

# 油茶皂素大孔树脂纯化工艺优化及 LC/TOF-MS 分析

张新富<sup>1,2</sup>, 朱翔<sup>3</sup>, 刘亚军<sup>3</sup>, 夏涛<sup>1,\*</sup>, 杜先锋<sup>1</sup>, 高丽萍<sup>3</sup>, 张德龙<sup>4</sup>

(1.安徽农业大学 茶叶生物化学与生物技术教育部、农业部重点实验室, 安徽 合肥 230036;

2.青岛农业大学园林园艺学院, 山东 青岛 266109; 3.安徽农业大学生命科学学院, 安徽 合肥 230036;

4.安徽农业大学 微生物防治安徽省重点实验室, 安徽 合肥 230036)

**摘要:**以市售低纯度茶皂素粗品为原料,采用 AB-8 大孔树脂进行纯化,得到最佳纯化工艺为 30g/L 粗皂素溶液上样,30% 乙醇洗脱除去多数色素和部分蛋白等杂质,70% 乙醇溶液主要洗脱出茶皂素,油茶皂素的得率为 55.5%,纯度提高 1.86 倍。大孔树脂重复利用 8 次后,吸附和洗脱效果基本不变,放大试验证明其适合工业化生产。LC/TOF-MS 分析表明油茶皂素的分子质量主要集中在 1170~1304D 之间,并确定了一种油茶皂素的分子式为  $C_{58}H_{89}O_{26}$ ,同时推测了其结构式。

**关键词:**茶皂素;大孔树脂;LC/TOF-MS

## Purification by Macroporous Adsorption Resin Chromatography and LC/TOF-MS Analysis of Sasanquasaponin

ZHANG Xin-fu<sup>1,2</sup>, ZHU Xiang<sup>3</sup>, LIU Ya-jun<sup>3</sup>, XIA Tao<sup>1,\*</sup>, DU Xian-feng<sup>1</sup>, GAO Li-ping<sup>3</sup>, ZHANG De-long<sup>4</sup>

(1. Key Laboratory of Tea Biochemistry and Biotechnology, Ministry of Education and Ministry of Agriculture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. College of Landscape and Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 3. School of Biology Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

4. Anhui Provincial Key Laboratory of Microbial Pest Control, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**Abstract:** AB-8 macroporous resin was used to purify commercial crude sasanquasaponin with low purity. The optimal purification process was determined as follows: 30 g/L crude sample solution was loaded followed by washing the resin with 30% ethanol aqueous solution to remove unwanted impurities including most pigments and partial proteins, and the adsorbed sasanquasaponin was finally eluted with 70% ethanol aqueous solution, resulting in a recovery of 55.5% and a purification factor of 1.86. After eighth repeated use, the adsorption and elution capacities of this resin were unchanged basically. Furthermore, the scale-up experiments demonstrated the suitability for industrial production. The LC-TOF-MS analysis indicated that the molecular weight of the purified sasanquasaponin mainly varied between 1170 and 1304 D. In addition, a sasanquasaponin compound with molecular formula  $C_{58}H_{89}O_{26}$  was identified and its structural formula was deduced.

**Key words:** sasanquasaponin; macroporous resin; LC/TOF-MS

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)16-0007-05

茶皂素是山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)植物皂素的统称,是一类结构相近的齐墩果烷型五环三萜类皂甙的混合物,其基本结构由皂甙元、糖体、有机酸三部分组成,又称作茶皂甙、茶皂苷<sup>[1-3]</sup>。茶皂素是一种纯天然的非离子型表面活性剂,具有溶血、抗渗消炎、抗菌等生物活性,广泛应用于日用化工业、建筑业、纺织业、食品业以及医药行业等<sup>[4]</sup>。

1931 年,日本学者青山新次郎首次从茶叶中分离得到茶皂素,随后几十年,Masayuki 等从茶树(*Camellia sinensis*)的根、叶、花和种子中分离纯化出 56 种茶皂苷单体,并对茶皂苷的化学结构和物理化学性质进行了深入的研究<sup>[5]</sup>。近几年来,逐渐出现了从油茶(*Camellia oleifera*)和茶梅(*Camellia sasanqua*)中分离茶皂素的报道,Huang 等<sup>[6]</sup>从油茶(*Camellia oleifera*)饼粕分离纯化

