



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113248552 B

(45) 授权公告日 2022. 04. 08

(21) 申请号 202110556570.9

C07J 63/00 (2006.01)

(22) 申请日 2021.05.21

审查员 郭军霞

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 113248552 A

(43) 申请公布日 2021.08.13

(73) 专利权人 广州德谷个人护理用品有限公司

地址 510880 广东省广州市花都区花山镇  
华辉路11号之七

(72) 发明人 陈殿松 马铃 王靖 杨井国

(74) 专利代理机构 南京灿烂知识产权代理有限公司 32356

代理人 王江南

(51) Int. Cl.

C07H 1/08 (2006.01)

C07H 15/256 (2006.01)

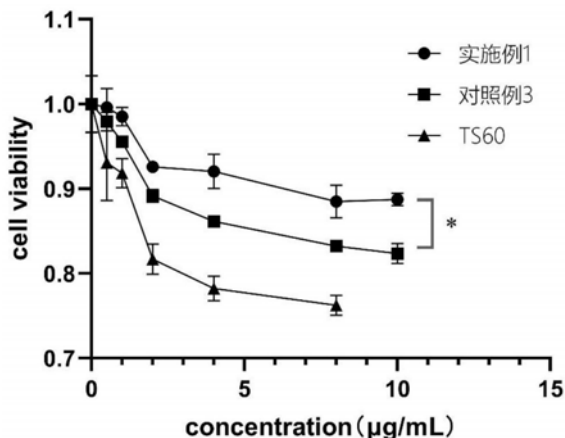
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

一种茶皂素的提取脱色方法

(57) 摘要

本发明公开了一种茶皂素的提取脱色方法，其为将脱脂茶麸粉末加入60~80%乙醇，用稀盐酸调节pH为4.5~5.0，60~75℃下浸提1~3h；过滤，取滤液，加入占滤液体积20~40%的浓度为30%的过氧化氢，调节pH为8.0~9.5，50~65℃反应30~100min，旋蒸浓缩后，喷雾干燥成粉末；加入丙酮，搅拌混合，离心得到沉淀，烘干得到茶皂素粉末。本发明茶皂素产物泡沫稳定性好的同时，大大提高了脱色效率，同时茶皂素的纯度和得率较高，并降低了茶皂素产品的细胞毒性。



1. 一种茶皂素的提取脱色方法,其特征在于:将脱脂茶麸粉末加入70%乙醇,料液比为1:10~12,用稀盐酸调节pH为4.8~4.9,70℃下浸提2 h;过滤,取滤液,加入占滤液体积20~40%的浓度为30%的过氧化氢,调节pH为9.0,60℃反应30 min,旋蒸浓缩后,喷雾干燥成粉末;加入丙酮,料液比为1:10~15,搅拌混合,离心得到沉淀,烘干得到茶皂素粉末。

2. 根据权利要求1所述的茶皂素的提取脱色方法,其特征在于:所述加入占滤液体积20~40%的浓度为30%的过氧化氢,为加入占滤液体积25~30%的浓度为30%的过氧化氢。

3. 根据权利要求1或2所述的茶皂素的提取脱色方法,其特征在于:所述旋蒸浓缩,为在40~50℃下进行旋蒸浓缩。

4. 根据权利要求1或2所述的茶皂素的提取脱色方法,其特征在于:所述离心得到沉淀,为300~5000rpm/min离心10~20min。

## 一种茶皂素的提取脱色方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于茶皂素脱色技术领域,具体涉及一种茶皂素的提取脱色方法。

### 背景技术

[0002] 茶皂素又称茶皂甙,是从山茶科、山茶属植物中提取出来的一类天然糖甙化合物。我国茶籽资源丰富,从油茶果中榨取食用油后,得到大量茶麸。茶麸中含有茶皂素,具有很好的起泡、去污、乳化、增溶等表面活性,以及抑菌、控油等功效,可广泛应用于日化、农药等领域。

[0003] 但目前从茶麸中提取得到的茶皂素产品纯度不高,颜色较深,茶皂素粉末溶解后呈现深褐色,限制了其在化妆品等产品中的应用以及范围。因此如何在提取茶皂素的过程中同时实现茶皂素的脱色,并且不会影响茶麸提取物本身的表面活性,是有待解决的技术问题。

