

枸杞多糖的碱液提取工艺研究

胡仲秋^a, 刘建党^b, 王保玲^a

(西北农林科技大学 a. 食品科学与工程学院, b. 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】在传统水提取枸杞多糖(LBP)工艺的基础上,寻求更优的提取枸杞多糖的方法。【方法】以宁夏枸杞为原料,分析了浸提温度、浸提液 pH、液料比和提取时间对 LBP 得率的影响,并在此基础上进行了正交试验。以 LBP 得率为衡量指标,优选出碱液提取 LBP 的工艺条件,分析了碱液提取工艺较传统水提工艺的优越性。【结果】碱液提取 LBP 的最佳工艺条件是:枸杞粉与浸提液的液料比为 70 : 1, pH 为 10, 温度 65 ℃, 浸提时间 3.5 h; 各因素影响碱液提取 LBP 得率的主次因素依次为:浸提温度>浸提液 pH>液料比>浸提时间。【结论】得到了碱液提取 LBP 的最佳提取工艺,该工艺下 LBP 得率可达 7.46%,比传统水提工艺提高了 1.59%。

【关键词】 枸杞多糖(LBP);碱液提取法;传统水提取法

【中图分类号】 R284.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)10-0173-06

Research on extraction technology of *Lycium barbarum* polysaccharides by the alkaline solution

HU Zhong-qiu^a, LIU Jian-dang^b, WANG Bao-ling^a

(a. College of Food Science and Engineering, b. College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The study was done to search for a new advanced method used for extracting *Lycium barbarum* polysaccharids (abbreviaton is LBP) on the basis of the traditional water extraction technology. 【Method】 Single-factor and orthogonal experiments were adopted to establish the optimal conditions for the extraction of LBP from Ningxia wolfberry. The yield of LBP was regarded as index, the optimum technology parameters finally were gotten, and the superiority of alkaline solution extraction technology to traditional water extraction technology was analyzed. 【Result】 The optimum alkaline solution extraction process conditions was as follows: under the ratio liquid to solid 70 : 1, pH 10, at 65 ℃, extracted in soakage for 3.5 hours. The sequence of factors that worked on the yield of LBP were as below: extracted temperature>pH>the ratio of liquid to solid>extracted time. 【Conclusion】 The optimal alkaline solution extraction conditions were determined. On the conditions the yield of extraction was 7.46%, 1.59% more than that of traditional water extraction technology.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharids(LBP); alkaline solution extraction technology; traditional water extraction technology

枸杞因其具有独特的药理价值和丰富的营养价值,被认为是开发功能性食品的最佳原料。现代临床医学研究认为^[1],枸杞中的枸杞多糖(英文名称为

Lycium barbarum polysaccharides,缩写为 LBP)是其生物学作用的主要成分之一,具有抗肿瘤、抗衰老、降血糖、降血脂、抗疲劳、免疫调节等特殊的医疗

* [收稿日期] 2008-04-11

[基金项目] 国家“十一五”科技支撑计划项目(2006BAK02A24)

[作者简介] 胡仲秋(1969—),男,陕西户县人,讲师,硕士,主要从事食品工程天然产物提取研究。

保健作用,现已成为保健食品中的一种重要功能添加剂,在食品工业上具有十分广阔的应用前景。枸杞作为一种新兴的保健型食用植物,在我国宁夏、新疆等地区大面积种植,而且种植面积逐年增加。随着医药学研究的深入,枸杞的市场需求进一步扩大,而科技进步和居民消费水平的提高又促进了枸杞深加工的发展,如枸杞冰晶糖、枸杞鲜汁、枸杞杞宝胶囊和枸杞酒等,打破了传统中药概念的束缚,使枸杞向保健品、饮料、医药和化妆品等多领域挺进。目前枸杞的深加工方法虽然较多,但科技含量不高,产品初级低档,有自主知识产权的产品很少,而且大多不能规模化满负荷生产。从枸杞中提取 LBP 可大大提高枸杞的附加值。由于 LBP 溶于水,所以多数研究是以传统水提工艺为基础进行 LBP 提取的工艺优化研究。如植飞等^[2]对 LBP 传统水提法进行了工艺优化研究;王航宇等^[3]用超声辅助提取新疆枸杞中的 LBP 较传统水提取法提高 2.34%;白红进等^[4]采用超声-微波协同萃取法提取采自新疆塔里木盆地黑果枸杞中的 LBP,使提取率较传统水提取法提高了 1.13%。阿依姑丽·艾合麦提等^[5]证明,超声辅助提取法提取 LBP,具有快速、高效、节能、不破坏提取物性状等特点,与传统提取法相比能够提高药材有效成分的利用率。但超声提取产业化过程中,温度控制、均一性、多糖活性以及环境污染是一个难以解决的问题。吴素萍等^[6]使用酶法提取宁夏中宁枸杞中的 LBP,虽然该法具有快速、高效、反应时间温和、反应过程明确、易于控制等诸多优点,且 LBP 得率较水解法提高了 3.1%,但酶法提取成本昂贵,且酶的回收利用困难。