收稿日期: 2011-06-29

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划项目(2009BADB1B10)

作者简介:张新富(1979—),男,讲师,博士研究生,研究方向为制茶工程与天然产物化学。E-mail: zxftea@163.com

\*通信作者:夏涛(1962—),男,教授,博士,研究方向为制茶工程与天然产物化学。E-mail: xiatao62@126.com

出一种叫做 sasanquasaponin 的茶皂苷物质, 并研究了它对癌细胞的作用; Chaicharoenpong 等<sup>[7]</sup>从油茶(*Camellia oleifera*)饼粕中分离了 camelliasaponin 1、theasaponin E<sub>1</sub>、theasaponin E<sub>2</sub>, 并研究了它们的定量分析方法; Kuo 等<sup>[8]</sup>从油茶(*Camellia oleifera*)籽中分离了一个茶皂素混合物(camelliasaponin), 并研究了它的杀虫效果; Matsuda 等<sup>[9]</sup>从茶梅(*Camellia sasanqua*)的花中分离了 5 个新的皂苷 sasanquasaponin I ~ V, 并研究了它们的生物活性。油茶饼中含有 11%~13% 的茶皂素(sasanquasaponin, SQS), 含量非常高, 工业上常用有机溶剂进行油茶皂素的提取<sup>[10]</sup>, 其纯化方法主要有沉淀法、萃取法、大孔树脂层析法、膜法等<sup>[11]</sup>, 但其纯度较低, 含有较多量的蛋白质、色素、糖类等杂质, 因此需要进一步纯化; 油茶中的皂苷类成分也非常多, 有待于进一步研究。本研究优化大孔树脂纯化油茶皂素的工艺, 为工业化开发提供依据; 并对油茶皂素进行 LC/TOF-MS 分析, 为油茶皂素单体的进一步研究提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

油茶皂素粗品(通常称为茶皂素, 纯度 41%) 杭州中野天然植物有限公司; 大孔树脂 沧州宝恩吸附材料科技有限公司; 乙腈、甲醇、乙酸均为色谱纯; 其他化学试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

飞行时间质谱仪(TOF) 美国 Agilent 公司; 液相色谱仪 日本岛津公司; 紫外-可见分光光度计; 恒温水浴锅; 热风干燥箱; 电子天平; 移液枪。

### 1.3 分析测定方法

树脂含水量测定: 105℃烘至质量恒定<sup>[12]</sup>; 油茶总皂甙的测定: 香草醛-硫酸显色法<sup>[13-14]</sup>; 蛋白质的测定: 考马斯亮蓝比色法<sup>[15]</sup>; 色素的测定: 在波长 420nm 处测定吸光度<sup>[16-17]</sup>。

LC/TOF-MS 分析: Agilent Zorbax Eclipse Plus C<sub>18</sub> (250mm × 4.6mm, 5μm) 色谱柱, 检测波长为 280nm, 柱温箱设定为 25℃, 流速 1.0mL/min, A 相为 0.2% 乙酸, B 相为 100% 乙腈, 0~15min 内流动相 B 由 35% 升至 40%, 45min 时升到 60%, 55min 时再升到 80%, 60min 时回至 35%; 飞行时间质谱仪(time of flight mass spectrometer, TOF)检测: 电喷雾离子源(ESI), 雾化气压 30psi, 氮气流速 12L/min, 阴离子模式检测, 离子化电压为 3500V, 碎片电压 175V。

### 1.4 方法<sup>[12,16,18]</sup>

#### 1.4.1 不同树脂的静态吸附洗脱实验

吸附量的测定: 将 1g(干质量)大孔树脂预处理后, 置于带塞三角瓶中, 加入 30mL 10g/L 的茶皂素溶液,

25℃摇 12h, 沥出溶液, 定容至 50mL, 按照 1.3 节方法进行茶皂素、蛋白、色素的测定。

洗脱量的测定: 将吸附饱和的树脂用 20mL 去离子水冲洗 4 次, 然后加入 30mL 的 80% 乙醇溶液洗脱, 25℃摇 12h, 洗脱液定容至 50mL, 按照 1.3 节方法进行茶皂素、蛋白、色素的测定。

