

响应面法优化超声 - 微波协同辅助提取 茶多糖工艺

陈义勇¹, 窦祥龙², 黄友如¹, 朱东兴¹, 郁 达¹

(1.常熟理工学院生物与食品工程学院, 江苏 常熟 215500; 2.常熟海虞茶叶有限公司, 江苏 常熟 215500)

摘 要: 以水作为提取溶剂, 粗绿茶作为原料, 通过响应面优化超声 - 微波协同辅助提取茶多糖的最佳工艺条件, 比较传统水浴浸提法和超声 - 微波协同辅助提取法对茶多糖得率、纯度和结构的影响。结果表明: 超声 - 微波协同辅助提取茶多糖的最佳工艺条件为提取时间 23min、料液比 1:30(g/mL)、微波功率 90W。与传统的水浴浸提法相比, 超声 - 微波协同辅助提取法在较短的超声提取时间下, 茶多糖的得率从 2.95% 提高到 4.19%, 纯度从 70.15% 提高到 86.08%, 两种提取方法所得的茶多糖基团基本相同。

关键词: 超声 - 微波协同辅助提取; 传统水浴浸提法; 茶多糖

Optimization of Ultrasonic/Microwave-Assisted Extraction of Polysaccharides from Green Tea by Response Surface Methodology

CHEN Yi-yong¹, DOU Xiang-long², HUANG You-ru¹, ZHU Dong-xing¹, YU Da¹

(1. School of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China;

2. Changshu Haiyu Tea Co. Ltd., Changshu 215500, China)

Abstract: Response surface methodology was used to optimize the ultrasonic/microwave-assisted extraction of water-soluble polysaccharides from crude green tea. The traditional water extraction and ultrasonic/microwave-assisted extraction methods were compared for their effect on extraction efficiency, purity and structure of polysaccharides. The optimal ultrasonic-assisted extraction conditions were extraction time of 23 min, material-to-liquid ratio of 1:30 (g/mL) and microwave power of 90 W. The ultrasonic/microwave-assisted extraction method required shorter time and increased polysaccharide yield from 2.95% to 4.19% and polysaccharide purity from 70.15% to 86.08% compared with the traditional water extraction method. Polysaccharides extracted by the methods had basically the same groups.

Key words: ultrasonic/microwave-assisted extraction; traditional water bath extraction; polysaccharides from green tea
中图分类号: TQ929.2; TS272 文献标识码: A 文章编号: 1002-6630(2012)04-0100-04

我国是茶叶生产大国, 但是茶叶生产附加值并不高, 主要是未经过深加工, 粗老茶叶得不到充分利用, 造成严重浪费, 解决这些粗老茶叶的唯一途径是对其综合利用, 从中提取多种有效成分, 应用于食品、药品等领域^[1]。茶多糖是一类从茶叶中提取出来的多糖类化合物, 具有增强免疫力、降血脂、降血糖、抗辐射、抗凝血、抗血栓等功效, 具有多种药理作用, 且原料很丰富, 开发前景非常广阔^[2]。传统水浴浸提多糖存在提取时间长、效率低的缺点, 近年来超声萃取、微波萃取等新技术在生物、医药和食品等领域应用很广泛, 在工业化方向迅速发展^[3-4]。

微波作为一种电磁能, 可以大大降低提取时间, 提高提取速度^[5]。超声波作为弹性介质中的一种机械波, 辅助提取多糖具有操作简便快捷、能耗低、不破坏有效成分、提取效率高的特点^[6]。目前报道的茶多糖的提取方法主要有水法提取^[1]、微波辅助提取^[7]、超声波辅助提取^[8]等, 但是应用微波 - 超声辅助技术提取茶多糖的研究尚未见报道。本实验将超声和微波提取技术结合起来, 充分利用超声和微波提取技术的优点, 探讨超声 - 微波协同辅助技术提取茶多糖的最佳工艺, 并和传统水浴浸提进行比较, 旨在为茶多糖的工业化生产提供参考。

收稿日期: 2011-01-28

基金项目: 常熟市 2010 年农业科技计划项目(CN201014)

作者简介: 陈义勇(1974—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品科学与天然活性成分。E-mail: chenyyxp@126.com

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

粗绿茶 常熟海虞茶叶有限公司。

葡萄糖、苯酚、浓硫酸、乙醇等均为分析纯。

RE-52A 型旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器公司；
DJ-04 粉碎机 上海淀久中药机械制造有限公司；CW-2000 超声-微波协同萃取仪 上海新拓微波溶样测试技术有限公司；752 型紫外-可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司；LD4-ZA 型离心机 北京医用离心机厂；SHB-B 循环水式真空泵 郑州长城科工贸公司；LGJ-10 冷冻干燥仪 南京百思威科技有限公司；Nicolet Nexus 傅里叶红外光谱仪 美国 Thermo Electron 公司。

