

# 高压脉冲电场提取枸杞多糖工艺

蔡光华, 王晓玲\*

(西南民族大学少数民族药物研究所, 四川 成都 610041)

**摘要:** 采用高压脉冲电场破壁方法, 对影响枸杞多糖提取率( $Y$ )的 pH 值( $X_1$ )、电场强度( $X_2$ )、脉冲频率( $X_3$ )、温度( $X_4$ )、液料比( $X_5$ ) 5 个主要因素进行单因素和多因素分析。用 SAS 9.1 统计软件对星点设计方案的结果进行完全二次响应曲面的回归模型的拟合与模型的岭脊分析。结果表明: 当  $X_1 = 8.98$ ,  $X_2 = 20.49 \text{ kV/cm}$ ,  $X_3 = 10520 \text{ Hz}$ ,  $X_4 = 61.76^\circ\text{C}$ ,  $X_5 = 9.43:1 \text{ (mL/g)}$  时, 枸杞多糖提取率最高( $Y_{\max}$ ), 为 13.26%。在此基础上通过效应面法预测得出工业提取的工艺范围:  $X_1 = 8.50 \sim 9.00$ ,  $X_2 = 15.00 \sim 25.00 \text{ kV/cm}$ ,  $X_3 = 10000 \sim 11000 \text{ Hz}$ ,  $X_4 = 20 \sim 40^\circ\text{C}$ ,  $X_5 = 9:1 \sim 10:1 \text{ (mL/g)}$ 。

**关键词:** 枸杞多糖; 高压脉冲电场; 星点设计 - 效应面法; 提取工艺

## Extraction of Polysaccharides from Chinese Wolfberry (*Lycium barbarum* L.) Fruits by High Intensity Pulsed Electric Fields

CAI Guang-hua, WANG Xiao-ling\*

(Ethnic Pharmaceutical Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China)

**Abstract:** One-factor-at-a-time and central composite designs was used to analyze five crucial variables that influence extraction rate of polysaccharides from Chinese wolfberry fruits by high intensity pulsed electric fields (HPEF) including pH ( $X_1$ ), pulse number ( $X_2$ ), electric field strength ( $X_3$ ), temperature ( $X_4$ ) and material-to-liquid ratio ( $X_5$ ). Based on the experimental data of star point designs, a full quadratic response surface regression model was constructed with SAS 9.1 software and used for ridge analysis of response surfaces. When  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  and  $X_5$  were 8.98, 20.49 kV/cm, 10520, 61.76 °C and 1:9.43 g/mL, respectively, the highest polysaccharide yield, 13.26%, was obtained. According to response surface predictions, the appropriate levels of  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  and  $X_5$  for industrial extraction of polysaccharides from Chinese wolfberries were in the range of 8.50—9.00, 15.00—20.00 kV/cm, 10000—11000, 20—40 °C and 1:9—1:10 (g/mL), respectively.

**Key words:** Chinese wolfberry polysaccharide; high intensity pulsed electric fields; central composite design-response surface methodology; extraction process

中图分类号: R284.2; R285.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)08-0043-06

枸杞作为我国传统的药食兼用的名贵中药材, 其味甘、性平, 具有滋肾补髓, 润肺明目等功效<sup>[1]</sup>。多糖含量高(> 40%)是枸杞重要的化学特征<sup>[2]</sup>。近年来研究表明, 枸杞具有调节免疫、延缓衰老<sup>[3]</sup>、抗肿瘤<sup>[4]</sup>、抗辐射<sup>[5]</sup>、保护生殖系统<sup>[6]</sup>、增加造血功能<sup>[7]</sup>、防止遗传损伤<sup>[8]</sup>、降血脂和降血糖<sup>[9]</sup>等功能, 并且这些药理和保健作用与枸杞多糖高有很大关系<sup>[10]</sup>。目前, 对枸杞多糖的提取方法例如酶法、微波、超声碱水、加热回流等有大量文献报道, 但这些方法均采用了传统的破壁方法——物