#### 1.4.2 AB-8 树脂吸附浓度与吸附效果实验

称取 AB-8 树脂 1g(干质量)共 7 份, 预处理后分别加入 30mL 质量浓度为 2.5、5、10、20、30、40、50g/L 的粗皂素溶液, 25℃摇 12h, 过滤, 用 20mL 去离子水冲洗树脂 4 次, 定容至 50mL, 然后加入 80% 乙醇溶液 30mL, 25℃摇 12h, 洗脱后定容至 50mL, 测定茶皂素含量。

#### 1.4.3 吸附动力学实验

称取 1g(干质量)AB-8 树脂, 预处理后装入带塞三角瓶中, 加入 30mL 30g/L 的粗茶皂素溶液, 每 10min 取 0.1mL 测定茶皂素含量。

#### 1.4.4 AB-8 树脂动态洗脱条件的优化

称取 4g(干质量)AB-8 大孔树脂, 预处理后装入玻璃柱中(460mm × 10mm i.d.), 用 95% 乙醇溶液冲柱, 再用去离子水冲至无醇味。30g/L 粗皂素溶液上样 120mL 后, 用 100mL 去离子水冲洗残留上样液后, 分别用 20、30、40、50、60、70、80、90、100% 乙醇溶液 100mL 进行洗脱, 分别测定计算茶皂素、蛋白质和色素的洗脱率, 选择出最佳洗脱条件。

#### 1.4.5 大孔树脂重复使用性能考察

称取 4g(干质量)AB-8 大孔树脂, 预处理后, 30g/L 粗皂素水溶液上样 60mL 后, 用 100mL 去离子水冲洗残留上样液后, 分别用 30%、70% 和 95% 乙醇溶液各 100mL 洗脱, 连续使用 8 个周期, 考察大孔树脂的吸附洗脱能力。

#### 1.4.6 AB-8 树脂放大实验

在已经确定的洗脱条件下, 按比例放大并考察洗脱效果: 称取 270g(干质量)AB-8 树脂, 预处理后装柱(5cm × 130cm i.d.), 30g/L 茶皂素溶液上样 5L, 分别用 30%、70% 乙醇溶液梯度洗脱, 洗脱液各 6L。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同大孔树脂的特性

表 1 不同大孔树脂的物理特性

Table 1 Physical characteristics of different macroporous resins used in this study

| 型号      | 极性  | 比表面积/(m <sup>2</sup> /g) | 平均孔径/(Å) | 含水量/% |
|---------|-----|--------------------------|----------|-------|
| HPD100  | 非极性 | 650~700                  | 85~90    | 65.4  |
| HPD200A | 非极性 | 700~750                  | 85~90    | 47.2  |
| HPD400  | 中极性 | 500~550                  | 75~80    | 65.9  |
| HPD700  | 非极性 | 650~700                  | 85~90    | 50.4  |
| D101    | 非极性 | 大于 400                   | 100~110  | 68.0  |
| DM130   | 中极性 | 500~550                  | 90~100   | 70.7  |
| AB-8    | 弱极性 | 480~520                  | 130~140  | 69.4  |

已有的研究发现离子交换树脂对皂苷具有较强的吸附能力,但洗脱率偏低<sup>[19]</sup>,极性大孔树脂对皂苷的吸附率和洗脱率均偏低<sup>[12]</sup>,所以本实验选择不同比表面积和孔径的中极性、弱极性和非极性大孔树脂进行研究,其对油茶皂素的吸附与洗脱效果如图1所示。

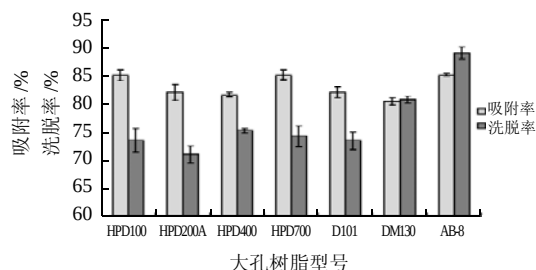


图1 不同大孔树脂对茶皂素的吸附洗脱效果  
Fig.1 Elution capacities of sasanquasaponin from different macroporous resins

