

〈综述〉

核磁共振技术在食用菌多糖结构分析中的作用 *

杜秀菊^{1,2}, 张劲松^{1**}, 潘迎捷³

(1.上海市农业科学院天然药用资源研究开发中心, 上海市农业科学院食用菌研究所, 上海 201106;
2.聊城大学生命科学学院, 山东 聊城 252059; 3.上海海洋大学, 上海 200090)

摘要: 食用菌多糖具有多种生物活性。研究多糖的结构有助于揭示多糖的构效关系。多糖的结构包括一级结构和空间结构。阐述了核磁共振波谱技术 (尤其是 2D-NMR) 在多糖结构鉴定中的作用, 提供了多糖链中单糖残基的组成、单糖残基的连接位置和连接顺序、糖环构型和糖苷键构型等结构上的信息。核磁共振波谱技术在多糖结构分析中将发挥着越来越重要的作用。

关键词: 核磁共振技术; 结构分析; 多糖; 综述

中图分类号: S646.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-8310 (2010) 01-0003-05

Application of the NMR Techniques in Structural Analysis of Polysaccharide from Edible Fungi

DU Xiu-ju^{1,2}, ZHANG Jing-song¹, PAN Ying-jie³

(1.Research Center of Natural Medicinal Resource of Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Edible Fungi Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106; 2.College of Life Science, Liaocheng University, Liaocheng Shandong 252059; 3.Shanghai Ocean University, Shanghai 200090)

Abstract: Polysaccharide from edible fungi had a range of biological activities. Structural analysis of polysaccharide from edible fungi could reveal their structure-activity relationships. The applications of NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spectroscopy, including one-dimensional NMR (1D-NMR) and 2D-NMR (COSY, TOCSY, ROESY, NOESY, HMQC, HSQC and HMBC) for the structural analysis of polysaccharides were reviewed in this article. These technologies can provide information about monosaccharide composition of polysaccharides, residues sequence and their positions in glucosidic bond, linkage types, configuration of glycosyl-residues and so on. The NMR techniques will play more and more important role in analysis of polysaccharide structure.

Key words: NMR; Structural analysis; Polysaccharide; Review

自从德国科学家 E.Fischer 开始糖的研究距今已有 100 多年的历史了。糖类科学几乎与蛋白质科学同时诞生。但由于长期以来人们普遍认为多糖主要作为能量资源和结构材料存在于生物体内, 加之糖类的结构复杂、分离纯化困难, 所以多糖的研究远远滞后于蛋白质与核酸。近年来, 由于多糖多方面生物功能的新发现^[1-3], 加之分离、纯化、组分测定和结构分析技术的长足进步, 多糖的研究越来越受到重视, 已逐渐成为中药研究领域的一个热点。食用菌多糖的多种功能与其结构有着密切的关系, 深入研究多糖

的结构、生物活性以及构效关系, 可大大推动食用菌多糖类新药的研究与开发。

食用菌多糖是一种扶正固本的天然药物, 被称为生物应答调节剂 (Biological Response Modifier, BRM), 多糖是主要的活性成分之一, 其结构分析是一项具有挑战性的工作, 主要包括: 单糖残基数目的确定及糖单元组成、糖链连接类型和连接顺序、糖苷键构型和糖环构型等几个方面, 目前采用的方法主要有经典的化学方法、生物学方法和物理学方法等三大类。自从上世纪 70 年代核磁共振

* 项目来源: 基金项目, 国家科技部自然科学基金项目 (2006BAD06B08)。

作者简介: 杜秀菊 (1968-), 副教授, 主要从事天然产物活性成分的提取、分离纯化和结构鉴定和生物活性的研究。E-mail: wyxx2008@163.com

** 通讯作者

收稿日期: 2009-11-20

(Nuclear Magnetic Resonance, NMR) 被引入到多糖研究领域,特别是高频核磁共振技术和傅立叶核磁共振技术的出现,物理学方法中的核磁共振波谱技术为多糖的结构解析工作提供了一条快速而有效的途径,已逐渐成为了食用菌多糖结构研究分析中强有力的工具。现将近年来核磁共振波谱技术在食用菌多糖结构分析中的作用归纳为以下几个方面。

