

从山茶花花卉中提取多酚的方法和工艺研究*

邓鸷远¹, 邹家丽², 和七一², 赵 璘², 邓可宣², 张近春², 杨 究², 余晓东², 罗 通¹

(1. 宜宾学院 生物研究所, 四川 宜宾 644000; 2. 重庆师范大学生命科学学院 重庆市动物生物学重点实验室
重庆市生物活性物质工程研究中心, 重庆 401331)

摘要:为了从山茶花卉中浸提并沉淀得多酚,采用单因素实验和正交实验(包括温度、时间、料液比、乙醇浓度等)得出最佳的浸提条件;然后采用金属离子沉淀方法从该浸提液中沉淀得到多酚物质,考察了金属离子、pH值、不同类型和浓度碱性溶液对沉淀率的影响。结果表明,1) 浸提的最佳条件应为:浸提溶液为60%乙醇,浸提温度为80℃,浸提时间为20 min,浸提的料液比为1:35;2) 发现多种金属离子沉淀剂(Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 和 Ca^{2+})中 Al^{3+} 的沉淀效果最好,且沉淀的最佳pH值为5.5,所得多酚的最终收率为7.1%,纯度为72.47%。研究认为上述方法提取的多酚纯度较好,下一步需扩展研究规模以指导生产应用。

关键词:多酚;金属离子沉淀;浸提;山茶花

中图分类号:Q586

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2013)05-0114-06

目前研究较多的天然多酚类物质是从食用茶叶中得到的属黄烷醇类的茶多酚,许多研究表明它是一种天然抗氧化剂^[1-2],具有清除自由基^[3-6]、阻止脂质过氧化、提高机体免疫力和延缓衰老等生物作用^[7];另有报道认为植物中的多酚类物质是具多个酚基的化合物,常包括黄烷醇类、花色苷类、黄酮类、黄酮醇类和酚酸类等^[8],还具有抗辐射和抑制癌细胞增殖的作用^[9-10]。为此,茶多酚被开发应用于食品保鲜防腐以延长食品保质期,保护食品中营养成分;并且该物质无毒副作用,食用安全^[11-12]。山茶花(*Camellia japonica*)是富含多酚类的一种植物,在老四川地区广泛种植,用于城市景观绿化供人们观赏,因而是获取多酚类物质的一种天然资源。尽管有研究表明从山茶花的叶片中成功提取获得了多酚类物质^[13-14],但是从该物种的花中进行多酚类物质提取的研究至今未见有报道——每年山茶花花卉因此任由凋谢,造成了资源浪费。因此,为了充分利用山茶花的花卉资源,本研究拟探求和考察从山茶花的花中提取分离多酚类物质的方法、工艺及相关参数,以便实现对山茶花花卉变废为宝的研发目标。目前多酚类物质的提取方法主要包括水和有机溶剂提取法^[15]、离子沉淀法^[16]、树脂吸附分离法、低温纯化酶法、超临界流体萃取法、超声波浸提法^[15,17]和微波浸提法^[18-19]等方法。本研究拟采用金属离子沉淀法从山茶花花卉中提取的多酚类物质,并探索其中各种影响提取工艺的参数和因子,为实现从山茶花花卉中规模化提取多酚类奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验用山茶花花卉采自四川省宜宾市;氯化铝、碳酸氢钠、碳酸钠、乙酸乙酯、硫酸亚铁、没食子酸丙酯等主要试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

实验用主要仪器设备有:4802S UV/VIS 分光光度计(美国 UNIC 公司);SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(上海亚荣生化仪器厂);BT25S 分析天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司);ModulyoD 冷冻干燥机(美国 thermo 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 多酚的浸提 1) 多酚纯度的测定采用福林酚检测法^[20]。

* 收稿日期:2012-11-08 修回日期:2013-04-07 网络出版时间:2013-09-17 17:38

资助项目:宜宾市科技计划项目(No. 2011Z27/2012);宜宾学院科研基金项目(No. 2012S13/2012)

作者简介:邓鸷远,女,讲师,博士研究生,研究方向为植物生理学,E-mail: Dengwuyuan@163.com;通讯作者:余晓东,E-mail: yxd@cqnu.edu.cn

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20130917.1738.201305.114_020.html

