

文章编号:1001-6880(2014)Suppl-0176-08

鞣质提取、纯化的研究进展

刘淑萍, 卜晓晶*

河北联合大学化学工程学院, 唐山 063009

摘要:介绍了鞣质主要的提取纯化方法,详细总结了迄今为止这些方法在鞣质方面的应用,为进一步研究提供系统参考,提出色谱应用于提取纯化鞣质方面的观点。

关键词:鞣质;提取;纯化;高速逆流色谱

中图分类号:R284. 2

文献标识码:A

Study on Extraction and Purification of Tannin

LIU Shu-ping, BU Xiao-jing*

College of Chemical Engineering, Hebei United University, Tangshan Hebei 063009, China

Abstract: Introducing the major methods on extraction and purification of tannin, which are summarized in detail in the application of tannin so far. These methods provide references for further systematic study and present the perspectives on chromatography application in extraction and purification of tannin.

Key words: Tannin; Extraction; Purification; High-speed countercurrent chromatography

鞣质,又称单宁,是一类复杂的水溶性多元酚类化合物。20世纪70年代以来发现鞣质了越来越多的功能,抗炎抑菌、抗病毒、抗氧化以及抗肿瘤癌变^[1-3]等。近几年已将它作为药物用于治疗老年痴呆、心力衰竭、痢疾^[4-6]等,因此得到了广泛的关注,并开始对其结构、性质进行研究。我国作为中草药资源丰富的国家应该更好的对现有资源开发利用,为了得到专一的鞣质成分,本文对目前鞣质方面的提取纯化的成果进行了总结,为今后的研究发展提供可行的方法比较。

1 鞣质的提取方法

目前对于鞣质的提取方法越来越多,主要有回流提取法、渗漉法、微波辅助提取法、超声波辅助提取法和超临界流体萃取法(SFE)等,不同的提取方法适用于不同的生产操作。例如 U. D Chavan^[7] 比较不同溶剂对不同时期豌豆提取的影响,70%丙酮加1%HCl使得浓缩鞣质的提取量最大,近年来利用上述提取方法提取鞣质的归纳如下。

1.1 回流提取法

回流提取法由于操作简单而被研究报道。其提取步骤一般是将物料烘干后粉碎置于圆底烧瓶回流

一段时间后除杂检测。表1是从不同药用植物中提取鞣质的条件和结果。

通过表1可以看出,对鞣质回流提取的研究主要集中在提取液的改变,以及从不同原料中的提取,以期获得更多鞣质来源。在选择溶剂时,应该从鞣质的极性及不稳定性等方面考虑。丙酮、乙醇、水都是极性较强的溶剂,对提取出来的鞣质溶解度不会有影响。但就溶剂本身而言,丙酮的毒性较强,不适合在大型工业生产中作为溶剂使用。乙醇作为溶剂毒性很小并且经济易得,因此作为溶剂二者应为首选对象。

1.2 浸渍法

浸渍法是提取中最简单的方法。通常情况下浸渍法不用水作溶剂,易采用极性较大的溶剂,如醇类、酮等,由于溶剂的易挥发性和毒性,要求浸渍过程严格密闭。表2是采用浸渍法提取药用植物中鞣质的情况。

通过比较柿蒂和大黄的浸渍和回流提取法,发现回流提取均比浸渍法所得含量高。可能是由于浸渍法提取时溶剂静止不动,也没有加压加热的过程,使得细胞壁难以破裂;另一方面浸渍法提取的时间通常较长,造成鞣质成分的破坏;并且有效成分浸出不完全;因此新鲜易膨胀或价格低廉的药材尚可采用此方法浸提,对于贵重药材或高浓度制剂应尽量

