

新疆昆仑雪菊多糖的分离纯化及其结构的初步鉴定

朱志胜, 邵理*, 杨金娟, 冶福俊

(石河子大学 食品学院, 新疆 石河子 832000)

摘要: 以新疆昆仑雪菊为原料, 采用超声波辅助法提取雪菊多糖(KSCP), 经脱蛋白、脱色、透析、DEAE-52层析柱和Sephadex G-100凝胶层析柱纯化后, 获得两个多糖组分(KSCP1和KSCP2); 将分离纯化后的多糖组分经紫外光谱分析法、冻融分析法、Sephadex G-100凝胶柱层析法对其纯度进行鉴定; 采用凝胶渗透色谱法和气质联用法(GC-MS)对KSCP分子质量范围和单糖组成进行分析。结果表明, KSCP1和KSCP2均为单一组分; KSCP1是由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖4种单糖组成, 其摩尔比为10.53:5.02:4.96:1, 分子质量范围为8 200~8 700 u; KSCP2主要由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖3种单糖组成, 其摩尔比为1:2.78:5.07, 分子质量范围为6 100~6 500 u。

关键词: 昆仑雪菊; 多糖; 纯化; 单糖组成; 结构

中图分类号: TS210.1

文章编号: 0254-5071(2016)07-0074-05

doi: 10.11882/j.issn.0254-5071.2016.07.016

Separation and purification of polysaccharides from Kunlun snow chrysanthemum in Xinjiang and preliminary identification of its structure

WEI Zhisheng, SHAO Li*, YANG Jinjuan, YE Fujun

(College of Food Science, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: Using Kunlun snow chrysanthemum in Xinjiang as the raw material, snow chrysanthemum polysaccharides (KSCP) were extracted by ultrasonic-assisted method. The extracts were purified by deproteinization, decoloration, dialysis, DEAE-52 chromatography column and Sephadex G-100 gel chromatography column, and two polysaccharide components (KSCP1 and KSCP2) were obtained. The purity of polysaccharide components were identified by ultraviolet spectrum analysis, freezing and thawing method and Sephadex G-100 gel column chromatography. Meanwhile, the range of KSCP molecular mass and monosaccharide composition were analyzed by gel permeation chromatography (GPC) and GC-MS. The results showed that KSCP1 and KSCP2 were both single composition. KSCP1 was composed of four kinds of monosaccharide including glucose, arabinose, galactose and xylose, the molar ratio was 10.53:5.02:4.96:1, and the range of molecular mass was 8 200-8 700 u. KSCP2 was composed of three kinds of monosaccharide including glucose, arabinose and galactose, the molar ratio was 1:2.78:5.07, and the range of molecular mass was 6 100-6 500 u.

Key words: Kunlun snow chrysanthemum; polysaccharides; purification; monosaccharide compositions; structure

新疆昆仑雪菊(*Coreopsis tinctoria* Nutt.)学名为双色金鸡菊、蛇目菊, 菊科金鸡菊属一年生草本植物, 是目前新疆唯一可以和雪莲齐名、且具有特殊功效和药用价值的高寒野生植物^[1]。仅在每年八月绽放一次, 花期短暂, 生长面积小, 产量极低。随着栽培技术的推广, 目前在新疆达坂城、皮山县、策勒县等地区均有广泛种植^[2]。现如今, 随着保健意识的增强, 消费者对天然植物保健品的需求量越来越大, 加之植物多糖虽然是由多个单糖分子缩合、失水而形成, 是结构复杂的糖类物质, 但具有提高机体免疫力、抑制肿瘤细胞生长、抗衰老、抗病毒、抗氧化、降血脂、降血糖等多种生物活性^[3], 因此植物多糖引起了许多学者的关注和研究。已有研究表明, 菊花多糖具有良好的保健效果^[4], 而新疆昆仑雪菊中多糖类含量约为13.86%, 远远高于其他品种菊花^[5]。

