

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2024.06.009

周学永, 牛艳, 杨利艳, 等. 藜麦皂苷分离与纯化技术研究进展[J]. 粮油食品科技, 2024, 32(6): 77-83.

ZHOU X Y, NIU Y, YANG L Y, et al. Research progress on separation and purification technology of quinoa saponins[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2024, 32(6): 77-83.

藜麦皂苷分离与纯化技术研究进展

周学永, 牛艳, 杨利艳, 魏作富, 张丽红, 吴宝美

(山西师范大学 生命科学学院, 山西省微生物应用技术工程研究中心, 山西 太原 030000)

摘要: 藜麦皂苷是一种具有重要生理和药理活性的五环三萜化合物, 由于种类繁多、极性跨度较大, 采用常规的纯化分离手段不仅工作量大, 且容易造成部分稀有皂苷的遗漏。关于纯化藜麦皂苷的方法, 国内外已有部分实验研究, 但我国引种藜麦时间较短, 相关积累仍较薄弱。为更好地梳理并推动藜麦皂苷分离与纯化技术的相关研究, 总结国内外纯化藜麦皂苷的方法、解析技术要点(如正丁醇萃取、大孔树脂吸附、C₁₈ 色谱柱纯化、HPLC 系统纯化、泡沫收集纯化和超滤浓缩纯化等), 介绍藜麦总皂苷中单体皂苷的分离方法、展望生物活性导向分离皂苷单体具有重要意义, 为藜麦皂苷分离纯化研究提供参考。

关键词: 藜麦; 总皂苷; 单体皂苷; 纯化; 分离

中图分类号: TS201.7 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2024)06-0077-07

网络首发时间: 2024-11-06 19:05:16

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.3863.TS.20241106.1600.010>

Research Progress on Separation and Purification Technology of Quinoa Saponins

ZHOU Xue-yong, NIU Yan, YANG Li-yan, WEI Zuo-fu, ZHANG Li-hong, WU Bao-mei

(Shanxi Engineering Research Center of Microbial Application Technology, School of Life Science, Shanxi Normal University, Taiyuan, Shanxi 030000, China)

Abstract: Quinoa saponins are a kind of pentacyclic triterpenoids with important physiological and pharmacological activities. Due to the wide variety and wide polarity span, the conventional purification and separation methods not only require a lot of work, but also easily lead to the omission of some rare saponins. There have been some experimental studies on the purification of quinoa saponins at home and abroad. However, the introduction time of quinoa in China is relatively short, and the related accumulation is relatively weak. In order to better sort out and promote the relevant research on the separation and purification technology of quinoa saponins, it is necessary to summarize the methods for purifying quinoa saponins domestically and internationally, and analyze the key technical points (such as *n*-butanol extraction,

收稿日期: 2024-04-09

基金项目: 山西省中央引导地方科技发展资金项目(YDZJSX2022A055); 山西省自然科学基金项目(202203021221122); 2023 年度山西省研究生科研创新项目(2023KY470)

Supported by: The Project for Local Science and Technology Development Guided by the Central Government in Shanxi Province (No. YDZJSX2022A055); the Natural Science Foundation of Shanxi Province (No. 202203021221122); the 2023 Graduate Scientific Research and Innovation Project of Shanxi Province (No. 2023KY470)

第一作者: 周学永, 男, 1966 年出生, 博士, 教授, 研究方向为植物生物化学, E-mail: zhouxueyongts@163.com

macroporous resin adsorption, C18 chromatographic column purification, HPLC system purification, foam collection purification, ultrafiltration concentration purification, etc.). This paper also introduced the separation methods of monomer saponins from the total saponins, and prospected the significance of bioactivity-oriented separation of saponins monomers. This review has the important reference value for the isolation and purification of quinoa saponins.

Key words: quinoa; total saponins; monomer saponins; purification; separation

藜麦原产于南美洲的安第斯山区，由于其独特的营养价值和耐旱、耐寒、耐盐碱等生理特性，目前已广泛种植在欧洲、非洲和亚洲等大陆^[1]。藜麦籽粒通常含有皂苷，是其中苦味的主要来源。藜麦皂苷含量因品种、气候和栽培环境不同而呈现出差异，由于皂苷具有抗病和免受鸟、昆虫取食的作用，因此国内外栽培的藜麦均以“苦藜麦”品种为主，皂苷含量通常在 2%~5% 之间^[2]。

