

# 大孔树脂纯化茶梗中茶多酚的工艺优选

陈沛鑫<sup>1</sup>, 高英<sup>2</sup>, 李卫民<sup>1\*</sup>, 李竞<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学中药学院, 广州 510006; 2. 广州中医药大学新药研究开发中心, 广州 510006)

**[摘要]** **目的:** 优选大孔吸附树脂纯化茶梗中茶多酚的工艺条件, 为茶梗二次开发提供参考。**方法:** 采用静态吸附-解吸和动态吸附-解吸试验对9种不同型号树脂进行筛选; 以茶多酚含量为指标, 采用单因素试验优选大孔树脂纯化茶多酚的工艺参数。**结果:** LX-18型大孔吸附树脂纯化效果最好; 最佳工艺条件为上样液中生药与树脂的质量比1:1, 吸附速度2 mL·min<sup>-1</sup>, 分别用10倍量水、50%乙醇洗脱; 茶多酚纯度53.79%。**结论:** 该优选的方法简便可行、纯化效果好, 可为茶多酚相关产品的开发提供参考。

**[关键词]** 茶梗; 茶多酚; 吸附; 解吸; 最佳工艺

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0065-04

## Optimization of Purification Technology for Tea Polyphenol from Tea Stalk by Macroporous Resin

CHEN Pei-xin<sup>1</sup>, GAO Ying<sup>2</sup>, LI Wei-min<sup>1\*</sup>, LI Jing<sup>1</sup>

(1. College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China;  
2. New Drug R&D Center, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize purification technology of tea-polyphenol from tea stalk by macroporous resin, and provide a reference for secondary development of tea stalk. **Method:** Static adsorption-desorption and dynamic adsorption-desorption was used to select the best one from 9 different type macroporous resin; With the content of tea-polyphenol as index, purification technology parameters of tea polyphenol were optimized by single factor test. **Result:** LX-18 type resin showed the best purifying profile, its optimum technology conditions were as follows: crude drugs-dry resin weight 1:1, adsorption rate of 2 mL·min<sup>-1</sup>, eluted by 10 BV distilled water and 10 BV 50% ethanol; Purity of tea polyphenol was 53.79%. **Conclusion:** This optimized technology was simple and feasible with good purification effect, so it could provide a reference for development of related products of tea polyphenol.

**[Key words]** tea stalk; tea-polyphenol; adsorption; desorption; optimum process

茶最早记载于《神农本草经》, 被称为苦菜和茶草<sup>[1]</sup>。初制茶在收购或验收时, 茶梗常作为茶叶夹杂物弃去<sup>[2]</sup>, 造成较大的浪费。茶多酚是茶叶中多酚类提取物的总称, 是一种天然无毒性的的强抗氧

化剂, 具有显著的清除自由基的能力<sup>[3]</sup>。大量研究表明, 茶多酚具有增强微血管韧性、防止冠状动脉粥样硬化<sup>[4]</sup>, 延缓皮肤老化和保护肝脏<sup>[5]</sup>等药理活性。大孔吸附树脂具有快速、高效、选择性好等优点<sup>[6]</sup>, 已在中药生产中广泛应用。有关茶梗中茶多酚的分离纯化研究, 目前尚未见报道。为了更充分、更合理地开发利用茶梗, 本试验拟对茶梗中茶多酚进行大孔树脂纯化工艺探索, 为茶多酚的后续开发利用的奠定基础, 同时为茶梗的进一步开发提供试验依据。

**[收稿日期]** 20120703(011)

**[第一作者]** 陈沛鑫, 研究生, 从事中药新药开发与研究, Tel: 13719128109, E-mail: cpxfighting2010@sina.com

**[通讯作者]** \* 李卫民, 教授, 博士生导师, 从事中药新药研究与开发, Tel: 020-39358290, E-mail: liweimin@gzucm.edu.cn

### 1 材料

UVmini1240 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司),MC215S 型 1/10 万电子天平(Sartorius 公司),DKZ-1 型电热恒温振荡仪(上海精密实验设备有限公司),没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所,批号 110831-200302),福林酚试剂(上海荔达生物科技有限公司),茶梗(海丰县金瑞丰生态农业有限公司,由广州中医药大学中药鉴定室张丹雁教授鉴定为成品茶中拣下的叶梗),水为反渗透水,其余试剂均为分析纯,大孔吸附树脂详见表 1。

表 1 9 种大孔吸附树脂的型号、来源及极性

型号	生产厂家	极性
ADS-5	天津南开和成科技有限公司	极性
ADS-7	天津南开和成科技有限公司	极性
HP20	日本三菱化成工业公司	非极性
XDA-5	西安蓝晓科技有限公司	非极性
DA20	天津海光化工有限公司	极性
LX-18	西安蓝晓科技有限公司	非极性
AB-8	天津南开和成科技有限公司	弱极性
LSA-7	西安蓝晓科技有限公司	极性
D101	天津南开和成科技有限公司	非极性

