

有机溶剂法制备茶多酚的工艺研究

(西北轻工业学院食品系, 咸阳 712081) 董文宾 胡英 周玲

摘要 系统研究了有机溶剂萃取法制备茶多酚的工艺, 通过正交试验优化了茶多酚的浸提工艺条件, 对浸提浓缩液采用氯仿-正己烷混合溶剂洗涤除杂后, 再用乙酸乙酯洗涤两次, 合并酯相, 回收溶剂, 茶多酚得率为 18.73%。

关键词 茶多酚 有机溶剂法

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2002)09-0044-04

茶叶中富含一类多羟基的酚性物质-茶多酚(Tea Polyphenols, TP)。TP 在茶叶中含量一般为 15%~30%, 是其它植物远不能比拟的。作为一种新型理想的食品抗氧化剂, TP 于 1990 年已被我国认可^[1], 且该类产物具有高效的抗癌、抗衰老、抗辐射、清除人体自由基、降血糖血脂等一系列药理功能, 在油脂、食品、医药、日化等工业领域具有非常广阔的应用前景。

目前从茶叶中提取 TP 虽有多种方法, 但迄今仍无理想的工艺流程用于工业化生产。本研究立足于利用陕西省的茶叶资源, 尤其茶叶生产过程中产生的大量茶末、修剪叶以及滞销的粗老茶, 用有机溶剂萃取法生产出茶多酚抗氧化剂, 为产茶区的农民群众脱贫致富开创出一条新路。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

陕西紫阳富硒茶 粉碎后过 30 目筛。

微型高速万能试样粉碎机 河北省黄骅市新电器厂 ;722 型光栅分光光度计 上海第三分析仪器厂 ;603FFD0.5m² 真空冷冻干燥设备 中国航空总公司第六零三研究所。

1.2 分析方法

原料茶叶中水分的测定方法 中华人民共和国国家标准 GB 8304-87。

茶多酚含量的测定方法 中华人民共和国轻工

行业标准 QB 2154-95, 标准物采用没食子酸丙酯。

咖啡碱含量的测定方法 中华人民共和国轻工行业标准 QB 2154-95。

茶多酚制品中总灰分的测定方法 GB 8306-87。

茶多酚制品中砷的测定方法 GB 8450-87。

茶多酚制品中重金属含量的测定方法 GB 8451-87。

1.3 试验方法

1.3.1 茶叶的预处理 市场购买的绿茶, 经粉碎机适当粉碎后, 过 30 目筛, 所得茶末避光保存备用。

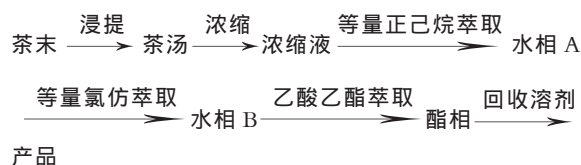
1.3.2 正交试验确定最佳浸提方案 对可能影响茶多酚浸提得率的因素: 浸提剂浓度、浸提剂用量, 浸提体系 pH 及浸提时间做四因素三水平试验, 每次试验均重复三次。

浸提方法: 称取预处理茶末各 1g 分别盛于 30 支洗净烘干并标号的试管中, 按试验方案设置浸提条件, 配制不同浓度及不同 pH 的乙醇溶液, 按计量要求加入相应的试管中。放入水浴锅中恒温 70℃ 浸提。按规定时间取出, 离心分离 (2000r/min) 10min, 分别保留上清液, 并用相应的定量溶剂将渣从离心管中洗出进行二次浸提。浸提完毕重复相同操作, 合并两次浸提液。记录其总体积, 稀释 5 倍后测定茶多酚的含量。

1.3.3 果胶酶对萃取体系的影响试验

1.3.3.1 确定果胶酶加入必要性的试验方法 向 6 支洁净的试管中分别加入 10ml 茶汤, 前 3 支为一组, 不添加果胶酶; 另外 3 支则加入万分之一的果胶酶。然后用乙酸乙酯萃取, 记录酯相体积, 并测定茶多酚的含量。

1.3.3.2 确定果胶酶的加入时机 本试验采用的有机溶剂萃取法的工艺流程为:



