

红枣中皂甙的提取与分离研究

王延峰, 贺晓龙, 王艳宁, 张向前*

(1. 延安大学生命科学学院, 陕西延安 716000; 2. 陕西省区域生物资源保育与利用工程技术研究中心, 陕西延安 716000)

摘要 [目的] 对红枣皂甙的提取工艺进行进一步的优化研究, 为红枣的深度开发提供依据。[方法] 应用单因素分析和正交试验设计对红枣皂甙正丁醇提取法的提取工艺进行研究。[结果] 结果表明, 料液比对红枣皂甙得率的影响比较大, 其次为乙醇浓度, 再次是浸提时间, 最后是浸提温度; 最佳工艺条件为: 料液比 1:15, 浸提温度 60℃, 乙醇浓度 70%, 浸提时间 2 h。[结论] 试验提取工艺条件下, 红枣总皂甙提取含量可达红枣干粉的 0.99%。

关键词 皂甙; 红枣; 提取工艺

中图分类号 S665.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)22-09458-02

Extraction and Separation of the Saponin from Jujube

WANG Yan-feng et al (School of Life Science, Yanan University, Yanan, Shaanxi 716000)

Abstract [Objective] The aim of the research was to optimize the technique of saponin extraction. [Method] Single factor test and orthogonal test was used to optimize the extraction process of total saponins from jujube. [Result] The results showed that the factors in order was the solid-liquid ratio of extraction system > ethanol concentration > extraction time > extraction temperature. The optimum conditions was 1:15 of the solid-liquid ratio of extraction system, 60℃, 70% ethanol to jujube, 2 hours extraction time. [Conclusion] The extraction rate of the total saponins under the condition of this experiment was 0.99%.

Key words Saponins; Jujube; Extraction and separation

红枣是陕北黄河沿岸地区经济发展的主导产业, 该地区自然资源十分丰富。红枣不仅香甜脆郁, 而且营养丰富, 含有皂甙、多糖、生物碱、黄酮、氨基酸等多种生物活性成分, 以及多种维生素、微量元素和有机酸^[1]等。皂甙(Saponins)又称皂素、皂苷或皂草素, 是广泛存在于植物界和某些海洋生物中的一种特殊苷类^[2]。皂甙的药理作用有, 双向调节免疫作用, 抗缺氧和抗疲劳作用, 抗低温应激作用, 抗脂质氧化作用, 抗致突变作用等^[3]。目前关于皂甙的提取方法有很多种, 常用的有碱水提取法、浸渍法、渗漉法、回流法、甲醇或乙醇提取法、正丁醇提取法等^[4]。利用皂甙在含水正丁醇中有较大溶解度的性质, 通常可以采用正丁醇提取法提取皂甙^[5-10]。笔者对红枣皂甙的提取工艺进行了进一步的优化研究, 旨在为红枣的深度开发开拓一条新路。

1 材料与方 法

1.1 仪器与设备 RE52B 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器; HH4 型电热恒温水浴锅, 北京科伟永兴仪器有限公司; FW80 型微型高速万能试样粉碎机; FA 1004N 型电子天平, 上海精密科学仪器有限公司; DHG 9030A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海精宏实验设备有限公司; UV-1240 型紫外分光光度计, 岛津仪器(苏州)有限公司; SHB-3 型循环水式多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司。

1.2 材料与试剂 试验所用材料红枣购自延安市农贸市场。无水乙醇、石油醚、正丁醇、浓硫酸、乙酸酐均为分析纯。

1.3 方法

1.3.1 红枣皂甙正丁醇提取法提取。 试验用红枣经过取核、烘干, 粉碎成粉末, 首先用不同浓度的乙醇作为溶剂提取, 在 60℃ 的水浴锅中浸提 2 h, 滤除不溶物, 回收乙醇溶剂, 在乙醇浸膏中加蒸馏水溶解, 再于水溶液中加入石油醚作两相萃取, 不溶于这些强亲脂性溶剂的物质, 则留溶于水中, 而油脂、色素等亲脂性杂质则转溶于亲脂性溶剂中, 与皂甙分

离。除去杂质后, 改用正丁醇为溶剂继续由溶液中作两相萃取, 分别萃取 3 次, 合并正丁醇提取液, 则皂甙转溶于正丁醇溶剂中, 一些亲水性强的杂质, 包括糖类等仍留于水中, 与皂甙分离。收集正丁醇溶液, 减压蒸干, 获得粗皂甙。

