

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2018.05.009

文章编号:2095-6002(2018)05-0056-05

引用格式:董海胜,臧鹏,刁光伟,等.表没食子儿茶素没食子酸酯纯化研究[J].食品科学技术学报,2018,36(5):56-60.



DONG Haisheng, ZANG Peng, DIAO Guangwei, et al. Research on purification of epigallocatechin gallate[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018,36(5):56-60.

## 表没食子儿茶素没食子酸酯纯化研究

董海胜<sup>1</sup>, 臧鹏<sup>1,\*</sup>, 刁光伟<sup>2</sup>, 赵新林<sup>1</sup>, 赵伟<sup>1</sup>

(1. 中国航天员科研训练中心 航天营养与食品工程重点实验室, 北京 100094;

2. 中国人民解放军第261医院, 北京 300384)

**摘要:**表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)具有抗癌及抑菌等多种生理活性,是潜在航天功能食品功能因子成分。采用液相色谱的方法测定EGCG含量,应用ADS-7、ADS-8、ADS-17、ADS-21、D101、NKA-II、NKA-9型7种大孔吸附树脂对EGCG进行吸附和解吸纯化实验研究。ADS-7和NKA-II型2种大孔吸附树脂对EGCG有良好的吸附性能和解吸性能,解吸液分别为体积分数60%和70%的乙醇溶液,解吸液体积分别为6BV和5BV,解吸量分别为168.15 mg和156.45 mg,解吸率分别为88%和92%;应用NKA-II树脂得到的富集物中EGCG的质量分数由44.2%提高到67.9%,得率为90%。对于EGCG,不同型号大孔树脂的吸附和解吸性能存在差异,需要进行筛选和工艺优化;大孔树脂可以实现EGCG的分离纯化,在工业生产应用方面具有潜力。

**关键词:**表没食子儿茶素没食子酸酯;功能食品;分离纯化;生理活性;大孔树脂

**中图分类号:** TS201.4; R284.2; O647.3

**文献标志码:** A

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG),是茶多酚中生物活性研究最多的单体成分。多项医学及生物学研究表明EGCG具有显著的抗突变、抗氧化、抗辐射等多种生理活性<sup>[1-5]</sup>,其抑菌性能优于儿茶素的其他单体,现已作为潜在的天然药物被广泛研究<sup>[6-9]</sup>。

微重力、噪音及狭小密闭空间等航天特因环境使机体处于氧化应激状态,带来多方面的生理学问题<sup>[10]</sup>。植物非营养素对人体有健康促进作用,我国新版膳食指南中也新补充了植物非营养素,如天然花青素、叶黄素及茶多酚等。EGCG由于其较强的抗氧化性和独特的保健功能可为研制航天食品所用。现有报道的制备高纯度的EGCG工艺多停留在实验室阶段,如半制备液相色谱、溶剂萃取法、模拟移动床色谱法等,操作步骤相对复

杂,工业大规模生产相对困难<sup>[10-15]</sup>,亦有文献报道了大孔树脂纯化EGCG的工艺,研究结果验证了大孔树脂纯化EGCG的优势,但研究仅局限于特定型号的大孔树脂<sup>[16-17]</sup>。本研究目的就是建立一种从茶多酚中分离纯化EGCG的方法,拟采用新型大孔吸附树脂对茶多酚中的EGCG进行富集纯化,为将其应用于航天功能食品研制提供技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

EGCG标准品(纯度为99%),美国Sigma公司;ADS-7、ADS-8、ADS-17、ADS-21、D101、NKA-II、NKA-9型大孔吸附树脂(见表1),天津南开合成科技有限公司;甲醇、乙酸、超纯水(色谱纯),Fisher

收稿日期:2018-03-30

基金项目:国家重点研发计划专项项目(2017YFD0400501)。

作者简介:董海胜,男,助理研究员,主要从事航天营养与食品工程方面的研究;

