

· 研究论文 ·

文章编号: 1001-5493(2024)03-0255-09

DOI: 10.16026/j.cnki.ica.2024030255

大孔吸附树脂对茶皂素的吸附纯化特性及抗氧化活性研究*

尹任焰, 杨佳瑶, 王艺潼, 王宏鹏**

(浙江科技大学生物与化学工程学院, 浙江省农产品化学与生物加工技术重点实验室, 杭州 310023)

摘要: 茶皂素具备多种生物活性, 已被应用于各个领域, 但现阶段提取出的茶皂素纯度较低, 不利于进一步开发利用, 故需要对其进行分离纯化。从18种大孔吸附树脂中筛选出纯化茶皂素性能最佳的树脂, 分析其吸附热力学和吸附动力学特征, 并考察其纯化前后体外抗氧化活性差异。结果表明, 在18种大孔吸附树脂中, X-5型树脂对茶皂素的纯化效果是最佳的, 其得率为(84.1±0.07)%; Langmuir等温吸附模型($R^2>0.99$)较Freundlich模型能够更好地拟合茶皂素在X-5型树脂上的吸附等温线; X-5型树脂对茶皂素的吸附过程属于自发进行、熵减、放热的物理吸附, 更适于采用准二级动力学模型($R^2>0.99$)进行拟合; 经X-5型树脂纯化后, 茶皂素的纯度(24.18±0.3)%提升至(80.62±0.42)%, 清除ABTS自由基、DPPH自由基的能力和总还原力分别是纯化前的1.63、1.61和1.57倍, 说明纯化效果显著。

关键词: 茶皂素, 大孔吸附树脂, 吸附热力学, 吸附动力学, 抗氧化活性

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A

1 前言

茶皂素(Tea saponin)主要来源于油茶籽, 是一种齐墩果烷型五环三萜类皂苷的混合物, 其相对分子质量为1200左右, 属于大分子化合物^[1]。油茶粕中, 茶皂素的含量约为10%, 此外含有约40%的粗纤维、27%的总糖、10%的水分、6%的脂肪及少量多酚类化合物^[2]。茶皂素又名茶皂苷, 其外观呈无色微细柱状晶体状, 或白色无定形粉末状^[3], 基本结构由有机酸、糖体及皂苷元组成(图1)^[4]。另外, 茶皂素作为一种性能优良的天然非离子型表面活性剂^[5], 具有乳化^[6]、消炎^[7]、降血糖^[8]、发泡^[9]、抑菌^[10]、抗癌^[11]、抗氧化^[12]等多种生物活性, 现已广泛

应用于食品、医药、农业、日用化工等多种领域^[13-14]。然而, 当今市面上销售的茶皂素大多纯度不高^[15], 不利于进一步开发利用, 因此获得高纯度茶皂素, 以满足各个领域需求, 是当下急需解决的问题^[16]。

目前茶皂素的纯化方法主要有有机溶剂萃取法、柱层析法、絮凝剂沉淀法、离子交换树脂法、超滤膜法等^[16-17], 但这些方法皆存在毒性过强、纯化成本较高、设备要求高等不足之处^[18]。大孔树脂吸附法具有成本低、操作便利、吸附后样品纯度高、可循环利用等优势, 对于较大分子质量的化合物具有显著的吸附效果^[19]。目前, 已有一些将大孔树脂吸附法应用于茶皂素分离纯化的报道, 如孟维等^[20]利用AB-8型树

* 收稿日期: 2023-10-09

基金项目: 浙江省“领雁”攻关研发计划项目(基金号2022C02023); 中央本级重大增减支项目(基金号2060302); 浙江科技学院科研业务专项(基金号2023JLZD007, 2023QN024)。

作者简介: 尹任焰(1999—), 硕士研究生。

**通信作者: E-mail: wanghongpeng@zust.edu.cn.

引用本文: 尹任焰, 杨佳瑶, 王艺潼, 王宏鹏. 大孔吸附树脂对茶皂素的吸附纯化特性及抗氧化活性研究[J]. 离子交换与吸附, 2024, 40(3): 255-263.

Citation: YIN Ren-yan, YANG Jia-yao, WANG Yi-tong, WANG Hong-peng. Study on the Adsorption and Purification Characteristics and Antioxidant Activity of Tea Saponins by Macroporous Adsorption Resin[J]. Ion Exchange and Adsorption, 2024, 40(3): 255-263.

