

# 丹皮多糖的提取工艺研究

王顺民, 季长路, 李祥军

(安徽工程科技学院 生化工程系, 安徽 芜湖 241000)

**摘要:**以丹皮为研究对象, 采用单因素试验和正交试验, 进行了超声波法和传统热水法提取丹皮多糖的初步探讨, 其中得到了传统热水提取法的最佳工艺条件为浸提温度 80℃、提取时间 90 min、料液比 1:35; 超声波提取丹皮多糖的最佳工艺条件: 温度 80℃、时间 25 min、料液比 1:25、功率 200 W、物料粉碎粒度 160 目, 在此工艺条件下, 粗多糖得率为 13.6%。超声波法与传统热水法相比, 提取时间缩短约 2/3, 多糖得率提高 46%以上。

**关键词:** 丹皮; 多糖; 超声波提取; 比较

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2009)06-0127-03

## Study on Extraction of the Polysaccharide of *Mudan cortex*

WANG Shun-min, JI Chang-lu, LI Xiang-jun

(Biochemistry Engineering Department of Anhui University of Technology and Science, Wuhu, Anhui 241000)

**Abstract:** Extracting technologies of the polysaccharide of *Mudan cortex* of primary study were finished with a single factor experiment and the orthogonal experiment in different experimental groups (hotwater and ultrasonic method), the effects of various factors such as ration of liquid to solid, temperature, extraction time and the grainsize etc. On the producing rate of the polysaccharide of *Mudan cortex* were compared at given conditions. The optimal conditions with traditional method were: Extraction temperature 80℃, heating time 90 min, the material fluid ratio was 1:35, grainsize 80 mesh. The optimal conditions with ultrasonic method were: Extraction temperature 80℃, ultrasonic time 25 min, the material fluid ratio was 1:25, power 200 W, grainsize 160 mesh, under this technological conditions, the thick polysaccharide rate was 13.6%; Compared with traditional hot water extraction method, the ultrasonic method could shorten the time of two-thirds and increase the polysaccharide extraction rate above 46%.

**Key words:** *Mudan cortex*; polysaccharide; ultrasonic extraction; comparison

丹皮又名牡丹皮, 为毛茛科植物牡丹 (*Paeonia suffruticosa*) 的干燥根皮, 是我国传统中药之一<sup>[1]</sup>。丹皮多糖 (Polysaccharide of *Mudan cortex*, PSM) 是从中药牡丹根皮 (*Mudan radice cortex*) 中提取的天然水溶性多糖复合物, 研究表明, 其具有降血糖、增强免疫、抗衰老等多种生物活性<sup>[2]</sup>。超声波提取法作为一种天然产物活性成分分离提取的新技术、新方法, 具有方便、高效的特点和较高的实用价值<sup>[3]</sup>。以丹皮多糖为研究对象, 主要研究了超声波提取丹皮多糖的最佳工艺条件, 为开发丹皮更广泛的用途提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

牡丹皮: 产自安徽铜陵的干品, 洗净风干粉碎后备

用。蒽酮(AR): 上海化学试剂一厂生产。

### 1.2 仪器设备

ALC-110.4 电子分析天平 (德国 ACCULAB); JK-400CDB 高功率数控超声波清洗器 (合肥金尼克机械制造有限公司); 723N 可见分光光度计 (上海精密科学仪器有限公司)。

### 1.3 多糖含量的测定

采用蒽酮—硫酸法<sup>[4]</sup>测定多糖。

1.3.1 丹皮供试样品溶液的制备 准确称取丹皮粉碎样品 1.000 g 放入具塞三角瓶中, 加 30 mL 蒸馏水, 在超声波器中, 用适当功率在一定温度下提取, 滤液加入 3 倍体积 95% 工业乙醇进行沉淀 24 h, 4 500 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 沉淀依次用 95% 乙醇、无水乙醇洗涤 2 次, 离心, 沉淀用蒸馏水定容至 250 mL。在 620 nm 处测定其吸光度, 以考察不同因素对丹皮多糖提取的影响。

1.3.2 葡萄糖标准曲线绘制 称取 5 g 葡萄糖于称量瓶中, 在 105℃ 下干燥至恒重, 置于干燥器中冷却后, 准

收稿日期: 2009-07-17

第一作者简介: 王顺民 (1975-), 男, 宁夏青铜峡人, 硕士, 讲师, 从事功能性食品研究。E-mail: wangshunmin@126.com.

