

CO₂ 超临界萃取油茶皂苷的研究

吕晓玲 李肇奖

(天津科技大学食品科学与生物工程学院, 天津 300222)

摘要 研究了 CO₂ 超临界流体萃取油茶皂苷的工艺, 确定最佳萃取条件为: 压力 25 MPa、温度 50℃、体积分数 65% 乙醇为夹带剂, CO₂ 流量 25 ~ 30 L/h, 萃取时间 3 h。在最佳萃取条件下油茶皂苷的收率为 15.23%, 纯度 78.65%。与乙醇浸提法相比较, 超临界萃取皂苷的纯度比乙醇浸提法高 54%, 且工艺简单。

关键词 CO₂ 超临界萃取, 油茶, 皂苷

油茶皂苷是从茶籽饼粕中提取出的 1 种三萜类皂苷, 存在于油茶种子和叶中。其基本结构由三萜皂苷元、结构糖、结构酸组成。纯的油茶皂苷为乳白色或淡黄色固体无定形粉末, 其精制品一般为无色柱状结晶体, 具有刺激鼻粘膜的特性, 熔点为 223 ~ 224℃, 平均分子式为 C₅₇H₉₀O₂₆, 相对分子质量为 1 200 左右。油茶皂苷结晶易溶于含水的甲醇、乙醇、正丁醇及冰醋酸中, 能溶于水、热醇, 难溶于冷水、无水乙醇, 不溶于乙醚、氯仿、石油醚及苯等, 在稀碱性水溶液中溶解显著增加。油茶皂苷具有皂苷的一般通性, 味苦、辛辣, 有表面活性及溶血作用, 同时具有抗炎、抗氧化、降血压等作用^[1,2]。

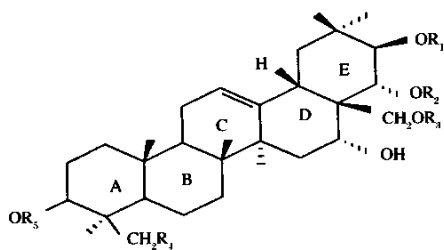


图 1 油茶皂苷(R₁, R₅ 为糖基) 结构式

目前, 萃取工艺一般采用水、乙醇、正丁醇等低碳醇为溶媒, 能耗高, 有易燃易爆的危险, 还对环境造成了污染。同时, 有机溶剂对油茶皂苷的溶解选择性差, 致使提取物中杂质含量高, 需要采用不同的方法进行精制^[3], 纯化步骤多, 收率低, 限制了油茶皂苷下游开发应用。

超临界流体 CO₂ (supercritical fluid CO₂, SCF-CO₂) 萃取技术是近年来发展起来的一项新技术, 在天然活性成分提取方面得到越来越广泛地应用^[4~7], 但未见有采用该方法萃取油茶皂苷的报道。

文中用 SFE-CO₂ 技术对油茶皂苷提取进行了研究, 并讨论了其工业应用的可行性。

1 材料与方法

1.1 原料及预处理

油茶枯饼来自福建三明。除去杂质, 粉碎、过 10 目筛、105℃ 烘箱干燥 4 h, 备用。

1.2 仪器及药品

HA221-50-06CO₂ 超临界萃取装置(江苏南通华安超临界萃取公司); SSI PC2000 高效液相色谱仪, 紫外检测器 model 500UV/VIS (Lab instrument Co. LTD), 分析柱 KramosilC₁₈ (5 μm, 250 mm × 4.6 mm); VIS-723 紫外可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司); FA2004 分析天平(上海精科天平公司生产)。

油茶皂苷 A 标准品(天津科技大学食品与生物工程学院生化研究室); CO₂ 购自天津河西区供气站, 食品级, 纯度大于 99.5%; 双蒸水由天津科技大学食品与生物工程学院实验室自制, 其余化学试剂为分析纯。

1.3 试验方法

1.3.1 传统溶剂萃取工艺^[7]