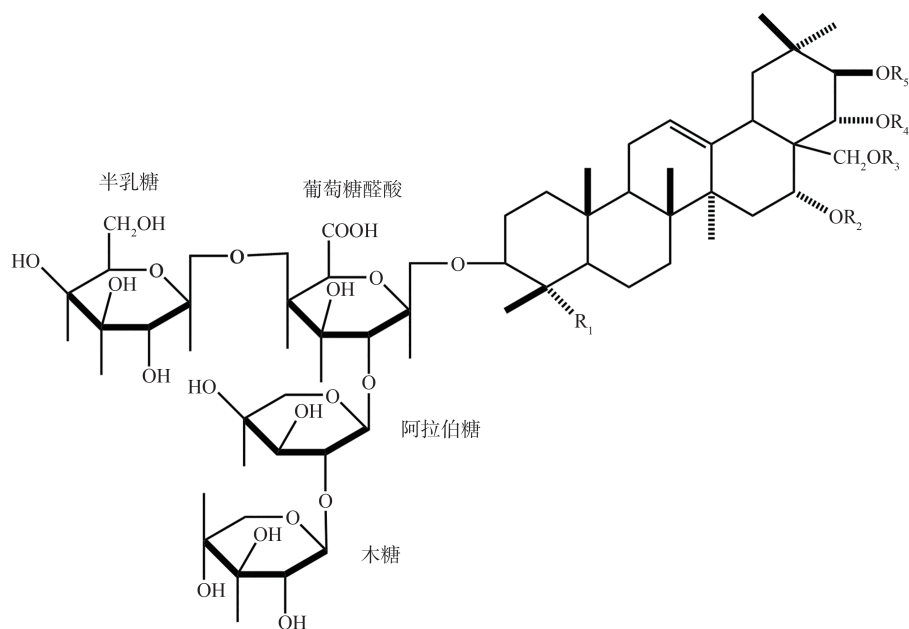


图1 茶皂素结构示意图.

Figure 1 The sketch map of tea saponin's structure.

脂分离纯化茶皂素,其纯度可达88.9%;李国武等^[21]研究了10种大孔树脂对茶皂素的静态吸附-解吸性能,筛选出的D101型树脂为最优树脂。根据相关文献报道,皂苷类化合物更适合利用非极性的大孔树脂进行分离纯化,并且孔径越大,吸附效果越好。而AB-8型树脂为弱极性树脂,D101型树脂虽然属于非极性树脂,但孔径较小,因此仍需探索更适于分离纯化目标分子的大孔树脂。

本研究利用大孔树脂吸附法,从油茶粕中分离纯化出茶皂素。考察了18种不同型号大孔吸附树脂对茶皂素的静态吸附-解吸效果,筛选出纯化性能最佳的大孔吸附树脂,并研究其对茶皂素的吸附动力学及吸附热力学特征,最终测定纯化前后茶皂素的体外抗氧化活性,期为茶皂素的分离纯化及开发利用提供一定的理论参考。

2 实验部分

2.1 试剂和仪器

油茶粕,购自浙江省常山县绿圣生物科技有限公司;茶皂素标准品(纯度>95%),购自上海源叶生物科技有限公司;磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、氯化钠、氯化钾、无水乙醇、氢氧化钠、浓盐酸,购自上海凌峰化学试剂有限公司;D101、ADS-17、X-5等18种不同型号的大孔吸

附树脂,购自杭州市慧赢仪器有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),购自Sigma公司;三氯化铁、铁氰化钾、过硫酸钾、三氯乙酸,购自国药集团化学试剂有限公司;2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、抗坏血酸(VC),购自阿拉丁试剂有限公司。以上所有试剂均为分析纯。

800C多功能粉碎机,浙江省永康市红太阳机电有限公司;DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器,上海力辰邦西仪器科技有限公司;Agilent 1220 Infinity II液相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司;SHZ-D(III)型循环水真空泵,杭州明远仪器有限公司;N-1100型旋转蒸发器,上海爱朗仪器有限公司;101-3B电热鼓风干燥箱,浙江力辰仪器科技有限公司;GT0304型超声波清洗机,深圳冠博科技实业有限公司;Ten Sug恒温摇床,上海天呈实验仪器制造有限公司;V-1100型可见分光光度计,上海元析仪器有限公司。

2.2 实验方法

2.2.1 茶皂素的提取

准确称取200.00 g茶粕,粉碎后过60目筛并倒入烧杯,加入200 mL石油醚超声浸提脱脂2 h,抽滤,置于通风橱内10 h至石油醚完全挥发,在65 °C真空干燥10 h。准确称取100.00 g

茶粕粉,以料液比1:5(g/mL)加入500 mL 80%乙醇,于50 °C回流浸提2 h,过滤后收集滤液,减压回收乙醇,冷冻干燥得到茶皂素粗提物,备用^[22]。

2.2.2 茶皂素含量的测定

茶皂素的定量分析采用高效液相色谱法,色谱条件:采用Kromasil 100-5C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱,流动相为乙腈(含0.1%甲酸)和超纯水(含0.1%甲酸)。流动相洗脱梯度:0~3 min, 5%乙腈;3~8 min, 20%乙腈;8~20 min, 5%乙腈;20~22 min, 5%乙腈。流动相的流速为1 mL/min,进样量为10 μL,检测波长为210 nm,

柱温为30 °C。精密称取茶皂素标准品10 mg,置于10 mL容量瓶中,配制成1 mg/mL的母液;取一定体积的母液,用80%乙醇稀释为0.8、0.6、0.4、0.2和0.1 mg/mL的溶液,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线^[23]。

2.2.3 大孔吸附树脂预处理

将18种不同型号的大孔吸附树脂(表1)分别置于18个300 mL锥形瓶中,先用95%乙醇浸泡24 h至其充分溶胀,用蒸馏水冲洗至无乙醇气味;再置于5%氢氧化钠溶液中浸泡5 h,用蒸馏水冲洗至中性;最后置于5%盐酸溶液中浸泡5 h,用蒸馏水冲洗至中性,备用^[24]。

表1 18种不同型号大孔吸附树脂的理化性质及静态吸附-解吸茶皂素效果。

Table 1 The physicochemical properties and static adsorption-desorption effects of tea saponin by 18 kinds of macroporous resins with different types.