2) 多酚浸提单因素实验^[21-26]。山茶花花卉冷冻干燥后磨碎,过 18 目筛,各称取一定量分别置于 100 mL 的小烧杯中,按不同提取试剂、溶剂浓度、提取次数、料液比、提取温度、提取时间等因素(具体情况见下文)进行单因素实验,每组做 3 个重复。浸提完毕后,趁热过滤,滤渣用同浓度的溶剂洗涤 2 次,将滤液移入容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度。

3) 多酚浸提的最佳工艺条件实验。在单因素实验的基础上,为了考虑多因素对多酚浸出率的影响,采用四因素三水平正交表进行 9 次实验,以确定多酚浸提的最佳工艺条件。考察因素及水平见表 1。

表 1 考察因素与水平对比表

考虑因素	水平		
提取剂浓度 A/%	A ₁ =50	A ₂ =60	A ₃ =70
提取温度 B/℃	B ₁ =70	B ₂ =80	B ₃ =90
提取时间 C/min	C ₁ =20	C ₂ =25	C ₃ =30
提取料率比 D/(g·mL ⁻¹)	D ₁ =1:25	D ₂ =1:30	D ₃ =1:35

4) 浸出率的测定。取待测滤液 1 mL,加入 4 mL 蒸馏水,5 mL 的酒石酸亚铁溶液,充分混匀。

10 min 后,用 pH 值为 7.5 的磷酸缓冲液定容至 25 mL,于波长 540 nm 处,测定光吸收度,并计算浸出率(单位:%)。浸出率计算公式为

$$\text{浸出率} = [A \times 1.957 \times 2 \times V / (1\ 000 \times M)] \times 100$$

式中,A 为试样的吸光度;1.957 指用光径 10 mm 的比色皿在 A=0.50 时,相当于待测试液中茶多酚的含量为 1.957 mg·mL⁻¹;V 为试液总体积(单位:mL);M 为茶叶质量(单位:g)。

1.3.2 金属离子沉淀法纯化多酚实验^[27-30] 1) 沉淀率的计算。沉淀率是指在一定 pH 值下,与沉淀剂形成沉淀的多酚类质量与沉淀前溶液中多酚类的质量的比值,通过公式“沉淀率=(沉淀前浸出率-沉淀后浸出率)/沉淀前浸出率×100%”计算沉淀率(单位:%)。

2) 沉淀过程中各因素的确定实验。采用正交实验得出的最佳条件进行浸提,浸提滤液分别测定不同的沉淀剂、沉淀剂用量、碱性溶液和 pH 对沉淀率的影响。

3) 转溶、萃取及蒸馏实验。在常温下,取浸提后的上清液加入沉淀剂,用碱性溶液调节 pH 值,沉淀完全后,经离心分离得沉淀。本实验选用盐酸进行转溶,分别考察 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 mol·L⁻¹ 盐酸对多酚类锌盐和铝盐的溶解情况。乙酸乙酯与多酚酸溶液以 1:1 的体积比进行萃取,实验在室温与 pH=1.6 的条件下完成。

2 结果

2.1 单因素实验结果

2.1.1 不同溶剂对多酚浸出率的影响 称取 1.000 0 g 材料,分别加入蒸馏水、50% 甲醇、50% 乙醇等 3 种提取剂各 25 mL,70 ℃ 下温浴 20 min;过滤,滤液定容至 50 mL,取 1 mL 测定多酚浸出率。结果显示不同溶剂提取的多酚含量差别较大,其中效果如图 1 所示,所以下一步采用乙醇作为浸提溶剂。

2.1.2 乙醇浓度对多酚浸出率的影响 称取 1.000 0 g 材料,分别加入 40%、50%、60%、70%、80%、90% 等 6 种体积百分比的乙醇各 25 mL,70 ℃ 温浴 20 min,过滤;滤液定容至 50 mL,取 1 mL 测定多酚浸出率,结果如图 2 所示。乙醇体积百分比由 40% 增加到 60% 时,浸出率逐步增大,60% 时浸出率达到最大,再增加乙醇体积百分比,浸出率则逐渐下降,所以选择 60% 的乙醇作为浸提溶液。

