

# 野生酸枣果硒多糖纯化与光谱分析\*

孙延芳<sup>1</sup> 梁宗锁<sup>2</sup> 单长卷<sup>3</sup> Viernstein H<sup>4</sup> Unger F<sup>4</sup>

(1. 辽宁工程技术大学理学院, 阜新 123000; 2. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨凌 712100;

3. 河南科技学院生物系, 新乡 453003; 4. 维也纳大学生物药理和药理技术实验室, 奥地利维也纳 A-1090)

**【摘要】** 采用热水浸提、乙醇沉淀法获得酸枣果硒多糖粗品。苯酚-硫酸法测其多糖含量为 $(92.6 \pm 4.72)$  mg/g, 原子荧光光度法测其硒含量为 $(17.8 \pm 2.05)$   $\mu$ g/kg。DEAE-25 纤维素和 Sephadex G-75 凝胶层析柱进一步分离纯化得白色絮状多糖。薄层层析和高效阴离子交换色谱法分析其单糖组成。结果表明: 该多糖是由鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖等单糖组成, 其摩尔比为 3.21:8.36:5.61:0.96:1.82。红外光谱分析表明具有明显的多糖特征吸收峰, 核磁共振波谱表明该多糖结构主要为  $\beta$ -糖苷键连接的吡喃型葡聚糖。

**关键词:** 酸枣 硒 多糖 高效阴离子交换色谱 红外光谱 核磁共振波谱

**中图分类号:** R284.2; O657.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2011)06-0148-04

## Purification and Corresponding Spectroscopic Analysis of Selenium Polysaccharide in Sour Jujube Fruits

Sun Yanfang<sup>1</sup> Liang Zongsuo<sup>2</sup> Shan Changjuan<sup>3</sup> Viernstein H<sup>4</sup> Unger F<sup>4</sup>

(1. College of Science, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China

2. College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

3. Department of Biology, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China

4. Department of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics, University of Vienna, Vienna A-1090, Austria)

### Abstract

The crude polysaccharide was extracted from sour jujube fruits using hot water extraction followed by ethanol precipitation. The content of crude polysaccharide was  $(92.6 \pm 4.72)$  mg/g by phenol-sulfuric acid assay, and selenium content of the polysaccharide was  $(17.8 \pm 2.05)$   $\mu$ g/kg by fluorescence spectrophotometry method. After further purified by DEAE-52 and Sephadex G-75 column chromatography, a white and flocculent polysaccharide was obtained. After hydrolysis with 2M trifluoroacetic acid, TLC plates was detected and high performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) was further analyzed. A comparative study of the two methods showed that the polysaccharide was composed of rhamnose, xylose, arabinose, glucose and galactose with a ratio of 3.21:8.36:5.63:0.96:1.82. The selenium polysaccharide exhibited typical absorption of polysaccharide characterized by Infrared spectroscopy (IR) spectroscopy; <sup>1</sup>H NMR and <sup>13</sup>C NMR analysis indicated that the structure of selenium polysaccharide was pyranoid glucan with  $\beta$ -glycosidic bond.

**Key words** Sour jujube, Selenium, Polysaccharide, High performance anion exchange chromatography, Infrared spectroscopy, Nuclear magnetic resonance

收稿日期: 2010-09-09 修回日期: 2010-11-22

\* 中国科学院知识创新项目(KZCX2-XB2-05-01)和“十一五”国家科技支撑计划资助项目(2008BAD98B08)

作者简介: 孙延芳, 讲师, 主要从事药用植物活性成分和天然药妆品研究, E-mail: katherineyfs@gmail.com

通讯作者: 梁宗锁, 教授, 博士生导师, 主要从事中草药规范化栽培理论与技术研究, E-mail: liangzs@ms.iswc.ac.cn

引言

酸枣(*Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chou)为鼠李科枣属植物,种仁入中药材<sup>[1-2]</sup>。果肉具有丰富的营养成分及保健作用<sup>[3-4]</sup>。硒是人体必需的微量元素,缺硒会导致多种疾病的发生<sup>[5]</sup>。目前,硒与人类健康关系,尤其是硒多糖引起了广泛关注。据报道硒多糖具有抗氧化、防癌、抗病毒和预防糖尿病等重要的药理活性<sup>[6-7]</sup>。尽管早期研究已报道酸枣果含有丰富的多糖和微量元素硒<sup>[8]</sup>,但未作详细的分析。本文对酸枣硒多糖进行纯化和光谱分析,从而为酸枣药理开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

