

金花茶多酚提取工艺的研究

颜栋美, 李仁菊, 丘华, 王崑, 李欣

(广西大学轻工与食品工程学院食品系, 广西 南宁 530004)

摘要: 本文研究了金花茶干叶中多酚提取的工艺条件。通过单因素实验考察了微波辅助提取过程中乙醇浓度、微波功率、微波处理前后物料的浸泡时间、微波处理时间、料液比和 pH 值等多种因素对金花茶多酚得率的影响。并通过正交试验进行优化, 得出最佳提取工艺为: 提取溶剂 30% 乙醇, 料液比 1:30, 常温浸泡 20 min, 500 w 微波处理 40 s 后再常温浸泡 1 h, 在此工艺下金花茶多酚得率为 9.36%。

关键词: 金花茶; 多酚; 微波; 提取

中图分类号: R282.5; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)09-0045-05

Extraction of Tea Polyphenols in *Camellia Chryscath*

YAN Dong-mei, LI Ren-ju, QIU Hua, WANG Wei, LI Xin

(College of Light Industry and food Engineering, GuangXi University, Nanning 530004, China)

Abstract: The extraction of tea polyphenols (TPs) in dry *Camellia chryscath* was studied. The influence of some key factors on TPs extraction yield was investigated and the optimal ethanol concentration, solid-liquid ratio, microwave power, microwave heating time, dipping time under normal temperature before and after microwave treatment were found to be 30%, 1:30, 500 w, 40 s, 20 min and 1 h, respectively. Under the optimized extraction conditions, the extraction yield of TPs reached 9.36%.

Key words: *Camellia chryscath*; polyphenols; microwave; extraction

金花茶 (*Camellia chryscath*) 为山茶科、山茶属、金花茶组、金花茶系植物, 是一种保健价值很高的珍稀植物。自古以来, 广西当地的壮族民间有采摘金花茶叶片代茶饮用的习惯。而且从 1965 年正式命名为金花茶以来也有 30 年以上的代茶饮用的历史, 从未发现有任何毒副作用。说明金花茶完全可以作为食品资源进行开发利用^[1]。由于金花茶资源分布的局限性, 仅日本、美国对金花茶花的观赏性有少量的研究, 国外在金花茶的化学成分和药用价值研究方面尚未见任何报道^[2-3]。

目前金花茶叶饮料加工采用的是水煮法。水煮法风味差, 苦味重; 而采用纯水浸提法, 浸提率低滋味淡薄^[4]。笔者旨在探讨一种合适的浸提方法, 以提高金花茶多酚的溶出率。

微波辅助提取技术是近年来发展起来的一种新的方法, 具有快速、高效安全、节能等优点, 在国外已被用于一些植物成分的提取^[5-12]。本文研究微波辅助提取技术在金花茶多酚提取中的应用, 并采用了正交试验优化了金花茶多酚的微波辅助提取条件。

1 主要仪器和试剂

UV21601 紫外可见分光光度计, 日本岛津; 电子分析天平, Mettler2toledoGroup; 真空冷冻干燥机, MODEL77500 FREEZE DRY SYSTE, made in USA; RE252AA 旋转蒸发器; SHB2A 循环水多用真空泵; 恒温振荡培养箱; TM-HF-XS 膜分离试验机; 中空纤维柱; samsung N7Q77 微波炉; SB-5200 超声波清洗机; Mettler Tloedo DELTA 320 pH 计。

没食子酸标准品, 色谱纯; 硫酸亚铁, 酒石酸钾钠, 磷酸氢二钠, 磷酸二氢钾, 乙醇等均为国产分析纯。

2 实验方法

2.1 金花茶干叶末的制备

金花茶老干叶 (广西合浦永佳金花茶开发有限公司提供的烘干原料), 经测定水分含量为 11.96%, 茶叶粉碎后过 30 目, 待用。

2.2 检测方法

2.2.1 茶多酚的测定

浸提液中茶多酚含量的测定采用酒石酸亚铁比色法。吸取样液 1.0 mL, 置于 25 mL 容量瓶中, 加水至

收稿日期: 2007-06-14

作者简介: 颜栋美(1963-), 副教授, 硕士生导师

体积为 5.0 mL, 再各加入 5.0 mL 酒石酸亚铁溶液, 用 pH 为 7.5 的磷酸缓冲液定容至 25 mL, 混匀, 静置 15 min, 在 540 nm 波长处测定吸光度。

