

“多糖的性质分析与应用” 特约专栏文章之四

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.03.009

赵秀婷, 张欣, 付萌, 等. 基于微波水解-离子色谱的香菇多糖组成指纹图谱研究[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(3):70-77.

ZHAO X T, ZHANG X, FU M, et al. Research on fingerprint of lentinan composition by microwave hydrolysis-ion chromatography[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(3): 70-77.

基于微波水解-离子色谱的香菇多糖组成指纹图谱研究

赵秀婷¹, 张欣¹, 付萌¹, 李进伟², 朱松², 范柳萍²✉

(1. 无限极(中国)有限公司, 江门 529100;

2. 江南大学 食品学院, 无锡 214122)

摘要: 建立一种微波水解-离子色谱测定香菇多糖组成的方法, 微波水解多糖条件: 三氟乙酸浓度为 3.0 mol/L; 水解温度为 130 °C; 水解时间为 30 min; 料液比为 20 mg 多糖样品/7 mL 三氟乙酸溶液。离子色谱条件: CarboPac PA-20 离子交换柱; 3.75 mmol/L NaOH 溶液为流动相; 流速为 0.5 mL/min; 检测器为脉冲安培电化学检测器; 柱温为 30 °C。与常规水解-PMP 衍生-液相色谱法相比, 样品的分析时间由 365 min 缩短到 65 min。方法学研究表明, 方法准确性高, 重现性、稳定性好, 可应用于香菇多糖样品的单糖组成分析。通过 106 批香菇多糖样品的分析构建了基于多糖的单糖组成信息的离子色谱指纹图谱, 确定 6 个共有特征峰, 分别是岩藻糖、氨基葡萄糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、木糖, 相似度在 0.95 以上。该指纹图谱的建立为香菇多糖的质量控制提供参考。

关键词: 香菇多糖; 微波水解; 离子色谱; 指纹图谱; 质量控制

中图分类号: TS201.4 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)03-0070-08

网络首发时间: 2021-04-23 11:16:11

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20210423.1041.003.html>

Research on Fingerprint of Lentinan Composition by Microwave Hydrolysis-Ion Chromatography

ZHAO Xiu-ting¹, ZHANG Xin¹, FU Meng¹, LI Jin-wei², ZHU Song², FAN Liu-ping²✉

(1. Infinitus (China) company LTD, Jiangmen, Guangdong 529100, China;

2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China)

Abstract: A microwave hydrolyzation-ion chromatography method for the determination of lentinan monosaccharide composition was established. Conditions of microwave hydrolysis of polysaccharide: the concentration of trifluoroacetic acid was 3.0 mol/L. The hydrolysis temperature was 130 °C. The hydrolysis time was 30 min. The solid-liquid ratio was 20 mg polysaccharide sample/7 mL trifluoroacetic acid solution.

收稿日期: 2021-03-01

基金项目: 江门市科技计划项目 (2020030103440009078)

Supported by: Science and Technology Project of Jiangmen City (No.2020030103440009078)

作者简介: 赵秀婷, 女, 1980 年出生, 硕士, 工程师, 研究方向为健康食品工艺技术研究。E-mail: 28237987@qq.com.

通讯作者: 范柳萍, 女, 1972 年出生, 博士, 教授, 研究方向为食品科学研究。E-mail: fanliuping@jiangnan.edu.cn.

Polysaccharide hydrolysate was performed on an CarboPac PA-20 ion exchange column, with a mobile phase consisting of 3.75 mmol/L NaOH solution at the flow rate of 0.5 mL/min. The detector was pulsed ampere electrochemical detector, and the column temperature was 30 °C. Compared with the conventional hydrolyzation-PMP derivatization-liquid chromatography, the analysis time of each sample was reduced from 365 min to 65 min. Methodological study showed that the method has high accuracy, reproducibility and stability, and can be applied to the analysis of monosaccharide composition of lentinan. Through the analysis of 106 lentinan samples, an ion chromatographic fingerprint based on polysaccharide monosaccharide composition information was constructed, and 6 common characteristic peaks were determined, which were fucose, glucosamine, galactose, glucose, mannose and xylose, with the similarity was above 0.95. The establishment of the fingerprint provides a more comprehensive reference for the quality control of lentinan.