目前研究主要集中在昆仑雪菊的化学成分组成的探

索和提取上, 采用了不同方法提取了昆仑雪菊的黄酮类成分、挥发油、咖啡酸类成分、多糖、浸出物、微量元素和氨基酸等化学成分, 测量出昆仑雪菊含有10种微量元素和17种氨基酸, 而对昆仑雪菊多糖(Kunlun snow chrysanthemum polysaccharides, KSCP)的研究多局限于其多糖成分提取的最佳工艺优化层面上, 对于其单糖组成分析鲜有报道。YAMAZAKI S等^[6]通过比较昆仑雪菊、金盏黄菊花和金盏红菊花中总糖的含量得出如下结论: 昆仑雪菊总糖含量为26.81%, 高于其余两种菊花。张彦丽等^[7]不仅采用苯酚-硫酸法测得昆仑雪菊中多糖的含量为13.86%, 还说明了该方法测定昆仑雪菊多糖具有可靠性。邵理等^[8]采用超声波辅助提取法及响应面优化法得到了昆仑雪菊多糖的最佳提取工艺条件为料液比1:60(g:mL), 提取时间53 min, 提取温度68℃, 提取两次, 多糖得率为9.85%。曹志龙等^[9]采用多糖糖腈乙酸酯衍生化及柱前衍生气相色谱法对新疆金鸡菊

收稿日期: 2016-03-11

作者简介: 朱志胜(1992-), 男, 本科生, 研究方向为功能食品与食品配料。

*通讯作者: 邵理(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为功能食品。

多糖进行组成成分分析以及确定最佳衍生化条件,结果表明,金鸡菊粗多糖的单糖组成为:葡萄糖、阿拉伯糖、鼠李糖、木糖、甘露糖、半乳糖,摩尔比为0.42:2.51:0.48:0.83:6.38:2.07;糖腈乙酸酯衍生化最佳衍生化条件为10 mg样品、吡啶0.5 mL、醋酸酐0.5 mL、90℃反应30 min。敬思群等^[10]采用超高压技术提取金鸡菊多糖,并结合紫外-可见光谱和红外光谱对所得多糖进行了分析,结果表明其多糖最佳提取条件为:压力300 MPa,料液比1:16(g:mL),保压时间4 min, pH值为9,多糖提取率可达到6.42%;在如上条件下超高压技术对多糖的结构并无明显影响。ZHENG Y等^[11]从杭菊中得到两种酸性多糖(F4、F5)并对其进行了单糖组成成分分析,结果表明F4是由阿拉伯糖、半乳糖醛酸和半乳糖组成,其摩尔比为1.0:6.8:2.3;F5是由鼠李糖、半乳糖醛酸、半乳糖、阿拉伯糖组成,其摩尔比为3.2:4.3:1:1。

本研究以昆仑雪菊为原料经提取、分离纯化得到昆仑雪菊多糖,并对其理化性质及一级结构进行初步分析,为昆仑雪菊多糖的进一步研究提供参考,也为昆仑雪菊产品的研发提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新疆昆仑雪菊:西域金锄生物工程有限责任公司;考马斯亮蓝G-250、DEAE纤维素DE-52、Sephadex G-100:上海源叶生物科技有限公司;葡萄糖、果糖标准单糖、吡啶、盐酸羟胺、醋酸酐、肌醇:北京顶国生物技术有限责任公司;木瓜蛋白酶($\geq 6\,000$ U/mg):国药集团化学试剂北京有限公司;其他试剂均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

RE-52旋转蒸发仪:西安予辉仪器有限公司;UV-1240紫外可见分光光度计:日本岛津国际贸易公司;HHS-216恒温水浴锅常州国华电器有限公司;Neofuge-15R台式高速冷冻离心机:南京易普易达科技发展有限公司;ZXRD-7080全自动新型鼓风干燥箱:上海智城分析仪器制造有限公司;KQ-200V DE双频数控超声波清洗器:昆山市超声仪器有限公司;FDU-1200真空冷冻干燥机:上海智城分析仪器制造有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 昆仑雪菊多糖提取、分离和纯化^[12-14]

