

# 儿茶素单体分离制备方法\*

魏志文, 李大祥, 宛晓春, 凌铁军

(安徽农业大学农业部, 教育部茶叶生物化学与生物技术重点开放实验室, 安徽合肥, 230036)

**摘要** 茶叶中含有丰富的儿茶素类物质, 占茶叶干重 12%~24%, 是茶叶中最具生理活性和保健功效的物质。文中对目前国内外纯化制备儿茶素的常见方法进行了综述。常见的儿茶素制备方法包括纤维素柱层析、葡聚糖凝胶(Sephadex LH-20)、硅胶柱层析、吸附树脂柱层析和高速逆流色谱等方法。通过这些方法制备的儿茶素单体纯度不高, 仍需结合结晶、制备型液相色谱技术或膜分离技术进行进一步纯化, 从而才能获得高纯度的儿茶素单体。在儿茶素单体的制备方法中, 每种方法都有相应的优缺点。Sephadex LH-20 柱层析分离的量较大, 但是分离时间较长, 而且 Sephadex LH-20 柱填料昂贵; 高速逆流色谱分离效果较好, 得到的儿茶素单体的纯度较高, 分离时间相对要短, 但是目前市场上只有分析型, 分离的量相对少; 硅胶材料廉价, 但是分离的效果不佳, 且分离过程相对繁琐, 单体制备量较小; 吸附树脂柱层析分离已实现 EGCG 单体的工业化生产, 但在其他儿茶素单体的分离制备上尚不成熟。

**关键词** 茶, 儿茶素, 分离制备

迄今为止, 茶叶中已经分离、鉴定的已知化合物有 700 多种, 其中包括初级代谢产物蛋白质、糖类、脂类以及次级代谢产物, 如多酚、色素、茶氨酸、生物碱、芳香物质、皂苷等。茶叶中的多酚类物质占茶叶干重的 18%~36%, 主要包括黄烷醇类、黄酮和黄酮醇类、花青素和花白素以及酚酸和缩酚酸。茶鲜叶中多酚类物质主要为儿茶素类(黄烷醇类), 其含量占干重的 12%~24%, 为茶叶多酚总量的 70%~80%。儿茶素为 2-苯基苯并吡喃的衍生物, 其基本结构包括 A、B 和 C 3 个基本环, 根据 B 环和 C 环上连接基团的不同, 儿茶素主要有以下 4 种, 分别为表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin

gallate, EGCG), 如图 1 所示。此外, 还含有少量的 (+)-GC、GCG、CG、(+)-C。在儿茶素类物质当中, EGCG 和 ECG 为主要组分, 它们分别占儿茶素总量的 50% 和 15% 左右<sup>[1]</sup>。

表 1 四种主要儿茶素的化学结构

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
H	H	表儿茶素
H	OH	表没食子儿茶素
G	H	表儿茶素没食子酸酯
G	OH	表没食子儿茶素没食子酸酯

儿茶素是茶树次生代谢的重要成分, 也是茶叶具有保健功能的主要成分。近年来, 国内外大量研究发现, 儿茶素具有清除体内自由基<sup>[2,3]</sup>、抗氧化<sup>[4~7]</sup>、抑制肿瘤生长<sup>[8~11]</sup>、防止辐射<sup>[12~14]</sup>、抗菌消毒<sup>[15~16]</sup>、减肥降血压<sup>[17~20]</sup>、减少香烟毒害<sup>[21,22]</sup>、防治艾滋病<sup>[23,24]</sup>、预防心血管疾病和调节免疫系统<sup>[25~27]</sup>等诸多生理功能。其中酯型儿茶素 EGCG 和 ECG 在许多方面表现出的功效明显强于其他儿茶素组分, 现已成为儿茶素分离、纯化与临床应用研究的焦点, 而且 EGCG 单体在美国已经被列为一种潜在的抗癌药物进行研发<sup>[28~30]</sup>。

由于儿茶素主要组分结构和物理化学性质比较相似, 要想有效的分离各儿茶素单体有一定的难度。但伴随着儿茶素药理功能研究的不断深入, 儿茶素单体分离制备的研究显得更为突出, 而且也越来越受到人们的关注。因此探寻一种简单易行、成本低廉的儿茶素单体规模制备方法, 是业界追求的目标。到目前为止, 诸多研究人员对分离儿茶素单体的方法做了大