Key words: lentinan; microwave hydrolysis; ion chromatography; fingerprint; quality control

多糖是由 10 个或以上单糖通过缩合而形成的链状结构物质,在动植物和微生物中广泛分布,对维持正常生命活动至关重要^[1-2]。而多糖中单糖组成分析是研究多糖的结构性质及对其进行质量控制的重要内容。

目前常用的多糖水解方法是加热酸水解法,加热方式常采用烘箱加热,该方法耗时长、能耗大,且受热不均匀,导致水解样品重复性很差,远远不能满足研究的需求。而微波水解是将样品、酸置于微波电磁场中,微波频率使极性分子取向快速变换,分子在来回转动过程中与周围分子高速碰撞摩擦,增加总能量,产生高热^[3]。微波水解方法能使样品受热均匀,加快水解速度,降低能耗,降低检测成本^[4]。

对水解后的多糖进行单糖组成分析,常用的方法有气相色谱法^[5]、高效液相色谱法^[6]等。由于单糖的挥发性低,难气化,气相色谱法测单糖时必须对其进行硅烷化或酯化等衍生化处理,操作繁琐。采用高效液相色谱法检测单糖时最常用的是示差折光检测器,但这种检测器的灵敏度低、基线易受温度影响产生大的波动、不能进行梯度洗脱^[7],而采用灵敏度较高的紫外检测器检测时,则需对单糖进行衍生化反应,操作繁琐^[8]。近年来,高效阴离子交换色谱被广泛用于糖的检测,这是由于糖类分子具有高的电学活泼性,且在强碱溶液中全部或部分电离成阴离子形式^[9],可以在阴离子交换柱上被保留并得到分离^[10]。由于糖在金电极上易发生氧化还原反应产生信号,离子色谱法检测糖主要使用金电极的脉冲安培检测

器^[11]。该检测器检测糖非常灵敏,操作简便,检测限可以达到 pmol/L,而且不需衍生反应和复杂的样品处理。

本文将微波水解和离子色谱分析相结合,建立一种快速、高效、准确的多糖组成的分析方法。并采用这种方法构建香菇多糖组成的离子色谱指纹图谱,通过多糖的单糖组成的分析对香菇多糖的生产进行质量监控,弥补现行质量监控上的不足。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

氢氧化钠 (NaOH) 溶液 (50%, w/w): 瑞士 Fluka 公司; 三氟乙酸 (TFA)、磷酸氢二钠 (Na_2HPO_4)、磷酸二氢钠 (NaH_2PO_4)、无水乙醇均为分析纯: 国药集团化学试剂有限公司; 乙腈, 色谱纯: 美国 TEDIA 公司; 岩藻糖 (Fuc)、鼠李糖 (Rham)、氨基葡萄糖 (GlcN)、半乳糖 (Gal)、葡萄糖 (Glc)、甘露糖 (Man)、木糖 (Xyl)、果糖 (Fru)、核糖 (Rib) 标准品: 美国 sigma-aldrich 公司。

1.2 仪器与设备

ICS-5000+离子色谱仪,配有双泵(DP)模块、检测器/色谱(DC)模块、自动进样器(AS)模块、Chromleon 7.0 色谱工作站: 美国 Thermo Fisher 公司; Waters 2695 高效液相色谱仪,配有 Waters2489 紫外检测器、Empower 色谱工作站: 美国 Waters 公司; CEM Mars6 高通量密闭微波消解仪,配有消解罐: 美国 CEM 公司; Milli-Q Advantage A10 超纯水机: 美国 Millipore 公司;

5424 离心机：德国 Eppendorf 公司；LE204E 分析天平：梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 香菇多糖样品的制备

取 10 mL 浓缩香菇多糖产品放入 50 mL 离心管中,加入 30 mL 无水乙醇,充分摇匀后,在 4 000 r/min 下离心 10 min,除去上清,沉淀用 80%乙醇(30 mL)溶解,充分混匀后,在 4 000 r/min 下离心 10 min,除去上清,在 60 °C 下烘干,备用。

1.3.2 微波水解香菇多糖条件优化

以三氟乙酸浓度、微波温度、微波时间、物料比为单因素,进行优化实验。准确称取 20 mg 烘干后的香菇多糖样品放入微波消解罐中,每次实验仅改变一个条件,其他条件固定不变。分别将三氟乙酸浓度设置 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mol/L 五个水平;微波温度设置 100、110、120、130、140 °C 五个水平;微波时间设置 10、20、25、30、35、40 min 五个水平;物料比设置 5.0、6.0、7.0、8.0、9.0 mL 的三氟乙酸(3.0 mol/L)。设定微波功率 1 600 W,微波水解后水解液稀释 1 000 倍,进行离子色谱分析。

1.3.3 标准溶液配制

分别准确称取 10 mg 的半乳糖、岩藻糖、鼠李糖、氨基葡萄糖、果糖、葡萄糖、甘露糖、木糖、核糖标准品,用水定容于 10 mL 容量瓶中,配成 1.000 g/L 储备液,于冰箱中保存,使用时将储备液稀释至系列混合标准溶液。