理法、化学法或生物法, 其费时、费力、耗能。高压脉冲电场(high-voltage pulsed electric field, HPEF)是一种新兴的提取方法, 其作用机理是利用细胞膜电穿孔原理在瞬间使细胞破壁, 造成细胞膜电位混乱, 细胞壁和细胞膜发生可逆或不可逆的破坏, 细胞组分流出, 区别于传统的破壁原理<sup>[11]</sup>。本实验采用 HPEF 破壁方法提取枸杞多糖, 先进行单因素试验, 再在其基础上运用星点设计 - 效应面法<sup>[12]</sup>进行多因素试验的设计和优化, 以期得到提取率最高的实验方案。

收稿日期: 2011-04-13

基金项目: 西南民族大学研究生学位点建设项目(2012XWD-S0703)

作者简介: 蔡光华(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学。E-mail: hhhhhh\_112233@yahoo.com.cn

\* 通信作者: 王晓玲(1971—), 女, 教授, 博士, 研究方向为天然药物化学。E-mail: wxl3232@sina.com

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

宁夏中宁县特等枸杞子；所用试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

FW177 型中草药粉碎机 上海耶茂仪器仪表有限公司；AUX320 分析天平 岛津国际贸易(上海)有限公司；721 紫外可见分光光度计 上海欣茂仪器有限公司；H-2100M2 高速冷冻离心机 日本 Kokusan Denki 公司；DZF-6020 真空干燥箱 南京五和试验设备有限公司；CS501 恒温水浴 上海民仪电子有限公司；自制高压脉冲电场设备(图 1) 民族药物研究所。

### 1.3 枸杞多糖的提取工艺

#### 1.3.1 原料预处理

取 3kg 枸杞，在 60℃ 条件下真空干燥粉碎 8h，用 4 倍体积的石油醚，水浴回流提取 3h，以脱去油脂，抽滤后将残渣风干。再加入 4 倍残渣体积的体积分数 80% 乙醇，水浴回流提取 3h，间歇搅拌，重复回流操作 2 次，以除去单糖、色素等，抽滤后将残渣风干。残渣依次用无水乙醇、丙酮、石油醚进行多次抽洗，风干储存。

#### 1.3.2 枸杞多糖的提取

采用双极性方波高压脉冲电场，有较高的提取效果<sup>[12]</sup>。HPEF 处理设备装置如图 1 所示，高压直流电源由 220V 交流电通过变压器成几十千伏的交流电，然后再经过整流而成，充、放电过程由开关控制。处理条件：场强范围为 10~100kV/cm，频率范围为 1~3000Hz。

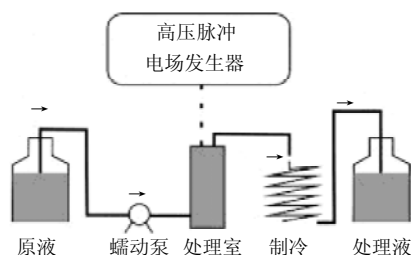


图 1 HPEF 处理装置原理图

Fig.1 Schematic diagram of high-voltage pulsed electric field apparatus

将预处理残渣使用高压脉冲电场提取法进行提取，提取条件按照单因素和星点设计方案，水提液在 5000r/min、5℃ 条件下冷冻离心 30min 去除杂质，减压浓缩，加 5 倍体积的体积分数 95% 乙醇醇析，于 4℃ 冰箱静置 10h 后滤过，重复 3 次醇析过程，将沉淀物合并用无水乙醇、丙酮洗涤数次，离心去上清液，真空干燥后得枸杞粗多糖。

#### 1.3.3 枸杞多糖的纯化

采用 Sevag 法<sup>[13]</sup>去除枸杞粗多糖中含有的大量蛋白质。用适量蒸馏水溶解粗多糖，混匀后按 5:1(多糖水解液:氯仿-正丁醇, V/V)比例加入氯仿-正丁醇(5:1, V/V)混合液，振摇 30min，可见蛋白质成凝胶状析出，在 5000r/min、5℃ 条件下冷冻离心除去沉淀，离心除沉淀过程反复 2 至 3 次。上清液用 4 倍体积的乙醇醇沉 3 次，合并沉淀，即得脱蛋白枸杞多糖。将多糖溶解后加入适量体积分数为 30% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，在 50℃ 保温脱色 25min，然后 4 倍体积的乙醇醇沉 3 次，合并以后离心，取沉淀用体积分数 95% 的乙醇、丙酮、石油醚抽洗数次，最后用活性炭吸附法去除色素，于 50℃ 真空干燥箱中烘干至质量恒定，得到较纯的枸杞多糖。

