

气相色谱柱前衍生化测定竹叶多糖 超临界 CO₂ 提取物

任美玲¹, 吕兆林^{2,*}, 欧阳屹林¹, 林 西¹, 张柏林¹

(1.北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; 2.北京林业大学分析测试中心, 北京 100083)

摘 要: 对毛竹(*Phyllostachys heterocycla*)、苦竹(*Pleioblastus amarus*)、绿竹(*Dendrocalamopsis oldhami*)及黄甜竹(*Acidosasa edulis*)4个种的竹子竹叶多糖进行研究。采用超临界 CO₂ 流体高效萃取竹叶多糖, 以体积分数为 75% 的乙醇溶液为夹带剂, 萃取釜温度 50℃, 萃取压力 40MPa, 夹带剂用量与竹叶的质量的比为 3:1(mL/g), 采用静态萃取与动态萃取兼顾的提取方式, 萃取时间各 1h, 其中, 绿竹叶(均以干叶计算)中多糖含量最高(16.585mg/g), 其次是黄甜竹(12.804mg/g)、毛竹(8.255mg/g)、苦竹(6.329mg/g)。并对 4 个种的竹叶多糖经三氟乙酸水解、乙酰化和气相色谱分析, 研究其单糖的物化特征, 结果表明, 4 个种的竹叶多糖中均含甘露糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和岩藻糖, 毛竹、绿竹、苦竹叶中葡萄糖含量较高, 黄甜竹叶中半乳糖较高, 绿竹叶中的葡萄糖含量可达 2.345mg/g, 半乳糖含量可达 1.432mg/g, 这两种单糖的含量在 4 个种的竹叶中最高。

关键词: 超临界 CO₂ 流体萃取; 竹叶多糖; 气相色谱; 柱前衍生化; 单糖特征

Supercritical CO₂ Fluid Extraction and Pre-column Derivatization GC Analysis of Polysaccharides Bamboo Leaf Polysaccharides in a Static-dynamic Mode

REN Mei-ling¹, LÜ Zhao-lin^{2,*}, OUYANG Yi-lin¹, LIN Xi¹, ZHANG Bo-lin¹

(1. College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2. Analysis Center, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Static-dynamic supercritical CO₂ fluid extraction was carried out at 50 °C and 40 MPa for 1 h in each mode using 75% ethanol as the entrainer for extracting Bamboo polysaccharides from the leaves of *Phyllostachys heterocycla*, *Pleioblastus amarus*, *Dendrocalamopsis oldhami*, and *Acidosasa edulis* at an entrainer-to-material ratio of 3:1 (mL/g). The polysaccharide contents of the leaves of *Phyllostachys heterocycla*, *Pleioblastus amarus*, *Dendrocalamopsis oldhami*, and *Acidosasa edulis*, as calculated based on a dry matter basis, were 16.585, 12.804, 8.255 mg/g and 6.329 mg/g, respectively. The polysaccharide samples obtained were hydrolyzed with trifluoroacetic (TFA), acetylated and analyzed for monosaccharide composition by gas chromatography. Each polysaccharide contained mannose, rhamnose, galactose, glucose, arabinose, xylose and fucose. The predominant saccharide was glucose in *D. oldhami*, *P. amarus* and *P. heterocycla* and galactose in *A. edulis*. *D. oldhami* leaves contained 2.345 mg/g glucose and 1.432 mg/g and galactose, both of which were the most predominant monosaccharides in the four species of bamboo leaves.

Key words: supercritical fluid extraction; bamboo polysaccharides; gas chromatography; pre-column derivatization; monosaccharide composition

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)06-0215-05

竹子是禾本科(Poaceae)竹亚科(Bambusoideae)多年生常绿植物, 中国是世界上竹类资源最丰富的国家之

一, 现有竹林面积约 500 万 hm², 占世界第一位^[1-3]。竹叶多糖(bamboo polysaccharides, BPS)是一种中等相对

收稿日期: 2011-04-12

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAD19B08); 国家林业公益性行业科研专项(200904014)

作者简介: 任美玲(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物提取与加工利用。E-mail: renmeiling0617@163.com

* 通信作者: 吕兆林(1971—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为天然产物提取与加工利用。E-mail: zhaolinlv@bjfu.edu.cn

分子质量的杂多糖^[4]，作为药用开始于1943年，诸多研究者对竹叶多糖进行了深入研究，证实竹叶多糖具有明显的药用效果，竹叶活性多糖有抗癌活性，抗氧化作用和免疫调节等作用^[5-10]。