树脂型号	性质	孔径 (nm)	比表面积 (m ² /g)	吸附容量 (mg/g)	吸附率 (%)	解吸率 (%)	得率 (%)
X-5	非极性	75~100	500~600	31.16±0.04	88.90±0.12	94.60±0.56	84.10±0.07
H103	非极性	85~95	900~1100	35.01±0.02	99.70±0.01	78.72±0.36	78.53±0.01
DM301	非极性	25~30	90~150	28.05±0.13	78.69±0.47	95.95±0.84	75.51±0.39
ADS-17	弱极性	13~14	480~520	30.04±0.36	81.42±1.28	90.66±1.01	73.81±1.29
AB-8	弱极性	14~17	≥330	27.38±0.09	85.81±0.30	85.58±1.20	73.43±0.36
IRA-118	非极性	48~73	500~520	30.42±0.44	88.34±1.43	79.28±0.62	70.04±0.89
XAD-1	非极性	20~22	570~590	30.56±0.12	88.27±0.38	79.00±0.26	69.73±0.10
HPD300	非极性	50~55	≥650	31.10±0.30	84.83±0.96	81.25±0.42	68.92±0.40
DM130	弱极性	90~100	500~550	31.41±0.14	90.17±0.45	75.70±0.85	68.26±0.38
HP-20	极性	100~120	100~120	31.38±0.07	86.68±0.23	78.02±0.09	67.63±0.76
S-8	非极性	85~95	500~550	28.12±0.30	81.41±1.07	83.08±0.71	67.61±0.32
D3520	非极性	85~90	480~520	33.20±0.11	94.51±0.32	69.97±1.01	66.13±0.32
HPD100	非极性	120~160	≥550	32.13±0.13	90.62±0.42	72.38±0.43	65.59±0.18
NKA-2	极性	145~155	160~200	28.78±0.12	81.82±0.45	77.86±1.42	63.70±0.57
D101	非极性	12~16	500~550	27.80±0.05	79.58±0.18	78.49±0.15	62.46±0.03
DA201	极性	20~45	30~60	22.13±0.17	62.46±0.75	71.90±1.65	44.91±1.24
D061	极性	10~13	≥200	15.86±0.22	46.72±1.41	76.39±0.81	35.69±1.14
CAD-40	弱极性	7~8	450~500	21.93±0.84	66.49±3.84	26.70±1.70	17.75±6.52

2.2.4 大孔吸附树脂的筛选

称取不同型号的大孔吸附树脂各5.00 g,分别置于18个300 mL锥形瓶中,加入100 mL质量浓度为4 mg/mL的茶皂素吸附液,以130 r/min、303 K振荡24 h至吸附平衡后抽滤,测定滤液中茶皂素的质量浓度,分别根据公式(1)和公式(2)计算出大孔吸附树脂对茶皂素的平衡吸附容量 Q_e 及吸附率 y_1 。将上述吸附后的大孔吸附树

脂用蒸馏水反复冲洗,并用定性滤纸吸干表面水分,分别置于不同的300 mL锥形瓶中,加入100 mL 80%乙醇,以150 r/min、303 K振荡24 h至充分解吸后抽滤,测定滤液中茶皂素的质量浓度,分别根据公式(3)和公式(4)计算出茶皂素的解吸率 y_2 及得率 y_3 ^[25]。

$$Q_e = \frac{C_0 - C_1 \times V}{m} \quad (1)$$

$$y_1 = \frac{C_0 - C_1}{C_0} \times 100\% \quad (2)$$

$$y_2 = \frac{C_2}{(C_0 - C_1)} \times 100\% \quad (3)$$

$$y_3 = y_1 \times y_2 \quad (4)$$

式中, Q_e 为茶皂素的平衡吸附量, mg/g; C_0 为吸附液中茶皂素的质量浓度, mg/mL; C_1 为经大孔树脂吸附后溶液中茶皂素的质量浓度, mg/mL; V 为吸附液的体积, mL; m 为干燥的大孔树脂的质量, g; y_1 为茶皂素的吸附率, %; y_2 为茶皂素的解吸率, %; C_2 为解吸液中茶皂素的质量浓度, mg/mL; y_3 为茶皂素的得率, %。

2.2.5 大孔吸附树脂吸附热力学实验

准确称取 5.00 g X-5 型树脂于不同的 300 mL 锥形瓶中, 加入 100 mL 质量浓度分别为 10、20、30、40 和 50 mg/mL 的茶皂素吸附液, 分别于 298、303、308 和 313 K 以 130 r/min 振荡 24 h 至吸附平衡后抽滤, 并测定滤液中茶皂素的质量浓度, 分别根据公式 (1) 和公式 (2) 计算出吸附容量 Q_e 和吸附率 y_1 , 并绘制吸附等温线。

2.2.6 大孔吸附树脂吸附动力学实验

准确称取 5.00 g X-5 型树脂于 300 mL 锥形瓶中, 加入 100 mL 质量浓度为 6 mg/mL 的茶皂素吸附液, 于 298 K 以 130 r/min 振荡 8 h, 其间每隔 30 min 快速吸取出 1 mL 溶液, 测定其中茶皂素的质量浓度, 根据公式 (5) 计算瞬时吸附容量 Q_t , 并绘制吸附动力学曲线。

