

文章编号:1007-8924(2008)02-0085-04

研究简报

超滤法分离提纯无患子皂苷

魏凤玉, 解 辉, 余锦城, 吴 阳

(合肥工业大学 化学工程学院, 合肥 230009)

摘 要: 采用水提-超滤法分离提纯无患子皂苷. 实验考察了絮凝剂的用量, 超滤时温度、膜面流速、压力、超滤液 pH、膜截留分子量等对分离纯化效果的影响. 结果表明在水提液中加入体积分数为 2.0% 的壳聚糖-醋酸絮凝剂时, 预处理效果较好. 正交实验表明, 采用截留分子量为 20 K~50 K 的超滤膜, 在温度 25 ℃、膜面流速 2.78×10^{-5} m/s、压力 0.08 MPa 的条件下, 所得无患子总皂苷的纯度可达 67.02%; 而采用 6 K 超滤膜所得无患子皂苷的产品纯度可达 72.42%.

关键词: 无患子皂苷; 正交实验; 水提; 超滤

中图分类号: TQ028.8 **文献标识码:** A

无患子(*Sapindus Mukorossi* Gaertn), 俗称: 油患子, 肥珠子等. 无患子果皮中所含的无患子皂苷具有很强的表面活性作用, 孙洁如等^[1]的研究表明无患子皂苷具有很低的 cmc 和 γ_{cmc} , 是一种理想的香波原料; 无患子皂苷还具有多种生物活性, 如抗肿瘤、降血压、抗真菌、杀精子等. Adriana 等^[2]的研究表明无患子果实和叶的提取物能够明显降低小鼠胃酸的体积和浓度, 从而具有治疗急性胃溃疡的潜力; Huang 等^[3]研究发现皂苷含量为 10 mg/kg 对金苹果蜗牛的杀死率达 70%~100%.

近年来, 超滤法已逐渐应用于中药有效成分的分离中, 并取得了良好的效果. 冯彪等^[4]应用超滤法提取分离陈皮中的有效成分, 研究表明超滤膜的孔径大小、药液浓度等对分离有效成分有较大影响; 曹万新等^[5]采用超滤膜法精制油茶皂甙, 结果表明, 经预滤、精滤、超滤后产品纯度可达 80% 左右.

关于无患子总皂苷提取分离方面的研究报道较少. 饶厚增等^[6]采用乙醇提取-正丁醇萃取分离工艺得到了无患子皂苷及皂苷元晶体, 但所需溶剂用量大、工艺复杂、产品纯度不高. 本文采用水提-超

滤法提取分离无患子皂苷, 为无患子皂苷的工业化生产提供依据.

1 实验原料与方法

1.1 原料和仪器

无患子果皮(产于安徽), 壳聚糖(上海国药集团化学试剂有限公司), 香兰素、次氯酸钠、冰醋酸等均作为分析纯. 聚砜中空纤维超滤膜(UPIS-503 型, 截留分子量 20 K~50 K; UEOS-503 型, 截留分子量 6 K)(天津膜天膜工程技术有限公司).

1.2 工艺流程

无患子果皮洗净、晾干、粉碎后, 用水提取 3 次, 合并水提液, 加入壳聚糖絮凝剂除杂. 将絮凝后的水提液超滤分离, 渗透液在 60 ℃ 下烘干得灰白色粉末即为产品.

1.3 分析方法

1.3.1 无患子总皂苷含量的测定

(1) 标准曲线的绘制

以本实验室提取分离精制的无患子总皂苷为标准品. 准确称量无患子总皂苷 10.0 mg, 置于 10 mL

收稿日期: 2006-09-28; 修改稿收到日期: 2006-12-28

基金项目: 合肥工业大学研究生创新基金项目(XS0631)

作者简介: 魏凤玉(1963-), 女, 江苏靖江人, 硕士, 副教授, 从事化工传质与分离的研究.

容量瓶中用甲醇定容,精密抽取此溶液 1,2,3,4,5 μL 置于 10 mL 的磨口试管中,热风挥干溶剂,而后将现配的 5% 的香草醛-冰醋酸溶液 0.2 mL 和高氯酸 0.8 mL 加入试管中,摇匀,60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热 15 min,冰水浴中冷却 3 min,最后加入冰醋酸 5 mL,摇匀,用空白试剂作参比.用 UV-250 紫外可见分光光度计(日本岛津公司)在 200~700 nm 范围作全波段扫描,结果表明无患子总皂苷的最大吸收波长在 390 nm 左右,故选择 390 nm 作为测定波长.以吸光值 A 与浓度 C 进行线性回归,得回归方程为 $A = -0.0479 + 0.1077C$, $R = 0.9989$.