2.1.3 浸提次数对茶多酚浸出率的影响 称取 1.000 0 g 材料,按 25 mL 60% 乙醇、70 ℃ 温浴 20 min 的条件分别浸提 1 次、2 次、3 次;过滤,收集滤液定容至 100 mL,浸出率如图 3 所示。浸提 1 次后山茶花花卉中的多酚已大部分被浸提出来,而多次浸提对多酚的浸出率贡献不大;所以从资源利用率角度考虑,实验选择浸提 1 次。

2.1.4 料液比对多酚浸提率的影响 分别称取 1.000 0 g 材料,加入不同体积的 60% 乙醇,70 ℃ 下浸提 20 min 后过滤;滤液定容至 50 mL,取 1 mL 测定多酚浸出率。图 4 显示,随着浸提溶剂用量的增加,多酚的浸出率不断增大,当料液比为 1:30 时浸出率达到最大,再增加浸提剂用

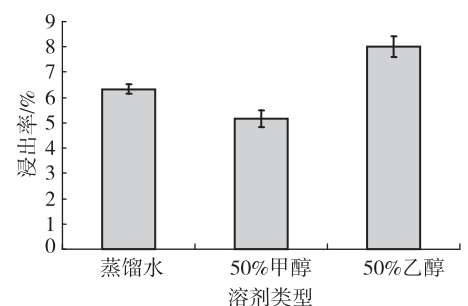


图 1 不同溶剂对多酚浸提的影响

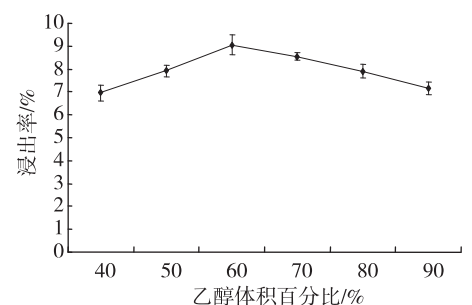


图 2 乙醇浓度对多酚浸提率的影响

量时,多酚的浸出率变化不大,所以选择 1:30 为最佳的料液比。

2.1.5 温度对多酚浸提的影响 称取 1.000 0 g 材料,加入 60%乙醇 30 mL,分别置于 50、60、70、80、90、100 °C 等温度下,浸提 20 min,过滤;滤液定容至 50 mL,取 1 mL 测定多酚的浸出率。结果显示,从 50 °C 升高到 80 °C 时,浸出率逐渐增大,80 °C 达到最大,再升高温度浸出率反而降低,这应与高温导致多酚氧化加快有关,所以选择 80 °C 为浸提的最佳温度(图 5)。

2.1.6 时间对多酚浸提的影响 称取 1.000 0 g 材料,加入 60%乙醇 30 mL,置于 80 °C 下保温不同时间,观察时间对多酚浸出率的影响,结果见图 6。随着时间的增加浸出率不断升高,保温 30 min 时,多酚浸出率达到最大,再延长提取时间浸出率反而降低,这可能是因为在高温状态下持续越久,氧化就越多,所以选择 30 min 为最佳浸提时间。

2.2 正交试验结果

实验选取乙醇浓度、温度、时间、料液比作为考察因素,结果见表 2。乙醇浓度、温度、时间、料液比各因素对多酚浸出率贡献大小由高到低排列依次为料液比、温度、乙醇浓度、时间,最佳组合为: $A_2B_2C_1D_3$,即以 60%乙醇、80 °C、20 min、1:35 料液比条件进行浸提较为合适(表 2)。

表 2 正交试验结果

因素	乙醇浓度 A	温度 B	时间 C	料液比 D	浸出率/%
1	1	1	1	1	5.60
2	1	2	2	2	6.73
3	1	3	3	3	7.05
4	2	1	3	2	6.54
5	2	2	1	3	7.24
6	2	3	2	1	6.42
7	3	1	2	3	6.61
8	3	2	3	1	6.18
9	3	3	1	2	6.42
K_1 /%	6.46	6.25	6.42	6.07	
K_2 /%	6.73	6.72	6.52	6.44	
K_3 /%	6.40	6.55	6.59	6.97	
R	0.33	0.47	0.17	0.80	