昆仑雪菊→干燥→粉碎→脱脂处理→超声波辅助提取→离心→取上清液→真空浓缩→醇沉(体积分数为95%乙醇)→冷冻干燥(-18℃)→昆仑雪菊粗多糖(KSCP)→蒸馏水溶解→木瓜蛋白酶结合Sevag法脱蛋白→脱色(HP-20树脂)→浓缩(50℃)→透析(截留分子量8 000 u)→冷冻干燥(-18℃)→蒸馏水溶解→DEAE-52纤维素柱层析柱→透析(截留分子量8 000 u)→浓缩(50℃)→冷冻干燥(-18℃)→Sephadex G-100柱层析→真空干燥→不同级分的KSCP

1.3.2 KSCP纯度鉴定

KSCP纯度鉴定分别采用紫外光谱扫描、冻融法和Sephadex G-100凝胶柱层析法进行分析。将KSCP配制成水溶液,紫外光谱分析法扫描波长为200~400 nm;冻融法则是将KSCP溶液,冷冻过夜,室温自融,1 000 r/min离心20 min,观察其现象,判断该多糖是否为纯多糖。

1.3.3 KSCP相对分子质量测定

采用凝胶柱层析测定KSCP多糖分子质量。准确称取一定标准葡聚糖系列T10、T40、T70、T500,配制成质量浓度为5.0 mg/mL溶液,然后依次上柱(Sephadex G-100凝胶柱),上样量均为0.5 mL,同时以0.1 mol/L NaCl溶液以0.5 mL/min进行洗脱,采用自动部分收集器按1管/2 min进行收集。用苯酚-硫酸法跟踪测定各标准葡聚糖的出峰情况,得到各洗脱液体积 V_e ,而外水体积 V_0 则由已知分子质量的蓝色葡聚糖T-2000的洗脱液体积求得,柱床体积 V_t 在试验前已测。标准曲线的横坐标为分配系数 K ,纵坐标为 $\lg M_w$,其中 M_w 为标准葡聚糖分子质量,分配系数 K 计算的公式如下:

$$K = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$$

将分离纯化得到的不同级别多糖KSCP组分均配成质量浓度为5.0 mg/mL溶液,按上述方法进行操作,依据制备获得的标准曲线计算不同级别KSCP相对分子质量。

1.3.4 KSCP单糖组成分析^[15-16]

(1) 标样及样品的制备

内标(肌醇六乙酸酯)的制作:准确称取盐酸羟胺($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) 2.25 g,肌醇 1.5 g于三口瓶中,再分别量取1.5 mL吡啶和22.5 mL醋酸酐,混匀后,置于90℃水浴中搅拌2 h,待反应结束后,冷却至室温,加入冰水使肌醇六乙酸酯析出,过滤,用20 mL水反复洗涤两次,100℃条件下烘干备用。称取100 mg肌醇六乙酸酯,三氯甲烷溶解至100 mL,制得内标液待用。

标准单糖衍生化:分别精确称取10.0 mg各标准单糖(L-阿拉伯糖、D-半乳糖、D-木糖、D-甘露糖、D-葡萄糖、D-核糖)于有标记的试管中。分别加入10.0 mg盐酸羟胺,1.0 mL吡啶,振荡溶解后于90℃水浴中反应30 min,冷却至室温,加入醋酸酐1.0 mL,90℃水浴30 min后, N_2 吹干,加入甲醇1 mL,反复3次吹干,加入三氯甲烷1 mL,过滤后用于气质联用法(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)分析。

多糖水解与衍生化:分别称取不同级别的KSCP各10 mg于安瓿管中,加入4 mol/L三氟乙酸3 mL,封管后于120℃水解3 h,进行完全酸水解,反应完成后用 N_2 吹干。按照上述标准单糖的衍生化方法处理,过滤后,待测。

(2) GC-MS分析

气相色谱条件:采用DB-WAX毛细管柱(30 m×0.25 mm×

0.25 μm), 柱温采用程序升温方式, 即初始温度40 $^{\circ}\text{C}$, 以5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至90 $^{\circ}\text{C}$, 再以10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至230 $^{\circ}\text{C}$, 保留7 min, 载气为氦气(He), 流速为0.9 mL/min, 1 μL 进样。

质谱条件: 电离方式为电子电离(electronic ionization, EI), 电子能量70 eV, 离子源温度: 250 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度: 200 $^{\circ}\text{C}$ 。

