

枸杞多糖提取及消除羟自由基活性研究

胡仲秋¹, 王 利², 王保玲¹, 王 婧¹, 岳田利¹

(1.西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西藏职业技术学院, 西藏 拉萨 850000)

摘 要:以宁夏枸杞为原料, 采用碱性乙醇溶液提取法, 通过单因素试验和正交试验, 以多糖得率为衡量指标, 优选出碱性乙醇提取枸杞多糖的最佳工艺条件, 考察条件枸杞多糖消除羟自由基的活性。结果表明: 液料比、乙醇体积分数、pH 值、浸提温度、浸提时间对枸杞多糖得率均有显著影响; 碱性乙醇提取枸杞多糖最佳条件为液料比 50:1(ml/g)、乙醇体积分数 8%、pH10.5, 于 70℃ 条件下浸提 6.5h, 枸杞多糖得率最高可达 29.19%, 比传统水提法提高 9.51%; 当枸杞多糖质量浓度为 2.35mg/ml 时, 对羟自由基的消除率可达 44.90%。

关键词: 枸杞多糖; 碱性乙醇提取; 优化; 自由基清除活性

Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Lycium barbarum*

HU Zhong-qiu¹, WANG Li², WANG Bao-ling¹, WANG Jing¹, YUE Tian-li¹

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;
2. Tibet City College of Vocational Technology, Lhasa 850000, China)

Abstract: An alkaline-ethanol extraction technique was developed to extract LBP and the extraction condition was optimized by a single factor test and orthogonal experiments. The *in vitro* radical scavenging activity of LBP against $\cdot\text{OH}$ was also discussed. Results indicated that the yield of LBP was significantly affected by the liquid/Solid ratio, ethanol concentration, pH, extraction temperature and extraction time. The optimum conditions for alkali-ethanol extraction were: liquid/solid ratio of 50:1 (ml/g), ethanol concentration of 8%, pH 10.5, 70 °C and 6.5 h of extraction time. Under this condition, the yield of LBP could reach the maximum of 29.19%, which was increased by 9.51% compared to the traditional water extraction technology. The radical scavenging activity of LBP samples against $\cdot\text{OH}$ was up to 44.90% at 2.35 mg/ml.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharids (LBP); alkaline-ethanol extraction technology; optimize; radical scavenging activity

中图分类号: S646

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)24-0093-06

枸杞(*Lycium chinense* Mill)属茄科, 是重要的药食兼用佳品。该属有 80 多种, 其中南、北美洲分布最多, 西欧地中海沿岸国家、东欧、中亚、东亚各国均有栽培或野生。中国共有 7 个种 3 个变种, 其中最负盛名的是宁夏枸杞^[1]。现代药理研究证实, 枸杞多糖(*Lycium barbarum* polysaccharides, LBP)是枸杞中主要生物活性成分, 具有抗肿瘤、抗衰老、降血糖、降血脂、抗疲劳、调节免疫等特殊保健功能^[2], 已成为开发功能性食品的最佳原料。随着枸杞多糖研究的深入和人们对枸杞多糖功能特性的认识增强, 枸杞多糖的适用范围进一步扩展, 已向保健品、饮料、医药和化妆品等多领域挺进, 枸杞多糖提取物市场需求不断增大,

已逐步成为枸杞深加工的重要产品。2007 年全国枸杞总种植面积达 50 多万亩, 估计 2008 年枸杞的总种植面积将超过 60 万亩, 总产量在 14 万~16 万吨之间^[3]。

由于枸杞多糖能溶于水, 多数研究集中在水提取工艺的优化方面, 如植飞等^[4]对枸杞多糖传统水提法进行了工艺优化研究。王航宇等^[5]则采用超声波辅助提取法研究了新疆枸杞多糖的水提取法, 枸杞多糖得率较常规水浴(传统水提法)提取法提高 2.34%。白红进等^[6]采用超声-微波协同萃取法研究了新疆塔里木盆地黑果枸杞多糖的水提取法, 枸杞多糖得率较常规水浴提取法提高 1.13%。阿依姑丽·艾合麦提等^[7]研究证明超声法提取枸杞多糖具有速度快、效率高、能耗低、药材利用率