称取 200 mg 干燥后的葡萄糖, 在 200 mL 容量瓶中定容, 葡萄糖标准溶液浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。分别用移液管准确移取 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0 mL 到 50 mL 容量瓶中, 用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀, 得到系列标准溶液。分别用 1 mL 移液管移取 1 mL 上述系列标准溶液到 10 mL 具塞试管中, 在冰水浴中缓慢加入 4 mL 蒽酮硫酸溶液, 摇匀, 在沸水浴中准确反应 10 min, 迅速冷却至常温下, 用分光光度计测定 620 nm 波长处的吸光度。以吸光度对浓度做标准曲线。

1.3.3 丹皮样品总糖的测定方法 移取 1 mL 供测样品溶液于 10 mL 具塞试管中, 在冰水浴中缓慢加入

4 mL 蒽酮硫酸溶液, 摇匀, 在沸水浴中准确反应 10 min, 冷却后用分光光度计在 620 nm 处测定吸光度, 根据标准曲线方程换算成总糖浓度, 计算得到总糖含量, 并求出得率。

## 2 结果与分析

### 2.1 多糖含量的测定方法分析—葡萄糖标准曲线绘制

以浓度为纵坐标, 吸光度为横坐标, 用蒽酮硫酸法绘制葡萄糖标准曲线(见图 1), 回归方程为:  $C=0.141A+0.000$ ,  $R^2=0.9997$ , 可以看出浓度在  $0 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的范围内, 呈良好的线性关系。

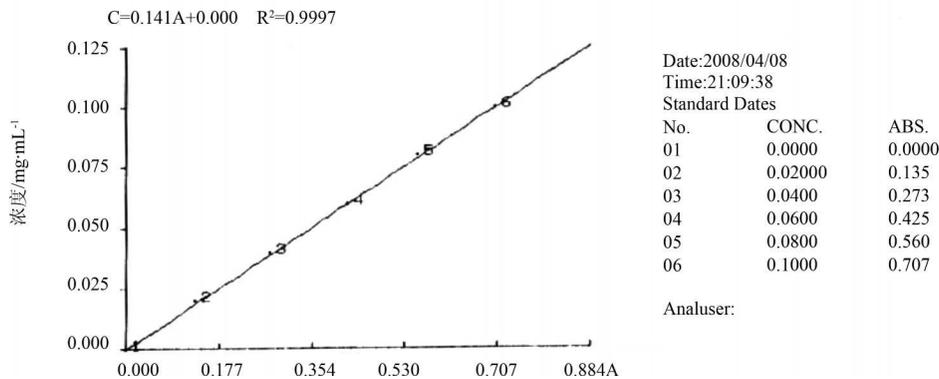


图1 葡萄糖标准曲线

### 2.2 超声波提取丹皮多糖单因素实验结果

2.2.1 料液比(W/V)对超声波提取效果的影响 按料液比( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40 加入蒸馏水, 在  $60^\circ\text{C}$ 、280 W 功率下, 提取 20 min, 结果见图 2。从图 2 可以看出, 液料比(W/V)大于 1:20 时, 液料比的增加导致丹皮多糖得率的上升较多, 当液料比达到 1:20 后, 多糖得率随之升高几乎不增加。过多的溶剂降低了多糖的浓度, 增加了溶解的杂质物质。故, 最佳料液比范围在 (1:20)~(1:30)。

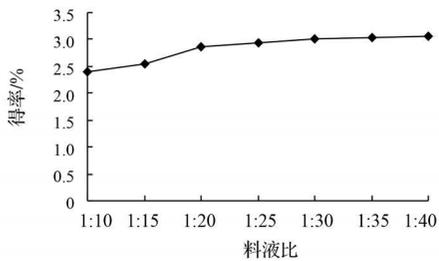


图2 料液比对超声波提取丹皮多糖的影响

2.2.2 温度对超声波提取效果的影响 按料液比( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 1:30 在超声波器中分别在 20、30、40、50、60、70、 $80^\circ\text{C}$  下, 超声波功率 280 W, 提取 20 min, 结果见图 3。从图 3 可以看出, 在所实验的温度范围内, 在  $40^\circ\text{C}$  以下多糖几乎未能提取出来,  $40 \sim 60^\circ\text{C}$  范围内随温度升高, 多糖得率开始逐渐上升,  $60^\circ\text{C}$  以上时, 多糖得率