### 2 方法与结果

**2.1 含量测定**<sup>[7]</sup> 取没食子酸 11.28 mg,加水定容至 100 mL,分别精密吸取 0,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 mL,加水至 1 mL,加入福林酚试剂 5 mL,摇匀,于 50 ℃ 水浴内反应 5 min,冷却,加入 7.5% 碳酸钠 4 mL,摇匀。室温下放置 60 min。以相应试剂为空白,按 2010 年版《中国药典》附录 V A 紫外-可见分光光度法,于 765 nm 波长处测定吸光度(A)。以 A 为纵坐标,没食子酸质量为横坐标,得回归方程  $A = 14.698C - 0.006$  ( $r = 0.999$ ),表明没食子酸在 0.011 28 mg~0.056 4 mg 与 A 呈良好线性关系。

**2.2 样品制备** 取茶梗粗粉 100 g,加入 8 BV 50% 乙醇回流提取 3 次,每次 20 min,合并提取液,滤过,滤液减压回收乙醇至无醇味,加 1 倍量水混悬,以 8 000 r·min<sup>-1</sup> 速度离心 2 次,每次 10 min,上清液转移并加水稀释至 1 L,即得。

#### 2.3 大孔树脂的筛选

**2.3.1 静态吸附-洗脱性能试验**<sup>[8]</sup> 精密称取已处理的各型号树脂适量(约相当于湿树脂 3.0 g),置 100 mL 锥形瓶中,精密加入样品液 20 mL,振荡(温度 37 ℃,频率 56 次·min<sup>-1</sup>) 24 h,滤过,定容。将过滤后的树脂另置 100 mL 锥形瓶中,精密加入 70%

乙醇 50 mL,振荡 2 h,滤过,定容。按 2.1 项下方法分别测定茶多酚的含量,并按以下公式计算吸附率及洗脱率。结果见图 1。

吸附率 =  $(M_1 - M_2) / M_1 \times 100\%$ ; 洗脱率 =  $M_3 / (M_1 - M_2) \times 100\%$ 。式中  $M_1, M_2, M_3$  分别为供试品溶液、未吸附液及 70% 乙醇洗脱液中茶多酚的质量。

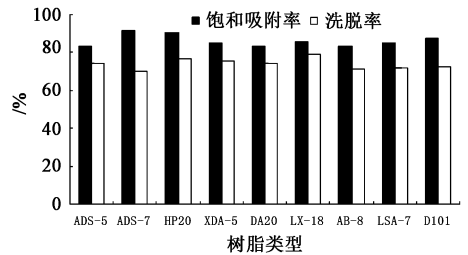


图 1 9 种大孔树脂对茶多酚的静态吸附-洗脱性能

由图 1 可知,ADS-7,HP20,LX-18,D101 型树脂对茶多酚的吸附率及洗脱率明显优于其他树脂,故选用这 4 种树脂做进一步筛选。

**2.3.2 动态吸附-洗脱性能试验** 精密称取 HP20,ADS-7,LX-18,D101 型树脂(相当于湿树脂 3.0 g),精密吸取样品液 40 mL,流速 1 mL·min<sup>-1</sup>,上柱,预吸附 2 h,过柱液重吸附 1 次,放置 12 h,收集过柱液,加水稀释至 50 mL。树脂柱加水洗,洗脱液弃去,加 70% 乙醇洗脱至无色并稀释至 100 mL。计算吸附率及洗脱率,结果见图 2。结果表明,4 种树脂对茶多酚的吸附率及洗脱率均为 LX-18 > ADS-7 > HP-20 > D101,故选择 LX-18 大孔树脂进行纯化试验。

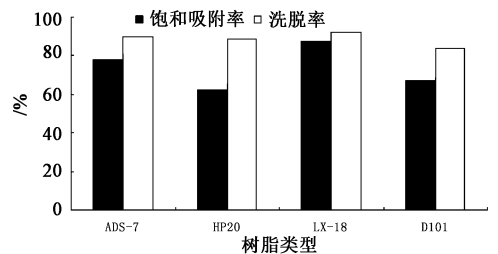


图 2 4 种大孔树脂对茶多酚的动态吸附-洗脱性能

#### 2.4 茶多酚的纯化工艺优选

**2.4.1 泄漏曲线** 精密称取处理好的 LX-18 型大孔树脂(相当于湿树脂约 5.0 g)进行动态吸附,样品液质量浓度 0.1 g·mL<sup>-1</sup>,流速 0.67 mL·min<sup>-1</sup>,分段收集流出液,每份 10 mL,收集 20 份。以茶多酚含量为考察指标,绘制泄漏曲线(图 3)。说明茶多酚从第 6 份开始明显泄漏,故确定样品液最大上柱体积为 50 mL,即药材与树脂质量比 1:1。