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_t) \times V}{m} \quad (5)$$

式中, Q_t 为瞬时吸附容量, mg/g; C_t 为 t 时刻溶液中茶皂素的质量浓度, mg/mL。

2.2.7 体外抗氧化试验

2.2.7.1 清除 ABTS 自由基能力的测定

参照 Yu 等^[26]的方法并略加修改, 具体实验步骤: 准确移取 10 mL 7 mmol/L 的 ABTS 溶液及 0.1 mL 2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液, 混匀后室温避光静置 24 h; 将 0.1 mL 不同质量浓度的样液分别加入 5 mL ABTS 溶液中, 混匀后静置 10 min, 以无水乙醇作为空白对照, 以 VC 作为阳性对照, 于波长 734 nm 处测定吸光度 A_1 , 根据公式 (6) 计算其清除率 d_1 。

$$d_1 = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\% \quad (6)$$

式中, d_1 为 ABTS 自由基清除率, %; A_0 为空白

对照的吸光度; A_1 为样品的吸光度。

2.2.7.2 清除 DPPH 自由基能力的测定

参照 Wang 等^[27]的方法并略加修改, 具体实验步骤: 将 4 mg DPPH 溶于 100 mL 无水乙醇, 混匀后于 4 °C 避光保存; 将 2 mL 不同质量浓度的样液与 1 mL 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液混匀, 避光静置 1 h。以无水乙醇为空白对照, 以 VC 作为阳性对照, 于波长 517 nm 处测定吸光度 A_2 。根据公式 (7) 计算其清除率 d_2 。

$$d_2 = \frac{A_0 - A_2}{A_0} \times 100\% \quad (7)$$

式中, d_2 为 DPPH 自由基的清除率, %; A_0 为空白对照的吸光度; A_2 为样品的吸光度。

2.2.7.3 总还原力的测定

参照 Mei 等^[28]的方法并略加修改, 具体试验步骤: 配制不同质量浓度的茶皂素粗提液、纯化液和 VC 溶液, 取 2 mL 样液, 加入 2 mL 磷酸盐缓冲液 (pH=6.6) 和 2 mL 1% 铁氰化钾溶液, 混匀后置于 50 °C 反应 20 min, 冷却后加入 2 mL 10% 三氯乙酸溶液, 混匀后于 10000 r/min 离心 10 min, 取 2 mL 上清液, 加入 2 mL 蒸馏水和 1 mL 0.1% 三氯化铁溶液, 静置 30 min 后于波长 700 nm 处测定吸光度 A_3 。吸光度越大, 表示还原力越强。

3 结果与讨论

3.1 大孔吸附树脂的筛选

根据表 1 可知, 单从吸附率来看, 在选用的 18 种不同型号的大孔吸附树脂中, H103 型树脂对茶皂素的吸附效果最好, 其次是 D3520 型树脂、HPD100 型树脂、DM130 型树脂和 X-5 型树脂, 而 CAD-40 型树脂、D061 型树脂和 DA-201 型树脂吸附效果较差。这主要是因为茶皂素为极性物质, 当选用的大孔吸附树脂与目标物极性相反时, 纯化效果会比较好^[29]。同时, 孔径较大的大孔吸附树脂一般也能达到较好的吸附效果。另外, 单从解吸率来看, X-5 型树脂的解吸效果最好, 其次是 DM301 型树脂和 ADS-17 型树脂。但是评价一种大孔吸附树脂的分离纯化效果, 需要进行综合考虑, 因此, 选用得率最高的 X-5 型树脂开展后续试验。

3.2 吸附热力学研究

3.2.1 吸附等温线分析

常见的等温吸附模型有 Langmuir 模型与

Freundlich 模型^[30], 其线性表达式分别见公式 (8) 和公式 (9), 拟合结果分别见图 2 及表 2~3。

$$\frac{C_1}{Q_e} = \frac{1}{k_L Q_m} + \frac{C_1}{Q_m} \quad (8)$$

$$\ln Q_e = \ln k_F + \frac{1}{n} \ln C_1 \quad (9)$$

式中, Q_m 为最大吸附容量, mg/g; k_L 为结合常数; k_F 为 Freundlich 系数; n 为表观常数。

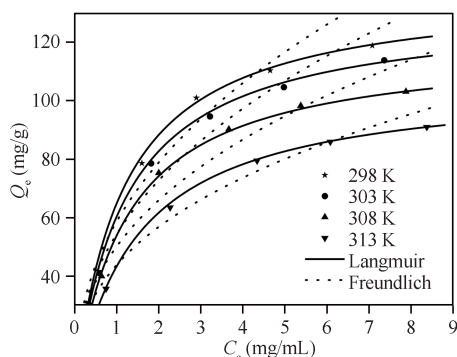


图 2 X-5 型树脂对茶皂素的等温吸附模型拟合效果。

Figure 2 Fitting of the isotherm adsorption model of tea saponin absorption by X-5 resin.

表 2 Langmuir 回归方程拟合结果。

Table 2 Fitting of Langmuir regression equations.