1 糖残基数的确定

食用菌多糖的残基数目,可以通过 ^1H NMR的异头氢和 ^{13}C MR的异头碳的数目来确定。在 ^1H NMR中,一般在异头氢质子区 δ 4.3~5.9有几个信号,表示有几种单糖组成,而且各信号的线宽和积分常用于区别糖单元的类型和各残基的相对含量,但要注意处于异头质子区的不一定都是异头氢的信号,比如乙酰化质子在C2~C6位置的信号也往往出现在异头质子区内,同时 ^1H NMR的信号分辨率低,重叠严重,容易造成假象,所以不能仅凭此绝对确定糖残基数; ^{13}C NMR的化学位移范围较 ^1H NMR宽,达到 δ 200左右,其中异头碳的共振信号一般在 δ 90~112,一般情况下可以根据这一范围内峰的个数确定糖残基的数目,因为通常所说的 ^{13}C NMR图谱是全去耦碳谱,每一种化学等价的碳原子只有一条谱线,因而谱图很少重叠,但应注意由于Overhauser效应,峰高与碳原子含量并不严格成比例^[4],所以利用峰高估算糖残基比例时只可以作为参考^[5,6]。若要进一步确定糖残基数目,还要结合二维谱中的COCY和HMQC。这是因为,一维图谱中只有一个时间变量,在组成复杂、分子量较大的多糖中,相同原子的化学环境差别不大,得到的信号会有重叠(尤其是 ^1H NMR信号重叠严重),相比之下,二维图谱是有两个时间变量,经两次傅里叶变换得到两个独立的频率变量的谱图,可以使难以辨认的信号得到确认,在分析确定糖残基数目上占有很大优势。

2 糖环构型的确定

食用菌多糖的糖环构型包括吡喃型和呋喃型两大类,其中吡喃构型又分葡萄糖构型(葡萄糖和异鼠李糖)、半乳糖构型(半乳糖和岩藻糖)和甘露糖构型(甘露糖和鼠李糖)。食用菌多糖糖环构型的确定可以通过:依据 ^1H NMR图谱数据,呋喃糖异头氢的化学位移为 δ 5.4左右,同时 $J_{1,2}<2\text{ Hz}$,这是呋喃糖环区别吡喃糖环的主要特征^[7];依据 ^{13}C NMR谱数据,一般来说,呋喃糖的C3或C5在 δ 82~84间有信号,而吡喃糖的C3和C5一般小于 δ 80,这也是区别于呋喃糖构型和吡喃糖构型的主要依据^[8,9];葡萄糖构型的确定,首先,可以利用相邻质子间的偶合常数,葡萄糖型残基中的质子都是反式垂直键,相邻质子间偶合常数 $J_{2,3}$ 、 $J_{3,4}$ 、 $J_{4,5}$ 都较大,为7 Hz~10 Hz,其次,可以利用TOCSY谱的特征,即葡萄糖构型在TOCSY谱均显示出1位与2位、3位、4位、5位质子间的接力相关峰,具有一个H1-H5的完全自旋系统^[10-12];半乳糖构型的确定,半乳糖型残基的4位质子为平伏键,与3位和5位质子间的偶合常数较小($<3\text{ Hz}$),在TOCSY中异头质子的接力相关信号中止于H4^[13];甘露糖构型的确定,甘露糖构型的2

位质子为平伏键,所以非常小的 $J_{1,2}$ (0~2 Hz)和比较大的 $J_{4,5}$ (8 Hz~10 Hz)的NMR谱的特征一般可以确定为甘露糖构型^[14-16]。

