

## 绿茶中茶多酚的复合酶-微波法提取工艺研究

舒红英, 罗旭彪, 王永珍

南昌航空大学环境与化学工程学院, 江西 南昌 330063

**摘要:** 目的 采用复合酶-微波法从绿茶中提取茶多酚。方法 通过单因素试验法和正交试验法确定复合酶-微波法提取茶多酚的最佳工艺, 同时比较复合酶-微波法、复合酶法、索氏法和微波法对提取效果的影响。结果 优化得到提取茶多酚的最佳工艺为: 在 50 °C 条件下用纤维素酶和果胶酶前处理 40 min, 微波辐射 8 min, 微波功率 500 W, 料液比 1:30, 25%乙醇溶液作为萃取剂。结论 验证试验表明, 最佳工艺可行; 从提取时间和提取效率来看, 复合酶-微波法提取茶多酚比复合酶法、索氏法和微波法耗时少、提取效率高。

**关键词:** 绿茶; 茶多酚; 复合酶; 微波法; 索氏法

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)07-1309-04

## Complicated enzyme-microwave assisted extraction of tea polyphenols from green tea

SHU Hong-ying, LUO Xu-biao, WANG Yong-zhen

Institute of Environment and Chemical Engineering, Nanchang Hangkong University, Nanchang 330063, China

**Abstract: Objective** The feasibility of employing complex enzyme-microwave-assisted extraction (EMAE) of tea polyphenols from green tea was demonstrated. **Methods** The optimal extraction parameters based on complex EMAE technique were optimized by orthogonal test and single factor test. The effects of complex EMAE, complex enzyme, Soxhlet method, and microwave method on extraction were compared simultaneously. **Results** The optimal extraction conditions were as follows: the pre-leaching time of 40 min using cellulase and pectinase enzyme at 50 °C, the radiation time of 8 min; microwave power of 500 W, solid/liquid ratio of 1:30; and 25% ethanol aqueous solution. **Conclusion** Validation tests showed that the best technology was feasible, from the points of extraction time and the extraction efficiency, complex EMAE method is more effective and rapid than Soxhlet extraction, microwave-assisted, and complex enzyme methods.

**Key words:** green tea; tea polyphenols; complex enzyme; microwave-assisted; Soxhlet method

茶多酚是茶叶中儿茶素类、黄酮类、酚酸类和花色素类化合物的总称, 是一类具有重要药理作用的生物活性物质<sup>[1-5]</sup>, 在茶叶干品中一般占 20%左右<sup>[6]</sup>。茶多酚作为一种性能优良的天然抗氧化剂, 市场需求大, 但是生产技术尚未成熟。目前, 国内外提取茶多酚的方法基本有 4 种, 溶剂萃取法、树脂吸附法、超临界流体萃取法和金属离子沉淀提取法。近年来微波、超声波技术相继应用到茶多酚提取中, 并先后出现了萃取-沉淀法<sup>[7]</sup>、微波-离子沉淀复合法<sup>[8]</sup>、氮气保护-超声波法、冻融-水浴法<sup>[9]</sup>等复合方法提取茶多酚。大多数提取茶多酚工艺的提取率还较低、茶多酚产品不稳定。因此, 这些提取工艺还有待进

一步改进, 以便实现茶多酚高效率的提取。

酶解和微波萃取技术是新型高效绿色提取技术, 具有快速、高效、反应条件温和等诸多优点, 已被越来越广泛地应用于食品及动植物细胞有效成分的提取中<sup>[10-13]</sup>。本实验采用复合酶-微波法提取茶多酚, 探讨了茶多酚提取的工艺条件, 得到了优化的工艺参数。

### 1 仪器与材料

XH—100A 电脑微波催化合成/萃取仪(北京祥鹤科技发展有限公司); UV—2000 紫外可见分光光度计(上海龙尼柯有限公司)。

山茶科山茶属植物茶 *Camellia sinensis* (L.) O.