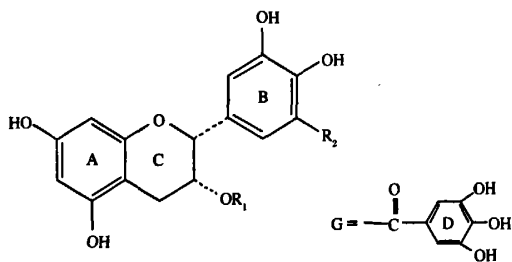


图 1 四种主要儿茶素的化学结构

第一作者: 硕士研究生(李大祥博士为通讯作者)。

\* 安徽省研究实验基地优秀中青年科研带头人专项基金和安徽农业大学人才启动基金资助

收稿日期: 2007-10-30, 改回日期: 2007-12-13

量的研究,如用纤维素柱层析、Sephadex LH-20 柱层析、硅胶柱层析和高速逆流色谱等一些方法来分离制备儿茶素,本文对上述儿茶素分离制备方法作一详细介绍。

## 1 纤维素柱层析分离

Vuataz 等人<sup>[31]</sup>曾利用纤维素分配特性进行儿茶素单体的分离。将茶叶乙酸乙酯的粗提物 1 g 和 4 g 用水湿润的纤维粉拌匀后上纤维素柱(3 cm×68cm)来分离儿茶素,依次用水饱和的丙酸乙酯与石油醚(体积比 9:1)、水饱和的丙酸乙酯、水饱和的乙酸乙酯、水饱和的丁醇、体积分数 90% 的甲醇、水进行洗脱。结果发现,ECG 和 EGCG 主要被丙酸乙酯与石油醚洗脱,(+)-C 和 EC 主要被丙酸乙酯所洗脱,而(+)-GC 和 EGC 主要被乙酸乙酯所洗脱下来的。最后分别采用在水、甲醇和二氯甲烷、乙酸乙酯和二氯甲烷中进行结晶纯化,得到各主要儿茶素单体。

## 2 Sephadex LH-20 凝胶柱层析

凝胶柱层析是利用凝胶把物质按分子大小不同进行分离的一种方法。Sephadex LH-20 是凝胶 Sephadex G-25 经羟丙基化后的产物,与 Sephadex G-25 羟基总数不变,但多了许多丙基,使得此凝胶具有轻微的疏水性(反相吸附效果),这就扩大了凝胶的应用范围,使其不仅可分离水溶性物质,也可分离脂溶性的物质。除具备一般的分子筛作用外,Sephadex LH-20 在极性与非极性溶剂组成的混合溶剂中常常还起到反相分配色谱的作用<sup>[32,33]</sup>。

### 2.1 柱层析分离结合结晶纯化

Chen 等人<sup>[34]</sup>将茶叶的乙酸乙酯提取物用 Sephadex LH-20 柱分离(5 cm×95cm),体积分数 95% 乙醇洗脱,洗脱速度 2 mL/min,分别得到 ECG、EGC 和 EGCG,经 HPLC 检测,各单体的纯度均在 97% 以上。Zhu 等人<sup>[35]</sup>将 10 g 茶多酚粗品上 Sephadex LH-20 柱(3.8 cm×45.7 cm)分离,同样采用 95% 的乙醇洗脱,最后得到 700 mg 的 EGC 和 1 300 mg 的 EGCG,纯度均在 98%(HPLC)以上。

Robertson<sup>[36]</sup>和 Opie 等人<sup>[37]</sup>将儿茶素粗提物用甲醇溶解后,上 Sephadex LH-20 柱分离(5 cm×95 cm),洗脱液为 V(氯仿):V(甲醇):V(汽油)=1:2:1,ECG 和 EGCG 能有效分离,而(+)-C 和 EC、(+)-GC 和 EGC 未完全分开。其中 ECG 和