3 异头构型的确定

食用菌多糖异头构型的确定有以下几种方法:在 ^1H NMR谱的异头质子区(δ 4.3~5.9),一般葡萄糖型吡喃糖残基的 α 构型异头氢的 $\delta>5.0$, β 构型的 $\delta<5.0$ ^[17];在 ^{13}C NMR谱的异头质子区(δ 90~112),一般吡喃糖残基的 α 构型为 δ 90~102, β 构型为 δ 102~112^[14-18];利用异头质子与邻位质子的偶合常数 $J_{1,2}$,单糖残基的C1-H与C2-H的偶合常数 $J_{1,2}$ 与两面角有关,常用于吡喃糖环异头构型的判断,一般 β 构型为 $J_{1,2}=7\text{ Hz}$ ~9 Hz, α 构型为 $J_{1,2}=2\text{ Hz}$ ~4 Hz^[19];利用端基碳与端基质子的偶合常数 $J_{\text{C-H}}$,采用门去耦技术测定异头碳与异头质子之间的偶合常数 $J_{\text{C1-H1}}$,经常用于吡喃糖环异头构型的判断,对于D-吡喃糖(如葡萄糖和甘露糖): $J_{\text{C1-H1}}$ 一般在165 Hz~170 Hz之间的为 α -苷键, $J_{\text{C1-H1}}$ 一般在155 Hz~160 Hz之间的为 β -苷键,呋喃型糖苷无法用端基碳与端基质子的偶合常数来判断其异头构型;甘露糖构型虽然具有吡喃环结构,但因其C2-H都处于横键上,其异头构型的确定有些不能遵循一般方法(前面的3种方法都不适用),异头构型确定,首先可以通过糖残基上的H5^[20]和C5^[21]的化学位移与已知单糖相比较来确定的。一般来说, α -Man与 β -Man相比较,H5向低场移动大约 δ 0.4,C5向高场移动大约 δ 4;其次,还可以通过NOESY识别和验证,一般来说, β -构型在NOESY谱中有H1和H3相关信号,H1和H5有相关信号,而 α -构型不会出现,另外也可以通过上述的偶合常数 $J_{\text{C1-H1}}$ 来确定,一般 α -D-甘露糖苷 $J_{\text{C1-H1}}=\delta$ 166, β -D-甘露糖苷 $J_{\text{C1-H1}}=\delta$ 156。

4 单糖残基H和C的化学位移的归属

食用菌多糖是由10个以上甚至上百个不同或相同的单糖残基,以一定的糖苷键连接起来的重复单位,因此组成多糖的单糖种类的确定显得至关重要。各单糖残基H和C化学位移的归属是识别单糖残基的基础。H的化学位移一般是通过COSY和TOCSY,有时候还要借助于NOESY和HMBC。COSY谱,即H-H化学位移相关谱,反应的是同一糖残基上相邻H的化学位移耦合关系,也就是J耦合(偶尔也会出现少数反映长程耦合的相关峰),由于异头质子容易辨认,一般从异头质子的对角线出发,找出H1/H2的交叉峰,从而找出H2的化学位移,再由H2的交叉峰出发,找出H2/H3的交叉峰,以此类推,找出H4-H6的化学位移。由此看出,通过COSY谱,从任一交叉峰出发就能确定相应的两组峰的耦合关系,而不必考虑氢谱中的裂分峰形。不过,在很多情况下,仅靠COSY谱不能完成多糖中所有单糖质子的归属,这与组成多糖的单糖种类、数量及构型有关系。TOCSY谱给出的是同一单糖残基中所有氢核间的相关峰,可从某一个氢核的异头质子区的相关谱峰出发,找到与它处于同一自旋体系的所有氢核谱峰的相关峰,如H1/H2、H1/H3、H1/H4等,TOCSY可以作为COSY谱的补充和验证。尤其对于解析有许多重复结构

单元、氢信号重叠严重的多糖分子非常有用。NOESY 谱与 COSY 谱相似，其差别在于，交叉峰表示的并非两个氢核之间有耦合关系，而是 2 个氢核之间的空间位置接近，而且 NOE 信号越强，表示空间距离越近。在多糖的结构解析中，NOE 可以在确定糖残基种类和构型的基础上作为 COSY 的补充和验证。HMQC 谱反映的是直接相连的 ^1H 和 ^{13}C 之间的键相关，在将各单糖残基的氢的化学位移归属后，可以很容易地利用 HMQC 对碳进行归属。特别情况下，对氢归属比较困难情况还用到 HMBC，其把 ^1H 与长程耦合的 ^{13}C 联系起来，反映的是 $^3J_{\text{H-C-O-C}}$ 和 $^3J_{\text{H-C-C-C}}$ [22,23]，它既能提供分子骨架的结构信息，还可以结合 HMQC 间接推导出 H 或 C 的化学位移，例如 H3 与 C5，H1 与 C5 相关，由已知的 H3 可以由 HMBC 谱处找出 H3/C5、H1/C5 的相关峰，从而找到 C5 的化学位移，再经由 HMQC 推出 H5 的化学位移，所以 HMBC 也可以作为 H 归属手段的补充和验证。

