

★ 综述 ★

质谱解析多糖结构的方法学进展*

刘芳¹, 赵声兰², 陈朝银^{1**}

(1. 昆明理工大学, 昆明 650224; 2. 云南中医学院, 昆明 650200)

摘要: 在多糖结构分析的诸多方法中, 质谱技术被认为是一个重要的不可缺少的手段, 其中快原子轰击、电喷雾离子化、基质辅助激光解吸、串联质谱等质谱技术已在多糖结构的分析中有许多成功的应用。

关键词: 质谱; 多糖; 结构; 进展

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2011)08-1612-06

Progress on mass spectrometry in structural analysis of polysaccharides*

LIU Fang¹, ZHAO Sheng-lan², CHEN Chao-yin^{1**}

(1. Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China;

2. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine, Kunming 650200, China)

Abstract: In many structural analysis methods of polysaccharides, mass spectrometry technology is considered as an important indispensable way, there are many successful application of fast atom bombardment, electro-spray ionization, matrix-assisted laser desorption ionization and tandem mass spectrometry et al. in the structural analysis of polysaccharides.

Key words: mass spectrometry; polysaccharide; structure; review

多糖作为药物应用是在 20 世纪 40 年代, 自 20 世纪 60 年代以来, 人们陆续发现多糖具有更多的生物活性。但是相对于几种生物大分子的结构分析方法来说, 多糖的结构研究方法一直落后于核酸、蛋白质和脂类, 并且多糖结构分析的方法近十几年来尚无重大的突破, 从而使与糖化学相关学科的发展受到一定的限制^[1]。

质谱 (mass spectrometry, MS) 不仅能够提供大量可靠的样品结构信息和较高的检测灵敏度, 而且也具有快速定性的能力, 对于复杂样品中的未知组分可以提供精确的分子量及大量的分子结构信息, 因此受到了化学家的青睐。特别是电喷雾 (ESI)、快原子轰击电离 (FAB) 及基质辅助激光解吸离子化 (MALDI) 等新型离子源的相继问世, 将质谱与各种分离技术在线联接起来, 成为既具有高分辨能力, 又能提供分析物的结构信息的一体化分离分析系统。在糖类的结构分析中, MS 技术显示了不可替代的作

用。其中, 飞行时间质谱 (TOF-MS) 和离子阱质谱 (IT-MS) 是测定大分子多糖分子量的最佳选择, 特别是在和液相色谱 (LC) 或气相色谱 (GC) 联用分析糖复合物或多糖降解后的化合物, 对其中的单糖和寡糖残基进行鉴定和序列测定时具有很高的精密度^[2]。

1 电子轰击质谱 (electron impact mass spectrometry, EI-MS)

EI-MS 具有重现性好、灵敏度高, 所得碎片离子多, 质谱图复杂, 获得有关分子结构的信息量大, 有丰富的碎片离子信息和成熟的离子开裂理论, 有利于物质的结构分析和鉴别等优点。但是 EI 离子化的方式能量高, 对分子量较大或稳定性差的试样, 常常得不到分子离子峰, 故不利于确定分子量; 试样需要加热气化后进行离子化, 故不适合直接用于难挥发的糖类化合物的分析。目前, EI-MS 分析多糖主要用于气质联用。

* 云南省研究基金项目 (2006C0046M、07Z10197) 及国家基金项目 (30760304) 资助

** 通讯作者 Tel: 15287111153; E-mail: chaoyinchen@163.com

2 快原子轰击质谱(fast atom bombardment mass spectrometry, FAB-MS)

该技术由 Barber 等于 1981 年首先报道。它对于热不稳定或难挥发化合物能给出强的准分子离子,由此可推测其分子量。FAB-MS 已被证明是分析糖类结构的一种有力的方法,他不仅可以测定寡糖及其衍生物的分子量,而且可测定聚合度高于 30 的糖的分子量^[3]。在 FAB 谱中,强度大的碎片离子往往是糖链断裂后的各残基离子,据此还可以对糖链进行序列分析及糖残基连接位点的确定^[4]。结构中含有负电荷基团如 N-乙酰神经氨酸基、磷酸基或硫酸基等的酸性多糖或寡糖,尤其适合于阴离子 FAB-MS 测定。Li 等研究在阴离子模式下, FAB-MS 谱图能够提供硫酸化和唾液酸化的 Le-糖鞘脂中硫酸化和唾液酸化糖链序列,特别是通过硫酸化和唾液酸化的 Le-糖鞘脂非还原末端的三糖母离子来区别 Le^a-寡糖(图 1)和 Le^x-寡糖(图 2)两种异构体^[5],其中图 3 和 4 分别为 Le^a-寡糖和 Le^x-寡糖两种异构体在 FAB CID MS-MS 阴离子模式下的裂解方式。