2.2.2 标准曲线的绘制

以 0.5 mg/mL 的没食子酸标准液按上述方法测定, 然后以没食子酸标准液的含量为横坐标, 其吸光度为纵坐标作标准曲线, 计算回归方程为: $y=0.2698x+0.0054$, 相关系数 $R=0.9996$ 。

2.3 金花茶多酚的提取

称取 30 目的金花茶叶末 2.00 g, 用不同的提取溶剂按一定的固液比浸润一定的时间, 传统加热回流或微波辐射处理, 然后抽滤, 滤液定容, 用酒石酸亚铁法测定 A_{540} , 计算干叶多酚含量。

3 结果与分析

3.1 不同的提取方法下金花茶多酚的得率

分别考察用蒸馏水和 60% 乙醇作为溶剂, 按料液比 1:20, 在以下条件下进行萃取: 80 °C 恒温水浴回流提取 1 h; 60 °C 恒温超声波震荡提取 1 h; 常温浸泡 1 h 后微波处理 30 s; 结果如图 1 所示。

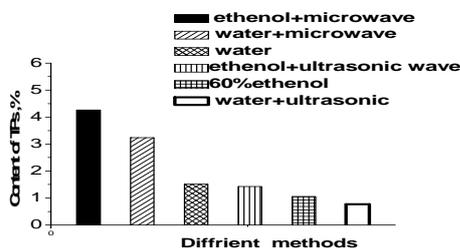


图 1 不同提取方法对金花茶多酚得率的影响

Fig.1 The influence of content of TPs by diffrent extractive method

由图 1 可知, 与传统加热回流抽提相比, 在微波辅助提取的条件下, 多酚的含量明显提高, 其中水浸提的多酚含量由传统加热回流的得率 1.52% 提高到 3.24%, 乙醇浸提由 1.05% 提高到 4.26%。用超声波提取多酚在得率上没有优势, 60% 乙醇微波处理 30 s 效果明显比其余 5 种方法高。在微波辐射下多酚能迅速溶出, 是由于在交频磁场、电场作用下, 极性分子取向随电场方向改变而改变, 从而导致分子旋转、振动或摆动, 加剧分子运动及相互间的碰撞频率, 使分子在极短时间内达到活化状态, 促使植物细胞破裂, 有助于极性分子多酚类渗出扩散到溶剂中来。

3.2 微波浸提工艺单因素试验

根据以上实验结果, 采用乙醇溶液作为提取溶剂,

用微波进一步处理样品, 考察乙醇浓度、微波功率、浸提时间、微波处理时间、料液比和 pH 值等 7 种因素对金花茶多酚得率的影响。

3.2.1 提取溶剂浓度对金花茶多酚得率的影响

将茶末分别置于 40 mL 不同浓度乙醇溶液中, 常温浸泡 60 min, 500 w 微波辐射 30 s, 结果如图 2 所示。

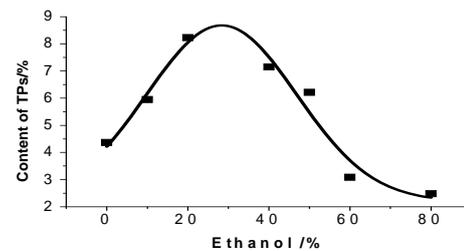


图 2 乙醇浓度对金花茶多酚得率的影响

Fig.2 The influence of content of TPs by ethanol

实验结果经 origin 7.5 软件进行拟合, 拟合结果图形呈高斯分布, 30% 乙醇提取的多酚得率最高, 当乙醇浓度超过 30% 后, 提取效率随着乙醇浓度的上升而快速下降, 下降趋势非常明显。由于微波适宜用极性的溶剂做提取剂, 提取的选择性主要取决于目标物质和溶剂性质的相似性^[13], 且实验原料叶表面蜡质层厚, 质地细密, 与文献^[14]报导低浓度的乙醇更有利于金花茶细胞内物质的溶出相吻合。金花茶多酚在 20%~30% 乙醇中溶解度最大。