收稿日期: 2010-09-04

基金项目: 江西省教育厅重点项目(GJJ08200)

作者简介: 舒红英(1965—), 女, 硕士, 从事天然产物的改性研究。Tel: (0791)3953378 E-mail: hyshu91@yahoo.com.cn

Kuntze 经江西农业大学白玲教授鉴定,为特级婺源茗眉绿茶。果胶酶(酶活 $\geq 1.1$  U/mg, Fluka),纤维素酶(酶活 $\geq 15\ 000$  U/g, 国药集团化学试剂有限公司)。酒石酸钾钠、硫酸亚铁、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、醋酸乙酯、无水乙醇均为分析纯。

## 2 方法与结果

### 2.1 茶多酚的提取

取茶叶碎末(过 80 目筛) 4 g, 精密称定, 用 25%乙醇溶液 120 mL 润湿, 加入由纤维素酶和果胶酶按 1:1 组成的复合酶 6.0 mg, 置 50 °C 恒温水浴中隔绝空气搅拌一段时间, 在 50 °C、微波功率 400 W 的条件下萃取, 将所得萃取液稀释 5 倍并静置 10 min, 吸取上层清液测定茶多酚的量。

### 2.2 茶多酚的测定

采用酒石酸亚铁分光光度法<sup>[14]</sup>。准确吸取试液 1 mL, 注入 25 mL 量瓶中, 加水 4 mL 和酒石酸亚铁溶液(酒石酸亚铁溶液: 称取 1.0 g 硫酸亚铁和 5.0 g 酒石酸钾钠, 用水溶解并定容至 1 L) 5 mL, 充分混合, 再加 pH 7.5 磷酸盐缓冲液至刻度, 用 1 cm 比色皿, 在波长 540 nm 处, 以试剂空白溶液(不加试液, 其他同上述分析溶液的配制过程)作为参比, 测定吸光度(A)值, 茶叶中茶多酚的提取率(Q)以干态质量分数表示, 按下式计算:

$$Q = (A \times 1.957 \times 2/1\ 000) \times L_1 / (L_2 \times M_0)$$

$L_1$  为试液的总量 (mL);  $L_2$  为测定时的用量 (mL);  $M_0$  为试样烘干水分后的质量 (g);  $A$  为试样的吸光度; 1.957 为用 1 cm 的比色皿, 当  $A$  值等于 0.5 时, 每毫升萃取液中所含有的茶多酚相当于 1.957 mg

### 2.3 单因素试验

**2.3.1 微波功率对茶多酚提取率的影响** 在料液比 1:30, 前处理 60 min, 提取温度 50 °C、萃取 8 min 的条件下, 考察不同微波功率对茶多酚提取率的影响, 结果见图 1。当微波功率为 500 W 时, 茶多酚的提取率达到最大值 15.9%, 因此确定最佳微波功率为 500 W。

**2.3.2 料液比对茶多酚提取率的影响** 在前处理 60 min, 提取温度 50 °C、微波功率 500 W, 萃取 8 min 的条件下, 考察不同液料比对茶多酚提取率的影响, 结果见图 2。当料液比为 1:30 时, 茶多酚的提取率达到最大值 16.6%, 因此确定最佳料液比为 1:30。

**2.3.3 前处理时间对茶多酚提取率的影响** 在料液比 1:30, 提取温度 50 °C、微波功率 500 W, 萃取

8 min 的条件下, 考察不同前处理时间对茶多酚提取率的影响, 结果见图 3。当前处理时间为 40 min 时, 茶多酚的提取率达到最大值 16.4%, 因此确定最佳前处理时间为 40 min。