每批投料油茶枯饼 100 g, 用 300 mL 体积分数 65% 乙醇溶液浸提 3 次, 每次 2 h, 合并 3 次滤液, 减压至浓缩 100 ~ 300 mL。加入少许的活性炭脱色 15 min。然后, 减压浓缩, 浸膏于 70℃ 干燥至恒重, 得总皂苷粗品。

1.3.2 CO₂ 超临界萃取残油

取一定量的茶枯饼置于萃取罐中, 排净罐内空气, 在预先设定的萃取条件下, 用 CO₂ 超临界流体萃取 2 h, 于分离罐中分离茶枯饼中的残油。

1.3.3 CO₂ 超临界萃取油茶皂苷

脱油后的茶枯饼加入一定量夹带剂, 在规定条件

第一作者: 硕士, 教授。

收稿时间: 2004-08-19, 改回时间: 2004-11-25

下萃取油茶皂苷 3 h, 每半小时取样一次, 直至萃取结束。

1.4 油茶皂苷的测定

1.4.1 最大吸收波长的选定

经光谱扫描表明, 油茶皂苷与香草醛浓硫酸反应生成物在 550 nm 处有最大吸收峰。

1.4.2 工作曲线的建立^[7]

取油茶标准品 21 mg, 用蒸馏水溶解并转移至 10 mL 容量瓶中, 用蒸馏水稀释定容至 10 mL。取此液 0.1、0.15、0.20、0.25、0.30 mL, 分别置于干净试管中, 并加水至溶液体积均为 0.5 mL, 准确加入 0.08 g/mL 香草醛溶液 0.5 mL, 于冰水中冷却后加入体积分数为 77% 硫酸 4.0 mL, 摇匀, 混合物于 60℃ 加热 15 min, 然后于冰水中冷却 10 min, 取出置于室温中, 以试剂为参比溶液, 用 1 cm 比色皿在波长 550 nm 处测定吸光度。以吸光度 (A) 与标准溶液的质量浓度 C (mg/mL) 求得回归方程为:

$$C = 0.1628A - 0.0037 \quad R^2 = 0.9979$$

1.4.3 回收率试验

准确量取茶皂素提取液 25、50、75 μ L, 加入油茶皂素标准液 50 μ L, 测其吸光度并由回归方程求出相应的茶皂素含量, 并与未加茶皂素标准样品的对照液进行比较, 计算加样回收率。平均加样回收率为 99.5%。

2 结果与讨论

2.1 萃取条件对脱油效果的影响

油茶枯饼中含有一定量的残油, 在萃取油茶皂苷之前必须脱除干净。否则, 在萃取油茶皂苷的时, 会被油茶皂苷乳化而一起萃取出来, 给后续分离带来了困难, 这也是目前工业化生产中, 影响油茶皂苷品质的重要原因。本文采用 SFE- CO_2 技术进行了脱油试验。

试验研究了 10、15、20、25 MPa 下, 不同萃取温度对脱油效果的影响。分离条件: 第 1 分离器中温度 40℃、压力 4.8 MPa, 第 2 分离器 30℃、压力 4.5 MPa, 萃取时间 2 h, CO_2 流量为 28 L/h, 分别收集各分离液。随这压力升高, 脱油率增大, 压力 > 20 MPa 时, 呈略微下降趋势, 在 50℃ 时萃取效果最好, 脱油率达到 98% 以上。选择 50℃、20 MPa 为最佳脱油条件 (见图 2)。