表 1 回流法提取含有鞣质的药用植物

Table 1 Reflux method to extract the tannin from medicinal plant

物料种类 Materials	提取剂 Extraction solvent	提取温度 Extraction temperature(°C)	提取时间 Extraction time(min)	料液比 Solid/liquid(g/mL)	提取次数 Extraction times	提取率 Extraction rate(%)	含量 Content(%)
核桃青 ^[8]	水	-	60	1: 10	3	2.665(实为含量)	-
余甘子 ^[9]	水	-	60	1: 10	3	-	27.87
五倍子 ^[10]	水	50	540	1: 10	3	90.86	-
石榴皮 ^[11]	水	90	40	1: 40	1	-	17.30
鹿衔草 ^[12]	水	100	60	1: 8	3	7.63(实为含量)	-
栗蓬 ^[13]	30% 乙醇	80	120	1: 40	2	25.11	-
栗叶 ^[13]	30% 乙醇	40	60	1: 10	2	22.27	-
老鹳草 ^[14]	71% 乙醇	83	120	1: 18	3	13.55	-
三叶委陵菜 ^[15]	70% 乙醇	-	50	1: 12	2	-	22.13
羊蹄 ^[16]	70% 乙醇	-	90	1: 8	-	-	18.52
紫花苜宿 ^[17]	70% 乙醇	50	300	1: 50	-	0.215(实为含量)	-
款冬花 ^[18]	31% 丙酮	30	167	1: 12	2	14.97(实为含量)	-
甘肃沙枣 ^[19]	50% 丙酮	-	180	1: 10	-	-	3.16
锁阳 ^[20]	70% 丙酮	-	60	1: 10	-	-	7.55
柿蒂 ^[21]	70% 丙酮	40	90	1: 15	-	-	2.04
石榴皮 ^[22]	70% 丙酮	50	30	1: 10	2	-	24.54
大黄 ^[23]	30% 甲醇	-	30	1: 40	-	-	14.28
罗布麻叶 ^[24]	甲醇	65	180	1: 20	3	2.579	-
芦巴子 ^[25]	水	50	60	1: 65	-	-	0.53
	70% 乙醇	50	90	1: 50	-	-	1.22
	丙酮	50	60	1: 65	-	-	0.81
九牛造根 ^[26]	水	50	30	1: 25	-	-	3.773
	70% 乙醇	50	30	1: 25	-	-	2.503
	丙酮	50	30	1: 25	-	-	1.59

表 2 浸渍法提取含有鞣质的药用植物

Table 2 Impregnation method to extract the tannin from medicinal plant

物料种类 Materials	提取剂 Extraction solvent	提取温度 Extraction temperature(°C)	提取时间 Extraction time(min)	料液比 Solid/liquid(g/mL)	提取次数 Extraction times	提取率 Extraction rate(%)	含量 Content(%)
柿蒂 ^[21]	70% 丙酮	-	2	1: 10	2	-	1.55
金樱根 ^[27]	50% 乙醇	50	2	1: 20	-	4.239	-
石榴皮 ^[22]	50% 丙酮	-	24	1: 20	3	-	18.38
仙鹤草 ^[28]	甲醇	-	48	1: 3	2	50.00	-
大黄 ^[23]	30% 甲醇	-	12	1: 40	-	-	13.12
石榴皮 ^[29]	70% 丙酮	60	3	1: 20	-	80.33	26.43
菜籽壳 ^[30]	70% 乙醇	70	0.7	1: 6	3	97	-
蚕豆种皮 ^[31]	50% 乙醇	70	9	1: 100	-	-	0.196
新银合欢 ^[32]	50% 丙酮	50	1	1: 40	-	-	2.54

避免浸渍法,以免造成浪费。

1.3 渗漉法

渗漉法是将原料加入渗漉器中,不断添加自上而下溶剂穿过原料,造成浓度差,进而扩散的一种方法。陈斯玮^[33]用渗漉法提取地榆中的鞣质,最佳提取条件为地榆药材粉碎过1号筛,渗漉桶径高1:1,料液比1:6(g/mL),乙醇浓度70%,渗漉速度5mL/min·kg,在此条件下平均得膏率为30.48%,鞣质提取率为15.5%。