为了克服了以上研究的缺点,本研究以碱液提取 LBP,不仅 LBP 提取率高,而且碱可回收使用,成本增加很少,经试验证明 LBP 得率较传统水提法提高了 1.59%,大大提高了生产效率,对于枸杞多糖提取工艺的改进具有重要意义。现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 植物原料 宁夏枸杞果,购于陕西杨凌国贸超市,由莆田市远通实业有限公司包装发售。

1.1.2 仪 器 UV-1700 型紫外可见分光光度计(波长范围 190.0~990.0 nm),日本岛津公司生产;PB-303-S/FACT 型精密电子天平,METTLER TOLEDO 公司生产;WH-SY21-K 数字温控型水浴

锅,北京长风仪器仪表公司生产;DHG-9140 型电热恒温鼓风干燥箱,杭州东晨公司生产;SXT-02 型索氏提取器,上海洪纪仪器设备有限公司生产;SHZ-D 型循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司生产;PB-10 型 pH 计,赛多利斯科学仪器北京有限公司生产。

1.1.3 试 剂 葡萄糖、无水乙醇、氢氧化钠、醋酸钠,由西安三莆精细化工厂生产;苯酚、石油醚、丙酮、乙醚,由天津化学试剂厂生产;浓硫酸、铝片,由西安化学试剂厂生产。以上试剂均为分析纯。

1.2 试验方法

取宁夏枸杞果原料于 60 ℃烘干至恒重,再用万能粉碎机磨碎。精确称取研碎的枸杞果粉末 500 g,置于索氏提取器中,以石油醚(沸程 60~90 ℃)2 500 mL 回流脱脂 2 次,每次 2 h,直至溶液无色。脱脂后的残渣挥干溶剂后,用 2 500 mL 的乙醇溶液($V(\text{乙醇}):V(\text{H}_2\text{O})=8:2$)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 LBP 粗提取物^[7-9],备用。

1.2.1 LBP 碱液提取的单因素试验 在其他因素相同的条件下,研究液料比、提取温度、pH、提取时间等对 LBP 得率的影响,选择适宜的提取条件。

(1) 液料比。用 6 个 500 mL 锥形瓶,各准确称 LBP 粗提取物 5.00 g,分别加入用 NaOH 调节 pH 值为 10 的蒸馏水溶液 150,200,250,300,350 和 400 mL,使液料比分别为 30:1、40:1、50:1、60:1、70:1 和 80:1,60 ℃下浸提 2 h 得到样品液。样品液经 50 ℃减压浓缩至原体积的 1/3,加入体积分数 95%乙醇 600 mL,静置过夜,抽滤,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,60 ℃烘干至恒重,计算 LBP 得率,以 LBP 得率为指标确定最适液料比。

(2) 提取温度。用 5 个 500 mL 锥形瓶,各准确称 LBP 粗提取物 5.00 g,在 60:1 的液料比条件下,加入用 NaOH 调 pH 为 10 的蒸馏水溶液,分别在 40,50,60,70 和 80 ℃下提取 2 h,得到样品液。样品液经 50 ℃减压浓缩至原体积的 1/3,加入体积分数 95%乙醇 600 mL,静置过夜,抽滤,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,60 ℃烘干至恒重,计算 LBP 得率,以 LBP 得率为指标确定最适提取温度。

