

文章编号:1001-6880(2014)10-1647-07

吸附柱层析法制备纯化茶多酚中 EGCG 单体

王伟涛¹, 马朝阳¹, 陈尚卫², 朱松², 娄在祥¹, 王洪新^{1,2*}¹ 江南大学食品学院; ² 食品科学与技术国家重点实验室, 无锡 214122

摘要:以茶多酚为原料,采用吸附树脂柱层析法制备表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)单体。考察树脂对儿茶素的吸附容量、吸附率、解吸率及吸附选择因数,选择 LX-8 树脂初步纯化后采用 HP-20 树脂二次纯化。经 LX-8 两步柱层析,1.5 BV/h 流速洗脱,25% 乙醇洗脱组分上柱后经 40% 乙醇洗脱 5 BV 可得到纯度为 73.06% 的 EGCG 产品。以 20 mg/mL 浓度的 LX-8 柱 40% 乙醇产品上 HP-20 柱,1.5 BV/h 洗脱,5% 乙醇洗 3 BV,15% 乙醇洗 6 BV,80% 乙醇洗 3 BV 后,可制得纯度为 93.16%,总收率为 49.50% 的 EGCG 产品。

关键词:茶多酚;表没食子儿茶素没食子酸酯;纯化;吸附柱层析

中图分类号:R272.4

文献标识码:A

Purification of (-)-Epigallocatechin Gallate from Tea Polyphenols by Adsorption Resin Chromatography

WANG Wei-tao¹, MA Chao-yang¹, CHEN Shang-wei², ZHU Song², LOU Zai-xiang¹, WANG Hong-xin^{1,2*}¹ School of Food Science and Technology, Jiangnan University; ² State Key Laboratory of Food Science and Technology, Wuxi 214122, China

Abstract: Adsorption resin chromatography was applied to purify (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) monomer from tea polyphenols raw material. LX-8 was used for the preliminary purification and HP-20 resin was used for further purification according to adsorption capacity, adsorption ratio, desorption ratio and adsorption selectivity coefficient of the resins chosen towards catechins. After the second run of purification with LX-8 fed with 25% (v/v) ethanol aqueous product, a product with an EGCG purity of 73.06% was obtained after eluted by 40% (v/v) ethanol solution at a flow rate of 1.5 BV/h. Product of LX-8 40% (v/v) ethanol aqueous with 20 mg/mL concentration being raw material, the second column packed with HP-20 was eluted with 3 BV, 6 BV and 3 BV ethanol solutions at increasing concentrations (5, 15 and 80%, v/v) at a flow rate of 1.5 BV/h, respectively. After eluted by different aqueous ethanol, a product with an EGCG purity of 93.16% and an overall recovery of 49.50% was achieved.

Key words: tea polyphenols; (-)-epigallocatechin gallate; purification; adsorption resin chromatography

表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-Epigallocatechin Gallate, EGCG]是儿茶素类的主要成分,具有良好的功能特性,如防突变、抗癌、抗病毒、抗氧化、抑制生物膜、神经保护、调节代谢、消炎、抑菌等^[1]。EGCG 已被应用于食品、化妆品、医药、精细化学品、保健品等各个领域。因此,寻找一条适合大规模生产、环境友好型的制备 EGCG 单体工艺显得十分必要。目前,制备纯化 EGCG 单体的途径主要有色谱柱层析技术,如高速逆流色谱、制备液相色谱、硅胶柱色谱、离子交换或凝胶色谱、模拟移动床色谱以及膜分离技术等^[2-5]。这些技术在能得到高纯度

EGCG 同时,也存在一定不足,填料成本高且使用次数有限,设备成本高昂,洗脱系统多采用三氯甲烷、乙酸乙酯等溶剂,存在残留等安全问题等。而吸附柱色谱^[3,6-8]相比其他方法,具有重复利用次数多,生产成本低,溶剂系统环保安全等优点越来越受到研究者们的关注。