以往研究者对竹叶多糖的提取多采用水提法，微波法，超声波法等。伊长文等^[11]对苦竹叶多糖水提工艺进行了研究，周跃斌等^[12]比较了水提法、超声波提取和微波提取3种方法对毛竹叶多糖提取率的影响，这些传统的提取方法往往提取效率低、费时、会导致竹叶多糖分解等不理想的提取结果。

超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SFE)是利用流体在临界点附近所具有的特殊性质而形成的一系列应用技术^[13-14]。超临界二氧化碳流体具有液体的高密度、气体的低黏度，可以和样品充分的接触，最大限度的发挥其溶解能力，采用在超临界CO₂系统中加入适宜的夹带剂或改性剂(如甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、水等)可以改善对极性较强、分子量较大的物质的提取效率，使得难以提取的多糖等强极性物质的超临界CO₂提取成为可能^[15]。虽然利用超临界CO₂流体萃取技术萃取某些植物多糖的研究已有报道^[16-19]，但采用超临界CO₂流体萃取技术萃取竹叶多糖的研究还未见报道。

本实验以高效制备竹叶多糖为研究目标，采用添加夹带剂的超临界CO₂萃取方式提取竹叶多糖，基于种植面积较大、数量较多的竹种，选择禾本科竹亚科刚竹属的毛竹、禾本科大明竹属的苦竹、禾本科绿竹属的绿竹以及竹亚科酸竹属的黄甜竹4个种的竹叶为实验材料^[20-22]，利用超临界二氧化碳提取工艺提取竹叶多糖，对得到的竹叶多糖提取物先经三氟乙酸水解，再与乙酸酐进行柱前衍生化反应，通过毛细管柱气相色谱仪，外标法定量研究4种竹叶多糖水解得单糖的物性特征，所得数据资料旨在为合理利用生物量丰富的竹叶资源及制备高含量竹叶多糖提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

毛竹、绿竹、苦竹、黄甜竹竹叶均采自福建省南屏市延平区樟湖镇，竹种经中国科学院西双版纳植物园张清研究员鉴定，自然晒干，用万能粉碎机粉碎成20目的竹叶粉，密封于塑料袋中，4℃冰箱保存，备用。

甲醇、乙醇、二氯甲烷、二甲基亚砜、硫酸、葡萄糖、乙酸酐 北京化工厂；1-甲基咪唑 阿法埃莎化学有限公司；硼氢化钠、L-鼠李糖、D-半乳糖、D-阿拉伯糖、D-甘露糖、D-岩藻糖 国药集团化学试剂有限公司；蒽酮 北京金龙化学试剂有限公司；三氟乙酸 北京市兴津化工厂。以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

SFE-2超临界CO₂流体萃取仪 美国ASI公司；GC-2010气相色谱仪、UV-120-02紫外分光光度计 日本Shimadzu公司；EV311旋转蒸发仪 北京莱博泰克仪器公司。

1.3 方法

1.3.1 超临界CO₂流体萃取竹叶多糖

选用1L的萃取釜，安装萃取釜一端接口，依次将过滤片，脱脂棉放入萃取釜，称取20目的竹叶粉末200g放入萃取釜内，再加入体积分数为75%的乙醇溶液600mL，而后，将过滤棉、过滤片依次放入萃取釜内，放好垫圈拧好釜盖。将装好的萃取釜固定在加热箱内(注意：系统中所有排气阀门都应在关闭状态)，拧紧两端接头，把热电偶固定在萃取釜上，关好加热箱。打开电源，等到萃取釜温度达到设定值时打开进气阀进行压力调节，当萃取釜温度50℃、压力40MPa时，开始静态萃取，静态萃取时间为1h，打开收集阀加热开关，达到设定温度后，打开输出调节阀进行动态萃取和收集，动态萃取时间为1h，竹叶多糖萃取液用回收瓶收集，并将回收瓶内的竹叶多糖萃取液减压浓缩，除去乙醇，真空冷冻干燥，即得竹叶多糖。