**2.4.2 洗脱剂浓度的选择** 精密称取处理好的

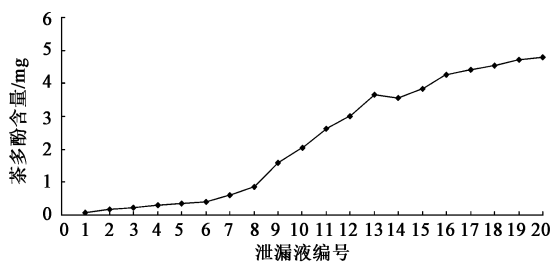
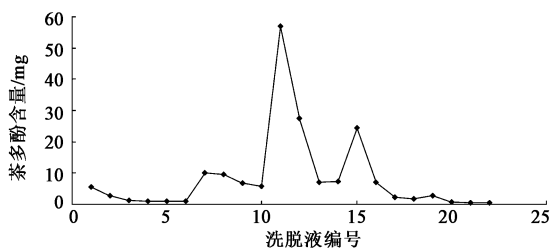


图3 茶梗中茶多酚泄漏曲线

LX-18 型树脂(相当于湿树脂约 5.0 g),精密吸取样品液 50 mL 上柱,流速控制在  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,吸附完全后,依次用 200 mL 水、10% 乙醇、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇各 100 mL 进行梯度洗脱。水洗脱液分别收集 2 份 50 mL,4 份 25 mL;10% 乙醇、30% 乙醇、50% 乙醇、70% 乙醇各收集 4 份 25 mL。测定茶多酚的含量,以量瓶编号为横坐标,茶多酚质量为纵坐标,绘制洗脱曲线,见图 4。说明茶多酚主要集中在 30% 乙醇和 50% 乙醇洗脱液中,约占全部醇洗脱液中茶多酚含量的 70%。为在实际生产中获得更高的得膏率及转移率,故选择 50% 乙醇为洗脱剂。



1~6 号. 水洗脱液;7~10 号. 10% 乙醇洗脱液;  
11~14 号. 30% 乙醇洗脱液;15~18 号. 50% 乙醇洗脱液;  
19~22 号. 70% 乙醇洗脱液

图4 LX-18 型大孔树脂吸附茶多酚梯度洗脱曲线

**2.4.3 洗脱剂用量考察** 称取处理好的 LX-18 型树脂 3 份(每份相当于湿树脂 5.0 g),湿法装柱,精密吸取样品液 5 mL,吸附流速  $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,重复吸附 3 次,分别加水 450 mL(按 100,150,200 mL 分 3 份收集),50% 乙醇 200 mL(按 100,50,50 mL 分 3 份收集)依次洗脱,依 2.1 项下方法测定其含量。另精密吸取 50% 乙醇 100 mL 的洗脱部分 25 mL 置干燥至恒重的蒸发皿中,按《中国药典》2010 年版 I 部附录 X A 中浸出物的干燥方法操作,测定浸膏质量,计算纯度(表 2)。

结果显示,水洗用量对茶多酚纯度无明显影响,考虑经济原因,用水量选择 100 mL。醇洗脱部分中多酚主要集中在前 100 mL(10 BV),占总多酚含量的 80% 以上,茶多酚基本洗脱完全。

**2.4.4 样品液质量浓度及洗脱流速考察** 称取处

表2 茶多酚大孔树脂纯化工艺中洗脱溶媒用量考察

水洗量 /mL	茶多酚含量/mg			浸膏得量 /mg	茶多酚 纯度/%	
	水洗液	醇洗液 /100mL	醇洗液 50			
100	12.15	197.95	1.33	0.31	358.00	55.30
150	14.15	199.65	1.90	0.39	351.20	56.85
200	17.44	199.99	0.93	0.34	351.20	56.95

理好的 LX-8 型大孔树脂 6 份,每份 5.0 g,湿法装柱,准备 0.05,0.1,0.2  $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  3 种质量浓度的样品液各 2 份(相当于生药 5.0 g)上柱,样品液质量浓度相同的树脂柱按不同流速( $1, 3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ )进行洗脱,重复吸附 3 次,加水 100 mL 洗脱,弃去,用 50% 乙醇 100 mL 洗脱,收集洗脱液,依 2.1 项下方法测定茶多酚含量。另精密吸取 25 mL 洗脱液置干燥至恒重的蒸发皿中,测定浸膏质量,计算纯度见表 3。说明同样流速下,改变样品液质量浓度,对茶多酚的得率和纯度无明显影响,故确定样品液上样质量浓度为  $0.05 \sim 0.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,流速  $1 \sim 3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