所以需确定果胶酶的加入时机, 即加入浓缩液还是水相 A 或 B 中进行作用为最佳。

收稿日期: 2002-04-09

作者简介: 董文宾(1951-), 男, 教授, 研究方向: 食品新材料制备及检测技术。

基金项目: 陕西省自然科学基金资助课题(项目编号: 99SM19)。

1.3.4 冷却静置除杂及混合溶剂洗涤除杂试验 向 9 支洁净试管中分别加入 5ml 茶汤, 均分为三组, 其加入果胶酶的时机分别为: 加入浓缩液中、加入水相 A 中、加入水相 B 中。加入果胶酶作用后, 第一组于冰箱中 (4℃) 静置一夜, 第二天进行萃取试验; 第二组则直接按工艺进行萃取; 第三组于茶汤中加入 2.5ml 氯仿和 2.5ml 正己烷萃取后, 水相再用乙酸乙酯萃取, 记录酯相体积, 测定茶多酚含量。

1.3.5 洗涤除杂及萃取时间的确定

1.3.5.1 混合溶剂洗涤时间的确定 按工艺流程进行试验, 共分六组。洗涤时间分别为 10、20、30、40、50、60min, 洗涤后直接测定水相中茶多酚的含量。

1.3.5.2 乙酸乙酯萃取时间的确定 按工艺流程进行试验, 共分六组。乙酸乙酯萃取时间分别为 10、20、30、40、50、60min, 各萃取两次, 分别测定茶多酚含量, 吸光度分别记为 A₁、A₂。

2 结果与讨论

2.1 正交试验因素水平选择的依据

2.1.1 溶剂的选择 在茶多酚制备过程中, 茶叶浸提有热水浸提和有机溶剂浸提两种方式。在相同条件下, 溶剂为水时, 提取效率低, 当温度升至 100℃, 水对茶多酚提取率增高, 但因温度高, 茶多酚部分遭受氧化导致产品颜色加深 (深褐色), 同时过滤困难 (胶泥状)。大量的文献表明, 乙醇作为浸提剂效果较好, 故本试验选用乙醇作溶剂进行浸提。

2.1.2 乙醇浓度的选择 乙醇浓度越高, 浸提效果越好, 但当浓度高达 80% 以上时, 浸提效果无明显增加, 故本试验选择 70%、80%、90% 三个水平。

2.1.3 溶剂用量的选择 茶多酚浸出量随提取剂的用量增加而增大, 但当用量增加到茶叶十倍水平后, 得率增长缓慢。考虑到成本问题, 故选用 5、7、9 倍三个水平。

2.1.4 浸提体系 pH 的选择 其它条件一定, 在不同的 pH 介质下, 测定不同的时间间隔下茶多酚的氧化率。结果表明, pH ≤ 4.5 时, 茶多酚氧化率随时间的变化不明显; 4.5 < pH < 7.0 时, 氧化率随时间的变化较为缓慢, 但已有明显氧化; 当 pH > 7.0, 尤其在强碱性介质中, 随着时间的延长, 氧化十分严重 [2], 因此选用 pH 2、3、4 三个水平。

2.1.5 浸提时间的选择 一般来说, 浸提时间越长, 浸提效果越好, 但一味延长时间也会导致茶多酚部分氧化分解, 且使生产周期过长, 导致生产效率降低, 故选择 30、60、90min 三个水平。

2.1.6 浸提温度的选择 有机溶剂萃取法提取茶多酚多采用 70~80℃ 温度下进行 [3]。本试验采用 70℃ 进行浸提。

2.2 正交试验结果分析

本试验的指标为茶多酚浸提效果, 其定义为:

$$\text{茶多酚浸提效果}(\%) = \frac{\text{浸提液中茶多酚的含量}}{\text{干茶末的质量}(g)} \times 100\%$$

正交试验结果及分析结论见表 1。

表 1 正交试验结果分析

试验编号	乙醇浓度 A (%)	料液比 B (W:V)	浸提时间 C (min)	pH D	浸提效果 (%)
1	1 (70)	1 (5)	1 (30)	1 (2)	19.51
2	1	2 (7)	2 (60)	2 (3)	23.39
3	1	3 (9)	3 (120)	3 (4)	22.01
4	2 (80)	1	2	1	21.70
5	2	2	3	2	24.55
6	2	3	1	2	24.57
7	3 (90)	1	3	2	20.97
8	3	2	1	3	21.94
9	3	3	2	1	23.71
K ₁	64.91	62.18	66.02	67.76	Σ=202.35
K ₂	70.82	69.88	68.80	68.73	
K ₃	66.62	70.28	67.52	65.65	
k ₁	21.64	20.73	22.01	22.59	
k ₂	23.61	23.29	22.93	22.98	
k ₃	22.21	23.43	22.51	21.88	
编号	A	B	C	D	效果