### 发明内容

[0004] 本部分的目的在于概述本发明的实施例的一些方面以及简要介绍一些较佳实施例。在本部分以及本申请的说明书摘要和发明名称中可能会做些简化或省略以避免使本部分、说明书摘要和发明名称的目的模糊,而这种简化或省略不能用于限制本发明的范围。

[0005] 作为本发明其中一个方面,本发明提供一种茶皂素的提取脱色方法:将脱脂茶麸粉末加入60~80%乙醇,用稀盐酸调节pH为4.5~5.0,60~75℃下浸提1~3h;过滤,取滤液,加入占滤液体积20~40%的浓度为30%的过氧化氢,调节pH为8.0~9.5,50~65℃反应30~100min,旋蒸浓缩后,喷雾干燥成粉末;加入丙酮,搅拌混合,离心得到沉淀,烘干得到茶皂素粉末。

[0006] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述将脱脂茶麸粉末加入60~80%乙醇,其料液比为1:10~12,所述乙醇,浓度为70%。

[0007] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述用稀盐酸调节pH为4.5~5.0,为将pH值调节为4.8~4.9。

[0008] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述60~75℃下浸提1~3h,为70℃下浸提2h。

[0009] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述加入占滤液体积20~40%的浓度为30%的过氧化氢,为加入占滤液体积25~30%的浓度为30%的过氧化氢。

[0010] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述调节pH为8.0~9.5,为将pH调节为9.0。

[0011] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述50~65℃反应30~100min,为60℃反应30min。

[0012] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述加入丙酮,料液

比为1:10~15。

[0013] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述旋蒸浓缩,为在40~50℃下进行旋蒸浓缩。

[0014] 作为本发明所述的茶皂素的提取脱色方法的一种优选方案:所述离心得到沉淀,为300~5000rpm/min离心10~20min。

[0015] 本发明的有益效果:本发明在提取茶皂素的同时对茶皂素进行脱色,并在提取及脱色过程中去除了茶皂素粉末的细胞毒性。

[0016] 本发明先将pH调节为酸性,70℃下浸提,之后pH调整为9,进行过氧化氢脱色,最后丙酮处理的方法,能够有效抑制美拉德反应,去除茶皂素中的色素等杂质,使得茶皂素产物泡沫稳定性好的同时,大大提高了脱色效率,且茶皂素的纯度和得率较高,并同时降低了茶皂素产品的细胞毒性。

### 附图说明

[0017] 为了更清楚地说明本发明实施例的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动性的前提下,还可以根据这些附图获得其它的附图。其中:

[0018] 图1为采用MTT法测茶皂素产品的Hacaat细胞毒性。

[0019] 图2为对照例2茶皂素产品的泡沫高度测试。

[0020] 图3为实施例1茶皂素产品的泡沫高度测试。

### 具体实施方式

[0021] 为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂,下面结合具体实施例对本发明的具体实施方式做详细的说明。

[0022] 在下面的描述中阐述了很多具体细节以便于充分理解本发明,但是本发明还可以采用其他不同于在此描述的其它方式来实施,本领域技术人员可以在不违背本发明内涵的情况下做类似推广,因此本发明不受下面公开的具体实施例的限制。

[0023] 其次,此处所称的“一个实施例”或“实施例”是指可包含于本发明至少一个实现方式中的特定特征、结构或特性。在本说明书中不同地方出现的“在一个实施例中”并非均指同一个实施例,也不是单独的或选择性的与其他实施例互相排斥的实施例。

[0024] 实施例1:

[0025] 将烘干至重量无变化的脱脂茶麸,粉碎、过30目筛,置于干燥器中备用;称取40g干燥后的脱脂茶麸粉末样品,按料液比1:12(g:mL)加入70%乙醇,用稀盐酸调节pH为4.8,70℃下浸提2h,用滤纸过滤,取滤液,加入占滤液体积30%的浓度为30%的过氧化氢,调节pH为9.0,并在实验过程中使pH维持在9.0,60℃反应30min,进行提取液的脱色处理;将提取液在45℃下进行旋蒸浓缩后,喷雾干燥成粉末;按照料液比1:15加入丙酮,搅拌混合,5000rpm/min离心10min得到沉淀,将沉淀于30℃下烘干得到茶皂素粉末。

[0026] 实验结果:

[0027] 测得茶皂素粉末中,茶皂素的纯度为78%;茶皂素粉末的得率为18%(得率=茶麸

粉末重量/脱脂茶麸重量\*100%) ;脱色率为91.85% ;泡沫性能:茶皂素在测试5min前后都稳定在泡沫高度175cm(图3)。

[0028] 实验方法:

[0029] 茶皂素标准曲线:准确称取10mg茶皂素(纯度>95%市售茶皂素标准品)作为标准品,用体积分数为80%乙醇溶解后定容至10ml,配置成1mg/ml溶液,而后用移液枪移取上述溶液0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5ml置于10ml具塞试管中,并分别加去离子水定容到0.5ml,加入8%香草醛溶液0.5ml,冰水浴中加入体积分数为77%的硫酸溶液,摇匀在60℃水浴中加热25min,取出冷却至室温。以未加入茶皂素为试剂空白,于570nm处扫描吸光度值。

[0030] 根据茶皂素标准品的吸光度值(Y)和茶皂素浓度(X,mg/mL),拟合得到回归方程: $Y = 6.54X + 0.2131$ ,  $R^2 = 0.99835$

[0031] 茶皂素对人角质细胞(Hacaat)毒性测试:

[0032] MTT法测细胞毒性:取状态良好的Hacaat细胞用胰酶消化并用血球显微技术法计数,配制成 $1 \times 10^4$ 个/mL的细胞液,每孔100 $\mu$ L接种于96孔板中。将SZ95细胞在37℃,5%CO<sub>2</sub>,湿度饱和的培养箱24h贴壁后,弃去各样品孔中的DMEM完全培养基,并用PBS小心冲洗1次。分别向样品孔加入溶解有不同浓度茶皂素的DMEM,使每孔最终浓度为。以无茶皂素的DMEM作为对照组,以无Hacaat细胞及茶皂素的DMEM为空白组,每组三个平行。培养24h后,吸取孔内液体,每孔3~5ml PBS洗2遍,每孔加入100 $\mu$ L新鲜配置的0.5mg/mL MTT培养液,培养箱培养4h。小心吸去孔内培养液,每孔加入100 $\mu$ L二甲基亚砜(DMSO),置摇床上低速振荡5min,使结晶物充分溶解,在酶联免疫检测仪OD 490nm处测量各孔吸光度,按下式计算出Hacaat细胞存活率。

[0033] 细胞存活率(%) =  $\frac{A_1 - A_0}{A_2 - A_0} \times 100\%$

[0034] 式中:A<sub>1</sub>为实验组的吸光值;A<sub>2</sub>为对照组的吸光值;A<sub>0</sub>为空白组的吸光值。

[0035] 泡沫性能的测定:使用罗氏泡沫测定仪。用硬水溶解3g样品粉末,转移到1000mL容量瓶中,稀释至刻度,摇匀为样品试液。开启恒温器,待水温升至规定温度,开启水泵,保持刻度管夹套水温稳定在 $40 \pm 1^\circ\text{C}$ ,用水冲洗刻度管内壁,冲洗必须完全。自刻度管底部注入样品试液约50mL,关闭刻度管的活塞,静置5min,调节活塞,使液面恰在50mL刻度处。将仪器上的液滴管住满200mL样品试液,安装于刻度量管上。打开滴液管的活塞,使溶液流下。当滴液管中的溶液流完时,立即记录泡沫高度。用新试液重复试验二到三次,每次试验之前洗净管壁,取试验平均值作最后结果。平行测定允许差不超过5mm。

[0036] 茶皂素的脱色率:将烘干至重量无变化的脱脂茶麸,粉碎、过30目筛,置于干燥器中备用。称取40g干燥茶麸粉末样品,按料液比1:12加入70%乙醇,70℃下浸提2小时,用滤纸过滤。将滤液在45℃下进行旋蒸浓缩后,喷雾干燥成粉末。取粉末配置成2.5%的水溶液,测试在460nm下的初始吸光度值A<sub>0</sub>。

[0037] 脱色率 =  $\frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$

[0038] 式中:A为脱色后样品吸光度值。

[0039] 过氧化氢的脱色时间及脱色pH值对脱色效果的影响见表1。

[0040] 表1

[0041]	样品名	脱色率%
	pH 8脱色30min	80.51
	pH 8脱色90min	83.13
	pH 9脱色30min	91.85
	pH 9脱色90min	89.46
	pH 9.5脱色30min	73.72
	pH 9.5脱色90min	75.69