收稿日期: 2009-01-15

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAK02A24)

作者简介: 胡仲秋(1969—), 男, 讲师, 博士研究生, 主要从事食品工程天然产物提取研究。

E-mail: hutiger-2005@126.com

高等特点。吴素萍等^[8]使采用酶法提取宁夏枸杞多糖具有快速、高效、反应时间温和、反应过程明确、易于控制等诸多优点,枸杞多糖得率较单纯水浴提取法提高3.1%。这些研究虽都取得了良好效果,但酶法提取需消耗大量的酶,提取成本较高。超声波提取虽较酶法提取成本低,但需要特殊的设备,一次性投资较大。而且这些研究大多对所提取的枸杞多糖活性进行考察。本研究采用细胞通透性较强的碱性稀乙醇溶液作为提取剂,探索枸杞多糖的提取方法,并对所提取的枸杞多糖进行体外消除羟自由基活性的考察,为提取有活性的枸杞多糖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

宁夏枸杞(60℃干燥质量恒定) 莆田市远通实业有限公司。

葡萄糖、无水乙醇、氢氧化钠、苯酚、石油醚、丙酮、乙醚、浓硫酸、硫酸亚铁、30%过氧化氢、水杨酸均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

WH-SY21-K 数字温控型水浴锅 北京长风仪器仪表公司; SXT-02 型索氏提取器 上海洪纪仪器设备有限公司; UV-1700 型紫外可见分光光度计(波长范围 190.0~990.0nm) 日本岛津公司; SHZ-D 型循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司; PB-10 型 pH 计 赛多利斯科学仪器北京有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料预处理

时取宁夏枸杞子原料于 60℃烘干至质量恒定,再用万能粉碎机磨碎。精确称取研碎的枸杞子粉末 500g,置于索氏提取器中,以石油醚(沸程 60~90℃) 2500ml 回流脱脂 2 次,每次 2 h。脱脂后的残渣挥干溶剂后,用 2500ml 的乙醇溶液(乙醇:水, 8:2, V/V)加热回流提取 1 h,过滤,以去除单糖及一些苷类,过滤后的残渣挥干溶剂,60℃烘干得枸杞多糖粗提取物^[9-11]备用。

1.3.2 单因素试验

分别准确称取枸杞多糖粗提取物 5.00g,加适量水和乙醇,在一定温度、一定 pH 值条件下一段时间后抽滤,样品液经 50℃减压浓缩至原体积 1/3,加入 4 倍体积 95%乙醇,静置过夜,抽滤,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,60℃烘干至质量恒定,得枸杞多糖。所得多糖用 100ml 溶解,吸取上述溶液 1ml,按 1.3.4 节方法测定枸杞多糖质量浓度,计算多糖得率。每组实验重复两次,取其平均值。

1.3.3 正交优化试验

依据单因素试验结果对影响枸杞多糖得率的主要因素进行正交试验设计,选取液料比、浸提温度、pH 值、乙醇体积分数、浸提时间为试验因素,设 5 个水平,并增加一个空列。按 $L_{25}(5^6)$ 进行正交试验,以多糖得率为评定指标,优化碱性乙醇提取枸杞多糖的工艺条件。试验设计因素水平见表 1。

表 1 碱性乙醇提取枸杞多糖工艺条件优化正交试验因素水平
Table 1 Orthogonal design for alkali-ethanol extraction of LBP

水平	因素				
	A 液料比 (ml/g)	B 乙醇体积 分数(%)	C 浸提液 pH	D 浸提 温度(℃)	E 浸提 时间(h)
1	40:1	6.5	10	50	4
2	50:1	7	10.5	55	5
3	55:1	7.5	11	60	5.5
4	60:1	8	11.5	65	6
5	65:1	8.5	12	70	6.5