注: K_i 表示任意列上水平号为 i 时所对应的试验结果之和; R 表示极差,用最大的 K 减去最小的 K 。

2.3 金属离子沉淀多酚的条件确定

2.3.1 不同类型的金属离子对沉淀率的影响 称取 0.500 0 g 材料,按正交试验得出的最佳浸提条件浸提,滤液分别用 $AlCl_3$ 、 $ZnCl_2$ 、 $MgCl_2$ 、 $BaCl_2$ 、 $FeCl_3$ 、 $CaCl_2$ 等固体粉末沉淀,用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $NaOH$ 调节 pH 值到 6,多酚的沉淀率见表 3。从表中可见,几种离子对多酚的沉淀率影响大小由高到低排列依次为 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} ,用 Fe^{3+} 沉淀时,颜色较深,不易观察,后续处理较困难; Mg^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} 的沉淀率较低; Al^{3+} 的沉淀率最高,颜色浅易观察,所以本实验选择 Al^{3+} 作为沉淀剂。

2.3.2 沉淀剂用量与沉淀率的关系 称取 0.500 0 g 材

料,浸提,滤液加入不同质量的 Al^{3+} 沉淀, $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 $NaOH$ 调节 pH 值到 6,结果见图 7。其中,沉淀剂为 0.1 g 时沉淀率基本已达到最大,再增加沉淀剂对多酚的沉淀率贡献不大,为了不浪费资源,固体沉淀剂的量与材料固体质量之比为 1:5 时合适。

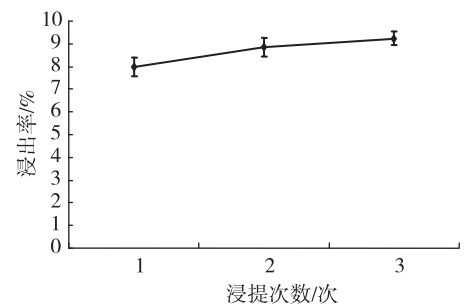


图 3 浸提次数对多酚浸提的影响

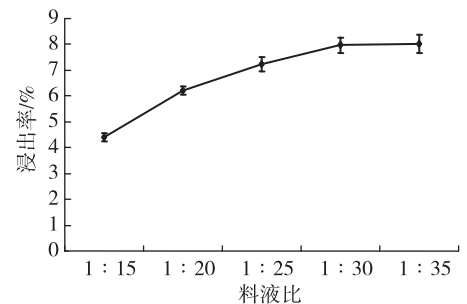


图 4 料液比对多酚浸提的影响

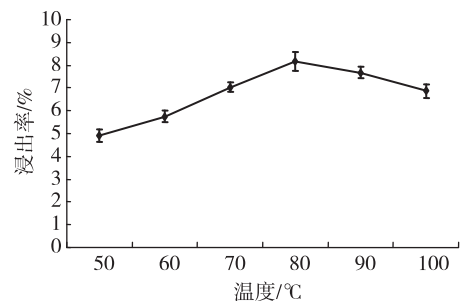


图 5 温度对多酚浸提的影响

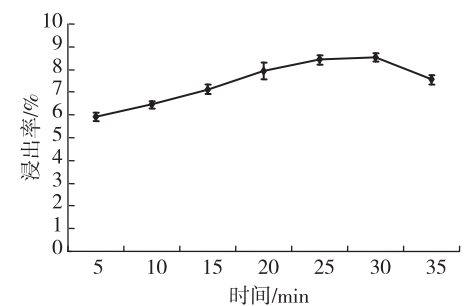


图 6 时间对多酚浸提的影响

表 3 不同类型的金属离子对沉淀率的影响

	Al^{3+}	Fe^{3+}	Zn^{2+}	Mg^{2+}	Ba^{2+}	Ca^{2+}
沉淀率/%	93.17	92.68	81.46	30.24	31.46	30.73

2.3.3 pH对沉淀率的影响 分别称取0.500 0 g材料,浸提后滤液用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的NaOH调节到不同的pH值,结果见图8。pH在5.5时沉淀率最高,pH再增加对沉淀率影响不大。多酚类在2~7的pH值范围内较稳定,光照或pH值大于8的条件下不稳定,易氧化聚合,使最后收率较低,所以本实验选择5.5作为多酚沉淀的最佳pH值。

