

## 茶叶中茶多酚提取分离技术的研究进展

白清清<sup>1,2</sup>, 刘永峰<sup>1,3</sup>, 裴 栋<sup>1</sup>, 张天才<sup>1,2</sup>, 郭 玫<sup>2\*</sup>, 邸多隆<sup>1,2,4\*</sup>

1. 中国科学院兰州化学物理研究所 中国科学院西北特色植物资源化学重点实验室和甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃兰州 730000
2. 甘肃中医学院药理学系 甘肃省高校中(藏)药化学与质量研究省级重点实验室, 甘肃兰州 730000
3. 中国科学院研究生院, 北京 100039
4. 青岛市资源化学与新材料研究中心, 山东青岛 266100

**摘要:** 简单介绍了茶叶中茶多酚和咖啡因的药理活性以及茶叶有效成分的组成和几种主要儿茶素类化合物的结构, 分析探讨了提取分离废弃茶叶的原因和意义, 并综述了近年来国内外有关茶叶中茶多酚提取分离技术的研究进展, 包括溶剂提取法、离子沉淀法、超声波提取法、超临界流体萃取法、微波辅助萃取法、柱色谱法、大孔吸附树脂法和高速逆流色谱法, 通过不同的实验过程对不同技术手段的应用及特点进行概述, 并对这一研究领域的发展前景和发展方向做出展望。

**关键词:** 茶叶; 茶多酚; 提取分离

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2012)03-0220-09

## Extraction and separation technology of tea polyphenols from tea leaves

BAI Qing-qing<sup>1,2</sup>, LIU Yong-feng<sup>1,3</sup>, PEI Dong<sup>1</sup>, ZHANG Tian-cai<sup>1,2</sup>, GUO Mei<sup>2</sup>, DI Duo-long<sup>1,2,4</sup>

1. Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources and Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 73000, China
2. Key Laboratory of Chemistry and Quality for Traditional Chinese Medicines of the College of Gansu Province, Department of Pharmacy, Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China
3. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China
4. Qingdao Center of Resource Chemical and New Material, Qingdao 266100, China

**Abstract:** This paper introduces pharmacological activities of tea polyphenols and caffeine in tea leaves, effective ingredients of tea composition, and structures of several main catechines compounds, and discusses the cause and significance for extraction and separation of the waste tea. The research progress of relevant extraction and separation techniques of tea polyphenols was reviewed, including solvent extraction, ion precipitation, ultrasonic extraction, supercritical fluid extraction, microwave-assisted extraction, column chromatography, macroporous adsorption resin, and high speed counter current chromatography. The application and features of different techniques were summarized through diverse experiment process, so as to look to the development prospect and development direction of this research in the field.

**Key words:** tea leaves; tea polyphenols; extraction and separation

茶叶 (tea leaves) 系山茶科山茶属植物茶 *Camellia sinensis* (L.) Kuntze 的干燥嫩叶或叶芽, 约 30 属, 500 种, 分布于热带和亚热带地区, 我国有 14 属, 397 种, 主产长江以南各地。大量研究表明, 多酚作为次级代谢产物, 对水果、蔬菜和其他植物

的口感及营养价值具有决定性作用<sup>[1-2]</sup>。茶多酚是茶叶中的主要有效成分, 具有抗肿瘤、降血脂、抗动脉粥样硬化、强心、抗心律失常、抗衰老和抗菌等多种生物活性, 并且大量报道揭示这些生物活性均与其抗氧化作用有关。茶叶中含有的咖啡因属于甲

收稿日期: 2012-03-26

基金项目: 国家自然科学基金面上基金 (20775083); 中科院“百人计划”项目; 中科院“科技支甘”项目

作者简介: 白清清 (1984—), 女, 山西省广灵县人, 甘肃中医学院在读硕士, 研究方向: 中药有效成分与质量标准研究。

Tel: 15294194161 E-mail: bq230@163.com

\*通讯作者 邸多隆, 研究员。Tel: (0931)4968248 E-mail: didl@licp.cas.cn

郭 玫, 教授。Tel: (0931)8765394 E-mail: guomeig@sina.com

基黄嘌呤类生物碱，它不仅是构成茶汤滋味的重要组成部分，而且在一定浓度范围内对人体具有强心、利尿、解毒和平喘等药理作用，是医用咖啡因的重要来源<sup>[3-4]</sup>。近年来，由于茶多酚和咖啡因具有多种与人体健康有关的药理及生理作用，因而受到国内外的广泛关注，成为茶叶深加工与再利用的研究热点。

近年来提取分离茶叶有效成分的研究已经引起很多学者的兴趣。传统的提取方法主要有溶剂提取法、离子沉淀法、超声波提取法和超临界流体萃取法等，而分离方法有柱色谱法、大孔吸附树脂法、高速逆流色谱法和膜分离法等。张素霞<sup>[5]</sup>比较研究了超声波和有机溶剂两种提取工艺对茶多酚提取率的影响；韦星船等<sup>[6]</sup>研究了利用微波和离子沉淀联合提取分离茶多酚；舒红英<sup>[7]</sup>等利用复合酶-微波法提取绿茶中的茶多酚；Nkhili 等<sup>[8]</sup>比较了微波辅助水提取（MWE）和传统的加热辅助水提取（CWE）两种方法对茶多酚提取的影响；张仁堂等<sup>[9]</sup>研究了溶剂提取法浸提茉莉花茶中的茶多酚，并将得到的茶多酚粗提物用石油醚、氯仿和醋酸乙酯萃取，最后将醋酸乙酯相过聚酰胺柱分离纯化茶多酚的工艺条件。