由表 1 可知, 四种因素对茶多酚浸提效果的影响次序为 B>A>D>C, 即料液比>乙醇浓度>浸提体系 pH>浸提时间。最优组合为 A₂B₃C₂D₂。但考虑到因素 C 对浸提效果的影响最小, 水平 C₁ 与 C₂ 的浸提效果仅相差 0.42%, 且为了提高生产设备的利用率, 选用水平 C₁; 由于水平 B₃ 的乙醇用量是 B₂ 的 1.3 倍, 而浸提效果仅比 B₂ 提高 0.14%, 为节约溶剂, 降低生产成本, 选择 B₂ 较好, 即料液比为 1:7。

综合权衡以上因素, 选择最佳浸提工艺条件为: 乙醇浓度 80%、料液比 1:7、浸提时间 30min, pH 为 2。

2.3 原料茶叶中茶多酚含量的确定

将茶叶原料取 5g 茶末, 按正交试验确定的最佳方案反复浸提 4 次, 测定每次的吸光度, 计算浸提率, 进行 3 次平行测定。结果列于表 2。表中所列数据为三次结果的平均值。

表 2 茶叶中茶多酚含量的测定

浸提次数	吸光度 A	稀释倍数	茶汤体积 (ml)	茶汤浓度 (mg/ml)	浸提率 (%)	累计浸提率 (%)
1	0.466	20	33	25.92	18.66	18.66
2	0.115	20	34	6.29	4.66	23.32
3	0.064	10	34	1.72	1.27	24.59
4	0.045	5	35	0.59	0.45	25.04

由于每一次浸提, 浸提剂 (乙醇) 的用量均相同, 故浸提时浸提次数增加的等效意义是浸提剂消耗总体积的成倍增加。据大量文献报道及理论分析可知, 随着乙醇用量的无限增加, 累计浸提率将不再增大, 而是趋于一个常数, 即茶叶中茶多酚的极限浸提率, 也可看作茶叶中茶多酚的含量。根据上述试验数据绘出乙醇消耗总体积与累计浸提率关系的散点图, 也表明其大致为一指数函数。

设累计浸提率 P 与乙醇消耗总体积 V 的函数关系为 $P=de^{bV}$ 。对测定数据进行回归,得回归方程为: $P=27.11e^{-11.2V}$, 式中 27.11 即所求极限浸提率和茶叶中茶多酚的含量。若令 $V=35 \times 2$, 即浸提两次, 理论上可浸出茶叶中茶多酚总量的 85.2%。而令 $V=35 \times 4$, 即浸提四次, 则可分别浸出总量的 92.31%。所以浸提两次无论从浸提效果还是从节省溶剂角度考虑都是比较合理的。

2.4 有机溶剂法提取茶多酚工艺条件的选定

2.4.1 果胶酶对萃取体系的影响 茶水中含有几百种可溶于水的物质, 溶液性质很复杂, 特别是果胶的存在, 对茶水性质起到重要影响。果胶影响茶多酚萃取体系的有机相和水相的界面特性, 减小茶多酚在两相中的分配比, 且使茶多酚萃取溶剂在茶水中分散与凝聚困难, 导致茶多酚萃取体系的传质速率和茶多酚萃取率下降。潘丽军^[4]、禹利君^[5]、钱晓军^[6]等的研究表明, 通过添加果胶酶, 对茶多酚萃取体系的茶水进行酶解处理, 可显著改善萃取体系的传质速率。

2.4.1.1 确定果胶酶加入的必要性 果胶酶使用条件: pH3.5~4.5, 温度 50~52℃, 浓度 0.15~1.5/万, 时间 30min, 作用量 0.05%。测定结果如表 3。

表 3 果胶酶加入的必要性

	第一组			第二组		
	1	2	3	4	5	6
茶汤体积 (ml)	10	10	10	10	10	10
酯相体积 (ml)	9.8	9.6	9.5	9.8	9.6	9.5
吸光度 A	0.69	0.67	0.663	0.718	0.740	0.734