2.3.4 碱性溶液及其浓度对沉淀率的影响 称取0.500 0 g材料,浸提后滤液分别加入不同种类和不同浓度的碱性溶液,调节pH值至5.5,测定吸光度,计算沉淀率,结果见图9。NaHCO₃、NaOH用作pH值的调节剂沉淀率较高,效果较好;Na₂CO₃作为调节剂时,低浓度时效果较好,但调节到需要的pH值时用量较大。用NaHCO₃和NaOH调节pH,在0.1~1.5 mol·L⁻¹范围内效果较好,但浓度低时体积用量大,所以选0.5~1.5 mol·L⁻¹的浓度均可;NaHCO₃调节pH值时,效果比NaOH稍好,所以本实验选择1 mol·L⁻¹的NaHCO₃做为调节pH的碱性溶液,如图9。

2.4 转溶、萃取及蒸馏

酸转溶实验结果表明,当盐酸浓度大于 $1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,虽然酸用量少,但与多酚共沉淀的杂质也溶解或变小而难以分离,转溶液混浊,进行萃取操作时易形成乳化层,且冻干粉颜色较深,纯度较低。当盐酸浓度小于 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,转溶较为困难,且转溶后体积变大,使萃取溶剂用量增大,成本增加,多酚收率较低。因此,选择 $0.5 \sim 1.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸转溶效果较好,收率和纯度都相对较高,本文选用 $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶解沉淀。再用与酸转溶液等体积的乙酸乙酯进行萃取2次, 0.09 MPa 的条件下减压蒸馏,回收乙酸乙酯,再冷冻干燥,得到多酚粉末。

3 讨论

本实验选用山茶花花卉为原料,经单因素试验和正交试验确定多酚的最佳浸提工艺条件。较优的提取工艺条件为:60%乙醇作为浸提剂, $80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下浸提20 min,料液比为1:35。金属离子沉淀法以Al³⁺沉淀, $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO₃调节pH, $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸转溶,乙酸乙酯为萃取剂,冷冻干燥后收率为7.1%,称取0.003 20 g多酚粉末测得纯度为72.47%。正交实验中4个因素对多酚的浸提有不同影响,各因素的影响由大到小依次为:料液比、温度、乙醇浓度、时间。采用Fe³⁺沉淀,所得到的产品为黑色颗粒,且收率较低,这与何健^[31]所报道的相符。本实验中多酚的收率为虽比王华燕^[22],戴群晶^[32]从绿茶中提取茶多酚的收率(分别为10.9%和13.65%)低,且与周丽明^[33]从芒果核中提取的多酚收率(7.16%)相差不大,但较王文渊等人^[34]和韩立路等人^[35]等从竹叶中提取多酚收率(0.624 3%)要高许多。此外,本方法提取的多酚纯度比乔小瑞^[36]从荔枝壳中提取的多酚纯度(70.65%)高;比刘焕云等人^[37]从绿茶中提取茶多酚的纯度(85%)低。但应考虑到中国山茶花资源丰富,材料容易获取且价格低廉,因而从中提取多酚更具有广阔的前景,本研究的开展为进一步开发利用山茶花提供了一定理论资料。

参考文献:

- [1] 吴雅茹. 五种天然抗氧化剂对大豆油氧化的影响研究[D]. 北京:中国农业大学,2006.
Wu Y R. The effect of five different natural antioxidants on the oxidation of soybean oil[D]. Beijing:China Agricultural University,2006.
- [2] 陈金娥,丰慧君,张海容. 红茶、绿茶、乌龙茶活性成分抗氧化性研究[J]. 食品科学,2009,30(03):62-66.
Chen J E, Feng H J, Zhang H R. Effects of active ingredients in black tea, green tea and Oolong tea on antioxidant capability[J]. Food Science,2009,30(03):62-66.
- [3] 许高燕. 中草药有效成分测定及其抗氧化作用[D]. 长沙:湖南师范大学,2006.
Xu G Y. Active ingredients of Chinese herbal and its antioxidant capability[D]. Changsha:Hunan Normal University,2006.
- [4] 杨子银. 茶(红茶)与茶(*Camellia sinensis*)花多酚类物质的分离鉴定及其抗氧化机理研究[D]. 杭州:浙江大学,2007.
Yang Z Y. Isolation and identification of tea (black tea) and