1.3.4 枸杞多糖得率的测定

采用苯酚-硫酸比色法^[12]测定枸杞多糖质量浓度。称取干燥质量恒定的葡萄糖 0.02g,用蒸馏水溶于 250ml 容量瓶中,加蒸馏水至刻度,摇匀。分别精确吸取葡萄糖标准溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4ml 置于 25ml 比色管中,补水至 2.0ml,再分别加入 5% 苯酚溶液 1.0ml 和浓硫酸 5.0ml,放置 10min,摇匀,置于 20~30℃水浴中保温 15min。然后在 490nm 波长处测定吸光度,以葡萄糖质量浓度(mg/ml)为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制得到标准曲线 $y=1.59x+0.023$, $R^2=0.99$ 。精确吸取样品溶液 1.0ml,加蒸馏水至 2.0ml,再加入 1.0ml 5% 苯酚溶液,摇匀,迅速加入浓硫酸 5.0ml 摇匀,放置 10min,置 40℃水浴保温 15min,迅速冷却至室温,在紫外-可见分光光度上 490nm 波长处测吸光度,按下式计算样品溶液中多糖的质量浓度。

$$\text{枸杞多糖得率(\%)} = \frac{3.19 \times \text{多糖质量浓度} \times \text{稀释倍数} \times \text{溶液体积}}{\text{原料干质量}} \times 100$$

式中: 3.19 为国家标准 GB/T 18672—2002 中附录 A 确定的葡萄糖换算成枸杞多糖的换算系数。

1.3.5 枸杞多糖体外消除羟自由基活性测定

参考[13-14]方法进行测定。向不同的试管中分别依次加入 9mmol/L 硫酸亚铁溶液 1ml, 9mmol/L 水杨酸-乙醇溶液 1ml,再分别加不同质量浓度梯度的枸杞多糖溶液 1ml,最后均加入 1ml 浓度为 8.8mmol/L 双氧水溶液启动反应,于 37℃条件下反应 0.5h 后迅速在紫外-可见分光光度计上 510nm 波长处测定其吸光度 A_i ,以水杨酸溶液为空白管调零^[15]。枸杞多糖样品对羟自由基($\cdot\text{OH}$)的清除能力试验设计见表 2。

表2 枸杞多糖体外消除羟自由基活性实验设计
Table 2 Experiment design for radical scavenging assay

编号	加样	吸光度
1	1ml FeSO ₄ +1ml 水杨酸+1ml 蒸馏水+1ml 双氧水	A ₀
2	1ml FeSO ₄ +1ml 水杨酸+1ml 样品+1ml 蒸馏水	A _i
3	1ml FeSO ₄ +1ml 水杨酸+1ml 样品+1ml 双氧水	A _j

枸杞多糖样品对羟自由基的清除能力(scavenging activity, SA)按下式计算:

$$SA(\%) = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}) \times 100$$

式中: A₀ 为 Fenton 反应的(包含产生的所有自由基显色反应)的吸光度; A_i 为加入枸杞多糖溶液后 Fenton 反应的吸光度; A_j 为不加双氧水时多糖溶液本底、FeSO₄、水杨酸的吸光度。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel-6SQStat Addin 软件对试验数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 液料比对枸杞多糖得率的影响

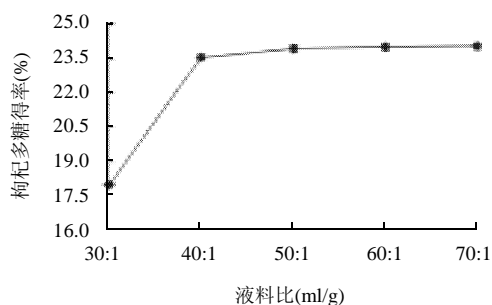


图1 液料比对枸杞多糖得率的影响

Fig.1 Effect of liquid-solid ratio on yield of LBP

在液料比分别为 30:1、40:1、50:1、60:1、70:1 条件下, 于 60℃、采用 pH10、6% 乙醇溶液浸提 4h, 按 1.3.4 节方法进行处理和测定, 结果见图 1。由图 1 可知随着液料比的增加, 多糖得率也逐渐增加。当液料比达到 40:1 以上时, 随着液料比的增大, 多糖得率增加缓慢。从单因素方差分析知液料比大于或等于 40 时枸杞多糖得率无显著性差异(无论 α 取 1% 还是 5%)。因此正交试验条件中料液比应选择 40:1。