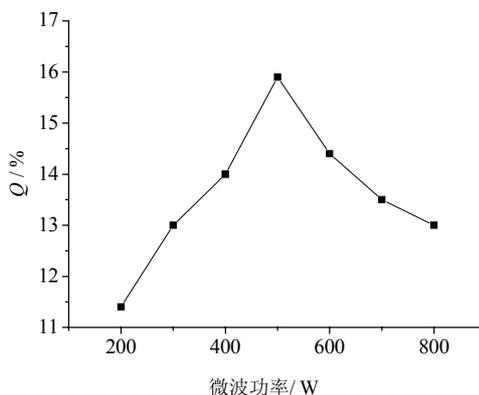


图 1 微波功率对绿茶中茶多酚提取率的影响  
Fig. 1 Effect of microwave power on extraction of tea polyphenols in green tea

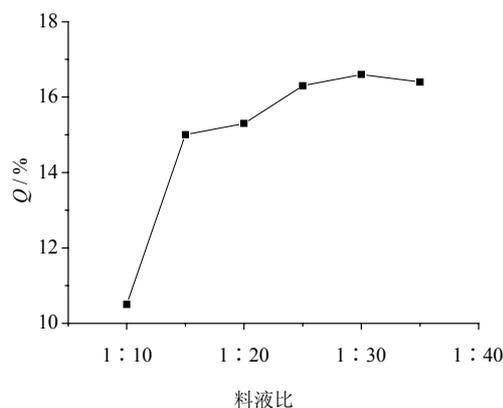


图 2 料液比对绿茶中茶多酚提取率的影响  
Fig. 2 Effect of liquid/solid ratio on extraction of tea polyphenols in green tea

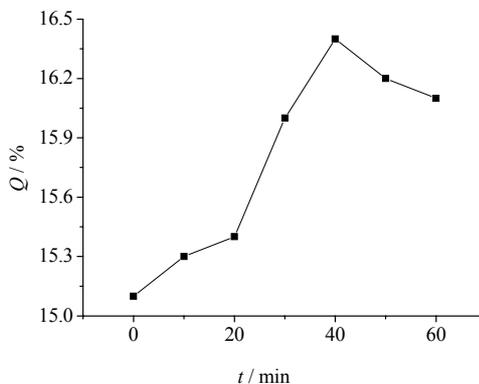


图 3 不同前处理时间对绿茶中茶多酚提取率的影响  
Fig. 3 Effect of pre-leaching time on extraction of tea polyphenols in green tea

**2.3.4 微波时间对茶多酚提取率的影响** 在料液比 1:30, 前处理时间 40 min, 提取温度 50 °C、微波功率 500 W 的条件下, 考察不同微波时间对茶多酚提取率的影响, 结果见图 4。当微波时间为 8、10 min 时, 茶多酚的提取率均为最大值 18.4%, 为了节省能源及试验时间, 确定最佳微波时间为 8 min。

**2.4 正交试验**

以茶多酚的提取率 ( $Q$ ) 为考察指标, 料液比 (A)、前处理时间 (B)、微波时间 (C) 和乙醇体积分数 (D) 为考察因素, 按照  $L_9(3^4)$  正交表安排, 试验设计及结果见表 1。可知在所考察的 4 个因素中, 对茶多酚提取率的影响顺序为  $A > C > B = D$ , 即料液比对茶多酚提取率的影响是最大的; 复