3.2.2 微波功率对金花茶多酚得率的影响

茶末先用 30% 乙醇溶液在微波辐射前浸泡 60 min, 料液比 1:20, 以不同的微波功率(100 w~700 w) 辐射 20 s, 结果如图 3 所示。

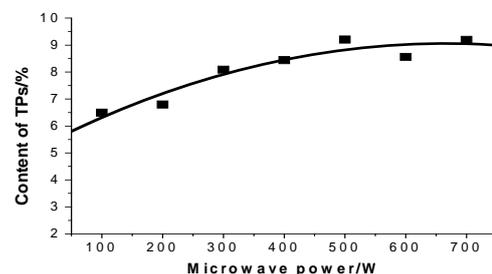


图 3 微波功率对金花茶多酚得率的影响

Fig.3 The influence of content of TPs by microwave power

由图 3 可知微波功率小于 500 W 时提取效果呈缓慢的上升趋势, 500 W 为最高点, 然后略有下降。由于不同结构的物质对不同功率微波的吸收能力有差别, 待测组分会被选择性加热, 使之与机体分离后进入萃取剂中^[15]。推测 500 W 功率处的微波最易被金花

茶中的多酚类物质吸收从而转移到溶剂中。

3.2.3 微波处理时间对金花茶多酚得率的影响

茶末先用 30% 乙醇溶液浸泡 60 min, 料液比 1:20, 然后在 500 W 微波功率下对样品分别辐射 15 s、20 s、25 s、30 s、35 s、40 s, 在此处理条件下不会造成物料沸腾外溢, 结果如图 4 所示。

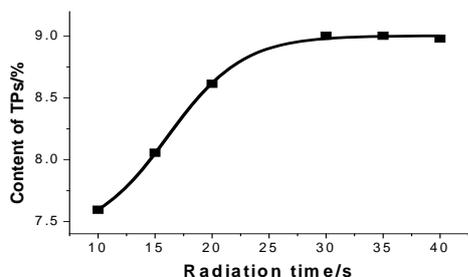


图 4 微波处理时间对金花茶多酚得率的影响

Fig.4 The influence of content of TPs by radiation time

由图 4 所知, 随着辐射时间的延长, 多酚得率逐渐上升, 处理时间超过 30 s 后得率趋向平缓。推测经微波处理后金花茶叶细胞内细胞器被破坏, 多酚得以释放溶出, 随着处理时间的延长, 微波辐射在破坏细胞结构的同时, 也对有效成分进行破坏, 因而存在最佳微波处理时间和辐射功率。

3.2.4 料液比对金花茶多酚得率的影响

茶末先用 30% 乙醇溶液浸泡 60 min, 按不同的料液比(1:15~1:40), 500 W 微波功率处理 35 s。实验结果见图 5。

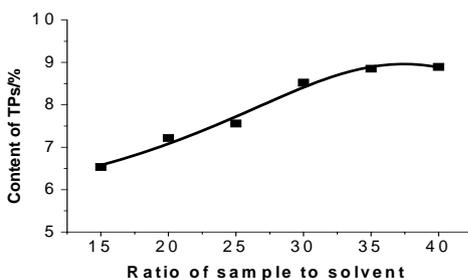


图 5 料液比对金花茶多酚得率的影响图

Fig.5 The influence of content of TPs by ratio of sample to solvent

从图中可看出多酚随着溶剂的比率增加溶出效果增大, 达到 1:30 时得率趋向平缓, 综合考虑到溶剂和下一步浓缩的成本, 很明显 1:30 的效果优于其他, 能保证原料得到充分的浸泡使有效成分有溶出的足够的介质空间。选取料液比为 1:30。