由于鞣质的热不稳定性,渗漉法选择在室温条件下进行避免了加热过程,没有相变发生,从而使有

效成分有了一定的安全性,但是渗漉法溶剂用量比较大操作过程繁琐,提取时间长,对药材的粒度要求高。

1.4 微波辅助提取法

细胞破壁是植物提取过程中的关键步骤,只有将细胞壁破坏有效成分才会溶出。微波作为近年来快速发展的一门新技术在实际生产中可起到安全节能的作用,已被用在多种天然产物的浸提中,有效提高提取率。表3中各药用植物采用微波法提取鞣质成分,如下表。

表3 微波辅助提取含有鞣质的药用植物

Table 3 Microwave-assisted method to extract the tannin from medicinal plant

物料种类 Materials	提取剂 Extraction solvent	提取功率 Extraction power(W)	提取时间 Extraction time(min)	料液比 Solid/liquid(g/mL)	提取次数 Extraction times	提取率 Extraction rate(%)	含量 Content(%)
和田石榴皮 ^[34]	70%丙酮	600	4	1:40	-	44.5(实为含量)	-
青柿子 ^[35]	无水乙醇	300	2	1:12	-	27.87(实为含量)	-
石榴皮 ^[36]	75%乙醇	500	30	1:7.5	-	27.63	-
油茶果壳 ^[37]	-	-	35	1:15	-	-	16.998
塔拉豆荚壳 ^[38]	水	400	20	1:50	2	61.019	-
五倍子 ^[39]	水	600	7	1:32	-	65.13	-

通常情况下,只有热稳定性的物质才适合微波提取,另一方面所选择的物料应具有良好的吸水性,显然微波方法对物料要求高,并且鞣质是热不稳定成分,因此采用微波提取的不多。

1.5 超声波辅助提取法

由于鞣质在高温条件下易破坏变性的特点,使

得传统的提取方法提取率低。超声波技术无需加热,跟渗漉法比较又具有操作简单的特点,可大大提高鞣质的提取率,因此被广泛使用。表4是通过超声波技术对药用植物中鞣质成分的提取条件及效果。

表4 超声波辅助提取含有鞣质的药用植物

Table 4 Ultrasonic-assisted extract the tannin from medicinal plant

物料种类 Materials	提取剂 Extraction solvent	提取温度 Extraction temperature(℃)	提取时间 Extraction time(min)	料液比 Solid/liquid(g/mL)	提取次数 Extraction times	提取率 Extraction rate(%)	含量 Content(%)
芡实种皮 ^[40]	水	-	20	1:50	-	-	3.62
石韦 ^[41]	10%乙醇	-	30	1:20	-	-	6.266
金樱根 ^[27]	30%乙醇	50	60	1:20	-	5.061	-
翻白草 ^[42]	50%乙醇	50	240	1:60	-	6.43(实为含量)	-
油茶蒲 ^[43]	50%乙醇	-	80	1:20	-	6.75(实为含量)	-
朱砂七 ^[44]	60%乙醇	80	120	1:40	2	2.00(实为含量)	-
地榆 ^[45]	70%乙醇	-	60	1:15	3	-	8.137
元宝枫果壳 ^[46]	30%丙酮	-	30	1:8	3	47.183(实为含量)	-
狗尾草 ^[47]	50%丙酮	50	30	1:10	2	-	0.465
榛子叶 ^[48]	60%丙酮	-	60	1:8	-	-	10.96

胡桃楸 ^[49]	62.5%丙酮	-	60	1:70	-	-	5.23
刺玫果 ^[50]	70%丙酮	-	60	1:8	-	-	2.467
核桃仁 ^[51]	70%丙酮	-	60	1:10	-	-	6.03
石榴皮 ^[22]	70%丙酮	-	90	1:15	2	-	20.94
新疆沙枣 ^[52]	70%丙酮	-	60	1:10	3	-	6.32
红景天 ^[53]	70%丙酮	-	15	1:10	-	-	5.17
酸枣根 ^[54]	70%丙酮	-	30	1:20	3	-	6.82
苦菜 ^[55]	70%丙酮	-	30	1:70	-	4.33(实为含量)	-
槟榔 ^[56]	80%丙酮	-	120	1:10	-	-	7.68
	水	50	10	1:25	-	-	4.375
九牛造根 ^[26]	70%乙醇	50	30	1:25	-	-	7.240
	丙酮	50	30	1:25	-	-	3.958