\*臧鹏,男,助理研究员,主要从事航天营养与食品工程方面的研究,通信作者。

Scientific 公司;乙醇、丙酮、HCl、NaOH(分析纯),北京化工厂;蒸馏水为自制。

表1 7种大孔吸附树脂的性能

Tab.1 Performance of seven macroporous adsorption resins

树脂型号	极性	比表面积/( $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ )	$d/\text{nm}$	孔隙率/%
ADS-7	极性	$\geq 100$	25 ~ 30	40 ~ 45
ADS-8	非极性	450 ~ 500	12 ~ 16	45 ~ 50
ADS-17	中极性	90 ~ 150	25 ~ 30	40 ~ 50
ADS-21	极性	$\geq 30$	25 ~ 30	60 ~ 65
D101	弱极性	600 ~ 700	20 ~ 22	36 ~ 55
NKA-II	非极性	160 ~ 200	14.5 ~ 15.5	43 ~ 47
NKA-9	非极性	250 ~ 290	15.5 ~ 16.5	46 ~ 50

## 1.2 实验仪器

Waters 2695 Alliance 型高效液相色谱仪、Waters 2998 型检测器,美国 Waters 科技公司;PHS-3B 型酸度计,上海精密科学仪器有限公司;BSA124S 型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;DSHZ-300 型恒温水浴振荡器,江苏太仓市实验设备厂。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 大孔吸附树脂预处理方法

参考各型号大孔树脂使用说明书进行。

### 1.3.2 EGCG 含量测定

按参考文献[18]方法进行,采用 HPLC 法。

### 1.3.3 茶多酚中 EGCG 的富集

#### 1.3.3.1 静态吸附实验

称取 7 种大孔树脂各 10 g 于 250 mL 三角瓶中,按树脂预处理方法处理后各加入 50 mL 蒸馏水备用。向各树脂中加入 50 mL 茶多酚溶液,置于恒温水浴振荡器中,分别于 10、15、25、35、45 min 时取上清液,过滤(0.45  $\mu\text{m}$ ),用 HPLC 测定上清液中 EGCG 的质量浓度并记录上清液和树脂的颜色,计算大孔树脂对 EGCG 的吸附率  $Q_1$ ,公式如式(1):

$$Q_1 = \frac{C_1 - C_2}{C_1} \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中: $C_1$ 为上清水相中 EGCG 起始质量浓度,mg/mL; $C_2$ 为水相中 EGCG 平衡质量浓度,mg/mL。

#### 1.3.3.2 静态解吸实验

1)称取静态吸附性能好(通过 1.3.3.1 实验确定)的大孔吸附树脂各 10 g 于 250 mL 三角瓶中,按树脂预处理方法处理树脂后各加入 50 mL 蒸馏水备用,每种树脂分别进行 6 个处理。

2)向每种树脂的每个处理中分别加入 30 mL 茶多酚溶液(其中 EGCG 质量浓度为 2.18 mg/mL),将

三角瓶置于恒温水浴振荡器中吸附 45 min。

3)取上清液,过滤,HPLC 法测定其 EGCG 含量。弃掉上清液,用蒸馏水洗至 EGCG 含量检测为 0。

4)分别加 100 mL 体积分数 30%、40%、50%、60%、70% 和 80% 乙醇,置于恒温水浴振荡器中洗脱,时间为 35 min。

5)取上清液,过滤,HPLC 法测定其 EGCG 含量,大孔树脂解吸率  $Q_2$  计算公式见式(2):

$$Q_2 = \frac{M_2 \times 100}{M_0 \times 30 - M_1 \times 80} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中: $M_0$ 为茶多酚中 EGCG 的质量浓度,mg/mL; $M_1$ 为吸附后上清液 EGCG 的质量浓度,mg/mL; $M_2$ 为解吸后上清液 EGCG 的质量浓度,mg/mL。