2.1.2 浸提温度对枸杞多糖得率的影响

在液料比 40:1、pH10、乙醇体积分数 6% 条件下, 分别在 40、50、60、70℃ 浸提 4h, 按 1.3.4 节进行处

理和测定, 结果见图 2。由图 2 可知, 随着提取温度的增加, 枸杞多糖得率也随之增加, 当温度升至 60℃ 以上时, 枸杞多糖得率随提取温度的升高反而下降, 60℃ 枸杞多糖得率最高。从单因素方差分析知 60℃ 时与其他温度点的枸杞多糖得率均有显著性差异(无论 α 取 1% 还是 5%)。故正交试验条件中浸提温度应选择 60℃。

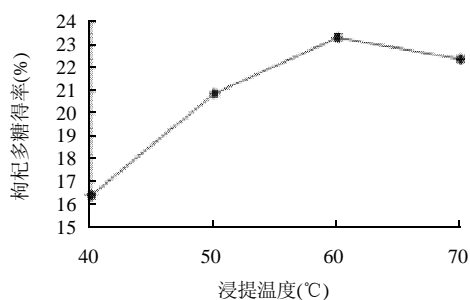


图2 浸提温度对枸杞多糖得率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on yield of LBP

2.1.3 pH 值对枸杞多糖得率的影响

在液料比 40:1、乙醇体积分数 6% 的条件下, pH 值分别为 8、9、10、10.5、11 条件下于 60℃ 提取 4h, 然后按 1.3.4 节进行处理和测定, 见图 3。由图 3 可知, 随着体系 pH 值的增加, 枸杞多糖得率明显增加。当体系 pH 大于 10.5 时, 枸杞多糖得率随 pH 值的增加开始缓慢增加。从单因素方差分析知 pH10.5 时与其他 pH 值的枸杞多糖得率均有显著性差异(无论 α 取 1% 还是 5%)。故正交试验条件中浸提 pH 值应选择 10.5。

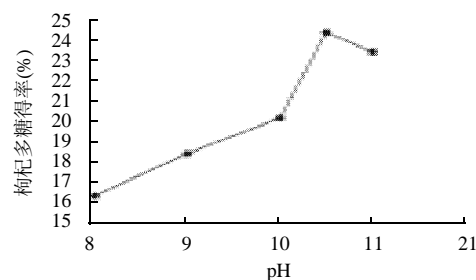


图3 pH 值对枸杞多糖得率的影响

Fig.3 Effect of pH value on yield of LBP

2.1.4 乙醇体积分数对枸杞多糖得率的影响

在液料比 40:1、pH10.5 的条件下, 乙醇体积分数分别为 4%、5%、6%、7%、8%、9% 的体系于 60℃ 提取 4h, 然后按 1.3.4 节进行处理和测定, 见图 4。由图 4 可知, 当乙醇体积分数为 4%~8% 时, 枸杞多糖得率随乙醇体积分数的增加而增大, 当乙醇体积分数大于 8% 时, 枸杞多糖得率随乙醇体积分数的增加反而下降。从单因素方差分析知乙醇体积分数等于 8% 时与其他乙醇体积分数点的枸杞多糖得率均有显著性差异(无论

