

不同枸杞多糖提取方法工艺优化与对比研究

田晓静¹, 刘元林¹, 吴启康¹, 龙鸣¹, 俸江宁¹, 陈士恩¹, 李明生^{1,2*}, 高丹丹¹, 马忠仁^{1,2}

¹西北民族大学生命科学与工程学院, 兰州 730124; ²甘肃省动物细胞工程技术研究中心, 兰州 730030

摘要: 枸杞多糖是枸杞中主要活性成分之一,也是评价枸杞品质的重要指标之一。为有效对比不同枸杞多糖提取方法的差异,本研究采用单因素和正交试验优化浸提法、超声波辅助法和酶解法提取枸杞多糖的工艺,结果发现较佳条件分别如下,溶剂浸提法:温度 90 °C,时间 3 h,料液比 1:30 g/mL;超声波辅助法:提取温度 60 °C,提取时间 50 min,料液比 1:25 g/mL,pH 为 8;酶解法:酶解温度 50 °C,酶解时间 160 min,加酶量 0.50%,pH 为 5.0。在此基础上,提取宁夏中宁枸杞子中多糖,发现酶解法提取率最高(7.79%),其次为超声波辅助提取法(5.92%),浸提法的提取率最低(4.67%),为进一步开发和利用枸杞多糖的提供方法基础。

关键词: 枸杞多糖;提取方法;优化

中图分类号: TS202.1;R284.2

文献标识码: A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.011

Optimization and Comparison of Extraction Methods for *Lycium barbarum* Polysaccharides

TIAN Xiao-jing¹, LIU Yuan-lin¹, WU Qi-kang¹, LONG Ming¹, FENG Jiang-ning¹, CHEN Shi-en¹,
LI Ming-sheng^{1,2*}, GAO Dan-dan¹, MA Zhong-ren^{1,2}

¹College of life science and Engineering, Northwest Minzu University, Lanzhou 730124, China;

²Engineering Technology Research Center for Animal Cell, GanSu, Lanzhou 730030, China

Abstract: As one of the most important active components in *Lycium barbarum* fruits, *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) is an important indexes to evaluate the quality of *Lycium barbarum* fruits. For comparison of the effects of different extraction methods for LBP, single factor and orthogonal test were employed to optimize the extraction process for methods of aqueous extraction, ultrasonic assisted extraction and enzyme assisted extraction. The results showed that the better condition is as follows, for aqueous extraction: temperature 90 °C, time 3 h, Solid-liquid ratio 1:30 g/mL, for ultrasonic assisted extraction: extraction temperature 60 °C, extracting time 50 min, Solid-liquid ratio of 1:25 g/mL, pH of 8, and for enzyme assisted extraction: enzymatic hydrolysis temperature 50 °C, 160 min of enzymolysis time with enzyme content of 0.50%, pH of 5.0. Applied to extract the LBP in *Lycium barbarum* fruits produced in Zhongning, Ningxia province, it was found that the enzyme hydrolysis extraction yield the highest (7.79%), followed by ultrasonic assisted extraction (5.92%), then extraction rate of aqueous extraction of the lowest (4.67%), laid solid foundation for further development and utilization of LBP.

Key words: *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP); extraction method; optimization

枸杞子为茄科枸杞属植物的干燥成熟果实,其营养丰富且药用价值颇高,具有调节人体免疫力、抗衰老、抗氧化、降血糖、降血脂、抗脂肪肝和预防心脑血管疾病、抑制肿瘤生长、防止和阻隔癌细胞突变等功效。现代药理学研究表明,枸杞子中主要生物活性成分为枸杞多糖、甜菜碱以及类胡萝卜素^[1],其

药用价值又与枸杞多糖息息相关。目前,枸杞多糖的研究主要集中在多糖组成分析、功效鉴定及提取工艺优化等。在枸杞多糖中的水提法^[2]、酶提取法^[3]、超声法^[4]、微波法^[5]、碱液提取法^[6-8]报道较多,利用不同原理实现枸杞多糖的分离提取,且提取效果较佳。现有研究多为对单一提取方法的介绍,部分针对两种方法之间比较研究,受原料、实验环境等因素的影响,致使无法有效对比不同方法的提取效果。