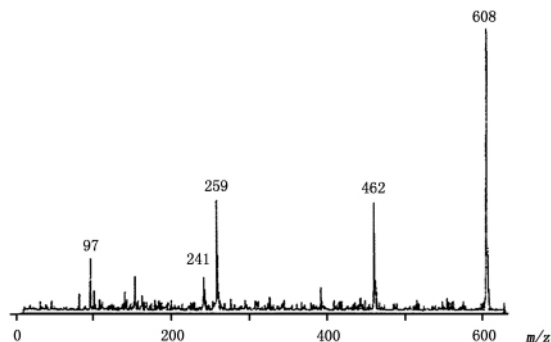


图 1 硫酸化的 Le^a-糖鞘脂非还原末端的三糖母离子 [C₂]⁻ 的阴离子模式 FAB CID-MS/MS 图

Fig 1 Negative-ion FAB CID-MS/MS of sulfated Le^a-glycosphingolipids having the fragment ions that correspond to the [C₂]⁻-type ions as the precursor ion

虽然 FAB-MS 可以显示碎片离子,但有时检测不到分子离子峰^[6],在糖类结构分析中,他逐渐被其他灵敏度更高的质谱技术所代替。

3 电喷雾电离质谱(electro-spray ionization mass spectrometry, ESI-MS)

电喷雾电离(ESI)是样品在处于大气压的离子化室内完成,得到的分子离子一般带有多个电荷,故在正离子或负离子谱上会看到 [M + nH]ⁿ⁺ 或 [M - nH]ⁿ⁻ 峰。质谱以质荷比来分离不同的离子,如果一个分子能带有多个电荷,则可测的分子量会增加,

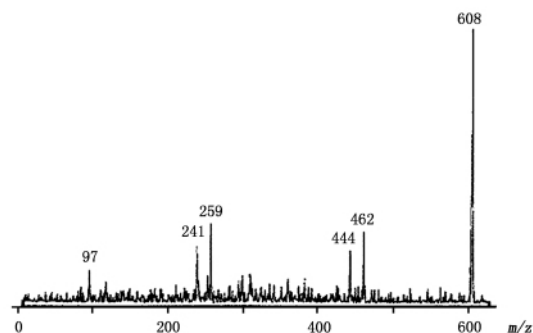


图 2 硫酸化的 Le^x-糖鞘脂非还原末端的三糖母离子 [C₂]⁻ 的阴离子模式 FAB CID-MS/MS 图

Fig 2 Negative-ion FAB CID-MS/MS of sulfated Le^x-glycosphingolipids having the fragment ions that correspond to the [C₂]⁻-type ions as the precursor ion

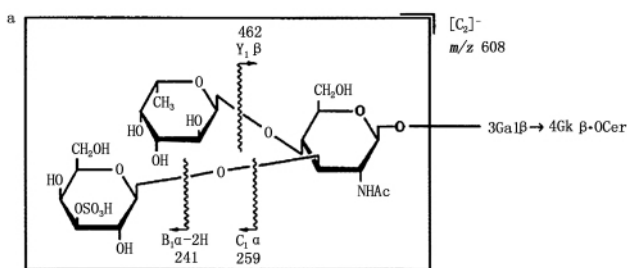


图 3 硫酸化的 Le^a-糖鞘脂非还原末端的三糖母离子 [C₂]⁻ 的阴离子模式 FAB CID-MS/MS 的裂解方式

Fig 3 The fragmentations of the negative-ion FAB CID-MS/MS of sulfated Le^a-glycosphingolipids having the fragment ions that correspond to the [C₂]⁻-type ions as the precursor ion