中国是世界上最大的茶叶产地之一，茶叶资源十分丰富，但许多茶叶加工厂只将少量茶叶加工成高档商品茶，大量的中低档茶、下脚料和粗老叶被废弃。据统计，这些滞留茶叶每年可达数万吨，不仅污染环境也不符合现代经济可持续发展的要求。另外，随着世界人口的激增，粮食问题和能源短缺日趋严重，可再生植物资源的开发利用已引起全世界的普遍关注，因而开发废弃茶叶使之成为一种可利用的新型资源，有助于保护生态环境，提高资源利用率。同时，从中低档和废弃茶叶中提取分离有效成分能够改变中低档茶滞销和废弃茶叶浪费的局面，对节约资源和创造经济效益有着深远意义。

## 1 茶叶的化学成分

茶叶的化学成分主要包括咖啡因（caffeine）、茶多酚（tea polyphenols）、茶黄素（theaf lavins）、茶多糖（tea polysaccharide）、氨基酸（amino acid）、皂苷（saponin）、鞣酸类（tannins）等多种物质。其中茶多酚是茶叶的主要有效成分，包括儿茶素类（catechines）、黄烷醇类（flavanols）、黄烷酮类（flavanones）和酚酸类（phenolic acids）等，其基本母核是一个连有一个或多个羟基的芳环轴承，其结构可平行地从一个简单的多酚分子延伸为一个复

杂的高分子聚合物<sup>[10]</sup>。儿茶素类主要包括表儿茶素（epicatechin, EC）、表没食子儿茶素（epigallo catechin, EGC）、表儿茶素没食子酸酯（epicatechin gallate, ECG）和表没食子儿茶素没食子酸酯（epigallo catechin gallate, EGCG）等<sup>[11]</sup>，结构见图 1，其中 EGCG 占儿茶素类的 50%。

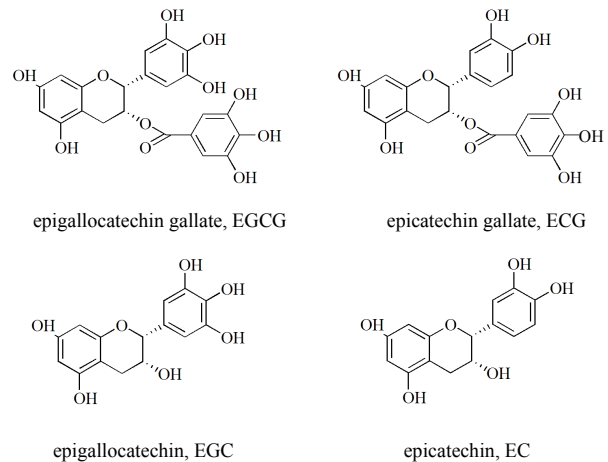


图 1 茶叶中 4 种主要的儿茶素类化合物结构

Fig. 1 Chemical structures of four main compounds of catechines in tea leaves

## 2 国内外现有的茶多酚提取分离技术

我国茶叶资源丰富，但利用率很低。随着茶多酚、咖啡因和茶多糖等茶叶有效成分应用领域的拓展，国内外市场的需求与日俱增。所以，从废弃茶叶中提取分离有效成分的研究已经引起很多学者的兴趣。以下综述目前国内外从茶叶中提取分离有效成分的主要技术和方法。

### 2.1 溶剂提取法

溶剂提取法是提取茶叶有效成分最常用的方法，是利用茶叶中不同化合物在不同溶剂中的溶解度差异进行分离的。溶剂提取法的关键是选择合适的溶剂，一种好的溶剂应对所提成分有较大的溶解度，而对共存杂质的溶解度很小。溶剂的选择要综合考虑溶剂的极性、被提取成分及共存的其他成分的性质三方面的因素，同时还应兼顾溶剂是否具有使用安全、价廉易得和浓缩方便等特点。目前，常用的溶剂提取法有浸渍法、渗漉法、煎煮法和回流法等。

赵岩<sup>[12]</sup>利用球形或蛇形冷凝管、恒压滴液漏斗及圆底烧瓶组成的装置，替代索氏提取器进行连续萃取，用于提取茶叶中的咖啡因，结果得到的咖啡因提取率为 76.0%，而利用索氏提取器得到的咖啡

因提取率是 78.0%，一次性简单萃取的煎煮法是 55.0%。该方法在滴液漏斗中采取了提取液慢放的方法，这样使得被提取物在整个提取过程中一直浸泡在提取液中，加之冷凝管冷凝下来的温度较高的新鲜溶剂不断补充，在滴液漏斗中形成了较高温度溶剂的穿流现象，使得提取速度较索氏提取器快。另外，这种装置优点还在于可以根据情况随时停止加热以停止提取过程，比索氏提取器必须等一次虹吸过程完成方便的多。但是，这种方法提取时间较长，温度较高，不适用于热不稳定和易挥发成分的提取，操作装置难以实现工业生产，相对应用范围较窄。不过，这种恒压滴液漏斗及配套仪器装置，在某些液-固萃取操作中有一定的应用意义。

Turkmen 等<sup>[13]</sup>比较了水和不同体积分数(50%、80%、100%)有机溶剂如丙酮、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、乙醇、甲醇等对提取红茶及伴侣茶中总茶多酚的量及其抗氧化活性的影响，并采用酒石酸亚铁和福林酚两种方法进行测定。实验数据显示 50% DMF 提取红茶得到茶多酚的量最高，采用两种方法测定提取物中茶多酚的量，结果分别为 131.9、99.8 mg/g；而 50%丙酮提取伴侣茶得到的茶多酚量最多，采用两种方法测定提取物中茶多酚的量，结果分别为 132.5、120.4 mg/g；且用 50%丙酮提取红茶和 50%乙醇提取伴侣茶所得到的总茶多酚的抗氧化活性最强，分别为 83.1%和 94.3%。实验结果表明茶叶的种类和提取溶剂的极性对茶多酚的提取量和抗氧化活性有重要的影响，选择适当的有机溶剂及浓度可提高被提取成分的提取率。

