

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0194-06

微波辅助提取枸杞多糖工艺优化及内部品质综合判别

刘元林¹,田晓静^{1*},龙 鸣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西北民族大学生物医学研究中心,兰州 730030

摘要:为探索陈年枸杞内部品质变化规律,本研究以宁夏枸杞子为研究对象,以枸杞多糖提取率为指标,采用单因素和正交试验法优化微波法提取枸杞多糖条件,结合多元统计分析对枸杞内部品质进行综合判别。结果发现,单因素实验发现枸杞多糖提取率随微波功率、提取时间和料液比均呈现先上升再下降的趋势;正交试验确定较佳的微波辅助提取枸杞多糖工艺为A₁B₂C₃,即提取功率210 W、料液比1:20 g/mL、提取时间25 min。对不同年份生产的枸杞,其多糖含量随贮藏时间延长而降低,且典则判别分析结果均能将不同年份生产枸杞有效区分,主成分分析将市售15种枸杞区分为三大类,青海产、宁夏产和其他枸杞子,实现了对不同枸杞的鉴别区分,这为枸杞市场监督提供有效的方法,为有效保护消费者健康提供参考。

关键词:枸杞多糖;微波辅助提取;正交试验;内部品质

中图分类号:TS202.1

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.030

The Process Optimization of Microwave Assisted Extraction of LBP and Comprehensive Discrimination of Internal Quality for Lycium Barbarum Fruits

LIU Yuan-lin¹, TIAN Xiao-jing^{1*}, LONG Ming¹, 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;²Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China

Abstract: To explore the changing trend of the inner quality of Lycium barbarum fruits, single factor and orthogonal test were used to optimize the extraction process Lycium barbarum polysaccharide (LBP) of dried fruit of Lycium barbarum by method of microwave extraction, combined with the multivariate statistical analysis to discriminate internal quality for Lycium barbarum fruits. The results showed that the extraction rate of LBP changed with microwave power, extraction time and liquid ratio, and the optimized processes for microwave extraction method for LBP was A1B2C3, extraction power 210 W, material liquid ratio 1:20 g/mL, extraction time 20min. For Lycium barbarum fruits produced in different, the content of LBP declined with storage time, and Canonical discriminant analysis could divide it into three categories, fresh, stale and aged stale fruits. For 15 brands of Lycium barbarum fruits commercially available, principal component analysis could divide it into three categories, qinghai, ningxia and other production area. The results monitored the changes of Lycium barbarum polysaccharide content, laid method foundation for the detection of the freshness and producing area of Lycium barbarum fruits.

Key words: Lycium barbarum polysaccharide (LBP); microwave assisted extraction;orthogonal test;internal quality

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、防衰老、抗氧化、降血糖、降血脂、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^[2]及提取工艺优化^[3]等。在枸杞多糖中的水提法^[4]、酶提取法^[5]、超声法^[6]、微波法^[7]、碱液提取法^[8-10]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。微波法利用溶剂及细胞液吸收电磁波能量,破坏枸杞细胞壁,使有效成分从枸杞细胞中释放出来,有效提高枸杞多糖提取效率^[11]。

为探索陈年枸杞内部品质变化规律,本研究以宁夏枸杞子为研究对象,以枸杞多糖提取率为指标,

收稿日期:2018-07-16 接受日期:2018-08-23

基金项目:国家自然科学基金(31560477);科技部援助项目(KY201501005);甘肃省科技计划资助(17YF1WA166,18JR3RA371)

*通信作者 Tel:86-019993181128;E-mail:smile_tian@yeah.net

采用单因素和正交试验法优化微波法提取枸杞多糖条件,结合多元统计分析对不同品质(不同生产年份、市售枸杞子)枸杞内部品质进行综合判别。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