1.3.2 单因素提取试验。 每次精确称取 10 g 红枣粉分别放入 5 个锥形瓶中, 选取料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30), 乙醇浓度(50%、60%、70%、80%、90%), 浸提温度(50、60、70、80、90℃), 浸提时间(1、2、3、4、5 h) 4 个因素进行单因素对红枣皂甙提取的影响试验。

1.3.3 正交试验。 按上面的单因素试验得出的试验条件, 进行正交试验设计。对影响红枣皂甙得率的料液比、乙醇浓度、浸提温度以及浸提时间 4 个因素作 3 水平正交试验设计, 即 $L_9(3^4)$ 试验, 详见表 1。

表 1 正交试验因素水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平 Levels	因素 Factors			
	A 料液比 Solid-liquid ratio g/ml	B 乙醇浓度 Ethanol concentration	C 浸提温度 Extraction temperature	浸提时间 Extraction time h
1	1:10	60%	50	1
2	1:15	70%	60	2
3	1:20	80%	70	3

1.3.4 皂甙定性分析。 泡沫试验参照文献[3]方法, Liebermann-Burchard 试验(显色反应)参照文献[4]方法。

1.3.5 粗皂甙的分离纯化。 采用分段沉淀法^[4]分离、纯化皂甙。

2 结果与分析

2.1 红枣皂甙吸收波长的确定 取 0.4 ml 正丁醇提取液, 将其稀释 125 倍, 定容至 50 ml 的容量瓶中, 用紫外分光光度计在 200~500 nm 下测红枣皂甙的最大吸收波长及其吸光度值, 结果见图 1 和表 2。当波长为 269 nm 时, 红枣皂甙具有最大的吸收值, 因此选择波长 269 nm 测红枣皂甙的吸光度值。

2.2 单因素提取试验

2.2.1 料液比对红枣皂甙提取的影响(表 3)。 由表 3 可见,

作者简介 王延峰(1970-), 男, 陕西府谷人, 副教授, 从事生物化学及分子生物学研究。* 通讯作者, 副教授。

收稿日期 2008-07-09

当料液比增加时,皂甙的吸光度会随之增加,但当增加到1:15时,皂甙的吸光度值达到最大值,而料液比的继续增加,不仅会造成溶剂的浪费,而且也会增加后续处理的负担。为了保证对皂甙浸提完全,又不至于造成浪费,故选择1:10、1:15、1:20的料液比进行正交试验。

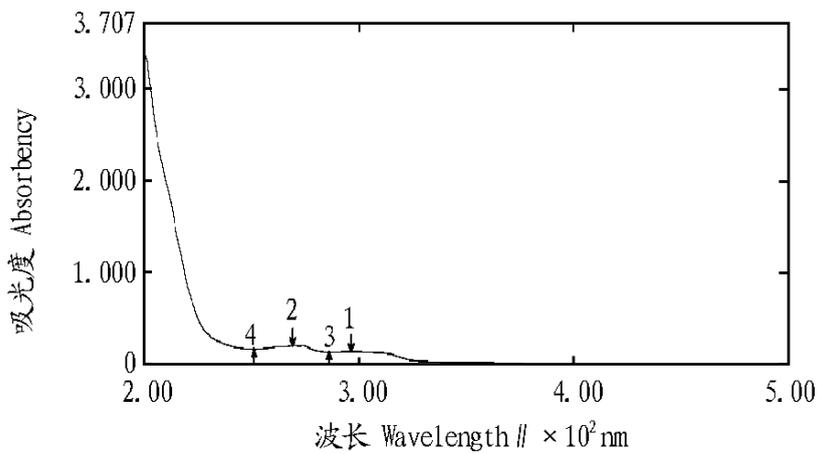


图1 红枣皂甙的波长-吸收光谱

Fig.1 The wavelength absorption spectrum of red jujube saponin

表2 250~500 nm 红枣皂甙的吸光度

Table 2 The absorbency of red jujube saponin with the wavelength of 250-500 nm

序号 Serial number	波长 Wavelength nm	吸光度 Absorbency
1	296.00	0.137
2	269.00	0.204
3	286.00	0.131
4	251.00	0.165