本研究采用吸附树脂柱层析进行 EGCG 单体分离纯化,通过考察所选树脂对儿茶素的吸附分离情况,选择合适的分离填料进行 EGCG 单体纯化。旨在开发一种绿色、环保,溶剂系统安全,适于工业化生产的生产工艺。

1 仪器与材料

茶多酚原料(批号 TP081001-1032, 四川宜宾)。EGCG、ECG、EGC、C、CA 标准品(成都曼思特生物

科技有限公司,批号分别为 A0159、A0160、A0161、A0158,A0470),EC 标准品(中国药品生物制品检定所,110878-200102),纯度经检测均大于 98%。

吸附树脂 LX-68、LX-5B、LX-8、LX-2000、XDA-1(西安蓝晓科技新材料股份有限公司),ADS-5c、ADS-21(天津南开和成科技有限公司),PA(国药集团化学试剂有限公司),HP-20(日本三菱化学),AB-8、ADS-7、ADS-17、HPD-826(沧州宝恩吸附材料科技有限公司),各树脂特性参数见表 1。

BT100-2J 蠕动泵(保定兰格恒流泵有限公司),

表 1 树脂特性参数

Table 1 Characteristic parameters of resin used

树脂型号 Resin series	粒径 Particle size (mm)	比表面积 Surface area (m ² /g)	平均孔径 Pore radius (Å)	极性 Polarity	外观 Appearance
LX-68	0.315-1.25	1300	-	非	浅棕色颗粒
LX-5B	0.315-1.25	700	-	中	白色颗粒
LX-8	0.315-1.26	1000	-	极	白色颗粒
LX-2000	0.09-0.165	800	-	非	白色颗粒
XDA-1	0.315-1.25	1200	-	弱	红色颗粒
ADS-5c	0.035-0.075	15-30	-	非	白色颗粒
ADS-21	0.3-1.25	80-100	150-200	极	棕黄色颗粒
PA	0.165-0.198	5-10	-	极	白色颗粒
HP-20	0.25-0.6	590	290	非	乳白色颗粒
AB-8	0.3-1.25	480-520	130-140	弱	白色颗粒
HPD-826	0.3-1.25	500-600	90-100	中	白色颗粒
ADS-17	0.3-1.25	90-150	250-300	中	白色颗粒
ADS-7	0.3-1.25	100	250-300	中	白色颗粒

2 提取与分离

2.1 茶多酚、儿茶素含量的测定

茶多酚含量测定参照行业标准 QB 2154-1995。

儿茶素含量测定:Waters 1525 高效液相色谱仪,色谱柱:Grace Smart RP 色谱柱(C₁₈ 填料,5 μm,4.6 × 250 mm);检测器:Waters 2489 UV/visible detector;流动相:A:10% 乙腈 + 0.5% 乙酸,B:30% 乙腈 + 0.5% 乙酸,梯度洗脱程序:0 ~ 14 min:100% ~ 50% A,14 ~ 20 min:50% ~ 100% A,20 ~ 25 min:100% ~ 100% A;流速:1.0 mL/min;检测温度:30 °C;检测波长:280 nm;进样量:5 μL。

2.2 吸附树脂的筛选

取预处理的树脂(干重当量 1.0 g)加到 20 mL 原料液(20 mg/mL)中,303.15 K 下于恒温水浴摇

SHB-3 型循环水多用真空泵(郑州杜甫仪器厂),BC-R202B 旋转蒸发器(上海贝凯生物化工有限公司),DZF-6050 真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司),Waters 1525 高效液相色谱仪及配套设备(Waters Co. Ltd. USA),乙腈(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司),甲醇(色谱纯,江苏汉邦科技有限公司),冰乙酸(国药集团化学试剂有限公司),95% 乙醇(国药集团化学试剂有限公司),超纯水净化系统(Millipore, USA)。

床振荡(120 rpm)12 h 至吸附平衡。过滤吸附后树脂,80% 乙醇解吸,恒温水浴摇床振荡(120 rpm)12 h 至解吸平衡,考察树脂对各儿茶素的吸附容量、吸附率、解吸率和吸附选择因数。