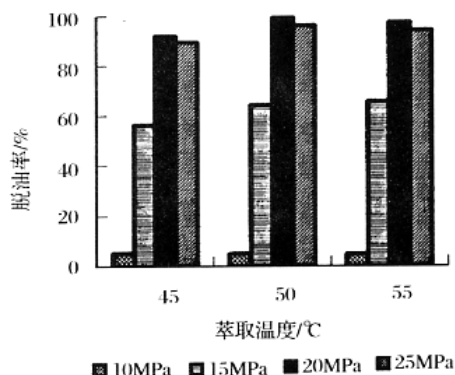


图2 压力和温度对油脂萃取量的影响

2.2 萃取压力对油茶皂苷收率的影响

CO_2 流体的压力大小影响待分离物质在其中的溶解度^[9], 试验中研究了 50℃ 下不同萃取压力对油茶皂苷收率的影响。25 g 原料, 以体积分数 60% 乙醇为携带剂, 携带剂含量为 3%, 在压力为 10、15、20、25、30 MPa 各进行了 5 组试验。分离条件如下: 第 1 分离器中分离温度为 40℃、压力为 4.8 MPa, 第 2 分离器分离温度为 30℃、压力为 4.0 MPa, 萃取时间 3 h, CO_2 流量为 28 L/h, 分别收集各分离液, 浓缩成浸膏后, 然后再按 1.4 的方法测定总皂苷含量。结果表明, 油茶皂苷收率随着压力的升高而增大, 20 MPa 以上收率增加趋势有所降低。因此, 最佳压力定为 25.0 MPa (见图 3)。

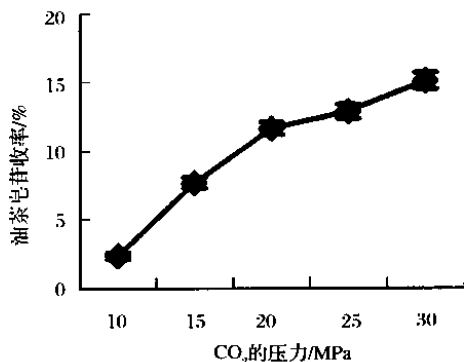


图3 CO_2 压力对油茶皂苷收率的影响

2.3 萃取温度对油茶皂苷收率的影响

温度是影响油茶皂苷在超临界 CO_2 流体中溶解度的另一重要因素^[8,9]。本试验考察了 25.0 MPa 下不同萃取温度对油茶皂苷收率的影响。试验条件中除萃取压力、萃取温度外, 其他条件同 2.2。当温度 < 50℃ 时, 油茶皂苷收率随温度升高而增加, 趋势明显; 当温度 > 50℃ 时, 油茶皂苷收率随温度升高反而降低。因此, 最佳温度选为 50℃ (见图 4)。

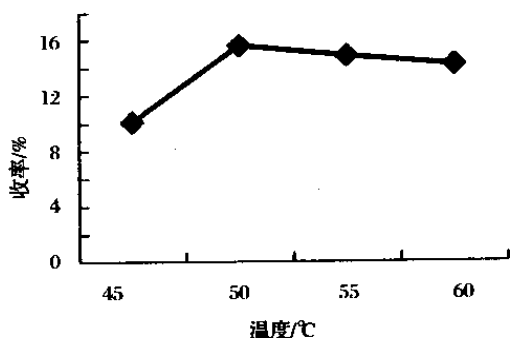


图4 萃取温度对油茶皂苷提取收率的影响

2.4 萃取剂种类对油茶皂苷收率的影响

在极性物质的提取过程中,对夹带剂的选择和用量非常重要的。大多数文献^[8,10]中提到的夹带剂是作为亚临界组分,挥发度介于 CO_2 超临界流体(SCF-CO_2)和被萃取的溶质之间,以液体的形式和相对小的量加入到 SCF-CO_2 中,其作用必须在改善或维持选择性的同时,提高难挥发性溶质的溶解度,通常具有很好溶解性能的溶剂也往往是好的夹带剂。

脱除油脂的试验表明,在不加携带剂的情况下,油茶皂苷几乎不被提取出来。本试验选择不同体积分数的乙醇作为携带剂,加入量为3%,考察其对油茶皂苷收率的影响。试验条件为:萃取压力25.0 MPa,温度50℃,除携带剂外,其他同2.2。结果显示,不同体积分数的乙醇作夹带剂,都能将油茶皂苷提取出来,体积分数低的乙醇作为夹带剂时,油茶皂苷的收率较高,但纯度不高;乙醇体积分数提高后,油茶皂苷的纯度提高,但收率有所降低。考虑油茶皂苷的纯度和收率,选择65%的乙醇为最佳夹带剂(见图5)。