试验结果也印证了文献报道: 果胶酶能明显改善萃取体系, 使茶多酚萃取率增大。

2.4.1.2 果胶酶的加入时机 试验结果列于表 4。

原茶汤稀释 12.5 倍测定 $A=0.255$, 即 $c=8.83\text{mg/ml}$ 。

定义相对提取率 (%) = $\frac{\text{提取出的茶多酚含量}}{\text{原茶汤中的茶多酚含量}} \times 100\%$

由试验结果可知, 第一组即于浓缩液中加入果

表 4 果胶酶的加入时机

	第一组				第二组			第三组	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
茶汤体积 (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
酯相体积 (ml)	5.5	5.6	5.7	5.6	5.8	5.3	5.7	5.6	5.8
吸光度 A	0.711	0.699	0.684	0.538	0.523	0.577	0.574	0.575	0.547
相对提取率 (%)	49.00	49.12	48.93	37.88	38.08	37.03	41.06	40.40	39.82

表 5 除杂效果的比较

	第一组				第二组			第三组	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
茶汤体积 (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5
酯相体积 (ml)	5.2	5.6	5.1	5.3	5.3	6.1	4.8	4.7	4.4
吸光度 A	0.660	0.543	0.521	0.787	0.917	0.661	0.545	0.595	0.604
相对提取率 (%)	29.52	26.16	22.86	35.88	41.80	34.60	45.01	48.77	45.72

注: 表中前两组测定时的稀释倍数为 5 倍, 第三组为 10 倍。原茶汤稀释 25 倍后测定吸光度 $A=0.465$ 。

胶酶再进行后续工作, 效果最好。

2.4.2 冷却静置除杂及混合溶剂洗涤除杂试验 试验结果列于表 5。

茶叶除富含茶多酚外, 还存在大量纤维素、蛋白质、糖类、无机物、色素和咖啡碱等杂质。文献报道已尝试使用正丁醇、甲基正丁醇、丙酮、氯仿、正己烷等多种有机溶剂萃取, 但最常见的是使用正己烷脱色素、氯仿除咖啡碱, 本试验采用混合溶剂萃取效果较好。使用正己烷、氯仿同时萃取比分别用正己烷、氯仿萃取损失少, 而与单一溶剂相比, 产品杂质少。故既能节省溶剂, 又可提高茶多酚的提取率。试验过程中要先加入氯仿, 振摇 30s 后再加入正己烷, 轻摇 30s, 静置分层即可。原因是剧烈摇动或不按此顺序进行会引起上层正己烷进入其它层或分层困难等问题。

此外试验结果还表明, 冷却静置未能提高茶多酚的得率。

2.4.3 洗涤除杂及萃取时间的确定

2.4.3.1 混合溶剂洗涤除杂时间的确定 试验结果见表 6。

表 6 混合溶剂除杂时间的比较

	1	2	3	4	5	6
茶汤体积 (ml)	5	5	5	5	5	5
时间 (min)	10	20	30	40	50	60
吸光度 A	0.422	0.412	0.411	0.414	0.412	0.425

注: 测定时稀释倍数均为 10 倍, 原茶汤稀释 12.5 倍, 测定 $A=0.439$ 。

可以看出第一、六组较好, 且互相接近, 虽然后者略好一些, 但考虑到生产效率问题, 选用前者, 即除杂时间确定为 10min。

2.4.3.2 乙酸乙酯萃取时间的确定 试验结果列于表 7。

将吸光度换算成茶多酚浓度后, 由试验结果可以看出, 乙酸乙酯萃取操作采用的最佳时间为 10min。

另外, 经过两次用乙酸乙酯萃取, 已可以萃出原

表 7 乙酸乙酯时间的比较

	1	2	3	4	5	6
茶汤体积 (ml)	5	5	5	5	5	5
时间(min)	10	20	30	40	50	60
吸光度 A ₁	0.435	0.427	0.405	0.421	0.434	0.435
吸光度 A ₂	0.191	0.173	0.206	0.188	0.180	0.176

注:酯相测定稀释倍数为 5 倍,原茶汤吸光度 A=0.135,稀释倍数为 25 倍。

茶汤中茶多酚总量的百分数为: $\frac{6.05 \times 5 + 2.64 \times 5}{9.26 \times 5} \times$

100%=93.84%。故用乙酸乙酯萃取两次已较完全,且又节省溶剂。

2.4.4 有机溶剂法制备茶多酚的结果 用上述确定的最佳工艺条件制备茶多酚,结果见表 8。

表 8 有机溶剂法制备茶多酚的得率及纯度

	1	2	3
茶汤体积 (ml)	5	5	5
酯相体积 (ml)	6.7	6.2	6.7
吸光度 A	0.364	0.352	0.382
提取率 (%)	19.09	17.08	20.09
平均值		18.73	
纯度 (%)		80.17	