### 1.4 枸杞多糖的含量测定

#### 1.4.1 标准曲线的绘制

用苯酚-硫酸法<sup>[14]</sup>测定多糖含量的标准曲线。精密称取干燥质量恒定葡萄糖 0.006g，配成 100mL 溶液，摇匀，从中精密吸取 0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00mL，分别加入 30mL 浓硫酸和 6mL 苯酚溶液，30℃ 恒温 0.5h，冷水浴冷却至室温，定容至 50mL，按分光光度法于 490nm 波长处测定吸光度。所得标准曲线回归方程为： $Y = 9.76X + 0.215$ ， $R^2 = 0.9995$ ，式中：Y 为吸光度，X 为葡萄糖质量浓度/(mg/mL)。

#### 1.4.2 枸杞多糖提取率的测定

将枸杞多糖供试品，稀释至适宜浓度。按 1.4.1 节方法测定 A 值，计算出葡萄糖的质量浓度后，通过下式计算枸杞多糖提取率<sup>[15]</sup>：

$$\text{枸杞多糖提取率}/\% = \frac{3.19 \times 10^{-3} \times CDV}{W} \times 100$$

式中：C 为样品溶液的葡萄糖质量浓度/(mg/mL)；V 为溶液体积/mL；D 为样品溶液的稀释倍数；3.19 为葡萄糖换算成枸杞多糖的换算系数；W 为枸杞质量/g；10<sup>-3</sup> 为单位换算系数。

### 1.5 最佳提取工艺的验证

根据确定的最优提取工艺，分别取 6 份样品，进行验证实验，并将测定的平均结果与拟合方程的预测值进行比较，并计算其相对偏差。

$$\text{相对偏差}/\% = \frac{\text{预测值} - \text{实测值}}{\text{预测值}} \times 100$$

## 2 结果与分析

### 2.1 HPEF 单因素试验

#### 2.1.1 溶液温度

在脉冲数变频 9000Hz，pH8、液料比 10:1(mL/g)、

电场强度 20kV/cm 条件下, 温度对多糖提取率的影响如图 2 所示, 温度小于 60℃ 时, 升温有助于多糖的增溶, 多糖的提取率逐渐提高; 大于 60℃ 时, 热碱溶液造成糖苷键断裂, 多糖降解, 多糖提取率有较大下降的趋势。因此确定最佳溶剂温度为 60℃, 此时多糖提取率最大, 为 10.59%。

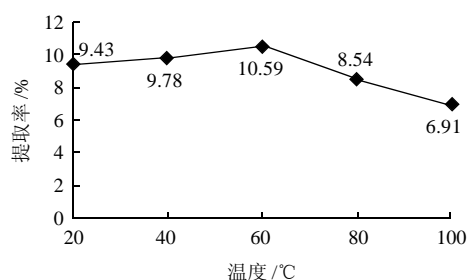


图 2 溶液温度对枸杞多糖提取率的影响

Fig. 2 Effect of temperature on extraction rate of polysaccharide

### 2.1.2 电场强度

在温度 50℃、其余条件同 2.1.1 节实验条件下, 电场强度对多糖提取率的影响如图 3 所示, 电场强度小于 20kV/cm 时, 多糖的提取率逐渐提高; 大于 20kV/cm 时, 多糖的提取率下降。这是由于随着电场强度增加, 运动加快的极性溶剂能够更多地进入到细胞内, 使多糖更容易渗透出来, 同时细胞内、外的电场强度差异使细胞电极化, 从而破坏细胞膜, 使多糖更容易被提取, 但过大的电场强度, 对多糖有降解作用。因此确定最佳电场强度为 20kV/cm, 此时枸杞多糖提取率最大, 为 11.11%。