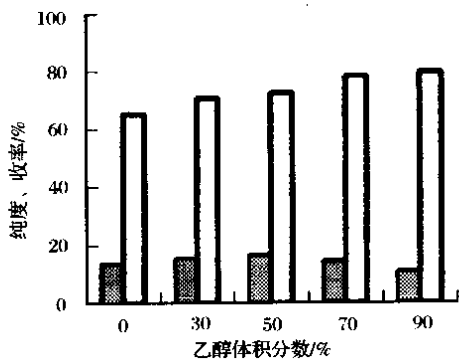


图5 乙醇体积分数对油茶皂苷收率的影响

2.5 萃取时间和流量

试验表明,超临界 CO_2 萃取时间 $< 3\text{ h}$,油茶皂苷收率低,在1~3 h内油茶皂苷收率明显随萃取时间的延长而增加,萃取时间 $> 3\text{ h}$,油茶皂苷的收率趋于

平缓,因此萃取时间定为3 h。 CO_2 流速的变化对萃取能力主要有两方面的影响:一方面流速太大,其与物料的接触时间减小,不利于萃取率的提高;另一方面流量太小,不利于设备工作效率的提高。综合两方面,本试验认为, CO_2 流速为25~30 L/h较佳。

2.6 不同萃取方法对油茶皂苷的萃取效果

超临界流体萃取法对有机物溶解能力强,选择性好。其中,超临界 CO_2 萃取可在接近室温下完成整个分离操作,流程短,能最大限度保持活性成分,特别适用于具有热敏性和化学不稳定性天然产物的分离。与有机溶剂相比有较低的运行费用,同时 CO_2 便宜、易得、惰性、无毒、易于分离,适应于当代“回归自然”的思潮^[11,12]。然而,传统的有机溶剂提取法一方面不可避免会发生溶剂挥发、泄漏、排污,导致对设备、人员、环境的损害;另一方面其工艺选择性差、耗时长、温度高等问题影响了产品的品质,必然使得生产成本增加。

本试验通过2种方法的比较来验证以上的分析,从图7、图8 HPLC图谱可看出, SFE-CO_2 提取物组分相对集中,表明超临界 CO_2 萃取油茶皂苷具有很好的选择性。另从表1中各项参数对比也可看出,超临界 CO_2 生产周期短,操作温度低,产品纯度大大高于乙醇浸提法,只在产品收率上略低于后者。同时超临界萃取可在一套装置中完成除油和油茶皂苷的提取,简化了生产工艺。从中可明显看出超临界 CO_2 萃取油茶皂苷具有很大的优势。

表1 超临界萃取与乙醇浸提法比较

| 参 数 | CO_2 超临界萃取 | 乙醇浸提 |
|--------|---------------------|-------|
| 压力/MPa | 25 | 0.1 |
| 温度/℃ | 50 | 65 |
| 时间/h | 3 | 6 |
| 收率/% | 15.23 | 17.31 |
| 纯度/% | 78.65 | 51.07 |
| 色 泽 | 棕红色 | 淡黄色 |

