连续泡沫分离法纯化无患子总皂苷的研究

魏凤玉*，方　菊，张　静，方　春

合肥工业大学化工学院，安徽 合肥　230009

摘　要：目的　采用连续泡沫分离法纯化无患子总皂苷，确定泡沫分离最佳工艺条件。**方法**　采用正交试验法与分光光度法，以无患子总皂苷富集比、收率和质量分数为评价指标，确定泡沫分离的最佳工艺条件。**结果**　连续泡沫法分离无患子总皂苷的最佳工艺条件为：进料液中无患子总皂苷质量浓度为 20 mg/L，pH 值为 4.40，进料口高度为 40 cm，气体体积流量为 0.6 L/min，进料液体积流量为 35 mL/min；通过连续泡沫分离法纯化得到无患子总皂苷，收率为 23.64%、质量分数为 90.27%。**结论**　连续式泡沫分离法纯化无患子总皂苷具有操作简单、能耗低等优点，可工业化应用。

关键词：无患子总皂苷；连续式泡沫分离；正交试验；纯化；分光光度法

中图分类号：R284.2；R286.02　　　**文献标志码：**A　　　**文章编号：**0253 - 2670(2011)09 - 1728 - 04

Purification of total saponins in *Sapindus mukorossi* by continuous foam separation

WEI Feng-yu, FANG Ju, ZHANG Jing, FANG Chun

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

Abstract: Objective　The continuous foam separation was adopted to optimize the process conditions for separation of tatal saponins in *Sapindus mukorossi*. **Methods**　Orthogonal test and spectrophotometry were employed to determine the optimum conditions of foam separation using the enrichment ratio, yield, and purity of total saponins in *S. mukorossi* as evaluating indexes. **Results**　The best condition of the process was as follows: gas flow rate of 0.6 L/min, feed height of 40 cm, liquid flow rate of 35 mL/min with initial feed total saponins in *S. mukorossi* at concentration of 20 mg/L with pH 4.40. **Conclusion**　The yield and purity of the isolated total saponins in *S. mukorossi* were 23.64% and 90.27%, respectively. The continuous foam separation could conduct in relatively simple equipment, low energy consuming and provide the possibility to future industrial applications.

Key words: total saponins in *Sapindus mukorossi* Gaertn.; continuous foam separation; orthogonal test; purification; spectrophotometry

无患子 *Sapindus mukorossi* Gaertn. 主产于东南亚各国，我国的长江流域、南部各省及海南均有栽培[1]。无患子的主要成分为无患子总皂苷，是天然的表面活性剂，并具有杀菌、消炎等功效[2-3]，最近又发现其能够降低肾性高血压大鼠血压[4]，具有较高的应用价值。无患子总皂苷的分离方法主要有正丁醇萃取法[1]、微波萃取法[5]、大孔树脂吸附法[6]、超滤法[7]等。萃取法溶剂用量大、所得产品纯度不高；微波萃取技术设备成本较高，难于工业化生产；大孔吸附树脂技术存在工艺复杂、溶剂耗量大的缺点；超滤分离时易出现膜阻塞现象。泡沫分离技术是近几十年来发展的一种新型分离技术，具有工艺简单、选择性高等特点，特别适用于低浓度表面活性物质的分离富集，已被广泛用于废水处理、冶金工业和食品工业等[8]。近年来泡沫分离技术开始用于中药有效成分的提取、分离[9-10]。修志龙等[11]采用泡沫分离法分离人参皂苷，考察了气体体积流量、pH 值、进料质量浓度，进料量及通气类型等对泡沫分离效果的影响；苏艳桃等[12]利用泡沫分离法分级分离甘草皂苷；Lambert 等[13]研究了泡沫分离法分离 β-葡糖酸和纤维素酶。本实验采用连续式泡沫法分离无患子总皂苷，探讨了泡沫分离操作方式及各操作参数对分离效果的影响，确定一套高效、温和、环保、节能的分离工艺，为天然无患子总皂苷的开发应用提供基础。

1　仪器及材料

722P—可见分光光度计（上海光谱仪器有限责任公司）；HH 型数显恒温水浴锅（金坛市金城国胜

收稿日期：2010-11-11

基金项目：安徽高校省级自然科学研究重点项目（KJ2009A002）；合肥工业大学研究生创新基金项目（XS08042）

作者简介：魏凤玉（1963—），女，江苏靖江人，博士，教授，研究方向为化工传质与分离。Tel: (0551)2901093　E-mail: weifyliuj@yahoo.com.cn