树脂对 EGCG 吸附容量的计算采用:

$$q_e = \frac{C_0 \times V_0 - C_e \times V_1}{W}$$

其中 q_e 为吸附平衡时对儿茶素的吸附容量(mg/g 干树脂), C_0 、 C_e 分别是儿茶素起始和平衡状态浓度(mg/mL), V_0 、 V_1 分别是原料液体积以及吸附后的溶液体积(mL), W 是树脂干重当量(g)。

根据下式计算树脂对儿茶素的吸附率、解吸率及吸附选择因数:

$$\text{吸附率} = \frac{(C_0 \times V_0 - C_e \times V_1)}{C_0 \times V_0} \times 100\%$$

$$\text{解吸率} = \frac{C_1 \times V_2}{q_e \times W} \times 100\%$$

$$K_B^A = \frac{R_A/C_A}{R_B/C_B}$$

其中, C_1 为解吸液中目标物浓度 (mg/mL), V_2 为解吸液体积 (mL), q_e 为目标物吸附容量 (mg/g 干树脂), W 为树脂干重当量 (g), R_A 和 R_B 分别为 EGCG 和其他儿茶素在各树脂上的吸附容量 (mg/g), C_A 和 C_B 分别为 EGCG 和其他儿茶素吸附平衡浓度 (mg/mL)。

2.3 LX-8 树脂柱层析初步纯化

2.3.1 上样浓度的确定

室温下, 茶多酚原料 (200、250、300、350 mg/mL) 上 LX-8 柱 ($\Phi 30 \text{ mm} \times 500 \text{ mm}$, 柱体积 245 mL), 流速 1.5 BV/h。分部收集, 检测其中各儿茶素浓度, 计算保留在柱子上的 EGCG 量, 确定上样浓度。

2.3.2 动态吸附量的测定

室温下, 茶多酚原料 (300 mg/mL) 上 LX-8 柱, 流速分别为 0.5 BV/h、1.0 BV/h、1.5 BV/h、2.0 BV/h。分部收集流出液, 检测各儿茶素浓度, 以 EGCG 浓度对流出液体积作动态吸附曲线图, 确定上样流速及动态上样量。

2.3.3 洗脱梯度及体积的确定

取茶多酚溶液, 1.5 BV/h 的流速上 LX-8 柱, 水洗后采用 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40% 的乙醇溶液各 600 mL(2.5 BV) 以 1.5 BV/h 的流速洗脱, 将各组分洗脱液浓缩干燥后测定其中各儿茶素含量, 计算各部收率。以各儿茶素含量对乙醇浓度作洗脱梯度曲线, 从而确定洗脱梯度及体积。

2.3.4 产品制备

根据确定的洗脱梯度, 取一定体积的茶多酚溶液, 上 LX-8 柱 ($\Phi 40 \text{ mm} \times 600 \text{ mm}$, $\Phi 30 \text{ mm} \times 500 \text{ mm}$), 吸附完毕后, 梯度洗脱。水洗后, 采用不同浓度乙醇洗脱液分别进行浓缩、真空干燥得到相应产品, 取不同成分样品 HPLC 分析其中儿茶素的浓度。分别计算其得率、回收率。

2.4 HP-20 树脂二次纯化

2.4.1 上样浓度的确定

取一定量 HP-20 树脂 (干重当量 5.0 g) 于锥形瓶中, 加入不同浓度 ($C_0 = 10.0, 15.0, 20.0, 25.0$

和 30.0 mg/mL) 的 LX-8 柱 25% 组分 (200 mL), 恒温 (298.15 K) 水浴振荡 4 h, 分析吸附后溶液中的各儿茶素含量, 计算吸附量, 确定上样浓度。

2.4.2 动态吸附量的测定

室温下, 以 LX-8 柱 25% 乙醇洗脱组分上 HP-20 柱 ($\Phi 30 \text{ mm} \times 500 \text{ mm}$, 柱体积为 210 mL), 流速分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 BV/h。分部收集流出液, 检测其中各儿茶素浓度, 以 EGCG 浓度对流出液体积作 HP-20 树脂动态吸附曲线图, 确定上样流速及动态上样量。