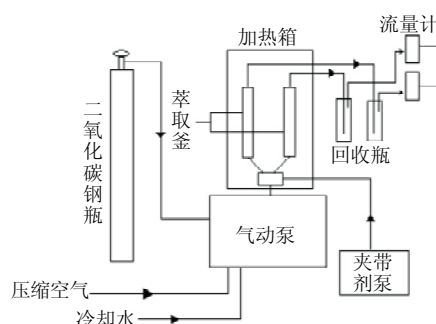


图1 SFE-2超临界CO₂流体萃取设备示意图

Fig.1 Schematic diagram of SFE-2 supercritical carbon dioxide fluid extraction equipment

1.3.2 竹叶多糖含量测定^[23]

葡萄糖标准曲线的绘制：取7个大试管，分别加入0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.6、0.8mL葡萄糖标准溶液(100μg/mL)，用蒸馏水补至1mL，每支试管立即加入蒽酮试剂(0.2g蒽酮溶于100mL浓硫酸中，现用现配)4.0mL，迅速浸于冰水浴中冷却，7支试管都加完蒽酮溶液后一起浸于沸水浴中，管口加回流漏斗防止蒸发。自水浴沸腾起准确计时煮沸10min，之后用流动水冷却，室温放置10min，620nm波长下比色测定吸光度(A)，绘制标准曲线。

可溶性多糖含量测定：准确称取竹叶多糖提取物 50mg，溶于 5mL 30% 乙醇溶液中，根据需要可将溶液稀释一定的倍数(将多糖溶液稀释 100 倍)，取 1mL 上述稀释液，每支试管立即加入蒽酮试剂 4.0mL，迅速浸于冰水浴中冷却，所有试样加完蒽酮溶液后一起浸于沸水浴中，管口加回流漏斗防止蒸发。自水浴沸腾起准确计时煮沸 10min，之后用流动水冷却，室温放置 10min，620nm 波长下比色测定 A ，利用标准曲线可以计算出测定液中多糖质量浓度(C)，并利用下述公式可计算出竹叶提取物中多糖含量。

$$\text{竹叶多糖含量}/\% = \frac{C(\mu\text{g/mL}) \times 5\text{mL} \times 5 \times 100 \times 10^{-6}\mu\text{g}}{0.05\text{g}} \times 100$$

1.3.3 GC 柱前衍生化研究竹叶多糖中单糖的物化特征

1.3.3.1 竹叶多糖水解溶液的制备

精密称取竹叶多糖 50mg，置于具塞试管中，加入 4mol/L 三氟乙酸 2mL，放入烘箱中，120℃ 水解 2h，取出试管，冷却至室温，加入无水甲醇减压蒸馏(水浴温度 40℃、真空度为 0.09MPa)，脱除三氟乙酸，得竹叶多糖水解溶液。每种竹叶样品重复 3 次。

1.3.3.2 标准单糖混合液的制备

甘露糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和岩藻糖 7 种单糖标准样品各称取 10mg，混合溶解在 10mL 容量瓶中，之后用水将混合液浓度稀释为 5.00、3.00、2.00、1.50、1.00、0.50、0.25mg/mL。

1.3.3.3 柱前衍生化^[24-25]

分别取标准单糖混合液 10 μ L 及 1.3.3.1 节制得的竹叶多糖水解溶液，加入硼氢化钠溶液 2mL，42℃ 振荡反应 90min，反应完成后冷却至室温，加入乙酸约 0.5mL，加入 50 μ L 1-甲基咪唑，1mL 乙酸酐，室温反应 10min，向体系中加入 8mL 水，冷却至室温，再加入 4mL 二氯甲烷，漩涡振荡，弃去上层水相，二氯甲烷相减压蒸馏，剩余溶液定容到 0.5mL，吸取 1 μ L 供气相色谱(gas chromatography, GC)测试。

1.3.3.4 气相色谱条件

色谱柱：Rtx-5 石英毛细柱(30m \times 0.25mm, 25 μ m)；升温程序：80℃ 以 20℃/min 升至 180℃，以 1℃/min 升至 192℃，保持 5min，以 5℃/min 升至 240℃，以 30℃/min 升至 280℃，保持 5min；FID 检测器温度为 300℃；进样口温度为 280℃；H₂ 流速 30mL/min；N₂ 流速 30mL/min；空气流速 300mL/min；分流比为 20:1；进样量为 1 μ L。

1.4 数据统计

以 SAS 作统计学分析，实验数据以“平均数 \pm 标准差”($\bar{x} \pm s$)表示，采用 t 检验，显著性标准取 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 超临界 CO₂ 流体萃取竹叶多糖