5 连接位置和连接顺序的确定

当糖残基的各个碳都得以归属，通过与已知单糖的碳的化学位移相对照，通过苷化位移规律就可以判断食用菌多糖糖链的连接位置。糖残基上某个位置被另外的糖残基取代后，端基碳和 α 位碳的化学位移明显地移向低场 (δ 4~10)， β 位碳向高场移动 (δ 1~5)。一般情况下，在吡喃型糖残基中，未被取代部位 (C2、C3、C4) 碳的共振区为 δ 70~75，若发生取代则该碳的化学位移将移至 δ 76~85；C-6 位被取代，则其化学位移将从 δ 62 转至 δ 67 附近 [15]。比如判断双糖苷中两单糖的连接位置，将双糖苷的 ^{13}C 谱数据与相应单糖的 ^{13}C 谱数据进行比较，如果内侧糖的某个碳原子的化学位移向低场方向移动了 (通常是 δ 4~7)，而与其相邻的两个碳原子的化学位移值又略向高场方向移动 (约 δ 1~2)，则内侧糖的这个碳原子就是糖的连接位置。糖残基间的连接顺序可以通过 HMBC 来判断，再通过 NOESY (或 ROESY) 和甲基化结果进一步验证。通过 HMBC，可以获得跨越糖苷键的远程 H、C 相关信息，即相连的两单糖残基间，异头质子与另一单糖残基相连位碳的耦合关系，从而推断单糖残基间的连接顺序和连接位置。多糖中相连的两单糖残基间，异头质子与另一单糖残基相连的质子间由于空间接近，会产生 NOE 效应，在 NOESY 中出现相关峰，由此可以推断和验证单糖残基间的连接顺序和连接位置 [12,13]。对于复杂的多糖类物质，NOE 相关信号往往很少或信号有重叠，不利于结构解析，有时候还要用到 ROESY，ROESY 相比 NOESY 的突出优点是，只显示空间偶合或溶剂交换形成的相关峰，不显示 COSY 相关峰，简化了图谱，因此当多糖分子中有活泼氢 (例如 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NAc}$) 时，使用 ROESY 更有利于结构分析。

6 取代基的确定

食用菌多糖上若有取代基，NMR 谱上会有一些特殊信号出现。以下是确定几种取代基的一般规律： O -Ac 取代基的确定，即 O -Ac 的甲基氢的信号在 δ 1.8~2.2， O -Ac 的甲基碳的信号在 δ 20~22， O -Ac 的羰基信号在 δ 170~180 之间 [24]，同时在 HMBC 上有羰基和甲基氢的共振信号出

现； N -Ac 取代基的确定， N -Ac 甲基氢的信号在 δ 2.0~2.2 之间，甲基碳的信号在 δ 23.5~24.8， N 取代上的碳的信号在 δ 52~57，羰基信号在 δ 170~180 之间；氧甲基的确定，即 ^1H NMR 中 δ 3.3~3.5 有信号，同时在 ^{13}C NMR 中 δ 55~61 位置有信号峰则表明有氧甲基的存在 [25]；硫酸基的确定，即糖环上的碳发生硫酸基取代后，化学位移向低场移动 δ 6~9，通过比较硫酸酯多糖脱硫前后的 ^{13}C NMR 谱，综合红外和化学实验结果，可以确定硫酸基在糖环上的取代位置 [26]。磷酸基团可以利用 ^{31}P NMR 谱中 δ 1.9 处有信号峰来识别 [26]。