(3) 提取 pH。用 5 个 500 mL 锥形瓶,各准确称粗提取物 5.00 g,按 60:1 的液料比,加入用 NaOH 调 pH 分别为 9,9.5,10,10.5 和 11 的蒸馏水溶液,混匀,80 ℃下提取 2 h,得到样品液。样品

液经 50 ℃减压浓缩至原体积的 1/3,加入体积分数 95%乙醇 600 mL,静置过夜,抽滤,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,60 ℃烘干至恒重,计算 LBP 得率,以 LBP 得率为指标确定最适提取 pH。

(4)提取时间。用 5 个 500 mL 锥形瓶,各准确称粗提取物 5.00 g,按 60 : 1 的液料比加入用 NaOH 调 pH 为 10 的蒸馏水溶液,于 80 ℃下分别浸提 2.0,2.5,3.0,3.5 和 4 h 得到样品液。样品液经 50 ℃减压浓缩至原体积的 1/3,加入体积分数 95%乙醇 600 mL,静置过夜,抽滤,沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤,60 ℃烘干至恒重,计算 LBP 得率,以 LBP 得率为指标确定最佳提取时间。

表 1 枸杞多糖碱液提取工艺条件的正交优化试验因素水平表

Table 1 Optimum orthogonal design of LBP extraction technology of the alkaline solution

水平 Level	因素 Factors				
	A 液料比 Ratio of liquid to solid	B 温度/℃ Temperature	C pH	D 时间/h Time	空列 Empty rank
1	55 : 1	55	9.5	2.5	
2	60 : 1	60	10	3	
3	65 : 1	65	10.5	3.5	
4	70 : 1	70	11	4	

1.3 LBP 得率的测定

采用苯酚-硫酸比色法^[10-15]进行 LBP 含量的测定,按下式计算 LBP 得率:

$$\text{LBP 得率}/\% = \frac{\text{LBP 浓度} \times \text{稀释倍数}}{\text{原料干质量}} \times 100\%。$$

1.4 数据处理

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 LBP 碱液提取的单因素试验

2.1.1 液料比对 LBP 得率的影响 由图 1 可以看

1.2.2 LBP 碱液提取工艺的正交试验 依据单因素试验结果,以单因素试验最适条件为正交试验设计中心点,选取浸提液料比、浸提温度、浸提 pH、浸提时间为试验因素,设 4 个水平,按四因素四水平并增加一个空列,即 L₁₆(4⁵)进行正交试验,以 LBP 得率为评定指标,优化碱液提取 LBP 的工艺条件。试验设计因素及其水平见表 1。

1.2.3 LBP 碱液提取与传统水提工艺的比较 对优化的 LBP 碱液提取工艺条件与传统的水提工艺条件进行对比试验,以 LBP 得率为衡量指标,比较碱液提取工艺相对于传统水提工艺的优越性。

出,液料比为 30 : 1~60 : 1 时,随着液料比的增加,LBP 得率迅速增加;当液料比达到 60 : 1 以上时,随着液料比的增加,LBP 得率基本保持不变。因此 60 : 1 的液料比是 LBP 提取的最适液料比。

2.1.2 提取温度对 LBP 得率的影响 由图 2 可见,当提取温度为 40~60 ℃时,随着提取温度的升高,LBP 得率迅速增加;但当提取温度升至 70 ℃以上时,LBP 得率随提取温度的升高反而下降。这可能是由于当提取温度高于 70 ℃时,糖在碱液条件下转化为其他物质,导致了提取率降低。总的来看,70 ℃是 LBP 提取的最适温度。