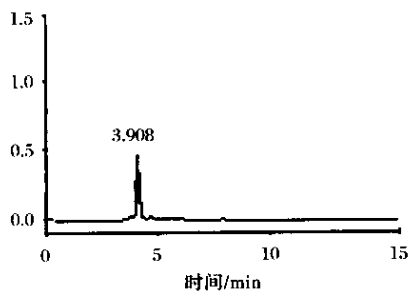


图6 油茶皂苷标准品A色谱图

色谱条件:柱温,室温;流速,0.5 mL/min;检测波长,215 nm;流动相,乙腈与0.1%磷酸水溶液的体

积比 6:4。

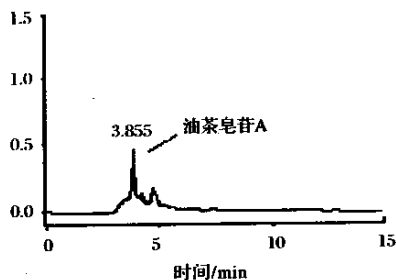


图7 油茶皂苷乙醇粗提物高效液相图

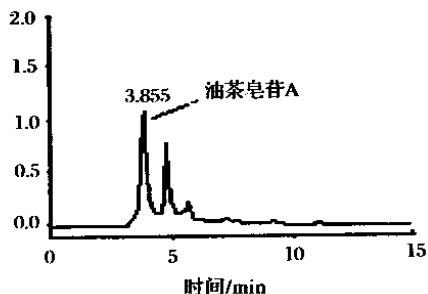


图8 油茶皂苷 CO₂ 超临界萃取物高效液相图

3 结 论

(1) 在 50℃、20 MPa 萃取条件下, CO₂ 超临界萃取能有效的脱除原料中的残油, 除油率 > 98%。

(2) CO₂ 超临界萃取油茶皂苷的最佳操作条件为 萃取温度 55℃, 压力 25 MPa, 时间 3 h, 该条件下萃取得率为 15.23%, 纯度 78.65%。

(3) CO₂ 超临界萃取法可在一套装置下实现脱除残油, 提取油茶皂苷, 简化了生产工艺, 而且在产品

纯度、操作周期、对环境的影响方面明显优于乙醇浸提法。

参 考 文 献

- 1 Yilu, Tatsuya Umeda, Akihito Yagi et al. Triterpenoid saponins from the roots of tea plant (*Camellia sinensis* var. *assamica*) [J]. *Phytochemistry* 2000, 53: 941 ~ 946
- 2 Chattopadhyay B, Besra S E, Gomes A et al. Anti-inflammatory activity of tea (*Camellia sinensis*) root extract [J]. *Life Sciences* 2004, 74: 1839 ~ 1849
- 3 李肇奖, 吕晓玲, 仇勇. D4020 大孔吸附树脂纯化油茶皂苷的研究 [J]. *粮食与油脂* 2004(11): 19 ~ 21
- 4 廖周坤, 姜继祖, 王化远等. 超临界 CO₂ 萃取藏药灵芝中总皂甙及多糖的研究 [J]. *中草药* 1998, 29(9): 601 ~ 602
- 5 黄纪念, 屠鹏飞, 蔡同一. 超临界 CO₂ 流体萃取迷迭香中抗氧化活性成分的工艺研究 [J]. *中草药* 2004, 35(2): 150 ~ 153
- 6 邓亦峰, 梁念. 半边旗中二萜类化合物的超临界 CO₂ 萃取及 HPLC-MS 分析 [J]. *中药* 2004, 35(2): 145 ~ 148
- 7 李肇奖, 吕晓玲, 姚秀玲等. 油茶总皂苷提取工艺优化 [J]. *中国食品添加剂* 2004(5): 1 ~ 4
- 8 张镜澄. 超临界流体萃取 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 29 ~ 38
- 9 邹节明, 梁芳琳, 吴广雄等. CO₂ 超临界流体技术应用于中药有效成分的实验研究 [J]. *中国中药杂志* 2003, 28(5): 414 ~ 417
- 10 余华, 李萍. 提携剂在中草药超临界 CO₂ 萃取中的应用 [J]. *中国药学杂志* 2003, 38(5): 331 ~ 333
- 11 谭天伟. 天然产物分离新技术 [J]. *化工进展* 2003, 22(7): 665 ~ 666
- 12 梁瑞红, 谢明勇, 施玉峰. 紫草色素超临界萃取与有机溶剂萃取之比较 [J]. *食品科学* 2004, 25(3): 130 ~ 132

Study on Supercritical - CO₂ Extraction of Saponin from *Camellia Oleifera*

Lü Xiaoling Li Zhaojiang

(College of Food Science and Bioengineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300222, China)

ABSTRACT This paper studied the technology of extracting saponin from seeds of *camellia oleifera* with SFE - CO₂ technology. The optimal extracting conditions were as follows: pressure being 25 MPa, temperature of 50℃, 65% ethanol being used as entrainer, time of 3h and flow rate of CO₂ being set at 25 ~ 30 L/h. The yield was 15.23%. The content of camellia saponin extracted by SFE - CO₂ was 78.65% at the conditions listed above, 54% higher than that extracted by ethanol.

Key words supercritical - CO₂ extraction, *camellia oleifera*, saponin