对金樱根鞣质的提取分别采用了浸提法和超声波提取,结果后者比前者提取率提高了16.24%;卜篠茜利用不同提取方法不同溶剂对九牛造中鞣质的提取,发现溶剂相同时,超声波提取都较回流提取的含量高,通过上述比较充分显示出超声波提取的优越性,提取时间短,省略了高温加热对鞣质的破坏,使得超声波提取的含量大大增加。石榴皮的提取分别采用浸渍法、回流提取、超声波提取进行比较,明显看出浸渍法提取时间长、提取率低的缺点,而回流法较超声波提取的含量略高,但由于条件的不一致无法进行比较。Estrella Aspe^[46]比较了传统的回流提取与微波辅助提取、超声波辅助提取法提取松果中的鞣质,可以看出超声波在提取总量上的优越性。

1.6 超临界流体萃取法(SFE)

姜萍^[58]研究了从五倍子原料中超临界CO₂萃取鞣质的方法,通过研究各因素对萃取的影响,最后得到优选的超临界CO₂萃取条件为:萃取温度44

℃,压力25 MPa,夹带剂为乙酸乙酯,萃取时间为120 min,此时萃取效果最好,得率为57.83%。SFE产率高,CO₂价格低,来源广泛无毒,但也存在相应的问题,例如设备昂贵,处理成本高等,设备的清洁和维护也有困难。

2 鞣质的纯化

鞣质易氧化、分解、聚合的特性使得鞣质在纯化时存在得率低、成本高、生产周期长等问题;鞣质与酮类、蒽醌类的相似结构使得国内外学者在提高纯度的问题上展开了研究。本文对鞣质的纯化技术的研究进展进行了综述。

2.1 大孔树脂吸附法

大孔吸附树脂是有较好吸附性的有机聚合物吸附剂的总称,是通过结构的极性和非极性来达到吸附作用的。最早时期便应用在了医药方面,现已经在中草药分离纯化中广泛使用。

表4 大孔树脂纯化不同药用植物中的鞣质

Table 4 Purifying the tannin in different medicinal plants with macroporous resin

物料种类 Materials	树脂类型 The type of resin	ω(mg/mL)	v _{上样} BV/h	上样量 Sample volumeBV	洗脱剂 Eluent	V _{洗脱} BV	纯度 purity (%)	纯度提高 Increase of purity (%)
五倍子 ^[59]	NKA-2	5	1	6	80%乙醇	4	76.97	33.27
地榆 ^[60]	HPD-400	4.54	4	4	70%乙醇	3	68.52	52.19
石榴皮 ^[61]	HPD-400	4.34	2	5	70%乙醇	2	60.49	46.65
槟榔 ^[62]	HPD-826	4.30	2	3.5	70%乙醇	3	63.34	60.10
白蜡种子 ^[63]	NKA-9	3	1	7	60%乙醇	-	39.97	53.14
莲藕藕节 ^[64]	H-103	1.12	4	-	70%乙醇	-	53	-
红景天 ^[65]	AB-8	3	2	-	50%乙醇	4	71.08	-
薯莨 ^[66]	AB-8	1	0.5	3	40%乙醇	1.5	64.39	-

沙枣 ^[67]	AB-8	4	2	6	70% 乙醇	3		-
叶下珠 ^[68]	HPD-100	3	1	7	70% 乙醇	2	58.5	-
木瓜 ^[69]	HPD-100	-	2	6	75% 乙醇	1.6	62.40	-
固公果根 ^[70]	HP-20	5.7	2	-	40% 乙醇	6	67.3	66.12
葡萄梗 ^[71]	1 [#]	5.67	2	-	60% 乙醇	-	96	-

可以看出,纯化不同来源的鞣质所使用大孔树脂亦不相同。大孔树脂的种类繁多,在选择时可以先根据物质的极性大小进行初步的筛选。大孔树脂作为一种有效的分离纯化手段,在鞣质的分离、富集上得到了广泛运用。