$T(K)$	回归方程	k_L	Q_m (mg/g)	R^2
298	$C_1/Q_e=0.00724C_1+0.00818$	0.8851	138.121	0.9948
303	$C_1/Q_e=0.00762C_1+0.00895$	0.8514	131.233	0.9942
308	$C_1/Q_e=0.00841C_1+0.01015$	0.8286	118.906	0.9919
313	$C_1/Q_e=0.00936C_1+0.01371$	0.6827	106.837	0.9973

表 3 Freundlich 回归方程拟合结果。

Table 3 Fitting of Freundlich regression equations.

$T(K)$	回归方程	k_F	n	R^2
298	$\ln Q_e = 0.426451 \ln C_1 + 4.07193$	58.67	2.3449	0.8913
303	$\ln Q_e = 0.41936 \ln C_1 + 3.99586$	54.3726	2.3846	0.9202
308	$\ln Q_e = 0.39477 \ln C_1 + 3.91481$	50.1396	2.5331	0.9315
313	$\ln Q_e = 0.37396 \ln C_1 + 3.78035$	43.8313	2.6741	0.9696

表 4 X-5 型树脂对茶皂素吸附的热力学参数分析结果。

Table 4 Thermodynamic parameters of tea saponin adsorption by X-5 resin.

Q_e (mg/mL)	ΔH (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)				ΔS [J·(mol·k) ⁻¹]			
		298 K	303 K	308 K	313 K	298 K	303 K	308 K	313 K
10	-14.6730					-29.7428	-28.6004	-26.5793	-24.6464
20	-17.8247					-40.3188	-39.0019	-36.812	-56.9478
30	-19.5274	-5.8096	-6.0071	-6.4866	-6.9587	-46.0326	-44.6214	-42.3403	-62.3878
40	-23.0895					-57.9860	-56.3776	-53.9055	-73.7684
50	-25.9402					-67.5520	-65.7857	-63.1609	-82.8759

由图 2 及表 2~3 可知, Langmuir 模型的 R^2 大于 Freundlich 模型的, 说明 Langmuir 等温吸附模型能更准确地描述 X-5 型树脂对茶皂素的吸附过程。Langmuir 等温吸附模型的拟合参数 Q_m 和 k_L 值均随着温度的升高而减小, 证明其吸附过程为放热过程^[31]。

3.2.2 吸附热力学参数

ΔG 、 ΔH 和 ΔS 是表征吸附过程自发性和热量变化的标准态热力学参数^[32], 其相关表达式见公式 (10)~(12), 热力学参数分析结果见表 4。

$$\ln C_1 = \ln k_0 + \frac{\Delta H}{RT} \quad (10)$$

$$\Delta G = -nRT \quad (11)$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T} \quad (12)$$

式中, k_0 表示 Clapeyron-Clausius 常数; ΔH 表示吸附焓变, kJ/mol; T 表示试验温度, K; R 表示气体常数, 取 8.314 J/(mol·K); n 表示 Freundlich 公式中的表观常数; ΔG 表示吸附自由能, kJ/mol; ΔS 表示吸附熵变, J/(mol·K)。

由表4可知, $\Delta H < 0$, 说明X-5型树脂对茶皂素的吸附属于放热过程; $|\Delta H| < 40 \text{ kJ/mol}$, 说明吸附过程本质为物理吸附^[33]; $\Delta G < 0$, 说明吸附过程为自发进行的过程; $\Delta S < 0$, 说明吸附是一个熵减的过程^[34]。

3.3 吸附动力学研究

分别采用准一级动力学方程、准二级动力学方程对试验结果进行拟合分析^[35], 其线性表达式见公式(13)和公式(14), 拟合结果分别见图3及表5。

$$\ln(Q_e - Q_t) = \ln Q_E - k_1 t \quad (13)$$

$$t/Q_t = \frac{1}{k_2 Q_E^2} + \frac{t}{Q_E} \quad (14)$$

式中, Q_E 表示茶皂素的理论平衡吸附容量, mg/g;

k_1 表示准一级吸附速率常数; k_2 表示准二级吸附速率常数。

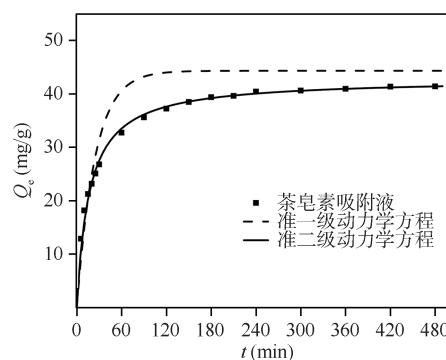


图3 X-5型树脂对茶皂素的吸附动力学模型拟合结果。
Figure 3 Fitting of kinetics model of tea saponin adsorption by X-5 resin.

表5 X-5型树脂对茶皂素的吸附动力学模型拟合结果。

Table 5 Thermodynamic parameters of tea saponin adsorption by X-5 resin.