试验用不同生产年份的宁夏枸杞子(宁杞 1

号)样品均购自宁夏中宁枸杞市场,样品购回后,置于4℃冷冻待用。样品详细信息见表1,其中粒度、百粒重按照GB/T 18672-2014检测^[12],并以此判别枸杞等级。以2016-1枸杞样品进行多糖提取方法优化,并进行验证;在优化的条件下,对比分析不同年份生产枸杞子品质之间的差异。

表1 宁夏枸杞子样品信息表

Table 1 The profiles of *Lycium barbarum* fruit samples

编号 NO.	简称 Short name	生产年份 Producing year	产地 Producing area	粒度 Granularity (seed/50 g)	百粒重 100 seed weight (g)	等级 Grade	长轴长 Long axis length (cm)	短轴长 Short axis length (cm)
1	2016-1	2016年8月	宁夏中宁	395±4	12.45±0.33	甲级	1.57±0.06	0.62±0.05
2	2016-2	2016年头茬	宁夏中宁	336±2	14.54±0.15	特级	1.56±0.05	0.61±0.03
3	2016-3	2016年3-6茬	宁夏中宁	382±12	13.25±0.43	甲级	1.36±0.15	0.65±0.07
4	2015	2015年	宁夏中宁	406±8	12.19±0.38	甲级	1.56±0.08	0.49±0.03
5	2014	2014年	宁夏中宁	363±7	14.90±0.46	特级	1.55±0.04	0.66±0.04
6	4Y	4年以上	宁夏中宁	298±12	16.22±0.59	特级	1.53±0.04	0.64±0.03

DK-S26型电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司;722E可见光分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;H2050R型台式高速冷冻离心机 长沙湘仪离心机仪器有限公司;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;EM720KG1-PW微波炉,广州美的厨房电器制造有限公司。浓硫酸、石油醚、无水乙醇、苯酚、葡萄糖等购自天津市百世化工有限公司,均为分析纯。

表2 市售枸杞子样品信息表

Table 2 The profiles of *Lycium barbarum* fruit samples commercially available

编号 NO.	名称 Name	产地 Producing area	百粒重 100 seed weight (g)	粒度 Granularity (seed/50 g)	长轴长 Long axis length (cm)	短轴长 Short axis length (cm)	等级 Grade
1	YCT	青海西宁	26.63±0.32	186±6	2.14±0.13	1.33±0.09	特优
2	YCF	宁夏中卫	17.28±0.18	307±8	1.63±0.11	0.57±0.07	特级
3	HL	新疆乌苏	13.15±0.15	389±4	1.22±0.02	0.50±0.04	甲级
4	TZ	宁夏中卫	23.14±0.46	216±4	1.76±0.09	0.66±0.05	特优
5	XY	陕西咸阳	15.27±0.32	329±6	1.45±0.06	0.50±0.05	特级
6	AN	宁夏中宁	17.76±0.18	294±3	1.79±0.16	0.58±0.03	特级
7	QY	宁夏中卫	15.82±0.15	316±5	1.53±0.11	0.57±0.03	特级
8	SS	宁夏银川	16.61±0.17	324±9	1.48±0.13	0.55±0.02	特级
9	QH	青海西宁	26.11±0.55	191±5	1.99±0.15	1.28±0.11	特优
10	NX	宁夏中卫	15.38±0.21	348±6	1.31±0.03	0.51±0.03	特级
11	HMN	宁夏银川	15.12±0.12	359±4	1.30±0.04	0.49±0.03	特级
12	QLX	宁夏银川	14.85±0.15	364±9	1.29±0.08	0.45±0.03	特级
13	HQF	宁夏中卫	14.52±0.17	370±9	1.35±0.05	0.56±0.03	特级
14	QJ	宁夏银川	15.43±0.19	339±10	1.28±0.06	0.56±0.03	特级
15	FKY	宁夏银川	13.05±0.12	405±13	1.17±0.09	0.45±0.04	甲级

1.2 实验方法

1.2.1 样品预处理

剔除枸杞子中不完整粒、杂质后,置于55℃烘箱中恒温干燥至恒重,干燥完成后迅速取出,于中草药粉碎机(DG120)中粉碎,并迅速以密封袋密封,置于4℃的冰箱中冷藏待用。