实验仪器厂)；无患子果皮（安徽省肥东县）经笔者鉴定为无患子科无患子 *Sapindus mukorossi* Gaertn. 的干燥果皮；Agilent 1100 型高效液相色谱仪（美国安捷伦科技公司）。无患子总皂苷对照品（自制），无患子水提液经大孔树脂吸附分离，硅胶柱色谱反复分离，产物为各种无患子皂苷的混合物，其质量分数采用 HPLC 法测定，Symmetry C_{18} 柱（250 mm×4.6 mm，0.5 μm），检测波长 205 nm，流动相为甲醇-水（54∶46），体积流量 1 mL/min，以常春藤皂苷计，无患子总皂苷对照品的质量分数为 96%。其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 泡沫分离装置

连续式泡沫分离的实验装置由泡沫分离塔、供气系统、进料系统、出料系统和泡沫收集器组成。泡沫分离塔的内径为 68.5 mm，有效高度为 70 cm，中间设置若干个进料口和取样口。一定质量浓度无患子总皂苷的水提液由蠕动泵送入分离塔，空气由压缩泵经进气管分散到溶液中。塔底溶液通过转子流量计控制以一定的体积流量流出，泡沫相经泡沫分离塔顶溢出并进入收集器。

2.2 评价指标

以无患子总皂苷的富集比（E）、收率（η）和质量分数（p）来评价泡沫分离的效果。计算公式如下：

$$E = C_D/C_f \quad (1)$$

$$\eta = C_D V_D / C_f V_f \quad (2)$$

$$p = C_D V_D / m \quad (3)$$

C_D 为泡沫液中无患子总皂苷的质量浓度（mg/mL），C_f 为进料液中无患子总皂苷的质量浓度（mg/mL），V_D 为泡沫液的体积（mL），V_f 为进料液的体积（mL），m 为泡沫液中固含物的质量（mg）

泡沫液中固含物质量（m）的测定：移取体积为 V 的无患子总皂苷泡沫液，置于已恒定质量的蒸发皿中（质量 m_1），水浴挥干，再置于烘箱中烘干，称其质量为 m_2，则 m 的计算公式如下：

$$m = (m_2 - m_1) V_D / V \quad (4)$$

2.3 无患子总皂苷的测定[14]

2.3.1 标准曲线的绘制 精确称取 10.0 mg 无患子总皂苷对照品，置于 10 mL 量瓶中，加甲醇溶解并定容。用微量进样器抽取 50、100、150、200、250、300 μL 对照品溶液于具塞磨口试管中，挥干，加入 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.4 mL 和高氯酸 1.4 mL，放入 70 ℃恒温水浴锅中加热 20 min，然后冰水浴 3 min。取出后，加 10 mL 冰醋酸，摇匀，在 478 nm 处测定无患子总皂苷吸光度（A）值。试剂空白为参比液，绘制标准曲线，得 A 值与质量浓度（C）的回归方程 $A=0.001\,91\,C$，$r=0.999\,46$，表明无患子总皂苷在 5～30 mg/L 呈良好的线性关系。

2.3.2 无患子总皂苷溶液的制备 准确称取烘干粉碎后的无患子粉末 200 g，按固液比 1∶5 加入水，在 55 ℃热回流下浸提 3 次，时间分别为 3、2.5、2 h，合并提取液。经絮凝除杂后滤过，取上清液作为待处理的原料液，其总皂苷的质量分数为 23.14%。

2.3.3 样品测定 用微量进样器准确抽取 100 μL 无患子总皂苷溶液于磨口试管中，水浴挥干溶剂，其他操作同“2.3.1”项，测定 A 值，由标准曲线可求得溶液中无患子总皂苷的质量浓度。

2.4 操作方式的确定

泡沫分离操作方式一般分为间歇式和连续式两类，连续式又可分为简单塔（塔底部加料）、提馏塔 I（塔中部加料）和提馏塔 II（塔顶部加料）3 种。本实验在进料液质量浓度为 29.62 mg/L、pH 值为 7.00、气体体积流量 1.0 L/min、进料液体积流量 25 mL/min、液面高度 40 cm、分离时间 1.5 h 的操作条件下，比较了间歇式、塔釜液通过进料口返回塔中的半间歇式、简单塔、提馏塔 I、提馏塔 II 不同操作方式对泡沫分离效果的影响，结果见表 1。间歇法分离无患子总皂苷质量浓度较低，中部进料的连续式（提馏塔Ⅰ）的分离效果较其他方法好。这是因为在不改变液相高度和泡沫层高度的同时，延长了气液传质时间，吸附量增大，η 升高。但同时延缓了泡沫的排液，E 有所下降。此外，连续式操作较间歇式稳定，分离的总皂苷质量浓度较高。因此，以下实验均采用中部进料的方式进行连续式泡沫分离。

表 1 不同操作方式对泡沫法分离无患子总皂苷的影响

Table 1 Effects of operation procedures on isolation of saponins in *S. mukorossi* by continuous foam separation