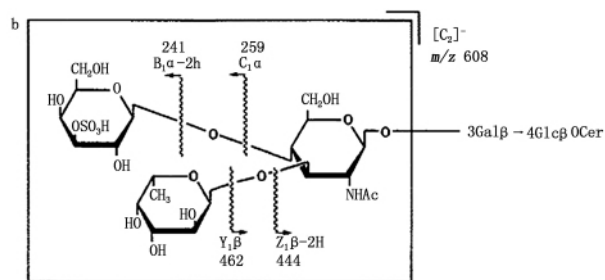


图 4 硫酸化的 Le^x-糖鞘脂非还原末端的三糖母离子 [C₂]⁻ 的阴离子模式 FAB CID-MS/MS 的裂解方式

Fig 4 The fragmentations of the negative-ion FAB CID-MS/MS of sulfated Le^x-glycosphingolipids having the fragment ions that correspond to the [C₂]⁻-type ions as the precursor ion

所以 ESI-MS 可测定的最大质量数可达到十万。对糖而言,ESI-MS 甚至可以分析 25 个甚至更多单糖残基组成的含羧基或硫酸根等官能团的多糖,而 FAB-MS 则无法分析^[7]。ESI-MS 能检测非衍生化 pmol 量级的糖,且灵敏度高,因而无需衍生化就能区分寡糖是 O-还是 N-连接的,确定寡糖的结

构、聚合度及组成,并能精确测定糖蛋白的分子量及其中寡糖的序列及结构均一性^[8]以及海藻多糖(Laminadn)结构不均一性。如张真庆^[9]应用ESI-CID-MS/MS对外源性系列褐藻酸寡糖进行了序列分析,根据褐藻酸寡糖所产生的跨环断裂碎片的不同可以区分甘露糖醛酸和古罗糖醛酸残基在糖链中的位置,从而确定寡糖的序列;同时,应用ESI-MS对糖蛋白上O,N-糖链释放方法进行探索及对所释放寡糖本身进行描述和比较进行了初步的研究。ESI-MS也可以用于衍生化糖^[10]和糖型的测定,在其分析前于溶液中加入NaAc或NH₄Ac也可

以获得很好的正离子图谱。

Cmelik等采用ESI-IT-MS的方法,确定淀粉寡糖的单糖顺序。碎片离子[M-H]⁻和[M+Cl]⁻在[M-H-90]⁻和[M-H-78]⁻鉴定的基础上,明确的给出了糖苷键α-(1→4)和β-莲-(1→6)的细微差别,如图5为潘糖的质谱图,在阴离子模式的图中m/z 425为判定糖苷键α-(1→4),而m/z 251为β-(1→6)糖苷键的特征碎片离子。对于一蔗糖为端基的非还原的糖类,碎片离子从果糖单元开始,接着是剩余糖环的断裂。另外,还原和非还原糖类碎片可以通过其碎片特征来区分^[11]。

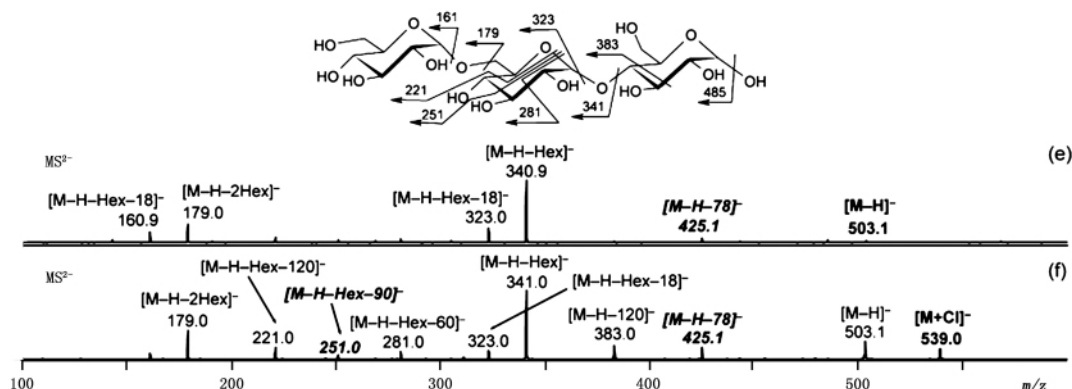


图5 潘糖的质谱图: e 为[M-H]⁻的MS²⁻, f 为[M+Cl]⁻的MS²⁻

Fig 5 Mass spectra of panose: MS²⁻ of [M-H]⁻ (e) and [M+Cl]⁻ (f)