溶剂提取法虽然稳定、可靠、操作简单，但是相对提取时间长、有效成分提取率低、溶剂使用量大、回收困难，而且有些有机溶剂易燃有毒，不利于安全生产。综上所述，溶剂提取法的改进主要应以简化工艺、降低成本、提高有效成分和提取率等为目标。表 1 总结了近年来用于提取多酚类化合物的有机溶剂。

## 2.2 离子沉淀法

离子沉淀法主要用来提取分离茶叶中的茶多酚，是利用茶多酚在一定条件下可以和某些无机碱、盐中的金属离子形成络合物而沉淀的性质，起到与水、单糖和氨基酸等组分分离的效果，此方法的关键之处在于沉淀剂的选择与使用。目前常用的沉淀剂有 3 种：重金属碱式盐、氢氧化物和盐离子，尤以重金属碱式盐和盐离子为主。

表 1 近年来用于提取多酚类化合物的有机溶剂

Table 1 Organic solvents used for polyphenols extraction in recent years

多酚类化合物	提取溶剂	文献
酚酸、黄烷醇类、花青素	醋酸乙酯	[14]
花青素、黄烷醇类、自由基酚酸	10%~90%乙醇	[15]
黄烷醇类、自由基酚酸	氯仿	[16]
黄烷醇类、酚酸	乙醚	[17]
原花青素、酚酸	80~100 °C 的沸水	[18]
酚类化合物、酚酸	石油醚	[19]

汪兴平等<sup>[20]</sup>建立了从茶叶中同时分离茶多酚、咖啡因和茶多糖的工艺技术，确定了  $Al^{3+}$  沉淀茶多酚的最佳 pH 值为 5.3~5.7；茶多酚-铝盐的最佳转溶条件为：茶多酚-铝盐沉淀用 pH 1.5 的酸溶液，以料酸比 1:2 于 60 °C 水浴中转溶 15 min，茶多酚的转溶率达 79.1%。实验结果表明金属盐沉淀剂沉淀转溶时 pH 值波动大，而茶多酚在碱性条件下易氧化，影响产品品质；滤过和稀酸转溶过程中茶多酚的损失较大。

张效林等<sup>[21]</sup>提出一种非溶剂法脱咖啡因，生产低咖啡因茶多酚的新工艺。实验研究了在乙醇-水溶液中用离子沉淀法分离茶多酚，絮凝法进一步脱除沉淀酸转溶液中咖啡因的新工艺过程。该法以  $Zn^{2+}$  为沉淀剂，比较茶多酚和咖啡因分别在 50%乙醇与水溶液中的沉淀效果，并考察了沉淀温度及沉淀剂加入量对沉淀率的影响。结果显示 50%乙醇与水溶液相比，茶多酚沉淀率略有提高而咖啡因的沉淀率显著降低(50%乙醇中茶多酚沉淀率 96.2%，咖啡因沉淀率 52.7%；水溶液中茶多酚沉淀率 95.7%，咖啡因沉淀率 80.3%)，这是由于咖啡因在乙醇-水溶液中的溶解度大于其在水中的溶解度，导致共沉淀现象减弱。不同沉淀温度对茶多酚沉淀率无明显影响。但随着沉淀温度的升高，咖啡因沉淀率有较大的降低，这是由于温度升高时咖啡因的溶解度加大，咖啡因与茶多酚的作用减弱，共沉淀现象减少，因此，可选择 50 °C 为沉淀的适宜温度。随着沉淀剂  $Zn^{2+}$  用量的增加，茶多酚沉淀率提高，但当  $Zn^{2+}$  与茶多酚的物质的量之比超过 1.5 时，茶多酚沉淀率增加不大。在保证较高沉淀率的前提下，应尽量避免沉淀剂用量过大而造成浪费，故选择  $Zn^{2+}$  与茶多酚的物质的量之比为 1.5 为宜。

离子沉淀法适当减少了有机溶剂的使用量，工艺相对简单，但是溶液中咖啡因等干扰物质因与茶

多酚配合物的吸附产生共沉淀作用而被带入沉淀中会影响茶多酚的质量分数,此外,有些金属盐残留对产品安全性也构成危害,工艺操作控制比较严格,废渣、废液处理量大。

### 2.3 超声波提取法

超声波具有独特的机械粉碎作用以及在通过液体时可形成空化效应,当利用它进行辅助浸提时,可加快提取物分子运动的频率和速率,提高有效成分的浸出速率和数量。

肖文军等<sup>[22]</sup>以古丈绿茶为原料,在比较研究超声波辅助浸提对有效成分的浸出率高于传统水提的基础上,以有效成分浸出率为评价指标,利用  $L_9(3^4)$  正交试验考察时间、温度、料液比和提取次数对有效成分浸出率的影响,得到最佳工艺条件为:料液比 1:15,水温 95 °C,两次浸提(第一次、第二次水量分别为总水量的 8/15、7/15),每次 15 min。在优化的提取条件下,茶多酚的浸出率比传统水提取提高 14.9%,同时,每次浸提的时间比传统水提缩短 15 min。

宋传奎等<sup>[23]</sup>以紫阳群体绿茶为材料,采用二次回归正交旋转组合设计对茶多酚超声波辅助提取工艺进行优化。实验建立了料液比、乙醇体积分数、超声时间、超声温度和超声波功率 5 因素与茶多酚提取率之间的回归优化模型,模型达到极显著水平,从模型得出的最佳提取工艺为:料液比 1:35.8,乙醇体积分数 77.6%,超声时间 37.6 min,超声温度 72.1 °C,超声波功率 248.4 W。在最佳工艺参数下,茶多酚提取率最高可达 21.8%,比传统乙醇浸提方法提取时间缩短,且提取率提高了 8.6%。