3.2.5 辐射前常温浸泡时间对金花茶多酚得率的影响

茶末按料液比 1:30, 30% 乙醇溶液在微波处理前

浸泡一定时间 (5~120 min), 500 W 微波功率处理 35 s。实验结果如图 6 所示。

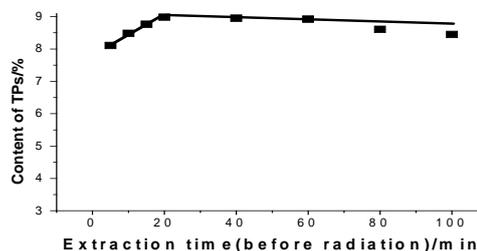


图 6 辐射前浸泡时间对金花茶多酚得率的影响

Fig.6 The influence of content of TPs by extraction time before radiation

结果显示微波辐射前浸泡时间为 0~20 min 时多酚的得率呈上升趋势, 达到 20 min 后, 随着浸泡时间的延长, 提取效果并没有增长的现象。考虑到节省时间, 提高效率, 微波辐射前浸泡 20 min 有利于茶叶细胞物充分润湿和茶多酚的溶出。

3.2.6 辐射后常温浸提时间对金花茶多酚得率的影响

茶末先用 30% 乙醇溶液浸泡 20 min, 料液比 1:30, 500 W 微波功率处理 35 s。辐射处理后再放置于室温下浸泡一定的时间 (5~140 min)。结果如图 7 所示。

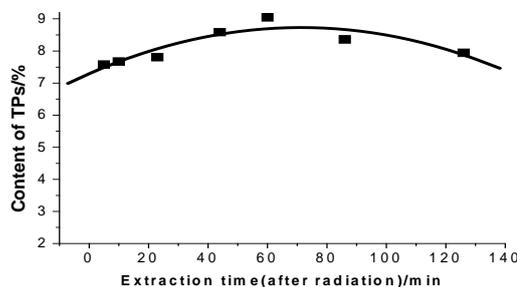


图 7 辐射后浸泡时间对金花茶多酚得率的影响

Fig.7 The influence of content of TPs by extraction time after radiation

从图中可以看出, 金花茶经微波处理后, 随着浸泡时间的延长, 提取液中多酚的含量逐渐上升。至 60 min 时达到最大值后开始下降。此时可能多酚在空气中被氧化的速率大于渗出速率。因此选择辐射后常温浸泡 60 min 以提高多酚的渗出率。

3.2.7 pH 对金花茶多酚得率的影响

30% 乙醇用 1% 盐酸和 1% NaOH 调节 pH (2~7), 料液比 1:30, 500 W 微波功率处理 35 s。辐射后再置于室温下浸泡 1 h, 结果如图 8 所示。结果发现 pH 对提取的影响效果不显著, 且额外引入了杂离子, 不利分离提纯。

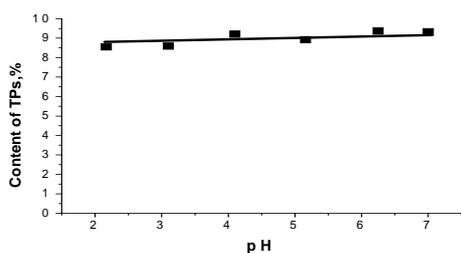


图8 pH对金花茶多酚得率的影响

Fig.8 The influence of content of TPs by pH

4 正交试验

4.1 正交试验的因素水平

在单因素实验的基础上,采用正交设计进一步研究金花茶多酚的提取工艺。实验选择三因素三水平,重点研究乙醇浓度A,辐射时间B,微波功率C对金花茶多酚浸提效果的影响。正交试验按以下操作进行:称取30目的金花茶叶末2.00g,料液比1:30,先用不同浓度的乙醇溶液浸泡20min,然后在不同的微波功率水平下处理一定的时间,辐射处理后再放置于室温下浸泡60min。因素水平见表1,结果见表2。