表3 料液比对红枣皂甙提取的影响

Table 3 Effects of solid:liquid ratio on the extraction of red jujube saponin

料液比 Solid:liquid ratio	产量 Yield g	吸光度 Absorbency
1:10	0.0869	0.291
1:15	0.0953	0.336
1:20	0.0845	0.325
1:25	0.0723	0.203
1:30	0.0700	0.201

2.2.2 乙醇浓度对红枣皂甙提取的影响(表4)。由表4可见,乙醇浓度对皂甙的吸光度值也有一定影响,当乙醇浓度增加时,皂甙的吸光度值也会随之增加,乙醇浓度为70%时,红枣皂甙吸光度值达到最大值。为避免造成浪费,选择浓度60%、70%、80%乙醇进行正交试验。

表4 乙醇浓度对红枣皂甙提取的影响

Table 4 Effects of ethanol concentration on the extraction of red jujube saponin

乙醇浓度 Ethanol concentration	产量 Yield g	吸光度 Absorbency
50%	0.0623	0.254
60%	0.0812	0.259
70%	0.0973	0.339
80%	0.0802	0.283
90%	0.0700	0.201

2.2.3 浸提温度对红枣皂甙提取的影响(表5)。由表5可见,浸提温度对红枣皂甙的得率也有一定的影响,温度的升高会使皂甙的吸光度值增加,温度继续增加到60℃时皂甙吸光度值达到最大;超过60℃时,红枣皂甙的吸光度值反而

会下降。因此,提取过程中温度不能太高,温度升高,不仅会使皂甙的得率降低,而且也会使红枣皂甙的活性降低,故选择温度50、60、70℃进行正交试验。

表5 浸提温度对红枣皂甙提取的影响

Table 5 Effects of extraction temperature on the extraction of red jujube saponin

浸提温度 Extraction temperature	产量 Yield g	吸光度 Absorbency
50	0.0632	0.204
60	0.0992	0.329
70	0.0843	0.322
80	0.0695	0.201
90	0.0612	0.198

2.2.4 浸提时间对红枣皂甙提取的影响(表6)。由表6可见,浸提时间对皂甙得率有一定影响,当浸提时间增加时,皂甙的吸光度值也会随之增加,浸提时间增加到2h时皂甙的吸光度值达到最大值。当浸提时间超过2h时,皂甙吸光度值下降,因此选择时间为1、2、3h作正交试验。

表6 浸提时间对红枣皂甙提取的影响

Table 6 Effects of extraction time on the extraction of red jujube saponin

浸提时间 Extraction time h	产量 Yield g	吸光度 Absorbency
1	0.0811	0.301
2	0.0980	0.337
3	0.0752	0.317
4	0.0509	0.202
5	0.0335	0.199

2.3 正交试验 按上面单因素试验得出的试验条件,进行正交试验设计。正交试验结果见表7。

表7 L₉(3⁴) 正交试验结果

Table 7 The results of L₉(3⁴) orthogonal test

序号 Serial number	因素 Factors				吸光度 Absorbency
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.258
2	1	2	2	2	0.317
3	1	3	3	3	0.209
4	2	1	2	3	0.299
5	2	2	3	1	0.332
6	2	3	1	2	0.296
7	3	1	3	2	0.310
8	3	2	1	3	0.301
9	3	3	2	1	0.312
R	0.048	0.045	0.025	0.038	

由极差R的大小可知,影响总皂甙得率的主要因素顺序依次为 R_A > R_B > R_D > R_C,通过单因素试验和正交试验确定了正丁醇提取红枣皂甙的最佳提取工艺条件是:料液比1:15,乙醇浓度70%,浸提温度60℃,浸提时间2h。通过对试验结果的分析确定了影响该试验因素的顺序是料液比 > 乙醇浓度 > 浸提时间 > 浸提温度,浸提温度对红枣皂甙吸光度值的影响最小。通过正交试验结果分析,正丁醇提取红枣皂甙的最佳工艺条件为:A₂B₂C₂D₂。

3 讨论

(1) 该试验对红枣总皂甙的提取工艺进行了探究,考察

(下转第9465页)