朱德文等<sup>[24]</sup>研究了以机采茶鲜叶为浸提原料,以水做溶剂,采用超声波辅助浸提茶多酚的工艺试验,考察了浸提时的超声波功率、茶叶粉碎粒度、浸提温度和料液比对茶多酚浸提效果的影响。在单因素试验的基础上,通过  $L_9(3^4)$  正交试验设计,确定了超声波辅助浸提茶多酚的主次影响因素和最佳工艺参数:料液比 1:20,浸提温度 60 °C,超声波功率 350 W,茶叶粉碎粒度 1.5 mm。在此条件下,茶多酚的浸提得率可达 95.9%。此方法较常规水浴浸提茶多酚含量高、用时短、浸提次数少,与超声波辅助浸提干茶叶的茶多酚浸提得率相当。由此可见,采用超声波辅助浸提机采茶鲜叶中茶多酚的方法是可行的。

超声波提取在中药有效成分提取、分离与制备

工艺过程中,由于超声波的助溶作用,与常规提取法相比,具有适用于各种溶剂、提取速度快、方法简单、产率高和无需加热等优点,故超声波提取对一些遇热不稳定成分的提取尤为适宜。

### 2.4 超临界流体萃取法

超临界流体萃取法(supercritical fluid extraction, SFE)是 20 世纪 80 年代引入中国的一项新型分离技术。与传统的提取分离法相比较,SFE 最大的优点是可在近常温常压条件下提取分离不同极性、不同沸点的化合物;通过改变萃取压力、温度或添加适当的夹带剂,可改变萃取剂的溶解性和选择性,提高萃取效率。

王朝瑾等<sup>[25]</sup>通过对绿茶的浸提实验,确定了超临界  $CO_2$  提取茶多酚的最佳工艺条件,并通过与溶剂法萃取茶多酚的比较,确定了超临界  $CO_2$  萃取茶多酚的可行性。实验结果表明当萃取温度为 50 °C,压力为 35 MPa,夹带剂的量为 40%,其中乙醇体积分数为 65%,萃取时间为 60 min 时,茶多酚的平均得率为 10.5%,产品儿茶素的量可达 77.4%。该方法操作简便、简单易行、分离效果好,除乙醇外不需要用到其他有机溶剂,但是实验中没有考虑与萃取速率有关的分子扩散、流动形态和夹带剂等动力学因素,而且产品得率较低、时间较长、成本较高,且需对温度和压力有所控制。

李林<sup>[26]</sup>利用超临界  $CO_2$  提取绿茶中的茶多酚,以茶多酚提取率为响应值,采用响应面法对萃取工艺予以优化,其最佳萃取工艺条件为: $CO_2$  压力 25 MPa,萃取温度 80 °C,萃取时间 2.5 h。在此条件下,绿茶中茶多酚的提取率为 47.5%。超临界  $CO_2$  对茶叶中茶多酚的萃取受温度影响大,而在选定的压力和时间范围内对茶多酚萃取的影响相对较小,且萃取温度和时间之间相互影响,所以在实验过程中需对温度有较严格的控制。

Kamangerpour 等<sup>[27]</sup>使用超临界流体萃取设备(甲醇改性的  $CO_2$  夹带剂,紫外二极管阵列检测器)在 47.1 MPa 压力下,先用超临界  $CO_2$  提取葡萄籽 2 h,再用改性夹带剂提取 2 h,流速均为 50 g/min,并比较当压力为 12.7 MPa,温度 40 °C,体积流量 2 mL/min,进样量 10  $\mu$ L 时,在甲醇中分别加入 0.5% 柠檬酸、甲酸和三氟乙酸后对分离效果的影响。实验结果经紫外二极管阵列检测,检测波长为 280 nm,当改性剂为甲醇-0.25%柠檬酸,其他条件不变时,根据保留时间的不同能较好地分离得到 8 种化

合物, 分别是 2-苯基乙醇、香草醛、阿魏酸、原儿茶酸、咖啡酸、没食子酸、儿茶素和表儿茶素。实验过程中对夹带剂进行适当的改性, 提高了化合物的分离效果, 缩短了分离时间, 这将使 SFE 在中药有效成分的提取和分离上有更大的发展空间。

随着技术的不断发展, 在超临界流体中添加夹带剂以及超临界多元流体将成为必然的发展趋势, 与传统的 SFE 相比具有从量变到质变的区别, 具体体现在超临界多元流体的分步选择性萃取、重组萃取及精馏萃取新工艺, 可用于复方中成药、民族药新制剂的加工, 保健食品的加工, 烟草深加工, 茶叶深加工和海洋生物资源深加工等。SFE 属于绿色产业的应用技术, 具有良好的发展前景。

### 2.5 微波辅助萃取法

微波辅助萃取法 (microwave-assisted extraction, MAE) 是利用微波能来提高提取效率的一种新技术。随着 MAE 在天然产物有效成分提取方面的应用, 逐渐出现了动态微波辅助萃取 (DMAE)<sup>[28-30]</sup>、真空微波辅助萃取 (VMAE)<sup>[31-32]</sup> 和无溶剂微波萃取 (SFME)<sup>[33-34]</sup> 3 种形式。