2.4.3 洗脱梯度及体积的确定

取 LX-8 柱 25% 组分, 1.5 BV/h 的流速上 HP-20 柱, 待吸附完毕后依次采用 5%、10%、15%、20%、40% 的乙醇溶液 550 mL(2.5 BV) 以 1.5 BV/h 的流速洗脱, 将各组分洗脱液浓缩干燥后测定其中各儿茶素的含量, 计算各部收率, 从而确定洗脱梯度及体积。

2.4.4 产品制备

根据确定的洗脱梯度, 以 LX-8 柱 40% 组分上 HP-20 柱, 进行梯度洗脱。将不同浓度乙醇洗脱液分别浓缩、真空干燥得到相应产品, 分析其中儿茶素的浓度。分别计算其得率、回收率。

3 结果与讨论

3.1 吸附树脂的筛选

合适的分离填料应能选择性吸附某一种或几种儿茶素单体, 以实现不同单体之间的分离。图 2 为不同树脂对几种儿茶素单体的吸附容量、吸附率及解吸率。LX-68、LX-5B、LX-8、XDA-1、ADS-21 和 PA 对儿茶素的吸附容量均高于其他几种, 但 LX-68、LX-5B、XDA-1 和 ADS-21 等对儿茶素的吸附率差别不大, 且各儿茶素单体在 ADS-21 树脂上的解吸率仅为 35% ~ 55%; 因此, 以上四种树脂是不适合用来选择分离儿茶素单体的。而 PA 和 LX-8 对酯化和非酯化形式的儿茶素均具区分效果, 以 LX-8 较好, 且较 PA 的吸附量高。LX-2000、ADS-5c、HP-20、AB-8、HPD-826、ADS-7、ADS-17 等对酯化形式儿茶素中的 EGCG 和 ECG 具较好的选择吸附效应。因此可先由 LX-8 进行儿茶素初步纯化, 再采用 LX-2000、ADS-5c、HP-20、AB-8、HPD-826、ADS-7、ADS-17 中的一种或几种进行二次纯化。

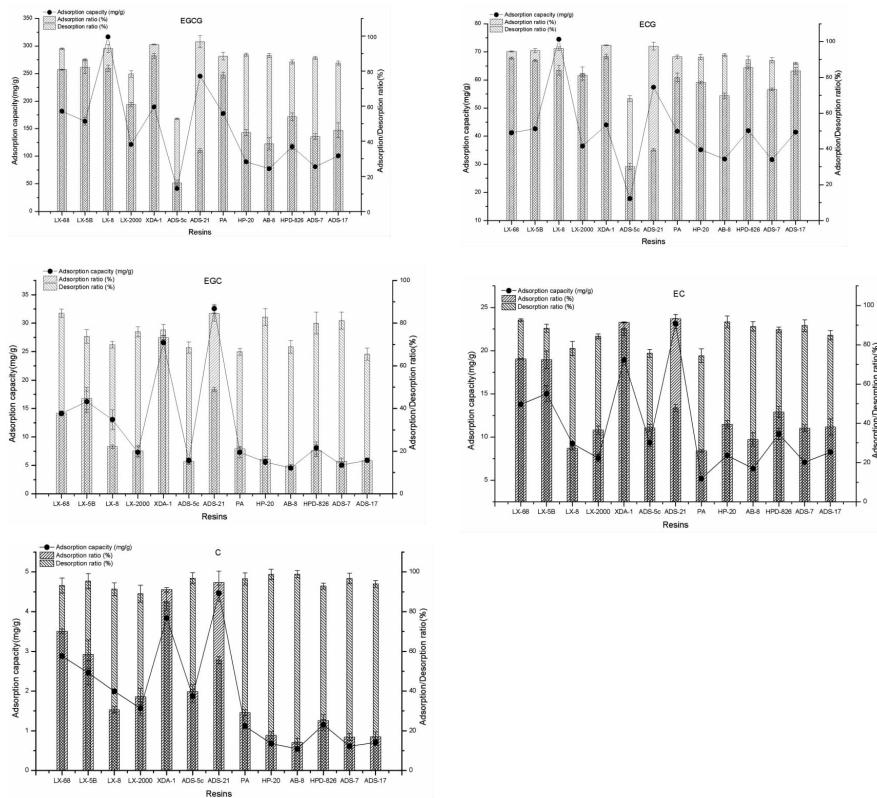


图 2 不同树脂对各儿茶素的吸附容量、吸附率及解吸率

Fig. 2 Adsorption capacity, adsorption ratio and desorption ratio of catechins on different resins