动力学模型	回归方程	模型参数
准一级动力学	$\ln(Q_e - Q_t) = 3.7901 - 0.0412t$	$k_1 = 0.0412$ $Q_E = 44.2608$ $R^2 = 0.9182$
准二级动力学	$t/Q_t = 0.0234t + 0.3795$	$k_2 = 0.0014$ $Q_E = 42.79$ $R^2 = 0.9999$

由图3可知, X-5型树脂在60 min内吸附量增加迅速, 为快速吸附阶段; 在60~240 min内增加缓慢, 为未饱和吸附阶段; 在240 min之后吸附基本达到平衡, 为饱和吸附阶段^[36]。由表5可知, 准二级动力学方程 ($R^2 > 0.99$) 中的 Q_E 与实测值最为接近, 由此可得出准二级动力学方程更适用于描述X-5型树脂对茶皂素的吸附动力学特征。

3.4 茶皂素纯度对比

经过X-5型树脂静态吸附—解吸后, 样品中茶皂素的含量由 $(24.18 \pm 0.3) \%$ 提升至 $(80.62 \pm 0.42) \%$, 结果见图4。

3.5 茶皂素抗氧化试验结果

3.5.1 清除ABTS自由基能力的测定

由图5可知, 在一定质量浓度范围内, 茶皂素对于ABTS自由基的清除能力伴随着质量浓度的提高而增强, 当溶液质量浓度为 2 mg/mL 时, 纯化前的茶皂素对于ABTS自由基的清除率为 $(46.32 \pm 1.07) \%$, 纯化后的茶皂素对于ABTS自由基的清除率为 $(75.71 \pm 1.2) \%$, 提升至纯化前

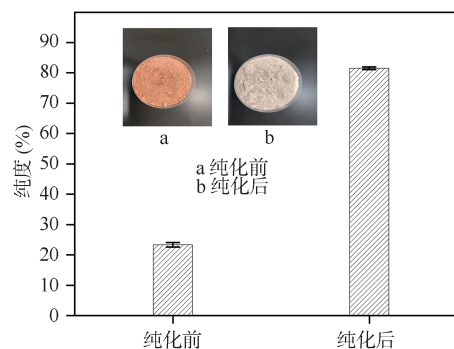


图4 茶皂素纯化前后纯度及外观变化。

Figure 4 Contrasts of the purity and appearance of purified and unpurified tea saponins.

的1.63倍, 说明纯化效果显著。

3.5.2 清除DPPH自由基能力的测定

由图6可知, 在一定质量浓度范围内, 茶皂素对DPPH自由基的清除能力伴随着质量浓度的提高而增强, 当溶液质量浓度为 2 mg/mL 时, 纯化前的茶皂素对DPPH自由基的清除率为 $(46.59 \pm 1.1) \%$, 纯化后的茶皂素对DPPH自由基的清除率

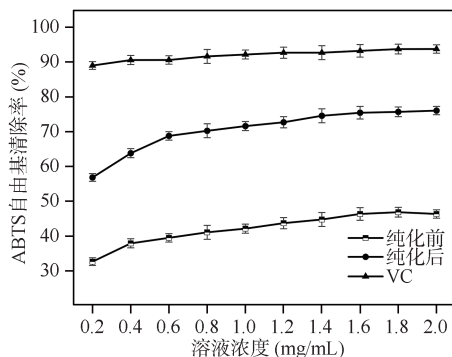


图5 茶皂素纯化前后对ABTS自由基的清除效果。

Figure 5 Contrast of the removal of ABTS free radicals by purified and unpurified tea saponins.

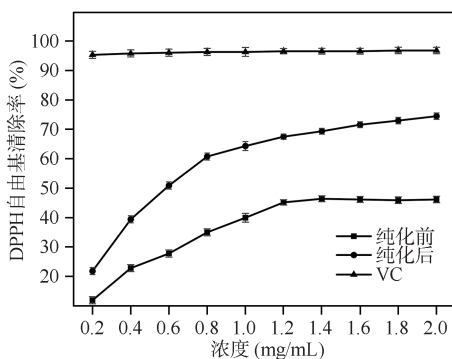


图6 茶皂素纯化前后对DPPH自由基的清除效果。

Figure 6 Contrast of the removal of DPPH free radicals by purified and unpurified tea saponins.

为(75.15±1.7)%, 提升至纯化前的1.61倍, 说明纯化效果显著。

3.5.3 总还原力的测定

由图7可知, 在一定质量浓度范围内, 茶皂素的总还原力伴随着质量浓度的提高而增强, 表明茶皂素具有一定的还原性。当茶皂素溶液质量浓度为2 mg/mL时, 纯化前的茶皂素的吸光度为(0.44±0.013), 纯化后的为(0.69±0.011),

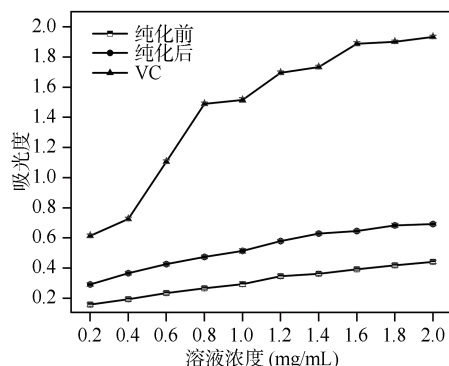


图7 茶皂素纯化前后的总还原力。

Figure 7 Contrast of the total reducing power of purified and unpurified tea saponins.