以葡萄糖为标定多糖含量的标准物质，葡萄糖质量浓度与吸光度的关系曲线回归方程： $y = 30.065x + 0.0872$ [x 为吸光度； y 为葡萄糖标准溶液的质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)]，相关系数 $R^2 = 0.9992$ 。实验表明标准葡萄糖在 8~24 μg 之间呈良好的线性关系。

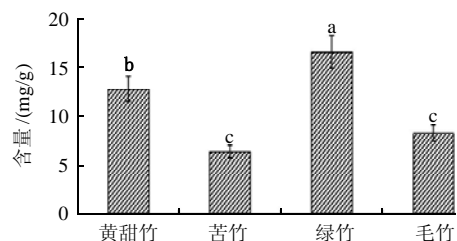
2.1.1 4 个种的竹叶多糖提取率

采用超临界 CO₂ 提取竹叶中的多糖，冷冻干燥后的 4 个种的竹叶多糖的实物得率分别为毛竹 4.283%、苦竹 4.755%、绿竹 6.816%、黄甜竹 5.498%，4 个种的竹叶多糖超临界 CO₂ 提取物多糖含量：毛竹 13.311%、苦竹 24.333%、绿竹 29.894%、黄甜竹 15.014%。以往周跃斌等^[12]采用水提法、超声波提取和微波提取法 3 种方法提取毛竹叶多糖，3 种提取方法的得率分别为水提法 0.574%，超声波提取法 0.696%，微波提取法 0.563%，数据证明，超临界 CO₂ 流体提取多糖的提取率远远高于水提法，超声波法及微波法，这些传统的提取方法提取效率较低、且费时。

本研究所用的超临界 CO₂ 流体制备竹叶多糖的方法，出于从食品安全角度考虑，采用的夹带剂是乙醇-水体系，实现了整个工艺过程的无污染操作。在超临界 CO₂ 流体萃取竹叶多糖的过程中采用静态萃取与动态萃取兼顾的萃取方法，不仅萃取效率高，而且节省 CO₂ 气源与能源。

2.1.2 4 个种的竹叶多糖含量

通过葡萄糖标准曲线及竹叶多糖计算公式计算得到干竹叶中竹叶多糖的含量，结果见图 2。4 个种的竹叶中绿竹的多糖含量最高为 16.585mg/g，其次是黄甜竹为 12.804mg/g，毛竹为 8.255mg/g，苦竹为 6.329mg/g。绿竹、黄甜竹与毛竹多糖含量差异显著($P < 0.05$)，绿竹、黄甜竹与苦竹多糖含量差异显著($P < 0.05$)，苦竹与毛竹多糖含量差异不显著性($P > 0.05$)。



a~c 不同字母表示差异显著， $P < 0.05$ 。

图 2 4 个种的竹叶中多糖含量

Fig.2 Polysaccharide contents in four species of bamboo leaves

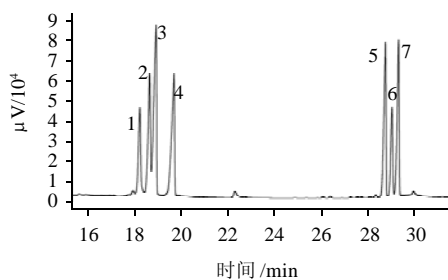
2.2 竹叶多糖单糖物化特征

2.2.1 7种单糖外标定量线性关系

以对照品质量浓度(x)为横坐标、色谱峰峰面积($y/10^6$)为纵坐标绘制标准曲线。表1列出了7种单糖标准品衍生物的线性方程及线性相关系数。实验表明7种单糖在0.25~5.00mg/mL之间呈良好的线性关系,符合定量的要求。图3为7种单糖标准品混合样GC图谱。

表1 7种单糖的线性关系
Table 1 Regression equations for seven monosaccharides

单糖种类	线性关系	相关系数(R^2)
鼠李糖	$y = 4.41871x - 2.91544$	0.9934
岩藻糖	$y = 5.30687x - 3.38216$	0.9937
阿拉伯糖	$y = 7.77205x - 5.03246$	0.9939
木糖	$y = 5.43331x - 2.33995$	0.9944
甘露糖	$y = 6.40890x - 1.79619$	0.9921
葡萄糖	$y = 2.11239x - 0.76921$	0.9961
半乳糖	$y = 3.39309x - 1.30375$	0.9964