1.3.4 离子色谱条件

色谱柱: Thermo CarboPac PA20 (150 mm×3 mm i.d.) 阴离子交换柱,配有保护柱(30 mm×3 mm);柱温: 30 °C;进样体积: 20 μL。以 0.25 mol/L NaOH 和水为流动相进行梯度洗脱,流速: 0.5 mL/min,淋洗条件见表 1。脉冲安培检测器采用糖标准四电位波形。

表 1 梯度洗脱表

Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	水/%	0.25 mol/L NaOH/%
0	98.5	1.5
20	98.5	1.5
21	20.0	80.0
35	20.0	80.0

1.3.5 离子色谱方法学研究

1.3.5.1 标准曲线、检出限 精密称取各单糖标样适量,用水配置成系列标准溶液,采用以上离子色谱条件分析。以各标液质量浓度为横坐标,相应峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,得到各标样的回归方程、相关系数和线性范围。

1.3.5.2 重复性、稳定性研究 平行制备水解多糖样品溶液 6 份,采用离子色谱条件分别分析,计算 6 个样品中各单糖峰面积的平均值及相对标准偏差(RSD)。

取稀释至合适浓度的水解多糖样品,在 0、2、4、6、8、12、24 h 采用离子色谱分析,计算样品中各单糖峰面积的平均值及 RSD。

1.3.5.3 准确性研究 取已知单糖组成含量的多糖样品 9 份,分别加入高、中、低 3 个浓度的混合单糖标液,微波水解,离子色谱分析,测定其回收率及 RSD。

1.4 数据处理

实验数据均以平均值±标准偏差表示,每个实验至少重复三次。数据统计使用 SPSS 19.0 软件进行 One-Way ANOVA 分析,以及 Tukey's 多重检验, $P < 0.05$ 被认为数据差异显著。采用 Origin 软件绘制图形。

2 结果与讨论

2.1 微波水解香菇多糖条件优化

2.1.1 三氟乙酸浓度对香菇多糖水解的影响

改变三氟乙酸的浓度,保持其他条件不变。由图 1A 我们能够发现:当三氟乙酸的浓度小于 3.0 mol/L 时,水解液中单糖总量与三氟乙酸的浓度呈正相关;当三氟乙酸的浓度为 3.0 mol/L 时,单糖总量达到最大值;再增加三氟乙酸的浓度,水解液中单糖总量的下降,因此,最佳三氟乙酸反应浓度为 3.0 mol/L。

2.1.2 微波温度对香菇多糖水解的影响

改变微波温度,保持其他条件不变。由图 1B 我们能够发现:随着温度的提高,水解液中单糖总量先增加;当温度提高到 130 °C 以上,单糖总量逐渐下降。同时考虑到过高的温度造成爬升温度时时间的延长及成本的提高,选择微波温度为 130 °C。

2.1.3 微波时间对香菇多糖水解的影响

改变微波水解时间, 保持其他条件不变。由图 1C 我们发现: 随着时间的延长, 水解液中单糖总量先增加; 当时间达到 30 min 以上时, 单糖总量下降并逐渐趋于平缓, 因此, 选择的最佳微波水解时间为 30 min。

2.1.4 物料比对香菇多糖水解的影响

考虑到 CEM Mars6 高通量密闭微波消解仪的使用情况, 我们设置了 5、6、7、8、9 mL 共 5

个三氟乙酸的体积, 其他条件均不变, 改变物料比。由图 1D 我们能够发现: 随着三氟乙酸体积的增加, 水解液中单糖总量增加; 当三氟乙酸的体积高于 7 mL 时, 单糖总量逐渐下降。因此, 最佳三氟乙酸的体积为 7 mL。

经过单因素实验分析, 得到微波水解的最佳使用条件为: 三氟乙酸的浓度: 3.0 mol/L; 微波温度: 130 °C; 微波水解时间: 30 min; 物料比: 20 mg 样品: 7 mL 三氟乙酸。