#### 1.3.3.3 动态吸附及解吸实验

取 1.3.3.2 中选择的树脂 10 g,按照预处理方法处理树脂,其湿体积为 10 mL。将同一批茶多酚溶液以 1 BV/h 的速率通过吸附柱。待树脂吸附饱和后,用少量蒸馏水置换出树脂间夹带的茶多酚溶液,然后用 1.3.3.2 选择的解吸液解吸 EGCG。每 20 mL 收集 1 次解吸液,测定 EGCG 含量并确定解吸液体积。

## 2 结果与讨论

### 2.1 静态动力学吸附曲线

不同类型的树脂对 EGCG 的吸附率如图 1。

由图 1 可知,在 0 ~ 12 min 的吸附时间内,各大孔吸附树脂对 EGCG 的吸附率呈线性关系,随着吸附时间的延长其吸附率增大;而从 12 ~ 35 min 的吸附时间内,不同类型的大孔吸附树脂则表现出不同的吸附能力。其中 ADS-7、ADS-21 和 NKA-II 型

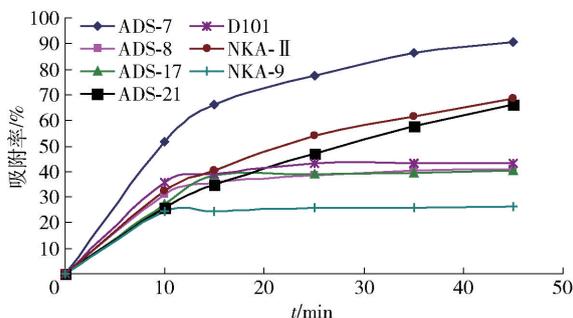


图1 不同类型的大孔吸附树脂对EGCG的吸附率

Fig. 1 Adsorption rate of different resins on EGCG

表现出较强的EGCG吸附能力,吸附能力由大到小依次为ADS-7、NKA-II、ADS-21型,而ADS-8、ADS-17、D101和NKA-9型的吸附率随着时间延长变化不明显,其中以NKA-9型的吸附能力最弱,35 min的EGCG吸附率为26.2%。因此选择ADS-7、ADS-21和NKA-II型大孔吸附树脂进一步研究其静态解吸情况。

## 2.2 静态动力学解吸曲线

ADS-7、ADS-21和NKA-II型大孔吸附树脂解吸率见图2。

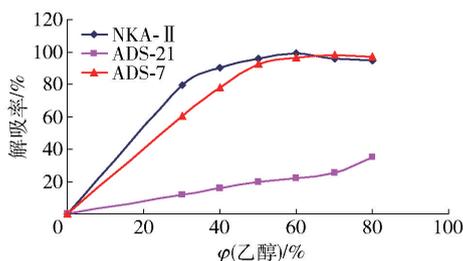


图2 不同类型的大孔吸附树脂和解吸液对EGCG的解吸率

Fig. 2 Desorption rate of EGCG by different types of macroporous resin and desorption solution

由图2可知,随着乙醇体积分数的提高,EGCG的解吸率呈上升趋势,尤其以NKA-II和ADS-7型最为明显,而ADS-21型的解吸率不高。乙醇体积分数为80%时,ADS-21型解吸率达到最大(34.9%);NKA-II和ADS-7型的解吸率则分别在乙醇体积分数为60%和70%时达到最大,为98.9%和97.9%。表明不同体积分数的乙醇溶液对EGCG在NKA-II和ADS-7型2种大孔吸附树脂上有较好的解吸作用,而乙醇溶液对EGCG在ADS-21型上的解吸能力较弱。

## 2.3 动态吸附及解吸曲线

精密称取茶多酚粗提取物4.92 g于1 000 mL容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,其质量浓度为4.92

mg/mL,经测定其EGCG浓度为2.18 mg/mL。选择60%乙醇溶液为NKA-II型大孔吸附树脂的解吸液,70%乙醇溶液为ADS-7型大孔吸附树脂的解吸液,考察这2种树脂的EGCG动态解吸能力,动态吸附曲线见图3。