舒红英等<sup>[7]</sup>采用复合酶-微波法从绿茶中提取茶多酚。通过单因素试验法和正交试验法确定复合酶-微波法提取茶多酚的最佳工艺, 同时比较复合酶-微波法、复合酶法、索氏法和微波法对提取效果的影响。结果优化得到提取茶多酚的最佳工艺为: 50 °C 条件下用纤维素酶和果胶酶前处理 40 min, 微波辐射 8 min, 微波功率 500 W, 料液比 1:30, 25%乙醇溶液作为萃取剂。验证实验表明最佳工艺可行。该法从提取时间和提取效率来看, 复合酶-微波法提取茶多酚比复合酶法、索氏法和微波法耗时少、提取效率高。但是, 这种方法对温度和微波功率的要求比较高, 功率太小, 则在规定的时间内达不到复合酶所需的适宜温度, 酶解作用降低, 茶多酚提取率下降; 而功率过大, 酶解作用在规定的时间内达到最大, 但随着功率的增加, 其他物质也会浸出, 进而与茶多酚发生氧化聚合作用, 影响茶多酚的质量, 同时, 过高的微波功率对茶多酚有破坏作用, 茶多酚氧化损失增加, 导致茶多酚提取率降低。

Pan 等<sup>[35]</sup>从绿茶中利用微波辅助提取茶多酚和咖啡因, 考察了不同溶剂的提取效率, 并比较了微波辅助提取法与浸提法 (室温)、回流法 (85 °C) 和超声波提取法 (20~40 °C) 对茶多酚和咖啡因提

取效率及提取时间的影响。实验结果表明, 丙酮对茶多酚的提取效率要高于水、甲醇和乙醇, 而甲醇对咖啡因的提取效率则比水、乙醇、丙酮高。但是当使用 50%乙醇提取时, 茶多酚和咖啡因都得到了最大的提取效率。该法对乙醇体积分数、料液比和微波辅助提取时间等条件进行考察, 当乙醇体积分数为 50%, 料液比为 1:20, 微波辅助提取时间为 4 min 时, 茶多酚和咖啡因的提取率最大为 30.0%和 4.0%, 与浸提法 (室温) 20 h, 回流法 (85 °C) 45 min, 超声波提取法 (20~40 °C) 90 min 得到的结果大体一致 (茶多酚和咖啡因的提取率最大为 28.0%和 3.6%)。实验结果表明微波辅助提取法与传统的提取方法相比, 可以快速有效地从绿茶中提取茶多酚和咖啡因, 对于食品和医药行业具有一定的意义。

近些年来, 随着人们对样品前处理技术研究的深入, 分析工作者开始关注 MAE 与其他各种样品前处理技术的结合使用, 与多种检测技术的在线联用以及使用离子液体等新型绿色溶剂作为 MAE 萃取剂, 这些方面的发展更加有效地展示了 MAE 的独特优势, 极大地扩展了其在环境、食品、药品、生化、化工和农业等各个领域的应用范围。

### 2.6 柱色谱法

柱色谱法 (column chromatography, CC) 主要用于分离, 有时也起到浓缩富集的作用。

袁华等<sup>[36]</sup>以粗茶多酚为原料, 比较了硅胶、氧化铝、纤维素和聚酰胺对茶多酚的静态吸附率, 分别是 92.0%、44.2%、61.4%和 86.3%, 原因可能是由于硅胶表面具有多孔性的硅氧环交键结构, 能够通过氢键与茶多酚中的酚羟基结合, 故吸附效果较好。根据静态吸附结果, 采用硅胶为吸附剂, 醋酸乙酯为洗脱剂进行动态吸附, 得到的茶多酚儿茶素总量可达到 90.0%以上, 其中酯型儿茶素的量超过 75.0%, EGCG 最高接近 60.0%, 咖啡因的量可降低至不能检出。该法采用硅胶柱色谱提取茶多酚, 所得有效成分质量分数高, 同时可以脱除咖啡因, 简化了工艺流程, 但是提取时间较长, 有效成分提取率低, 而且硅胶使用量大, 成本高。

彭锦荣等<sup>[37]</sup>用乙基纤维素、己二酸和丙烯酰胺制成浆液改性剂, 对木粉进行改性。木粉分子结构中不仅含有大量的醇基和醚基等含氧官能团, 具有很高的极性, 还含有木质素、纤维素、半纤维素及多酚类物质等。木质素是一种通过 C-C 键和 C-O-C

键将 *p*-羟苯丙基单元相连而成的复杂、多样、疏水的并具有三维交联结构的芳香族聚合物。由于木粉具有以上所述基团及分子结构,具有优良的吸附性能。研究对比了木粉在改性前后对茶多酚与咖啡因的分离效果。实验结果表明,已改性木粉(木粉-浆液 1:1)对茶多酚中 3 种主要成分(EGCG、EGC 和 ECG)与咖啡因的分离效果优于未改性木粉,经检测该绿茶提取液中茶多酚和咖啡因的量分别由 0.6、0.2 mg/mL 提高到 11.1、2.8 mg/mL。改性后的木粉可用于茶多酚各组分与咖啡因分离时的前处理。通过该前处理可将绿茶提取液分为两部分:一部分主要由咖啡因和 EGC 组成,另一部分主要由 EGCG 和 ECG 组成。采用改性后的木粉填充柱对绿茶提取液进行分离时,分离过程比未改性的木粉填充柱分离过程更加符合吸附作用机制,并且改性后的木粉对 EGCG 和 ECG 有更强的吸附作用。

唐课文等<sup>[38]</sup>用紫外可见分光光度法研究了聚酰胺树脂对茶多酚和咖啡因的吸附性能。在 8.0 g 聚酰胺树脂对 700 mL、2.0 g/L 茶多酚水溶液的静态吸附实验中,吸附量高达 148.1 mg/g,吸附率为 85.5%;在 2.0 g 聚酰胺树脂对 100 mL、0.7 g/L 咖啡因水溶液的静态吸附实验中,吸附量为 2.7 mg/g,吸附率为 7.5%;以 85%乙醇为洗脱剂,茶多酚和咖啡因的解吸率分别为 90.0%和 74.0%;同时聚酰胺树脂对茶多酚和咖啡因的静态吸附在 80 min 内达到快速吸附平衡,并且吸附动力学曲线接近线性。利用聚酰胺树脂成功地将茶多酚和咖啡因混合溶液进行了吸附分离,得到茶多酚的量高于 96.0%,其中 EGCG 的量高于 80.0%,而咖啡因的量则小于 2.8%。实验结果表明,聚酰胺树脂适合吸附分离茶多酚和咖啡因。