开始急剧升高, 提取温度越高, 多糖得率越高, 当温度为  $80^\circ\text{C}$  时, 多糖得率最高。故 最佳温度在  $80^\circ\text{C}$ 。

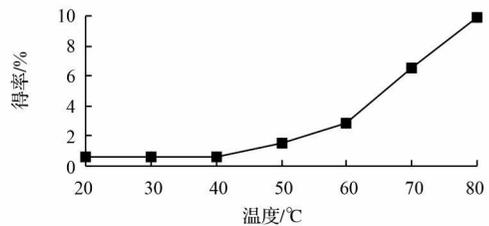


图3 温度对丹皮多糖提取率的影响

2.2.3 超声波时间对提取效果的影响 按料液比( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 1:30, 在  $60^\circ\text{C}$ 、280 W 功率下, 提取 10、15、20、25、30、35 min, 结果见图 4 从图 4 可以看出, 超声波处理不足 15 min 时多糖的提取效果很差, 当超声波处理时间达到 15 min 以上时, 多糖的得率开始逐渐上升, 当达到 25 min 的时候得率达到最高, 但是在时间超过 25 min 以后却出现了多糖得率下降的情况, 可能是由于开始时超声处理数分钟, 细胞破碎程度增大后, 细胞内部的多糖物质开始向外扩散, 多糖的得率开始上升较快, 达到最大值。但是超声波具有较强的机械剪切作用, 长时间作用会使多糖结构被破坏, 导致多糖得率有所下降。另外, 超声时间过长, 细胞进一步破碎, 杂质溶出, 这也是多糖得率有所下降的原因之一, 故最佳时间范围在 20~30 min。

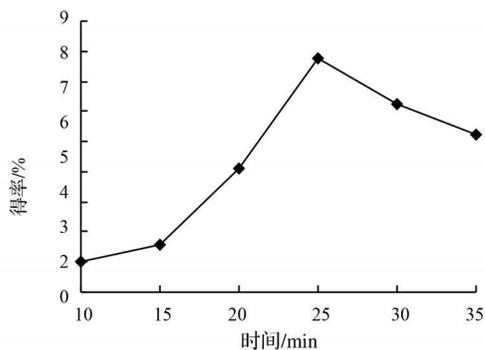


图4 超声时间对丹皮多糖提取率的影响

2.2.4 超声波功率对提取效果的影响 按料液比( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )1:30, 在  $60^\circ\text{C}$  下, 采用 200、240、280、320、360、400 W 功率提取 20 min, 结果见图 5。由图 5 可以看出, 在 200 W 的时候得率最高, 在 200~280 W 范围内随着超声波功率的增大丹皮多糖的得率开始缓慢降低, 当功率超过 280 W 的时候多糖提取开始急剧下降, 这可能是因为在较大功率的超声波作用下, 丹皮多糖发生了水解所致。故, 最佳功率范围在 200~280 W。

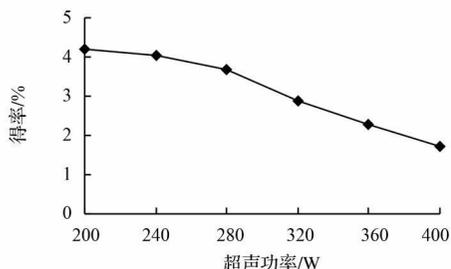


图5 功率对丹皮多糖提取率的影响

2.2.5 粉碎粒度对超声波提取效果的影响 丹皮依次过 400、160、120、100、80、60 目筛, 得到 6 份不同粒度的样品, 分别称取 1.000 g, 按料液比( $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )1:30, 在  $60^\circ\text{C}$ 、280 W 功率下提取 20 min, 结果见图 6。从图 6 可以看出, 丹皮多糖的得率随着粉碎粒度的增大而呈上升的趋势, 当粉碎粒度达到 120 目以上时, 随粒度增大多糖的得率不再随之而上升。故, 最佳粒度范围在 100~160 目。