EGCG 分别在甲醇/二氯甲烷和水中结晶得到纯品。

Ryoyasu<sup>[38]</sup>用 Sephadex LH-20 (5 cm×45 cm)分离 20 g 儿茶素的粗提物,体积分数 40% 的丙酮洗脱,得到含有 ECG 和 EGCG 混合组分的儿茶素,再经 Sephadex LH-20 柱分离(3.3 cm×85 cm),甲醇-正己烷-乙酸乙酯-水的混合液(体积比 100:30:25:5)洗脱分离,得到 ECG、EGCG、X 和 Y,然后对 X 和 Y 再进行 Sephadex LH-20 柱分离,在甲醇和水的混和液中结晶得到 X 和 Y,经结构鉴定表明 X、Y 分别为 ECG 和 EGCG 的甲基化没食子酸酯(-)-epicatechin-3-(3-O-methylgallate) 和 (-)-epigallocatechin-3-(3-O-methylgallate)。

Susanne 等人<sup>[39]</sup>称取 65 g 儿茶素粗品上 Sephadex LH-20 柱(10 cm×78 cm)分离,用 95% 的乙醇洗脱,得到相应儿茶素粗品,再经硅胶柱二次分离和结晶纯化后,得到了高纯度的 EC、EGC、GC、ECG 和 EGCG 单体。

### 2.2 柱层析分离结合半制备型液相柱纯化

Ryszard<sup>[40]</sup>将 500mg 儿茶素粗品溶解后上 Sephadex LH-20 柱分离(1.6 cm×90cm)。洗脱剂为乙醇,流速 1.2 mL/min,得到 4 个含有儿茶素的部分。然后将这 4 个部分分别进行半制备液相色谱进行纯化(7μm,10 cm×255cm 的 RP-18 色谱柱;流动相为水-乙腈-甲醇-乙酸体积比为 79.5:18:2:0.5),最后得到 4 种高纯度儿茶素 EC、EGC、ECG 和 EGCG。

王洪新等人<sup>[41]</sup>将 10 g 儿茶素粗提物上 Sephadex LH-20 柱(2.5 cm×75 cm),依次用水和 30%、45%、60%、80% 丙酮依次洗脱。含有儿茶素的组分再经半制备 HPLC 纯化后,得到 7 种纯度均在 99% 以上的儿茶素单体 EGC、(+)-C、EC、EGCG、ECG、(+)-GCG 和(+)-CG。

## 3 硅胶柱层析分离

硅胶层析的原理是利用不同物质的极性大小来分离的。硅胶表面带有羟基,能与极性物质形成氢键,极性越强的物质与硅胶吸附得越牢固,极性越弱吸附也越弱。再用不同极性的溶剂对硅胶进行洗脱的时候,溶剂极性越强,越容易洗脱与硅胶吸附的物质,极性弱的溶剂洗脱能力越差<sup>[42]</sup>。

Ryszard<sup>[43]</sup>将 1 g 儿茶素粗提物溶解上硅胶柱分离(3.0 cm×60 cm),用氯仿-甲醇-水(体积比 65:35:10)洗脱,最后得到 6 个组分。其中,组分 II 含有

EC,组分Ⅲ含有EC和EGC,组分Ⅳ含有EGC,组分Ⅴ含有EGC、ECG和EGCG,组分Ⅵ含有EGCG。然后用半制备型的HPLC对含有儿茶素的组分进行纯化,最后得到EC 56 mg,EGC 164 mg,ECG 62 mg,EGCG 132 mg。

Chan等人<sup>[44]</sup>2007年获得一项新颖的分离制备EGCG的专利,其分离过程也是通过硅胶柱来完成的。首先将绿茶中的儿茶素进行过乙酰化,再经乙酸

乙酯提取,浓缩干燥后上硅胶柱分离,用正己烷-乙酸乙酯(体积比1:2)洗脱,分别得到EGCG、ECG、EGC和EC的过乙酸酯组分,EGCG和EGC的过乙酸酯产率分别为3.4%、1.1%,其他2种物质产率低于0.01%。EGCG的过乙酸酯经脱酯还原后得到EGCG粗品,再经硅胶柱纯化,得到EGCG单体。其过乙酸酯化和脱酯化反应分别如图2和图3所示。