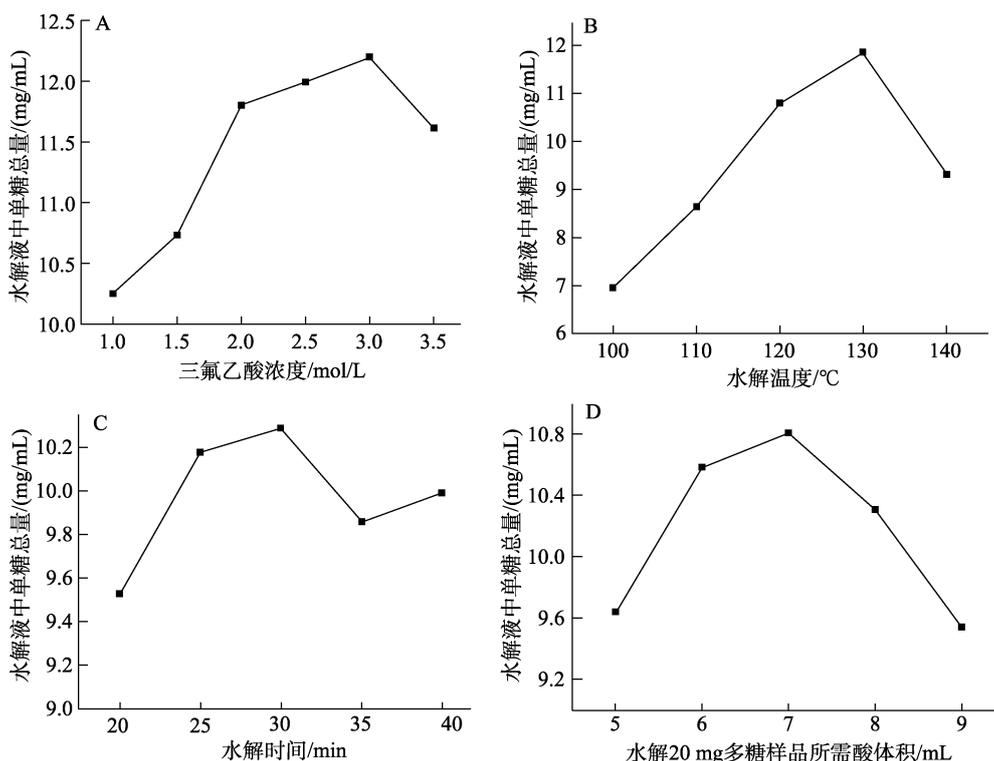


图 1 三氟乙酸浓度 (A)、微波温度 (B)、微波时间 (C) 和物料比 (D) 对香菇多糖水解的影响
 Fig.1 Effects of trifluoroacetic acid concentration (A), microwave temperature (B), microwave time (C) and material ratio (D) on lentinan hydrolysis

2.2 离子色谱条件优化

2.2.1 色谱柱的选择

目前用于分离单糖和小分子低聚糖的阴离子交换色谱柱主要有 CarboPac PA1、CarboPac PA10 和 CarboPac PA20 三种。通过实验比较了这 3 种色谱柱对样品中可能存在的 7 种糖类的分离效果。实验发现, 在色谱柱 CarboPac PA1 和 CarboPac PA10 上, 甘露糖和木糖不能较好分离, 而在 CarboPac PA20 上可以达到基线分离。这是由于 CarboPac PA20 色谱柱树脂基核及覆盖在树脂表面的键合季胺基团的乳胶比 CarboPac PA10 小,

分析速度快, 柱效高, 有更大优势^[9]。故本实验选择 CarboPac PA20 柱进行相关测定。

2.2.2 流动相 NaOH 的浓度对离子效果的影响

在强碱条件下能够使糖以阴离子的形式存在, 高 pH 阻碍了糖分子间氢键的行程, 使糖分子可与固定相相互作用, 故改变 NaOH 浓度, 会影响糖分子与固定相之间的作用程度, 从而影响保留时间和响应值^[12]。保证其他条件不变的情况下, 分别考察 3.75、5.00 和 6.25 mmol/L NaOH 淋洗液对 9 种糖的分离效果, 结果如图 2。甘露糖和木糖在 NaOH 浓度为 5.00 mmol/L 和 6.25 mmol/L

时不能分离。而各种糖只有在浓度为 3.75 mmol/L 的 NaOH 溶液下才能在 20 min 的分析时间内达到较好的分离效果。随后升高 NaOH 浓度为 200 mmol/L, 冲洗掉样品中在色谱柱上强保留的组份, 达到再生色谱柱的目的, 保证离子色谱检测的稳定性。