2.2 明胶沉淀法

明胶沉淀法中,用明胶分批加入到样品溶液中,直到沉淀不再产生,沉淀产生的原因可能是由于鞣质与带电荷的明胶相互作用,从而形成可溶性的蛋白质明胶结合物相互聚集沉淀下来。彭诚^[45]用过量的1%热明胶溶液滴加直至沉淀不再产生,过滤之后将沉淀浸泡在丙酮溶液中,减压过滤得总鞣质提取物。郭建鹏^[72]将提取液滴加热明胶内并不断搅拌,直至沉淀完全静置后弃去上清液,沉淀物在50℃丙酮水溶液中溶解,滤去明胶。经实验证明丙酮回流2个小时使鞣质和明胶分离更彻底。

2.3 乙酸乙酯萃取法

乙酸乙酯萃取法是利用相似相溶原理,将提取物溶解,减压过滤,滤液用乙酸乙酯萃取,回收溶剂的总鞣质提取物,乙酸乙酯萃取法得到鞣质含量高。乙酸乙酯沸点低,易回收。帅益武^[73]以2:1的乙酸乙酯萃取,45℃水浴震荡30 min,静置分层,得到较高纯度的鞣质。

彭诚^[45]对上述方法作比较,表明先用明胶沉淀法纯化,再选用乙酸乙酯萃取结果最佳。

2.4 膜技术纯化

膜是具有选择性分离功能的材料,利用膜实现不同组分的分离、纯化。膜的最大优点在于可以利用分子的大小在范围内进行分离。必要时可以根据不同膜的连续使用达到纯化的目的。韩实^[74]以孔径为0.05 μm的陶瓷膜结合分子量为3000的聚砜中空纤维膜,使得山核桃蒲鞣质的纯化达到80.30%。由于膜的无污染使得在现代生活中应用广泛,利用膜制得可直接饮用的过滤水,实现人体内的透析等,以此来实现药物成分的分离纯化更是值得关注的。

2.5 金属盐沉淀分离

帅益武^[73]采用Ca²⁺沉淀法,缓慢滴加1% CaCl₂沉淀完全,离心取沉淀,加HCl溶解沉淀,透析干燥即得鞣质粉末。另外可尝试醋酸铅、碳酸铅、碳酸铜等金属化合物,有研究报道,碳酸铜和碳酸铅不会使鞣质发生化学变化。

3 展望

近年来,越来越多的国家致力于中药的提取,而鞣质作为药效及实用价值极高的成分被广泛关注。但由于鞣质的易氧化性及不稳定性,使得在提取及纯化方面存在较大困难,找到一种适用于鞣质提取纯化的方法是很有必要的,高速逆流色谱作为近几年来快速发展的一种技术,在天然产物应用方面是一般提取分离技术无法比拟的。高速逆流色谱将产品提取出来同时也是分离的过程,选择性高,使得产品纯度高,时间短,不会与空气接触,从鞣质的性质出发,高速逆流色谱对鞣质是非常有利的。在今后的研究工作中,可以考虑使用色谱技术实现。

参考文献

- James F Harbertson, et al. Impact of exogenous tannin additions on wine chemistry and wine sensory character. *Food Chemistry*, 2012, 131:999-1008.
- JS Amaral, et al. Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaces. *Food Chemistry*, 2004, 88:373-379.
- Sharif Tanveer, et al. Red wine polyphenols cause growth inhibition and apoptosis in acute lymphoblastic cells by inducing a redox-sensitive up-regulation of p73 and down-regulation of uhrf1. *European Journal of Cancer*, 2010, 46:983.
- Deng SM(邓世明), et al. The total tannin extract from *rhodiola* and its application in preparation of drugs to treat alzheimer's disease. CN1454599A, 2003-11-12.
- Yao XS(姚新生), et al. The method of exteact preparation condensed tannin from *Mao Duzhong* and its application. CN10197224A, 2011-02-16.
- Zhang YQ(张艳秋), et al. Research the *casuarinas* tannin