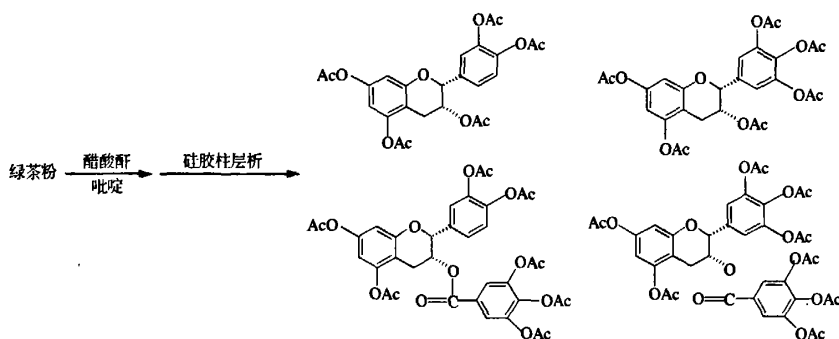


图2 儿茶素的过乙酰化反应过程(Chan等人,2007)

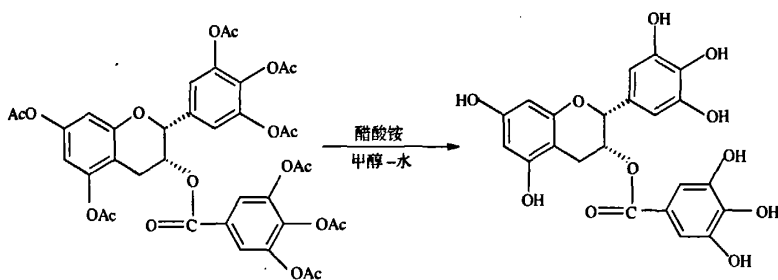


图3 EGCG的脱乙酰基还原反应过程(Chan等人,2007)

#### 4 高速逆流色谱分离

逆流色谱技术(countercurrent chromatography,简称CCC)是1970年代发展起来的一种液-液分离色谱新技术,可以在短时间内实现高效分离和制备。由于该技术为液液分配体系,可避免样品和固定相之间的不可逆吸附,且回收方便等优点,已广泛应用于天然产物的提取分离制备<sup>[45,46]</sup>。

杜琪珍等人<sup>[47]</sup>分别采用单台高速逆流色谱和双机串联逆流色谱法来分离茶叶中的儿茶素。采用单台高速逆流色谱分离700 mg儿茶素粗提物时,分离得到EGC、EGCG、(+)-GCG、ECG,以及(+)-C和EC的混合物。当采用双机串联分离系统后,分离3 g儿茶素粗品,得到EGCG、(+)-GCG、ECG、EGC,纯度均在75%以上。经甲醇/乙醚混合液结

晶,单体纯度均达97%以上。

张莹等人<sup>[48]</sup>用高速逆流色谱分离儿茶素采用2组溶剂系统,一组是石油醚-乙酸乙酯-水(体积比为0.2:1:2);另一组是正丁醇-乙酸乙酯-水(体积比为0.2:1:2)系统。进样量为4g绿茶提取物,用前一组溶剂系统,EC、EGCG、GCG和ECG得到了很好的分离,每一种单体的纯度达到了98%,其中EGCG达到99%;用后一组溶剂系统,EGC和土C得到了分离,纯度达到92%,其中EGCG单体得到1.2 g。

Caoi等人<sup>[49]</sup>以市售茶多酚为原料用高速逆流色谱进行2步分离。第1步:用乙酸乙酯-甲醇-水混合溶剂将EGCG分离出来,在分离时候逐渐增加甲醇的量,乙酸乙酯-甲醇-水的体积比由25:1:25变化到10:1:10;第2步:将柱子里面的液体全部推出,浓缩后再用高速逆流色谱分离,此时的溶剂系统为正

己烷-乙酸乙酯-水(体积比为1:4:5),最后依次得到 GCG 和 ECG。通过该法 1 g 茶多酚最后可分离得到 EGCG 275 mg、GCG 140 mg 和 ECG 130 mg,经液相检测纯度均在 98% 以上。

