

油茶粕中油茶皂苷提取纯化工艺研究

姜 伟^{1,2}, 余 勃^{2,*}, 陆 豫²

(1. 南昌大学化学系, 江西 南昌 330047; 2. 南昌大学中德联合研究院, 江西 南昌 330047)

摘 要: 本研究探讨了油茶粕中油茶皂苷提取工艺, 经过单因素和正交试验, 得到油茶皂苷最佳提取工艺: 提取温度 60℃, 时间 2h, 乙醇浓度 65%, 料液比 1:20。在此条件下油茶皂苷的提取率为 10.79%, 经 Sephadex LH20 纯化后, 油茶皂苷的纯度可达到 95.58%。

关键词: 油茶皂苷; 提取; 纯化; Sephadex LH20

Study on Extraction Technology of Saponin from *Camellia oleifera* Abel. Meal

JIANG Wei^{1,2}, YU Bo^{2,*}, LU Yu²

(1. Department of Chemistry, Nanchang University, Nanchang 330047, China ;

2. Sino-Germen Joint Research Institute, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: In this study, by single factor and orthogonal tests, the optimum technological conditions for extracting saponin from *Camellia oleifera* Abel. are determined as follows: extraction temperature 60 °C, the solid-liquid ratio 1:20, total extraction time 3 h, and 65% ethanol as extraction solvent. Under these conditions, the extraction yield is 10.79%. By sephadex LH20 column chromatography, the purity of the saponin is up to 95.58%.

Key words: sasanquasaponin; extraction; purification; Sephadex LH20

中图分类号: TS229

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)09-0242-03

油茶皂苷是从油茶粕中提取的一类五环三萜烯类皂苷, 是一种天然优良的非离子表面活性剂^[1], 还具有杀菌、杀虫、消炎、抗氧化功能、抑制小鼠胃对酒精的吸收等生理活性, 在化工、医药、农药、机械、建筑、化妆品等领域有广泛的用途^[2-7]。

本实验通过 Sephadex LH20 对油茶粕的乙醇提取物进行了进一步纯化, 并通过对其纯度及化学成分进行鉴定, 以期获得高纯度的油茶皂苷, 为油茶粕的开发利用提供了一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

油茶粕 江西抚州。

无水乙醇、甲醇、石油醚、乙酸乙酯、正丁醇均为分析纯; Sephadex LH20(100~200 目) 瑞典 Amersham Biosciences 公司。

1.2 仪器与设备

旋转蒸发仪、恒温水浴箱 德国 Kottmann labortechnik 公司; SL-N 电子天平 上海民桥精密科学仪器有限公司; API 2000LC-MS-MS 液相色谱-质谱联用仪(配有电喷雾离子源 ESI) 美国 Applied Biosystems 公司。

1.3 方法

1.3.1 油茶皂苷的提取

油茶粕经过粉碎机制成细粉, 过 40 目筛, 称取 100g 油茶粕细粉置于索氏提取器中, 石油醚 60℃回流 4h, 脱脂后烘干, 用乙醇回流提取浓缩, 石油醚, 乙酸乙酯洗涤 3 次, 正丁醇萃取, 活性炭脱色, 浓缩。

1.3.2 油茶皂苷测定

精密称取油茶皂苷 10mg, 用蒸馏水至 1ml 的水溶液, 取此液 10、15、20、25、30μl, 分别置于试管中, 稀释至 0.5ml, 再加入 8%(m/V)香草醛乙醇溶液 0.5ml, 冰水冷却后加入 75%(V/V)硫酸溶液 4ml, 摇匀, 60℃加热 15min, 冷却, 测量 550nm 处的吸光度, 根

收稿日期: 2008-05-22

作者简介: 姜伟(1982-), 男, 硕士研究生, 研究方向为天然产物分离提取及有机合成。E-mail: waj13@163.com

* 通讯作者: 余勃(1978-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为生物化工。E-mail: yubo131@yahoo.com.cn

据标准曲线的线性回归方程, 计算油茶皂苷的提取率。

$$\text{油茶皂苷提取率(\%)} = \frac{\text{所测油茶皂苷的量(g)}}{\text{所用脱脂油茶粕量(g)}} \times 100$$

1.3.3 油茶皂苷最佳提取条件确定

在提取温度、提取时间、提取液浓度及料液比等单因素试验的基础上, 考虑个因素之间的相互影响, 为了获得油茶皂苷的最佳提取工艺条件, 选择了 $L_9(3^4)$ 正交试验^[8], 其因素水平表见表1。

表1 正交试验因素水平表
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素			
	A乙醇浓度(%)	B提取时间(h)	C提取温度(°C)	D料液比(m/V)
1	9	1	60	1:10
2	65	2	65	1:15
3	70	3	70	1:20

按正交设计, 称取9份20g的油茶皂苷粉末, 分别放入9个有标号的圆底烧瓶中, 加相应体积的乙醇溶液, 进行正交试验, 从而确定最佳条件。

1.3.4 油茶皂苷的纯化

用洗脱剂将凝胶摇匀, 直立柱身, 让其自然沉降, 此时要防止气泡留在其中。至少半小时打开开关, 流出3个柱体积的洗脱剂, 使其膨胀在正确比例的洗脱剂中。样品用洗脱剂溶解, 过滤除去不溶性杂质, 上样, 用甲醇水系统洗脱, 浓缩得精制油茶皂苷, API 2000LC-MS-MS 进样检测。