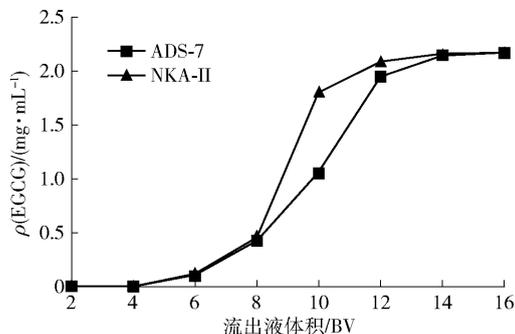


图3 两种树脂的动态吸附曲线

Fig. 3 Dynamic adsorption curves of two resins

由图3可知,随着流出液的增多,流出液中的EGCG含量呈上升趋势,即EGCG的泄漏量越来越多,说明大孔吸附树脂的吸附速率越来越低。在12 BV和10 BV时,ADS-7和NKA-II型大孔吸附树脂流出液中EGCG的浓度出现一个明显的拐点,表明此时树脂达到最大吸附量,因此确定2种树脂的优化上样量为120 mL和100 mL,而此时2种树脂分别吸附了190.6 mg和170.2 mg EGCG。

分别用60%和70%的乙醇溶液作为ADS-7和NKA-II型大孔吸附树脂的解吸液,分别对其吸附的EGCG进行解吸,出口端每10 mL收集一次流出液并测定其EGCG含量,结果见图4。

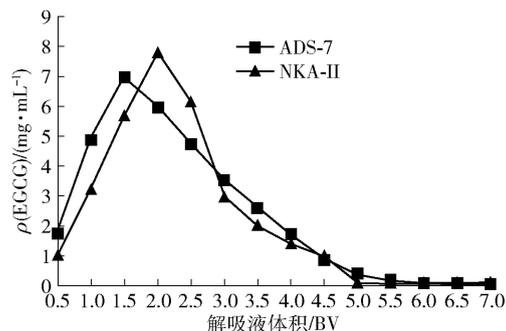


图4 两种树脂动态解吸曲线

Fig. 4 Dynamic desorption curves of two resins

由图4可知,解吸液对ADS-7和NKA-II型树脂吸附的EGCG有较好的解吸作用。在解吸液的作用下,EGCG被不断地从树脂上解吸下来,随着解吸液体积的增大,解吸液中 $\rho(\text{EGCG})$ 呈先快速上升后下降的趋势,且分别在6 BV和5 BV解吸液作用下,

EGCG 已经基本被完全解吸,EGCG 的解吸量分别为 168.15 mg 和 156.45 mg,解吸率分别为 88% 和 92%。

NKA-II 型树脂解吸后得到的溶液经旋转蒸发浓缩和冷冻干燥,得到浅红色的粉末物质,经 HPLC 检测其 EGCG 质量分数为 67.9% (而茶多酚原料中 EGCG 的质量分数为 44.2%),EGCG 的含量得到了明显的提高,达到了富集目标物去除部分杂质的目的。

### 3 结 论

通过研究 7 种大孔吸附树脂对 EGCG 的吸附和解吸实验,得出以下结论:大孔树脂吸附分离法可以作为富集茶多酚中 EGCG 的方法;ADS-7 和 NKA-II 型大孔吸附树脂对 EGCG 有良好的吸附性能和解吸性能,其最大吸附量分别为 19.06 mg/g 和 17.02 mg/g;ADS-7 和 NKA-II 型大孔吸附树脂的解吸液分别为 60% 和 70% 的乙醇溶液,解吸液体积分别为 6 BV 和 5 BV,解吸量分别为 168.15 mg 和 156.45 mg,解吸率分别为 88% 和 92%;应用 NKA-II 型树脂得到的富集物中 EGCG 的质量分数由 44.2% 提高到 67.9%,得率为 90%。

#### 参考文献:

[1] 刘婷婷,孟馨.表没食子儿茶素没食子酸酯抗氧化作用机制的研究进展[J].现代药物与临床,2016,31(6):919-923.  
LIU T T, MENG X. Research progress on anti-oxidative mechanism of epigallocatechin gallate[J]. Drugs & Clinic, 2016, 31(6):919-923.