## 5 吸附树脂柱层析分离

瑞士 Roche 公司 2003 年获得一项利用吸附树脂柱层析技术分离制备 EGCG 的专利<sup>[50]</sup>,该专利利用 Polyamide11、Amberlite XAD-7 和 Amberchrom CG-71c 为填料的柱层析方法来分离儿茶素单体 EGCG。400g 的茶多酚(液相检测含有 152.5gEGCG)上 Amberlite XAD-7 柱分离(15 cm×200 cm),用水和异丙醇混合液洗脱(体积比为 90:1),最后得到 112g 的 EGCG 单体,经液相检测纯度为 92.1%。当使用 Amberchrom CG-71c 柱层析分离时(2.2 cm×200 cm),20 g 茶多酚经水和乙醇混合液(体积比为 9:1)洗脱后,得到纯度为 97% 的 EGCG 3.4 g。使用 Polyamide11 为填料时,3 g 茶多酚上柱分离(5 cm×36 cm),分别用 500 mL 乙酸乙酯、1 000 mL 的乙酸乙酯和乙醇(体积比为 8.5:1.5)、1 000 mL 的乙酸乙酯和乙醇(体积比为 7:3)和 2 000 mL 的乙酸乙酯和乙醇(体积比为 1:1)洗脱,得到含有 EGCG 的洗脱液 550 mL,浓缩干燥后得到 EGCG 单体 841 mg,经液相检测纯度为 96%。Roche 公司通过此类吸附树脂柱层析技术,并集成膜过滤等技术<sup>[51]</sup>,业已实现 EGCG 的工业化生产。

## 6 小结

以上总结了儿茶素单体分离纯化的一些方法,可以得知目前以 Sephadex LH-20 和高速逆流色谱技术为主流。2 种方法各有特点:Sephadex LH-20 材料昂贵,目前 500g Sephadex LH-20 市场价格达到 10 000 元以上,而且分离制备时间相对较长。高速逆流色谱分离效果较好,得到的儿茶素单体的纯度较高,分离时间相对要短,但是目前市场上的高速逆流色谱仪仍为分析型,制备量较少,最大也仅为克级。而采用 Amberlite XAD-7 柱层析分离儿茶素量大,而且 Roche 公司已经采用该方法工业化生产 EGCG,但是对于分离其他的儿茶素条件还不成熟。

在儿茶素单体的分离制备过程中,对样品进行适当的前处理可以有效地提高儿茶素单体分离制备的效率。目前已有几种新颖的富集儿茶素的前处理方法的报道。Lauren 等人<sup>[52]</sup>研究表明,茶叶先在 50℃

提取 10 mins,然后再在 80℃ 提取 10 mins,在 50℃ 时,EGC 提取了 78.9%,而 EGCG 仅提取出 10.8%;而在 80℃ 时候 EGCG 提取出了 47.6%,增加了 3 倍以上。易健明<sup>[53]</sup>研究了用没食子酸十二烷基酯溶液(溶解于正辛烷)萃取分离儿茶素的效果,结果表明,没食子酸没食子酸十二烷基酯溶液对 ECG 的萃取率是 EGCG 和 GC2 倍左右。王霞<sup>[54]</sup>分别将茶多酚溶解在不同 pH 值的蒸馏水中(柠檬酸酸化处理),然后再用乙酸乙酯萃取,研究结果表明 pH 为 4.0 时 EGCG 萃取效果最好,萃取率是非酯型儿茶素萃取率的 1.4 倍左右。这些前处理可以使儿茶素预先到分离,便于后续儿茶素单体的分离纯化。