准确称取1.5 g 枸杞粉样品制成脂肪包,石油醚回流脱脂两次近无色,每次约4 h。脱脂后挥干溶剂,将脂肪包置于圆底烧瓶中,用80%的乙醇60℃

回流2次,每次2 h,脂肪包挥干溶剂备用^[13]。

1.2.2 枸杞多糖微波辅助提取工艺优化

微波提取法的提取效果受提取功率、料液比、提取时间等因素的影响,本研究以枸杞多糖提取率为指标,通过单因素实验研究提取功率(70、210、350、560、700 W)、料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL)和提取时间(5、10、15、20、25 min)对提取率的影响规律,在此基础上,采用三因素三水平正交试验(表3)优选微波法提取枸杞多糖的提取条件。

表3 微波辅助提取枸杞多糖正交试验因素水平表

Table 3 Factors and levels for extraction of Lycium barbarum polysaccharide by microwave assisted extraction

因素 Factor	水平 Level		
	1	2	3
A 提取功率 microwave extraction power(W)	210	350	560
B 料液比 solid-liquid ratio(g/mL)	1:15	1:20	1:25
C 提取时间 extraction time(min)	15	20	25

1.2.3 枸杞多糖含量测定

参照张自萍等^[14],采用苯酚-硫酸法测定枸杞子中多糖含量。标准曲线的绘制:精确吸取标准溶液0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL置于具塞比色管,分别加水至2.0 mL,精密加入5%苯酚液1.0 mL,摇匀,迅速加入浓硫酸5.0 mL,摇匀后置于沸水浴中保温20 min,取出迅速冷却至室温,于490 nm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 $Y=0.0087X-0.0086$, $R^2=0.9983$,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。

1.3 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SAS 8.0软件(美国SAS软件公司)进行数据分析,实验结果图由Origin 8.0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 提取功率的影响

在料液比为1:20 g/mL、提取时间为5 min的条件下,研究微波提取功率为(70、210、350、560、700

W)对枸杞子多糖提取率的影响规律,其结果见图1。由图可知,随着提取功率的提高,枸杞多糖的提取率呈先下降再升高,在350 W处提取率较高,随后又有降低。提取功率过高或过低均会影响枸杞多糖的提取率,因此,综合选择350 W作为较佳的提取功率。

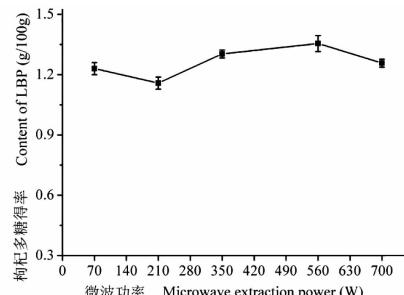


图1 微波功率对枸杞多糖提取率的影响规律

Fig. 1 Effect of microwave extraction power on extraction of Lycium barbarum polysaccharide

2.1.2 枸杞子多糖提取量与提取料液比的关系

在350 W功率、提取时间5 min的条件下,研究料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 g/mL)对枸杞子多糖提取率的影响规律,其结果见图2。由图可知,随着提取料液比的提高,枸杞多糖的提取率呈先上升后下降的规律,在料液比为1:20 g/mL处出现峰值。这可能是因为随着料液比的增加,溶液中分子运动的空间逐渐减少,从而减缓分子运动的速率。并且也会使得能量传递受阻,最终导致提取量下

降^[15]。因此,选择1:20 g/mL作为较佳的料液比。

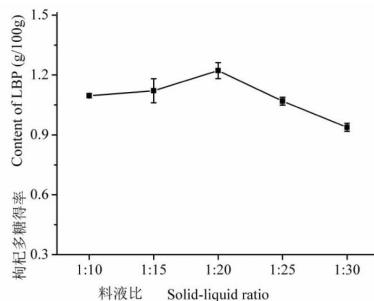


图2 料液比对枸杞多糖提取率的影响规律

Fig. 2 Effect of solid-liquid ratio on extraction of Lycium barbarum polysaccharide