野生酸枣于 2008 年 10 月采自陕西省延安市,由延安常泰药业有限公司鉴定,标本保存于陕西省中药指纹图谱与天然产物库研究中心。选取大小和颜色均匀、无机械损伤、无病虫害的成熟果实,用自来水洗去表面污物,剥离种核。果肉部分于 60℃干燥箱中干燥,粉碎过 80 目筛,密封于塑料袋备用。

单糖标准品(鼠李糖、木糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖)和标准葡聚糖系列(Sigma 公司);DEAE-52 纤维素和硅胶薄层板 GF<sub>245</sub>(Whatman 公司);葡聚糖凝胶 Sephadex G-25 和 Sephadex G-100 (Pharmacia 公司);透析袋,43 mm×27 mm(Sigma 公司)。

ICS-3000 型离子色谱仪(Dionex,美国);脉冲安培检测器(PAD);542 型自动进样器;ED50 电化学检测器;真空冷冻干燥仪(LMC-1);UV-2802H 型紫外分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司);薄层自动点样仪(Linomat 4);傅里叶红外光谱仪(Bruker,瑞士);双道原子荧光光度计(日本日立公司);AVANCE-500 核磁共振波谱仪(Bruker,瑞士)。

1.2 实验方法

1.2.1 多糖提取

将干燥的酸枣果粉用无水乙醇回流脱脂,自然风干。热水提取,体积分数为 95%乙醇沉淀,然后用丙酮洗涤,直至得到透明胶状多糖。将多糖配成质量分数为 2%的溶液,Sevag 法(正丁醇与氯仿体积比为 1:4)脱蛋白。经过上述处理的多糖溶液,置于半透膜透析袋中,然后悬浮于盛有去离子水的大烧杯中,磁力搅拌下透析 72 h,中间换水 3 次,以除去无机盐、色素和低聚糖等小分子杂质。最后将透

析液冷冻干燥即得酸枣果粗多糖。

1.2.2 多糖与硒含量测定

以葡萄糖为标准品,苯酚-硫酸法在波长 490 nm 处测定酸枣果粗多糖吸光度值<sup>[9]</sup>。根据标准曲线回归方程: $Y=0.3206+0.8635X$ ( $R=0.9987$ ),计算多糖含量。

硒含量测定采用硝酸-高氯酸法消解<sup>[10]</sup>。具体操作为:精确称取粗多糖样品 2.00 g 并置于 100 mL 三角瓶中,该操作重复 3 次,然后分别加入 15 mL 硝酸和 3 mL 高氯酸,盖上小漏斗,浸泡过夜。第二天电热板加热,有黄烟冒出,可适当调高温度但不超过 170℃,直到白烟冒出。消解后用质量分数为 3%稀盐酸冲洗三角瓶,定容到 25 mL 容量瓶中。硒标准储备液作对照,双道原子荧光光度法测定多糖中硒含量。

1.2.3 多糖纯化

粗多糖用少量 0.1 mol/L Tris-HCl(pH 值为 7.5)缓冲液溶解后,用胶头滴管加入 DEAE-52 纤维素柱(2.0 cm×30 cm),依次用 0.1 mol/L Tris-HCl 和 0.5 mol/L NaCl 溶液洗脱,自动收集仪分管收集。逐管用 5 mg/mL 麝香草酚溶液(0.5 g 麝香草酚,5 mL 浓硫酸,96%乙醇 95 mL 混合)显色检验。如果无红色洗脱液出现,证明 0.1 mol/L Tris-HCl 溶液洗脱干净,然后继续用 0.5 mol/L NaCl 溶液洗脱,麝香草酚溶液喷雾于 TLC 板,直至无棕色出现,证明洗脱完全。收集 0.5 mol/L NaCl 洗脱液,磁力搅拌下透析袋透析 12 h。透析液用冷冻干燥机冷冻干燥,得红色疏松多糖。该多糖经 Sephadex G-25 柱层析进一步纯化,0.5 mol/L NaCl 洗脱,自动收集仪分管收集,5 mg/mL 麝香草酚检验,透析,冷冻干燥,得白色絮状多糖。