[0042] 本发明研究发现,过氧化氢脱色在pH=9时脱色时间过长会降低溶液的透明度,降低脱色率,同时,脱色时间过长会影响茶皂素的泡沫性能,在pH=9时脱色100min,茶皂素的泡沫高度降低至145cm。

[0043] 本发明采用先将pH调节为酸性,70℃下浸提,之后pH调整为9,进行过氧化氢脱色,最后丙酮处理的方法,能够有效抑制美拉德反应,去除茶皂素中的色素等杂质,使得茶皂素产物泡沫稳定性好的同时,大大提高了脱色效率,同时茶皂素的纯度和得率较高。

[0044] 取市售茶皂素TS60(茶皂素纯度约为60%),与本发明得到的茶皂素粉末,分别果见采用MTT法测茶皂素产品的Hacaat细胞毒性,实验结图1。本发明研究发现,本发明方法在茶皂素脱色后,得到的茶皂素产品显著降低了细胞毒性,可能由于本发明在提取茶皂素的同时对茶皂素进行脱色的过程中,同时去掉了产物中的一些对细胞造成损伤的组分。本发明在提取茶皂素的同时进行茶皂素的脱色,相比于市售的茶皂素产品,本发明方法获得的茶皂素能够显著降低细胞毒性,脱色率高,并且同时得到了更高纯度茶皂素,并且得到的茶皂素产品的泡沫性能更优。

[0045] 对照例1:

[0046] 将烘干至重量无变化的脱脂茶麸,粉碎、过30目筛,置于干燥器中备用;称取40g干燥茶麸粉末样品,按料液比1:12(g:mL)加入70%乙醇,70℃下浸提2h,用滤纸过滤,取滤液,加入占滤液体积30%的浓度为30%的过氧化氢,调节pH为9.0,并在实验过程中使pH维持在9.0,60℃反应30min,进行提取液中的脱色处理;将提取液在45℃下进行旋蒸浓缩后,喷雾干燥成粉末;按照料液比1:15加入丙酮,搅拌混合,5000rpm/min离心10min得到沉淀,将沉淀于30℃下烘干得到茶皂素粉末。

[0047] 计算脱色率为80.37%。

[0048] 对照例2:

[0049] 将烘干至重量无变化的脱脂茶麸,粉碎、过30目筛,置于干燥器中备用;称取40g干燥茶麸粉末样品,按料液比1:12(g:mL)加入70%乙醇,用稀盐酸调节pH为4.8,70℃下浸提2h,用滤纸过滤,取滤液,加入占滤液体积5%的浓度为30%的过氧化氢,60℃反应30min,进行提取液的脱色处理;将提取液在45℃下进行旋蒸浓缩后,喷雾干燥成粉末;按照料液比1:15加入丙酮,搅拌混合,5000rpm/min离心10min得到沉淀,将沉淀于30℃下烘干得到茶皂素粉末。

[0050] 测得茶皂素粉末中,茶皂素的纯度为73%;茶皂素粉末的得率为17.4%(得率=茶麸粉末重量/脱脂茶麸重量\*100%);脱色率为76.53%;泡沫性能:茶皂素在测试5min前后稳定在泡沫高度150cm(图2)。

[0051] 有趣的是,本发明研究发现,过氧化氢脱色会影响产物茶皂素粉末的泡沫高度,如

果不经过氧化氢脱色或者过氧化氢浓度较低,则产物的泡沫高度会明显降低,可能是由于过氧化氢脱色过程中会同时去除影响泡沫性能的物质。

[0052] 对照例3:

[0053] 将烘干至重量无变化的脱脂茶麸,粉碎、过30目筛,置于干燥器中备用;称取40g干燥茶麸粉末样品,按料液比1:12 (g:mL) 加入70%乙醇,70℃下浸提2h,用滤纸过滤,取滤液,喷雾干燥成茶皂素粉末。

[0054] 采用MTT法测茶皂素产品的Hacaat细胞毒性,实验结果见图1。

[0055] 应说明的是,以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制,尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细说明,本领域的普通技术人员应当理解,可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换,而不脱离本发明技术方案的精神和范围,其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