柱色谱分离实验使用范围广泛、使用寿命长、分离效果好、操作简单,随着研究的进一步深入,将会得到更多关注。

## 2.7 大孔吸附树脂法

大孔吸附树脂(macroporous adsorption resin, MAR)是一种不溶于酸、碱及各种有机溶剂的有机高分子聚合物,是利用树脂对提取物有效成分发生吸附-解吸附作用的特性来实现与其他浸提物组分之间的分离。

陈海霞等<sup>[39]</sup>研究用 MAR 法从茶叶中综合提取茶多酚、咖啡因和茶多糖 3 种有效成分。通过对 15 种树脂静态吸附、动态吸附和解吸性能的比较,得

到了从同一茶叶原料中连续提取分离 3 种有效成分的新工艺,即以料液比 1:20, 80 °C 水浴浸提 30 min, 提取 3 次, 压滤后合并 3 次滤液, 浓缩、离心得茶浸提物。将茶浸提物先后经聚酰胺柱色谱、大孔吸附树脂 2 号柱色谱和 D<sub>396</sub> 树脂柱色谱分离, 收集不同组分的解吸液, 得到茶多酚、咖啡因和茶多糖 3 种产品, 其提取率分别为 4.9%、1.7%、1.0%, 质量分数分别为 94.3%、83.2%、29.6%。该方法考察了 15 种不同种类、型号的树脂对茶叶的吸附-解吸附性能, 最终选择了 5 种树脂结合使用分离茶叶中的有效成分, 虽然可以分步得到茶多酚、咖啡因和茶多糖, 但是所得产品收率低、操作步骤繁琐, 且多重吸附对茶叶中的有效成分造成损失。

王平等<sup>[40]</sup>考察了 HPD-600 大孔吸附树脂对茶多酚的静态吸附、动态吸附及洗脱剂的影响。实验先将茶叶浸提得提取液, 提取液经 HPD-600 大孔吸附树脂洗脱, 得到茶多酚产品, 并得到较优的工艺条件。结果表明提取液质量浓度为 1.1 g/mL, 上样体积与树脂质量比为 4:2, 80%乙醇溶液是良好的洗脱剂。通过该工艺可以分离得到质量分数大于 95.0%的茶多酚, 其中 EGCG 量大于 40.0%, 咖啡因残留量小于 7.0%。该法使用乙醇为溶剂, 基本无污染, 而且茶多酚与咖啡因的分离分步进行, 有利于咖啡因的回收利用, 但该方法没有考虑温度、流速和树脂径高比等对树脂吸附-解吸附性能的影响。

Li 等<sup>[41]</sup>利用水提、Ca-Ti 复合超滤膜超滤、PA 大孔吸附树脂吸附和混合溶剂洗脱的方法从绿茶中分离茶多酚和咖啡因, 最终得到茶多酚的量大于 90.0%, 咖啡因量小于 4.0%。具体操作是将茶叶粉碎, 在料液比 1:8~1:10, 温度 85~95 °C 条件下浸提 40~60 min, 浸提 3 次, 浸提液 3 000 r/min 离心, 保存上清液。上清液用纤维素-醋酸盐-钛(CATUFM)超滤膜超滤, 并将超滤后的溶液与吸附树脂混合, 在 25 °C 下振荡 2 h 直至吸附平衡, 再用不同的混合溶剂以同样的温度和时间解吸附。该法采用超滤法和树脂吸附联用技术分离茶叶有效成分, 研究了超滤膜超滤过程的 3 个步骤, 根据吸附容量筛选合适的树脂, 并考察了不同比例的乙醇对树脂解吸率的影响, 但是该实验没有考虑上样浓度、温度、流速以及树脂特性对茶叶有效成分吸附-解吸附的影响。

近年来, MAR 已广泛应用于中药制剂和天然产物活性成分(如皂苷、总黄酮、内酯、生物碱等

大分子化合物)的提取分离与纯化,并取得了令人满意的效果<sup>[42]</sup>。随着基础研究和应用研究的不断深入,加强 MAR 质量规格安全性的研究,规范生产工艺,稳定质量,明确物理参数,并建立药用规格大孔树脂的质量标准,将对中药制剂工艺改革和中药现代化发展发挥积极的推动作用。

## 2.8 高速逆流色谱法

高速逆流色谱法 (high speed counter current chromatography, HSCCC) 是 20 世纪 80 年代初由美国国立健康研究院 (NIH) 的 Bowman 在液-液分配色谱的基础上研究和发展起来的一种现代色谱分离制备技术<sup>[43]</sup>。Sutherland 等<sup>[44]</sup>综述了 198 篇利用 HSCCC 技术分离纯化天然产物有效成分的文献报道:从 108 种植物中分离得到了 363 种化合物,其中黄酮类化合物的文献报道有 89 篇,生物碱类化合物 56 篇,分别占化合物总数的 25%和 15%。可见, HSCCC 以其独特的技术优势在分离纯化天然产物有效成分方面有着极大的应用空间。