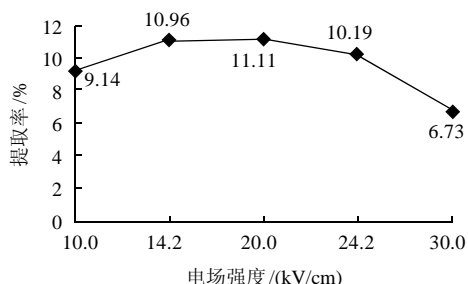


图 3 电场强度对枸杞多糖提取率的影响

Fig.3 Effect of electric field intensity on extraction rate of polysaccharide

### 2.1.3 脉冲频率

在电场强度 20kV/cm、其余条件如 2.1.2 节条件下, 脉冲频率对多糖提取率的影响如图 4 所示, 脉冲频率在 6000~10000Hz, 电场对植物细胞破坏的程度和数量都会

相应增加, 因此多糖的提取率由 3.34% 增大到 9.47%; 但当脉冲频率由 10000Hz 增大到 14000Hz 时, 电场作用时间过长, 电场频率过大, 造成多糖降解, 多糖提取率由 9.47% 下降到 8.47%。因此确定最佳脉冲频率为 10000Hz, 此时对应多糖提取率最大, 为 9.47%。

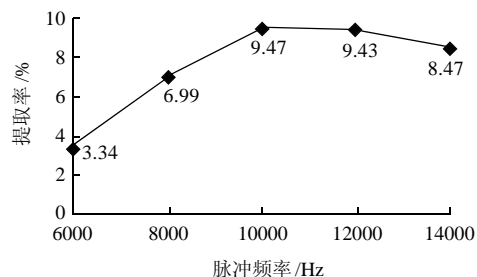


图 4 脉冲频率对枸杞多糖提取率的影响

Fig.4 Effect of pulse number on extraction rate of polysaccharide

### 2.1.4 液料比

在酶解频率 9000Hz, 其余条件同 2.1.3 节条件下, 液料比对多糖提取率的影响如图 5 所示, 多糖提取率呈现先升后降的趋势。液料比为 10:1(mL/g) 时, 提取率最大, 此时搅拌适宜, 料泵工作效率高, 对应多糖提取率最大值为 10.54%。但呈现下降趋势的原因还不清楚, 需要进一步研究。

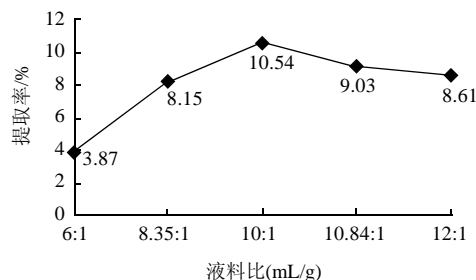


图 5 液料比对枸杞多糖提取率的影响

Fig.5 Effect of material-to-liquid ratio on extraction rate of polysaccharide

### 2.1.5 pH 值

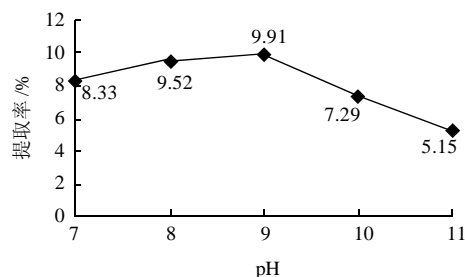


图 6 pH 值对多糖提取率的影响

Fig.6 Effect of pH on extraction rate of polysaccharide

在液料比 10:1(mL/g)、其余条件同 2.1.4 节的实验条件下, pH 值对多糖提取率的影响如图 6 所示, 由于低浓度的碱溶液对多糖有促融作用, 高浓度的碱溶液对多糖有分解作用, 因此随 pH 值增大枸杞多糖提取率呈现先升后降的趋势。最终确定最佳 pH 值为 10, 此时对应多糖提取率最大, 为 9.91%。