藜麦皂苷是由一个三萜苷元和 1~3 个不同糖链组成的五环三萜化合物，其中种类最多的是双糖链皂苷，其次为单糖链皂苷，而三糖链皂苷则比较少见^[3]。藜麦皂苷元母核含有 5 个六元环、30 个碳原子，苷元母核上 C₂₃、C₂₇ 和 C₃₀ 可以连接不同的取代基，进而引起苷元结构的多样化；糖基侧链主要与三萜苷元在 C₃ 和 C₂₈ 位置上相连形成单糖链或双糖链皂苷化合物，其中在 C₃ 位置以糖苷键相连，而在 C₂₈ 位置则以酯键相连。若形成三糖链皂苷化合物，则糖基侧链与 C₂₃ 以糖苷键相连。构成藜麦皂苷元的化合物主要有齐墩果酸、常春藤苷元、美商陆酸、塞战藤酸等 7 种^[4]（图 1 和表 1），其中 R₁、R₂、R₃ 基团决定皂苷元的结构，而 R₄ 和 R₅ 基团则决定糖基侧链的结构。虽然藜麦皂苷元的结构目前主要报道了 7 种类型，但不同糖基侧链与皂苷元之间的组合决定了藜麦皂苷结构具有多样性。迄今为止，已经报道的藜麦皂苷有 90 多种^[4]。

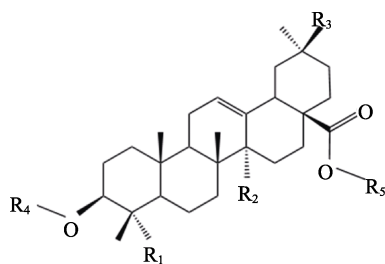


图 1 藜麦皂苷的化学结构^[4]

Fig.1 Chemical structure of quinoa saponins^[4]

表 1 藜麦皂苷元类型^[4]

Table 1 Types of quinoa saponins^[4]

皂苷元类型	R ₁	R ₂	R ₃
齐墩果酸	CH ₃	CH ₃	CH ₃
常春藤苷元	CH ₂ OH	CH ₃	CH ₃
美商陆酸	CH ₂ OH	CH ₃	COOCH ₃
塞战藤酸	CH ₃	CH ₃	COOCH ₃
3β-羟基-23-氧-齐墩果-12-烯-28-酸	CHO	CH ₃	CH ₃
3β-羟基-27-氧-齐墩果-12-烯-28-酸	CH ₃	CHO	CH ₃
3β, 23α, 30β-三羟基-齐墩果-12-烯-28-酸	CH ₂ OH	CH ₃	CH ₂ OH

藜麦皂苷在食品、制药和化妆品等行业有广泛的商业用途^[5-6]。对于以藜麦总皂苷为化学成分的产品而言，只需要除去皂苷以外的非皂苷成分即可完成纯化；而对于皂苷构效关系的研究，则需要明晰单体皂苷结构与生物活性之间的关系，这就涉及不同单体皂苷的分离问题。虽然藜麦皂苷的分离纯化可以借鉴其他植物中三萜皂苷的分离纯化方法，但与其他常见三萜皂苷相比，藜麦皂苷具有种类繁多、分离纯化难度高等特点。加之藜麦是我国 2011 年才正式引种的作物新品种，在藜麦皂苷分离纯化方面的技术积累较少。为了推动相关研究，本文全面综述了国内外关于藜麦皂苷纯化、单体分离方面的研究进展，并结合作者的实验经验，提出了改进建议。

2 藜麦皂苷的纯化方法

藜麦皂苷是由不同皂苷元与相同或不同糖链构成的一系列性质较为接近的五环三萜化合物，所提取的全部皂苷称之为总皂苷。在以总皂苷为产品的加工过程中，为了降低成本和提高效率往往不涉及皂苷单体之间的分离，只需要除去皂苷以外的非皂苷成分即可达到纯化目的。由于藜麦皂苷是极性较强的齐墩果烷类五环三萜化合物，在采用醇-水溶液提取过程中不仅会受到酚酸类、

黄酮类等极性较强化合物的干扰,也会受到脂类、香豆素、游离生物碱等极性较弱化合物的影响。因此,藜麦总皂苷在提取完成后,需要去除上述非皂苷成分。常用的纯化方法主要有正丁醇-水溶液萃取、大孔树脂纯化、 C_{18} 色谱柱纯化、HPLC 系统纯化、皂苷泡沫收集纯化和超滤纯化等。