表3 样品液浓度及洗脱流速的选择

上样液质量 浓度/ $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	流速/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	得量 /mg	转移率 /%	纯度 /%
0.5	1	189.18	86.74	52.84
	3	187.41	85.93	52.35
0.10	1	193.29	88.63	53.99
	3	192.03	88.05	53.64
0.20	1	192.95	88.47	53.90
	3	189.18	86.74	52.84

**2.4.5 验证试验** 精密称取处理好的 LX-8 型树脂(约相当于湿树脂 5.0 g),精密吸取样品液 50 mL 上柱,按上述纯化工艺进行 3 次验证试验,收集 50% 乙醇洗脱液,测定茶多酚含量。另精密吸取 25 mL 洗脱液置干燥至恒重的蒸发皿中,测定浸膏质量,结果纯度分别为 54.67%,53.19%,53.52%;茶多酚转移率分别为 72.10%,71.03%,71.33%。说明该纯化工艺重复性良好。

### 3 讨论

本试验主要为海丰县金瑞丰生态农业有限公司的茶梗后续开发利用提供依据,茶梗中多酚品质相对稳定,故试验中考察上样量时以生药量计算,确定药材与树脂质量比为 1:1。

LX-18 型大孔树脂在茶多酚的静态和动态吸附试验中,相对于其他类型树脂具有明显优势,综合考

# 正交试验优选丁香抑马拉色菌活性物质提取工艺

宋杰<sup>1</sup>,董银卯<sup>1</sup>,孟宏<sup>2\*</sup>

(1. 北京工商大学,北京 100048; 2. 中国中医科学院针灸研究所,北京 100700)

**[摘要]** 目的:优选丁香中抑菌成分的提取工艺。方法:以糠秕马拉色菌为供试菌,通过管碟法测试抑菌效果,通过单因素试验和正交试验确定丁香提取物的最优提取工艺。结果:丁香最优提取工艺为70%乙醇回流提取,料液比1:25,提取时间2 h,提取温度65℃。丁香醇提取物对糠秕马拉色菌的抑菌圈直径为(23.08±0.46)mm,抑菌活力为高度敏感。结论:优选的提取工艺稳定可行。

**[关键词]** 丁香;糠秕马拉色菌;提取;抑菌

**[中图分类号]** R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0068-04

## Optimization of Extraction Technology for Anti-Malassezia Furfur Active Substances from *Eugenia caryophyllata* by Orthogonal Test

SONG Jie<sup>1</sup>, DONG Yin-mao<sup>1</sup>, MENG Hong<sup>2\*</sup>

(1. Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China; 2. Institute of Acupuncture and Moxibustion, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize of extraction technology of antibacterial substances from *Eugenia caryophyllata*. **Method:** With malassezia furfur as test bacteria, antibacterial effect was tested by cup-plate method, extraction technology of extract from *E. caryophyllata* was optimized by single factor test and orthogonal test. **Result:** Optimum extraction technology was as following: refluxing extracted 2 h with 25 times the amount of

**[收稿日期]** 20120620(416)

**[第一作者]** 宋杰,在读硕士生,E-mail: sj5850@126.com

**[通讯作者]** \*孟宏,副教授,从事中医药对损容性疾病的作用研究及对相关优势病种的作用研究,Tel: 010-68987110, E-mail: menghong2000@163.com

虑,选用LX-18型大孔树脂来纯化茶多酚。最终确定的纯化工艺为样品液中生药与干树脂质量比1:1,依次用10 BV水、10 BV 50%乙醇以速度2 mL·min<sup>-1</sup>洗脱,收集50%乙醇洗脱液,减压浓缩至干,茶多酚纯度>50.0%,可有效去除杂质,便于制剂工艺研究,为茶梗的充分利用提供试验依据,具有一定的生产实用价值。

### [参考文献]

[1] 傅维康. 医药文化随笔[M]. 上海:上海古籍出版社, 2006:178.  
[2] 冯秋月. 探讨茶梗开发应用的途径[J]. 福建茶叶, 2010,32(12):35.

[3] 徐芑,刘东成. 茶多酚抗氧化和抑菌机制的研究[J]. 中国医药导报,2008,5(23):21.  
[4] 吴顺德. 茶多酚-天然的心血管保健师[J]. 健康指南:中老年,2012,19(1):38.  
[5] 郑笑男. 茶多酚抗氧化功能及保护实验性肝损伤作用的研究进展[J]. 临床合理用药杂志,2011,4(5):126.  
[6] 林宁. 药剂学[M]. 武汉:湖北科学技术出版社, 2008:243.  
[7] 国家标准局信息分类编码研究所. GB/T 8313-2008 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S]. 北京:中国标准出版社,2008:3.  
[8] 肖婷,闫智勇,左长英,等. 蜘蛛香总黄酮大孔树脂纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(17):36.

[责任编辑 全燕]