1.2 方法

1.2.1 茶多糖超声-微波协同辅助提取

粗绿茶经过粉碎后，过 60 目筛，用 95% 乙醇在 70℃ 条件下回流 2 次，每次 3h，以有效去除部分醇溶性物质，然后 2000r/min 离心 30min，去除上清液，沉淀经 60℃ 真空干燥，得到预处理茶叶粉。茶多糖超声-微波辅助提取参考文献[9]的方法：将预处理的茶叶粉末置于与 50W 超声波换能器紧密黏结的 250mL 玻璃萃取容器中，进行水浴浸提，设定一定的萃取时间和微波辐射功率，开启仪器，萃取后冷却，然后将提取液离心(1000r/min, 15min)，合并上清液，将上清液减压浓缩，然后向浓缩上清液中加入 95% 工业酒精，调至含醇量为 80%，静置过夜后离心，沉淀用无水乙醇洗涤 3 次，然后冷冻干燥即得茶多糖。

选取提取时间、料液比和微波功率作为因素，以多糖得率和纯度作为指标进行单因素试验。根据单因素试验结果，利用 SAS 软件系统进行响应面分析，以提取时间、料液比和微波功率作为主要因素，以多糖得率和纯度作为响应值，设计三因素三水平的二次回归方程来拟合因素和指标(响应值)之间的函数关系，确定超声-微波协同辅助提取茶多糖的工艺参数。

1.2.2 茶多糖含量测定及得率、纯度计算

茶多糖含量测定采用苯酚-硫酸法^[10]；得率、纯度按下式计算：

$$\text{茶多糖得率} / \% = \frac{\text{粗多糖质量}}{\text{原料质量}} \times 100$$

$$\text{茶多糖纯度} / \% = \frac{\text{测定的多糖质量}}{\text{粗多糖质量}} \times 100$$

1.2.3 传统水浴浸提法与超声-微波辅助提取的比较

1.2.3.1 得率和纯度的比较

分别在两种提取方法的最优工艺条件下提取茶多糖，每次处理平行操作 3 次，分别测定多糖得率和纯度，然后取平均值。

1.2.3.2 红外光谱分析

为了考察超声-微波协同辅助提取法和传统水浸提法对茶多糖结构的影响，分别取两种提取方法所得的茶多糖 1mg，KBr 研磨压片，采用 Nicolet Nexus FT-IR 于 4000~400cm⁻¹ 范围内进行扫描，分辨率为 4cm⁻¹。

2 结果与分析

2.1 提取时间对茶多糖得率和纯度的影响

在液料比 1:30(g/mL)、微波功率 70W 条件下，研究不同提取时间(10、15、20、25、30、35min)对茶多糖得率和纯度的影响，结果见图 1。

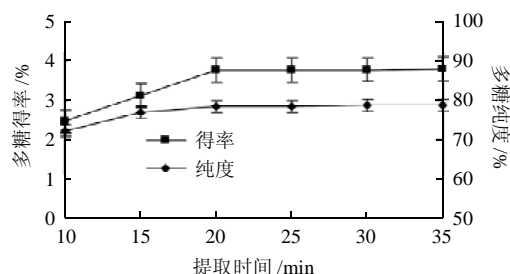


图 1 提取时间对茶多糖得率和纯度的影响

Fig.1 Effect of extraction time on extraction rate and purity of polysaccharides from green tea

从图 1 可以看出，随着超声-微波辅助提取时间的延长，多糖得率和纯度有所增加，当提取时间超过 20min 以后多糖得率和纯度变化不大，因此，选择适宜的提取时间 20min。

2.2 料液比对茶多糖得率和纯度的影响

在微波功率 70W、提取时间 20min 条件下，研究不同料液比(g/mL)(1:20、1:25、1:30、1:35、1:40)对茶多糖得率和纯度的影响，结果见图 2。

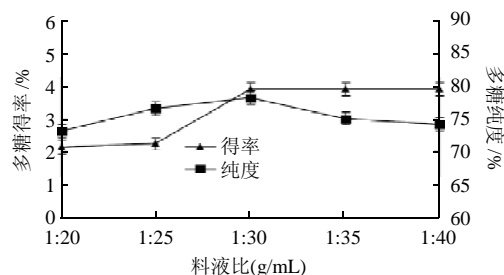


图 2 料液比对茶多糖得率和纯度的影响

Fig.2 Effect of material-to-liquid ratio on extraction rate and purity of polysaccharides from green tea