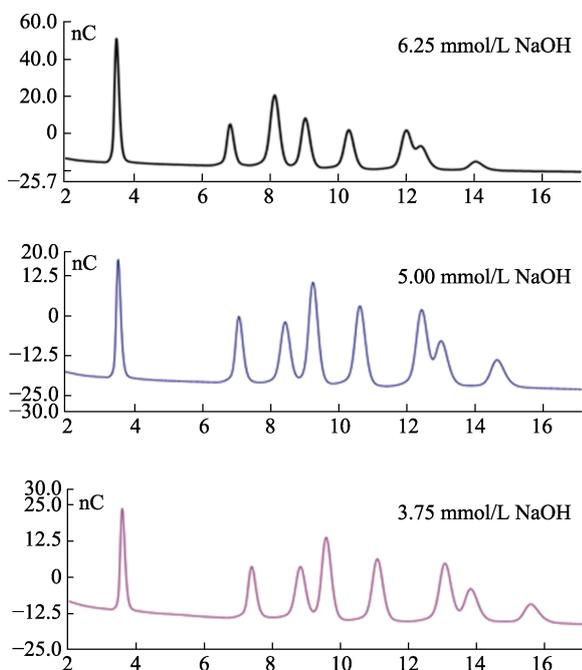


图 2 不同洗脱条件下各种糖的离子色谱图
Fig.2 Ion chromatograms of various sugars under different elution conditions

2.2.3 柱温对离子效果的影响

柱温是极易影响离子色谱分析法分离的一个重要参数, 改变柱温能够改变液液传质速率, 导致分离柱的理论塔板高度的变化, 从而对样品的保留时间产生影响, 直接影响到分析物质中各组分在色谱柱上保留时间及分离程度^[13-14]。本实验比较不同柱温 (25、30 和 35 °C) 下, 各种糖的保留程度, 特别是难分离物质氨基葡萄糖和半乳糖以及甘露糖和木糖的保留和分离的影响。由图 3 可知, 在柱温为 25 °C 时, 糖的保留时间均延长, 其中氨基葡萄糖和半乳糖不能分离。在柱温为 35 °C 时, 糖的保留时间均缩短, 但甘露糖和木糖又不能分离。在柱温为 30 °C 时, 各种糖组份都能够达到基线分离。因此, 选定色谱柱温度为 30 °C。

2.3 微波水解-离子色谱法与常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法比较

常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法是目前多

糖单糖组成常见的检测方法, 我们将建立的微波水解-离子色谱法与其在分析时间和分析结果方

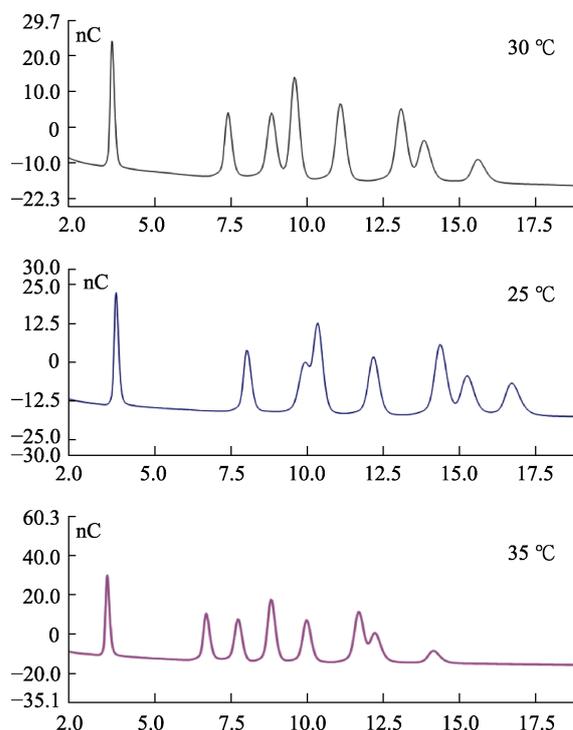


图 3 不同温度下各种糖的离子色谱图
Fig.3 Ion chromatograms of various sugars at different temperatures

表 2 微波水解-离子色谱和常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法分析时间比较

常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法	所需时间 /min	微波水解-离子色谱法	所需时间 /min
烘箱加热法水解多糖	150	微波法水解多糖	30
水解后续吹干	30	不需要吹干	0
衍生化反应	100	不需要衍生化	0
样品萃取	20	样品稀释	5
色谱分析时间	60	色谱分析时间	30
总时间	360	总时间	65

表 3 微波水解-离子色谱和常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法分析结果比较

	微波水解-离子色谱法	常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法
回收率/%	80.4~95.0	75.8~91.1
RSD/%	2.36~4.57	2.45~4.36
单糖总量/(mg/mL)	7.26±0.45	6.87±0.67

面进行了比较。结果表明,利用微波辐射的“内加热”作用,能加快水解的作用,且不需要对水解样品进行衍生化反应,整个样品的分析时间从 360 min 缩短至 65 min,大大提高了分析效率。分析结果比较表明,微波水解-离子色谱法的回收率略高于常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法,微波水解-离子色谱法含量分析结果比常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法多 8.54%,差别并不显著。说明微波水解多糖与常规烘箱加热法相比,主要是能提高水解效率,而对水解产物无显著影响。