操作方式	E	η/%	p/%
间歇式	193.7	22.35	77.35
半间歇式	143.7	23.42	82.56
提馏塔 I	129.6	27.55	87.78
提馏塔 II	115.4	22.62	85.63
简单塔	179.6	13.48	83.74

2.5 正交试验

由泡沫分离的原理可知，进料液中无患子总皂苷的质量浓度、溶液 pH 值、气体体积流量和溶液体积流量会影响泡沫的稳定性、气液相界面及泡沫的浮生速度，进料口高度的变化影响气液的传质时间。同时单因素试验结果表明，进料液中总皂苷质量浓度、气体体积流量、进料液体积流量、进料口高度以及进料液 pH 值对泡沫分离的效果有较大影响。无患子总皂苷的 η 随着进料液质量浓度的增大而升高，当到达临界胶束质量浓度 30 mg/L 时，无患子总皂苷的表面吸附达到饱和，η 降低；随着气体体积流量和进料液体积流量的增大，无患子总皂苷的 E 均表现出下降的趋势且 η 逐渐升高；进料口高度的增大利于皂苷的富集，但当高度达到 40 cm 时 η 呈下降趋势；进料液 pH 值的变化对泡沫分离的效果影响显著，在进料液原始 pH 4.40 附近出现 η 最大、E 最小的现象。故本实验选取进料液质量浓度（A）、气体体积流量（B）、进料液体积流量（C）、进料口高度（D）及进料液 pH 值（E）5 个因素进行正交试验，相应的因素水平见表 2。采用综合评分法，以无患子总皂苷的 E、η 及 p 为评价指标；由于本试验分离的主要目的是对无患子总皂苷进行提纯，故综合评分中以产品的 η 及 p 为主要评价指标，因此定义综合评分＝$0.1\,E+0.4\,\eta+0.5\,p$[15]。正交试验设计及结果见表 3，方差分析见表 4。

表 2 因素与水平

Table 2 Factors and levels

水平	因素				
	A/(mg·L^{-1})	B/(L·min^{-1})	C/(mL·min^{-1})	D/cm	E
1	20	0.6	25	30	4.00
2	30	0.8	35	40	4.40
3	40	1.0	45	50	6.00

从极差分析和方差分析结果来看，各因素对泡沫分离效果影响的主次关系为：A＞D＞E＞B＞C，即进料液质量浓度对泡沫分离效果的影响最大，具有极显著影响（P＜0.01）。这是由于无患子总皂苷为表面活性物质，其质量浓度会影响总皂苷在泡沫表面的吸附效果，进而影响总皂苷溶液的起泡能力和形成泡沫的稳定性。以综合评分为指标，可得到连续式泡沫分离的最佳工艺条件为 $A_1B_1C_2D_2E_2$，即进料液质量浓度为 20 mg/L，气体体积流量为 0.6 L/min，进料液体积流量为 35 mL/min，进料口高度为 40 cm，进料液 pH 值为 4.40。此时，无患子总皂苷的 E 高达 591.166，η 为 23.64%，p 为 90.27%、较原料液纯度提高了 3 倍。

表 3 正交试验设计及结果

Table 3 Design and results of orthogonal test

试验号	A	B	C	D	E	综合评分
1	1	1	1	1	1	88.0
2	1	2	2	2	2	109.7
3	1	3	3	3	3	76.1
4	2	1	2	2	3	72.0
5	2	2	3	3	1	58.1
6	2	3	1	1	2	73.6
7	3	1	1	3	2	55.7
8	3	2	2	1	3	61.1
9	3	3	3	2	1	55.7
10	1	1	3	2	2	88.9
11	1	2	1	3	3	77.2
12	1	3	2	1	1	78.5
13	2	1	3	1	3	71.2
14	2	2	1	2	1	67.6
15	2	3	2	3	2	57.0
16	3	1	2	3	1	59.0
17	3	2	3	2	2	60.8
18	3	3	1	1	3	61.1
K_1	518.4	434.8	423.2	433.5	406.9	
K_2	399.5	434.5	437.3	454.7	445.7	
K_3	353.4	402.0	410.8	383.1	418.7	
R	165.0	32.8	26.5	71.6	38.8	

表 4 方差分析

Table 4 Analysis of variance

因 素	偏差平方和	自由度	F 值	显著性
A	2 411.864	2	27.343	P＜0.01
B	118.593	2	1.344	
C	59.203	2	0.671	
D	453.787	2	5.145	
E	133.017	2	1.508	
误 差	128.386	2	1.456	

$F_{0.01}$（2，4）＝18.000 $F_{0.05}$（2，4）＝6.940

2.6 泡沫分离法与其他分离方法的比较

在 25 ℃下，分别将 pH 值为 4.40 的无患子总皂苷水提液通过截留相对分子质量为 6 000 的超滤膜分离纯化[7]、采用 AB-8 型大孔树脂吸附分离[6]

