidative degradation during sodium hydroxide/methyl iodide-mediated carbohydrate methylation in dimethyl sulfoxide[J]. **Carbohydr Res**, 1993, 245:1-10.
- [4] Harris P J, Henry R J, Blakeney A B, et al. An improved procedure for the methylation analysis of oligosaccharides and polysaccharides[J]. **Carbohydr Res**, 1984, 127:59-73.
- [5] 张力田. 碳水化合物化学[M]. 北京:中国轻工业出版社,1988.
- [6] 董群,方积年. 寡糖及多糖甲基化方法的发展及现状[J]. 天然产物研究与开发,1995,7(2):60-65.
Dong Qun, Fang Ji-nian. Development and status in methylation method of oligosaccharide and polysaccharide[J]. **Natural Product Research and Development**, 1995, 7(2):60-65. (in Chinese)
- [7] 于德泉,杨峻山. 分析化学手册/第七分册(核磁共振波谱解析)[M]. 北京:化学工业出版社,1999.
- [8] 宁永成. 有机化合物结构鉴定与有机波谱学[M]. 北京:科学出版社,2000.

(责任编辑 朱明)