EGCG 对其他儿茶素单体的选择吸附因数在选用的几种树脂上有一定的区别(表 2)。其中, ADS-

7、AB-8、HP-20 等具较好的选择性,以 HP-20 稍高。因此,我们选择 LX-8 和 HP-20 进行后续实验。

表 2 EGCG 对其他几种儿茶素单体的选择吸附因数

Table 2 Selectivity coefficient of EGCG towards other catechin monomers

树脂 Resins	EGCG 对 ECG 的 选择吸附因数 $k_{EGCG/ECG}$	EGCG 对 EGC 的 选择吸附因数 $k_{EGCG/EGC}$	EGCG 对 EC 的 选择吸附因数 $k_{EGCG/EC}$	EGCG 对 C 的 选择吸附因数 $k_{EGCG/C}$
LX-68	0.2427	5.9207	1.5729	1.7888
LX-5B	0.2399	4.8577	1.7662	3.2577
LX-8	0.6883	25.7531	21.9064	19.6437
LX-2000	0.3610	5.4784	2.7120	2.6186
XDA-1	0.3954	4.7872	1.8688	1.8970
ADS-5c	0.4509	0.9679	0.3224	0.2949
ADS-21	0.7663	2.2419	2.1585	1.6654
PA	0.7071	25.4661	21.8971	18.6887
HP-20	0.2409	3.7675	1.2494	3.7832
AB-8	0.2718	3.7398	1.3474	3.8047
HPD-826	0.3584	5.9758	1.4837	4.0728
ADS-7	0.2528	3.6607	1.3839	4.1423
ADS-17	0.4668	2.6011	1.0385	3.1944

3.2 LX-8 树脂柱层析初步纯化

3.2.1 上样浓度的确定

随上样浓度增大,单位体积树脂柱上保留的EGCG量呈现先增加后趋于平稳(图3)。上样浓度为300.025 mg/mL,树脂柱上的EGCG保留量达到81.889 mg/mL;继续增大上样浓度,保留量未见明显增加。因此,选择上样浓度为300 mg/mL。

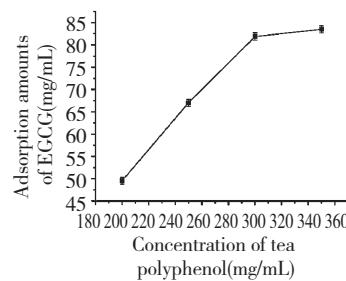


图3 不同上样浓度下EGCG在LX-8树脂柱上的保留量

Fig. 3 Adsorption amount of EGCG on LX-8 resin column with different sample concentration

3.2.2 动态吸附量的测定

不同上样流速下得到的吸附泄漏曲线如图4,上样流速为0.5、1.0、1.5 BV/h时得到的泄漏点上样体积分别为90、60、50 mL,而2.0 BV/h时得到的为15 mL。上样流速决定着泄漏点上样体积的大小,较小的流速可增加上样体积,但会增加操作时间,太快易导致过早泄漏;因此,选择上样流速为1.5 BV/h,上样体积为50 mL。