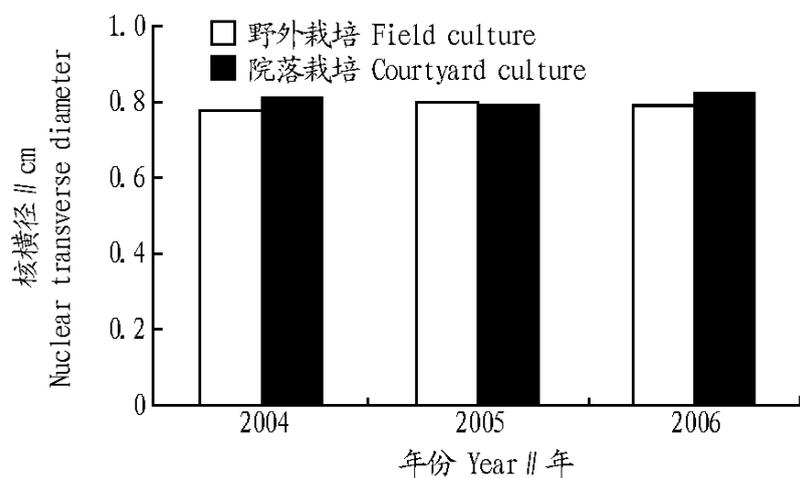


图18 不同年份成熟果实核横径测定结果

Fig. 18 The determination results of nuclear transverse diameter of mature fruits in different years

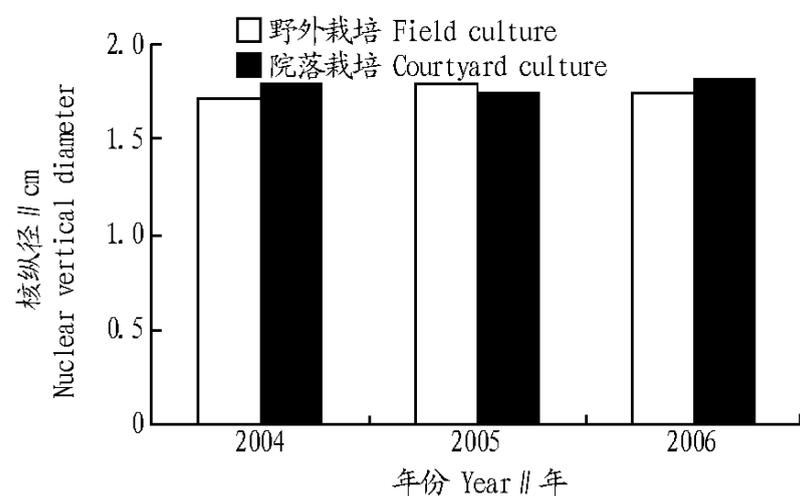


图19 不同年份成熟果实核纵径测定结果

Fig. 19 The determination results of nuclear vertical diameter of mature fruits in different years

3 结论

(1) 沾化冬枣在野外栽培条件下,果实发育6月中旬~10月中旬经历了2个快速增长期(6月底、7月底左右),果实

(上接第9459页)

了浸提温度、乙醇浓度、料液比、浸提时间4因素对红枣皂甙得率的影响,通过正交试验分析可知,料液比、乙醇浓度和浸提时间对红枣皂甙得率的影响比较大,而浸提温度对皂甙得率的影响比较小。正丁醇提取红枣皂甙的最佳工艺条件为:料液比1:15,乙醇浓度70%,浸提温度60℃,浸提时间2h。在最佳提取工艺条件下,粗提取物经过分段沉淀法分离纯化后,红枣总皂甙含量可达红枣干粉的0.99%。

(2) 该试验通过用紫外分光光度计测红枣皂甙的最佳吸收波长,测得结果显示,当波长为269nm时,红枣皂甙有最大的吸收值。

(3) 该试验用乙醇作为提取皂甙的溶剂,而不用甲醇,是考虑到乙醇的安全性,并且皂甙在乙醇和甲醇中溶解度接近。乙醇可以用于工业上大量的皂甙生产提取。在萃取中由于乙醚挥发性强且有剧毒性,故用石油醚代替乙醚脱脂。

(4) 皂甙有降低水溶液表面张力的作用,多数皂甙的溶液经强烈振荡能产生持久性的泡沫,而且并不因加热而消失。而含蛋白质和黏液质的水溶液虽也能产生泡沫,但不能持久,加热后很快消失^[10]。该研究的泡沫度试验显示,