针对上述问题,本文研究以宁夏枸杞为原料,枸

收稿日期:2018-01-31 接受日期:2018-02-27

基金项目:国家自然科学基金(31560477);甘肃省科技计划(17YF1WAI66);西北民族大学“双一流”引导专项生物工程特色学科(10018703,1001070204)

* 通讯作者 E-mail: limingsheng@xbmu.edu.cn

杞多糖提取率为指标,采用单因素和正交试验法优化浸提法、超声波辅助法和酶解法提取枸杞多糖的工艺,并对比三种方法的提取效果,优选枸杞多糖最佳提取工艺条件,以期对枸杞多糖的高效提取和研发提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

试验用2016年8月产宁夏枸杞子(宁杞1号)样品均购自宁夏中宁枸杞市场,其粒度为395宁枸杞/50g,百粒重为 12.45 ± 0.33 g,参照国标GB/T 18672-2014^[9]其等级为甲级。样品购回后,置于-18℃冷冻待用。

DK-S26型电热恒温水浴锅上海精宏实验设备有限公司;722E可见分光光度计上海光谱仪器有限公司;KQ2200DE型数控超声波清洗器昆山市超声仪器有限公司;SXT-06型索式提取器上海洪纪仪器设备有限公司;PHS-3C型数显酸度计中国雷磁分析仪器厂;CLT-1A磁力搅拌电热套江苏省金坛友联仪器研究所;H2050R型台式高速冷冻离心机长沙湘仪离心机仪器有限公司;A-1000S水流抽气机上海爱朗仪器有限公司;101型电热鼓风干燥箱北京科伟永兴仪器有限公司;DG120型中药材粉碎机浙江省瑞安市寿海药材器械厂;SXT-06索式提取器上海洪纪仪器设备有限公司。

试验所用试剂均为分析纯,其中浓硫酸、石油醚、无水乙醇、苯酚、氢氧化钠(粒)产自天津市百世化工有限公司;葡萄糖产自烟台市双双化工有限公司;磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、三水合乙酸钠、冰乙酸产自上海中泰化学试剂有限公司;纤维素酶来源于黑曲霉,载体为淀粉,粉末状,活度10000U/g,购于阿拉丁试剂网。

1.2 实验方法

1.2.1 样品预处理

将枸杞子于60℃烘箱中恒温干燥至恒重,粉碎后密封置于2~8℃待用。准确称取枸杞粉1.500g,以石油醚^[10]回流脱脂两次,每次4h,以80%乙醇于60℃回流2次,每次2h,以去除单糖及一些苷类物质,挥干乙醇并冷藏待用。

1.2.2 枸杞多糖含量测定

参照张自萍等^[11,12],采用苯酚-硫酸法测定枸杞子中多糖含量。参考李广雷等^[13]的报道绘制标准曲线,具体如下:精确吸取标准溶液0.1、0.2、0.4、

0.6、0.8、1.0mL置于具塞比色管,分别加水至2.0mL,精密加入5%苯酚液1.0mL,摇匀,迅速加入浓硫酸5.0mL,摇匀后置于沸水浴中保温20min,取出迅速冷却至室温,于490nm处测定吸光度,以浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,计算得标准曲线回归方程为 $Y = 0.0023X + 0.0008$, $R^2 = 0.9998$,线性关系良好,模型可靠性强,并按照上述检测流程测定和计算枸杞多糖的含量。

1.2.3 实验方案设计

以枸杞多糖提取率为指标,通过单因素实验研究提取温度(60、70、80、90、100℃)、料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30g/mL)和提取时间(1、2、3、4、5h)对超声波辅助提法提取枸杞多糖效率的影响规律;研究提取温度(30、40、50、60、70℃)、料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30g/mL)、提取时间(20、30、40、50、60min)和pH(5、6、7、8、9)对超声波辅助提法提取枸杞多糖效率的影响规律;研究提取温度(40、45、50、55、60℃)、提取时间(40、80、120、160、200min)、加酶量(0.40%、0.45%、0.50%、0.55%、0.60%)和pH(4.0、4.5、5.0、5.5、6.0)对酶解提法提取枸杞多糖效率的影响规律;在此基础上,采用三因素三水平正交试验优选溶剂浸提法、超声波辅助提法和酶解法提取枸杞多糖的提取条件。