3.2.3 洗脱梯度及体积的确定

不同浓度乙醇梯度洗脱后各组分中儿茶素含量见图5。经5%、10%、15%乙醇梯度洗脱可将非酯化形式儿茶素完全解吸,之后酯化形式儿茶素开始

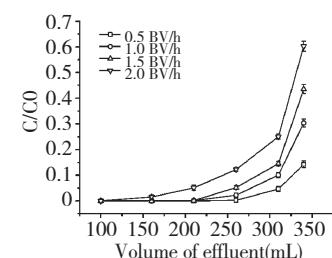


图4 EGCG在LX-8树脂柱上的吸附泄漏曲线

Fig. 4 Adsorption permeation curve of EGCG on LX-8 resin column

C₀,上样液中EGCG浓度(mg/mL);C,流出液中EGCG浓度(mg/mL)

C₀,EGCG concentration of the loading sample (mg/mL);C,EGCG concentration of the eluent (mg/mL)

解吸。25%的乙醇组分中EGCG含量最高,为65.85%,得率为15.23%。因此,采用洗脱梯度:10%乙醇洗脱6 BV,25%乙醇洗脱6 BV,80%乙醇洗脱4 BV。

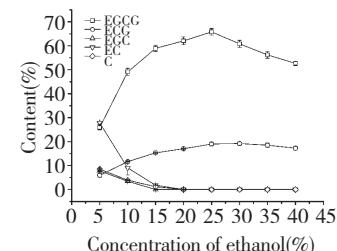


图5 不同浓度乙醇梯度洗脱组分中各儿茶素含量

Fig. 5 Catechins content of ethanol solution step-gradient elution

3.2.4 产品制备

按洗脱梯度进行梯度洗脱,得到不同浓度乙醇组分产品,其中各儿茶素含量、得率及收率见表3。

表3 不同浓度乙醇梯度洗脱制备产品

Table 3 Fraction of ethanol solution step-gradient elution

LX-8柱层析纯化 LX-8 column chromatography	体积 Volume (mL)	产品质量 Product mass (mg)	产品纯度 Product purity	收率 Recovery
一次	上样	110	27500	49.95%
	水洗	2400	-	-
	10%乙醇	3600	5860.7000	30.98%
	25%乙醇	3600	12459.4000	65.82%
	80%乙醇	2400	9178.2000	40.55%
二次	上样	32	8000.0000	65.82%
	40%	1250	6483.3000	73.06%
	80%	1000	1220.6000	54.32%

吸附后的 LX-8 柱经水洗除去未吸附组分后, 10% 乙醇洗脱 6 BV 可将吸附的非酯化形式的儿茶素解吸下来, 25% 的乙醇洗脱组分中 EGCG 的收率为 61.21%。初步实现了非酯化形式和酯化形式儿茶素的分离。但 25% 乙醇洗脱组分中仍存在部分色素, 会影响下一步产品纯化, 因此考虑将制得的 25% 洗脱组分再次经 LX-8 柱层析, 以进一步提高其中的 EGCG 纯度。采用 40% 乙醇洗脱 5 BV 可将柱子上吸附的绝大部分 EGCG 解吸下来, 产品中 EGCG 纯度得到了提高。

3.3 HP-20 树脂二次纯化

3.3.1 上样浓度的确定

静态吸附结果如图 6 所示, 随上样浓度增加, HP-20 对 EGCG 的吸附量呈现增加趋势, 浓度为 20 mg/mL 时达到饱和吸附, 吸附量不再增加。因此, 确定上样浓度为 20 mg/mL。

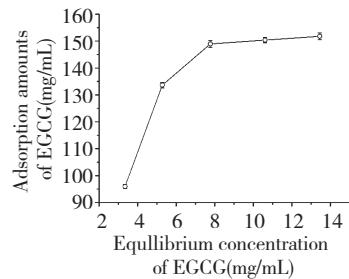


图 6 EGCG 在 LSA-10 树脂上的吸附等温线

Fig. 6 Static isotherm adsorption curves of EGCG on LSA-10

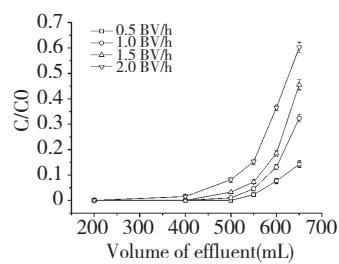


图 7 EGCG 在 HP-20 树脂柱上的吸附泄漏曲线

Fig. 7 Adsorption permeation curve of EGCG on HP-20 resin in column

C_0 , 上样液中 EGCG 浓度 (mg/mL); C , 流出液中 EGCG 浓度 (mg/mL)