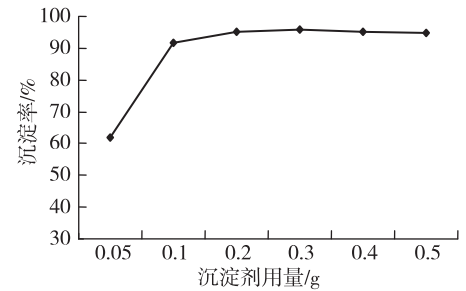


图7 沉淀剂用量对沉淀率的影响

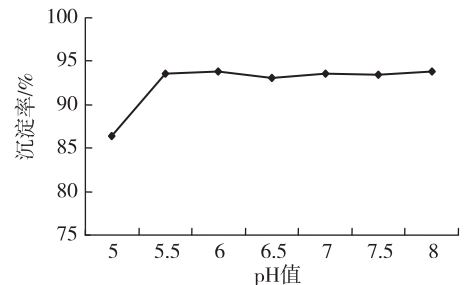


图8 pH对沉淀率的影响

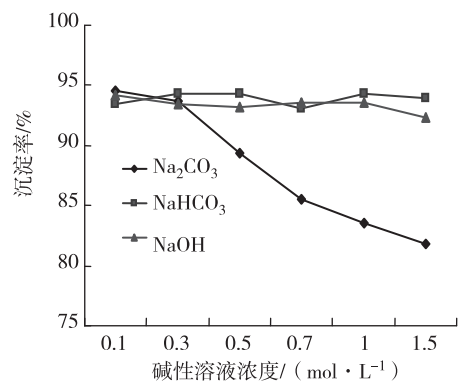


图9 碱性溶液类型及浓度对多酚沉淀率的影响

- tea (*Camellia sinensis*) flowers polyphenols and its antioxidant mechanism[D]. Hangzhou: zhejiang university, 2007.
- [5] 邵卫梁, 胡天喜, 杭晓敏, 等. 不同酯化程度的脂溶性茶多酚抗氧化和抗脂质过氧化研究[J]. 安徽医药, 2006, 10(12): 904-907.
- Shao W L, Hu T X, Hang X M, et al. Study on the quality index of the lipid tea polyphenols based on their effects of antioxidation and anti-lipid peroxidation in different esterification degree[J]. Anhui Medical and Pharmaceutical Journal, 2006, 10(12): 904-907.
- [6] 吕海鹏. 普洱茶的化学成分分析及其抗氧化活性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2005.
- Lü H P. Chemical composition analysis and the antioxidant activity of Pu'er tea[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2005.
- [7] 王栋. 乌龙茶中茶多酚和芳香物质的提取及其生物活性研究[D]. 福建: 福建农林大学, 2010.
- Wang D. Studies on extraction and biological activities of tea polyphenols and aroma substances from Oolong tea [D]. Fujian: Fujian Agriculture & Forestry University, 2010.
- [8] 阮栋梁, 张英峰, 王丰玲, 等. 茶多酚的提取和应用的研究进展[J]. 渤海大学学报. 2007, 28(1): 6-11.
- Ruan D L, Zhang Y F, Wang F L, et al. Extraction and application of tea polyphenols[J]. Journal of Bohai University. 2007, 28(1): 6-11.
- [9] 王岳飞, 唐德松, 朴宰日, 等. 茶多酚对荷瘤小鼠辐射损伤的影响[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2004, 24(3): 263-264.
- Wang Y F, Tang D S, Piao Z R, et al. Affects of tea polyphenols on the radiation damage of tumor-bearing mice[J]. Chinese Journal of Radiation Mediation and Protection, 2004, 24(3): 263-264.
- [10] 高洋. 茶多酚对人宫颈癌 HeLa 细胞增殖及凋亡的影响和机制[D]. 天津: 天津医科大学, 2010.
- Gao Y. The effect of tea polyphenols on proliferation and apoptosis in human cervical carcinoma HeLa cells and its possible mechanism[D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2010.
- [11] 李香鑫, 张彬. 新型的食品和饲料添加剂—茶多酚的研究与应用[J]. 中国动物保健, 2004(8): 33, 35.
- Li X X, Zhang B. Research and application of tea polyphenols—new food and feed additives[J]. China Animal Health, 2004(8): 33, 35.
- [12] 中国食品添加剂生产应用工业协会. 食品添加剂手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996: 46-48.
- China Food Additive Industry Association of Food Additives [M]. Beijing: China Light Industry press, 1996: 46-48.
- [13] 罗胜勇, 董六一, 范丽, 等. 山茶花总黄酮对缺血性脑损伤的保护作用[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(6): 376-379.