2 结果与分析

2.1 油茶皂苷最佳工艺条件的确定

按1.3.3进行 $L_9(3^4)$ 正交试验, 结果见表2、3。从

表2 正交试验设计及结果 $L_9(3^4)$
Table 2 Design and results of orthogonal test $L_9(3^4)$

处理	乙醇浓度(%)	提取时间(h)	提取温度(°C)	料液比(m/V)	得率(%)
1	60	1	60	1:10	9.96
2	60	2	65	1:15	10.17
3	60	3	70	1:20	10.42
4	65	1	65	1:20	10.68
5	65	2	70	1:10	10.2
6	65	3	60	1:15	10.49
7	70	1	70	1:15	10.55
8	70	2	60	1:20	10.62
9	70	3	65	1:10	9.97
K_1	10.183	10.397	10.357	10.043	
K_2	10.457	10.33	10.273	10.403	
K_3	10.38	10.293	10.39	10.573	
R	0.274	0.104	0.117	0.53	

表3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

因素	偏差平方和	自由度	F比	F临界值	显著性
A	0.119	2	0.799	4.46	*
B	0.016	2	0.107	4.46	
C	0.022	2	0.148	4.46	
D	0.439	2	2.946	4.46	**
误差	0.6	8			

表2、3可以看出各因素对提取效果的影响大小为料液比>提取液浓度>提取温度>提取时间。料液比和提取液浓度为显著因素, 从正交表中可以看出在提取浓度等其余三因素相同条件下, 料液比第三水平最佳; 在料液比等其余三因素相同条件下, 乙醇浓度第二最佳。考虑到提取成本及各种影响因素, 得出油茶皂苷的最佳提取工艺条件为 $A_2B_2C_1D_2$, 即乙醇浓度65%, 提取时间2h, 提取温度60°C, 料液1:20。

2.2 油茶皂苷纯化

由于乙醇粗提的油茶皂苷, 经检测主要含有黄酮类杂质, 并且油茶皂苷分子量和极性较大, 而Sephadex LH20具有凝胶过滤作用, 使油茶皂苷与杂质因分子量的差异而得到分离, 而且Sephadex LH20还具有反相分配作用, 使得油茶皂苷与杂质因极性差异得到分离, 正是由于Sephadex LH20兼备这两种功能, 使得油茶皂苷得到很好的纯化。

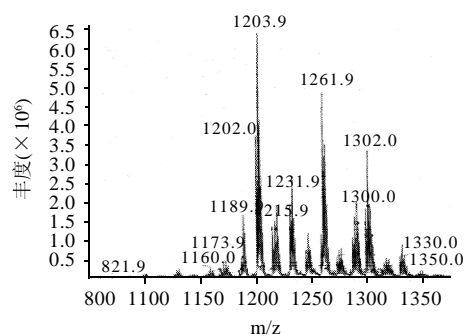


图1 油茶皂苷质谱图

Fig 1 Mass spectrogram of saponin from *Camellia oleifera* Abel.

由于Sephadex LH20在不同的溶剂中的吸涨程度不同, 如果前后使用的两种洗脱溶剂对Sephadex LH20的吸涨程度相差很大, 还会产生大量气泡。Sephadex使用时一般不进行梯度洗脱。如果改变流动相的极性, 会改变凝胶的膨胀率, 分量不同的物质在网孔改变过程中引起交错, 反而达不到分离效果。经试验测定当流动相为 $CH_3OH:H_2O=3:7$ 时, 检测效果理想, 经由Sephadex LH20纯化后的油茶皂苷经检测纯度可达95.58%, 经质谱分析分子量(图1)与油茶皂苷分子量相吻合。

3 结 论

3.1 经正交试验得到油茶皂苷的最佳提取工艺条件为提取剂为 65% 的乙醇加热回流法提取, 时间 2h、温度 60℃、料液比 1:20, 影响因素料液比>提取液浓度>提取温度>提取时间。

3.2 油茶皂苷的纯化采用 Sephadex LH20 纯化。实验证明 Sephadex LH20 对于油茶皂苷起到了很好的纯化作用。经纯化, 精制油茶皂苷的纯度为 95.58%。

3.3 由于 Sephadex LH20 的价格, 工业生产成本较高。但随着油茶皂苷的各种生物活性研究的深入, 特别是探究其生物活性与结构的关系, 高纯度的油茶皂苷的制备将越来越重要, 因此应用 Sephadex LH20 生产高纯度的油茶皂苷具有很高的应用价值。

参考文献:

- [1] 马沛, 祖庸. 前景广阔天然表面活性剂[J]. 河北化工, 1997(1): 56-57.
- [2] 马世宏, 张卫明. 天然茶皂素在洗发制品中的应用[J]. 中国植物资源, 1994(3): 39-42.
- [3] VOGEL G, MAREK M L, OERTNER R. On the pharmacology of teasee-aponins of a saponin mixture from thea sinensis [J]. Phytotherapy Research, 1998, 18(11): 1466-1467.
- [4] 黄起壬, 何明, 李萍, 等. 油茶皂苷抗心肌缺血大鼠氧自由基和脂质过氧化作用[J]. 中国药理学通报, 2003, 19(9): 1034-1036.
- [5] 王小艺, 黄炳球. 茶皂素对菜青虫的拒食活性[J]. 中国蔬菜, 1999(1): 22-24.
- [6] 梁亚全, 夏春华, 朱全芬, 等. 茶皂素对几种鱼类和对虾的毒性研究[J]. 水产科学, 1992(3): 20-25.
- [7] SHOJIRO T, TAKASHI K, TADAKI N, et al. Effects of sead saponins of *Theasinensis* L on alcohol asorption and metabolais[J]. Alcohol and Alcoholism, 1993, 28(6): 687-692.
- [8] 北京大学数学力学系概率统计组. 正交试验法[M]. 北京: 化学工业出版社, 1979.