1.2.4 多糖分析

(1) 薄层层析法

取 2 mg 纯化多糖溶于 2 mol/L 三氟乙酸(TFA)中,于 110℃氮气封管水解 8 h,加甲醇反复减压浓缩至干,以完全除去 TFA,残余物用 1 mL 水溶解,离心得上清液。用微量注射器吸取 20 μL 多糖水解液和混合单糖标准液,薄层自动点样机点样在 GF<sub>245</sub>硅胶薄层板上,展开剂乙腈和水体积比为 17:3。麝香草酚溶液喷雾显色,105℃干燥。

(2) 高效阴离子交换色谱法

采用 CarboPac PA20 色谱柱(3 mm×150 mm);流动相 A 为:200 mmol/L NaOH(20.8 mL 质量分数 50% NaOH 溶液用去离子水定容至 2 L 塑料淋洗液瓶中),流动相 B 为:10 mmol/L NaOH(1.0 mL 质量分数 50% NaOH 溶液用去离子水定容至 2 L 塑料淋洗液瓶中);洗脱程序为:0~40 min,100% A;40~

60 min,0% A。洗脱时间为 45 min;积分安培脉冲检测, $E_1=0.100\text{ V}$ , $E_2=-2.00\text{ V}$ , $E_3=0.600\text{ V}$ , $E_4=-0.10\text{ V}$ ;柱温  $30^\circ\text{C}$ ;柱压  $200\sim 2\,850\text{ Pa}$ ;流速  $0.4\text{ mL/min}$ 。Chromeleon 色谱工作站采集数据<sup>[11]</sup>。

### 1.2.5 多糖分子量测定

采用凝胶柱层析法测定多糖分子质量。称取已知分子量的 Dextran 系列各  $5.0\text{ mg}$ ,用  $0.1\text{ mol/L}$  NaCl 溶液溶解,分别加入 Sephadex G-100( $2.0\text{ cm}\times 60\text{ cm}$ )凝胶柱,然后再用  $0.1\text{ mol/L}$  NaCl 溶液洗脱,自动收集器收集,控制恒定流量为  $0.5\text{ mL/min}$ ,每管按  $5\text{ mL}$  收集。苯酚-硫酸法跟踪检测多糖分布,分别求得洗脱体积  $V_e$ 。然后用蓝色葡聚糖 T-2000( $5.0\text{ mg}$ )上柱,求得柱的外水体积  $V_0$ ,以  $V_e/V_0$  为纵坐标,标准葡聚糖分子量对数值  $\lg M$  为横坐标,求出标准曲线方程。最后取多糖纯品( $5.0\text{ mg}$ ),按与上述相同条件操作,求相应的洗脱体积,得  $V_e/V_0$  值,查标准曲线即可求得硒多糖的平均分子量。

### 1.2.6 红外光谱和核磁共振分析

将分离纯化后得到的多糖置于玛瑙研钵中,与 KBr 粉末混合研磨均匀,经压片机压成薄片,在波数  $4\,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$  范围内进行红外光谱扫描<sup>[12]</sup>。

取  $50\text{ mg}$  干燥硒多糖,溶于  $1.0\text{ mL D}_2\text{O}$  中,离心除去不溶物,加入核磁管中,室温测定  $^1\text{H NMR}$  和  $^{13}\text{C NMR}$  谱<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 酸枣果多糖纯化

干燥酸枣果粉经回流脱脂,热水浸提,乙醇沉淀得酸枣果粗多糖。苯酚-硫酸法测得粗多糖含量为  $(92.6\pm 4.72)\text{ mg/g}$ ;原子荧光光度计测多糖硒含量为  $(17.8\pm 2.05)\mu\text{g/kg}$ 。粗多糖经 Sevag 法脱蛋白,透析,冷冻干燥得红棕色多糖。然后经 DEAE-52 纤维素和 Sephadex G-25 凝胶柱层析,冷冻干燥得白色絮状硒多糖。该多糖易溶于水,水溶液为透明的黏稠状液体;不溶于丙酮、乙醇等有机溶剂。