2.1.3 枸杞子多糖提取量与提取时间的关系

在料液比1:20 g/mL、提取功率为350 W的条件下,研究提取时间(5、10、15、20、25 min)对枸杞子多糖提取率的影响规律,其结果见图3。由图可知,随提取时间的延长,枸杞多糖提取率逐渐升高,20 min处达到最高,随后随时间延长,可能出现多糖的水解、氧化等^[16],致使其提取率下降。因此,选择

20 min做为较佳的提取时间。

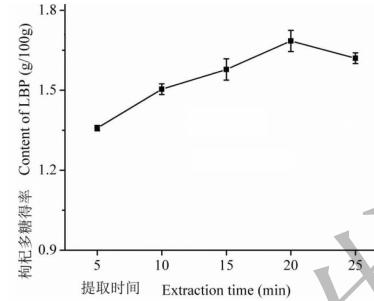


图3 提取时间对枸杞多糖提取率的影响规律

Fig. 3 Effect of extraction time on extraction of Lycium barbarum polysaccharide

综上所述,由单因素实验可知,微波辅助提取枸杞多糖时,提取功率为350 W、料液比为1:20 g/mL、提取时间为20 min时,其提取效果较佳。

2.2 正交试验结果

本研究以提取功率、料液比、提取时间为研究因素,以枸杞多糖的提取率为指标,设计三因素三水平正交试验进行优化,其设计表结果见表4。

表4 微波辅助提取枸杞多糖正交试验结果

Table 4 Results for extraction of Lycium barbarum polysaccharide

试验号 NO.	因素 Factors			多糖提取量 Content of LBP (g/100g)
	A 提取功率 Microwave extraction power (W)	B 料液比 Solid-liquid ratio (g/mL)	C 提取时间 Extraction time (min)	
1	1	1	1	1.61 ± 0.02
2	1	2	2	1.93 ± 0.07
3	1	3	3	1.78 ± 0.07
4	2	1	2	1.49 ± 0.09
5	2	2	3	1.58 ± 0.07
6	2	3	1	1.27 ± 0.06
7	3	1	3	1.28 ± 0.03
8	3	2	1	1.01 ± 0.03
9	3	3	2	1.12 ± 0.01
K ₁	1.77	1.46	1.30	
K ₂	1.45	1.51	1.52	
K ₃	1.14	1.39	1.55	
R	0.63	0.12	0.25	

正交试验结果见表4,极差分析结果表明,影响因素的顺序为A>C>B,最佳提取条件为A1B2C3,即提取功率210 W、料液比1:20 g/mL)提取时间25 min。这与庞亚茹等^[17]的研究结果(料液比1:20 g/

mL、温度85 °C、微波时间45 min、微波功率200 W)相接近;在微波功率上低于史高峰等^[16]、邱志敏等^[18]、郑玲利等^[7]、李宏燕等^[19]报道的300 W~700 W,这与实验用的微波设备提供微波功率范围

有关以上研究中微波功率均为设备所提供的功率范围的中段或中段偏上,这与本研究的结果相符。在此条件下,提取宁杞 1 号枸杞中多糖,发现其多糖提取率为 $1.91 \pm 0.03 \text{ g}/100 \text{ g}$ 。

2.3 不同年份枸杞内部品质差异

在上述优化的提取条件(提取功率 210 W、料液比 1:20 g/mL、提取时间 25 min)下,对四个不同年份生产的五种枸杞子提取其中枸杞多糖,其结果见图 4。方差分析发现,生产年份对枸杞多糖提取率影响极显著($P = 0.01$);Duncan 分析发现陈年枸杞(老陈果、2014 和 2015 年产)显著低于 2016 年鲜枸杞($P = 0.01$),这与 Lee HC 等^[20]的研究结果一致。