## 参 考 文 献

- 1 宛晓春.茶叶生物化学(第三版)[M].北京:中国农业出版社,2003
- 2 陈留记,杨贤强,沈生荣,等.儿茶素清除活性氧自由基的机制[J].浙江大学学报(农业与生命科学版),2002,28(5):573~574
- 3 Luo Y F, Guo Zh F, Xu X, et al. Studies on free-radical scavenging abilities of four catechins and their blended composite[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2005, 25(4): 26~30
- 4 Cao G H, Sofic E, Prior R L. Antioxidant capacity of tea and common vegetables[J]. J Agricul Food Chem, 1996, 44: 3 426~3 431
- 5 Yen G C, Chen H Y, Peng H H. Antioxidant and pro-oxidant effects of various tea extracts[J]. J Agric Food Chem, 1997, 45(1): 30~34
- 6 Rice-Evans C A, Miller N J, Paganga G, et al. Antioxidant properties of phenolic compounds[J]. Trends in Pl Sci, 1997, 2(4): 152~159
- 7 Lee S R, Im K J, Suh S I, et al. Protective effect of green tea polyphenol (-)EGCG and other antioxidants on lipid peroxidation in gerbil brain homogenates[J]. Phytother Res, 2003, 17(3): 206~209
- 8 Jankun J, Selman S H, Swiercz R, et al. Why drinking green tea could prevent cancer[J]. Nature, 1997, 387(5): 561~561
- 9 Bushman J L. Green tea and cancer in humans: A review of the literature[J]. Nutrition & Cancer, 1998, 3(1): 151~159
- 10 Fujiki H, Suganuma M, Okabe S, et al. Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans [J]. Proceeding of Soc Exp Biol Med, 1999, 220: 225~228
- 11 Fujiki H, Suganuma M, Imai K et al. Green tea: cancer preventive beverage and/or drug[J]. Cancer Lett, 2002, 188: 9~13
- 12 Fu C Y, Jin X P, Wei S M, et al. Ultraviolet radiation and reactive oxygen generation as inducers of keratinocyte apoptosis: protective role of tea polyphenols[J]. J Toxicol Environ Health A, 2000, 61(3): 177~188
- 13 符移才,金锡鹏,张英.长波紫外线对大鼠皮肤角质细