2.4 离子色谱方法学研究

2.4.1 标准曲线、检出限

9 种单糖的质量浓度 x (mg/L) 与其峰面积 y ($nC \cdot \min$) 在 0.05~80 mg/L 范围内具有很好的线性关系,线性系数 R^2 均大于 0.998 5 (如表 4)。9 种糖的检出限(20 μ L 进样, $S/N = 3$) 在 2.0~9.0 μ g/L 范围内。证明该方法检测线性很好,线性范围较宽,检测灵敏度很高。

2.4.2 方法精密度、稳定性及重复性

标准溶液连续进样 5 次测定色谱峰峰面积,计算 9 种单糖的峰面积的 RSD 为 1.32%~4.58%;取合适浓度的水解多糖样品,分别在 0、2、4、6、8、12、24 h 进行测定,计算各峰面积得 RSD 为 1.45%~4.99%;平行制备水解多糖样品溶液 6 份,经水解、稀释后进行测定, RSD 为 1.31%~5.07%。以上结果表明,该方法精密度高、稳定性高、重现性好,可应用于多糖水解样品中 9 种单糖的分析。

表 4 9 种单糖的检出限及线性关系

Table 4 Detection limit and linear relationship of 9 monosaccharides sample

	标准曲线	R^2	线性范围 (mg/L)	检测限 (μ g/L)
岩藻糖	$y = 1.948 2x - 0.088 8$	0.999 2	0.05~50	2.0
鼠李糖	$y = 0.876 3x - 0.106 1$	0.998 7	0.10~60	2.0
氨基葡萄糖	$y = 2.140 5x - 0.049 3$	0.999 8	0.10~80	5.0
半乳糖	$y = 1.391 1x - 0.124 5$	0.999 3	0.10~80	3.0
葡萄糖	$y = 1.518 8x - 0.192 9$	0.998 5	0.05~80	4.0
甘露糖	$y = 1.378 0x - 0.177 5$	0.998 8	0.10~60	3.0
木糖	$y = 0.807 6x - 0.033 9$	0.999 8	0.10~60	2.0
果糖	$y = 0.408 2x + 0.042 5$	0.999 6	0.20~40	7.0
核糖	$y = 0.446 8x - 0.064 7$	0.998 8	0.30~40	9.0

2.4.3 准确度实验

分别加高、中、低 3 个浓度的混合氨基酸对照品溶液各 3 份于已知含量的供试品溶液中,测其回收率,实验结果表明各单糖于各浓度下的回收率均在 80.4%~95.0%之间, RSD 为 2.36%~4.57%,说明本方法测定多糖水解液中各单糖含量回收率良好,准确度高。

2.5 香菇多糖离子色谱标准指纹图谱的构建

2.5.1 香菇多糖离子色谱标准指纹图谱

将 106 个香菇多糖样品的离子色谱图谱数据转换成 CDF 格式,导入指纹图谱专用软件“中药色谱指纹图谱相似度评价系统”,见图 4。经多点校正、色谱峰匹配等软件处理方法生成香菇多糖离子色谱标准指纹图谱,见图 5。