提升至未纯化前的1.57倍, 说明纯化效果显著。

4 结论

本研究以油茶粕为原料, 研究18种不同型号大孔吸附树脂对茶皂素的静态吸附中解吸效果, 筛选出X-5型树脂作为分离纯化茶皂素的最佳树脂。吸附热力学结果表明, 在298~313 K下, X-5型树脂对茶皂素的吸附过程为自发进行、放热、熵减的物理吸附, Langmuir模型较Freundlich模型能够更好地拟合其吸附等温线。吸附动力学结果表明, X-5型树脂对茶皂素的吸附过程为快速平衡型吸附, 准二级动力学方程可更好地描述其对茶皂素的吸附动力学特征。经过X-5型树脂纯化, 茶皂素的纯度由(24.18±0.3)%提升至(80.62±0.42)%。体外抗氧化试验结果表明, 茶皂素在纯化前后的总还原力、对DPPH自由基及ABTS自由基的清除率提升较为明显, 说明纯化效果显著。本研究为茶皂素的分离纯化及开发利用提供了一定的理论参考。

参考文献

- 1 YU Z L, WU X H, HE J H. Study on the antifungal activity and mechanism of tea saponin from *Camellia oleifera* cake [J]. *European Food Research and Technology*, **2022**, 248(3): 783-795.
- 2 刘楚岑, 裴小芳, 周文化, 莫华. 油茶饼粕中主要成分及其综合利用研究进展 [J]. *食品与机械*, **2020**, 36(7): 227-232.
- 3 江南, 胡钰迪, 李霞. 油茶加工剩余物中茶皂素的生物活性及其应用研究进展 [J]. *包装学报*, **2022**, 14(4): 42-49.
- 4 李进. 茶籽粕中茶皂素的提取及纯化工艺研究 [D]. 西安: 陕西科技大学, **2013**.
- 5 ZHANG J H, ZHANG M, BAI B Q, JIA H W, FAN S S. Studies on adsorption kinetics and thermodynamics of macroporous resin for rosmarinic acid [J]. *Journal of Oleo Science*, **2021**, 70(3): 439-451.

- 6 GAO W, JIANG Z F, DU X J, ZHANG F F, LIU Y W, BAI X P, SUN G Y. Impact of surfactants on nanoemulsions based on fractionated coconut oil: Emulsification stability and in vitro digestion [J]. *Journal of Oleo Science*, **2020**, 69(3): 227-239.
- 7 FU G M, CHEN K D, WANG J T, WANG M, LI R Y, WU X J, WU C F, ZHANG P, LIU C M, WAN Y. Screening of tea saponin-degrading strain to degrade the residual tea saponin in tea seed cake [J]. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, **2020**, 50(7): 697-707.
- 8 XIANG G, SUN H P, CHEN Y Y, GUO H R, LIU Y, LI Y C, LIU C F, WANG X X. Antioxidant and hypoglycemic activity of tea polysaccharides with different degrees of fermentation [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2023**, 228: 224-233.
- 9 XIE J X, HUANG W J, WU X H. Effects of tea saponin on the foaming properties of pea protein [J]. *Food & Function*, **2023**, 14(9): 4339-4353.
- 10 KIRTI D S, ESHITA S, ASHU G, ESWARA R S G. Insecticidal activities of tea saponin against diamondback moth, *plutella xylostella* and aphid, *aphis craccivora* [J]. *Toxin Reviews*, **2018**, 37(1): 52-55.
- 11 李国武. 茶叶籽茶皂素高效制备及体外抗癌活性研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, **2017**.
- 12 LI Y, DU Y M, ZOU C. Effects of pH on antioxidant and antimicrobial properties of tea saponins [J]. *European Food Research Technology*, **2009**, 228(6): 1023-1028.
- 13 YU X L, HE Y. Tea saponins: Effective natural surfactants beneficial for soil remediation, from preparation to application [J]. *RSC Advances*, **2018**, 8(43): 24312-24321.
- 14 尤龙, 张营, 范传海, 任士伟. 国内茶皂素应用研究进展 [J]. *山东化工*, **2018**, 47(17): 64-65.
- 15 唐珊珊, 黄三萍, 肖新生, 刘芳. 茶皂素纯化方法研究进展 [J]. *中国油脂*, **2019**, 44(4): 133-142.
- 16 YUAN C X, LI Y, LI Q C, JI R S, REN L L. Purification of tea saponins and evaluation of its effect on alcohol dehydrogenase activity [J]. *Open Life Sciences*, **2018**, 13(1): 56-63.
- 17 杜金婷, 李雁, 张雁, 骆碧群, 林江. 茶皂素提取纯化技术及生物活性研究进展 [J]. *广东农业科学*, **2021**, 48(3): 167-176.
- 18 SHI L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: a review [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2016**, 92: 37-48.
- 19 王丹丹, 刘芫汐, 左甜甜, 咎轲, 金红宇. 大孔吸附树脂及其在中药领域应用研究进展 [J]. *中国药事*, **2022**, 36(7): 826-835.
- 20 孟维, 李湘洲, 吴志平, 龙立平. AB-8型大孔吸附树脂分离纯化茶皂素工艺 [J]. *食品科技*, **2013**, 38(9): 213-217.
- 21 李国武, 龚志华, 段一凡, 朱海燕, 肖文军. 大孔吸附树脂分离纯化茶叶籽饼粕中的茶皂素研究 [J]. *食品安全质量检测学报*, **2018**, 9(2): 256-264.
- 22 GONG Q Y, GUO Z D, SUN Z H, GONG J G, WEI F Y. Graphene oxide-assisted ethanol reflux extraction of total flavonoids from ginkgo biloba leaves: study of kinetics and mechanism [J]. *Chemical Papers*, **2020**, 74(3): 971-984.
- 23 张海龙, 张维农, 胡志雄, 齐玉堂, 龚任. 高效液相色谱法定量分析茶籽粕中的茶皂素 [J]. *食品科学*, **2013**, 34(8): 153-156.
- 24 LIU B Q, LIU J F, HUANG D D, PEI D, DI D L. Separation and purification of hydroxytyrosol and oleuropein from *Olea europaea* L. (olive) leaves using macroporous resins and a novel solvent system [J]. *Journal of Separation Science*, **2020**, 43(13): 2619-2625.
- 25 MUHAMMAD B, YUE S J, HU H B, WANG WEI, ZHANG X H. Adsorption/desorption characteristics, separation and purification of phenazine-1-carboxylic acid from fermentation extract by macroporous adsorbing resins [J]. *Journal of Chemical Technology Biotechnology*, **2018**, 93(11): 3176-3184.
- 26 YU X H, MU N, LIU X C. A green method for decolorization of polysaccharides from alfalfa by S-8 macroporous resin and their characterization and antioxidant activity [J]. *RSC Advances*, **2023**, 13(14): 9642-9653.
- 27 WANG S P, DONG X F, TONG J M. Optimization of enzyme-assisted extraction of polysaccharides from alfalfa and its antioxidant activity [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2013**, 62: 387-396.
- 28 MEI X Y, YANG W J, HUANG G L, HUANG H L. The antioxidant activities of balsam pear polysaccharide [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2020**, 142: 232-236.