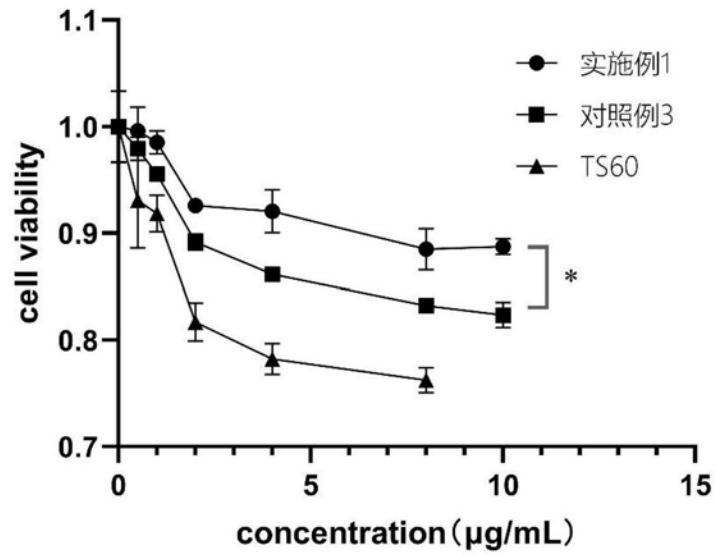
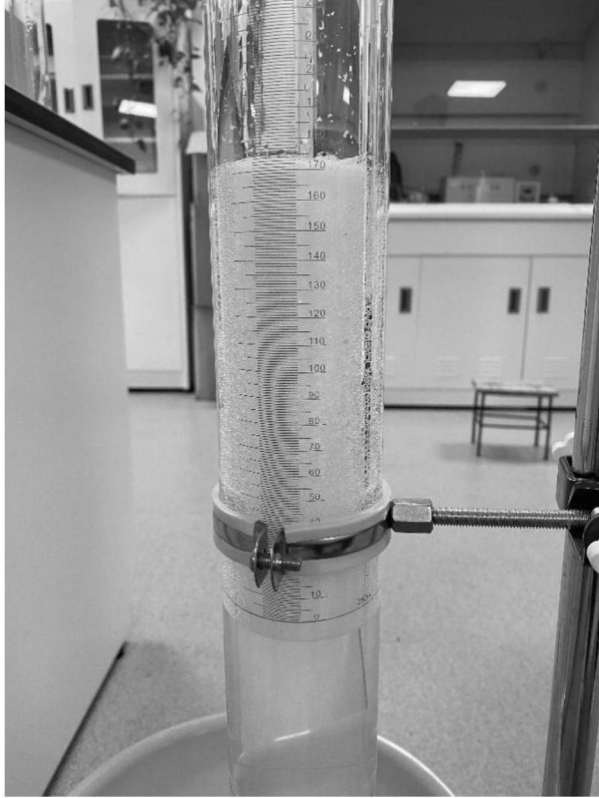


图1



图2

初始泡沫高度



5min 后泡沫高度

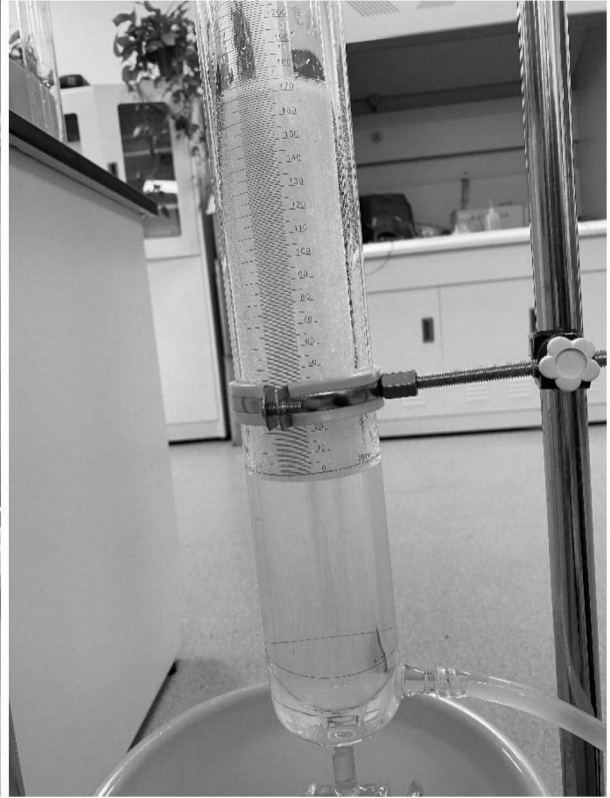


图3