1. 鼠李糖; 2. 岩藻糖; 3. 阿拉伯糖; 4. 木糖; 5. 甘露糖; 6. 葡萄糖; 7. 半乳糖。

图3 7种单糖标准品混合样GC图谱

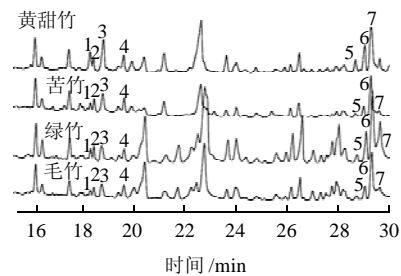
Fig.3 GC chromatogram of a mixture of 7 monosaccharide standards

色谱条件连续进样5次,测定鼠李糖、岩藻糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖面积的RSD值分别为3.660%、4.399%、4.600%、3.827%、3.635%、

3.991%、2.041%及保留时间的RSD值为0.016%、0.034%、0.050%、0.045%、0.027%、0.022%、0.036%。

2.2.2 4个种的竹叶多糖中单糖物化特征

通过超临界CO₂流体萃取竹叶多糖,并将竹叶多糖水解、柱前乙酰化后用气相色谱仪进行测试,得到的4个种的竹叶多糖水解液衍生物色谱图,见图4。



1. 鼠李糖; 2. 岩藻糖; 3. 阿拉伯糖; 4. 木糖; 5. 甘露糖; 6. 葡萄糖; 7. 半乳糖。

图4 竹叶多糖水解液衍生物色谱图

Fig.4 GC chromatograms of monosaccharides from four species of bamboo leaves

由图4可知,4个种的竹叶多糖水解后均含甘露糖、鼠李糖、半乳糖、葡萄糖、阿拉伯糖、木糖和岩藻糖7种单糖。竹叶多糖水解物除了含有上述7种单糖组分外,还有一些未知组分存在,分析原因可能是竹叶多糖是由超临界二氧化碳提取得到的未经过纯化的混合物,混合物中除了含有多糖还有可能含有其他类型的化合物,也会随着水解、衍生化,并进入气相色谱,产生信号。这些未知色谱峰的存在并不影响对单糖的研究,后续工作中也可以对未知化合物做进一步的研究。

由表2可见,不同品种的竹叶单糖组成主要为葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、岩藻糖、鼠李糖、及少量木糖和甘露糖。不同品种的竹叶总单糖含量范围在2.316~6.396mg/g。其中绿竹总单糖含量最高,为

表2 4个种的竹叶单糖面积归一相对含量
Table 2 Monosaccharide composition of four species of bamboo leaves

项目	鼠李糖	岩藻糖	阿拉伯糖	木糖	甘露糖	葡萄糖	半乳糖	7种单糖含量之和/(mg/g)
黄甜竹								
单糖含量/(mg/g)	0.299	0.319	0.286	0.216	0.140	0.350	0.703	
相对含量/%	12.932	13.777	12.356	9.368	6.066	15.120	30.382	2.316
苦竹								
单糖含量/(mg/g)	0.366	0.495	0.365	0.285	0.195	0.861	0.272	
相对含量/%	12.912	17.423	12.850	10.045	6.872	30.319	9.580	2.841
绿竹								
糖含量/(mg/g)	0.623	0.611	0.554	0.447	0.381	2.345	1.432	
相对含量/%	9.749	9.558	8.675	6.996	5.964	36.663	22.395	6.395
毛竹								
单糖含量/(mg/g)	0.400	0.614	0.365	0.325	0.314	1.425	0.374	
相对含量/%	10.490	16.090	9.55	8.518	8.243	37.301	9.802	3.821

6.396mg/g, 其次为毛竹 3.821mg/g、苦竹 2.841mg/g、黄甜竹 2.316mg/g。在苦竹、绿竹、毛竹竹叶多糖中葡萄糖相对含量最高, 在 30.3%~37.3% 之间, 黄甜竹竹叶中半乳糖含量最高为 30.4%。绿竹中葡萄糖与半乳糖含量较高, 二者之和占 7 种单糖总量的 58%。上述数据可以为筛选适宜的竹叶原料提供依据。

3 结 论

3.1 采用静态萃取与动态萃取兼顾的超临界 CO₂ 流体提取竹叶中的多糖, 竹叶多糖的实物得率 4.283%~6.816%, 提取物多糖含量 13.31%~29.89%。超临界 CO₂ 流体提取竹叶多糖, 具有提取效率高、无污染、成本低的优点。