- antibacterial anti-inflammatory pharmacodynamics, 2008.
- 7 U. D Chavan, F Shahidi, M Naeckz. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*) as affected by different solvents. *Food Chemistry*, 2001, 75:509-512.
 - 8 Jiang JH(姜金慧), et al. Optimization of extraction technology of total tannin *Walnut Green Husk*. *Chin J Exp Trad Med Formulae*, 2013, 19(2):14-16.
 - 9 Liu Y(刘圆), et al. Selecting technology for water extraction of *fructus PH yllanthi* compound with orthogonal design. *J Southwest Agric Univ(Natural Science)*, 2004, 26:441-444.
 - 10 Du RL(杜瑞莲), Yang ZL(杨中林). Extraction of tannin from *Galla Chinensis*. *Chin Trad Patent Med*, 2008, 30:839-841.
 - 11 Guo XP(郭晓萍), et al. Extraction of tannin from *Pomegranate Husk* and the antibacterial activity *in vitro*. *Jiangsu Agric Sci*, 2011, 39:403-405.
 - 12 Cai R(蔡蕊), et al. Study on technology for extracting total tannin from *Pyrolae* by orthogonal test. *J Shanxi Med univ*, 2010, 41:955-958.
 - 13 Zhang XQ(张小琴), et al. *Chinese chestnut* tannin extract and its function. *Axta Horticulturae Sinica*, 2011, 38:2494.
 - 14 Li JJ(李京杰), et al. Study on technology for extracting total tannin from *Geranium*. *Farm Machinery*, 2012, 5:111-114.
 - 15 Liu XG(刘新国), et al. Study on reflux extraction technology for total tannin from *Potentilla Freyniana*. *Hubei J Trad Chin Med*, 2007, 29(6):58-59.
 - 16 Zhao SX(赵素霞), et al. Study of extraction process of total tannin of *Rumex Japonicus Houtt L* by orthogonal test. *J Med Formn*, 2009, 30(2):10-11.
 - 17 Zhang ZY(张纵圆), et al. Study on the optimum extraction and antioxidant activity of tannin acid in *Alfalfa*. *Sci Tech Food Ind*, 2011, (1):198-200.
 - 18 Wen N(温娜), et al. Optimization of extraction technique of tannins from *Flos Farfarae* by response surface methodology. *Sci Tech Food Ind*, 2012, (16):292-298.
 - 19 Qin L(秦亮), Guo YS(郭延生), Hu JJ(胡俊杰). Selection on extraction of total tannin from *Gansu Elaeagnus angustifolia* with orthogonal design. *Hubei Agric Sci*, 2010, 49:1447-1449.
 - 20 Gao JP(高建萍), et al. Study of extraction process of total tannin of *Cynomorium Songaricum Rupr* by orthogonal test. *J Inner Mongolia Med Coll*, 2011, 33:34-36.
 - 21 Zhou BH(周本宏), et al. Optimization of extracting of tannins in *Persimmon Calyx* by orthogonal design. *Chinese Pharmacist*, 2010, 13:1601-1603.
 - 22 Shen HX(沈红霞), Zhou BH(周本宏). Optimization of extracting of tannins in Pomegranate Husk by orthogonal test. *Modern Chin Med*, 2008, 10(4):21-23.