### 2.2 多糖鉴定

纯化多糖经三氟乙酸水解,薄层层析结果如图 1 所示。与标准单糖对照可知,多糖是由鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖等单糖组成。并用高效阴离子色谱进行进一步鉴定,如图 2 所示,其结果与薄层层析一致,鼠李糖:阿拉伯糖:半乳糖:葡萄糖:木糖的摩尔比为  $3.21:8.36:5.61:0.96:1.82$ 。

### 2.3 多糖分子量测定

以  $V_e/V_0$  为纵坐标,  $\lg M$  为横坐标,得到 Dextran 系列分子质量标准曲线回归方程:  $Y=2.760\,3-0.914\,2X$  ( $R=0.999\,0$ )。将硒多糖相应的洗脱体积

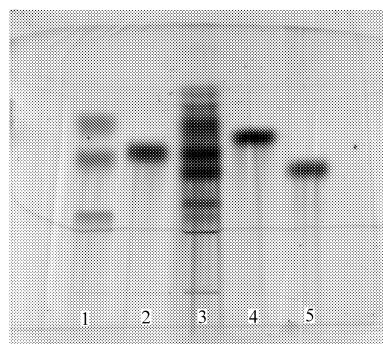


图 1 麝香草酚显色 TLC 分析酸枣果硒多糖组成  
Fig.1 Selenium polysaccharide composition of sour jujube fruits by using TLC with thymol reagent

1. 甘露糖、半乳糖、葡萄糖 2. 木糖 3. 酸枣果硒多糖 4. 鼠李糖 5. 阿拉伯糖

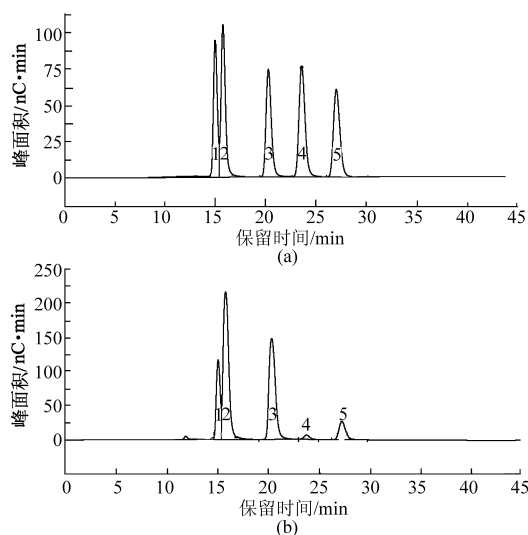


图 2 高效阴离子交换色谱分析硒多糖组成

Fig.2 Chromatograms from HPAEC-PAD analysis of selenium polysaccharide compared with standard sugar solution

(a) 标准单糖 (b) 酸枣果硒多糖

1. 鼠李糖 2. 阿拉伯糖 3. 半乳糖 4. 葡萄糖 5. 木糖

$V_e/V_0$  代入公式,求得硒多糖平均分子质量为  $63\,500$ 。

### 2.4 红外光谱测定

从红外光谱图(图 3)可知,硒多糖具有典型的多糖特征吸收峰,波数  $3\,422\text{ cm}^{-1}$  处有强的 O—H 伸缩振动,波数  $2\,938\text{ cm}^{-1}$  处有强的  $\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2$ 、 $\text{CH}$  等的 C—H 伸缩振动,波数  $1\,617\text{ cm}^{-1}$  处有 C=O 非对称的伸缩振动峰,波数  $1\,419$ 、 $1\,330\text{ cm}^{-1}$  处有 C—H 变角振动;波数  $1\,146$ 、 $1\,102$ 、 $1\,016$ 、 $918\text{ cm}^{-1}$  有吸收峰,为吡喃型糖环特征。在波数  $892\text{ cm}^{-1}$  处有吸收,表明该多糖由  $\beta$ -吡喃糖苷键连接。波数  $1\,617\text{ cm}^{-1}$  处的特征峰表示该多糖中存在酰胺基。