α 取1%还是5%)。因此正交试验条件中浸提乙醇体积分数应选择8%。这个试验结果说明乙醇体积分数对枸杞多糖得率有明显影响。

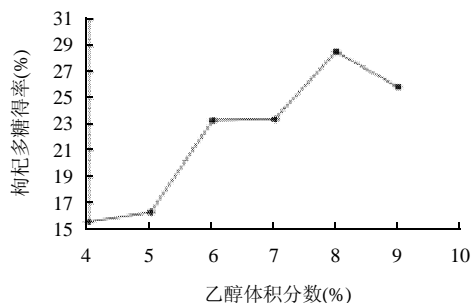


图4 乙醇体积分数对枸杞多糖得率的影响

Fig.4 Effect of ethanol concentration on yield of LBP

2.1.5 浸提时间对枸杞多糖得率的影响

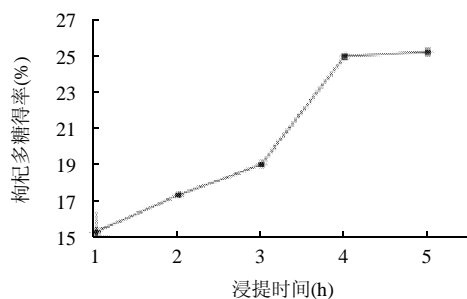


图5 浸提时间对枸杞多糖得率的影响

Fig.5 Effect of extraction time on yield of LBP

在液料比40:1、pH10.5、乙醇体积分数8%于60℃分别提取1、2、3、4、5h,然后按1.3.4节进行处理和测定,见图5。由图5可知,在提取时间1~4h之间,枸杞多糖得率随浸提时间的延长而增大,当浸提时间大于4h时,枸杞多糖得率随浸提时间延长缓慢上升。从单因素方差分析知浸提4h分别与浸提1、2、3h的枸杞多糖得率均有显著性差异,却与浸提5h的枸杞多糖得率无显著性差异(无论 α 取1%还是5%)。因此,正交试验条件中浸提时间应选择4h。

2.2 碱性乙醇提取枸杞多糖工艺条件的正交优化

2.2.1 正交优化试验结果

由表3的极差结果 R 可以得出,影响枸杞多糖得率的主次因素依次为液料比>乙醇体积分数>浸提液pH值>浸提时间>浸提温度;通过 F 值可知,液料比($F=502.84 > 6.39$, $\alpha=0.05$)、乙醇体积分数($F=141.03 > 6.39$, $\alpha=0.05$)、浸提液pH值($F=39.40 > 6.39$, $\alpha=0.05$)、温度($F=10.25 > 6.39$, $\alpha=0.05$)、提取时间 E ($F=7.28 > 6.39$, $\alpha=0.05$)均对枸杞多糖得率有显著影响。通过各因素的极值点分析得出枸杞多糖的碱性乙醇提取最优工

艺组合是 $A_2B_4C_2D_5E_5$,即液料比50:1、乙醇体积分数8%、pH10.5,于70℃、浸提6.5h,预测枸杞多糖得率最高。

表3 碱性乙醇提取枸杞多糖提取条件 $L_{25}(5^5)$ 正交试验统计结果分析
Table 3 Analysis of results from orthogonal design for alkaliethanol extraction

试验号	A	B	C	D	E	空列	枸杞多糖得率(%)
1	1	1	1	1	1	1	15.79
2	1	2	2	2	2	2	16.43
3	1	3	3	3	3	3	16.49
4	1	4	4	4	4	4	16.68
5	1	5	5	5	5	5	17.42
6	2	1	2	3	4	5	23.51
7	2	2	3	4	5	1	24.50
8	2	3	4	5	1	2	26.48
9	2	4	5	1	2	3	26.96
10	2	5	1	2	3	4	27.72
11	3	1	3	5	2	4	22.74
12	3	2	4	1	3	5	22.68
13	3	3	5	2	4	1	22.68
14	3	4	1	3	5	2	28.87
15	3	5	2	4	1	3	27.18
16	4	1	4	2	5	3	21.37
17	4	2	5	3	1	4	21.50
18	4	3	1	4	2	5	24.12
19	4	4	2	5	3	1	27.34
20	4	5	3	1	4	2	25.71
21	5	1	5	4	3	2	20.07
22	5	2	1	5	4	3	24.24
23	5	3	2	1	5	4	26.86
24	5	4	3	2	1	5	27.78
25	5	5	4	3	2	1	26.22
K_1	16.56	20.70	24.15	23.60	23.75	23.31	
K_2	25.83	21.87	24.26	23.20	23.29	23.51	
K_3	24.83	23.33	23.45	23.32	22.86	23.25	$T=581.35$
K_4	24.01	25.53	22.69	22.51	22.57	23.10	
K_5	25.04	24.85	21.72	23.64	23.80	23.10	
R	9.27	4.83	2.54	1.14	1.24	0.41	
F 值	502.84	141.03	39.40	7.28	10.25	1	

2.2.2 枸杞多糖提取工艺正交优化结果验证

取液料比50:1、乙醇体积分数8%、pH10.5的提取体系于70℃条件下浸提6.5h进行验证,实际测得枸杞多糖得率为29.19%,与分析预测结果一致。说明该工艺优化结果可用于指导生产实践。