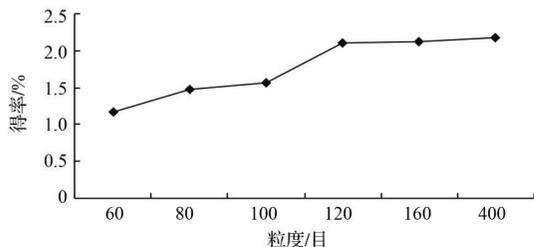


图6 粒度对丹皮多糖提取率的影响

### 2.3 超声波提取丹皮多糖正交实验结果

根据单因素实验结果, 考虑到温度在  $80^\circ\text{C}$  时提取效率已经最好, 所以选择  $80^\circ\text{C}$  作为正交实验温度条件, 分别选取时间、料液比、功率和粉碎粒度作为正交实验

考察因素, 做  $L_9(3^4)$  正交实验(见表 1)。

通过表 1 的结果直观分析可以看出: 各因素的主次顺序为料液比(B)>时间(A)>粒度(D)>超声功率(C), 最佳的提取条件为:  $A_1 B_3 C_1 D_3$ 。所以超声波法提取丹皮多糖的最佳工艺条件为:  $80^\circ\text{C}$ 、时间 25 min、料液比 1:25、功率 200 W、物料粉碎粒度 160 目。采用上述条件提取物料, 得率分别为: 13.4%、13.7%、13.6%。平均值 13.6%, RSD 为 1.13%。平均得率高于正交实验中任何一组, 且相对标准偏差不大, 说明该实验是可靠的。

表1 超声波法提取丹皮多糖的正交实验结果分析

序号	因素				得率/%
	A: 时间 / min	B: 料液比 / (W/V)	C: 超声功率 / W	D: 粒度 / 目	
1	1(25)	1(1:15)	1(200)	1(100)	9.28
2	1	2(1:20)	2(240)	2(120)	8.59
3	1	3(1:25)	3(280)	3(160)	12.6
4	2(30)	1	2	3	7.67
5	2	2	3	1	9.61
6	2	3	1	2	10.8
7	3(35)	1	3	2	5.36
8	3	2	1	3	8.31
9	3	3	2	1	8.54
$k_1$	10.16	7.437	9.470	9.143	
$k_2$	9.367	8.837	8.267	8.257	
$k_3$	7.403	10.657	9.193	9.530	
R	2.757	3.220	1.203	1.273	

### 2.4 传统热水法提取丹皮多糖正交实验结果分析

根据单因素实验结果, 以温度、时间、料液比作为考察因素, 正交实验水平选择见表 2, 做  $L_9(3^3)$  正交实验。

表2 传统热水法提取丹皮多糖的正交实验结果比较

序号	因素			得率 / %	
	A: 温度 / $^\circ\text{C}$	B: 时间 / min	C: 料液比 / (W/V)		
1	1(70)	1(60)	1(1:25)	1	3.41
2	1	2(90)	2(1:30)	2	6.31
3	1	3(120)	3(1:35)	3	5.24
4	2(80)	1	2	3	7.56
5	2	2	3	1	8.85
6	2	3	1	2	6.80
7	3(90)	1	3	2	7.02
8	3	2	1	3	7.54
9	3	3	2	1	4.00
$k_1$	4.987	5.997	5.917	5.420	
$k_2$	7.737	7.567	5.957	6.710	
$k_3$	6.187	5.347	7.037	6.780	
R	2.750	2.220	1.120	1.360	

从表 2 直观分析可以看出各因素主次顺序为温度(A)>时间(B)>料液比(C), 最佳提取条件为  $A_2 B_3 C_3$ 。

(下转第 136 页)

种植比例方面,三江平原占的份额最大为 54%,东部山地占 14%,松嫩平原占 23%,松花江中游沿岸占 9%(见表 1)。

表 1 各地区水稻种植比例

地区名称	所占百分比/%	地区名称	所占百分比/%
绥化地区	10.04	伊春地区	1.52
黑河地区	0.33	双鸭山地区	8.58
牡丹江地区	2.08	鹤岗地区	5.53
七台河地区	0.85	鸡西地区	14.68
佳木斯地区	25.85	齐齐哈尔地区	8.12
大庆地区	2.42	哈尔滨地区	20.02

通过此次研究可以看到,遥感技术和地理信息系统的引入,为明确黑龙江省水稻种植面积提供了有效手段。它不仅可以通过遥感图像及时获取水稻分布信息,同时还可以同往年的种植情况作比较,达到动态监测水稻面积的目的。在以后的工作中,将逐步完成大豆、玉米、小麦等大宗作物种植面积的本底监测,为建立现代农业空间统计技术体系和粮食安全与区域生态保障空间的决策支持系统提供方法研究,同时也为农业空间统计技术和宏观农业科学决策的现代化进程提供示范。