C_0 , EGCG concentration of the loading sample (mg/mL); C , EGCG concentration of the eluent (mg/mL)

3.3.2 动态吸附量的确定

EGCG 在 HP-20 树脂柱上的吸附泄漏曲线如图 7 所示。上样流速为 0.5、1.0、1.5 BV/h 时得到的泄漏点上样体积为 400、350、300 mL, 而 2.0 BV/h

时为 200 mL。因此, 选择流速 1.5 BV/h, 上样 300 mL, 即 1.5 BV。

3.3.3 洗脱梯度及体积的确定

不同浓度乙醇洗脱组分中儿茶素含量如图 8。15% 乙醇组分中 EGCG 含量最高, 为 85.70%, 收率为 35.65%, 5% 洗脱组分呈现深红色, EGCG 含量仅为 69.73%。根据各组分中 EGCG 收率, 确定洗脱梯度为 5% 洗脱 3 BV 以除去色素, 15% 洗脱 6 BV 将吸附的 EGCG 解吸下来, 采用 80% 洗脱 3 BV 清洗柱子。

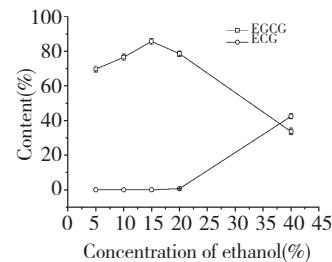


图 8 不同浓度乙醇洗脱组分中儿茶素含量

Fig. 8 Catechins content of ethanol solution step-gradient elution

3.3.4 产品制备

按洗脱梯度及体积对 HP-20 树脂柱洗脱, 得到的各组分中儿茶素含量、得率及收率如表 4 所示。

表 4 不同浓度乙醇梯度洗脱制备产品

Table 4 Fraction of ethanol solution step-gradient elution

酒精浓度 Concentration of ethanol	产品质量 Product mass (mg)	EGCG 含量 Content of EGCG	ECG 含量 Content of ECG
15%	3061.5000	93.16%	0.00%
80%	1250.2000	30.13%	34.27%
得率	15%	65.61%	0.00%
	80%	8.67%	9.86%
	总和	74.28%	9.86%
收率	15%	89.88%	0.00%
	80%	11.87%	101.63%
	总和	101.75%	101.63%

5% 乙醇洗脱 3 BV 可将吸附的色素类成分解吸下来, 15% 的乙醇洗脱可将大部分 EGCG 解吸下来, 实现了 EGCG 和 ECG 的分离。

经过 LX-8 树脂和 HP-20 树脂柱层析后, 由 EGCG 含量 50% 的茶多酚原料可得到 EGCG 纯度为 93.16% 的产品, 且总收率为 49.50%。相比文献^[8]报道中的总收率(72.08%)略低, 但文献报道中制

得 EGCG 产品纯度仅为 68.32%,远低于本研究制得的 EGCG 产品纯度。LX-8 柱层析时,柱体积为 600 mL 的柱子装填 LX-8(含水率 70.74%)为 336 g,上样茶多酚(EGCG 含量 50%)原料 27.5 g,单位体积树脂 EGCG 负载量为 139.86 mg/g 树脂干重当量。

HP-20 柱层析时,柱体积为 245 mL 的柱子装填 HP-20(含水率 71.37%)为 173 g,上样二次 LX-8 柱层析后 40% 组分 4.5 g,单位体积树脂 EGCG 上样量为 66.32 mg/g 树脂干重当量。

该工艺单位重量填料的 EGCG 负载量高于文献中报道的负载量(20~50 mg/g),且洗脱溶剂仅为乙醇/水,溶剂系统安全、无残留且可实现循环利用,其使用成本较甲醇、乙酸乙酯、氯仿等溶剂低。该工艺是一种环境友好型工艺,有良好的应用前景。