目前,ESI-MS在多糖结构鉴定中的应用,更多的是对于非共价键的鉴定,即使是很弱的非共价键均可以被检测出,包括静电作用结合的非共价键。ESI-MS通过质谱提供的碎片离子,可以给出非共价键结合的化学计量数,且在一些情况下,非共价键的结合常数可以通过改变外加电压的大小来获得^[12]。

另有包括电喷雾电离(ESI)和大气压化学电离(APCI)的大气压电离(API)。APCI是最软的电离方式之一,只产生单电荷峰,适合于分析分子量略小或极性较小的化合物,在多糖中的应用较少。而用API源分析糖类化合物具有明显的优势,它无需对糖类化合物进行衍生,可以得到明显的准分子离子峰,通过诱导碰撞裂解(CID)技术或串联质谱技术(MSⁿ)获得的分子离子的碎片峰能提供许多结构信息^[13]。

4 基质辅助激光解吸离子化质谱(matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry, MALDI-MS)

基质辅助激光解吸电离-飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)的原理是用激光照射样品与基质形

成共结晶,基质从激光中吸收能量传递给生物分子,使生物分子电离,离子在电场作用下飞过飞行管道,根据到达检测器的飞行时间不同而被检测,测定离子的质荷比与离子的飞行时间成正比^[14]。

MALDI质谱被证明是分析碳水化合物以及蛋白质或脂类结合物的重要手段之一。和其他质谱方法相比,MALDI无需衍生化。图谱可以准确的给出样品的组成,而且还可以和其他方法联用,如HPLC/GC/MS或外切糖苷酶消化以分析得到碳水化合物结构的详细信息^[15]。

MALDI-TOF-MS可准确、快速和灵敏(可检测到10⁻¹⁵ mol级)的测定大分子多糖的分子量。然而,多糖分子量的分散性是影响MALDI-TOF-MS检测多糖样品中高聚合度多糖分子和导致质谱图高质量区域不出现样品质谱峰的一个主要原因。常用的解决方法是先对多糖进行分级处理,再对各级分别作MALDI-TOF-MS测定分析^[16]。但是若能寻找合适的基体、测试方法和测试条件,实现MALDI-TOF-MS对多糖样品的直接测定,能够省去耗时间和耗费用的分级以及衍生化等预备步骤,可以大大减少样品用量,缩短分析时间,提高测试效率和效

益。由于糖类物质种类的多样性和结构的复杂性,目前还没有非常通用有效的基质,不同组成和结构的样品需要寻找和选择一种或几种合适的基质。所以 MALDI-TOF-MS 分析糖类时,基质的寻找显得更为重要。

张珍英等^[17]将几种香豆素类新基质(香豆素、3-羟基香豆素(3-HC)、3-氨基香豆素(3-AC)、3-羧基香豆素(3-CC)和4-甲基-7-羟基香豆素(4-M-7-HC)分别应用于基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)测定葡聚糖和3种糖蛋白的研究。香豆素和3-羟基香豆素分别与2,5-二羟基苯甲酸(DHB)混合组成2种二元基质,极大地改善了基质和葡聚糖样品的共结晶状况,使样品的分布更加均匀。同时使得葡聚糖样品更易解吸/电离,每个激光点照射样品均能产生较强的质谱信号,且谱图重现性更好,得到了理想的MALDI-TOF-MS谱图(如图6)。因此,这些香豆素类化合物将为MALDI-TOF-MS分析多糖物质提供更多新基质选择。

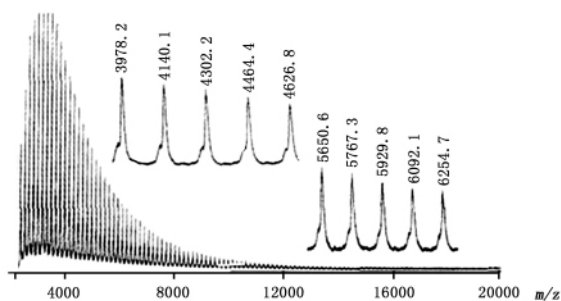


图6 葡聚糖的MALDI-TOF-MS线性正离子模式质谱图,基质:DHB/3-HC(M/M=3:1)