下面举一个例子。我们实验室从金耳子实体中采用先进分离纯化手段，获得了 1 种金耳均一多糖 TAPA1，高效阴离子色谱结果表明了，均一多糖 TAPA1 主要由甘露糖、木糖、葡萄糖醛酸组成，其摩尔比约为 5:4:1，并含有少量葡萄糖、半乳糖醛酸，是 1 种含葡萄糖醛酸的酸性多糖。TAPA1 的分子量较大 (1.35×10^6)，糖单元组成复杂，通过综合运用 1D-NMR 和 2D-NMR 技术，排除了信号重叠的不利因素，使得各信号得以准确归属，从而准确推断出了 TAPA1 中各糖的连接位置和连接顺序。

由 TAPA1 的 ^1H NMR 谱 (600 MHz, 图 1) 可知，在 δ 4.3~5.2 有 7 个异头氢信号，分别位于 δ 5.18、 δ 5.14、 δ 5.10、 δ 4.59、 δ 4.52、 δ 4.35 和 δ 4.32。由 TAPA1 的 ^{13}C NMR 谱 (125 MHz, 图 2) 可知，在 δ 102~107 有 8 个异头碳信号，化学位移分别为 δ 106.56、 δ 106.34、 δ 106.15、 δ 105.27、 δ 105.01、 δ 103.87、 δ 103.39 和 δ 103.05。在 ^{13}C - ^1H HMQC 谱的异头区域发现有 10 个异头碳和异头氢的共振峰，综合 TAPA1 的 ^{13}C NMR 谱、 ^1H NMR 谱和 HMQC 谱，可以初步确定 TAPA1 是由 10 个单糖残基组成的多糖，同时在 COSY 谱的异头区域也发现了有 10 个 ^1H - ^1H 的交叉共振峰，进一步证实了 TAPA1 是由 10 个糖单元组成。在 ^1H NMR 谱中，根据化学位移依次递减的顺序，10 个单糖残基分别标记为 A-K (图 1)。

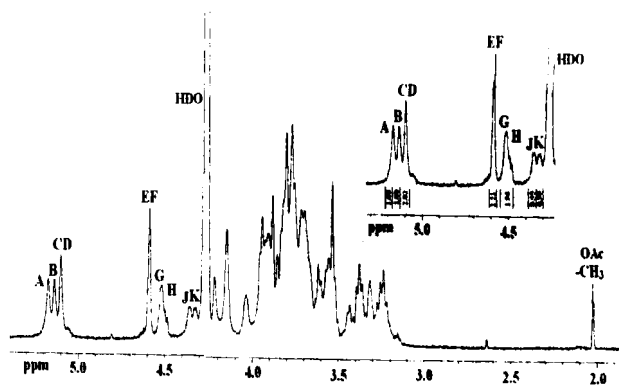


图 1 TAPA1 的一维氢谱图

在 2D-COSY 谱中，从各异头质子 H1 出发，可找出其它氢核 (H2-H6) 的化学位移，其中有一些残基的 COSY 信号重叠严重，单独利用 COSY 谱不能对氢全部归属，可以借助于 TOCSY 谱和 NOESY 谱对氢的化学位移进行归属和验证。氢的化学位移归属完成后，碳 (C1→C6，

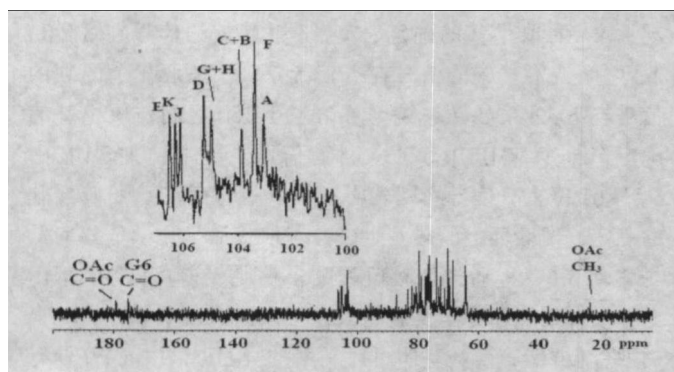


图2 TAPA1的一维碳谱图(125 MHz)