2.1 正丁醇-水溶液萃取纯化法

依据藜麦原料是否需要脱脂以及脱脂、提取、萃取顺序的不同,此类操作方法可以分为以下 4 种。

2.1.1 藜麦原料脱脂-醇提-正丁醇萃取纯化法

藜麦原料脱脂后再进行醇提取属于常规操作流程,在脱脂过程中乙醚是常用溶剂。全籽藜麦经乙醚脱脂 6 h 后滤去脱脂液,再用 80% (v/v) 甲醇水溶液提取皂苷 4 h,过滤、蒸发、干燥得到皂苷固体粉末。将皂苷粉末溶于正丁醇-乙醇-水溶剂中(1:1:1, v/v/v),用氧化铝柱吸附色素,减压浓缩、真空冷冻干燥后得到藜麦皂苷粉末,纯度 78.8%^[7]。

氯仿和石油醚也可用作藜麦原料的脱脂溶剂^[5,8]。研磨的藜麦粉与沙子混合后加入氯仿脱脂 16 h,使脂类物质溶入氯仿。然后加甲醇继续提取 30 h,减压蒸干得到皂苷粉末。芦晓芳等^[5]将藜麦粉置于石油醚中浸泡过夜,反复 2~3 次至石油醚溶液呈无色为止。藜麦粉用 70% (v/v) 乙醇水溶液在 40 °C 条件下超声提取 20 min,蒸发乙醇得到皂苷粗提物。粗皂苷经甲醇溶解、正丁醇水饱和溶液萃取,旋蒸冷却后得到藜麦皂苷的析出物。

虽然乙醚、氯仿和石油醚均可用于藜麦原料脱脂,但在实际应用中应从脱脂效率、回收成本以及安全性三个方面加以选择。由于乙醚沸点(34.5 °C)较低且安全性差,目前应用较少。

2.1.2 藜麦原料醇提-脱脂-正丁醇萃取纯化法

Herrera 等^[9]将藜麦种子粉放入 1:10 (w/v) 甲醇溶液中,在超声波辅助下提取 15 min。离心分离上清液,真空浓缩后加入等体积的己烷脱脂,正丁醇连续萃取 3 次,真空浓缩得到藜麦皂苷。Dong 等^[10]将藜麦粉用 75% (v/v) 乙醇水溶液在超声波辅助下连续提取两次。将两批提取液合并,60 °C 旋转蒸发除去乙醇。浓缩液依次用石油醚、

乙酸乙酯和正丁醇提取 3 次。合并正丁醇萃取层,在蒸发皿中蒸发得到干燥的粗皂苷粉。乙酸乙酯萃取可以脱除中等极性的有机酸、黄酮、香豆素、游离生物碱等物质,有利于提高皂苷纯度^[11]。与藜麦原料脱脂相比,醇提后再进行脱脂属于液液萃取操作,避免了液固萃取的相转移过程,故脱脂效率提高。

2.1.3 正丁醇萃取后再脱脂的纯化方法

Dini 等^[12]将脱脂操作放在了正丁醇萃取之后。这种操作与原料脱脂相比有两个好处:(1)藜麦原料中的皂苷经过提取、萃取浓缩后,其体积与原材料相比有了很大的缩减,故脱脂操作更容易进行,且节省溶剂;(2)可以验证脱脂操作的必要性。如果最后一步脱脂操作只得到很少的脂肪,则表明脱脂操作可以省略,预先进行脱脂操作没有必要。

2.1.4 省略脱脂步骤的正丁醇萃取纯化方法

Xue 等^[13]则省略了藜麦糠原料的脱脂步骤,直接采用 30 °C 的水在超声辅助下提取皂苷。Madl 等^[14]则直接用 50% (v/v) 乙醇水溶液提取藜麦种皮皂苷,正丁醇萃取后离心、冻干,得到淡黄色的藜麦皂苷,提取产率 9.2%。实践证明,当提取溶剂极性较高时,例如采用水提取或浓度较低的醇溶液提取时,脂肪溶出度并不高,故脱脂步骤通常可以省略。

2.2 D101 型大孔树脂纯化藜麦皂苷

大孔树脂是分离纯化皂苷类化合物的所常用的层析材料。根据其吸附性质,可以分为强极性、极性、中极性、弱极性和非极性 5 种类型。典型的大孔树脂纯化皂苷的特性列于表 2。