(2) 产品纯度测定

准确称取样品,配制浓度约为 1 mg/mL 的甲醇溶液,按照标准曲线制备的步骤测定样品的吸光值,从标准曲线上求其浓度,计算样品中总皂苷的含量.

1.3.2 固含量、pH、黏度、浊度的测定

固含量以每毫升溶液中所含的固体质量表示:

$$\text{固含量损失率} = \frac{\text{处理前固含量} - \text{处理后固含量}}{\text{处理前固含量}} \times 100\%$$

pH 采用 PHS-3C 型精密 pH 计(上海精密科学仪器有限公司)测定;黏度采用 NDJ-1 型旋转黏度计(上海精密科学仪器有限公司)测定;浊度采用 GDS-3C 型散射光浊度计(无锡科达仪器厂)测定.

2 结果与讨论

2.1 超滤液的预处理

无患子水提液中成分复杂,除含有皂苷外,还含

表 2 pH 对超滤分离的影响

Table 2 The effect of pH on ultrafiltrate separation

| 超滤前溶液 pH | 渗透液固含量/($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) | 渗透液 pH | 固含物损失率/% | 产品纯度/% | 黏度 $\times 10^3$ /($\text{Pa}\cdot\text{s}$) | 浊度/NTU |
|----------|--|--------|----------|--------|--|--------|
| 4.88 | 0.014 | 6.03 | 57.6 | 64.05 | 1.25 | 3.0 |
| 7.00 | 0.016 | 7.07 | 51.5 | 65.35 | 1.25 | 1.2 |
| 8.52 | 0.012 | 8.41 | 63.6 | 58.85 | 1.33 | 1.9 |

注:絮凝后水提液 pH 4.88,浊度 86.1 NTU.

从上表可见,超滤分离对无患子水提液的澄清效果较好(超滤前溶液为红棕色,超滤后为淡黄色),固含物损失率较大.而水提液的 pH 对渗透液的固含量、黏度和浊度影响不大,但对所得产品的纯度影响较大.当无患子水提液 pH 从原始的 4.88 调至中性时,产品纯度变化不明显;当调为碱性时,产品纯度下降、分离效果变差,这可能是由于提取液中的蛋白质、多糖等生物大分子产生变性(如蛋白质在等电

点时溶解度最低、会产生沉淀),或相互缔合产生新的化合物污染膜,而不利于无患子皂苷的超滤分离.

一些大分子物质如蛋白质、多糖等在超滤过程中会沉积在膜表面,使膜的通量下降.因此,超滤前进行料液的预处理是十分必要的.传统的中药提取液预处理方法有调 pH、醇沉、絮凝等.壳聚糖是一种天然阳离子型高分子絮凝剂,能使溶液中带负电荷的悬浮颗粒絮凝沉淀,而壳聚糖本身无毒、无味,不会造成二次污染^[8].本实验采用壳聚糖-醋酸溶液(1 g 壳聚糖溶于 100 mL 0.5% 醋酸水溶液中)作为絮凝剂,对水提液进行预处理,研究了絮凝剂的用量对分离效果的影响,实验结果如表 1.当水提液中加入体积分数 2.0% 的壳聚糖-醋酸絮凝剂溶液时,絮凝后的产品纯度最高,且固含物的损失率最小.

表 1 絮凝剂用量的影响

Table 1 The effect of flocculant's dosage on separation

| 絮凝剂加入量/% | 产品纯度/% | 固含物损失率/% |
|----------|--------|----------|
| 1.0 | 31.18 | 25.0 |
| 2.0 | 46.59 | 16.7 |
| 2.9 | 43.44 | 16.7 |
| 3.8 | 42.69 | 19.4 |

2.2 超滤液 pH 对膜分离的影响

溶液的 pH 影响药液中各成分的存在状态,如蛋白质在等电点附近时溶解度最低,易在膜表面发生吸附,从而影响超滤分离效果.现采用 UPIS-503 型超滤膜,调节絮凝后水提液的 pH,在温度 35 $^{\circ}\text{C}$ 、膜面流速 2.78×10^{-5} m/s、压力 0.06 MPa 下进行超滤分离,实验结果如表 2.

2.3 超滤分离的正交实验

一般影响超滤分离的因素有温度、膜面流速、操作压差、料液的酸度、膜性能等,实验采用 20 K~50 K 超滤膜对超滤分离的因素进行优化,选取的正交因素水平见表 3.正交实验中主要以膜通量、产品纯度作为考察超滤膜分离效果的参数,并以产品纯度

为指标进行极差分析,结果见表4.