2.2.3 碱性乙醇提取法与传统水提取法优化工艺提取结果的比较

为了验证该工艺的优越性,本实验室在平行条件下进行了传统水提取法优化试验,其提取结果作为碱性乙醇提取法的对照,比较结果见表4。

表4 碱性乙醇提取法与传统水提取法提取结果的比较

Table 4 Comparisons between alkali-ethanol extraction and the traditional water extraction

方法条件	液料比 (ml/g)	乙醇体积 分数(%)	pH	浸提 温度(℃)	浸提 时间(h)	多糖 得率(%)
碱性乙醇提取法	50	8%	10.5	70℃	6.5	29.19
水提法优化工艺	50	—	—	70℃	6.5	19.68

注：“—”未加入或未测定。

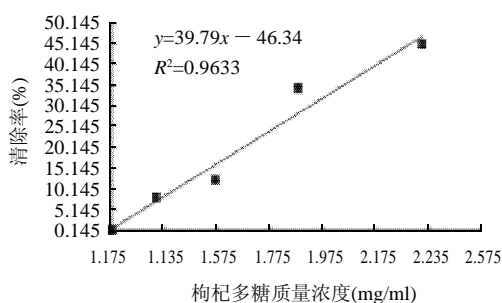
由表4可看出,碱性乙醇提取法枸杞多糖得率为29.19%,传统水提取法枸杞多糖的得率为19.68%,碱性乙醇提取法的枸杞多糖得率比传统水提取法高9.51%,说明碱性乙醇提取法明显优于传统水提取法,提高了枸杞多糖的提取率。这可能是由于碱性乙醇溶液对植物细胞起到破壁作用,并破坏了细胞膜完整性而提高了多糖的细胞膜通透性,增加了提取效果。乙醇和碱可回收重复利用,生产成本低。这个试验结果与田洛等^[16]提取黄芪多糖的试验结果相一致。

2.3 枸杞多糖体外消除羟自由基的活性检测

表5 枸杞多糖清除羟自由基实验结果

Table 5 Radical scavenging capability of LBP against $\cdot\text{OH}$

吸光度	多糖质量浓度(mg/ml)				
	1.175	1.343	1.567	1.880	2.350
A_1	1.384	1.281	1.220	0.922	0.781
A_2	0.014	0.014	0.016	0.019	0.025
A_0	1.372	1.372	1.372	1.372	1.372
清除率(%)	0.145	7.653	12.245	34.183	44.898

图6 枸杞多糖清除 $\cdot\text{OH}$ 能力与枸杞多糖质量浓度的关系曲线Fig.6 Radical scavenging capability of LBP against $\cdot\text{OH}$

碱性乙醇提取的枸杞多糖样品体外消除羟基自由基能力见表5,其关系曲线见图6。由图6可看出,当枸杞多糖质量浓度为1.175mg/ml时,开始显示有体外消除羟基自由基的能力(0.145%);随枸杞多糖质量的增加,对羟基自由基的清除率迅速增强;当枸杞多糖质量浓度为2.35mg/ml时,枸杞多糖对羟基自由基的清除率达到44.90%,显示出较高的体外消除羟基自由基的活性。在检测质量浓度1.175~2.35mg/ml范围内,它们的量效关系经过计算机模拟为 $y=39.79x-46.34$, $R^2=0.96$ (y为清

除率,%;x为枸杞多糖质量浓度,mg/ml),从图6可以看出,呈现较好的线性关系。符合枸杞多糖体外消除羟基自由基原理^[10-12]。

3 结 论

3.1 影响枸杞多糖得率的主次因素依次为液料比>乙醇体积分数>浸提液pH值>浸提时间>浸提温度;液料比、乙醇体积分数、浸提液pH值、浸提温度、提取时间均对枸杞多糖得率有极显著影响。碱性乙醇提取法提取枸杞多糖的最佳工艺条件是浸提液与枸杞粉比为50:1、乙醇体积分数8%、浸提液pH10.5,于70℃条件下浸提6.5h,在此条件下枸杞多糖得率可达29.19%,比传统水提工艺提高了9.51%。