## 2.2 PEFE 多因素试验结果与分析

### 2.2.1 星点设计与结果

在单因素试验的基础上, 进行星点试验设计, 以多糖提取率( $Y$ )为响应变量, pH 值( $X_1$ )、电场强度( $X_2$ )、脉冲频率( $X_3$ )、温度( $X_4$ )、液料比( $X_5$ )为影响因素。根据星点设计的原理, 各因素水平设计见表 1, 试验安排与结果见表 2<sup>[16]</sup>。

表 1 星点设计因素与水平  
Table 1 Factors and levels of central composite design

因素	水平				
	- 2.38	- 1	0	+ 1	+ 2.38
$X_1$ pH	7	8.15	9	9.84	11
$X_2$ 电场强度/(kV/cm)	10	14.20	20	24.20	30
$X_3$ 脉冲频率/Hz	6000	7680	10000	11680	14000
$X_4$ 温度/℃	20	36.82	60	83.18	100
$X_5$ 液料比(mL/g)	8	8.35	10	10.84	12

表 2 星点试验设计与结果  
Table 2 Central composite design and results

试验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$Y/\%$
1	- 1	- 1	- 1	1	- 1	5.13
2	- 1	- 1	1	- 1	1	8.20
3	- 1	1	- 1	- 1	- 1	7.54
4	- 1	1	1	1	1	10.32
5	1	- 1	- 1	- 1	- 1	8.46
6	1	- 1	1	1	1	9.10
7	1	1	- 1	1	- 1	7.98
8	1	1	1	- 1	1	11.91
9	0	0	0	0	0	12.39
10	0	0	0	0	0	13.22
11	- 1	- 1	- 1	- 1	1	5.80
12	- 1	- 1	1	1	- 1	8.51
13	- 1	1	- 1	1	1	11.28
14	- 1	1	1	- 1	- 1	10.82
15	1	- 1	- 1	1	1	9.95
16	1	- 1	1	- 1	- 1	9.87
17	1	1	- 1	- 1	1	7.26
18	1	1	1	1	- 1	9.21
19	0	0	0	0	0	13.43
20	0	0	0	0	0	12.97
21	- 1	- 1	- 1	1	1	8.24
22	- 1	- 1	1	- 1	- 1	9.18

续表 2

试验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$Y/\%$
23	- 1	1	- 1	- 1	1	9.63
24	- 1	1	1	1	- 1	7.80
25	1	- 1	- 1	- 1	1	4.71
26	1	- 1	1	1	- 1	9.73
27	1	1	- 1	1	1	11.51
28	1	1	1	- 1	- 1	9.17
29	0	0	0	0	0	12.84
30	0	0	0	0	0	13.13
31	- 1	- 1	- 1	- 1	- 1	4.27
32	- 1	- 1	1	1	1	9.51
33	- 1	1	- 1	1	- 1	6.87
34	- 1	1	1	- 1	1	10.30
35	1	- 1	- 1	1	- 1	9.51
36	1	- 1	1	- 1	1	5.94
37	1	1	- 1	- 1	- 1	7.77
38	1	1	1	1	1	8.96
39	0	0	0	0	0	13.22
40	0	0	0	0	0	12.94
41	2.38	0	0	0	0	12.42
42	- 2.38	0	0	0	0	11.14
43	0	2.38	0	0	0	7.97
44	0	- 2.38	0	0	0	6.46
45	0	0	2.38	0	0	11.04
46	0	0	- 2.38	0	0	10.21
47	0	0	0	2.38	0	9.73
48	0	0	0	- 2.38	0	8.03
49	0	0	0	0	2.38	10.32
50	0	0	0	0	- 2.38	9.90
51	0	0	0	0	0	12.69
52	0	0	0	0	0	13.53
53	0	0	0	0	0	12.77
54	0	0	0	0	0	13.72