- 胞的损伤及茶多酚的保护作用[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2000, 18(6): 333~335
- 14 Breitfellner F, Solar S, Sontag G. Radiation induced chemical changes of phenolic compounds in strawberries [J]. Radiation Physics and Chemistry, 2003, 67(3): 497~499
  - 15 Fukai K, Ishigami T, Hara Y. Antibacterial activity of tea polyphenols against phytopathogenic bacteria [J]. Agric Biol Chem, 1991, 55(7): 1 895~1 897
  - 16 Sakanaka S, Aizawa M, Kim M, et al. Inhibitory effects of Green tea polyphenols on growth and cellular adherence of an oral bacterium, Porphyromona gingivalis [J]. Biosci Biotechnol Biochem, 1996, 60(5): 745~749
  - 17 Sayama K, Lin S, Zheng G, et al. Effects of green tea on growth, food utilization and lipid metabolism in mice [J]. In Vivo, 2000, 14(4): 481~484
  - 18 钟 健, 曹 进. 茶及茶中多酚类化合物减肥作用的研究进展 [J]. 国外医学(医学地理分册), 2007, 28(1): 7~11
  - 19 唐庆华. 饮茶与健康 [J]. 蚕桑茶叶通讯, 2001, 105(3): 17~19
  - 20 刘学铭, 梁世中. 茶多酚的保健和药理作用及应用前景 [J]. 食品与发酵工业, 1998, 24(5): 47~51
  - 21 张树立, 赵保路, 忻文娟. 吸烟烟气的细胞毒性作用和茶多酚保护作用的研究 [J]. 中国环境科学, 1996, 16(5): 386~390
  - 22 孙晓萌, 金哲雄. 植物多酚降低吸烟烟气毒性作用的研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版), 2002, 18(1): 51~54
  - 23 解奕瑞, 朱 彪. 表没食子儿茶素没食子酸酯对艾滋病防治作用的研究进展 [J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2006, 33(5): 336~339
  - 24 Yamaguchi K, Honda M, Ikigai H, et al. Inhibitory effects of (-)-epigallocatechin gallate on the life cycle of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) [J]. Antivir Res, 2002, 53(1): 19~34
  - 25 Kris-Etherton P M, Keen C L. Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health [J]. Current Opinion in Lipidology, 2002, 13(1): 41~49
  - 26 Yochum L, Kushi L H, Meyer K, et al. Dietary flavonoid intake and risk of cardiovascular disease in postmenopausal women [J]. American Journal of Epidemiology, 1999, 149(10): 943~949
  - 27 史霄燕, 辛华雯, 谢笔钧, 等. 聚酯型儿茶素对外周血单核细胞免疫反应的 [J]. 中草药, 2002, 33(5): 432~434
  - 28 陈宗懋. 茶对人体的生理调节机能 [J]. 茶叶文摘, 1994, 8(1): 1~8
  - 29 仇燕峰, 李 楠, 韩国柱, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯的研究进展 [J]. 中草药, 2006, 37(2): 303~306
  - 30 张 盛, 刘仲华, 黄建安, 等. 高 ECG 型儿茶素纯化工艺研究 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2003, 29(2): 144~146
  - 31 Vuataz L, Brandenberger H, Egli R H. Separation of the tea leaf polyphenols by cellulose column chromatography [J]. J of Chromatography, 1959, 2: 173~187
  - 32 Henke H. Preparative Gel Chromatography on Sephadex LH-20 [M]. Heidelberg: Huthig GmbH, 1995
  - 33 姚新生, 吴立军, 吴继洲. 天然药物化学(第四版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004
  - 34 Chen Ch W, Ho Ch T. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas [J]. J Food Lipids, 1995, 2: 35~46
  - 35 Zhu N Q, Huang T Ch, Yu Y N, et al. Identification of oxidation products of (-)-Epigallocatechin Gallate and (-)-Epigallocatechin with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 979~981
  - 36 Robertson A, Bendall D S. Production and HPLC analysis of black tea theaflavins and thearubigins during in vitro oxidation [J]. Phytochemistry, 1983, 22: 883~887
  - 37 Opie S C, Robertson A, Michael N C. Black tea thearubigins-their HPLC separation and preparation during in vitro oxidation [J]. J Sci Food Agric, 1990, 50: 547~561
  - 38 Saijo R. Isolation and chemical structures of two new catechins from fresh tea leaf [J]. Agric Biol Chem, 1982, 46(7): 1 969~1 970
  - 39 Valcic S, Timmermann B N, Alberts D S, et al. Inhibitory effect of six green tea catechins and caffeine on growth of four selected human tumor cell lines [J]. Anticancer Drugs, 1996, 7: 461~468
  - 40 Amarowicz R, Shahidi F. A rapid chromatographic method for separation of individual catechins from green tea [J]. Food Research International, 1996, 29(1): 71~76
  - 41 王洪新, 戴 军, 张家骥, 吕源玲, 等. 茶叶儿茶素单体的分离纯化及鉴定 [J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(2): 117~121
  - 42 Liu X, Wang Q AN. Natural Product Chemistry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005
  - 43 Amarowicz R, Shahidi F, Wiczowski W. Separation of individual catechins from green tea using silica gel column chromatography and HPLC [J]. J Food Lipids, 2003, 10(2): 165~177
  - 44 Chan T H, Lam W H. Methods of separating catechins from green tea [P]. International Patent, 041891, 2007-04-19
  - 45 张天佑. 逆流色谱技术 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1991. 362~366
  - 46 张 奇, 杜琪珍. 逆流色谱技术进展及其在食品工业中的应用 [J]. 现代食品科技, 2005, 20(3): 159~161
  - 47 杜琪珍, 李名君, 程启坤. 高速逆流色谱法分离茶叶中的儿茶素 [J]. 中国茶叶, 1996, 18(2): 20~21
  - 48 张 莹, 施兆鹏, 聂洪勇, 等. 制备型逆流色谱分离绿茶提取物中儿茶素单体 [J]. 湖南农业大学学报, 2003, 29(5): 408~417
  - 49 Cao X L, Tian Y, Zhang T Y, et al. Separation and purification of three individual catechins from tea polyphenol mixture by CCC [J]. J Liq Chrom & Rel Technol, 2001, 24(11): 1 723~1 732
  - 50 Burdick D C, Egger H, Gum A G, et al. Process for the production of (-)-epigallocatechin gallate [P]. US, 0083270 A1, 2003-05-01
  - 51 Bonrath W, Burdick D C, Schirg P, et al. Process for concentrating epigallocatechin gallate [P]. US Patent, 6383392 B1, 2002-05-07
  - 52 Bazinet L, Labb D, Tremblay A. Production of green tea EGC- and EGCG-enriched fractions by a two-step extraction procedure [J]. Separation and Purification Technology, 2007, 56(1): 53~56
  - 53 易健明, 李宝容, 唐课文, 等. 用没食子酸酯萃取分离酯型儿茶素单体 [J]. 中南大学学报(自然科学版), 2006, 37