定性和定量分析: 采用单糖标准品保留时间定性, 内标法定量。

1.3.5 核磁共振分析

准确称取KSCP2 20.0 mg溶于0.5 mL的重水(D_2O)中, 400 MHz 核磁共振仪测定 ^{13}C -NMR谱。

1.3.6 KSCP理化性质的测定

(1) 溶解性测定

准确称取不同级别的KSCP 10.0 mg, 置于分别装有蒸馏水、丙酮、乙醇、乙醚、氯仿、正丁醇小烧杯中, 必要时采取超声波辅助处理, 观察各烧杯中多糖的溶解状态。

(2) 显色反应

将不同级别的KSCP配成质量浓度为10 mg/mL的多糖溶液, 分别进行碘-碘化钾($\text{I}_2\text{-KI}$)颜色反应、硫酸-苯酚反应、考马斯亮蓝反应和三氯化铁反应, 观察其颜色变化情况。

1.3.7 数据统计分析

数据均采用Origin 8.0 数据处理软件进行分析处理, 每组实验数据均进行3次平行。

2 结果与分析

2.1 KSCP的提取分离

干燥后的新疆昆仑雪菊经脱脂、超声辅助浸提、乙醇沉淀后得KSCP, 经木瓜蛋白酶结合Sevag法脱蛋白、HP-20树脂脱色后, 透析, 冷冻干燥得红棕色KSCP粗多糖。

2.1.1 DEAE-52纤维素柱层析

经脱蛋白、脱色、脱盐处理后的KSCP, 经DEAE-52纤维素柱层析, 洗脱曲线见图1。

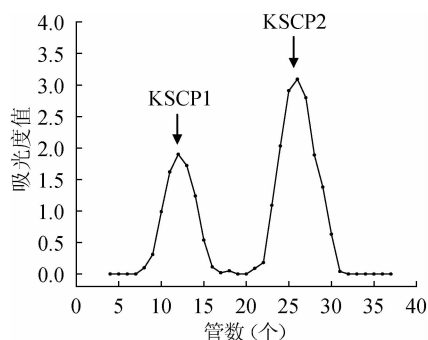


图1 DEAE-52层析柱纯化昆仑雪菊多糖洗脱曲线

Fig. 1 Elution curve of Kunlun chrysanthemum polysaccharides purified by DEAE-52 chromatographic column

由图1可知, 昆仑雪菊多糖通过DEAE-52层析柱分离到两个多糖级分, 分别命名为KSCP1、KSCP2。其中, 由蒸馏水洗脱, 经收集、透析、真空冷冻干燥所得到的级分为

KSCP1, 由0.2 mol/L NaCl洗脱, 经收集、透析、真空冷冻干燥所得到的级分为KSCP2, 且KSCP2的含量高于KSCP1。将得到的2个初步纯化产品KSCP1和KSCP2用Sephadex G-100凝胶层析柱进一步纯化。

2.1.2 Sephadex G-100凝胶柱层析

由DEAE-52层析柱分离出来的KSCP1、KSCP2两多糖级分, 分别经Sephadex G-100凝胶层析柱, 以苯酚硫酸法跟踪洗脱液, 并测得其吸光度值, 洗脱曲线分别见图2。

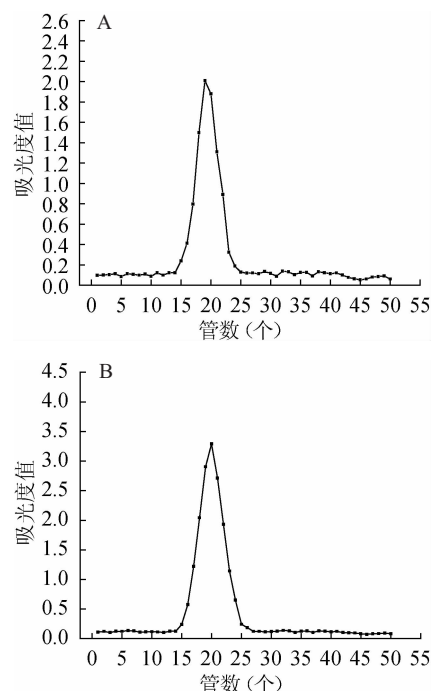


图2 Sephadex G-100层析柱纯化KSCP1(A)及KSCP2(B)洗脱曲线

Fig. 2 Elution curve of KSCP1 (A) and KSCP2 (B) purified by Sephadex G-100 chromatographic column