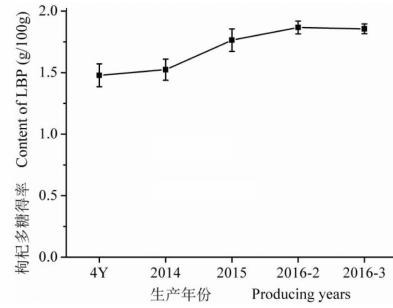


图 4 不同年份枸杞子多糖含量差异性分析

Fig. 4 Comparison of *Lycium barbarum* polysaccharide content for *Lycium* fruits produced in different years

2.4 多参数综合判别不同枸杞品质差异

对表 1 中四个不同年份生产的 5 种不同宁夏枸杞样品,以物理参数(粒度、百粒重、长短轴长度)和化学参数(多糖含量、脂肪含量、水分含量)为输入,采用典则判别分析对不同年份生产枸杞子进行综合判别,结果发现,CDA 分析前两个成分共解释了 96.72% 的原始信息,代表了原始信息的大部分信息。图 5 中数据点可以分成三大部分:第一部分为分布在图中左半部分的 4 年老陈果(4Y),与其他枸杞样品明显区分;第二部分居于图的中间下方的 2014 年产陈枸杞子;第三部分为新鲜度较高的 2015 和 2016 年产新鲜枸杞子,其数据点彼此重叠,难以有效区分。图中的三部分沿着主成分 1 增加的方向,新鲜度呈规律性上升。

主成分分析已成功应用于枸杞产地综合评价^[21]。对表 2 中 15 种市售枸杞子,以物理参数(粒度、百粒重、长短轴长度)和化学参数(多糖含量、脂肪含量、水分含量)为输入,采用主成分分析对市售枸杞子进行综合判别,结果发现,前两个主成分共解释了 76.73% 的原始信息,解释了原始参数的大

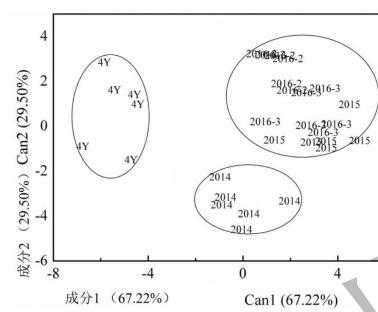


图 5 不同年份宁夏枸杞品质典则判别分析判别结果图

Fig. 5 CDA plots of *Lycium* fruits produced in different years

部分信息。图 6 中数据点可以分成三大部分:第一部分为分布于图右侧的青海产两种枸杞样品,与其他市售枸杞的数据点明显区分;第二部分为分布于图左上部分的宁夏枸杞,包含产于中卫和银川的 6 个样品;第三部分分布于图中左下方多产地样品区,包含 5 个宁夏中卫、银川、及新疆、陕西、山西的枸杞样品。

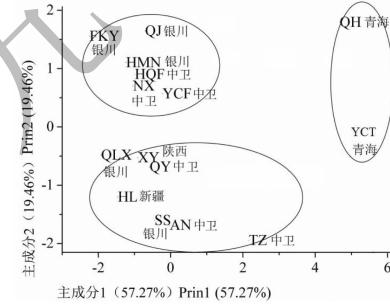


图 6 市售枸杞品质主成分分析结果

Fig. 6 PCA plots of *Lycium* fruits samples commercially available

3 结论

采用单因素实验和三因素三水平正交实验优化微波辅助提取枸杞多糖工艺,确定较佳的提取条件为 A₁B₂C₃,即提取功率 210 W、料液比 1:20 g/mL、提取时间 25 min。结合多元统计分析和枸杞物理、化学参数对不同年份枸杞品质进行综合判别,典则判别分析结果均能将不同年份生产枸杞分成三大类;主成分分析将市售 15 种枸杞区分为三大类,青海产、宁夏产和其他枸杞子,实现了对不同枸杞的鉴别区分,这为枸杞市场监督提供有效的方法。