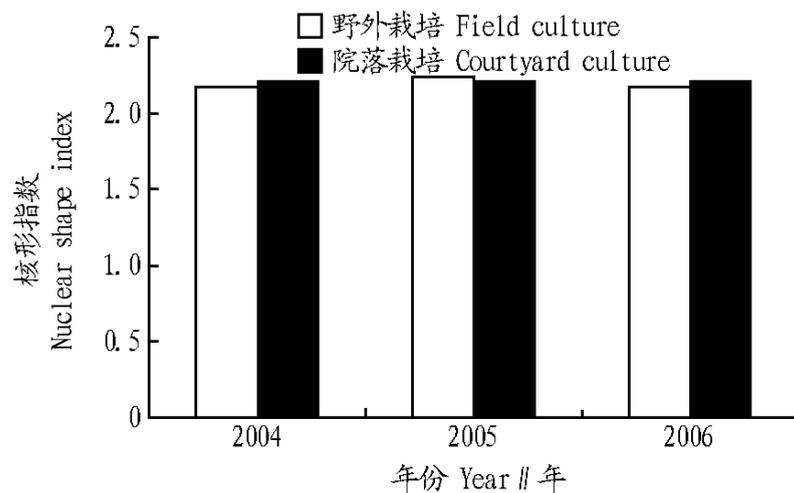


图20 不同年份成熟果实核形指数测定结果

Fig. 20 The determination results of nuclear shape index of mature fruits in different years

发育历时125~130d,果形指数的变化趋势为由大到小,最后趋于1.0~1.1。

(2) 沾化冬枣成熟果实果形近似圆形,果面平整光洁。野外栽培与院落栽培所获得的果实在果形指数上无太大区别,但野外栽培比院落栽培所获得的果实单果重略小,果皮稍厚,可食率略低。这可能是由于院落栽培环境下相对湿度略高,类似风吹雨打的程度低,且院落栽培总体用药量远远低于野外栽培。

参考文献

- [1] 于洪长. 沾化冬枣[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001.
- [2] 孙殿奎, 陈曰斌, 杨振国. 冬枣结果习性的研究[J]. 山东林业科技, 1992(3): 77-80.
- [3] 郭庆宏, 刘振宾, 王海. 不同措施对冬枣坐果率、产量及品质的影响[J]. 河北果树, 2000(1): 15.
- [4] 庞会娟. 枣采收后及贮藏过程中维生素C含量变化规律的研究[J]. 河北农业大学学报, 2002(S1): 32-36.

提取物能产生持久性(15min以上)的泡沫,说明有皂甙的存在。Liebermann-Burchard试验(显色反应)中取粗皂甙少许溶于乙酸酐中,加入浓硫酸1滴,呈黄红蓝紫绿色等颜色变化,最后退色。故这2个试验可以用作皂甙的定性检验。

参考文献

- [1] 常新全, 丁丽霞. 中药活性成分分析手册[M]. 北京: 学苑出版社, 2002: 119-135.
- [2] 郑建仙. 植物活性成分开发[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005: 281.
- [3] 谭仁祥, 焦庆才, 陈道峰, 等. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 429.
- [4] 肖崇厚, 杨松松, 洪由坤. 中药化学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1977: 387.
- [5] 张娟, 路金才. 皂甙的提取方法及含量测定研究进展[J]. 沈阳药科大学中药学院学报, 2006, 3(3): 34-36.
- [6] 秦民坚, 吴蓉, 黄芸, 等. 匙羹藤叶总皂甙提取工艺研究[J]. 现代中药研究与实践, 2003, 11(2): 31-33.
- [7] 胡春风, 张平平, 刘金福, 等. 红枣皂甙提取工艺及定性分析[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(2): 9-11.
- [8] 孙磊. 乙醇提取苦瓜皂甙的工艺研究[J]. 宁夏医学杂志, 2005, 27(2): 113-114.
- [9] 李力, 陈宇红. 黄芪皂甙提取分离方法的研究[J]. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2006, 27(1): 59-61.
- [10] 徐丽萍. 桔梗皂甙提取方法的比较[J]. 食品工业科技, 2007, 28(4): 133-134.