赵文婷^[15]研究发现,D101 型大孔树脂对藜麦皂苷的静态吸附率和解吸率明显高于 HPD-600、S-8、AB-8 型大孔树脂。因此,可以选择 D101 型大孔树脂纯化藜麦皂苷。根据国内研究的结果,经 D101 型大孔树脂纯化后,皂苷含量在 36.2%~43.6%之间^[15-16],纯化效果并不理想。雷蕾^[17]通过静态吸附实验发现,藜麦皂苷是一种弱极性的化合物,在极性较弱的 HPD-850 型树脂上吸附、解吸性能良好。因此,HPD-850 型树脂适合用于皂苷纯化。与纯化前相比,藜麦皂苷纯度提高了 52.44%。

表 2 代表性大孔树脂纯化皂苷的性能

Table 2 Physical and chemical properties of representative macroporous resins

极性	型号	比表面积/(m ² /g)	纯化对象	纯化特性
强极性	HPD-600	550~600	藜麦皂苷	吸附率 69.2%，解吸率 79.2% ^[15]
极性	S-8	100~120	藜麦皂苷	吸附率 62.3%，解吸率 68.3% ^[15]
弱极性	AB-8	480~520	藜麦皂苷	吸附率 7.36%，解吸率 80.5% ^[15]
非极性	Diaion HP-20	600	藜麦皂苷	藜麦粗皂苷依次用水、50%、85%、100%甲醇和丙酮洗脱，其中 85%甲醇组分约占 26% ^[18]
非极性	D-101	400	藜麦皂苷	吸附率 60.2%~78.1%，解吸率 81.3%~85.2%，皂苷纯度 36.2%~43.6% ^[15-16]
非极性	HPD-850	1 100~1 300	藜麦皂苷	吸附率约 20%，解吸率 80%，纯度提高 52.44% ^[17]

2.3 C₁₈ 色谱柱纯化皂苷

藜麦粉经甲醇提取、减压蒸发干燥后得到粗藜麦皂苷粉。粗皂苷粉溶于水，加己烷振荡脱脂。脱脂后的皂苷用 C₁₈ 色谱柱 (BakerElut) 纯化，依次经水和甲醇洗脱，得到纯度较高的皂苷^[19]。最近的研究表明，Sepax GP-C₁₈ 色谱柱对藜麦皂苷的纯化效果更佳。藜麦皂苷粗品经大孔树脂 D101 纯化、Sepax GP-C₁₈ 色谱柱分离后，藜麦皂苷的纯度达到 90%^[20]。

2.4 HPLC 系统纯化皂苷

HPLC 系统配备 Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm) 可以对藜麦粗皂苷进行纯化。采用 0.1% (v/v) 甲酸水溶液 (A) 和乙腈 (B) 两种流动相进行梯度洗脱，在前 12 min 内流动相的流速为 0.7 mL/min，两种流动相的比例 (A : B) 由 75 : 25 (v/v) 逐步调整为 65 : 35 (v/v)。接下来流动相的流速继续保持 0.7 mL/min，A 与 B 的比例调整为 55 : 45 (v/v)。运行 25 min 后流速调整为 1.0 mL/min，等度洗脱 30 min。分离得到的皂苷纯度 78% (w/w)^[21]。

2.5 泡沫收集法纯化藜麦总皂苷

根据藜麦皂苷容易起泡沫的特性，通过收集藜麦皂苷溶液的泡沫能够达到纯化皂苷的目的^[22]。该方法首先将藜麦种皮粉与水配成 1 : 10 (w/v) 的悬浮液，在超声波辅助下提取 1 h，静置、过滤、稀释后将皂苷提取液送入泡沫分离塔。塔的底部通入压缩空气，藜麦皂苷溶液在空气气泡的扰动下产生泡沫并逐渐向上移动，至塔的顶端通过弯管引出。实验结果表明，在适宜条件下藜麦皂苷富集比为 2.0~2.6，回收率为 42%~52%。该方法

虽然操作简单，但对起泡物质均能收集，故存在选择性不强的问题。此外，当皂苷浓度降低时起泡性能下降，导致溶液中剩余皂苷回收不完全。

2.6 超滤法纯化皂苷

超滤是一种基于分子尺寸而设计的过滤排除技术，它可以在没有相变或无需添加化学试剂的情况下，通过孔隙排阻原理去除蛋白质、多糖、内毒素和聚集体等大分子物质，然后采用较小孔径的超滤膜将皂苷分子截留而使水分排除，从而实现皂苷的浓缩纯化。Li 等^[23]研究表明，人参皂苷的分子量约为 1 000 Da，采用 100 kDa 的超滤膜可以截留溶液中的蛋白质、聚集体等大分子物质，而人参皂苷分子则可以顺利通过膜孔进入超滤液。此后超滤液改用膜孔为 3 kDa 的聚醚砜中空纤维膜或膜孔为 5 kDa 的再生醋酸纤维素膜对皂苷分子进行截留，脱除 80%水分后，两种超滤膜处理后的人参皂苷 Rb1 含量由浓缩前的 20.8 mg/g 分别提高到 25.3 mg/g 和 37.2 mg/g^[24]，起到了一定的浓缩纯化作用。此外，与水溶液中相比，乙醇可以提高皂苷在超滤膜中的透过滤，这个问题需要引起重视。