由图2可知, 洗脱曲线均出现单一狭窄的对称峰, 由此说明均为单一级分, 收集出峰对应管洗脱液, 经浓缩、透析、真空冷冻干燥, 备用。

2.2 KSCP纯度鉴定

2.2.1 紫外光谱法分析

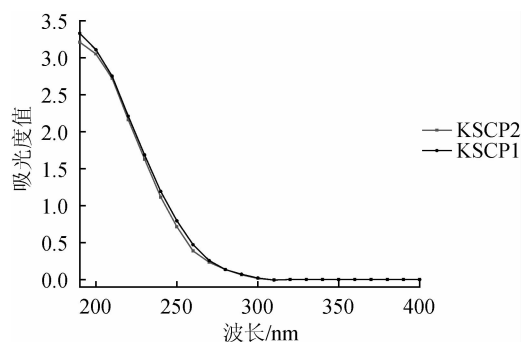


图3 昆仑雪菊多糖紫外光谱扫描结果

Fig. 3 Ultraviolet spectrum scan results of Kunlun chrysanthemum polysaccharides

由图3可知,在波长260 nm和280 nm处均未出现吸收峰,说明经DEAE-52 纤维素和Sephadex G-25凝胶柱层析获得后的KSCP1、KSCP2中均不含有核酸和蛋白等杂质。

2.2.2 冻融法

取出冷冻过夜的KSCP1、KSCP2溶液,室温自融,经10 000 r/min离心20 min,观察发现KSCP1、KSCP2离心管底部均无沉淀产生,溶液颜色为透明淡黄色,且与离心前颜色一样,由此确定KSCP1、KSCP2均为单一组分。

2.2.3 理化性质测定

KSCP1、KSCP2均为白色絮状物,经溶解性测定发现KSCP1和KSCP2易溶于蒸馏水,不溶于丙酮、乙醇、乙醚、氯仿、正丁醇等有机溶剂;经碘-碘化钾(I₂-KI)颜色反应,溶液没有产生蓝色现象,说明KSCP1、KSCP2不含淀粉;观察硫酸-苯酚反应溶液,均显橙黄色,存在糖类物质;考马斯亮蓝反应和三氯化铁反应均为阴性(溶液没变色),再次证实KSCP1、KSCP2不含蛋白质、核酸和酚类等物质。

2.3 KSCP相对分子质量

由标准葡聚糖系列绘制标准曲线,结果见图4。由图4可知,标准曲线回归方程为 $y = -5.94118x - 5.95962$,相关系数 $R^2 = 0.99684$ 。结果表明,分子质量对数值($\lg M_w$)与分配系数(K)具有良好的线性关系,可以用于多糖分子质量的测定。