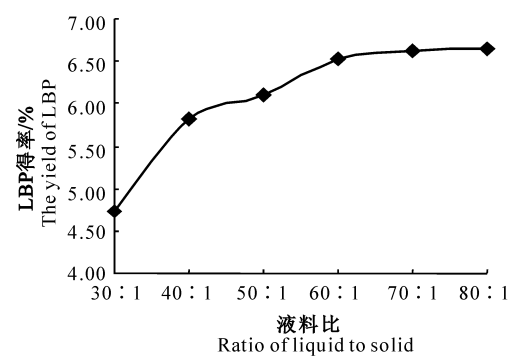


图 1 液料比对 LBP 得率的影响

Fig. 1 Effect of ratio of liquid to solid on the yield of LBP

2.1.3 pH 对 LBP 得率的影响 由图 3 可见,当

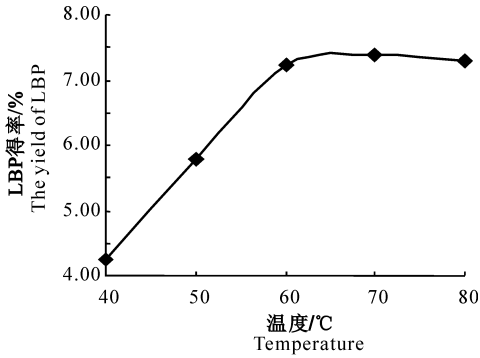


图 2 浸提温度对 LBP 得率的影响

Fig. 2 Effect of extraction temperature on the yield of LBP

pH 为 9~10 时,随着碱液 pH 的增加,LBP 得率明

显提高;当 pH 大于 10 小于 10.5 时,LBP 得率随 pH 增加而下降;当 pH 大于 10.5 时,LBP 得率随 pH 的增加有所回升,说明碱液 pH 对 LBP 得率有明显影响。这可能是由于 pH 高于 10 时,糖的一些副反应加快,导致 LBP 得率降低;而 pH 大于 10.5 时 LBP 得率的反弹,则是由于副反应速度有一定的波动,导致 LBP 得率有一定的回升。综合考虑,选

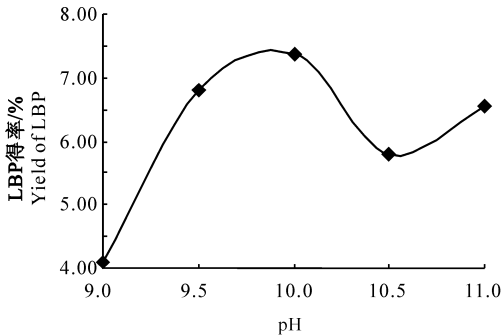


图 3 pH 对 LBP 得率的影响

Fig. 3 Effect of pH on the yield of LBP

2.2 LBP 碱液提取工艺的正交优化试验

碱液提取 LBP 工艺条件优化的正交试验统计

表 2 LBP 碱液提取工艺的正交优化试验结果

Table 2 The result of orthogonal experiment of LBP extraction technology in the alkaline solution

试验号 No.	A 液料比 Ratio of liquid to solid	B 温度/℃ Temperature	C pH	D 时间/h Time	空列 Empty rank	LBP 得率/% Yield of LBP
1	1	1	1	1	1	5.48
2	1	2	2	2	2	7.17
3	1	3	3	3	3	7.03
4	1	4	4	4	4	6.32
5	2	1	2	3	4	6.95
6	2	2	1	4	3	6.42
7	2	3	4	1	2	6.76
8	2	4	3	2	1	7.29
9	3	1	3	4	2	6.39
10	3	2	4	3	1	6.90
11	3	3	1	2	4	7.09
12	3	4	2	1	3	7.34
13	4	1	4	2	3	6.58
14	4	2	3	1	4	7.09
15	4	3	2	4	1	7.44
16	4	4	1	3	2	7.33
K ₁	26.00	25.39	26.31	26.67	27.10	T=109.57
K ₂	27.41	27.58	28.90	28.12	27.64	
K ₃	27.71	28.31	27.79	28.21	27.37	
K ₄	28.44	28.28	26.56	26.57	27.45	
k ₁	6.50	6.35	6.58	6.67	6.77	
k ₂	6.85	6.90	7.23	7.03	6.91	
k ₃	6.93	7.08	6.95	7.05	6.84	
k ₄	7.11	7.07	6.64	6.64	6.86	
R	0.61	0.73	0.65	0.41	0.14	
F	20.56	36.90	28.05	15.68	1	

择 pH=10 作为 LBP 提取的最适 pH。

2.1.4 提取时间对 LBP 得率的影响 由图 4 可见,在提取时间为 2~3 h 时,LBP 得率随浸提时间的延长而增大;当浸提时间超过 3 h 时,LBP 在碱液中有一定裂解,延长浸提时间,反而使 LBP 得率有所降低。因此,浸提时间 3 h 是 LBP 提取的最适浸提时间。