目前采用超滤法纯化藜麦皂苷尚未见文献报道，但由于藜麦皂苷分子量与人参皂苷接近 (表 3)，故相关经验可以借鉴。

3 藜麦皂苷单体的分离方法

藜麦总皂苷是由一系列理化性质相近的五环三萜化合物组成的混合物，因此皂苷单体分离比较困难。截至目前，藜麦皂苷单体的分离方法主要为色谱柱分离法，而以生物活性为导向的分离方法非常值得尝试。

3.1 色谱柱分离藜麦皂苷单体的方法

采用色谱柱分离藜麦皂苷单体应关注两个方面的技术问题，一是色谱柱种类的选择，二是洗脱条件的优化。目前使用最多的色谱柱有 LiChrospher 硅胶柱、Sephadex LH-20 色谱柱、DIAION HP-20 色谱柱以及与其它柱相组合的联合分离。

3.1.1 LiChrospher 硅胶柱色谱柱分离藜麦皂苷

Ruales 等^[25]采用高效液相色谱仪对藜麦皂苷

进行了分离。色谱柱 (4 mm×250 mm) 内填充硅胶 LiChrospher 100 CH-8/2 (5 μm)，配备紫外检测器和积分器，检测波长为 200 nm。进样量 20 μL，洗脱剂为 25%~40% 的乙腈水溶液，流速 2.0 mL/min，梯度洗脱 15 min 得到皂苷 A 和 B 两个主要组份，其化学结构见图 2。由于皂苷 A 和 B 的保留时间分别为 7.04 min 和 12.53 min，故分离效果较好。

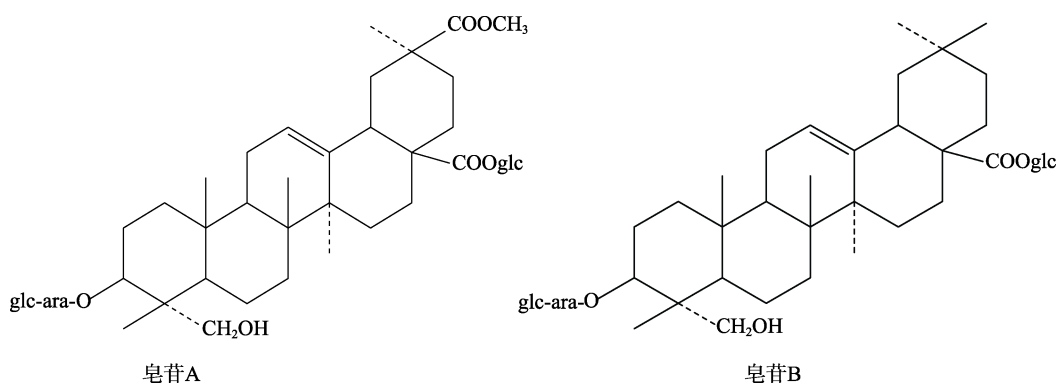


图 2 藜麦皂苷 A 和 B 的化学结构

Fig.2 Chemical structure of quinoa saponins A and B

3.1.2 Sephadex LH-20 色谱柱分离藜麦皂苷单体

Sephadex LH-20 色谱柱填充的吸附剂为羟丙基化的葡聚糖凝胶，既有亲水性又有亲脂性，且同时具备分子排阻色谱和分配色谱的优点。Dini 等^[12]采用甲醇提取藜麦皂苷后，提取物经正丁醇-水体系分配萃取、氯仿脱脂后，采用 Sephadex LH-20 色谱柱 (100 cm×5 cm) 对皂苷进行分离，甲醇为洗脱液。洗脱流出物中的皂苷用薄层色谱检验，展开剂为正丁醇-醋酸-水 (60 : 15 : 25)，含粗皂苷的混合物进一步以液滴逆流色谱柱 (Droplet counter-current chromatography, DCCC) 纯化。DCCC 流出组份用反相高效液相色谱分离，得到 7 个纯皂苷化合物。