 - 23 Dai WS(戴万生), et al. Content determination of tannins in *Rheum officinale* by casein method. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2003, 14:324-325.
 - 24 Fan ZZ(樊珍珍), et al. Optimizaition of extraction technoloy for total tannin from leaves *Apocynum Venetum* by Orthogonal test. *Chin J Exp Trad Med Form*, 2013, 19(7):13-16.
 - 25 Wang SH(王生海), et al. Extraction technique research of optimize total tannin content of *semen trigonellae* through orthogonal test. *J Inner Mongolia Med Coll*, 2011, 33:375-378.
 - 26 Bu XQ(卜筱茜), et al. Studies on the methods of extract and determination of total tannins and allic acids of the root of *Euphorbia Hylonomia*. *J Chin Med Mater*, 2007, 30:1398-1401.
 - 27 Zou TB(邹堂斌), et al. Optimization of the extraction technology of tannin from *Cherokee Rose* by orthogonal experiment. *J Anhui Agric Sci*, 2010, 38:14953-14954.
 - 28 Zhao LF(赵立芳), Zhang XL(张新利). Extracting tannin from *Herba Agrimoniae*. *J Baoji Coll Arts Sci, Nat Sci*, 2000, 20:196-197.
 - 29 Ren P(任平), et al. Study of extraction tannin from *Pomegranate Husk*. *Sci Tech Food Ind*, 2007, 28:149-150, 153.
 - 30 Qian CH(钱彩虹). Extraction and separation tannin from *Rapeseed Shell* and study the structure and properties. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2004.
 - 31 Hou WW(侯万伟), et al. Optimization of extracting techniques of tannin acid from *Broad Bean*. *Hubei Agric Sci*, 2011, 50:1653-1655.
 - 32 Li M(李茂), et al. Optimization of extracting techniques of tannin acid from *Leucaena leucocephala*. *Pratacultural Science*, 2012, 29:301-305.
 - 33 Chen SW(陈斯玮). Optimization of percolation extraction conditions of *Sanguisorba* tannins. *J Anhui Agric Sci*, 2012, 40:8159-8160.
 - 34 Wang W(王伟), et al. The microwave assisted extraction and antimicrobial activity for the tannin from *Hetian Pomegranate* seeds-skin. *The Food Industry*, 2012, 33(9):40-43.
 - 35 Yang P(杨鹏), et al. Study on the microwave-assisted extraction of tannin from *Persimmon*. *Chemical Technology Market*, 2010, 33(12):32-34.
 - 36 Zhai WJ(翟文俊), Yue H(岳红). Study of extraction tannin from the skin of *Pomegranate* with micro-assisfed. *Food Sci Tech*, 2009, 34:203-205.
 - 37 Lin MT(林明涛), et al. *Camellia* seed shells tannins components and their biological activity, 2012.
 - 38 Bao SL(包松莲), et al. Optimization of microwave-assisted extraction of tannin acid from *Tara pod shell*. *Amino Acids& Biotic Resources*, 2010, 32(2):38-40.
 - 39 Qin Q(秦清), et al. Optimization of microwave-assisted ex-