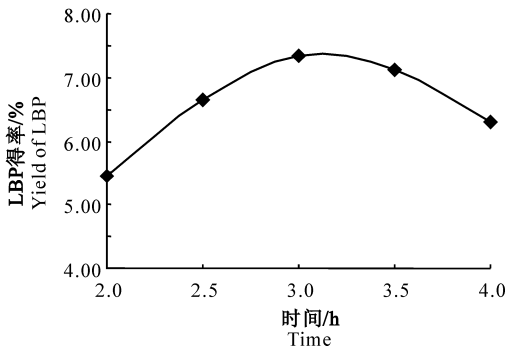


图 4 提取时间对 LBP 得率的影响

Fig. 4 Effect of extraction time on the yield of LBP

结果和分析见表 2。

由表 2 的极差分析结果可以得出,影响碱液提取 LBP 得率的主次因素依次为:浸提温度>浸提液 pH>液料比>浸提时间;通过 F 值计算,温度($F=36.90>9.28,\alpha=0.05$)、浸提液 pH($F=28.05>9.28,\alpha=0.05$)、液料比($F=20.56>9.28,\alpha=0.05$)、提取时间($F=15.68>9.28,\alpha=0.05$)均对 LBP 得率有显著影响。通过各因素的极值点分析得出,LBP 的碱液提取最优工艺组合是 $A_4B_3C_2D_3$,

表 3 LBP 碱液提取优化工艺条件的对比验证

Table 3 The comparison between the LBP extraction technology conditions

试验号 No.	浸提条件 Extracted condition				LBP 提取率/% Yield of LBP
	液料比 Ratio of liquid to solid	温度/℃ Temperature	pH	时间/h Time	
12	65 : 1	70	10	2.5	7.34
15	70 : 1	65	10	4.0	7.44
优化工艺 Optimum technology	70 : 1	65	10	3.5	7.46

2.3 LBP 碱液提取与传统水提工艺的比较

由表 4 可以看出,LBP 碱液法提取 LBP 得率为 7.46%,传统水提工艺优化后提取 LBP 的得率为

即液料比为 70 : 1,pH=10,于 65 ℃ 浸提 3.5 h,LBP 得率最高。

为验证正交试验优选工艺条件的正确性,将正交表中 LBP 得率较高的 12 和 15 号试验与优选结果进行了重复对比验证试验,其结果见表 3。由表 3 可以看出,正交试验优选结果确实是 LBP 碱液提取工艺的最佳提取条件,在此条件下,LBP 得率最高可达 7.46%。

5.87%,碱液提取法提取的 LBP 得率较传统水提工艺高 1.59%,可见 LBP 碱液提取法明显优于传统水提法。

表 4 LBP 碱液提取与传统水提法提取结果的比较

Table 4 The contrastive result of LBP yield between the two extraction technologies

提取方法 Extraction method	浸提条件 Extraction condition				LBP 得率/% Yield of LBP
	液料比 Ratio of liquid to solid	温度/℃ Temperature	pH	提取时间/h Extraction time	
碱液提取法 Alkaliine extraction method	70 : 1	65	10	3.5	7.46
水提法 Water extraction method	50 : 1	70	—	4.0	5.87

3 结 论

1) 影响碱液提取 LBP 得率的主次因素依次为:浸提温度>浸提液 pH>液料比>浸提时间;液料比、提取温度、浸提液 pH 和提取时间均对 LBP 提取得率有显著影响。

2) LBP 碱液提取的最佳工艺条件是:液料比为 70 : 1,浸提液 pH=10,于 65 ℃ 下浸提 3.5 h,LBP 得率最高。

3) LBP 碱液提取的 LBP 得率可达 7.46%,较传统水提工艺提高了 1.59%,表明碱液提取工艺优于传统水提工艺。

本研究将碱液提取与传统水提方法相结合,提高了 LBP 的得率。这是由于碱溶液可对植物细胞起到破壁作用,还可以通过破坏细胞膜的完整性而提高细胞膜的通透性。另外,LBP 为酸性杂多糖,所以更易溶解于略显碱性的水溶液,且碱性溶液渗透压大。两者综合作用的结果,使枸杞细胞膜的渗透性增强,从而增加了 LBP 的渗透率,达到提高