Dini 等^[26]发现，皂苷提取物经过正丁醇-水分配萃取后，水相中也存在一些极性强的新皂苷，将水相真空浓缩，然后用 Sephadex LH-20 色谱柱分离。合并皂苷流出液进一步以反相高效液相色谱分离，得到 6 种纯皂苷化合物，保留时间分别为 4.4、5.0、6.8、14.2、28.8、50.8 min (表 3)。

表 3 正丁醇萃取水相中分离出的 6 种藜麦皂苷化合物

Table 3 Six quinoa saponin compounds separated from water phase after n-butanol partition

皂苷产物序号	皂苷元名称	分子式	分子量
化合物 1	Phytolaccagenic acid	C ₄₈ H ₇₄ O ₂₁	985
化合物 2	Spergulagenic acid	C ₅₄ H ₈₆ O ₂₄	1 117
化合物 3	Hederagenin	C ₄₈ H ₇₀ O ₂₀	927
化合物 4	Phytolaccagenic acid	C ₅₅ H ₈₈ O ₂₆	1 163
化合物 5	Hederagenin	C ₅₄ H ₈₈ O ₂₄	1 119
化合物 6	Spergulagenic acid	C ₄₈ H ₇₄ O ₂₀	969

3.1.3 DIAION HP-20 组合色谱柱分离法

Diaion HP-20 属于大孔吸附树脂，具有吸附性能强、容易再生等优点。Verza 等^[27]采用超临界溶剂提取藜麦皂苷后，经过 Diaion HP 20 柱进行分离纯化，得到 FQ70 和 FQ90 两个组分，产率分别为 15.6% 和 5.0%。这两种组分由 10 种皂苷元组成，且均为双糖链皂苷。Zhu 等^[28]采用正丁醇萃取藜麦皂苷后，用 Diaion HP-20 凝胶色谱柱分离，依次用纯水、水：乙醇 (3 : 7, v/v)、水：乙醇 (1 : 9, v/v) 和丙酮洗脱得到 4 个组分，其中水：乙醇 (3 : 7, v/v) 洗脱的组分用 Sephadex

LH-20 色谱柱进一步分离,以 90%乙醇洗脱又得到 7 个组份(A1~A7);组分 A1 采用 RP-18 柱(反相 C₁₈ 色谱柱)分离,甲醇:水(2:1, v/v)溶液洗脱得到化合物 3。经过核磁共振和质谱分析,这些皂苷组份的化学结构得以确定。

近年来,采用 Diaion HP 20 柱分离藜麦皂苷的报道较少。但作为一种有效的分离手段,国外学者已成功利用 Diaion HP 20 柱对藜麦糠和种子皂苷进行了分离纯化^[18,27-28],因此,国内学者应予以重视。

3.1.4 液质联用分离鉴定技术

如果皂苷单体分离的目的只是用于鉴定结构而不是为了获得一定数量的单体物质,则采用液质联用分离鉴定技术最为方便。Gómez-Caravaca 等^[29]采用含有 0.1%(w/v)乙酸的甲醇水溶液(4:1, v/v)提取藜麦粉中皂苷等极性物质,减压蒸干后溶解于少量甲醇溶液(1:1, v/v),用 0.22 μm 滤膜过滤。样品首先进行高效液相色谱分离,色谱柱为熔芯柱 Kinetex C₁₈(100 mm×4.6 mm, 填料粒径 2.6 μm)。分离的皂苷单体经过电喷雾电离、飞行时间质谱仪检测,得到 12 种皂苷化合物。通过这样的研究手段,可以让研究人员快速了解藜麦原料中的皂苷类型。

3.2 以生物活性为导向的皂苷单体分离方法

全面分离藜麦总皂苷中的各个单体不仅工作量很大,而且由于部分皂苷单体可能缺乏特定的生物活性,其结果反而不利于构效关系研究。如果以某种生物活性作为皂苷单体分离的指导原则,就可以确定分离过程中皂苷活性成分所在的部位或流分,从而定向地获得具有特定生物活性的藜麦皂苷单体^[30]。这样的分离操作成本低、效率高,具体分离操作步骤可以参考以下流程:(1)藜麦粉用不同极性的溶剂提取,冷冻干燥后得到粗皂苷粉;(2)将粗皂苷粉溶于水,用正丁醇萃取;(3)收集正丁醇萃取后的有机相和水相,旋转蒸发后冷冻干燥,得到相应的藜麦皂苷粗品;(4)对上述藜麦皂苷粗品进行生物活性测试;(5)选择活性高的组分进行色谱柱纯化,液-质联用技术鉴定藜麦皂苷结构。