与此同时,通过与往年的遥感监测数据相对比,近几年来,黑龙江省的水稻种植面积一直呈增加趋势,分析其原因,主要有 4 个方面:

#### 4.1 政策推动

国家实行的粮食直补政策、水稻良种补贴、免收农业税,对水田平均补贴 225 元  $\text{hm}^{-2}$  左右等优惠政策极

大地调动了农民种植水稻的积极性。

#### 4.2 市场拉动

自 2003 年 10 月以来,稻米价格上涨,稻谷价格也较前几年有较大幅度增长。由于大米价格的不断提高,使得黑龙江一部分地区出现大面积旱田改成水田的现象,尤其在农垦系统范围内,这种现象尤为突出。使得全省水稻面积有较大幅度的增加。

#### 4.3 技术支撑作用明显

推广普及的水稻综合增产技术取得了较好的效果。各地充分挖掘和科学利用水源,广大农民积极应用优良品种,实施标准化作业,通过各种措施提高水稻的产量和品质,促进增收。

#### 4.4 项目扶持

“水土资源”成为振兴老工业基地的新视角。在这一项目中,对于东北三省的可实施建议中包括:通过农业和水利措施,改造中低产田,发展灌溉面积,增加水稻种植面积,提高粮食单位面积的产量,可以建成我国最大的优质商品粮生产基地。

#### 参考文献:

- [1] 焦险峰. 基于分层抽样的中国水稻种植面积遥感调查方法研究[J]. 农业工程学报, 2006(5): 105-106.
- [2] 周清波. 国内外农情遥感现状与发展趋势[J]. 中国农业资源与区划, 2004, 25(5): 9-14.
- [3] 全国农业区划办公室. 农业部规划设计院. 东北水稻种植面积本底调查技术方案[M]. 北京: 农业部规划设计院, 2007.
- [4] 刘述彬. 黑龙江省农用地资源遥感监测方法的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2005(4): 8-11.

(上接第 129 页)

即传统热水法提取丹皮多糖最佳提取条件为: 80℃、提取 90 min、料液比 1:35。采用该条件分别对 3 份样品进行提取, 提取率分别为 9.21%、9.33%、9.40%。平均值为 9.31%, RSD 为 1.03%。平均得率高于正交实验中任何一组, 且相对标准偏差不大, 说明

该实验是可靠的。

#### 2.5 超声波法与传统热水法提取丹皮多糖实验结果比较

根据超声波法和传统热水法的正交实验验证结果, 将 2 种方法进行对比(见表 3)。

从表 3 可得出, 超声波法的多糖提取率高于传统

表 3 2 种方法提取效果比较

方法	条件	得率/%
超声波法	80℃、时间 25 min、料液比 1:25、功率 200W、物料粉碎粒度 160 目	13.6%
传统水提	80℃、提取 90 min、料液比 1:35	9.31%

热水法, 浸提剂用量少, 提取时间缩短将近 2/3, 多糖提取率提高 46%以上。超声波更有利于丹皮多糖的提取, 与传统方法相比具有省时高效的优点。

### 3 结论

通过实验得到传统热水提取法的最佳工艺条件为浸提温度 80℃、提取时间 90 min、料液比 1:35; 超声波法最佳的提取条件为: 温度 80℃、超声波提取时间 25 min、料液比 1:25、超声功率 200 W、物料粉碎粒度 160 目, 多糖得率 13.6%。其得率明显高于传统热水提取法多糖得率 9.31%。超声提取法能明显提高丹皮粗多糖

的得率, 缩短提取时间, 具有省时、高效、节省资源等优点, 从而降低提取成本, 优于传统的提取方法。

#### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 256.
- [2] 莫玉兰, 叶玉仙. 丹皮多糖药理作用研究进展[J]. 内科, 2009(2): 301-302.
- [3] 胡斌杰, 陈金锋, 王宫南. 超声波法与传统热水法提取灵芝多糖的比较研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(2): 190-192.
- [4] 刘春泉, 李大婧, 刘荣. 萘酚-硫酸法测定北冬虫夏草多糖含量[J]. 江苏农业科学, 2006(2): 122-124.