3.2 4 个种的竹叶单糖组成主要为葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖、岩藻糖、鼠李糖、及少量木糖和甘露糖, 单糖含量为 2.315~6.395mg/g。苦竹、绿竹、毛竹中葡萄糖的含有量较大, 黄甜竹竹叶中半乳糖含量较大, 绿竹叶中的葡萄糖含有量较高。

参考文献:

- [1] 刘翠. 竹叶资源研究进展及开发利用[J]. 林业建设, 1999(6): 10-14.
- [2] 傅懋毅, 杨校生. 我国竹类研究展望和竹林生境利用[J]. 竹子研究汇刊, 2003, 22(2): 1-8.
- [3] 吕兆林, 李月琪, 秦娇, 等. 毛竹叶挥发油的提取方法[J]. 北京林业大学学报, 2008, 30(4): 135-139.
- [4] 王伟. 竹叶多糖提取分离及检测技术研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2006.
- [5] SHEARM J, TURNER F C, PERRAULTA, et al. Chemical treatment of tumors (V). Isolation of the hemorrhage-producing fraction from *Serratia marcescens* (*Bucillus prodigiosus*) culture filtrate[J]. Nat Cancer Inst, 1943, 4: 81-97.
- [6] NAKAHARAW, FUKUOKA F, MAEDA Y, et al. The host-mediated antitumor effect of some plant polysaccharides[J]. Gann, 1964, 55: 283-288.
- [7] 张英. 天然功能性添加剂 - 竹叶提取物[J]. 精细与专用化妆品, 2002(7): 20-23.
- [8] 刘卫军, 顾振纶, 周文轩, 等. 植物多糖抗肿瘤活性研究进展[J]. 中国野生植物资源, 1997(1): 1-3.
- [9] 唐莉莉, 丁霄霖. 竹叶多糖的分离提取及其生物活性研究[J]. 食品研究与开发, 2000, 21(1): 8-10.
- [10] 陈秀英. 竹叶中主要营养成分的比较研究[J]. 山西食品工业, 2003(4): 28-30.
- [11] 伊长文. 苦竹叶多糖提取工艺的探讨[J]. 农产品加工: 学刊, 2008(10): 25-27.
- [12] 周跃斌, 王伟. 竹叶多糖提取条件的优化[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2006, 32(2): 206-209.
- [13] 廖传华, 黄振仁. 超临界 CO₂ 流体萃取技术: 工艺开发及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 52-71.
- [14] 朱自强. 超临界流体技术: 原理和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 3.
- [15] 吕兆林, 王骏. 超临界 CO₂ 萃取油松针叶萜烯化合物的方法研究[J]. 北京林业大学学报, 2006, 28(4): 155-158.
- [16] 赵子剑, 连琰. 正交实验法优化二氧化碳超临界流体萃取茯苓多糖工艺参数[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(7): 1628-1629.
- [17] 王大为, 单玉玲. 超临界 CO₂ 萃取对蒙古口蘑多糖提取率的影响[J]. 食品科学, 2006, 27(3): 107-110.
- [18] YING Xiea, PENG Jinyong. Chemical composition and antioxidant activity of volatiles from *Patrinia villosa* Juss obtained by optimized supercritical fluid extraction[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2008, 48(3): 796-801.
- [19] WANG Lijun, WELLER C L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants[J]. Trends in Food Science & Technology, 2006, 17(6): 300-312.
- [20] 胡明芳. 福建竹类植物生物多样性的现状、保护和利用[J]. 竹子研究汇刊, 2002, 21(4): 33-38.
- [21] 梁春元. 黄甜竹的开发利用及其栽培技术[J]. 福建农业科技, 2006(3): 37-38.
- [22] 朱勇. 中国绿竹文献研究[J]. 世界竹藤通讯, 2008, 6(4): 32-34.
- [23] 林颖, 吴敏刘, 吴雯, 等. 天然产物中的糖含量测定方法正确性研究[J]. 天然产物研究与开发, 1996, 8(3): 5-9.
- [24] SUDHAMANI S R, THARANATHAN R N. Isolation and characterization of an extracellular polysaccharide from *Pseudomonas caryophylli* CFR1705[J]. Carbohydrate Polymers, 2004, 56(4): 423-427.
- [25] BLAKENEY A B, HARRIS P J, HENRY et al. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis[J]. Carbohydr Res, 1983, 113(2): 291-299.