表3 超滤分离的正交因素水平表

Table 3 Orthogonal factor's level for ultrafiltrate separation

| 水平 | A 温度/℃ | B 膜面流速×10 ⁵ /(m·s ⁻¹) | C 压力/MPa |
|----|--------|--|----------|
| 1 | 25 | 1.85 | 0.04 |
| 2 | 30 | 2.31 | 0.06 |
| 3 | 35 | 2.78 | 0.08 |

表4 超滤分离的正交实验结果

Table 4 Orthogonal experimental results of ultrafiltrate separation

| 序号 | A 温度/℃ | B 膜面流速/(m·s ⁻¹) | C 压力/MPa | 膜通量/(mL·min ⁻¹) | 产品纯度/% |
|----------------|----------------|-----------------------------|----------------|-----------------------------|--------|
| 1 | A ₁ | B ₁ | C ₁ | 22.6 | 58.11 |
| 2 | A ₁ | B ₂ | C ₂ | 77.6 | 62.01 |
| 3 | A ₁ | B ₃ | C ₃ | 106.5 | 67.02 |
| 4 | A ₂ | B ₁ | C ₂ | 77.1 | 57.55 |
| 5 | A ₂ | B ₂ | C ₃ | 87.4 | 63.31 |
| 6 | A ₂ | B ₃ | C ₁ | 62.4 | 60.52 |
| 7 | A ₃ | B ₁ | C ₃ | 83.4 | 59.03 |
| 8 | A ₃ | B ₂ | C ₁ | 64.1 | 59.59 |
| 9 | A ₃ | B ₃ | C ₂ | 128.6 | 64.05 |
| K ₁ | 187.14 | 174.69 | 178.22 | | |
| K ₂ | 181.38 | 184.91 | 183.61 | | |
| K ₃ | 182.67 | 191.59 | 189.36 | | |
| 极差 | 5.76 | 16.90 | 11.14 | | |

注:超滤前料液的固含量 0.033 g/mL,产品纯度 36.01%, pH 4.88.

由极差分析结果可知各因素对超滤分离影响的顺序为:膜面流速>压力>温度,即膜面流速为影响超滤分离的主要因素,而温度的影响较小;实验得出的最优工艺条件是 A₁B₃C₃,即温度 25℃、膜面流速 2.78×10⁻⁵ m/s、压力 0.08 MPa.

2.4 膜截留分子量的影响

无患子皂苷的分子量低于 1 K,理论上选取截留分子量 6 K 膜的分离效果应好于 20 K~50 K 的膜.为此,在温度 25℃、膜面流速 3.70×10⁻⁵ m/s、压力 0.08 MPa 的条件下进行膜分离实验,并将超滤后的膜用 1% NaOH 溶液洗脱,将洗脱液脱除溶剂,考查膜对无患子皂苷的吸附情况.

从表 5 可见,6 K 超滤膜所得产品纯度远高于 20 K~50 K 超滤膜,且无患子皂苷主要在渗透液中浓缩.超滤回流液的产品纯度相对原药液有所提高,这是因为部分小分子杂质进入渗透液,部分黏度大的杂质吸附在膜表面,使回流液也实现一定程度的

表5 膜截留分子量对超滤分离效果的影响

Table 5 The effect of membrane intercepting molecular weight on ultrafiltration separation

| 截留分子量 | 6 K | | | 20 K~50 K | | |
|-------------|-------|-------|------|-----------|-------|------|
| | 渗透液 | 回流液 | 膜吸附液 | 渗透液 | 回流液 | 膜吸附液 |
| 产品纯度/% | 72.42 | 32.12 | | 53.41 | 40.17 | |
| 固含物损失率/% | 70.0 | -10.0 | | 60.0 | -12.5 | |
| 产品在各料液的比率/% | 73.95 | 24.85 | 1.19 | 60.28 | 35.17 | 4.56 |

注:超滤前料液的固含量 0.040 g/mL,产品纯度 24.92%, pH 4.78.

富集;另外,超滤回流液的固含物损失率为负值(即固含量升高),这是由于在外压作用下,水和溶液中的小分子溶质穿过超滤膜进入渗透液,大分子的溶质和杂质被膜截留在回流液中,故回流液中固含量相对于原料液增加.从表 5 还可以看出,还有极少量的无患子皂苷被吸附在聚砜纤维膜表面和孔隙内,因而使膜通量降低,渗透液中产品得率降低<100%.此外,超滤膜的分离效果随着原料液中有效成分的浓度升高而提高,所以在相近的操作条件下,此次 20 K~50 K 膜的分离效果低于正交实验结果.