对于木糖来说是C1→C5)的化学位移可以根据H的化学位移从HMQC谱推出,氢和碳的化学位移归属完成后,可利用HMBC谱确定TAPA1各糖残基之间的连接位点和连接顺序。在TAPA1的HMBC谱(图3)中可找到D1/B3、B1/A3、A1/D3、E1/K3、K1/G4、G1/A2、C1/H4、H1/D2、J1/F2和F1/D4的相关峰,从而推断出了TAPA1的连接位点,这些连接点并能通过NOESY谱得到进一步验证,从而推出了TAPA1的结构式^[27]。

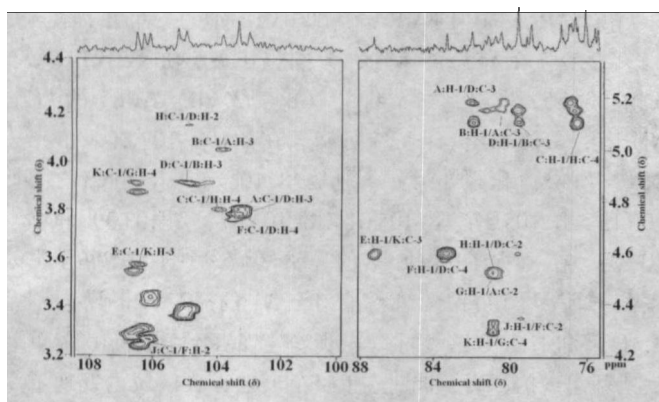


图3 TAPA1的单糖残基间的1H-13C远程相关

总之,自从核磁共振波谱技术应用到多糖的结构解析中以来,糖生物学的发展进入了一个快速的发展时期。食用菌多糖也逐渐成为了全世界各国生物学家们争相研究的热点之一。当然,由于多糖的快速弛豫、¹³C低天然丰度和核磁共振对样品纯度的严格要求,很大程度上限制了多糖结构解析方法的发展,科学家们一直在探索灵敏度更高、对样品要求不是很严格、快速而简洁的NMR脉冲序列和分析方法^[28],同时,随着计算机技术的发展,计算机辅助程序(如CASPER程序)在核磁共振解析多糖结构分析中也有应用^[29]。

多维核磁图谱已经从过去的一维谱图(1D)发展到如今的二维(2D)、三维(3D)甚至四维(4D)谱图的利用,将分子结构和分子间的关系表现得更加清晰;高温超导技术(HTS)的创新,为制造高频核磁共振仪提供了新的材料;加上新的脉冲序列的进一步开发以及计算机技术引入到多糖结构解析中,为食用菌多糖的结构解析提供了强有力的条件和工具。相信在不久的将来,食用菌多糖的测序也将像核酸和蛋白质一样,由繁琐的人工分析变成一个方便快捷的自动化测序过程,从而大大促进糖生物学科

的发展。毋庸置疑,核磁共振波谱技术在食用菌多糖的研究进展中将发挥越来越重要的作用。

[参考文献]