### 2.2.2 试验数据分析

#### 2.2.2.1 完全二次响应曲面的回归模型的拟合与模型的岭脊分析

用 SAS 9.1 软件包对试验数据进行二次响应面回归过程(RSREG)分析, RSREG 过程拟合的完全二次响应曲面的回归模型如下( $R^2 = 0.9110$ , 拟合检验概率  $P < 0.0001$ ):

$$Y = 3.266526X_1 + 4.075115X_2 + 0.004471X_3 + 0.548649X_4 + 7.634711X_5 - 0.294521X_1^2 - 0.068409X_1X_2 - 0.056426X_2^2 - 0.000170X_1X_3 - 0.000017X_2X_3 - 0.000151X_3^2 + 0.014283X_1X_4 - 0.003610X_2X_4 - 0.000011X_3X_4 - 0.002523X_4^2 + 0.459345X_1X_5 - 0.079404X_2X_5 + 0.000136X_3X_5 - 0.01817X_4X_5 - 0.553612X_5^2 - 119.583631$$

如表 3 所示, 回归模型的相关系数较大, 且各项的拟合检验概率均较小, 说明模型较优。通过岭脊分析, 得出回归模型的最佳响应点  $Y_{\max} = 13.26\%$ ,  $X_1 = 8.98$ ,  $X_2 = 20.49\text{kV/cm}$ ,  $X_3 = 10520\text{Hz}$ ,  $X_4 = 61.76^\circ\text{C}$ ,  $X_5 = 9.43:1(\text{mL/g})$ 。验证实验测定的平均结果与拟合方程的预

测值相对偏差分别为 1.51%、1.78%、1.01%、2.01%、1.38%、0.92%，平均值为 1.44%，证明该拟合方程合理，方法可靠。

表 3 各项因素拟合检验概率

Table 3 Probability of fitting test for each term in the fitted regression model

拟合项	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_1^2$	$X_1X_2$	$X_2^2$	$X_1X_3$	$X_2X_3$
P 值	0.3753	<0.0001	0.0028	<0.0001	0.0215	0.0912	0.0886	<0.0001	0.0904	0.3129
拟合项	$X_3^2$	$X_1X_4$	$X_2X_4$	$X_3X_4$	$X_4^2$	$X_1X_5$	$X_2X_5$	$X_3X_5$	$X_4X_5$	$X_5^2$
P 值	0.0007	0.0999	0.0161	0.0029	<0.0001	0.0056	0.0056	0.0048	0.0462	0.0030