1.3 数据处理

每个参数重复检测三次,以其平均值进行后续分析。采用方差分析比较各因素的影响;采用主成分分析(principle component analysis,PCA)和典则判别分析(Canonical Discriminant Analysis,CDA)对不同生产年份和市售枸杞子进行定性判别;实验数据采用SAS8.0软件(美国SAS软件公司)进行数据分析,实验结果图由Origin8.0软件(美国OriginLab公司)绘制。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 传统溶剂浸提法

在料液比1:20g/mL、提取时间为3h的条件下,研究提取温度(60、70、80、90、100℃)对多糖提取率的影响,其结果见图1(a)。由图可知,随提取温度的升高,枸杞多糖提取率逐渐升高,但是90℃后增势减缓,因此,选择90℃做为较佳的提取温度。

在料液比1:20g/mL、提取温度为90℃的条件下,研究提取时间(1、2、3、4、5h)对多糖提取率的影

响,其结果见图 1(b)。由图可知,随提取时间的延长,枸杞多糖提取率呈先升高再降低的趋势,在 3 h 时其提取率最高,随后提取时间过长,由于多糖的水解其提取率反而有所下降。因此,选择较佳的提取时间为 3 h。

在提取时间为 3 h、提取温度为 90 °C 的条件下,

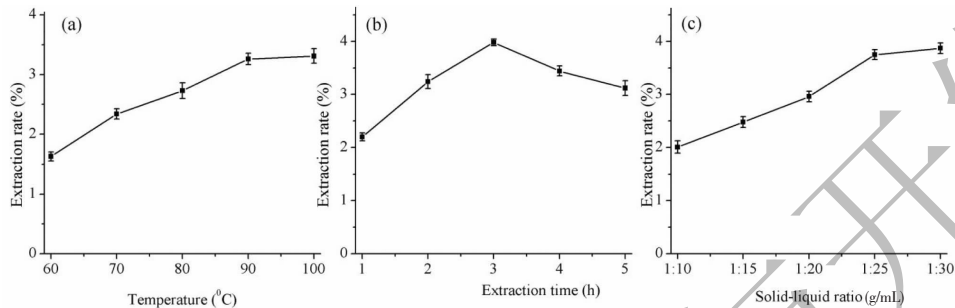


图 1 各因素对传统溶剂浸提取效果的影响(a:温度 b:提取时间 c:料液比)

研究料液比(1:10 g/mL、1:15 g/mL、1:20 g/mL、1:25 g/mL、1:30 g/mL)对多糖提取率的影响,其结果见图 1(c)。由图可知,料液比的降低,枸杞多糖提取率逐步升高,在料液比达到 1:25 g/mL 之后,提取率增速减缓。因此,选择较佳的料液比为 1:25 g/mL。

Fig. 1 The influence of extraction temperature, extraction time and temperature on the extraction rate by aqueous extraction

2.1.2 超声波辅助提取法

在料液比 1:20 g/mL、超声时间为 40 min、pH 为 8 的条件下,研究超声温度(30、40、50、60、70 °C)对多糖提取效果的影响规律,其结果见图 2(a)。由图可知,随提取温度的升高,枸杞多糖提取率逐渐升高,60 °C 时达到最高,随后温度升高,多糖得率反而下降。因此,选择 60 °C 做为较佳的提取温度。

在料液比 1:20 g/mL、提取温度为 60 °C、pH 为 8 的条件下,研究超声时间(20、30、40、50、60 min)对多糖提取率的影响规律,其结果见图 2(b)。由图可知,随超声时间的延长,枸杞多糖提取率呈先升高再降低的趋势,在 40 min 时其提取率最高,随后提取时间过长,由于多糖的水解其提取率反而有所下降。因此,选择较佳的超声时间为 40 min。