2.5 膜分离与传统分离方法的比较

将无患子皂苷水提液,分别采用超滤膜分离、醇沉和正丁醇萃取三种方法进行分离.水提醇沉时控制混和溶液中乙醇体积百分数为 75%,萃取时正丁醇与水提液按体积比为 1:1.实验结果见表 6.

表6 超滤膜分离与传统分离方法的比较

Table 6 The comparison between ultrafiltration separation and traditional separation

| 分离方法 | 水提醇沉 | 正丁醇萃取 | 6 K 渗透液 | 20 K~50 K 渗透液 |
|----------|-------|-------|---------|---------------|
| 产品纯度/% | 51.05 | 47.56 | 72.42 | 53.41 |
| 固含物损失率/% | 72.5 | 55.0 | 70.0 | 60.0 |

注:超滤前料液的固含量 0.040 g/mL,产品纯度 24.92%, pH 4.78.

从表 6 可见,水提醇沉和正丁醇萃取分离效果均较超滤膜分离效果差,产品纯度低.即与传统的醇沉和正丁醇萃取分离工艺相比,超滤膜分离具有产品纯度高、操作简单、生产周期短、溶剂消耗量低等特点,比较适合于天然产物中有效成分的分离浓缩.

3 结论

1) 在无患子水提液中加入体积分数为 2.0% 的

壳聚糖-醋酸絮凝剂时,除杂效果较好。

2) 水提液的 pH 对渗透液的固含量、黏度、pH 和浊度影响不大,但对所得产品的纯度影响较大。当无患子水提液的 pH 中性时,超滤分离效果较好。

3) 20 K~50 K 超滤膜正交实验表明,各因素影响超滤分离的大小顺序为:膜面流速>压力>温度;最优超滤分离条件是:温度 25 ℃,膜面流速 2.78×10^{-5} m/s,压力 0.08 MPa,所得无患子总皂苷的纯度为 67.02%。

4) 与 20 K~50 K 超滤膜相比,6 K 超滤膜对无患子皂苷的富集程度更高,产品纯度可达 72.42%。

5) 与水提醇沉和正丁醇萃取等传统分离方法相比,超滤膜具有分离效率高、操作简单等优点。

参 考 文 献

[1] 孙洁如,陈孔常,周鸣方,等.无患子表面活性物及其复

配体系的性质研究[J].日用化学工业,2002,32(4):16-18.

[2] Adriana L A, Jayme A A S, Elfriede M B. Antiulcer activity of *Sapindus saponaria* L in the rat [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2002, 82: 41-44.

[3] Huang H C, Liao S C, Chang F R, et al. Molluscicidal saponins from *sapindus mukorossi*, inhibitory agents of golden snails, *potamocorbula asinaria* [J]. Agric Food Chem. 2003, 51(17):4916-4919.

[4] 冯 彪,赖小平,周 华.应用超滤法提取分离陈皮中有效成分的研究[J].中成药,2005,27(7):823-824.

[5] 曹万新,武丽荣,史宣明,等.超滤膜法提取精制油茶皂甙的研究[J].中国油脂,2002,27(3):55-57.

[6] 饶厚曾,郭隆华.无患子皂苷提取工艺研究[J].江西科学,2002,20(1):55-58.

[7] 俞加林.中草药所含主要成分相对分子量测定[J].中草药,1989,12(5):44-46.

[8] 刘秉涛,张 焱,王海荣.壳聚糖对含蛋白废水的絮凝与回收[J].华北水利水电学院学报,2005,26(4):69-71.

Separation and purification of supindus - saponin by ultrafiltration

WEI Fengyu, XIE Hui, YU Jincheng, WU Yang

(School of Chemical Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China)

Abstract: The combination of water-extraction and ultrafiltration was adopted to separate and purify supindus - saponin. The effects of the flocculant's dosage, temperature, the cross-flow velocity, pressure, pH of feed solution and the molecular weight cut off (MWCO) of the membrane on separation of supindus - saponin were researched. The optimum volume ratio of chitosan - acetic acid solution to extraction aqueous solution was 2.0% for the pretreatment. The results of orthogonal experiments indicated that under the condition of 25 ℃, the cross-flow velocity 2.78×10^{-5} m/s, 0.08 MPa, the 67.02% content of saponin - supindus was obtained with MWCO 20 K~50 K membrane. The 72.48% content of saponin - supindus was obtained with MWCO 6 K membrane.

Key words: supindus - saponin; orthogonal-experiment; water-extraction; ultrafiltration

欢迎投稿

欢迎订阅

欢迎刊登广告