Wang 等<sup>[45]</sup>利用 HSCCC 技术,采用正己烷-醋酸乙酯-甲醇-水-醋酸 (1:5:1:5:0.25) 溶剂系统,体积流量 2 mL/min,转速 700 r/min,不仅从红茶和茶黄素的粗提物中得到茶黄素、茶黄素-3-没食子酸酯 (theaflavins-3-gallate)、茶黄素-3'-没食子酸酯 (theaflavins-3'-gallate) 和茶黄素-3,3'-没食子酸酯 (theaflavin-3,3'-digallate) 4 种主要的茶黄素单体 (由核磁、质谱、高效液相色谱和薄层色谱联用鉴定其结构),而且从绿茶水提物中分离得到 EGCG、ECG、EGC 和没食子儿茶素没食子酸酯 (gallo catechin gallate, GCG) 4 种抗氧化活性很强的儿茶素单体,其质量分数分别达到 96.3%、97.6%、91.7% 和 98.0%。实验结果显示 HSCCC 在同一种条件下能高效的分离茶叶中的不同成分,为茶叶的分离纯化提供了一种新的制备工艺,但是 HSCCC 分离时间较长、溶剂用量大且有毒溶剂使用较多、成本相对较高、产品纯度高但收率低,不适合工业化大生产。

Yanagida 等<sup>[46]</sup>采用 J 管盘绕的离心式 HSCCC,在叔丁基甲基醚-乙腈-0.1%三氟乙酸水溶液 (2:2:3) 组成的两相溶剂系统,体积流量 2 mL/min,转速 1 000 r/min 的优化条件下,从茶叶中分离出 7 种不同的多酚类化合物和 3 种嘌呤生物碱,多酚类化合物分别是茶黄素、EGCG、ECG、EGC、EC、儿茶素 (catechin, C) 和没食子酸 (gallic acid, GA),嘌呤生物碱分别是咖啡因、茶碱 (theophylline) 和

可可碱 (theobromine)。通过该实验能一次性得到极性不同的多种化合物,并且发现当化合物结构存在没食子酸黄烷-3-醇酯或是黄烷醇 B 环有氧化二聚体的时候,化合物的极性降低,而当黄烷醇的 C-4 和 C-8 键缩合或连有羟基酸的奎宁酸酯化或黄烷醇糖基化,化合物的极性反而增加。

HSCCC 可采用不同物化特性的溶剂体系和多样性的操作条件<sup>[47]</sup>,具有较强的适应性,因此不仅在天然产物有效成分的分离上取得了一定的进展,也在中药指纹图谱的制定以及中药复方方剂的分离方面<sup>[48]</sup>做出了尝试,为中药现代化提供了有力的现代分离技术。

## 3 展望

目前,回归自然的热潮席卷全球,中药在治疗和保健方面逐渐受到重视,这为中药的研究和发展带来新的契机。我国正在逐步改进并落实中药现代化的实现措施,而中药有效部位和有效成分的提取分离方法的研究应用亦是中药在制剂现代化过程中不可缺少的环节,所以在中药制药行业引进新的提取分离技术,将有利于改善中药传统提取分离方法的不足,保持了原生物体中固有的有效部位和有效成分的自然组成,从而提高了中药的疗效,解决长期以来中药在前期研究疗效好,后期工业化生产疗效差的情况。同时随着科学技术的发展,高科技含量的提取分离技术,常会通过有机的组合,联用于中药的提取工作。另外,中药的研究离不开提取分离,而提取分离又对中药的开发及现代化起着至关重要的作用,所以,加快新的提取分离方法的研究,就是加快实现中药现代化的步伐。

## 参考文献

- [1] Tomas-Barberan F A, Ferreres F, Gil M I. Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing [J]. *Bioact Nat Prod (Part D)*, 2000, 23: 739-795.
- [2] Lapornik B, Prosek M, Golc Wondra A. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time [J]. *J Food Eng*, 2005, 71(2): 214-222.
- [3] 徐梅生. 茶的综合利用 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [4] 金哲雄, 曲中原. 山茶叶化学成分研究 (I) [J]. *中草药*, 2010, 41(7): 1068-1072.
- [5] 张素霞. 不同方法提取茶多酚的比较研究 [J]. *化工技术与开发*, 2009, 38(10): 28-30, 6.