目前,以生物活性为导向的藜麦皂苷分离尚

未见文献报道,但可以借鉴甾体皂苷^[30]、三萜皂苷^[31]的等定向分离经验制定出合理的分离方案。该方法能实现化学分离与活性分离的同步进行,通过追踪目标化合物的方法提高分离效率。

4 结论

藜麦皂苷具有重要的生理和药理活性,其分离纯化具有重要的理论意义和应用价值。藜麦皂苷纯化方法主要有正丁醇-水溶液萃取、大孔树脂纯化、C₁₈ 色谱柱纯化、HPLC 系统纯化、泡沫收集纯化和超滤浓缩纯化等,其中正丁醇-水溶液萃取法得到了广泛应用,从实际效果来看,脱脂可以放在正丁醇萃取之后进行,或者直接省略脱脂步骤。在大孔树脂纯化过程中,树脂的极性与纯化效果有关,但二者的关系尚有待于进一步验证。皂苷泡沫收集纯化选择性不高,故纯化作用有限,而超滤浓缩法理论依据充分,值得在藜麦皂苷纯化中加以尝试。LiChrospher 硅胶柱、Sephadex LH-20 色谱柱和 DIAION HP-20 组合色谱柱在藜麦皂苷分离中有重要作用。液-质联用分离鉴定技术在皂苷结构解析方面具有优势,适用于快速了解藜麦皂苷的结构类型。由于藜麦皂苷的生物活性与其化学结构密切相关,因此,以生物活性为导向的藜麦皂苷单体分离方法能极大地提高研究效率,下一步,可加大力度开展此类研究。

参考文献:

- [1] CHAUDHARY N, WALIA S, KUMAR R. Functional composition, physiological effect and agronomy of future food quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): A review[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2023, 118: 105192.
- [2] MEDINA-MEZA I G, ALUWI N A, SAUNDERS S R, et al. GC-MS profiling of triterpenoid saponins from 28 quinoa varieties (*Chenopodium quinoa* Willd.) grown in Washington State[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(45): 8583-8591.
- [3] COLSON E, SAVARINO P, CLAEREBOUDT E J S, et al. Enhancing the membranolytic activity of *Chenopodium quinoa* saponins by fast microwave hydrolysis[J]. Molecules, 2020, 25(1731): 2-20.
- [4] SCHMÖCKEL S M. The quinoa genome[M]. Switzerland: Springer Nature Switzerland AG, 2021.
- [5] 芦晓芳,唐雨薇,高春艳,等.超声负压法提取藜麦皂苷及其活性研究[J].天然产物研究与开发,2022,34(3):465-472.
- LU X F, TANG Y W, GAO C Y, et al. Study on extraction of