- Luo S Y, Dong L Y, Fan L, et al. Protective effect of total flavone of *Camellia* against cerebral ischemic injury[J]. Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology, 2004, 15(6): 376-379.
- [14] 怡悦. 山茶花的药理作用[J]. 国外医学中医分册, 2002, 24(5): 316.
- Yi Y. The pharmacological effects of *Camellia japonica*[J]. International Journal of Traditional Chinese Medicine, 2002, 24(5): 316.
- [15] 束鲁燕, 汤一. 茶多酚提取和纯化技术研究进展[J]. 茶叶, 2009(2): 70-71.
- Shu L Y, Tang Y. Research progress of extraction and purification of tea polyphenols[J]. Journal of Tea, 2009(2): 70-71.
- [16] 蒋建平, 陈洪, 汪秋安, 等. 茶多酚的离子沉淀法提取及其成分分析[J]. 株洲工学院学报, 2004(5): 53-56.
- Jiang J P, Cheng H, Wang Q A. Study on extraction of tea polyphenols by ion precipitation technology and analysis on ingredients of the product[J]. Journal of Zhuzhou Institute of Technology, 2004(5): 53-56.
- [17] 李会, 宋伟. 茶多酚提取和分离研究进展[J]. 粮食与油脂, 2007(11): 39-41.
- Li H, Song W. Research advance on extraction and isolation of tea-polyphenol[J]. Cereals & Oils, 2007(11): 39-41.
- [18] Quan P T, Hang T V, Ha N H, et al. Microwave-assisted extraction of polyphenols from fresh tea shoot[J]. Science & Technology Development, 2006, 19(8): 69-75.
- [19] Garcia-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, et al. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples[J]. Molecules, 2010(15): 8813-8826.
- [20] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 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.
- AQSIQ, SAC. GB/T 8313-2008 determination of total polyphenols and catechins content in tea[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [21] 刘佳, 焦士蓉, 唐远谋, 等. 苦丁茶多酚的提取及抗氧化活性[J]. 食品科学, 2011, 32(4): 134-138.
- Liu J, Jiao S R, Tang Y M, et al. Extraction and antioxidant activity of polyphenols from Kuding tea[J]. Food Science, 2011, 32(4): 134-138.
- [22] 王华燕. 绿茶多酚的提取与制备工艺研究[D]. 北京: 首都师范大学, 2008.
- Wang H Y. Study on extraction and preparation of green tea polyphenols[D]. Beijing: Capital Normal University, 2008.
- [23] 陈荣义. 茶多酚的提取纯化及其改性的研究[D]. 成都: 四川大学, 2005.
- Chen Y R. Preparation and modification research of tea polyphenols[D]. Chengdu: Sichuan University, 2005.
- [24] 杨立杰. 乌龙茶中茶多酚、茶多糖的提取及其纯化和性质研究[D]. 厦门: 集美大学, 2007.
- Yang L J. Extraction, purification and characterization of tea polyphenols polysaccharides from Oolong tea[D]. Xia-