由图1可以看出,AB-8树脂相对于其他几种型号的树脂对茶皂素具有较高的吸附率和洗脱率,均达到85%以上,这可能与AB-8树脂具有较大的孔径(表1)有关系,故选择AB-8树脂进行后继实验。

## 2.2 AB-8树脂的吸附等温线

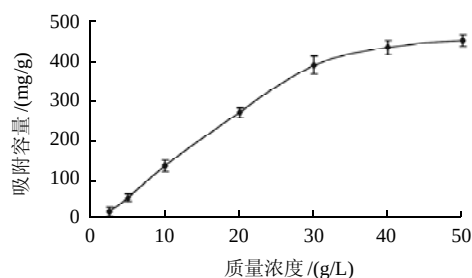


图2 AB-8树脂的吸附等温线  
Fig.2 Adsorption isotherm for SQS on AB-8 resin

由图2可以看出,当茶皂素粗品溶液浓度较低时,AB-8树脂的吸附容量随其质量浓度的增加呈直线上升,进一步说明AB-8树脂对油茶皂素具有较好的吸附效果。当质量浓度30g/L时,AB-8树脂的吸附容量基本达到饱和状态,其吸附容量随质量浓度的增加变化不明显,因此选择30g/L的皂素质量浓度用来做后继实验。

## 2.3 AB-8树脂的吸附动力学特性

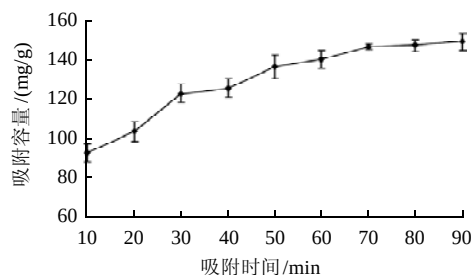


图3 AB-8树脂对茶皂素的吸附动力学  
Fig.3 Adsorption kinetics of AB-8 macroporous resin for sasanquasaponin

由图3可以看出,随着吸附时间的延长,AB-8大孔树脂的吸附容量在增加,前30min吸附容量增加迅速,呈直线上升,这也说明AB-8树脂对油茶皂素具有很好的吸附效果。随着吸附时间的进一步延长,其吸附容量继续增加,但增加幅度变缓,当吸附时间达到70min时,吸附容量基本达平衡状态,考虑到实际应用中效率及生产成本问题,结合其吸附效果,吸附时间不应少于30min,所以本实验条件下,上样速度不能超过1mL/min。

## 2.4 AB-8树脂的洗脱条件的优化

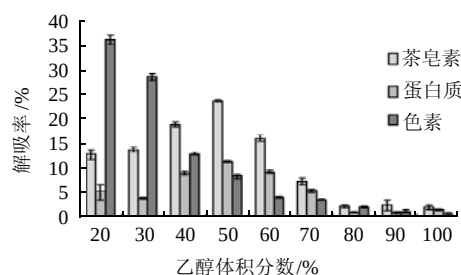


图4 不同体积分数乙醇溶液对茶皂素、蛋白质、色素洗脱率的影响  
Fig.4 Effect of different concentrations of ethanol solution on the elution of sasanquasaponin, pigments and proteins

由图4可以看出,体积分数为20%、30%乙醇溶液能够洗脱26.2%的茶皂素,而色素被洗脱掉64.5%,蛋白质被洗脱掉8.7%,说明30%乙醇溶液洗脱AB-8树脂,对茶皂素中色素的脱除具有很好的效果,同时又脱除掉部分蛋白;质量分数为70%乙醇溶液能够洗脱出绝大部分茶皂素,色素和蛋白质同时被洗脱出一小部分,说明其纯化效果较好。因此为了简化工艺,选择30%乙醇溶液洗脱除去绝大多数色素和部分蛋白后,直接用70%乙醇溶液洗脱得到纯化后的茶皂素,此工艺简单易行,节约乙醇,适合进一步扩大生产。经计算,70%乙醇溶液洗脱液茶皂素纯度提高1.86倍,得率为55.5%。