以及采用最佳泡沫分离条件分离，比较 3 种方法的分离效果，结果见表 5。可以看出，泡沫分离所得无患子总皂苷的 p 较高，与大孔树脂吸附分离相近，但明显高于超滤法；产品 η 略低于超滤分离法，但较大孔树脂吸附分离大大提高。

表 5 泡沫分离与其他分离方法的比较 (n＝3)

Table 5 Comparison of foam separation with other separation methods (n = 3)

分离方法	η/%	p/%
超滤	30.00	72.42
大孔树脂吸附	5.00	91.30
连续式泡沫	23.64	90.27

3 讨论

本实验结果表明，泡沫分离工艺所得到产品质量分数高，与大孔树脂吸附分离和超滤法相比，具有操作简单、不使用有机溶剂等优点，但产品收率偏低、仅为 23.64%。有文献报道泡沫法分离产品收率不高，如兰洁等[16]在采用间歇式泡沫分离法纯化重楼皂苷时，产品的收率为 42.1%；Ma 等[17]采用间歇泡沫分离法纯化甘草皂苷的产品收率为 30.2%。这主要是由于泡沫分离的传质过程是表面活性物质在气泡表面与液相之间进行的，泡沫的稳定性是分离好坏的关键。分离过程中，泡沫易发生聚并、破裂等现象，从而导致产品的收率偏低。

根据正交试验结果，无患子总皂苷的最佳进料液质量浓度为 20 mg/L，说明泡沫分离较适用于低质量浓度物质的分离。这是因为当总皂苷质量浓度超过临界胶束质量浓度时，总皂苷在泡沫的表面吸附达饱和，多余的总皂苷分子开始在溶液内部形成“胶束”，分离效果将减弱。因此，可将泡沫分离技术与其他分离技术联用，从而达到产品分离质量分数与收率均较高目的[18]。

参考文献

[1] 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.

[2] Ojha P, Maikhuri J P, Gupta G. Effect of spermicides on *Lactobacillus acidophilus in vitro*-nonoxynol-9 vs. *Sapindus* saponins [J]. *Contraception*, 2003, 68(2): 135-138.

[3] Albiero A L M, Sertie J A A, Bacchi E M. Antiulcer activity of *Sapindus saponaria* L. in the rat [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 82(1): 41-44.

[4] 王维胜, 龙子江, 张 玲, 等. 无患子皂苷对肾性高血压大鼠血压及血管活性物质的影响 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(16): 1703-1705.

[5] 饶厚曾, 桑成涛. 微波萃取法提取无患子皂苷工艺 [J]. 辽宁石油化工大学学报, 2006, 26(4): 70-72.

[6] 魏凤玉, 张道福. 无患子总皂苷的制备方法 [P]. 中国专利: CN1935820A, 2006-10-14.

[7] 魏凤玉, 解 辉, 余锦城, 等. 超滤法分离提纯无患子皂苷 [J]. 膜科学技术, 2008, 28(2): 85-88.

[8] 周长春, 刘炯天, 周志坚. 泡沫浮选在生化分离技术中的应用 [J]. 选煤技术, 2002, 12(6): 17-21.

[9] 马家骅, 谭承佳, 韩 丽, 等. 泡沫分离法用于蜣螂蛋白质分离的研究 [J]. 中草药, 2009, 40(8): 1223-1225.

[10] 王 琳, 吴兆亮, 赵艳丽, 等. 泡沫分离绞股蓝粗提液中绞股蓝皂苷的工艺研究 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 203-206.

[11] 修志龙, 张代佳, 贾凌云, 等. 泡沫分离法分离人参皂苷 [J]. 过程工程学报, 2001, 1(3): 289-292.

[12] 苏艳桃, 韩 丽, 张艳艳, 等. 甘草皂苷分级泡沫分离工艺研究 [J]. 中成药, 2006, 28(11): 1572-1574.

[13] Lambert W D, Du L P, Ma Y F, *et al*. The effect of pH on the foam fractionation of β-glucosidase and cellulose [J]. *Bioresour Technol*, 2003, 87(3): 247-253.

[14] 魏凤玉, 张 静, 解 辉. 无患子总皂苷含量的测定 [J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(4): 81-83.

[15] 刘振学, 黄仁和, 田爱民. 实验设计与数据处理 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.

[16] 兰 洁, 李 锐, 韩 丽, 等. 泡沫分离法分离重楼中重楼皂苷的工艺研究 [J]. 中草药, 2008, 39(1): 44-47.

[17] Ma J G, Xiu Z L, Zhang D J, *et al*. Concentration and separation of glycyrrhizic acid by foam separation [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2002, 77(6): 720-724.

[18] 兰 洁, 杨 明, 王 瑾. 重楼皂苷的两种分离工艺及其联用效果的比较 [J]. 华西药学杂志, 2008, 23(6): 672-674.