## Review on Separation and Preparation of Catechins from Tea

Wei Zhiwen, Li Daxiang, Wan Xiaochun, Ling Tiejun

(Key Laboratory of Tea Biochemistry and Biotechnology, Ministry of Agriculture and Ministry of Education, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China)

**ABSTRACT** Catechins are the main secondary metabolites of tea, accounting for 12%~24% of dry weight in fresh tea leaves, and are principally responsible for many biological activities and health-care function. Many methods of separation and preparation of catechin, including cellulose column chromatography, Sephadex LH-20 chromatography, silica gel column chromatography, adsorption resin column chromatography and high-speed countercurrent chromatography (HSCCC) were briefly summarized in this paper. However, the purity of catechin obtained by those methods was not high. It is necessary to combine with other methods such as crystallization, preparative HPLC chromatograms and membrane filtration technology to get the particular catechin monomer with high purity. Those methods had its advantages and disadvantages for separation and preparation of catechins. The amount of catechins obtained by Sephadex LH-20 was more than that gotten by others. However, it is time consuming and expensive. The effect of using HSCCC to separate catechins was very well, but the instrument is only available as the analysis model at labs. Although the price of silica gel was cheap, the separation process of using silica gel column chromatography was very complicated and the separation efficiency was low. So far, the large-scale preparation of EGCG by adsorption resin column chromatography has been applied for industrial production, but there is not an efficient method to preparation other type of catechins for industry.

**Key words** tea, catechins, separation and preparation

## 市场动态

## 杰能科率先向纤维乙醇市场推出商用酶产品

纽约罗彻斯特 Danisco A/S 公司旗下子公司杰能科发布了新产品 Accellerase™ 1000, 该产品是专门为第二代生物精炼厂开发的第一种商用酶制剂。Accellerase™ 1000 是由多种酶组成的复合酶, 它可以把复杂木质纤维素分解为可发酵的糖——这是纤维乙醇生产中必不可少的工序。Accellerase 的主要优点: (1) 增强各种原料的糖化效果。(2) 能够同时进行糖化和发酵 (SSF) 过程, 两步式顺序进行水解和发酵 (SHF) 过程或两者混合进行。(3) 高  $\beta$  葡萄糖苷酶活性可将残余纤维二糖含量降至最低, 提高糖化率并最终提高乙醇发酵速度。产量亦可有所提高。(4) 未知产品。除了糖化生成的可发酵糖之外, 酶制剂中的残留营养物也有利于酵母。(5) 配方用料最低, 确保酶配方的化学制剂不干扰对糖化碳水化合物化合物的分析及后续酵母发酵。

## 讣告

中国食品发酵工业研究院原副总工程师, 教授级高级工程师, 中国食品科学技术学会理事, 《食品与发酵工业》期刊编委会顾问委员管敦仪同志, 因病医治无效, 于 2008 年 1 月 30 日 18 时 30 分在北京逝世, 享年 88 岁。

管敦仪同志, 山东青岛人。1945 年毕业于中央大学化工系, 1946 年进青岛啤酒厂工作, 先后任助理工程师、工程师、酿造科科长、生产技术科科长等职务。1957 年后, 历任中国食品发酵工业研究院 (原轻工业部食品发酵工业科学研究所) 研究室主任、工程师、高级工程师、副总工程师、教授级高级工程师, 中国食品科学技术学会理事, 享受国务院特殊贡献津贴。他主持过啤酒生产中多项重点技术项目的研究, 在啤酒非生物稳定性的研究中取得成果, 使啤酒保存期由一、二个月提高至半年以上。主编有《啤酒工业手册》(上、中、下册)。