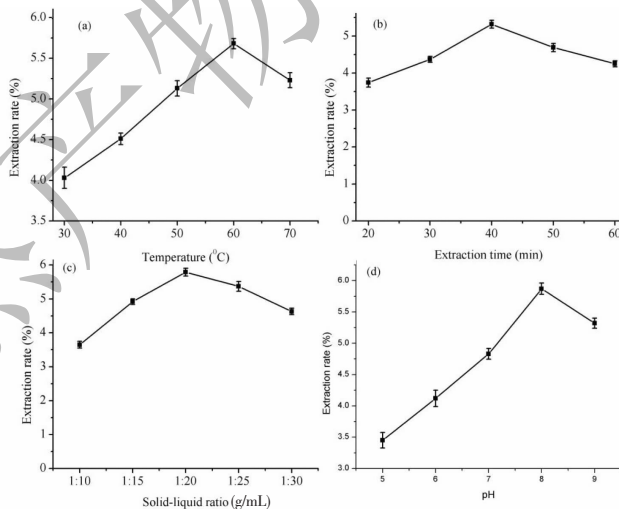


图 2 单因素对超声波辅助提取效果的影响(a:温度 b:提取时间 c:料液比 d:pH)

Fig. 2 The influence of extraction temperature, extraction time, temperature and pH on the extraction rate of LBP by ultrasonic assisted extraction

在超声时间为 40 min、提取温度为 60 °C、pH 为 8 的条件下,研究料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL)对多糖提取率的影响规律,其结果见图 2

(c)。由图可知,料液比的降低,枸杞多糖提取率逐步升高,但在料液比达到 1:20 g/mL 之后得率逐步下降。因此,选择较佳的料液比为 1:20 g/mL。

在超声时间为 40 min、提取温度为 60 ℃、料液比为 1:20 g/mL 的条件下,研究 pH(5、6、7、8、9)对多糖提取率的影响规律,其结果见图 2(d)。由图可知,pH 逐步升高,枸杞多糖提取率逐步升高,但在 pH 达到 8 之多糖后得率逐步下降。因此,选择较佳的 pH 为 8。

2.1.3 酶解提取法

在酶解时间为 120 min、加酶量 0.50%、pH 为 4.0 的条件下,研究酶解温度(40、45、50、55、60 ℃)对多糖提取率的影响规律,其结果见图 3(a)。由图可知,随酶解温度的升高,枸杞多糖提取率呈先增大后降低的趋势,50 ℃ 时达到最高,温度过高会使纤维素酶的活性降低或丧失,导致提取率下降。因此,选择 50 ℃ 做为较佳的酶解温度。

在加酶量 0.50%、酶解温度为 50 ℃、pH 为 4.0 的条件下,研究酶解时间(40、80、120、160、200 min)对多糖提取率的影响规律,其结果见图 3(b)。由图

可知,随酶解时间的延长,枸杞多糖提取率呈先升高再降低的趋势,在 160 min 时其提取率最高。因此,选择较佳酶解时间为 160 min。

在酶解时间为 160 min、酶解温度为 50 ℃、pH 为 4.0 的条件下,研究加酶量(0.40%、0.45%、0.50%、0.55%、0.60%)对多糖提取率的影响规律,其结果见图 3(c)。由图可知,枸杞多糖提取率随加酶量增加逐步升高,在加酶量为 0.50% 时达到最大,此时反应物已饱和,加酶量增加提取率不会再提高。因此,选择较佳的加酶量为 0.50%。

在酶解时间为 160 min、酶解温度为 50 ℃、加酶量为 0.50% 的条件下,研究 pH(4.0、4.5、5.0、5.5、6.0)对多糖提取率的影响规律,其结果见图 3(d)。由图可知,pH 由 4.0 升高至 4.5 时,枸杞多糖提取率急速增大,随后多糖得率逐步下降。因此,选择较佳的 pH 为 4.5。

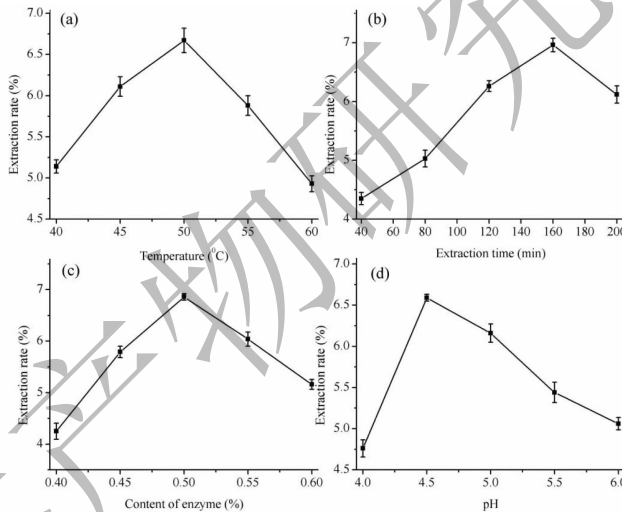


图 3 单因素对酶解法提取效果的影响(a:温度 b:提取时间 c:加酶量 d:pH)