3.4 结构表征

微红色粉末;熔点 212~213 °C;易溶于甲醇;分子式 $C_{22}H_{18}O_{11}$;ESI-MS m/z :457 [M-H]⁻,169;红外光谱在 1693 cm⁻¹ 处强吸收为羧基伸缩振动峰;¹H NMR (CD₃OD, 500 MHz) δ:4.95 (1H, s, H-2), 5.52 (1H, s, H-3), 2.85 (2H, m, H-4a, H-4b), 5.99 (2H, s, H-6, H-8), 6.41 (2H, s, H-2', H-6'), 6.83 (2H, s, H-3'', 7'');¹³C NMR (CD₃OD, 125 MHz) δ: 78.8 (C-2), 70.2 (C-3), 27.0 (C-4), 99.7 (C-6), 96.8 (C-8), 96.2 (C-10), 157.4 (C-5, C-9), 157.9 (C-7), 131.1 (C-1'), 107.2 (C-2', C-6'), 146.9 (C-3', C-5'), 134.0 (C-4'), 167.9 (C-1''), 121.8 (C-2''), 110.5 (C-3'', C-7''), 146.5 (C-4'', C-6''), 140.0 (C-5'')^[2]。与文献^[2]对照产品鉴定为表没食子儿茶素-3-没食子酸酯(EGCG)。

4 结论

本研究以茶多酚(EGCG 含量 50%)为原料,根据儿茶素单体的结构特征,选用极性和低(非)极性树脂进行选择性吸附分离。考察树脂对儿茶素的吸附容量、吸附率、解析率及吸附选择因数,选择 LX-8 树脂初步纯化后采用 HP-20 树脂二次纯化。经 LX-8 两步柱层析,1.5 BV/h 流速洗脱,40% 乙醇洗脱 5

BV 可得到纯度为 73.06% 的 EGCG 产品。以 20 mg/mL 浓度的该产品上 HP-20 柱,1.5 BV/h 洗脱,经 5% 乙醇洗 3 BV,15% 乙醇洗 6 BV,80% 乙醇洗 3 BV 后,可制得纯度为 93.16%,总收率为 49.50% 的 EGCG 产品。该工艺单位重量填料的 EGCG 负载量高于文献中报道的负载量,仅采用乙醇/水洗脱溶剂体系,溶剂系统安全、无残留且可实现循环利用,其使用成本较甲醇、乙酸乙酯、氯仿等溶剂低。有良好的应用前景,属于环境友好型工艺。

参考文献

- Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82: 1807-1821.
- Kumar N, Savitri RM. Separation of catechin constituents from five tea cultivars using high-speed counter-current chromatography. *J Chromatogr A*, 2005, 1083:223-228.
- Ye JH, Wang LX, Chen H, et al. Preparation of tea catechins using polyamide. *J Biosci Bioeng*, 2011, 111:232-236.
- Lai SM, Gu JY, Huang BH, et al. Preparative separation and purification of epigallocatechin gallate from green tea extracts using a silica adsorbent containing beta-cyclodextrin. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 887-888: 112-121.
- Wang S, Liang Y, Zheng S. Separation of epigallocatechin gallate from tea polyphenol by simulated moving bed chromatography. *J Chromatogr A*, 2012, 1265:46-51.
- Wang CJ(王传金), Wei YY(魏运洋), Zhu GJ(朱广军). Preparation of high purity epigallocatechin gallate by polyamide packed chromatographic column separation. *Chin J Appl Chem(应用化学)*, 2007, 24:443-447.
- Ye JH, Jin J, Liang HL, et al. Using tea stalk lignocellulose as an adsorbent for separating decaffeinated tea catechins. *Biores Technol*, 2009, 100:622-628.
- Gong ZH(龚志华), Huang T(黄甜), Pang YL(庞月兰), et al. Separation and purification of EGCg in catechins by HP-20 macroporous resin. *J Hunan Agric Univ, Nat Sci(湖南农业大学学报,自科版)*, 2010, 36:87-91.