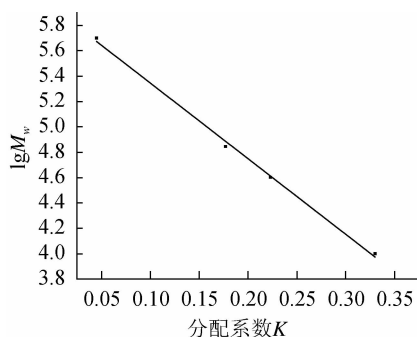


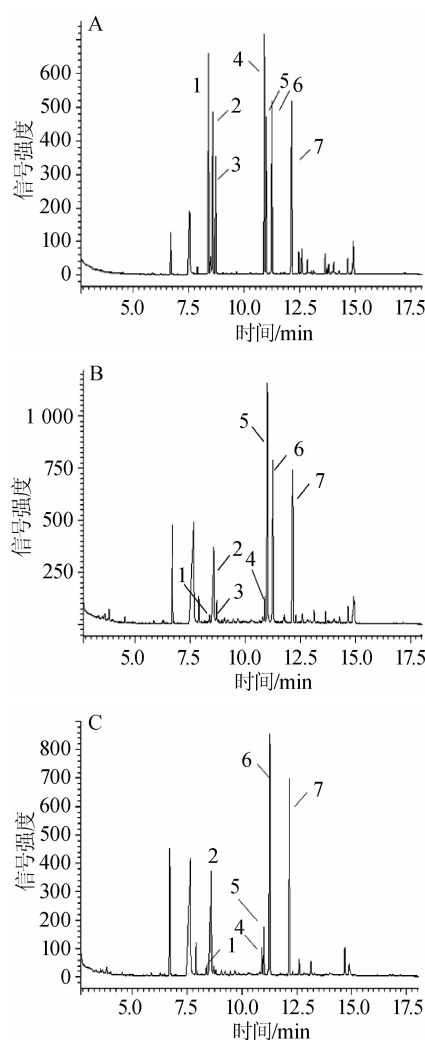
图4 多糖分子质量测定标准曲线

Fig. 4 Standard curve of polysaccharide molecular mass

多糖KSCP1、KSCP2经3次平行试验后得到:KSCP1的分子质量范围为8 200~8 700 u, KSCP2分子质量范围为6 100~6 500 u。

2.4 KSCP各级分单糖组成分析

目前常用的多糖衍生化有三甲基硅醚衍生化、糖腓乙酸酯衍生化和糖醇乙酸酯衍生化,其中三甲基硅醚衍生化易产生较多的异构峰,糖醇乙酸酯衍生化的操作过程较复杂,糖腓乙酸酯衍生化的操作虽相对复杂,但每个单糖都可以产生单一的色谱峰^[17-18]。实验采用糖腓乙酸酯衍生化,各标准单糖及多糖不同级分GC-MS分析总离子流色谱图见图5所示。



1-核糖(8.391 min), 2-阿拉伯糖(8.580 min), 3-木糖(8.720 min), 4-甘露糖(10.913 min), 5-葡萄糖(11.012 min), 6-半乳糖(11.251 min), 7-肌醇六乙酸酯(12.149 min, 内标)。

图5 单糖标准品(A)、KSCP1(B)和KSCP2(C)GC-MS分析总离子流色谱图

Fig. 5 Total ion chromatogram of monosaccharide standards (A), KSCP1 (B) and KSCP2 (C) analysis by GC-MS

由图5可知,将多糖KSCP1、KSCP2的色谱图与标准单糖色谱图保留时间进行比较^[19-20],发现除了阿拉伯糖、核糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖衍生物外,还存在未知的色谱峰,分析其原因可能是单糖在衍生化过程中生成了 α -型和 β -型吡喃和呋喃异构体。KSCP1经完全水解、糖腓乙酸酯衍生后经GC-MS分析得色谱图见图5B,将其与标准单糖的GC-MS色谱图对照(见图5A)可知, KSCP1主要由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖组成,仅含少量的甘露糖和半乳糖,主要组成单糖摩尔比为10.53:5.02:4.96:1; KSCP2经完全水解、糖腓乙酸酯衍生后经GC-MS分析得色谱图见图5C,将其与标准单糖的GC-MS色谱图对照(见图5A)可知, KSCP2主要由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖组成,少量的核糖及甘露糖,主要组成单糖摩尔比为1:2.78:5.07。

3 结论

采用超声波辅助热水浸提-醇沉法获得的昆仑雪菊多糖,经脱蛋白、脱色、透析、DEAE-52层析柱和Sephadex G-100凝胶层析柱纯化,得到两多糖级分KSCP1和KSCP2,结合紫外光谱分析法、冻融分析法、Sephadex G-100凝胶柱层析法对其纯度进行鉴定,表明KSCP1和KSCP2均为单一组分,不含有蛋白质、核酸和酚类等物质。采用凝胶柱层析和GC-MS对KSCP相对分子质量和单糖组成进行分析,其中KSCP1分子量范围为8 200~8 700 u,主要由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖、木糖4种单糖以摩尔比为10.53:5.02:4.96:1组成;KSCP2分子质量范围为6 100~6 500 u,主要由葡萄糖、阿拉伯糖、半乳糖3种单糖以摩尔比为1:2.78:5.07组成。