Fig 6 MALDI-TOF-MS mass spectrum of dextran sample, matrix dihydroxybenzoic acid(DHB)/3-hydroxycoumarin(3-HC)(molar ratio is 3:1), in linear and positive mode

Bultel等^[18]采用亚硝酸降解,高效阴离子交换色谱分离,以及UV-MALDI-TOF进行分析,鉴定了肝素的六个硫酸化寡糖的结构。同时也发现采用复合基质的方法是一种快速有效的分析肝素硫酸化寡糖的方法,对于分析由二糖组成的重复单元多糖也很有用。酸性基团的钠盐比较稳定,因此可以从完整的分子得到离子的种类。而且丁基甲酸铵的使用,使样品有更好的解吸作用,可能是因为基质改变了硫酸寡糖类的共结晶结构。

5 气质联用(GC-MS)

国内外学者目前对于多糖的单糖组成多用GC、HPLC或HPCE进行定性定量分析。在定量方面,GC、HPLC、HPCE拥有强大优势,但在定性方面却存

在着不足,因单纯依靠保留时间定性不够准确。而GC-MS在定性方面具有特效、快速的特点。但GC-MS要求样品经过气化后才可进入色谱柱,只适合分析小分子(分子量<1000)、易挥发和热稳定的化合物^[19]。对于多糖,需先将其降解为结构简单的单糖或寡糖,再衍生成易挥发、热稳定的衍生物,通过对降解糖的衍生物的定性、定量测定,可得到多糖的基本结构^[20]。

例如,多糖样品全甲基化保护羟基,水解得到部分甲基化的单糖混合物后,用硼氢化钠还原,再乙酰化得到部分甲基化链状多羟基醇的乙酰衍生物,应用气相色谱和电子轰击质谱联用(GC-EI-MS)测定混合物,不仅可以了解单糖组成及其大致的分布情况,还能确定连接方式。Ke^[21]等运用GC-EI-MS得到茯苓多糖由核糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成及其单糖间的连接方式。白日霞等^[22]将海胆内容物硫酸多糖XB-3进行脱硫得到多糖XB-3D,分别对XB-3和XB-3D进行甲基化,对脱硫前后的部分甲基化糖进行GC-MS测定,通过MS分析得出XB-3和XB-3D的结构信息,包括其主链和支链的构成、连接方式、硫酸基取代位置和结构模型。

6 液质联用(LC-MS)

LC-MS是20世纪80年代出现的新型联用技术,近10年来,随着质谱技术的快速发展,液质联用越来越多地被用于糖类的结构测定和研究之中,而且由于液质联用技术仅需要微量的样品,并且短时间内就可以给出低聚糖的结构和相对分子质量信息。它适合于易挥发、半挥发性弱的有机物,热不稳定化合物及生物大分子^[23]。如李波等^[24]利用HPLC先将羊栖菜褐藻糖胶DSF32部分酸水解得到的寡糖进行分离,然后进行质谱分析,得到了寡糖的结构信息;再对寡糖进行甲基化分析,获知糖苷键的结构信息,这样基本可以完成这个多糖的结构解析。

ESI-MS与HPLC联用,其灵敏度和精确度远远优于现在运用比较广泛的FAB-MS,可分析寡糖及其衍生物,确定糖化位点及一般性质。透明质酸/硫酸软骨质素/硫酸皮肤素属于葡糖氨基聚糖类,而葡糖氨基聚糖类是天然的带负电荷的线性杂多糖,且在不同的生命体中,其结构有一定的差异,Volpi^[25]采用HPLC-ESI-MS在线分离以及对2-氨基吡啶酮衍生化后的透明质酸/硫酸软骨质素/硫酸皮肤素二糖类先采用荧光检测再用ESI-MS检测,通过这种方法证实了几种经过酶消化的生物样品所