### 2.5 核磁分析

从  $^1\text{H NMR}$  分析(图 4),质子峰化学位移  $\delta$  小于  $5.0$ ,说明为  $\beta$ -型糖苷键。

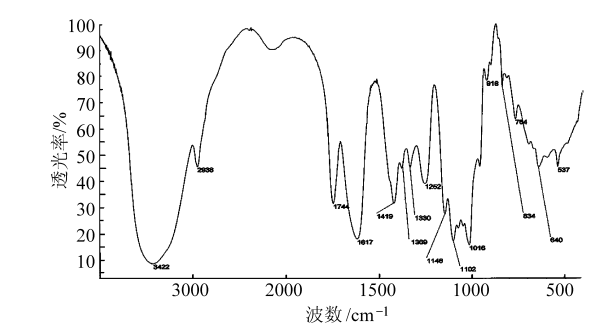


图3 硒多糖红外吸收光谱

Fig.3 Infrared absorption spectrum of selenium polysaccharide

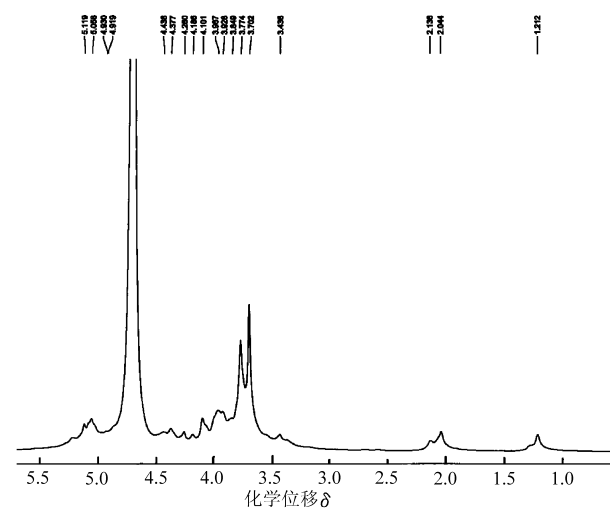


图4 硒多糖的<sup>1</sup>H NMR 谱图

Fig.4 <sup>1</sup>H NMR spectra of selenium polysaccharide

在<sup>13</sup>C NMR 谱(图5)中, $\delta = 99 \sim 107$  为异头碳区域, $\delta = 99.53$  和  $\delta = 100.09$  处分别为  $\beta$ -Rha 和  $\beta$ -Gla 的特征信号, $\delta = 61.49$  和  $\delta = 61.15$  为  $\beta$ -Glu 的特征信号。 $\alpha$ -D-葡聚糖的异头碳  $\delta < 103$ ,  $\beta$ -D-葡

聚糖的异头碳  $\delta > 103$ <sup>[14]</sup>,由于酸枣果多糖的异头碳  $\delta > 103$ ,因此可确定该多糖中的糖残基均呈  $\beta$  异头构型,这与红外光谱得出的结论一致。高场区中 $\delta = 20.21$  为鼠李糖 C6 位甲基的信号,低场区中 $\delta = 175.45$  和  $\delta = 171.02$  为半乳糖醛酸 C6 羧基的信号。