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.
- 2 Zhang F(张芳), Guo S(郭盛), Qian DW(钱大玮), et al., Research progress on extraction, purification, and molecular structural elucidation of active polysaccharide from lycii fructus and analysis on its industrial development status and prospect[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2017, 48: 424-432.
- 3 Tian XJ(田晓静), Jing BY(景冰玉), Wang CX(王彩霞), et al., Research progress on extraction methods of Lycium barbarum polysaccharides[J]. *Food Safe Qual Detec Technol*(食品安全质量检测学报), 2017, 8: 439-445.
- 4 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.
- 5 Yu CF(于翠芳), Zhu YL(朱英莲), Wang SQ(王世清). Study on extraction of Lyciumbarbarum polysaccharides by compound enzymes method[J]. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2014, 35: 4043.
- 6 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.
- 7 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.
- 8 Hu ZQ(胡仲秋), Liu JD(刘建党), Wang BL(王保玲). Research on extraction technology of Lyciumbarbarum polysaccharides by the alkaline solution[J]. *J Northwest A & F Univ:Nat Sci Ed*(西北农林科技大学学报:自然科学版), 2008, 36: 173178.
- 9 Hu ZQ(胡仲秋), Wang L(王利), Wang BL(王保玲), et al. Antioxidant activity of polysaccharides from Lyciumbarbarum[J]. *Food Sci*(食品科学), 2009, 30: 9398.
- 10 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: 111113.
- 11 Huang YY(黄越燕), Pan LL(潘琳琳), Zhou JF(周吉芳). Research progress on the extraction and pharmacological action of polysaccharide in Solanaceae medicinal plants [J]. *China Pharmacy*(中国药房), 2015, 28: 3989-3992.
- 12 GB/T 18672-2014. Wolfberry[S]. China: National standard of the People's Republic of China, 2014.
- 13 Yang RX(杨瑞欣). Study on extraction process of polysaccharide from Lycium barbarum and research of its antioxidantability[J]. *Chem Eng & Equip*(化学工程与装备), 2010, 9: 42-43.
- 14 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 Sci Edit*(宁夏大学学报:自然版), 2006, 27(1): 72-74.
- 15 Wang QW(王启为), Jin XY(晋晓勇), Quan XS(全晓塞). The study of extraction polysaccharide from lycium barbarum by microwave-enzyme synergistic method[J]. *J Biol*(生物学杂志), 2013, 30(6): 95-98.
- 16 Shi GaF(史高峰), Li N(李娜), Chen XF(陈学福). et al Study on microwave assisted extraction of total polysaccharide from Chinese wolfberry[J]. *Chin Tradit Patent Med*(中成药), 2011, 33: 521-524.
- 17 Pang YR(庞亚茹), Zhu FT(朱风涛), Wu MY(吴茂玉), et al. Microwave-assisted extraction of Lycium barbarum polysaccharides[J]. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2016, 37(11): 50-53.
- 18 Qiu ZM(邱志敏), Rui HM(芮汉明). Study on optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharide from Lycium barbarum and research of its antioxidantability [J]. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2012, 33: 220-223.
- 19 Li HY(李宏燕), Hao FX(郝凤霞), Yu XM(余学梅). Study on microwave assisted extraction of polysaccharide from Lycium[J]. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2014, 17: 29-32.
- 20 Lee HC, Lee BC, Kim SD. et al, Changes in composition of Gugija(Lycii Fructus) species according to harvest time [J], *Korean J Medi Crop Sci*, 2008, 16: 306-312.
- 21 Li JG(李吉光), Zhou YF(周艳芬), Wang R(王蓉). Evaluation on quality of Lycium ruthenicum aliphatic acid of different producing areas with GC-MS finger print combination principal component analytical method[J]. *J Ningxia Univ: Nat Sci Edit*(宁夏大学学报:自然版), 2017, 38: 365-370.