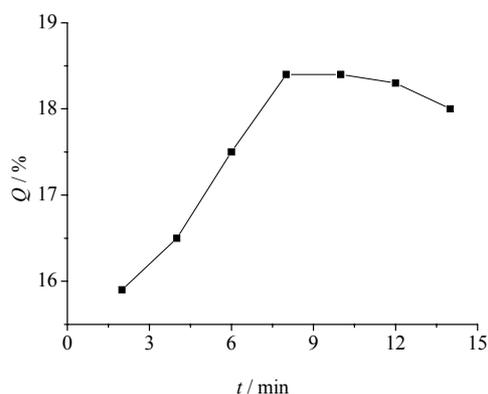


图 4 不同微波时间对绿茶中茶多酚提取率的影响

Fig. 4 Effect of EMAE time on extraction of tea polyphenols in green tea

表 1  $L_9(3^4)$  正交试验设计与结果

Table 1 Design and results of  $L_9(3^4)$  orthogonal test

试验号	A	B/min	C/min	D/%	$Q$ /%
1	1:20 (1)	20 (1)	4 (1)	50 (1)	15.6
2	1:20 (1)	40 (2)	8 (2)	25 (2)	16.0
3	1:20 (1)	60 (3)	12 (3)	75 (3)	15.7
4	1:30 (2)	20 (1)	8 (2)	75 (3)	16.2
5	1:30 (2)	40 (2)	12 (3)	50 (1)	16.4
6	1:30 (2)	60 (3)	4 (1)	25 (2)	16.6
7	1:40 (3)	20 (1)	12 (3)	25 (2)	16.1
8	1:40 (3)	40 (2)	4 (1)	75 (3)	15.7
9	1:40 (3)	60 (3)	8 (2)	50 (1)	16.7
$K_1$	47.3	47.9	47.8	48.7	
$K_2$	49.2	48.1	49.0	48.7	
$K_3$	48.5	49.0	48.2	47.6	
R	1.9	1.1	1.2	1.1	

合酶-微波浸提茶多酚的最佳工艺条件是  $A_2B_3C_2D_1$  或  $A_2B_3C_2D_2$ 。

通过验证试验, 即在  $A_2B_3C_2D_1$  和  $A_2B_3C_2D_2$  条件下提取茶多酚, 提取率分别为 17.9% ( $n=3$ ) 和 18.1% ( $n=3$ )。由此确定茶叶中茶多酚提取的最佳工艺条件为  $A_2B_3C_2D_2$ , 即料液比为 1:30, 前处理时间为 60 min, 微波时间为 8 min, 乙醇溶液的体积分数为 25%。综合考虑单因素试验结果, 本实验的前处理时间优化提取条件为 40 min。

**2.5 提取工艺的比较研究**

在乙醇溶液体积分数为 25%, 萃取液为 120 mL, 料液比为 1:30 的条件下, 采用复合酶法<sup>[10]</sup>、微波法<sup>[8]</sup>和索氏法<sup>[9]</sup>分别以最佳工艺条件提取茶多酚, 与本法比较, 其结果见表 2。采用复合酶法、微波法、索氏提取法和复合酶-微波法的提取率分别为 17.5%、15.7%、17.5%、18.4%。可以看出复合酶-微波法提取茶多酚比复合酶法、微波法、索氏提取法耗用时间少、效率高。

表 2 不同提取方法的提取结果比较 ( $n=3$ )

Table 2 Comparison of extraction results with various extraction methods ( $n=3$ )

提取方法	t/min		Q/%
	前处理	提取	
复合酶法	0	110	17.5
微波法	90	4	15.7
索氏提取法	0	120	17.5
复合酶-微波复合法	40	8	18.4

**3 讨论**

在微波功率对茶多酚提取率的影响中, 由于复合酶的最佳适宜温度为 50 °C, 如果微波的功率过小, 在规定的微波时间内体系的温度很难达到复合酶的最佳适宜温度, 酶解作用大大降低; 而此时, 微波功率太小, 微波萃取体系中分子的运动也较慢, 产生的复合酶抑制物扩散速度减慢, 不利于茶多酚的萃取, 也就是说温度过低的微波环境对茶多酚的浸出效果是不利的。然而, 当微波功率过大时, 体系的温度很容易达到规定的温度, 此时复合酶的酶解效果最好, 但是随着微波功率的增加, 其他的物质也很容易浸出, 进而与茶多酚发生氧化聚合反应, 影响茶多酚的量。同时, 过高的微波功率对茶多酚有破坏作用, 茶多酚氧化损失增加, 导致茶多酚提取率降低。