由图2可知,随着料液比的减少,多糖得率和纯度有一定程度的增加,当料液比小于1:30时,多糖得率趋于稳定,但是多糖纯度有一定程度的下降,考虑到料液比过小会延长多糖浓缩时间,并且纯度有所下降,所以确定适宜的料液比为1:30。

2.3 微波功率对茶多糖得率和纯度的影响

在料液比1:30(g/mL)、提取时间20min条件下,研究不同微波功率(20、50、80、110、140、170W)对茶多糖得率和纯度的影响,结果见图3。

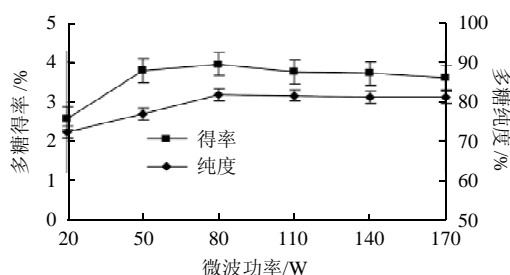


图3 微波功率对茶多糖得率和纯度的影响

Fig.3 Effect of microwave power on extraction rate and purity of polysaccharides from green tea

由图3可知,微波功率在20~80W范围内变化时,茶多糖得率和纯度逐步增大,当微波功率超过80W时,多糖得率和纯度有一定程度的下降,但是变化不明显,所以选择合适的微波功率为80W。

2.4 超声-微波协同辅助提取茶多糖工艺参数的优化

利用响应面分析法^[11]优化超声-微波协同辅助提取茶多糖参数,根据单因素试验结果,利用SAS软件系统进行响应面分析,设计三因素三水平的二次回归方程来拟合因素和指标(响应值)之间的函数关系,以提取时间(X_1)、料液比(X_2)和微波功率(X_3)作为主要因素。以多糖的得率和纯度作为响应值,确定超声-微波协同辅助提取茶多糖的最佳工艺参数,试验设计见表1,结果见表2。

表1 超声-微波提取茶多糖工艺条件的因素编码
Table 1 Coded values and corresponding actual values of the optimization parameters used in response surface analysis

水平	因素		
	X_1 提取时间/min	X_2 料液比(g/mL)	X_3 微波功率/W
-1	15	1:25	50
0	20	1:30	80
1	25	1:35	110

采用回归方程 $y_k = b_{k0} + \sum_{i=1}^3 b_{ki}X_i + \sum_{i=1}^3 b_{kii}X_i^2 + \sum_{i < j}^3 b_{kij}X_iX_j$, 通过SAS RSREG软件对表2数据进行回归分析,确立多糖得率的回归方程见式(1),多糖纯度的回归方程见式

(2),用确立的回归方程来预测模型,结果表明多糖得率回归方程的相关系数 R^2 值达到了0.9466,多糖纯度方程的相关系数 R^2 值达到了0.8850,表明方程的自变量和因变量之间的回归效果显著。

表2 提取时间、料液比和微波功率对茶多糖得率、纯度影响的响应面设计及其结果

Table 2 Experimental design and results for response surface analysis

试验号	X_1	X_2	X_3	Y_1 茶多糖得率/%	Y_2 茶多糖纯度/%
1	-1	-1	0	3.88	76.4
2	-1	1	0	4.05	75.6
3	1	-1	0	4.09	82.4
4	1	1	0	4.05	81.9
5	0	-1	-1	3.81	73.4
6	0	-1	1	4.05	77.6
7	0	1	-1	3.96	76.9
8	0	1	1	3.87	85.9
9	-1	0	-1	3.68	70.8
10	1	0	-1	4.16	77.8
11	-1	0	1	4.17	79.2
12	1	0	1	3.97	78.1
13	0	0	0	4.05	83.2
14	0	0	0	4.09	82.9
15	0	0	0	4.12	81.8

$$Y_1 = 3.0666 + 0.03X_1 + 0.03374X_2 + 0.05374X_3 - 0.012222X_1^2 - 0.0724X_1X_2 - 0.1124X_1X_3 - 0.06472X_2^2 - 0.02X_2X_3 - 0.090722X_3^2 \quad (1)$$

$$Y_2 = 71.62222 + 2.164X_1 + 1.3014X_2 + 2.6264X_3 - 2.655556X_1^2 + 0.074X_1X_2 - 2.014X_1X_3 - 0.781556X_2^2 + 1.3X_2X_3 - 3.380556X_3^2 \quad (2)$$