#### 2.2.2.2 响应面法预测枸杞多糖得率较高的提取工艺范围

根据拟合的二次回归方程，用 MATLAB R2010a 绘制任意两因素对枸杞多糖提取率的三维响应面图(图 7)。

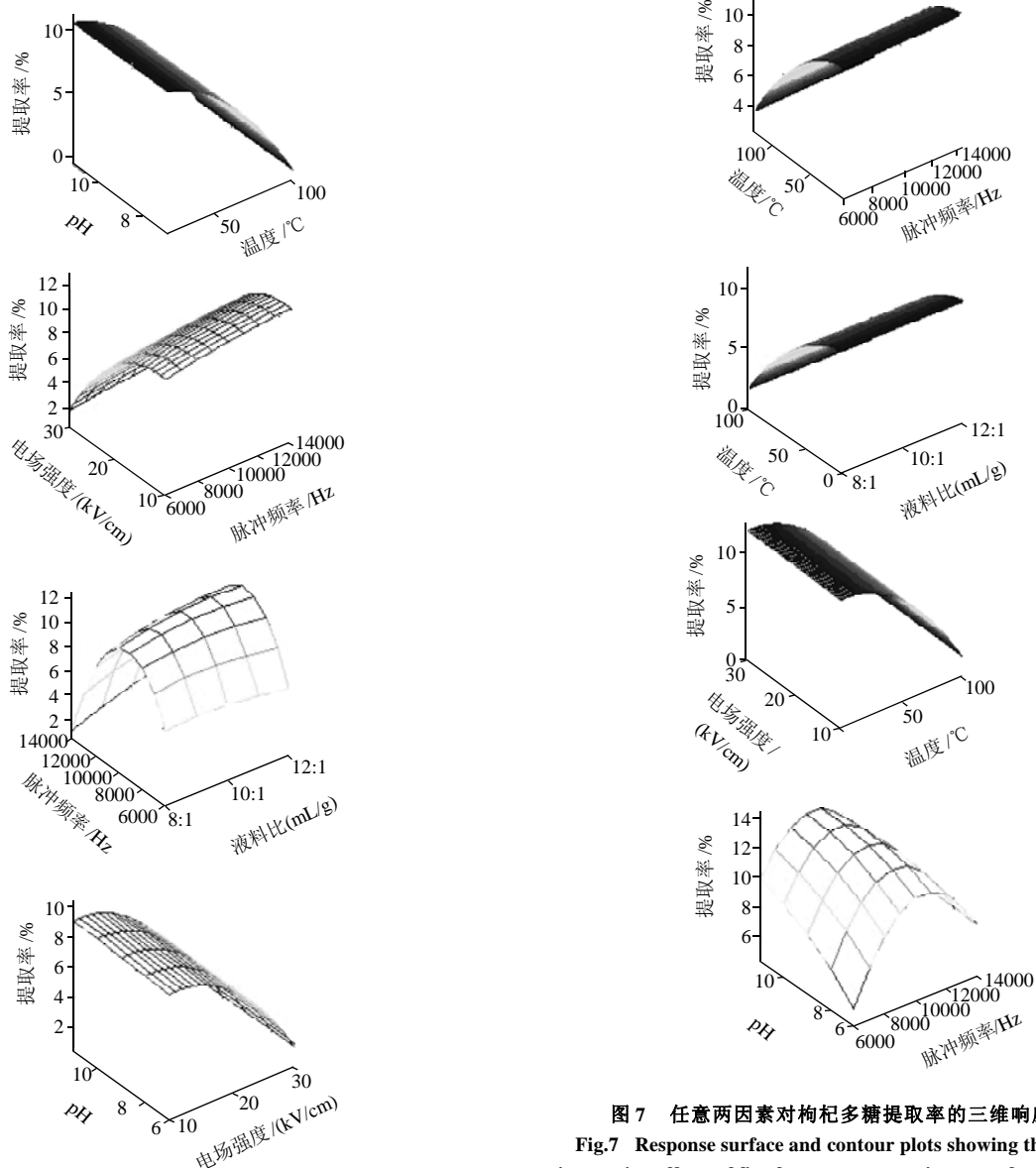


图 7 任意两因素对枸杞多糖提取率的三维响应面图

Fig.7 Response surface and contour plots showing the pairwise interaction effects of five factors on extraction rate of polysaccharide

由图7可知,脉冲频率、pH值和液料比在与电场强度和温度的分别交互作用中,对枸杞多糖的提取率影响很小,而电场强度和温度对枸杞多糖的提取率起到很大的负面作用,说明在与其他因素的两项相交交互作用中,电场强度与温度对枸杞多糖提取率起主导作用,这与单因素试验中强电压和热碱对枸杞多糖起分解作用的结论也基本相符;而电场强度、pH值和液料比之间的交互作用,各个因素都呈现先正面影响后负面影响的趋势,与单因素试验结果基本相符。

通过对修正后的10个响应面的比较观察,结合岭分析中得到的最佳值和单因素试验结果,得出5个因素比较佳的工艺范围 $X_1 = 8.50 \sim 9.00$ ,  $X_2 = 15.00 \sim 25.00 \text{ kV/cm}$ ,  $X_3 = 10000 \sim 11000 \text{ Hz}$ ,  $X_4 = 20 \sim 40^\circ\text{C}$ ,  $X_5 = 9:1 \sim 10:1 (\text{mL/g})$ 。其中,脉冲频率和液料比的较佳工艺范围容易得出。要得出pH值、电场强度和温度的较佳工艺范围,除了要把最佳提取条件、交互影响中的影响趋势和单因素试验中的较佳条件考虑在内,还要斟酌工业应用中的限制条件(耗能,设备损耗等):①提取液pH值太大,除了对多糖的降解作用,其对设备的腐蚀是必须要认真对待的问题,故选择pH8.50~9.00的弱碱性条件。②能在较低电场强度下得到较高的提取率,是理想的选择,故电场强度范围应当偏低15.00~25.00kV/cm。③温度属最次要因素,且在两项交互作用中其变化并没有较大幅度改变枸杞多糖的提取率,从节能的角度出发,最终确定较佳工艺温度范围为20~40℃。