Fig. 3 The influence of extraction temperature, extraction time, content of enzyme and pH on the extraction rate of LBP by enzyme assisted extraction

2.2 正交试验

在单因素实验结果的基础上,采用正交试验优选溶剂浸提法、超声波辅助提取法和酶解法提取枸杞多糖的提取条件,其结果见表 1~3。

2.2.1 传统溶剂浸提法

由表 1 可知,对溶剂浸提法,研究的三个因素影响先后顺序为浸提温度 > 浸提时间 > 料液比,且方差分析发现浸提温度对多糖得率影响极显著($P < 0.000$),浸提时间对多糖得率影响显著($P =$

0.030),而料液比对多糖得率影响不显著($P = 0.064$)。优化获得溶剂浸提法较佳工艺条件为 $A_2B_2C_3$,即温度 90 ℃,时间 3 h,料液比 1:30 g/mL。

2.2.2 超声波辅助提取法

由表 2 可知,对超声波辅助提取法,研究的四个因素影响先后顺序为 pH > 料液比 > 浸提时间 > 浸提温度,且方差分析发现这四个因素对多糖得率影响均极显著($P = 0.01$)优化获得超声波辅助提取法较佳工艺条件为 $D_2E_2F_3G_2$,即提取温度 60 ℃,提取时间 50 min,料液比 1:25 g/mL,pH 为 8。

表1 传统溶剂浸提法正交实验结果表

Table 1 Aqueous extraction using the orthogonal experiment result table

实验号 Sample number	因素 Factor			提取率 extraction ratio (%)
	(A) 温度 Temperature (°C)	(B) 时间 Time (h)	(C) 料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	
1	1(80)	1(2)	1(1:20)	2.87 ± 0.05
2	1	2(3)	2(1:25)	3.41 ± 0.02
3	1	3(4)	3(1:30)	2.96 ± 0.08
4	2(90)	1	2	3.36 ± 0.07
5	2	2	3	4.66 ± 0.11
6	2	3	1	4.01 ± 0.10
7	3(100)	1	3	3.59 ± 0.08
8	3	2	1	3.14 ± 0.07
9	3	3	2	3.84 ± 0.10
k1	3.08	3.27	3.34	
k2	4.01	3.74	3.54	
k3	3.51	3.60	3.74	
R	0.93	0.47	0.40	

表2 超声波辅助提取法正交试验结果表

Table 2 Ultrasonic assisted extraction method of the orthogonal experiment result table

实验号 Sample number	因素 Factor				提取率 Extraction ratio (%)
	(D) 温度 Temperature (°C)	(E) 时间 Time (min)	(F) 料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	(G) pH	
1	1(50)	1(30)	1(1:15)	1(7)	4.67 ± 0.12
2	1	2(40)	2(1:20)	2(8)	5.44 ± 0.11
3	1	3(50)	3(1:25)	3(9)	4.62 ± 0.03
4	2(60)	1	2	3	4.52 ± 0.15
5	2	2	3	1	5.83 ± 0.10
6	2	3	1	2	4.98 ± 0.12
7	3(70)	1	3	2	5.60 ± 0.14
8	3	2	1	3	4.47 ± 0.06
9	3	3	2	1	4.28 ± 0.09
k1	4.91	4.93	4.71	4.93	
k2	5.11	5.25	4.75	5.34	
k3	4.78	4.63	5.35	4.54	
R	0.33	0.62	0.64	0.80	

2.2.3 酶解提取法

由表3可知,对酶解提取法,研究的四个因素影响先后顺序为:加酶量 > 酶解时间 > 酶解温度 > pH,且方差分析发现除酶解温度对多糖得率影响不

显著外($P=0.55$),其它三个因素对多糖得率影响均极显著($P<0.000$)。优化获得酶解提取法较佳工艺条件为 $H_2I_2J_3K_3$,即酶解温度 $50\text{ }^\circ\text{C}$,酶解时间 160 min ,加酶量 0.50% ,pH 为 5.0 。