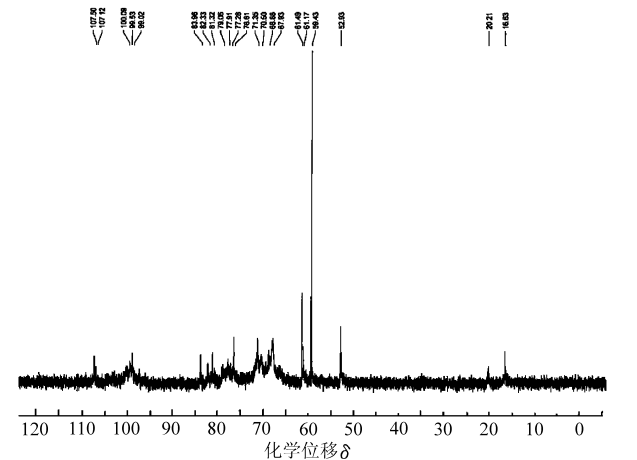


图5 酸枣果多糖的<sup>13</sup>C NMR 谱图

Fig.5 <sup>13</sup>C NMR spectra of selenium polysaccharide

### 3 结束语

采用水提醇沉法得到的酸枣果硒多糖,经脱蛋白,脱色,透析,柱层析纯化,冷冻干燥为白色絮状物。通过薄层层析和高效阴离子交换色谱分析,该多糖是由鼠李糖、木糖、阿拉伯糖、半乳糖和葡萄糖等单糖组成;红外光谱和核磁共振确定该多糖单糖间是以  $\beta$ -糖苷键连接的吡喃型葡聚糖。以上结果证明,该多糖是初次从酸枣果分离得到的一种新的多糖组分,其药理活性需要进一步研究。

### 参 考 文 献

- Johnston M C. The species of *Ziziphus* indigenous to United States and Mexico[J]. American Journal of Botany, 1963, 50(10): 1 020 ~ 1 027.
- 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2005: 255.
- Cheng G, Bai Y J, Zhao Y Y, et al. Flavonoids from *Ziziphus jujuba* Mill var. *spinose*[J]. Tetrahedron, 2000, 56(453): 8 915 ~ 8 920.
- Guo S, Tang Y P, Duan J A, et al. Two new terpenoids from fruits of *Ziziphus jujuba*[J]. Chinese Chemical Letters, 2009, 20(2): 197 ~ 200.
- 屈兰竺, 杨松杰, 嵇苏, 等. 微量必需元素硒的作用探析[J]. 中国农学通报, 2010, 26(7): 94 ~ 97.  
Qu Lanzhu, Yang Songjie, Zhuo Su, et al. Preliminary discussion on the effects of microelement selenium[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(7): 94 ~ 97. (in Chinese)
- 王振富. 恩施绿茶硒多糖对糖尿病模型大鼠血糖的影响[J]. 现代预防医学, 2010, 37(12): 2 320 ~ 2 322.  
Wang Zhenfu. Effects of enshi green tea selenium polysaccharideon on the serum glucose in experimental diabetic rats[J]. Modern Preventive Medicine, 2010, 37(12): 2 320 ~ 2 322. (in Chinese)
- 邓桂春, 侯松岫, 田冬梅, 等. 富硒蛹虫草中硒多糖的分离与分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(3): 522 ~ 525.  
Deng Guichun, Hou Songmei, Tian Dongmei, et al. Separation and determination of selenium polysaccharide in enriched-Se cordyceps militaris[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2006, 26(3): 522 ~ 525. (in Chinese)

近似接近  $E_r = 2.5 \text{ MPa}$ 。

(2) 在压缩载荷作用下, 果壳承受着较大的应力值, 果肉则承受着相对小的应力值。最大拉应力位置在施力点附近果壳上。

(3) 龙眼果壳破裂是龙眼宏观破坏的主要形式, 且裂纹从施力点附近开始, 沿施力方向扩展。最大拉应力是造成龙眼机械损伤的主要原因。

(4) 试验结果表明龙眼果壳宏观破裂位置和破裂方向与有限元分析一致。

参 考 文 献

1 王荣, 焦群英, 魏德强, 等. 葡萄的力学特性及有限元模拟[J]. 农业工程学报, 2005, 21(2): 7 ~ 10.  
Wang Rong, Jiao Qunying, Wei Deqiang, et al. Mechanical characteristics and the finite element analysis of grapes[J]. Transactions of the CSAE, 2005, 21(2): 7 ~ 10. (in Chinese)

2 李心平, 高连兴, 马福丽. 玉米种子力学特性的有限元分析[J]. 农业机械学报, 2007, 38(10): 64 ~ 67.  
Li Xinping, Gao Lianxing, Ma Fuli. Analysis of finite element method on mechanical properties of corn seed[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2007, 38(10): 64 ~ 67. (in Chinese)