- quinoa saponins by ultrasonic negative pressure method and its activity[J]. *Natural Product Research and Development*, 2022, 34(3): 465-472.
- [6] JUREK I, GÓRAL I, GEŚIŃSKIC K, et al. Effect of saponins from quinoa on a skin-mimetic lipid monolayer containing cholesterol[J]. *Steroids*, 2019, 147: 52-57.
- [7] ESCRIBANO J, CABANES J, JIMÉNEZ-ATIÉNZAR M, et al. Characterization of betalains, saponins and antioxidant power in differently[J]. *Food Chemistry*, 2017, 234: 285-294.
- [8] SANTIS G D, MADDALUNO C, D'AMBROSIO T, et al. Characterisation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) accessions for the saponin content in Mediterranean environment[J]. *Italian Journal of Agronomy*, 2016, 11(4): 277-281.
- [9] HERRERA T, HIERRO J N D, FORNARI T, et al. Acid hydrolysis of saponin-rich extracts of quinoa, lentil, fenugreek and soybean to yield sapogenin-rich extracts and other bioactive compounds[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99: 3157-3167.
- [10] DONG S, YANG X, ZHAO L, et al. Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria[J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 149: 112350.
- [11] 杜静婷. 藜麦种皮皂苷的提取、纯化、抗氧化、抑菌及皂苷元成分鉴定[D]. 太原: 山西大学, 2017.
DU J T. Extraction, purification, antioxidant and antimicrobial of saponin in (*Chenopodium quinoa* Willd.) seed coat and component identification of aglycone[D]. Taiyuan: Shanxi University, 2017.
- [12] DINI I, TENORE G C, DINI A. Oleanane saponins in “Kancolla”, a sweet variety of *Chenopodium quinoa*[J]. *Journal of Natural Products*, 2002, 65(7): 1023-1026.
- [13] XUE P, ZHAO L, WANG Y, et al. Reducing the damage of quinoa saponins on human gastric mucosal cells by a heating process[J]. *Food Science & Nutrition*, 2020, 8: 500-510.
- [14] MADL T, STERK H, MITTELBAACH M, et al. Tandem mass spectrometric analysis of a complex triterpene saponin mixture of *Chenopodium quinoa*[J]. *Journal of the American Society Mass Spectrometry*, 2006, 17(6): 795-806.
- [15] 赵文婷. 藜麦麸皮总皂苷的提取纯化及其抗氧化和免疫增强作用[D]. 晋中: 山西农业大学, 2015.
ZHAO W T. The Extraction, purification, antioxidant and immunoenhancement in (*Chenopodium Quinoa* Willd.) bran total saponins[D]. Jinzhong: Shanxi Agricultural University, 2015.
- [16] 徐晓敏. 藜麦皂苷的提取、分离纯化及生物活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
XU X M. Studies on extraction, separation, purification and biological activity of *Chenopodium Quinoa* saponins[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2017.
- [17] 雷蕾. 藜麦皂苷的分离纯化及皂苷元的制备研究[D]. 西宁: 青海师范大学, 2019.
LEI L. Separation and purification of saponins and preparation of sapogenins from (*Chenopodium quinoa* Willd.)[D]. Xining: Qinghai Normal University, 2019.
- [18] MIZUI F, KASAI R, OHTANI K, et al. Saponins from bran of quinoa, *Chenopodium quinoa* Willd. II.[J]. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 1990, 38(2): 375-377.
- [19] NG K G, PRICE K R, FENWICK G R. A TLC method for the analysis of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins[J]. *Food Chemistry*, 1994, 49: 311-315.
- [20] 商海军. 藜麦皂苷的提取分离及其抗结肠癌作用研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2022.
SHANG H J. Study on extraction and isolation of saponins from *Chenopodium quinoa* and its anti-colon cancer effect[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2022.
- [21] QUISPE-FUENTES I, VEGA-GÁLVEZ A, MIRANDA M, et al. A kinetic approach to saponin extraction during washing of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds[J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2013, 36(2): 202-210.
- [22] 熊成文, 逯雯洁, 孙春艳. 一种藜麦皂苷的分离方法和泡沫分离装置[P]. 中国: 201910537739.9, 2019-06-20.
XIONG C W, LU W J, SUN C Y. A kind of separation method of quinoa saponins and foam separation device[P]. China: 201910537739.9, 2019-06-20.
- [23] LI D, LI Z, PENG F, et al. Ultrafiltration process yield study on aqueous solution of total ginsenosides[J]. *Natural Product Communications*, 2022, 17(5): 1-7.
- [24] SEOL S Y, KIM B R, HONG S C, et al. The effective preparation of protopanaxadiol saponin enriched fraction from ginseng using the ultrafiltration[J]. *Natural Product Sciences*, 2014, 20(1): 58-64.
- [25] RUALES J, NAIR B M. Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds[J]. *Food Chemistry*, 1993, 48(2): 137-143.
- [26] DINI I, TENORE G C, SCHETTINO O, et al. New oleanane saponins in *Chenopodium quinoa*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49: 3976-3981.
- [27] VERZA S G, SILVEIRA F, CIBULSKI S, et al. Immuno-adjutant activity, toxicity assays, and determination by UPLC/Q-TOF-MS of triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* seeds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(12): 3113-3118.
- [28] ZHU N Q, SHENG S Q, SANG S M, et al. Triterpene saponins from debittered quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(4): 865-867.
- [29] GÓMEZ-CARAVACA A M, SEGURA-CARRETERO A, FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A, et al. Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a liquid chromatography diode array detection-electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry methodology[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(20): 10815-10825.
- [30] WANG M Y, PENG Y, PENG C S, et al. The bioassay-guided isolation of antifungal saponins from *Hosta plantaginea* leaves[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2017, 20(6): 501-509.
- [31] KARAKAS F P, ŞÖHRETOĞLU D, LIPTA T, et al. Isolation of an oleanane-type saponin active from *Bellis perennis* through antitumor bioassay-guided procedures[J]. *Pharmaceutical Biology*, 2014, 52(8): 951-955. 完