- [1] 曾凯宏, 明建. 真菌多糖的结构与功能[J]. 食品科技, 2001, 4 (4): 65-68.
- [2] 吴雄志, 陈丹, 艾青, 等. 多糖抗肿瘤机理研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7 (12): 67-69.
- [3] 郭春沅. 真菌多糖的免疫调节作用[J]. 中国食用菌, 2000, 19 (3): 6-7.
- [4] 杨立. 二维核磁共振原理及图谱解析[M]. Lanzhou: Lanzhou University Press, 1996.
- [5] Agrawal PK. NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides[J]. Phytochemistry, 1992, 31 (10): 3307-3330.
- [6] Urai M, Yoshizaki H, Anzai H, et al. Structural analysis of mucoidan, an acidic extracellular polysaccharide produced by a pristane-assimilating marine bacterium *Rhodococcus erythropolis* PR4[J]. Carbohydrate Research, 2007, 342 (7): 927-932.
- [7] Faber EJ, Haaster DJ, Kamerling JP, et al. Characterization of the exopolysaccharide produced by *Streptococcus thermophilus* 85 containing an open chain nonionic acid[J]. European Journal of Biochemistry, 2002, 269 (22): 5590-5598.
- [8] Bergström N, Nair GB, Weintraub A, et al. Structure of the O-polysaccharide from the lipopolysaccharide from *Vibrio cholerae* O6[J]. Carbohydrate Research, 2002, 337 (9): 813-817.
- [9] Ahrazem O, Prieto A, Leal J A, et al. Fungal cell wall galactomannan isolated from *Apodus decedius*[J]. Carbohydrate Research, 2002, 337 (16): 1503-1506.
- [10] Drzewiecha D, Toukach PV, Arbatsky NP, et al. Structure of the O-specific polysaccharide of *Proteus penneri* 103 containing ribitol and 2-aminoethanol phosphates[J]. Carbohydrate Research, 2002, 337 (17): 1535-1540.
- [11] Kondakova NA, Senchenkova SN, Gremyakov AI, et al. Structure of the O-polysaccharide of *Proteus mirabilis* O38 containing 2-acetamidoethyl phosphate and N-linked D-aspartic acid[J]. Carbohydrate Research, 2002, 338 (22): 2387-2392.
- [12] Dobruchowska JM, Gerwig GJ, Babuchowski A, et al. Structural studies on exopolysaccharides produced by three different propionibacteria strains[J]. Carbohydrate Research, 2008, 343 (4): 726-745.
- [13] Ye LB, Zhang JS, Ye XJ, et al. Structural elucidation of the polysaccharide moiety of a glycopeptide (GLPCW-II) from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies[J]. Carbohydrate Research, 2008, 343 (4): 746-752.
- [14] Mondal S, Chakraborty I, Rout D, et al. Isolation and structural elucidation of a water-soluble polysaccharide (PS-I) of a wild edible mushroom, *Termitomyces striatus*[J]. Carbohydrate Research, 2006, 341 (7): 878-886.
- [15] Rout D, Mondal S, Chakraborty I, et al. The structure of a polysaccharide from fraction-II of an edible mushroom, *Pleurotus florida*

(下转第19页)

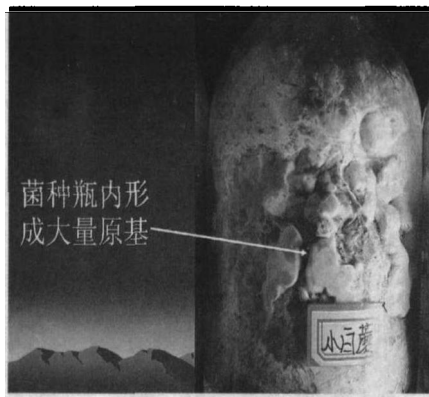


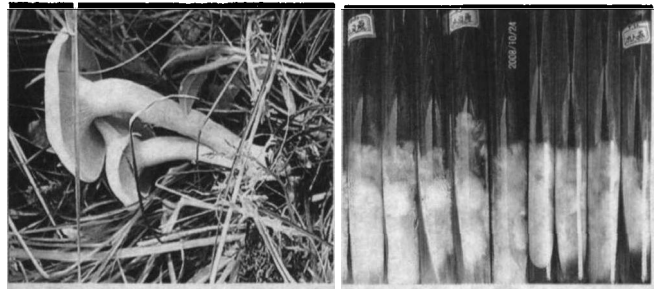
图 5 菌种瓶内菌丝体发育成原基

后子实体保存时间（新鲜程度）有关系，采摘后越早分离成功率越高；当地的小白蘑与鸡爪菇只是白香蘑的不同生长阶段，对分离成功率影响很大。鸡爪菇幼菇期进行分离菌丝体萌发早而且菌丝体粗壮浓密。母种培养基添加 5% 采集地腐殖土，原种培养基内添加 15% 牛粪稻草发酵料与 5% 采集地腐殖土可以有效促进菌丝生长，促进菌丝体的扭结和蘑菇原基形成。

由于采集到的野生白香蘑数量较少，没能进行统计学实验设计与分析，本次试验只能从定性的角度予以说明。

具体白香蘑分离成功率与上述因素的相关率还有待进一步的研究。

分离用白香蘑新鲜子实体（左）和组织分离的菌丝体（右）



[参考文献]

- [1] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州：河南科学技术出版社，2000.
- [2] 乌力吉，吴金山. 呼伦贝尔草原白香蘑生态考[J]. 食用菌，1992，22（4）：27-29.
- [3] 刘凤春. 白香蘑菌种的分离与培养[J]. 食用菌，1981（4）：32-34.
- [4] 程玉华. 伊通白蘑圈中植物生长旺盛原因的研究[J]. 吉林大学自然科学学报，1981（3）：62-63.