得到的特有的低聚物。梁达清^[26]等采用 HPLC - ESI - IT - MS 方法,以低聚果糖为对照品,测定了巴戟天低聚糖的总含量和各种低聚糖的含量,通过解析质谱图,确定巴戟天中 4 种低聚糖的结构,并且首次在巴戟天中发现相对分子质量为 342 的二聚糖和相对分子质量为 504 的三聚糖,而在此之前还未有巴戟天低聚糖含量测定的报道。

7 质谱串联技术(MSⁿ)

使用单一质谱时,由于生物样品的复杂性以及不同的离子化方式可能导致样品基质复杂或样品自身降解,造成谱图的复杂化,难以辨别信号和噪音。而串联质谱则可以提供一种更丰富的质谱解析方法,通常使用前级质谱获取前体离子(母离子)信息,经过特定的裂解过程,由后级质谱对二次离子(子离子)进行鉴别,有分离、结构分析同时完成的特点,能直接分析混合物组分,有高度的选择性和可靠性。目前,糖类化合物的分析方法有很多种,但都需要大量纯度高的样品,且结果有时很难解析,而 MSⁿ 分析过程中仅消耗 1×10^{-12} mol 量的样品,对样品纯度要求较低,是一种灵敏度高的更适合糖类化合物结构分析的方法。而且 MSⁿ 可以与 FAB、ESI、MALDI 等技术联用成为糖类化合物细微结构分析的有效手段。

Gonçalves 等^[27]利用 MS - MS 和 MSⁿ 报道了仅有葡萄糖和鼠李糖残基取代的四糖凝胶糖单元。MS - MS 联用技术也可用于糖胺聚糖类的结构细节的分析,糖胺聚糖类位置异构体比较多,如硫酸根位置的不同,糖醛酸的差向异构,以及氨基己糖的非对映异构体,这些均可以通过 MS - MS 联用获得^[28]。

ESI - MS/MS 是最常用的一种串联质谱,它能成功的确定复杂混合物中未经衍生化的寡糖序列及精细结构。杨波等^[29]将 ι - 卡拉胶水解得到的寡糖混合物,经过分离纯化得到 10 个寡糖单体,用电喷雾碰撞诱导串联质谱(ESI - CID - MS/MS)对其进行序列分析,得到它们分别还原端为 2 - 硫酸 - 3,6 - 内醚半乳糖和非还原端为 4 - 硫酸 - 半乳糖的 ι - 卡拉胶二至二十糖。Robbe 等^[30]应用 ESI - MS/MS 确定了 O - 葡聚糖中未衍生化的寡糖序列,阴离子模式可以区分异构分子,分析硫酸化或唾液酸化的葡聚糖。另外,ESI - IT - TOF - MS 综合了离子阱质谱与飞行时间质谱的特点,可提供高分辨率、高精度的多级(MSⁿ, n > 2)质谱数据。董静等采用 HPLC/ESI - IT - TOF MS 获得了虎杖化学成分的高精度多级质谱(MS¹ ~ MS⁶)数据,高效、准确地鉴别

了相关组分^[31]。

糖类的结构与其功能密切相关,糖的结构研究直接影响着糖药理学的发展,所以糖类化合物结构的研究,无论是对高活性糖的寻求与开发,还是对糖药理学中构效关系的研究,都具有至关重要的意义。随着质谱仪器的进一步完善,对机理进一步的了解,谱图解析工作的进一步深入,如建立较完整的谱库,质谱联用技术的进一步发展,相信质谱技术将成为糖分析的有力工具,完成糖的分子量、序列、组成及连接的测定。