[2] 葛杨杨,谷庆,刘静,等.表没食子儿茶素没食子酸酯对人皮肤 HaCat 细胞的辐射保护作用[J].辐射研究与辐射工艺学报,2013,31(3):8-13.  
GE Y Y, GU Q, LIU J, et al. Radiation protection effects of EGCG on HaCat cells of human skin[J]. Journal of Radiation Research and Radiation Processing, 2013, 31(3):8-13.

[3] 周永,汪朔,汤春波,等.表没食子儿茶素没食子酸酯对大鼠草酸钙肾结石形成的影响及其机制研究[J].中国中药杂志,2015,40(7):1376-1380.  
ZHOU Y, WANG S, TANG C B, et al. Study on inhibitory effect of EGCG on calcium oxalate nephrolithiasis in rats and its related mechanism[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(7):1376-1380.

[4] 肖潇,杨占秋,石丽桥,等.表没食子儿茶素没食子酸

酯抗流感病毒作用的研究[J].中国中药杂志,2008,33(22):2678-2682.

XIAO X, YANG Z Q, SHI L Q, et al. Antiviral effect of epigallocatechin gallate (EGCG) on influenza virus[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(22):2678-2682.

[5] 臧鹏,屈维丽,于燕波,等.表没食子儿茶素没食子酸酯在食品体系中的抗氧化作用研究[J].食品工业科技,2011(11):361-363.  
ZANG P, QU W L, YU Y B, et al. Study on antioxidation with EGCG in the food system[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011(11):361-363.

[6] 石林,杨萍,杜宇.表没食子儿茶素没食子酸酯对子宫颈癌细胞株 HeLa 增殖和凋亡的影响[J].现代妇产科进展,2017,26(1):37-39.  
SHI L, YANG P, DU Y. Effect of epigallocatechin-3-gallate on proliferation and apoptosis of HeLa cells[J]. Progress in Obstetrics and Gynecology, 2017, 26(1):37-39.

[7] 李浩榕,王亚楠,范春雷.表没食子儿茶素没食子酸酯抑制 LDL 的氧化修饰和小鼠巨噬细胞摄取 ox-LDL [J].中国药理学通报,2011,27(4):584-585.  
LI H R, WANG Y N, FAN C L. Inhibitory effect of epigallocatechin gallate on the oxidative modification of LDL and macrophage uptake of ox-LDL[J]. Chinese Pharmaceutical Bulletin, 2011, 27(4):584-585.

[8] YUAN C H, HORNG C T, LEE C F, et al. Epigallocatechin gallate sensitizes cisplatin-resistant oral cancer CAR cell apoptosis and autophagy through stimulating AKT/STAT3 pathway and suppressing multidrug resistance 1 signaling[J]. Environmental Toxicology, 2017, 32(3):845.

[9] XIONG L G, CHEN Y J, TONG J W, et al. Tea polyphenol epigallocatechin gallate inhibits *Escherichia coli* by increasing endogenous oxidative stress[J]. Food Chemistry, 2017, 217:196-204.

[10] 王霞,高丽娟,林炳昌.表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)的分离与制备[J].食品科学,2005,26(9):242-246.  
WANG X, GAO L J, LIN B C. Separation and preparation of epigallocatechin gallate(EGCG) [J]. Food Science, 2005, 26(9):242-246.

[11] CUI L, LIU Y, LIU T, et al. Extraction of epigallocatechin gallate and epicatechin gallate from tea leaves using  $\beta$ -cyclodextrin[J]. Journal of Food Science, 2017, 82(2):394-400.