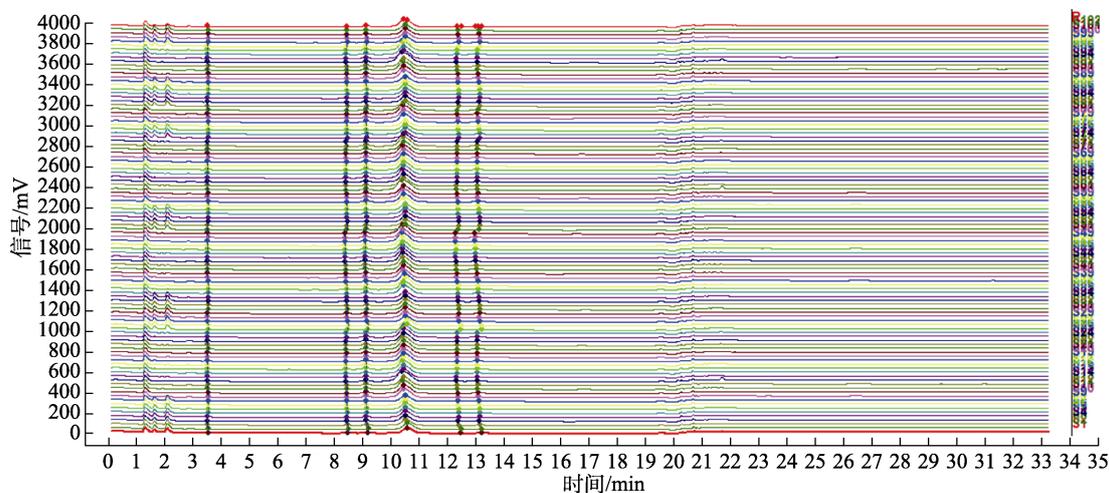


图 4 香菇多糖的离子色谱图谱
Fig.4 Ion chromatogram of lentinan

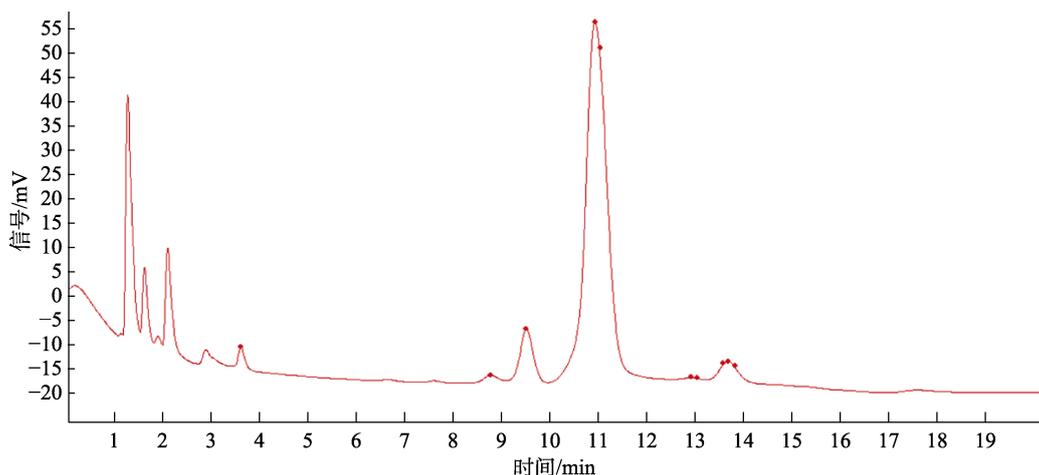


图 5 香菇多糖的离子色谱标准指纹图谱

Fig.5 Standard fingerprint of ion chromatograms of lentinan

2.5.2 单糖标准品对照定性共有峰中的单糖峰

对照上述在同样离子色谱条件下分析得到的 9 个单糖混合标样的色谱图见图 6A, 比较图中各峰的相对保留时间, 可以确定香菇多糖指纹共有特征峰中有 6 个是单糖峰, 依次为岩藻糖、氨基葡萄糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、木糖。

对 106 批次香菇多糖样品进行相似度评价, 均在 0.95 以上, 说明各批次间相似度良好, 离子色谱指纹图谱可作为香菇多糖质量控制和评价指标的重要参考依据之一。

3 结论

采用微波辅助酸水解法对香菇多糖样品进行前处理, 离子色谱检测, 优化了微波水解多糖条件和离子色谱条件, 与常规水解-PMP 衍生化-液相色谱法相比, 该方法每个样品的分析时间由原来的 365 min 缩短到 65 min。方法学研究表明该方法准确性高, 重现性、稳定性好, 可应用于香菇多糖样品的单糖组成分析。采用该方法对多批次香菇多糖样品进行分析, 构建基于多糖单糖组成信息的离子色谱指纹图谱, 为香菇多糖的质量控制提供更全面的参考。

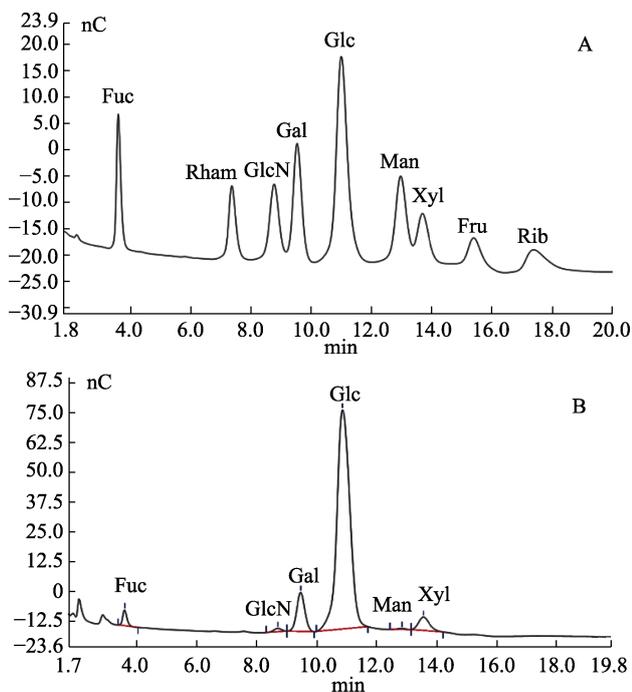


图 6 9 种单糖标样 (A) 和香菇多糖样品 (B) 的离子色谱图
Fig.6 A: Ion chromatograms of 9 monosaccharides standard sample; B: Ion chromatograms of lentinan sample