- [6] 韦星船, 陈小宏, 王琪莹. 微波-离子沉淀法提取茶叶中茶多酚的工艺研究 [J]. 食品科技, 2007, 32(8): 132-138.
- [7] 舒红英, 罗旭彪, 王永珍. 绿茶中茶多酚的复合酶-微波法提取工艺研究 [J]. 中草药, 2011, 42(7): 1309-1312.
- [8] Nkhili E, Tomao V, El Hajji H, *et al.* Microwave-assisted water extraction of green tea polyphenols [J]. *Phytochem Anal*, 2009, 20(5): 408-415.
- [9] 张仁堂, 谷端银, 黄守耀. 茉莉花茶中茶多酚的提取分离纯化以及抗氧化性能研究 [J]. 中国食物与营养, 2010, (4): 47-51.
- [10] Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses [J]. *Food Chem*, 2006, 99: 191-203.
- [11] Muramatsu K. *The Science of Tea* [M]. Tokyo: Asakura Publish, 1991.
- [12] 赵岩. 用恒压滴液漏斗装置从茶叶中提取咖啡碱 [J]. 天津化工, 1997, (4): 45-46.
- [13] Turkmen N, Sari F, Velioglu Y S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin-Ciocalteu methods [J]. *Food Chem*, 2006, 99(4): 835-841.
- [14] Pinelo M, Del Fabbro P, Manzocco L, *et al.* Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts [J]. *Food Chem*, 2005, 92(1): 109-117.
- [15] Corrales M, Fernández García A, Butz B, *et al.* Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure [J]. *J Food Eng*, 2009, 90(4): 415-421.
- [16] Sharififar F, Dehghn-Nudeh G, Mirtajaldini M. Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. [J]. *Food Chem*, 2009, 112(4): 885-888.
- [17] Ross K A, Beta T, Arntfield S D. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods [J]. *Food Chem*, 2009, 113(1): 336-344.
- [18] Diouf P N, Stevanovic T, Cloutier A. Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions [J]. *Food Chem*, 2009, 113(4): 897-902.
- [19] Zhang Z J, Liao L P, Moore J, *et al.* Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.) [J]. *Food Chem*, 2009, 113(1): 160-165.
- [20] 汪兴平, 周志, 莫开菊, 等. 茶叶有效成分复合分离提取技术研究 [J]. 农业工程学报, 2002, 6(18): 131-135.
- [21] 张效林, 亢茂德, 车红荣. 离子沉淀-絮凝综合脱咖啡碱的茶多酚生产新工艺 [J]. 食品科学, 2001, 22(11): 50-52.
- [22] 肖文军, 龚志华, 肖力争, 等. 超声波技术在绿茶浸提中的应用研究 [J]. 天然产物研究与开发, 2006, 18(1): 130-133.
- [23] 宋传奎, 肖斌, 王艳丽, 等. 超声波辅助提取茶多酚工艺条件的优化 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2011, 39(5): 133-139.
- [24] 朱德文, 岳鹏翔, 袁弟顺, 等. 超声波辅助浸提茶鲜叶中茶多酚的工艺研究 [J]. 中国农机化, 2011, (1): 112-115.
- [25] 王朝瑾, 马红青, 陈温娴. 超临界萃取茶叶中茶多酚的提取与应用 [J]. 分析科学学报, 2009, 25(3): 281-284.
- [26] 李林. 绿茶茶多酚超临界 CO<sub>2</sub> 提取及体外抗氧化活性检测 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(34): 17061-17063.
- [27] Kamangerpour A, Ashraf-Khorassani M, Taylor L. T, *et al.* Supercritical fluid chromatography of polyphenolic compounds in grape seed extract [J]. *Chromatographia*, 2002, 55(7-8): 417-421.
- [28] Chen L G, Ding L, Zhang H R, *et al.* Dynamic microwave-assisted extraction coupled with on-line spectrophotometric determination of safflower yellow in *Flos Carthami* [J]. *Anal Chim Acta*, 2006, 580(1): 75-82.
- [29] Chen L G, Jin H Y, Ding L, *et al.* On-line coupling of dynamic microwave-assisted extraction with high-performance liquid chromatography for determination of andrographolide and dehydroandrographolide in *Andrographis paniculata* Nees [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1140(1-2): 71-77.
- [30] Chen L G, Ding L, Yu A M, *et al.* Continuous determination of total flavonoids in *Platycladus orientalis* (L.) Franco by dynamic microwave-assisted extraction coupled with on-line derivatization and ultraviolet-visible detection [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 596(1): 164-170.
- [31] Wang J X, Xiao X H, Li G K. Study of vacuum microwave-assisted extraction of polyphenolic compounds and pigment from Chinese herbs [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1198-1199: 45-53.
- [32] Xiao X H, Wang J X, Wang G, *et al.* Evaluation of vacuum microwave-assisted extraction technique for the extraction of antioxidants from plant samples [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(51): 8867-8873.
- [33] Lucchesi M E, Smadja J, Bradshaw S, *et al.* Steven Bradshaw, *et al.* Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil [J]. *J Food Eng*, 2007, 79(3): 1079-1086.



- [34] Wang Z M, Ding L, Li T C, *et al.* Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1102(1-2): 11-17.
- [35] Pan X J, Niu G G, Liu H Z. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves [J]. *Chem Eng Process*, 2003, 42(2): 129-133.
- [36] 袁 华, 吴 莉, 吴元欣, 等. 硅胶柱层析法提纯茶多酚的研究 [J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2007, 41(4): 553-556.
- [37] 彭锦荣, 王 兵, 罗 洋, 等. 改性木粉填充柱对茶多酚与咖啡因分离应用的研究 [J]. 离子交换与吸附, 2009, 25(5): 402-410.
- [38] 唐课文, 周春山, 钟世安, 等. 聚酰胺树脂对茶多酚和咖啡因吸附选择性研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(1): 143-145.
- [39] 陈海霞, 谢笔钧. 树脂法从茶叶中综合提取有效成分的研究 [J]. 精细化工, 2000, 8(17): 493-495.
- [40] 王 平, 陈成飞, 戴春伟, 等. HPD-600 大孔吸附树脂分离茶多酚的研究 [J]. 中成药, 2010, 32(4): 683-686.
- [41] Li P, Wang Y H, Ma R Y, *et al.* Separation of tea polyphenol from green tea leaves by a combined CATUFM-adsorption resin process [J]. *J Food Eng*, 2005, 67(3): 253-260.
- [42] 中国医学科学院药物研究所植化室. 大孔吸附树脂在中草药化学成分提取分离中的一些应用 [J]. 中草药, 1980, 11(3): 138.
- [43] 邸多隆, 郑媛媛, 陈小芬, 等. 高速逆流色谱技术分离纯化天然产物中黄酮类化合物的研究进展 [J]. 分析化学, 2011, 39(2): 269-275.
- [44] Sutherland I A, Fisher D. Role of counter-current chromatography in the modernisation of Chinese herbal medicines [J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(4): 740-753.
- [45] Wang K B, Liu Z H, Huang J A, *et al.* Preparative isolation and purification of theaflavins and catechins by high-speed countercurrent chromatography [J]. *J Chromatogr B*, 2008, 867(2): 282-286.
- [46] Yanagida A, Shoji A, Shibusawa Y, *et al.* Analytical separation of tea catechins and food-related polyphenols by high-speed counter-current chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2006, 1112(1-2), 195-201.
- [47] 赵碧清, 段更利. 高速逆流色谱法在中药有效成分分离中的应用 [J]. 中成药, 2007, 29(9): 1347-1349.
- [48] 戴德舜, 王义明, 罗国安. 高速逆流色谱溶剂体系软件在桂枝汤 A 部分研究中的应用 [J]. 中成药, 2001, 23(9): 625-628.