## 2.5 AB-8树脂的性能考察

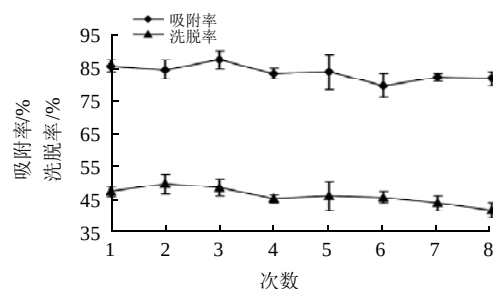


图5 AB-8树脂的性能考察  
Fig.5 Repeated usability of AB-8 macroporous resin for sasanquasaponin purification

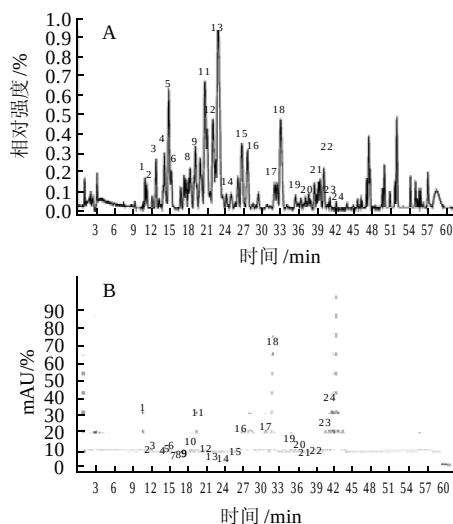
从图5可以看出, AB-8树脂前8次连续上样, 其吸附率均维持在85%左右, 洗脱率(70%乙醇溶液洗脱部分)在45%以上, 降低不明显。由此可见, AB-8树脂在纯化油茶皂素时可以重复利用多次, 均能保持较高的吸附率和洗脱率, 其再生也比较方便易行, 价格也比较便宜, 因此可用于工业化开发。

## 2.6 放大试验

按照1.4.6节方法进行放大试验, 70%乙醇溶液洗脱得到纯化后的油茶皂素, 真空旋转蒸发去除乙醇后喷雾干燥后称量为78.91g, 得率为52.6%, 纯度提高1.82倍, 达到了预期的效果。

## 2.7 LC/TOF-MS分析

把放大实验中后70%乙醇洗脱部分进一步纯化进行LC/TOF-MS分析, 结果见图6、表2。



A. LC/TOF-MS 总离子流图; B. 在波长280nm处的LC-UV色谱图。

图6 油茶皂素色谱图

Fig.6 Chromatograms of purified sasanquasaponin

表2 油茶皂素分子质量

Table 2 MS data of purified sasanquasaponin

| 编号 | 出峰时间/min | 质荷比<br>([M-H] <sup>-</sup> ) | 编号 | 出峰时间/min | 质荷比<br>([M-H] <sup>-</sup> ) |
|----|----------|------------------------------|----|----------|------------------------------|
| 1  | 10.447   | 1219                         | 13 | 22.650   | 1201                         |
| 2  | 11.088   | 1189                         | 14 | 24.793   | 1223                         |
| 3  | 12.590   | 1201                         | 15 | 26.532   | 1217                         |
| 4  | 13.941   | 1233                         | 16 | 27.426   | 1187                         |
| 5  | 14.633   | 1203                         | 17 | 31.831   | 1245                         |
| 6  | 15.071   | 1203                         | 18 | 32.810   | 1215                         |
| 7  | 17.451   | 1293                         | 19 | 35.274   | 1287                         |
| 8  | 18.126   | 1263                         | 20 | 37.384   | 1301                         |
| 9  | 18.987   | 1261                         | 21 | 38.954   | 1303                         |
| 10 | 19.764   | 1231                         | 22 | 39.815   | 1301                         |
| 11 | 20.523   | 1201                         | 23 | 40.827   | 1171                         |
| 12 | 21.840   | 1231                         | 24 | 41.840   | 1169                         |