参考文献

- 1 FANG De - fu(方福德), YANG Huan - ming(杨焕明). Frontier technology of molecular biology(分子生物学前沿技术). Beijing(北京): Beijing Medical University and China Xie - he Medical University Press Association(北京医科大学中国协和医科大学联合出版社), 1998. 355
- 2 CHEN Yao - zu(陈耀祖), TU Ya - ping(涂亚平). Organic mass spectrum principle and application(有机质谱原理及应用). Science Press(科学出版社), 2001. 103
- 3 Okamoto M. A comparative study on structural elucidation of sialyl oligosaccharides by mass spectrometry with fast atom bombardment, electrospray ionization and matrix assisted Laser desorption/ionization. Biosci Biotechnol Biochem. 2001 65(11): 2519
- 4 Honda S, Suzuki S, Taga A *et al.* Analysis of carbohydrates as 1 - phenyl - 3 - methyl - 5 - pyrazolone derivatives by capillary/microchip electrophoresis and capillary electrochromatography. J Pharm Biomed Anal. 2003 30(6): 1689
- 5 Li T, Ohashi Y, Ogawa T *et al.* Negative - ion fast atom bombardment and electrospray ionization tandem mass spectrometry for characterization of sulfated and sialyl Lewis - type glycosphingolipids. Glycoconj J. 1996 13(2): 273
- 6 Ohashi Y, Itoh Y, Kubota M *et al.* Analysis of sugar epimers using mass spectrometry: N - acetylactosamine - 6,6' - disulfate and the 2' - epimer. Eur J Mass Spectrom. 2004 10(2): 269
- 7 CHEN Hui - li(陈惠黎), WANG Ke - yi(王克冀). Structure and function of glycoconjugates(糖复合物结构与功能). Shanghai(上海): Shanghai Medical University Press(上海医科大学出版社), 1997. 43
- 8 ZHANG Tian - mu(张天幕). Electrospray ionization mass spectrum and its application in chemistry protein(电喷雾电离质谱及其在蛋白质化学研究中的应用). Life Sci Instrum(生命科学仪器) 2004 2(5): 21
- 9 ZHANG Zhen - qing(张真庆). The Methodology for Analysis of Oligosaccharides at High Sensitivity Using Mass Spectrometry(质谱分析外源性和内源性寡糖的方法学研究). China Ocean University PhD Thesis(中国海洋大学博士学位论文) 2006
- 10 Shen X, Perreault H. Electrospray ionization mass spectrometry of 1 - phenyl - 3 - methyl - 5 - pyrazolone derivatives of neutral and N - acetylated oligosaccharides. J Mass Spectrom. 1999 34(5): 502