- 29 张玲忠, 张贵华, 段维杰. 大孔吸附树脂在中药活性成分分离纯化中的应用 [J]. 中国民族民间医药, **2019**, 28(14): 51-56.
- 30 NIPHADKAR S S, RATHOD V K. Adsorption kinetics, isotherm, and thermodynamics studies of acetyl-11-keto- β -boswellic acids (AKBA) from *Boswellia serrata* extract using macroporous resin [J]. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, **2017**, 47(8): 804-812.
- 31 LI Y, LIU J B, CAO R F, DENG S G, LU X Y. Adsorption of myricetrin, puerarin, naringin, rutin, and neohesperidin dihydrochalcone flavonoids on macroporous resins [J]. *Journal of Chemical & Engineering Data*, **2013**, 58(9): 2527-2537.
- 32 CHEN R, YANG Q, ZHONG Y, LI X M, DU W X, ZENG G M. Sorption of trace levels of bromate by macroporous strong base anion exchange resin: influencing factors, equilibrium isotherms and thermodynamic studies [J]. *Desalination*, **2014**, 344: 306-312.
- 33 叶兆伟, 叶润, 蔡静, 李尽哲. 大孔树脂对银耳多糖的吸附热力学与动力学研究 [J]. 粮食与油脂, **2022**, 35(5): 107-111.
- 34 WU Y F, ZHANG L, MAO J W, HUANG J, YOU Y R, MEI L H. Kinetic and thermodynamic studies of sulfuraphane adsorption on macroporous resin [J]. *Journal of Chromatography B*, **2016**, 1028: 231-236.
- 35 ZHANG J H, ZHANG M, BAI B Q. Studies on adsorption kinetics and thermodynamics of macroporous resin for rosmarinic acid [J]. *Journal Oleo Science*, **2021**, 70(3): 439-451.
- 36 何荣荣, 陈献翔, 陈海明. 大孔树脂分离纯化茶桔饼中的茶皂素 [J]. 食品工业, **2020**, 41(1): 20-23.

Research paper

Study on the Adsorption and Purification Characteristics and Antioxidant Activity of Tea Saponins by Macroporous Adsorption Resin

YIN Ren-yan, YANG Jia-yao, WANG Yi-tong, WANG Hong-peng*

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China)

Abstract Tea saponins have various biological activities and can be applied in various fields. However, at present, the extracted tea saponins generally have low purity, therefore they are not applicable for further development and utilization, so the isolation and purification are required. This study selected the resin with the best performance in purifying tea saponins from 18 types of macroporous adsorption resins, analyzed its adsorption isotherms, adsorption thermodynamics and adsorption kinetics characteristics, and the difference of antioxidant activity between before and after purification was investigated. The results showed that the kind of X-5 macroporous adsorption resin had the best purification effect among the 18 selected macroporous adsorption resins, with the yield of $(84.1 \pm 0.07) \%$; The adsorption thermodynamics of tea saponins can be better fitted by the Langmuir model ($R^2 > 0.99$), compared with Freundlich model; The adsorption process of tea saponins by the kind of X-5 macroporous adsorption resin belonged to spontaneous, entropy reducing, and exothermic physical adsorption. Furthermore, it is more suitable to use the quasi second-order kinetic equation ($R^2 > 0.99$) for fitting; After purification by X-5 macroporous adsorption resin, the purity of tea saponins increased from $(24.18 \pm 0.3) \%$ to $(80.62 \pm 0.42) \%$; The ability of purified tea saponins to scavenge ABTS free radicals, DPPH free radicals, and total reducing power increased to 1.63 times, 1.61 times, and 1.57 times, respectively, before purification, which indicated that the purification effect was significant.

Keywords Tea saponin, Macroporous adsorption resin, Adsorption thermodynamics, Adsorption kinetics, Antioxidant activity

* Corresponding author: WANG Hong-peng, E-mail: wanghongpeng@zust.edu.cn.