从图6可看出, 油茶皂素由多种化合物组成, 4~

10、13~15号峰在紫外下吸收不强, 但离子峰很强, 其余峰紫外吸收与离子吸收趋势基本一致, 这可能是由于皂甙元上所连的有机酸具有不同的双键所致, 使某些皂素虽然含量很低, 但紫外吸收却很强。从表2可以看出, 油茶皂素的分子质量主要集中在1170~1304D之间, 这与有关文献报道的茶皂素的分子质量范围相一致<sup>[20-23]</sup>, 但这些茶皂素均是从茶树(*Camellia sinensis*)的叶片和种子中发现的, 油茶(*Camellia oleifera*)中的皂素结构报道较少<sup>[5]</sup>, 表2中所列主要油茶皂素的分子质量与报道的茶树中的皂素的分子质量范围基本一致, 但其结构式有待于进一步研究。

LC-MS/MS分析得出, 11号峰的 $m/z$ 为1201([M-H]<sup>-</sup>), 二级MS碎片 $m/z$ 主要有1021、889、665, 如图7(A)所示, 这可能是由于茶皂素分子丢失一个己糖 $m/z$ 变为1021([M-H-C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>6</sub>]<sup>-</sup>), 再丢失一个戊糖 $m/z$ 变为889([M-H-C<sub>11</sub>H<sub>19</sub>O<sub>10</sub>]<sup>-</sup>),  $m/z$ 665处的离子峰是三萜类化合物分子的主要片段, 推测该化合物分子式为C<sub>58</sub>H<sub>89</sub>O<sub>26</sub>, 通过LC-MS/MS分析数据 and 对比参考文献<sup>[8,23]</sup>, 预测结构式如图7(B)所示。

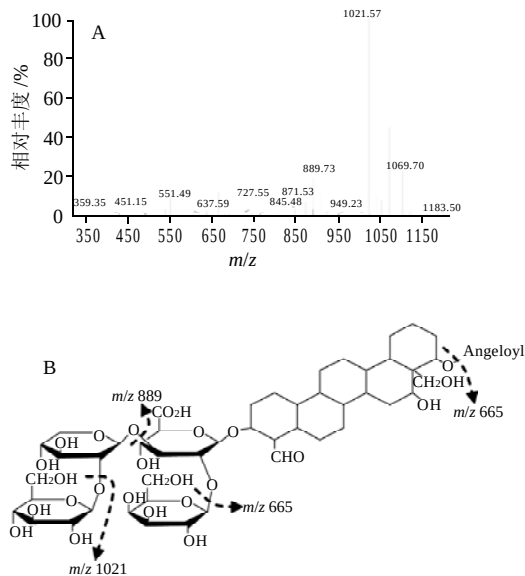


图7 油茶皂素二级MS分裂图

Fig.7 MS/MS fragmentation of peak 11(shown in Fig.6)

## 3 结论

3.1 大孔树脂能够显著提高油茶皂素的纯度并适合工业化开发, 其最佳工艺为30g/L粗皂素溶液上样、30%乙醇溶液洗脱除去杂质、70%乙醇洗脱茶皂素, 得率为55.5%, 纯度提高1.86倍。大孔树脂可重复利用多次(8次), 放大试验能够保持预期的纯化效果, 证明其适合工业化生产。

3.2 LC/TOF-MS 分析表明油茶(*Camellia oleifera*)中皂素的分子质量主要集中在 1170~1304D 之间,与茶树(*Camellia sinensis*)中的皂素分子质量范围基本一致,并确定了一种油茶皂素的分子式为  $C_{58}H_{89}O_{26}$ ,同时推测了其结构式。