[12] LAI S M, GU J Y. Two-step chromatographic procedure for the preparative separation and purification of epigallocatechin gallate from green tea extracts[J]. Food &

- Bioproducts Processing, 2014, 92(3):314-320.
- [13] 刘红涛, 徐环昕, 刘坐镇, 等. 制备色谱法纯化表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)[J]. 食品科技, 2014(9):241-245.  
LIU H T, XU H X, LIU Z Z, et al. Purification of epigallocatechin gallate by medium pressure preparative liquid chromatography [J]. Food Science and Technology, 2014(9):241-245.
- [14] 龚智宏, 陈思, 高江涛, 等. 半制备型液相色谱法分离纯化茶叶鲜叶中7种儿茶素类化合物[J]. 色谱, 2017, 35(11):1192-1197.  
GONG Z H, CHEN S, GAO J T, et al. Isolation and purification of seven catechin compounds from fresh tea leaves by semi-preparative liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2017, 35(11):1192-1197.
- [15] 朱斌, 陈晓光. 制备高纯L-表没食子儿茶素没食子酸酯的工艺优化研究[J]. 中国酿造, 2009, 28(9):30-32.  
ZHU B, CHEN X G. Optimizing the preparation process of L-epigallocatechin gallate at high purity [J]. China Brewing, 2009, 28(9):30-32.
- [16] 朱斌, 宋航, 陈晓光, 等. 用商品茶多酚制备高纯度表没食子儿茶素没食子酸酯的工艺研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2008, 42(4):574-577.  
ZHU B, SONG H, CHEN X G, et al. Study on preparation process of high purity of tea catechins EGCG from commercial tea polyphenols [J]. Journal of Huazhong Normal University(Natural Sciences), 2008, 42(4):574-577.
- [17] 许敏, 黄思勇, 周光龙, 等. 茶叶生产废料中表没食子儿茶素没食子酸酯的纯化工艺[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(18):4570-4572.  
XU M, HUANG S Y, ZHOU G L, et al. Purification process of epigallocatechin-3-gallate in tea production waste [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2015, 54(18):4570-4572.
- [18] 王菊萍, 吕萍. 反相高效液相色谱法测定茶多酚中表没食子儿茶素没食子酸酯的含量[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(15):2306-2310.  
WANG J P, LÜ P. Study on RP-HPLC determination of epigallocatechin gallate in green tea polyphenol [J]. China Journal of Modern Medicine, 2006, 16(15):2306-2310.

## Research on Purification of Epigallocatechin Gallate

DONG Haisheng<sup>1</sup>, ZANG Peng<sup>1,\*</sup>, DIAO Guangwei<sup>2</sup>, ZHAO Xinlin<sup>1</sup>, ZHAO Wei<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Space Nutrition and Food Engineering, China Astronaut Research and Training Center, Beijing 100094, China; 2. The 261th PLA Hospital, Beijing 300384, China)

**Abstract:** EGCG has many physiological activities such as anti-cancer and antibacterial activity. It is a functional ingredient of potential aerospace functional foods. The content of EGCG was determined by liquid chromatography. Seven kinds of macroporous adsorptive resins such as ADS-7, ADS-8, ADS-17, ADS-21, D101, NKA-II and NKA-9 were used to adsorb EGCG. Desorption purification experiments, including static adsorption and desorption experiments and dynamic adsorption and desorption experiments. The ADS-7 and NKA-II macroporous adsorptive resins have good adsorption and desorption properties for EGCG. The desorption solutions were 60% and 70% ethanol solutions respectively. The desorption volumes were 6BV and 5BV, respectively. The desorption rates were 88% and 92% for 168.15 mg and 156.45 mg, respectively. The content of EGCG in the enrichment obtained with NKA-II resin was increased from 44.2% to 67.9%, and the yield was 90%. For EGCG, there are differences in adsorption and desorption properties of different types of macroporous resins, which require screening and process optimization. Macroporous resins can achieve the separation and purification of EGCG, and have potential in industrial production applications.

**Keywords:** EGCG; functional food; separation and purification; physiological activity; macroporous resin  
(责任编辑:张逸群)