表1 浸提条件水平、因子编码表

Table 1 Code of orthogonal design factors and levels

水平	A 乙醇浓度/%	B 微波处理时间/s	C 微波功率/w
1	20	30	450
2	25	35	500
3	30	40	550

表2 浸提工艺对茶多酚得率的影响

Table 2 Effects of extraction process on the yield of TPs

试验号	A乙醇浓度/%	B处理时间/s	C微波功率/w	多酚/%
1	20	30	450	8.15
2	20	35	500	8.59
3	20	40	550	8.47
4	25	30	500	9.11
5	25	35	550	8.96
6	25	40	450	9.08
7	30	30	550	9.34
8	30	35	450	9.27
9	30	40	500	9.34
k1	8.4	8.87	8.83	
k2	9.05	8.94	9.01	
k3	9.3	8.96	8.92	
R	0.91	0.09	0.18	
较优水平	A3	B3	C2	

注:多酚含量为每100g干茶叶中所含总茶多酚的克数。

表3 方差分析表

Table 3 The table of variance analysis

变量来源	平方和	自由度	均方	F值
A浓度/%,SS _A	1.3235	2	0.6617	23.86
B时间/S,SS _B	0.0153	2	0.0076	0.28
微波功率/w,SS _C	0.0486	2	0.0243	0.88
误差SS _E	0.0555	2	0.0277	
总数SS _T	1.4428	8	0.6617	

从正交表2可知,各因素对TPs浸出率影响的主次顺序为:ACB,即乙醇浓度对TPs浸出率影响最大,其次是微波功率,再次是微波处理时间。最优水平组合为A3、B3、C2即乙醇体积百分比为30%,辐射时间为40s,微波功率为500w,料液比为1:30,微波处理前浸提时间为20min,辐射后浸泡60min,在此提取工艺条件下金花茶叶中茶多酚的含量可达9.34%。

F检验:由表3可知乙醇浓度的F值23.86>F(2, 2)_{0.05}(=19.00),故乙醇浓度对茶多酚的得率有显著的影响。而微波处理时间和功率的F值分别为0.28和0.88,远小于F(2, 2)_{0.05}(=19.00),因此微波处理时间和功率对茶多酚的得率无显著的影响。考虑到工艺条件的实用性,拟选择的工艺条件为乙醇体积百分比为30%,辐射时间为40s,微波功率为500w,料液比为1:30,辐射前浸提时间为20min,辐射后浸泡60min,在此提取工艺条件下金花茶叶中茶多酚的得率可达9.34%。

4.2 验证试验

按正交试验结果确定的最佳工艺方案A3、B3、C2,做三个验证得出的结果为茶多酚得率为9.35%,9.40%,9.34%,平均得率为9.36%,RSD=0.37%,结果表明该工艺重现性好,达到了优化的目的。

5 结论

5.1 在金花茶多酚的浸提工艺中超声波处理明显不如微波处理的得率高,这可能与金花茶叶片的组织结构有关,本次实验的原料为广西防城港的金花茶成熟叶片,其表面蜡质层厚,组织细密,超声波的机械震荡作用远不及微波的内部分子水平穿透作用对茶多酚的溶出更有效。

5.2 微波辐射属热辐射,对植物样本的萃取处理,能因不同植物的不同成分和不同细胞或组织对微波吸收能力的差异,而产生细胞内产物释放的一定选择性^[16],所以体现出萃取高效性特点。有效成分金花茶多酚在预处理过程中,在低浓度乙醇浸泡作用下得到充

分润湿,有利于微波热的传导,经微波辐射后金花茶叶细胞内细胞器被破坏,微波辐射在破坏细胞结构的同时,也对有效成分进行破坏,因而存在最佳微波辐射时间和辐射功率,使有效成分得率最高。

5.3 乙醇浓度对茶多酚的得率有显著的影响,醇体积百分比为 30% 提取效果最好,这也可能与金花茶叶片的组织结构有关,低浓度的乙醇对金花茶的提取更有利。工艺条件经单因素和正交优化后得出最佳工艺为,30% 乙醇为溶剂,辐射时间为 40 s,微波功率为 500 w,料液比为 1:30,辐射前浸提时间为 20 min,辐射后浸泡 60 min,在此提取工艺条件下金花茶叶中茶多酚的含量可达 9.36%,是传统加热水回流提取的 6 倍。