表 3 酶解提取法正交试验结果表

Table 3 Enzyme assisted extraction of the orthogonal experiment result table

实验号 Sample number	因素 Factor				提取率 Extraction ratio (%)
	(H) 温度 Temperature (°C)	(I) 时间 Time (min)	(J) 加酶量 Enzyme concentration (%)	(K) pH	
1	1(45)	1(120)	1(0.45)	1(4.0)	6.37 ± 0.09
2	1	2(160)	2(0.50)	2(4.5)	7.76 ± 0.07
3	1	3(200)	3(0.55)	3(5.0)	5.43 ± 0.05
4	2(50)	1	2	3	7.75 ± 0.17
5	2	2	3	1	6.46 ± 0.08
6	2	3	1	2	5.44 ± 0.11
7	3(55)	1	3	2	4.31 ± 0.06
8	3	2	1	3	6.40 ± 0.15
9	3	3	2	1	5.88 ± 0.08
k1	6.52	6.14	6.07	6.24	
k2	6.55	6.87	7.13	5.84	
k3	5.53	5.58	5.4	6.53	
R	1.02	1.29	1.73	0.69	

2.3 验证实验

在上述优化的条件下,以 2016 年 8 月产宁夏枸杞子(宁杞 1 号)为研究对象,对比三种方法的提取效果,其结果见图 4。由图可知,实验数据重复性好;多糖提取率从高到低依次为:酶解法、超声波辅助提取法和溶剂浸提法。

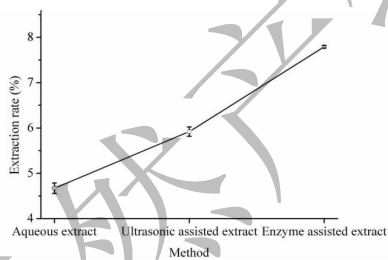


图 4 三种不同方法提取效果对比

Fig. 4 Comparison of three extract methods

3 结论

本研究采用单因素和正交试验优化了浸提法、超声波辅助法和酶解法提取枸杞多糖的工艺,发现三种方法较佳条件分别为如下,溶剂浸提法:温度 90 °C,时间 3 h,料液比 1:30 g/mL;超声波辅助法:提取温度 60 °C,提取时间 50 min,料液比 1:25 g/mL, pH 为 8;酶解法:酶解温度 50 °C,酶解时间 160 min,加酶量 0.50%, pH 为 5.0。在较佳条件下,酶

解法提取率最高(7.79%),其次为超声波辅助提取法(5.92%),浸提法的提取率最低(4.67%)。从实验中不难发现温度对提取率有重要的影响,白红进等^[14]人在不同方法提取黑果枸杞多糖的研究发现黑果枸杞多糖的提取效果受温度的影响较大,提取时适宜采用加热方法,本实验的结果与其相似。溶剂浸提最佳温度高达 90 °C、超声波辅助法最佳温度 60 °C、考虑到温度对酶活性的影响,酶解法最佳温度为 50 °C。王杉杉等^[15]人通过单因素试验与正交试验运用超声波辅助复合酶法提取枸杞多糖结果表明最佳提取工艺条件为料液比 1:40 g/mL、提取温度 50 °C,超声时间 50 min,复合酶添量 0.50%。本实验的超声波辅助法提取时间、酶解温度、酶添量与王杉杉等人的最优工艺条件相同,但本实验在 pH 上也进行了优化使提取工艺更佳。陈吉生等^[16]人在超声法提取枸杞多糖工艺发现提取料液比为 1:20 g/mL,提取时间为 30 min,提取温度为 60 °C,提取液 pH 值为 8 条件最佳,本实验提取时间与其差异较大可能是实验仪器使用功率造成的。运用酶解法提取宁夏中宁枸杞子多糖,本实验提取率为 7.79%,李阳等^[17]人添加果胶酶 0.40%,酶解 2 h, pH3.5,温度 55 °C,料液比为 1:45 g/mL,提取率为 7.40%。本实验的结果稍高一些,可能是酶的添加量与提取时间不同造成的。浸提法相对来说成本

低,但其提取率低、提取时间长跟不上生产;酶解法成本较高,虽提取率高但酶解条件严格且耗时也较长;超声波辅助提取法提取率理想,生产条件易满足适合工业化生产,提取温度较低、提取时间较短可以减少枸杞多糖的破坏具有较大的推广价值。