#### 参考文献:

- [1] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 58-62.
- [2] 胡婕伦, 聂少平, 龚毅, 等. 响应曲面法优化茶皂素提取工艺的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(18): 106-109.
- [3] YOSHIKAWA M, MORIKAWA T, LI Ning, et al. Bioactive saponins and glycosides. XXIII triterpene saponins with gastroprotective effect from the seeds of *Camellia sinensis* - theasaponins E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub>, E<sub>5</sub>, E<sub>6</sub>, and E<sub>7</sub>[J]. Chem Pharm Bull, 2005, 53(12): 1559-1564.
- [4] 陈力, 邓泽元, 胡蒋宁, 等. 高速逆流色谱分离制备茶粕中茶皂素单体[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 127-131.
- [5] 费学谦. 高速逆流色谱纯化茶皂素的方法: 中国, 102093461A[P]. 2011-06-15.
- [6] HUANG Qiren, HE Ming, CHEN Heping, et al. Protective effects of sasanquasaponin on injury of endothelial cells induced by anoxia and reoxygenation *in vitro*[J]. Basic & Clinical Pharmacology Toxicology, 2007, 101(5): 301-308.
- [7] CHAICHARONPONG C, PETSOM A. Quantitative thin layer chromatographic analysis of the saponins in tea seed meal[J]. Phytochemical Analysis, 2009, 20(3): 253-255.
- [8] KUO P C, LIN T C, YANG C W. Bioactive saponin from tea seed pomace with inhibitory effects against *Rhizoctonia solani*[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(15): 8618-8622.
- [9] MATSUDA H, NAKAMURA S, FUJIMOTO K, et al. Medicinal flowers. XXXI. acylated oleanane-type triterpene saponins, Sasanquasaponins I-V, with antiallergic activity from the flower buds of *Camellia sasanqua* [J]. Chem Pharm Bull, 2010, 58(12): 1617-1621.
- [10] 王武, 方红美, 刘京生, 等. 茶叶籽饼粕中茶皂素提取工艺研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 230-233.
- [11] 袁新越, 江河源, 张建勇. 茶皂素的提取制备技术[J]. 中国茶业, 2009 (4): 8-10.
- [12] WAN J B, ZHANG Q W, YE W C, et al. Quantification and separation of protopanaxatriol and protopanaxadiol type saponins from *Panax notoginseng* with macroporous resins[J]. Separation and Purification Technology, 2008, 60(2): 198-205.
- [13] 侯如燕, 宛晓春, 黄继轸. 油茶皂苷标准品的制备及定量方法的比较[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(8): 62-65.
- [14] 屈姝存, 唐明远. 油茶皂角苷的纯化与含量测定[J]. 湖南农业大学学报, 1999, 25(3): 257-259.
- [15] 李建武. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 2001.
- [16] LIU Jun, LUO Jianguang, SUN Yi, et al. A simple method for the simultaneous decoloration and deproteinization of crude levan extract from *Paenibacillus Polymyxa* EJS-3 by macroporous resin[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(15): 6077-6083.
- [17] 涂云飞, 杨秀芳, 孔俊豪. 碱性水饱和正丁醇萃取体系联合大孔树脂纯化茶皂素研究[J]. 茶叶科学, 2010, 30(增刊 1): 556-560.
- [18] NIE W, LUO J G, WANG X B, et al. An insight into enrichment and separation X of oleanane-type triterpenoid saponins by various chromatographic materials[J]. Separation and Purification Technology, 2009, 65(3): 243-247.
- [19] 侯如燕, 宛晓春, 黄继轸. 采用大孔树脂法纯化油茶皂苷的工艺条件[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(2): 130-132.
- [20] WU Qingbin, WANG Yan, GUO Meili. Triterpenoid saponins from the seeds of *Celosia argentea* and their anti-inflammatory and antitumor activities[J]. Chem Pharm Bull, 2011, 59(5): 666-671.
- [21] JIAN Honglei, LIAO Xiaoxia, ZHU Liwei, et al. Synergism and foaming properties in binary mixtures of a biosurfactant derived from *Camellia oleifera* Abel and synthetic surfactants[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2011, 359(2): 487-492.
- [22] MATSUI Y, KOBAYASHI K, MASUDA H, et al. Quantitative analysis of saponins in a tea-leaf extract and their antihypercholesterolemic activity [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2009, 73(7): 1513-1519.
- [23] YOSHIKAWA M, MORIKAWA T, NAKAMURA S, et al. Bioactive saponins and glycosides.XXV acylated oleanane-type triterpene saponins from the seeds of tea plant (*Camellia sinensis*)[J]. Chem Pharm Bull, 2007, 55(1): 57-63.