- men: Jimei University, 2007.
- [25] Anesini C, Ferraro G E, Filip R. Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2008(56): 9225-9229.
- [26] Sardsaengjun C, Jutiviboonsuk A. Effect of temperature and duration time on polyphenols extract of *Areca catechu* Linn. seeds[J]. *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*. 2009, 5(1): 14-17.
- [27] Jakopič J, Veberič R, Štampar Franci. Extraction of phenolic compounds from green walnut fruits in different solvents[J]. *Acta Agriculturae Slovenica*. 2009, 93(1): 11-15.
- [28] 董文宾. 离子沉淀法制备茶多酚的工艺研究[J]. *食品科技*, 2002(9): 45-47.
Dong W B. The ions precipitate prepared tea polyphenols [J]. *Science and Technology of Foods*, 2002(9): 45-47.
- [29] 余兆祥, 王平. 复合沉淀剂提取茶多酚的研究[J]. *食品工业科技*, 2001(3): 32-34.
Yu Z X, Wang P. Composite precipitating agent to extract polyphenols [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2001(3): 32-34.
- [30] 朱进晨, 许葵. 茶叶中茶多酚提取生产工艺的确定[J]. *食品研究与开发*, 2001, 22(22): 31-32.
Zhu J C, Xu K. Production technology of extraction of tea polyphenols in tea powder [J]. *Food Research and Development*, 2001, 22(22): 31-32.
- [31] 何健, 印伟. 茶叶中茶多酚的提取工艺及其含量测定[J]. *中国药业*, 2011, 20(30): 31-32.
He J, Yin W. Extraction technology and content determination of tea polyphenols in tea [J]. *China Pharmaceuticals*, 2011, 20(30): 31-32.
- [32] 戴群晶. 茶多酚的提取及其在高蛋白饮料中的应用研究 [D]. 广州: 华南理工大学, 2006.
Dai Q J. Extraction of tea polyphenols and its application in the high-protein drinks [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2006.
- [33] 周丽明. 芒果多酚的提取、分离纯化及抗氧化、抑菌作用研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
Zhou L M. Mangopolyphenol extraction, purification and antioxidant and antibacterial effects [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2007.
- [34] 王文渊, 黄光文, 龙红萍, 等. 竹叶中茶多酚的提取及其抗氧化性研究[J]. *香料香精化妆品*, 2011, 4(2): 24-28.
Wang W Y, Huang G W, Long H P, et al. Study on extraction of tea-polyphenols in bamboo leaf and its antioxidational effect [J]. *Flavour Fragrance Cosmetics*, 2011, 4(2): 24-28.
- [35] 韩立路, 王文渊, 黄光文, 等. 竹叶中活性茶多酚成分的提取研究[J]. *食品研究与开发*, 2011, 32(9): 82-84.
Han L L, Wang W Y, Huang G W, et al. Study on extraction of active tea-polyphenols in bamboo leaf [J]. *Food Research and Development*, 2011, 32(9): 82-84.
- [36] 乔小瑞. 荔枝多酚的提取制备和抗氧化活性研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2010.
Qiao X R. Studies on the extraction and antioxidant activity of litchi polyphenols [D]. Xiamen: Jimei University, 2010.
- [37] 刘焕云, 李慧荔, 邵伟雄, 等. 绿茶中茶多酚的提取工艺研究[J]. *山西食品工业*, 2004, 2(6): 23-25.
Liu H Y, Li H L, Shao W X, et al. Extraction of tea polyphenol from green tea [J]. *Shanxi Food Industry*, 2004, 2(6): 23-25.

Methods and Processes for Extracting Polyphenols from the Flowers of *Camellia japonica*

DENG Wu-yuan¹, ZOU Jia-li², HE Qi-yi², ZHAO Yin², DENG Ke-xuan²,
ZHANG Jin-chun², YANG Xian², YU Xiao-dong², LUO Tong¹

(1. Institute of Biology, Yibin University, Yibin Sichuan 644000;

2. School of Life Science, Chongqing Normal University, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology,
Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substance, Chongqing 401331, China)

Abstract: Extracting and precipitating polyphenol from the *Camellia japonica* flowers. Using single factor experiments and orthogonal experiments to study the optimal conditions (including temperature, time, ratio of solid-to-liquid, ethanol concentration etc.); and then using the method of metal ion precipitation to extract polyphenols from the extract liquid, and in the process we studied the influence of metal ion, pH, several alkaline solutions and their concentration on sedimentation rate (methods). The best conditions are as follows: 60 % of ethanol concentration, 80 °C for temperature, the time for 20 min, and 1: 35 of the solid-liquid ratio; among various precipitating agents of metal ions (Al^{3+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} and Ca^{2+}). Al^{3+} presents the best precipitation effect, and its optimal pH for precipitation is 5.5. Finally, the final yield of obtaining polyphenols is 7.1% and its purity is 72.47%. Purity of polyphenols is well in this methods, further research is needed to have large-scale production.

Key words: polyphenols; methods of metal ions precipitation; extraction; *Camellia japonica*