遗憾的是该方程存在缺少三个或四个因素交互影响的缺陷,本实验尝试过对完全三次或四次回归模型拟合,由于拟合模型 $R^2$ 都小于0.70,方程的拟合检验概率 $P$ 都大于0.05,误差太大,不能取用。

### 3 结 论

对枸杞多糖提取数据的完全二次响应曲面的回归模型的拟合,误差较小,基本上满足了对交互影响的分析要求。

相较传统的提取工艺,本工艺能够在较短时间内完成,且耗能少,试剂损耗低,提取率较高,应引起重视。高压脉冲电场在食品加工、天然产物提取等领

域中已有广泛的应用,其设备适用于工业化连续生产,颇具良好的商业化前景。

### 参考文献:

- [1] 魏永祥,商希礼.枸杞多糖的研究进展[J].安徽农业科学,2010,38(11):5834-5836.
- [2] CHANG R C C, SO K F. Use of anti-aging herbal medicine, lycium barbarum, against aging-associated diseases. What do we know so far? [J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2008, 28(5): 643-652.
- [3] 蒋万志,张洪泉.枸杞多糖在免疫和抗衰老方面的研究进展[J].中国野生植物资源,2010,29(2):5-7.
- [4] 何彦丽,罗容敬,杜标炎,等.枸杞多糖抗小鼠实验性肝癌的作用机制[J].湖南中医药大学学报,2010,30(1):28-30.
- [5] 孙桂菊,左平国.枸杞多糖功效研究及应用状况[J].东南大学学报,2010,29(2):209-215.
- [6] LUO Qing, LI Zhuoneng, HUANG Xiaolan, et al. Lycium barbarum polysaccharides: protective effects against heat-induced damage of rat testes and  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced DNA damage in mouse testicular cells and beneficial effect on sexual behavior and reproductive function of hemicastrated rats[J]. Life Sciences, 2006, 79(7): 613-621.
- [7] 方建国,丁水平,田庚元.枸杞多糖药理作用与临床应用[J].药学新进展,2004,23(7):484-486.
- [8] ZHANG Min, CHEN Haixia, HUANG Jin, et al. Effect of Lycium barbarum polysaccharide on human hepatoma QGY7703 cells: inhibition of proliferation and induction of apoptosis[J]. Life Sciences, 2005, 76(18): 2115-2124.
- [9] 潘正军,刘畅,张燕,等.枸杞多糖对高血压孕鼠肾脏胎盘及胎鼠肾脏结构的影响[J].时珍国医国药,2010,21(6):1528-1530.
- [10] YIN Yongguang, ZHANG Qinghua, SASTRY S K. High voltage pulsed electric field treatment chambers for the preservation of liquid food products: US, 5690978[P]. 1997-11-4.
- [11] 魏殿文,庄泽帅,徐海军.高压脉冲电场法提取天然产物的研究进展[J].国土与自然资源研究,2010,29(2):209-215.
- [12] RODRIGUES R C, VOLPATO G, AYUB M A Z, WADA K. Lipase-catalyzed ethanolysis of soybean oil in a solvent-free system using central composite design and response surface methodology[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2008, 83(6): 849-854.
- [13] 李苹苹,丁霄霖.紫贻贝多糖脱除蛋白质方法的研究[J].上海水产大学学报,2006,15(3):327-331.
- [14] 叶玉娣.不同等级枸杞中枸杞多糖的含量测定与比较[J].浙江中医杂志,2009,44(12):921-922.
- [15] 胡仲秋,王利,王保玲,等.枸杞多糖提取及消除羟自由基活性研究[J].食品科学,2009,30(24):93-98.
- [16] MOLPECERESX J, GUZMAN M, ABERTURAS M R, et al. Application of central composite designs to the preparation of polycaprolactone nanoparticles by solvent displacement[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 1996, 85(2): 206-213.