3 曹玉华, 李长友, 卿艳梅, 等. 蓖麻蒴果力学特性的有限元分析[J]. 江苏大学学报: 自然科学版, 2010, 31(4): 383 ~ 387.  
Cao Yuhua, Li Changyou, Qing Yanmei, et al. Finite element analysis on mechanical properties of castor-capsule[J]. Journal of Jiangsu University: Natural Science Edition, 2010, 31(4): 383 ~ 387. (in Chinese)

4 张荣荣, 李小昱, 王为, 等. 基于有限元方法的板栗破壳力学特性分析[J]. 农业工程学报, 2008, 24(9): 84 ~ 87.  
Zhang Rongrong, Li Xiaoyu, Wang Wei, et al. Analysis of mechanical properties of Chinese chestnut cracking based on the FEM[J]. Transactions of the CSAE, 2008, 24(9): 84 ~ 87. (in Chinese)

5 Cardenas M. Weben, Stroshine R L, et al. Melon material properties and finite element analysis of melon compression with application to robot gripping [J]. Transactions of the ASAE, 1991, 34(3): 920 ~ 929.

6 卿艳梅, 曹玉华, 李长友, 等. 龙眼鲜果剥壳力学特性[J]. 农业工程学报, 2010, 26(5): 122 ~ 126.  
Qing Yanmei, Cao Yuhua, Li Changyou, et al. Experimental study on mechanical properties of fresh longan hulling[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2010, 26(5): 122 ~ 126. (in Chinese)

7 卿艳梅, 李长友, 曹玉华, 等. 龙眼力学参数测试与分析[J]. 农业机械学报, 2010, 41(8): 131 ~ 134.  
Qing Yanmei, Li Changyou, Cao Yuhua, et al. Test and analyse on macromechanic parameters of longan[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(8): 131 ~ 134. (in Chinese)

8 Tirupathi R Chandrupatla, Ashok D Belegundu. 工程中的有限元方法[M]. 曾攀, 译. 北京: 清华大学出版社, 2006: 2 ~ 8, 49, 117 ~ 128.

9 周祖饬. 农业物科学[M]. 北京: 农业出版社, 1994.

(上接第 151 页)

8 郎杰, 崔娜, 张金良, 等. 酸枣果肉多糖的提取工艺和抗氧化研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(12): 259 ~ 261.  
Lang Jie, Cui Na, Zhang Jinliang, et al. Study on extracting conditions and antioxidation of polysaccharides in wild jujube [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(12): 259 ~ 261. (in Chinese)

9 Tatsuya M, Akio M, Norimasa I. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format[J]. Analytical Biochemistry, 2005, 339(1): 69 ~ 72.

10 Adriana P O, José A G N, Joaquim A N. Determination of selenium in nutritionally relevant foods by graphite atomic absorption spectrometry using arsenic as internal standard[J]. Food Chemistry, 2005, 93(2): 355 ~ 360.

11 Cai Y Q, Liu J S, Shi Y L, et al. Determination of several sugars in serum by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection[J]. Journal of Chromatography A, 2005, 1085(1): 98 ~ 103.

12 Jiang G X, Prasad N K, Jiang Y M. Extraction and structural identification of alkali-soluble polysaccharides of longan fruit pericarp[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2009, 10(4): 638 ~ 642.

13 Maria M C, Cristina D C, Teresa N, et al. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR characterization and secondary structure of the K2 polysaccharide of Klebsiella pneumoniae strain 52145[J]. Carbohydrate Research, 2005, 340(26): 2 212 ~ 2 217.

14 石磊, 陈靠山, 董群, 等. 拓树根多糖的分离纯化及结构表征[J]. 高等学校化学学报, 2007, 28(6): 1 088 ~ 1 091.  
Shi Lei, Chen Kaoshan, Dong Qun, et al. Separation, purification and structure characterization of polysaccharide from roots of *Cudrania tricuspidata* (carr.) bur. [J]. Chemistry Journal Chinese Universities, 2007, 28(6): 1 088 ~ 1 091. (in Chinese)