参考文献

- [1] Qin XM, Ning NC, et al. The Development and application of Camellia Chryscath as new food resources. Guangxi Tropical Agriculture, 2005, 02
- [2] Deng GY. The analysis of studies about Camellia chryscath. Guangxi Tropical Agriculture, 2001, 1, 40-42
- [3] GongDao YF. Study of the color and natural pigm-ent of F1 generation in camellia chrysantha. Guangxi Fores-try Science, 1997, 1(26), 52-53.
- [4] Wang YF, Wei XL, et al. Studying on Enzy-matic Extraction process condition of Yellow Flower Camel-lia. Journal of Wuxi University of light Industry, 2001, 20(6), 582-593.
- [5] Ma YC, Yang RW, Guo ZX. The application of microwave assisted extraxtion and analysis in Chinese Traditional and Herbal Drugs [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2004, 35(11): 7210
- [6] Ganzler K, Salgo A, Valko K. Microwave extraction-anovel sample preparation method for chromatography [J]. J Chrom-atogr, 1986, 371: 299
- [7] Ganzler K, Szinai I, Salgo A .Effective sample preparation method for extracting biologically active compounds from different matrices by microwave technique [J]. Chromatogr,1990,520:257
- [8] Pare J R J. Microwave-assisted natural products extraction. U.S. Patent, 1991, No. 5002784
- [9] Chen K K, wong M K, Lee H K. Optimization of micro-waveassisted solvent extraction of polycyclic aromatic hydro-carbons in marine sediments using a microwave extraction system with high-performance liquid chromatography fluorescence detection and gas chromatography-mass spectrometry. Journal of Chromatography, 1996, 723:259-271
- [10] Chen S S. Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and a hexaneethanol mixture. Flavour Fragrance Jnl, 1999, 10:101-112
- [11] Spiro M. Kinetics of isothermal and microwave extraction of essential oil constituents of peppermint leaves into several solvent systems. Flavour Fragrance Jn l, 1995, 10:259-272
- [12] Young J C. Microwave-assisted extraction of the fungal met--tabolite ergosterol and total fatty acids. Journal of Agriculture and Chemistry. 1995, 43:2904-2910
- [13] Feng NP, Fan GP, et al. Application of Microwave-Assisted Extracting Technology to Extraction of Active Compounds from Chinese Materia Medica. World Science Technology-Modernization of Traditional Chinese Medicine, 2002, 4(2) 49-52
- [14] Qin XM, Ning NC, et al. Studying on new extracting process of the pharmaceutical components in cam-ellia chryscath. Science and Technology of Food Industry, 2005, (10): 122-124
- [15] Wang MD, Xie PS, Wang ZD. Extraction and isolation and structure identification of natural organic components. Chemical industry Publishing House, 2004
- [16] LI UL, LI X, JINTM. The application of HPLC in analysis of anthocyanidines [J]. Beijing Agri.Sci., 1998, 16(2): 30-32

饭后喝菜汤防病益健康

饭后喝菜汤能够预防疾病有益健康,因为汤里面含有人体所需要的甜菜碱。

甜菜碱: 人体重要营养素,一是调节细胞里的水分,使细胞的体积和功能保持正常。二是提供甲基。如果食物里甲基含量不足,体内蛋氨酸循环就会受阻,引起多种慢性病。研究发现,增加含甜菜碱丰富的食品的摄入量,能使由同型半胱氨酸血症引发的多种病症得到缓解,降低健康人发生心血管病的风险。

甜菜碱是水溶性营养素,所以在烹制蔬菜的过程中,蔬菜中的甜菜碱会随细胞受热膨胀破裂而进入菜汁。我国居民历来有喝菜汤的饮食习惯,应当说,这是比较科学的,应当继续保留和提倡,但应注意少放盐。