注:表中测定吸光度时的稀释倍数为 10 倍。

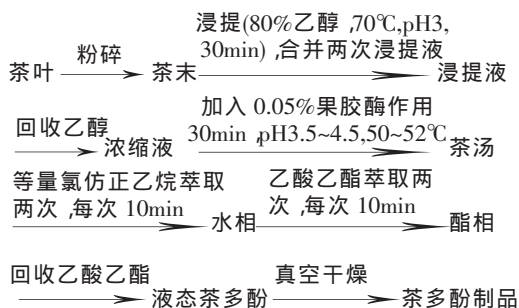
表 9 不同茶叶原料制备粗品的比较

茶叶品名	原料产地	价格 (元/斤)	酯相吸光度 A	酯相体积(ml)	有效物提取率 (%)
午子仙毫	陕西汉中	-	0.434	25.5	16.78
午子绿茶	陕西汉中	-	0.412	27.0	16.86
炒青	平利县长安乡	7.5	0.485	24.5	18.02
炒青	平利县长安乡	6.0	0.396	29.0	17.40
炒青	紫阳县班桃茶厂	12.0	0.386	25.5	14.91
炒青	紫阳县红椿	8.5	0.354	32.0	17.15
炒青茶末	紫阳县	2.5	0.362	8.5	10.14

茶多酚的主要理化指标为 (%) :提取率 21.72 ;纯度 80.17 ;水分 5.5 ;总灰分 0.8 ;砷 0.00003 ;重金属(以 Pb 计)0.0005 ;咖啡碱 2.4。

2.4.5 有机溶剂法制备茶多酚的工艺路线

通过以上试验,确定有机溶剂法制备茶多酚的具体工艺路线如下:



茶叶茶末浸提液浓缩液茶汤水相酯相液态茶多酚茶多酚制品

2.4.6 不同产地、不同价格茶叶原料制备茶多酚的比较 按上述试验确定的茶多酚制备方法,用陕西

汉中、安康两地市 8 个采样(县)地点的茶叶为原料制备茶多酚,对其得率加以比较。每种茶样均做两个平行试验。

定义:有效物提取率(%)=

$$\frac{\text{乙酸乙酯萃取液中茶多酚的含量}}{\text{原料茶末的质量(绝干,g)} \times 1000} \times 100\%$$

注:原料茶末均称取 5g,茶叶中的水分统一按 8.3%计算。

由表 9 可见,不同产地,不同价格的茶叶原料其茶多酚提取率是不等的,即便同一产地的茶叶,价格不同,提取率也不同。但并非档次越高提取率越高,这正是以粗老茶、修剪茶制备茶多酚的经济效益所在。上述汉中、安康 7 个地、县采样点的茶叶原料对比结果:安康地区平利县长安乡的茶叶其有效物提取率最高。

3 结论

3.1 正交试验法确定的最佳浸提方案为:选用七倍于茶末质量的 80%乙醇作浸提溶剂,调 pH 为 3,在 70~80℃浸提两次,每次 30min。

3.2 采用混合溶剂萃取除杂法与文献报道的用正己烷脱色素、氯仿去除咖啡碱的工艺相比,产品得率

高、杂质少且节省时间和溶剂。

3.3 经过以汉中市及安康市七种茶叶作原料进行粗品制备试验,以平利县长安县样品得率最高。

3.4 用本文建立的方法制得的茶多酚制品得率达 18.73%,纯度可达 80.17%,各项理化指标均符合国家有关标准的规定。

参考文献

- 1 GB12493-90
- 2 葛宜掌,等.茶多酚的离子沉淀提取法.应用化学,1995,12(2):107~109
- 3 谢笑天,等.茶灰中提取抗氧化剂工艺研究.云南师范大学学报,1997,17(3):50~52
- 4 潘丽军,等.果胶酶对萃取体系传质效果的影响.食品科学,1999,12
- 5 禹利君,等.茶叶加工中的酶学研究进展.茶叶通讯,1998,16(2):31~34
- 6 钱晓军,等.果胶酶提高茶汁膜分离性能的研究.食品科学