在料液比对茶多酚提取率的影响中,茶多酚的提取效率随着料液比的增加而增加,一方面,乙醇水溶液的量比较大的情况下,对茶叶的润湿会比较充分,这对于茶多酚的浸出是十分有利的;另一方面,溶解到乙醇水溶液中茶多酚的质量浓度会随着萃取液的增加而降低,由于质量浓度引起的对茶多酚浸出的阻碍会降低,这也有利于提高茶多酚的提取率。

在前处理时间对茶多酚提取率的影响中,一方面,随着酶解时间的增加,茶叶细胞壁及细胞间层的纤维素和果胶质形成的阻挡层已被有效破解,茶多酚大多已经溶解到乙醇溶液中了,然后在微波的条件下萃取,抑制物质质量浓度降低,茶多酚浸出程度增加,茶多酚溶解到乙醇水溶液中的量已经达到最大值,细胞内外的茶多酚质量浓度已经达到了一个动态平衡,延长前处理时间对提高茶多酚提取效率的作用有限;另一方面,茶多酚长期处于温度较高的条件下容易发生氧化聚合反应,对茶多酚的提取率产生影响。

在微波时间对茶多酚提取率的影响中,由于微波时间的增加,体系有足够的时间达到复合酶酶解的最佳适宜温度,复合酶酶解的作用得到了充分发挥;而且,延长微波时间,也可以使茶多酚的浸出率增加。但是随着微波时间的延长,由于茶多酚的氧化增加,茶多酚的量有降低的趋势。

本实验主要考察茶多酚的浸出条件,而如何从萃取液中有效地纯化分离品质优良的茶多酚还有待于进一步研究。采用纤维素酶和果胶酶按 1:1 配成的复合酶与微波法结合萃取茶多酚,其优化工艺为微波功率 500 W,料液比 1:30,前处理时间 40 min 和微波时间 8 min。与复合酶法、微波法、索氏提取法相比,其萃取效率更高,萃取耗用的时间更少。

#### 参考文献

- [1] 付婷,韩国柱.茶多酚的药动力学研究进展[J].中草药,2010,41(12):2102-2106.
- [2] 邓凤君,徐江平,杨迎暴,等.茶多酚对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导 PC12 细胞损伤的保护作用[J].中草药,2010,41(6):945-949.
- [3] 吕勇,金越,韩国柱,等.茶多酚和维生素 C 对人胚肾 293 细胞缺糖缺氧损伤保护作用的比较[J].中草药,2007,38(9):1370-1372.
- [4] Wang C Y, Li Q S, Han G Z, *et al.* A specific and sensitive LC-MS/MS method for simultaneous determination of four major active catechins of tea polyphenols in rat plasma and its application to pharmacokinetic study[J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(4): 289-296.
- [5] Li Q S, Zou L L, Fu T, *et al.* Excretion of four catechins in tea polyphenols in rats[J]. *Chin Herb Med*, 2009, 1(1): 59-65.
- [6] 王利亚.茶多酚提取工艺研究[J].适用技术市场,2001(6):27-28.
- [7] 蔡照胜,陈浩,鲍华祥.萃取-沉淀法提取分离茶多酚[J].广州化工,2000,28(1):4-7.
- [8] 韦星船,陈小宏,王琪莹.微波-离子沉淀法提取茶叶中茶多酚的工艺研究[J].食品科技,2007(8):134-139.
- [9] 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.
- [10] 张卫红,张效林.复合酶法提取茶多酚工艺条件研究[J].食品研究与开发,2006,27(11):5-7.
- [11] 欧阳辉,田启建,余估,等.酶法辅助提取绞股蓝中总黄酮工艺优化[J].中草药,2011,42(5):886-889.
- [12] Pan X J, Niu G G, Liu H Z. Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves[J]. *Chem Eng Proc*, 2003, 42(2): 129-133.
- [13] 杨再雍,刘琨.酶法提取叶下珠中多酚的研究[J].中草药,2010,41(10):1651-1653.
- [14] 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法(GB/T 8313-2008)[S].2008.