参考文献:

- [1] CHAKRABORTY I, SEN I K, MONDAL S, et al. Bioactive polysaccharides from natural sources: A review on the antitumor and immunomodulating activities[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 22: 101425.
- [2] ZHANG J, WEN C T, ZHANG H H, et al. Review of isolation, structural properties, chain conformation, and bioactivities of psyllium polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139: 409-420.
- [3] LEE J H, CHOUNG M G. Determination of optimal acid hydrolysis time of soybean isoflavones using drying oven and microwave assisted methods[J]. Food Chemistry, 2011, 129: 577-582.
- [4] 任晓宇, 裴晓静, 张少云, 等. 微波水解衍生高效液相色谱法测定饲料中的氨基酸[J]. 分析测试学报, 2017, 10: 1255-1259. REN X Y, PEI X J, ZHANG S Y, et al. Determination of amino acids in feed by high performance liquid chromatography with microwave hydrolysis derivatization[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2017, 10: 1255-1259.

- [5] 庄伟, 屈咪, 赵迪, 等. 黑木耳多糖的结构组成及其免疫活性研究[J]. 食品科技, 2020, 2: 205-210.
 ZHUANG W, QU M, ZHAO D, et al. Structural composition and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Auricularia Auricula*[J]. Food Science and Technology, 2020, 2: 205-210.
- [6] GU J Y, ZHANG H H, YAO H, et al. Comparison of characterization, antioxidant and immunological activities of three polysaccharides from *Sagittaria sagittifolia* L. [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 235: 115939.
- [7] 张忠华, 高维平. 植物多糖分析检测研究进展[J]. 吉林化工学院学报. 2014, 31: 33-37.
 ZHANG Z H, GAO W P. Advances in detection analysis of plant polysaccharides[J]. Journal of Jilin Institute of Chemical Technology, 2014, 31: 33-37.
- [8] LIU J, SHANG F N, YANG Z M, et al. Structural analysis of a homogeneous polysaccharide from *Achatina fulica*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 98: 786-792.
- [9] LODI G, PELLEGRINI L A, ALIVERTI A, et al. Recovery of monosaccharides from lignocellulosic hydrolysates by ion exclusion chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2017, 1496: 25-32.
- [10] 李仁勇, 梁立娜, 牟世芬, 等. 离子色谱-脉冲安培检测白醋和豆腐水中单糖和 大豆低聚糖[J]. 分析化学, 2009, 5(37): 725-728.
 LI R Y, LIANG L N, MOU S F, et al. Determination of monosaccharides and soybean oligosaccharides in white vinegar and tofu water by ion chromatography and pulsed amperometric detection[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2009, 5(37): 725-728.
- [11] 朱松, 戴军, 陈尚卫, 等. 高效阴离子交换色谱法检测酱油中的单糖及双糖[J]. 分析测试学报, 2012, 31(11): 1411-1415.
 ZHU S, DAI J, CHEN S W, et al. Determination of monosaccharide and disaccharide in soy sauce by ion chromatography[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2012, 31(11): 1411-1415.
- [12] 张水锋, 盛华栋, 姜侃, 等. 梯度洗脱优化-离子色谱-脉冲安培法分析婴幼儿配方乳粉中的糖和糖醇[J]. 色谱, 2016, 10: 946-950.
 ZHANG S F, SHENG H D, JIANG K, et al. Determination of carbohydrates and sugar alcohol in infant formula by ion chromatography with pulsed amperometric detection and an optimized gradient elution[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2016, 10: 946-950.
- [13] 牟世芬, 李宗利. 阴离子交换分离-脉冲安培检测分析糖类化合物的进展[J]. 色谱, 1995, 13: 320-324.
 MOU S F, LI Z L. The progress of carbohydrates determination by anion exchange separation with pulsed amperometric detection. [J]. Chinese Journal of Chromatography, 1995, 13: 320-324.
- [14] ALYASSIN M, CAMPBELL G M, O'NEILL H M, et al. Simultaneous determination of cereal monosaccharides, xylo- and arabinoxylo-oligosaccharides and uronic acids using HPAEC-PAD[J]. Food Chemistry, 2020, 315: 126221. 
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lspkj.ijournal.cn/ch/index.aspx>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。