参考文献

- Zhou YH(周艳华), Li T(李涛), Qin SM(覃世民), *et al.* Progress on Active Constituents in Fruit of *Lycium barbarum* L. [J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2014, 24: 163-166.
- Shou HF(寿鸿飞), Ma TY(马天宇), Su M(苏苗), *et al.* Process optimization of extraction to extract LBP[J]. *J North Pharm* (北方药学), 2015, 12: 7880.
- Yu CF(于翠芳), Zhu YL(朱英莲), Wang SQ(王世清). Study on extraction of *Lycium barbarum* polysaccharides by compound enzymes method[J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2014, 35: 4043.
- Yang XS(杨新生), Jiang ZL(姜忠丽). LBP ultrasonic-assisted extraction method and its antioxidant activity[J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), 2016, 37: 7377.
- Zheng LL(郑玲利), Li Y(李燕), Huang L(黄玲), *et al.* Research on the extraction and purification process of polysaccharide in Chinese wolfberry[J]. *Pharm J Chin People's Liber Army* (解放军药学学报), 2016, 32(1): 14.
- Hu ZQ(胡仲秋), Liu JD(刘建党), Wang BL(王保玲). Research on extraction technology of *Lycium barbarum* polysaccharides by the alkaline solution[J]. *J Northwest A & F Univ: Nat Sci* (西北农林科技大学学报: 自科版), 2008, 36: 173-178.
- Hu ZQ(胡仲秋), Wang L(王利), Wang BL(王保玲), *et al.* Antioxidant activity of polysaccharides from *Lycium barbarum* [J]. *Food Sci* (食品科学), 2009, 30: 93-98.
- Wen ZC(温梓辰), Rong X(荣雪), Guo NF(郭乃菲), *et al.* Technique of extracting polysaccharides from Goji berry by repeated freezing and thawing method[J]. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2016, 44: 111-113.
- GB/T 18672-2014. Wolfberry [S]. National standard of the People's Republic of China, 2014.
- Wang YN(王月因), Xin G(辛广), Weng X(翁霞). Two different methods of extracting polysaccharide from *lycium barbarum* were studied. [J]. *J Anshan Nor Univ* (鞍山师范学院学报), 2010, 12(4): 39-43.
- Zhang ZP(张自萍), Huang WB(黄文波), Wang YJ(王玉炯). Study on microwave-assisted extraction of *lycium barbarum* polysaccharides by orthogonal test[J]. *J Ningxia Univ: Nat* (宁夏大学学报: 自然版), 2006, 27(1): 72-74.
- Guo XL(郭晓蕾), Zhu XC(朱思潮), Zhai XF(翟旭峰), *et al.* The content of polysaccharide in *ganoderma lucidum* was determined by anthranone sulfate and phenol sulfate [J]. *Chinese Arch Tradit Chinese Med* (中华中医药学刊), 2010, 9: 2000-2002.
- Li GL(李广雷), Yang W(杨薇), Lin QH(林青华), *et al.* Study on extraction technology of *GouQiZi* [J]. *West J Tradit Chinese Med* (西部中医药), 2015, 8: 18-20.
- Bai HJ(白红进), Wang HB(汪河滨), Chu ZQ(褚志强), *et al.* The study of polysaccharide from black fruit *lycium* was extracted by different methods [J]. *Sci Tech Food Ind* (食品工业科技), 2007, 28: 145-146.
- Wang SS(王杉杉), Ma YS(马韵升), Yao G(姚刚), *et al.* Ultrasound-assisted compound enzyme extraction technology of polysaccharides from *Lycium barbarum* [J]. *China Brewing* (中国酿造), 2015, 34: 134-137.
- Chen JS(陈吉生), Lv JH(吕剑豪). Study on ultrasonic extraction process of *lycium barbarum* polysaccharides from *Lycium barbarum* L. [J]. *Pharmacy Today* (今日药学), 2009, 19(12): 46-48.
- Li Y(李阳), Zhao CL(赵春玲), Wang XX(王晓晓), *et al.* Study on extraction of *Lycium barbarum* polysaccharides by enzymatic method [J]. *Guangzhou Chem Ind* (广州化工), 2014, 20: 59-60.