LBP 得率的目的。

[参考文献]

[1] 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.
Huang Q T,Chen Y F. Research progress on Lycium Polysaccharides [J]. Food Research and Development, 2006, 27(1): 172-174. (in Chinese)

[2] 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.
Zhi F,Zheng W P,Chen P,et al. Study on the extraction process of Polysaccharide from *Lycium barbarum* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials,2004,27(12):948-950. (in Chinese)

[3] 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.
Wang H Y,Liu J R,Dan J M,et al. Ultrasonic extraction technique and determination of polysaccharides from Xing-jiang *Lycium barbarum* [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2002,25(1):42-43. (in Chinese)

[4] 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.

Bai H J, Wang H B, Zhu Z Q, et al. Polysaccharide was extracted from *Lycium rethenicum* Murr [J]. Food Industry Science and Technology, 2007, 28(3): 145-146. (in Chinese)

[5] 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.

Ayiguli·Aihemeiti, Wang Y, Yang X J, et al. Study on extraction method and assay of Polysaccharides of *Lycium barbarum* L. from two different source [J]. Xinjiang Agricultural Science, 2007, 44(5): 724-728. (in Chinese)

[6] 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.

Wu S P, Xu J N. Study on extraction of *Lycium barbarum* polysaccharides by water enzymatic method [J]. Food Science and Technology, 2007(8): 114-117. (in Chinese)

[7] 何 进, 张声华. 枸杞及枸杞多糖研究(I) [J]. 食品科学, 1995, 16(2): 15.

He J, Zhang S H. The research of *Lycium barbarum* and *Lycium barbarum* polysaccharides (No. 1) [J]. Food Science, 1995, 16(2): 15. (in Chinese)

[8] 何 进, 张声华. 枸杞多糖的分离纯化及组成研究 [J]. 中国药理学杂志, 1996, 31(12): 716-720.

He J, Zhang S H. Isolation and composition of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 1996, 31(12): 716-720. (in Chinese)

[9] 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.

Wang J H, Wang J M, Li L, et al. Separation and purification and struction character of LBP2a [J]. Food Science, 2002, 23(6): 44-48. (in Chinese)

[10] 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.

Tian L, Xuan Y, Fan R J, et al. Ethanol-alkali extraction method of astragalus Polysaccharide [J]. Journal of Jilin University: Science Edition, 2006, 44(4): 652-657. (in Chinese)

[11] 赵彦华, 周志铭. 物理条件对枸杞水浸提液中枸杞多糖的影响 [J]. 饮料工业, 2004, 7(4): 25-27.

Zhao Y H, Zhou Z M. Effect of physical conditions on *Lycium barbarum* polysaccharides (LBP) in *Lycium barbarum* aqueous extract [J]. Beverage Industry, 2004, 7(4): 25-27. (in Chinese)

[12] 李贵荣. 枸杞多糖的提取及其对活性氧自由基的清除作用 [J]. 中国现代应用药学杂志, 2002, 19(2): 94-96.

Li G R. Study on isolation of *Lycium barbarum* polysaccharide and its effects on anti-active oxygen free radicals [J]. Chin JM A P, 2002, 19(2): 94-96. (in Chinese)

[13] 潘泰安, 毛忠英, 张建成, 等. 枸杞多糖生产工艺及产品的开发研究 [J]. 中国食品添加剂, 2002(4): 21-24.

Pan T A, Mao Z Y, Zhang J C, et al. R&D and processing of *Lycium barbarum* polysaccharide [J]. China Food Additives, 2002(4): 21-24. (in Chinese)

[14] 龚 涛, 任大明, 王 楠. 枸杞多糖提取工艺研究 [J]. 生物技术, 2005, 15(6): 78-90.

Gong T, Ren D M, Wang N. Study on distillation technics of *Lycium barbarum* polysaccharide [J]. Biotechnology, 2005, 15(6): 78-90. (in Chinese)

[15] 袁振林. 枸杞多糖的提取及含量和分子量分布的测定 [J]. 广东化工, 2003(3): 43-45.

Yuan Z L. *Lycium barbarum* polysaccharides' s production technique and determination of polysaccharides content along with molecular weight distribution [J]. Guangdong Chemical Industry, 2003(3): 43-45. (in Chinese)