3.2 该法提取的枸杞多糖对羟基自由基具有较高的清除率。枸杞多糖在1.175~2.35mg/ml质量浓度范围内,对羟基自由基的清除率呈较好的线性的量效关系。其量效关系为 $y=39.79x-46.34$ 。当枸杞多糖质量浓度为1.175mg/ml时,开始显示有体外消除羟基自由基的能力,当枸杞多糖质量浓度为2.35mg/ml时,枸杞多糖对羟基自由基的清除率达到44.90%。

4 讨 论

4.1 羟基自由基被认为是毒性很强的自由基,能诱导膜系统的氧化损伤,膜的过氧化损伤对膜的流动性影响极大,会使膜的通透性增加,从而引起膜内外物质的外泄和内流,造成红细胞溶血和线粒体膨胀等现象的发生^[17]。该实验中LBP在体外可直接有效地清除羟基自由基,从而可抑制由羟基自由基所导致的过氧化现象的发生,保护膜系统免受损伤。该实验结果说明该工艺提取的枸杞多糖具有相对较高的活性。

4.2 该法提取的枸杞多糖得率优于龚涛等^[18]提出热水浸提法(枸杞多糖得率为15.91%)和严成等^[19]提出的微波提取法(枸杞多糖得率为22.62%)。

参考文献:

- [1] 苏宇静,贺海明,孙兆军.中国枸杞资源及其在食品工业中的应用现状和开发前景[J].食品科学,2002,23(8):292-294.
- [2] 黄秋婷,陈远峰.枸杞多糖的研究及其进展[J].食品研究与开发,2006,27(1):172-174.
- [3] 马国国.论08年枸杞子后市走向[EB/OL].(2008-08-28)[2009-01-19].<http://www.zytd168.com>.
- [4] 植飞,郑卫平,陈平,等.枸杞多糖水提工艺的优选[J].中药材,2004,27(12):948-950.
- [5] 王航宇,刘金荣,但建明,等.新疆枸杞多糖的超声提取及含量测定[J].中药材,2002,25(1):42-43.
- [6] 白红进,汪河滨,褚志强,等.不同方法提取黑果枸杞多糖的研究[J].食品工业科技,2007,28(3):145-146.

- [7] 阿依姑丽·艾合麦提, 王颖, 杨晓君, 等. 枸杞多糖提取方法及两种不同产地枸杞中多糖含量的比较研究[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(5): 724-728.
- [8] 吴素萍, 徐建宁. 酶法提取枸杞多糖的研究[J]. 食品科技, 2007(8): 114-117.
- [9] 何进, 张声华. 枸杞及枸杞多糖研究 I [J]. 食品科学, 1995, 16(2): 14-21.
- [10] 何进, 张声华. 枸杞多糖的分离纯化及组成研究[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(12): 716-720.
- [11] 王建华, 汪建民, 李林, 等. 枸杞多糖 LBP2a 的分离纯化与结构特征[J]. 食品科学, 2002, 23(6): 44-48.
- [12] DUBIOS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Anal Chem, 1956, 28(3): 350-356.
- [13] STOKES N J, TABNER B J, HEWITT C N. Determination of hydroxyl radical concentration in environmental using electron spin resonance [J]. Chemosphere, 1994, 28(5): 999-1008.
- [14] KAUR H, HALLINELL B. Aromatic hydroxylation of phenylalanine as an assay for hydroxyl radical[J]. Anal Biochem, 1994, 220(1): 11-15.
- [15] 张自萍, 黄文波, 廖国玲, 等. 枸杞子提取液抗氧化活性的研究[J]. 西北植物学报, 2007, 27(5): 943-946.
- [16] 田洛, 宣依, 范荣军, 等. 醇碱提取法提取黄芪多糖[J]. 吉林大学学报: 理学版, 2006, 44(4): 652-657.
- [17] HARMAN D, HEIDREK M L, EDDY D E. Free radical theory of aging: effect of free radical reaction inhibitors on the immune response[J]. J Am Geriatr Soc, 1997, 25: 400-407.
- [18] 龚涛, 任大明, 王楠. 枸杞多糖提取工艺的研究[J]. 生物技术, 2005, 15(6): 78-80.
- [19] 严成, 严夏. 枸杞多糖提取工艺比较及体外抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(7): 183-187.