（上接第 6 页）

- [J]. Carbohydrate Research, 2006, 341（8）：995-1002.
- [16] Yang Y, Zhang JS, Liu YF, et al. Structural elucidation of a 3-O-methyl-d-galactose-containing neutral polysaccharide from the fruiting bodies of *Phellinus igniarius*[J]. Carbohydrate Research, 2007, 342（8）：1063-1070.
- [17] Corsaro MM, Castro CD, Naldi T, et al. ¹H and ¹³C NMR characterization and secondary structure of the K2 polysaccharide of *Klebsiella pneumoniae* strain 52145[J]. Carbohydrate Research, 2005, 340（13）：2212-2217.
- [18] Omarsdottir S, Petersen BO, Barsett H, et al. Structural characterization of a highly branched galactomannan from the lichen *Peltigera canina* by methylation analysis and NMR-spectroscopy[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 63（1）：54-60.
- [19] 王展，方积年. 高场核磁共振波谱在多糖结构研究中的应用[J]. 分析化学，2000，28（2）：240-247.
- [20] Jachymek W, Czaja J, Niedziela T, et al. Structural studies of the O-specific polysaccharide of *Hafnia alvei* strain PCM 1207 lipopolysaccharide[J]. European Journal of Biochemistry, 1999, 266（1）：53-61.
- [21] Leslie MR, Parolis H, Parolis LAS, et al. The structure of the O-antigen of *Escherichia coli* O116:K+:H10[J]. Carbohydrate Research, 1999, 321（3）：246-256.
- [22] Rout D, Mondal S, Chakraborty I, et al. The structure of a polysaccharide from fraction-II of an edible mushroom, *Pleurotus florida*[J]. Carbohydrate Research, 2006, 341（8）：995-1002.
- [23] Suárez ER, Kralovec JA, Nosedá MD, et al. Isolation, characterization and structural determination of a unique type of arabinogalactan from an immunostimulatory extract of *Chlorella pyrenoidosa*[J]. Carbohydrate Research, 2005, 340（8）：1489-1498.
- [24] Serrato RV, Sasaki GL, Gorin PAJ, et al. Structural characterization of an acidic exoheteropolysaccharide produced by the nitrogen-fixing bacterium *Burkholderia tropica*[J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 73（4）：564-572.
- [25] 刘玉红，王凤山. 核磁共振波谱法在多糖结构分析中的作用[J]. 食品与药品，2007，9（8A）：39-43.
- [26] Landersjö C, Weintraub A, Widmalm G, et al. Structural analysis of the O-antigen polysaccharide from the shiga toxin-producing *Escherichia coli* O172[J]. European Journal of Biochemistry, 2004, 268（8）：2239-2245.
- [27] Du X, Zhang J, Yang Y, et al. Structural elucidation and immunostimulating property of an acidic heteropolysaccharide（TAPA1）from *Tremella aurantialba*[J]. Carbohydrate Research, 2009, 344（5）：672-678.
- [28] Szymanski CM, Michael FS, Jarrell HC, et al. Detection of conserved N-Linked glycans and phase-variable lipooligosaccharides and capsules from campylobacter cells by mass spectrometry and high resolution magic angle spinning NMR spectroscopy[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2003, 278（27）：24509-24520.
- [29] Kocharova NA, Ovchinnikova OG, Torzewska A, et al. The structure of the O-polysaccharide from the lipopolysaccharide of *Providencia alcalifaciens* O30[J]. Carbohydrate Research, 2006, 341（6）：786-790.