- 11 Richard C, Josef C. Structural analysis and differentiation of reducing and nonreducing neutral model starch oligosaccharides by negative - ion electrospray ionization ion - trap mass spectrometry. *Int J Mass Spectrom.* 2010 291:33
- 12 Fernas S, Gonnet F, Varenne A *et al.* Frontal analysis capillary electrophoresis hyphenated to electrospray ionization mass spectrometry for the characterization of the antithrombin/heparin pentasaccharide complex. *Anal Chem.* 2007 79 (13):4987 - 4993
- 13 LIU Cui - ping(刘翠平). Study on liquid chromatography - atmospheric pressure ionization mass spectrometry in the structural determination of monosaccharide and oligosaccharide(液相色谱 - 大气压电离质谱在单糖和寡糖结构分析中的研究). Guang xi University Master Degree Thesis(广西大学硕士学位论文) 2003
- 14 ZHANG ying(张莹), LU Hao - jie(陆豪杰), YANG Peng - yuan (杨芃原). Recent developments in profiling and imaging of molecules from tissue sections by MALDI Mass Spectrometry(基质辅助激光解吸电离质谱用于生物组织的质谱成像应用进展). *J Chin Mass Spectrom Society*(质谱学报) 2009 4(30):250
- 15 Harvey DJ. Matrix - assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of carbohydrates and glycoconjugates. *Int J Mass Spectrom* , 2003 226: 1
- 16 DENG Hui - min(邓慧敏), ZHANG Zhen - ying(张珍英), ZHA Qing - min(查庆民) *et al.* Determination of High Polymerization Degree Dextran by Matrix - assisted Laser Desorption/Ionization Time - of - flight Mass Spectrometry(MALDI - TOFMS) and Comparison of Matrix Effects in the Determination. (MALDI - TOF MS 测定高聚合度葡聚糖及不同基体在测定中的作用比较). *Chem J Chin Univ*(高等学校化学学报) 2003 24(24):996
- 17 ZHANG Zhen - ying(张珍英), DENG Hui - min(邓慧敏), DENG Qin - ying(邓芹英). Coumaric derivatives as new matrices for matrix - assisted laser desorption/ionization time - of - flight mass spectrometric analysis in dextran and glycoproteins(香豆素类新基体在基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱测定多糖和糖蛋白中的应用). *Chin J Anal Chem*(分析化学研究简报) 2008 10(36):1419
- 18 Bultel L, Landoni M, Grand E, Couto AS *et al.* UV - MALDI - TOF mass spectrometry analysis of heparin oligosaccharides obtained by nitrous acid controlled degradation and high performance anion exchange chromatography. *J Am Soc Mass Spectrom.* 2010 21(1):178
- 19 ZHANG Wei - jie(张惟杰). Glycoconjugates Biochemical Research Technology(复合多糖生化研究技术). Shanghai(上海): Science and Technology Press(科学技术出版社), 1982. 128
- 20 CUI Qing - xin(崔庆新). Application of Gas Chromatography and Mass Spectrometry(GC/MS) Method in Analysis of Food Sample (气相色谱 - 质谱联用法在食品分析中的应用). *J Liaocheng Univ (Nat Sci Ed)* (聊城大学学报 自然科学版) 2009 2(22): 25
- 21 Ke RD, Lin SF, Chen Y *et al.* Analysis of chemical composition of polysaccharides from *Poria cocos* Wolf and its anti - tumor activity by NMR Spectrometry. *Carbohydr Pol.* 2010 8:31
- 22 BAI Ri - xia(白日霞), WANG Chang - hai(王长海). Structure Analysis of Sulfated Polysaccharide from Sea Urchin *Hemicentrotus Pulcherrimus* by Mass Spectrometry(硫酸海胆内容物多糖化学结构的质谱法研究). *Chin J Spectrosc Lab*(光谱实验室) 2010 27(2):665
- 23 YUN Zi - hou(云自厚), OU Yang - jin(欧阳津), ZHANG Xiao - tong(张晓彤). Liquid chromatographic detection methods(液相色谱检测方法). Chemical Industrial Press(化学工业出版社), 2005. 228
- 24 LI Bo(李波), XU Shi - ying(许时婴). Structural investigation of oligosaccharides in partial acid hydrolyzed products of fucoidan isolated from *Hizikia fusiforme*(羊栖菜褐藻糖胶部分酸水解产物中寡糖的结构分析). *Nat Product Res Develop*(天然产物研究与开发) 2007 19:550
- 25 Volpi N. High - performance liquid chromatography and on - line mass spectrometry detection for the analysis of chondroitin sulfates/hyaluronan disaccharides derivatized with 2 - aminoacridone. *Anal Biochem.* 2010 397(1):12
- 26 LIANG Da - qing(梁达清), HUANG Xiao - lan(黄晓兰), WU Hui - qin(吴惠勤) *et al.* Determination of oligosaccharides in *morinda officinalis* how by HPLC/ESI - MS(HPLC/ESI - MS 法测定巴戟天中的低聚糖). *Nat Prod Res Devel*(天然产物研究与开发) 2009 21:456
- 27 Virginia MF Gonçalves, Ana Reis, M Rosário M Domingues *et al.* Structural analysis of gellans produced by sphingomonas elodea strains by electrospray tandem mass spectrometry. *Carbohydr Pol* , 2009 77:10
- 28 Minamisawa T, Suzuki K, Kajimoto N *et al.* Microscale preparation of even - and odd - numbered N - acetylheparosan oligosaccharides. *Carbohydr Res.* 2006 341(2):230 - 237
- 29 YANG Bo(杨波), YU Guang - li(于广利), HAO Cui(郝翠) *et al.* Preparation of Series ι - Carrageenan Oligosaccharides and Sequence Determination by Negative - ion Electrospray Tandem Mass Spectrometry(系列 ι - 卡拉胶寡糖制备及其电喷雾串联质谱序列分析). *Chem J Chin Univ*(高等学校化学学报) 2010 31(2): 303
- 30 Robbe C, Michalski JC, Capon C. Structural determination of O - glycans by tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 2006 347: 109
- 31 DONG Jing(董静), WANG Hong(王弘), WANG Le - ren(万乐人) *et al.* Identification and determination of major constituents in *polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. by high performance liquid chromatography/electrospray ionization - ion trap - time - of - flight mass spectrometry(高效液相色谱/电喷雾 - 离子阱 - 飞行时间质谱分析鉴定中药虎杖中的主要化学成分). *Chin J Chromatogr (色谱)* 2009 4(27):425

(本文于 2010 年 9 月 2 日)