- traction of tannin acid from Chinese gallnut using response surface method. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2012, 32(6):84-88.
- 40 Wang HC(王和才). Extraction and determination of total tannin from the Euryale seed coat. *Sci Tech Food Ind*, 2009, 8:224-226.
- 41 Wang ZJ(王自军), et al. Study of ethanol extraction process for total flavonoids and tannin containment of *flotium pyrrosiae* by orthogonal design. *Lishizhen Med Materia Med Res*, 2007, 18:463-464.
- 42 Chen YT(陈毅挺), Lin MF(林明峰), Zheng SQ(郑水钦). Supersonic extraction of tanning in *Potentilla Discolor*. *J Minjiang Univ*, 2010, 31:107-110.
- 43 Dai TT(戴甜甜). Studies on hypoglycemic effect of extract from fruit shell of *Camellia Oleifera* Abel. Zhejiang:Zhejiang University, phD. 2011.
- 44 Wang XM(王晓梅), Zhao WX(赵卫星), Wang YS(王永参). Study on optimizing the ultrasonic extraction of tannins in *Vermilion Sever*. *Chemistry & Bioengineering*, 2011, 28 (5):34-36.
- 45 Peng C(彭诚). Studies on extraction, purification and activity of total tannins in *Sanguisorba Officinalis L.*. Jilin:Jilin University College of Pharmacy, phD. 2012.
- 46 Chen DQ(陈大全), et al. Study on optimizing the extraction of tannins in *Acer Truncatum* shells by orthogonal experiment. *Chin Trad Herb Drugs*, 2006, 37:1816-1817.
- 47 Zhang AW(张爱武), et al. Extraction and determination of total tannin from *Setaria Viridis* (L.) Beauv. ripe fruits. *J Inner Mongolia Med Coll*, 2012, 34:26-29.
- 48 Wang JD(王家栋), Wang XB(王兴博). Study on optimizing the ultrasonic extraction of tannins in he leaves of *Corylus Heterophylla* by orthogonal design. *Heilongjiang Med J*, 2009, 22:313-314.
- 49 Yu WJ(俞文婕), et al. Optimization of the extraction technology of total tannins from *Juglans Mandshurica*. *Liaoning: Liaoning Univ Chin Med Coll Pharm*, 2012, 416-423.
- 50 Qi D(齐典), et al. Study on optimizing the ultrasonic extraction of tannins in *Rose Davurica Pall*. By orthogonal design. *Heilongjiang Med J*, 2007, 20:31-32.
- 51 Yu XB(于兴博), Jin ZX(金哲雄). Study on optimizing the ultrasonic extraction of total tannins in the seed of *J. Regia* by orthogonal design. *Heilongjiang Med J*, 2009, 22:46-47.
- 52 Wusiman · Aziguli(阿孜古力 · 吾司曼), et al. Optimization of extraction process of *elaeagnus angustifolia* tannin in Xinjiang by orthogonal experiment. *J Med & Pharm Chin Minorities*, 2009, 2:56-59.
- 53 Gong GM(龚刚明), He XJ(何晓静). Optimization of Ultrasonic extraction process of tannins from *Rhodiola Crenulata H. ohba*. *J Anhui Agric Sci*, 2011, 39:3267-3268.
- 54 Li ST(李松涛), et al. Determination of the tannins in *Ziziphus jujube* and its extraction technology. *Journal of Anhui Agriculture Science*, 2012, 40:16107-16108.
- 55 Li N(李娜), et al. Extraction technology of tannin from *Patrinia Villosa* by supersonic. *Technical Acoustics*, 2011, 30: 141-143.
- 56 Liu MQ(刘明庆), Wang Z(王智). Optimization of extraction process for tannin from *Areca* by orthogonal design. *China Pharm*, 2012, 15:687-689.
- 57 Estrella Aspe, Katherina Fernandez. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. *Ind Crops Prod*, 2011, 34:838-844.
- 58 Jiang P(姜萍), et al. Supercritical CO₂ extraction of tannins. *J Chem Ind Forest Prod*, 2005.
- 59 Gao Y(高燕), et al. Separation and purification of tannin from *Galla chinensis* by macroporous resin adsorption. *Food Science*, 2012, 33(20):74-79.
- 60 Zhou BH(周本宏), et al. Separation and purification pf tannins from *Sanguisorba* by macroporous adsorbent resin. *China Pharmacists*, 2011, 14:685-688.
- 61 Zhou BH(周本宏), et al. Optimization of the process conditions of enrichment and purification of tannins in *Pomegranate peels* with macroporous adsorbent resin. *Chin J Hosp Pharm*, 2012, 32:1859-1863.
- 62 Zhou BH(周本宏), et al. Purification of the total tannins from *Areca Catechu* by macroporous adsorbed resin. *J Guangdong Pharm Univ*, 2012, 28:510-514.
- 63 Niu YP(牛雅萍), et al. Study on Adsorption and desorption properties of macroporous resin on ash seeds tannin. *Ion Exchange and Adsorption*, 2011, 27:468-473.
- 64 Li Y(李泱). Studies on the technique of extract and purification and its anti-oxidant ability of tannin from *nodes* of lotus root. Wuhan:Huazhong Agricultural University, 2009.
- 65 Meng T(孟甜). Study on the extraction and purification of total tannins in *Rhodiola* and its quality. Chengdu:Xihua University, 2010.
- 66 Wang XP(王小平), et al. Optimization of purification technology of tannin in *Dioscorea Cirrhosa*. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2013, 19 (7): 24-27.
- 67 Sun P(孙萍), et al. Study on adsorption and desorption properties of macroporous resin on *Elaeagnus angustifolia* tannin. *J Anhui Agric Sci*, 2010, 38:6912-6913.