参考文献:

- [1] 张彦丽,茹鲜古丽·哈斯木,丁海燕,等. 超声-微波协同萃取法提取昆仑雪菊中总黄酮的研究[J]. 广州化工, 2011, 39(21): 57-59.
- [2] 邵理,詹萍,田洪磊. 响应面法优化新疆昆仑雪菊多糖提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 233-237.
- [3] DIAS T, BRONZE M R, HOUGHTON P J, et al. The flavonoid-rich fraction of *Coreopsis tinctoria* promotes glucose tolerance regain through pancreatic function recovery in streptozotocin-induced glucose-intolerant rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2010, 132(2): 483-490.
- [4] 范灵婧,倪鑫炎,吴纯洁,等. 菊花多糖的结构特征及其对NF- κ B和肿瘤细胞的活性研究[J]. 中草药, 2013, 44(17): 2364-2371.
- [5] 阿赛古丽. 昆仑雪菊化学成分分析和多糖的提取及活性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2014.
- [6] YAMAZAKI S, MORITA T, ENDO H, et al. Isoliquiritigenin suppresses pulmonary metastasis of mouse renal cell carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2002, 183(1): 23-30.
- [7] 张彦丽. 苯酚-硫酸法测定维吾尔药昆仑雪菊多糖含量的研究[J]. 药物分析杂志, 2010(11): 2205-2207.
- [8] 邵理,詹萍,田洪磊. 响应面法优化新疆昆仑雪菊多糖提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(21): 233-237.
- [9] 曹志龙,马晓丽. 气相色谱法测定新疆金鸡菊多糖中单糖的组成[J]. 武警医学, 2012, 23(10): 848-850.
- [10] 敬思群,张晓鸣. 超高压处理金鸡菊多糖提取工艺条件优化[J]. 食品科技, 2013, 38(2): 168-172.
- [11] ZHENG Y, WANG X S, FANG J. Two acidic polysaccharides from the flowers of *Chrysanthemum monfolium*[J]. *J Asian Nat Pro Res*, 2006, 8(3): 217-222.
- [12] 陶遵威,郑夺,邸明磊,等. 植物多糖的研究进展[J]. 药物评价研究, 2010, 33(2): 148-152.
- [13] 臧玉红,李仁杰. 响应面法对滑子菇多糖提取工艺的优化[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(22): 5702-5706.
- [14] RIBAS C M, ROBINSON S A, GONZALEZ-MELER S A, et al. Effects of light on respiration and oxygen isotope fractionation on soybean cotyledons[J]. *Plant Cell Environ*, 2012, 23(9): 983-989.
- [15] XIANG Z B, CHEN H S, JIN Y S. Phenolic constituents of *Canarium album*[J]. *Chem of Nat Comp*, 2010, 46(1): 119-120.
- [16] DASTMALCHI K, FLORES G, PETROVA V, et al. Edible neotropical blueberries: antioxidant and compositional fingerprint analysis[J]. *J Agr Food Chem*, 2011, 59(7): 3020-3026.
- [17] 周桂芬,庞敏霞,陈素红,等. 铁皮石斛茎、叶多糖含量及多糖部位柱前衍生化-高效液相色谱指纹图谱比较研究[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(5): 795-802.
- [18] 万强,吴学昊,范华均,等. HPLC衍生化法分析决明子多糖水解产物中单糖组分及其多糖组成特征的研究[J]. 分析测试学报, 2014, 33(11): 1231-1236.
- [19] GERD M, HARDY R, JOHANNES F, et al. Dynamic $^{13}\text{C}/^1\text{H}$ NMR imaging uncovers sugar allocation in the living seed[J]. *Plant Biotech J*, 2011, 9(9): 1022-1037.
- [20] ATREYA H S, SATHYAMOORTHY B, JAIPURIA G, et al. GFT projection NMR for efficient $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ sugar spin system identification in nucleic acids[J]. *J Biomol NMR*, 2012, 54(4): 337-342.

欢迎登录《中国酿造》网站 www.chinabrewing.net.cn

欢迎投稿