对得率和纯度方程进行计算机模拟,得到超声-微波协同辅助提取茶多糖的最佳条件为提取时间23min、料液比1:30(g/mL)、微波功率90W。在此条件下,茶多糖得率4.25%、纯度85.98%,采用上述最优条件进行茶多糖提取验证实验,实际测得的提取率为4.19%,纯度为86.08%,与预测值无显著差异,说明RSM法优化得到的工艺条件参数准确可靠,具有一定的实用价值。

2.5 超声-微波提取法与传统水浴浸提法的比较

2.5.1 得率和纯度的比较

在超声-微波辅助提取最佳工艺[提取时间23min,料液比1:30(g/mL),微波功率90W]与传统水浴浸提法最佳工艺[在预试验及正交试验基础上,得出水浴提取茶多糖的最佳条件:提取温度80℃、时间3h、料液比1:30(g/mL)]条件进行3次茶多糖的提取实验,然后取平均值,比较超声-微波辅助提取与传统水浴法对茶多糖得率和纯度的影响,结果见表3。从表3可以看出:超

声-微波辅助提取茶多糖的得率和纯度均高于水浴浸提法,得率由2.95%增加到4.19%,纯度由70.15%增加到86.08%,这主要是因为微波升温快速均匀,热效率高,大大缩短了萃取时间,提高了萃取效率,超声波对媒质产生独特的机械振动作用和空化作用,破坏细胞壁结构^[9,12],从而使茶叶细胞内的多糖成分更好地释放,进而提高得率和纯度。

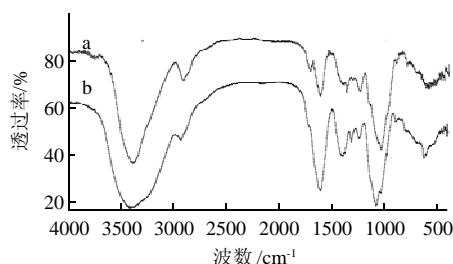
表3 不同提取方法对茶多糖得率和纯度的影响

Table 3 Effects of different methods on extraction rate and purity of polysaccharides from green tea

方法	提取时间/min	得率/%	纯度/%
超声-微波协同辅助提取法	23	4.19	86.08
传统水浴浸提法	180	2.95	70.15

2.5.2 红外光谱的比较

为了比较超声-微波协同辅助提取与传统水浴浸提对茶多糖重要基团的影响,对两种方法提取的茶多糖进行红外光谱分析,结果见图4。



a.传统水浴浸提法; b.超声-微波协同辅助提取法。

图4 两种方法的红外光谱对比图

Fig.4 Comparison of infrared spectral structures of polysaccharides from green tea extracted by ultrasonic/microwave-assisted extraction and traditional water bath extraction

由图4可知:在3200~3600cm⁻¹之间出现一个宽峰,是糖分子内或分子间氢键O—H伸缩振动峰,2933cm⁻¹左右是次甲基(—CH₂—)中的C—H的伸缩振动的吸收峰,1620cm⁻¹处的强吸收峰为游离的羧基的伸缩振动,1410cm⁻¹和1323cm⁻¹附近的吸收峰属C—H的弯曲

振动,它和C—H的伸缩振动构成了糖类的特征峰。1300~1000cm⁻¹间的吸收峰是由糖环上C—O—C与糖苷键上及糖醛酸上C—O伸缩振动所引起的,两种方法所得的茶多糖的峰形位置基本相同,表明超声-微波协同辅助提取法与传统浸提法所得的茶多糖的基团基本相同。

3 结论

3.1 响应面分析确定超声-微波提取茶多糖的最佳的工艺条件为提取时间23min、料液比1:30(g/mL)、微波功率90W。

3.2 与传统水浴浸提法相比,超声-微波提取法不仅缩短了提取时间,而且茶多糖的得率由2.95%增加到4.19%,纯度由70.15%增加到86.08%。

3.3 用红外光谱分析表明超声-微波协同辅助提取法与水浴浸提这两种方法所得茶多糖的基团基本相同。

参考文献:

- [1] 卢金珍,任俊,赵为,等.水法提取茶多糖工艺研究[J].武汉生物工程学院学报,2007,3(4):201-204.
- [2] 原龙,范泳,徐文芳.绿茶中提取茶多糖最佳工艺的优化[J].食品工业科技,2010,31(5):255-256.
- [3] SINISTERRA J V. Application of ultrasound to biotechnology: an overview[J]. Ultrasonics, 1992, 30(3): 180-185.
- [4] VINATORU M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001(8): 303-313.
- [5] 张自萍.微波辅助提取技术在多糖研究中的应用[J].中草药,2006,37(4):630-632.
- [6] 赵兵,王玉春,欧阳藩,等.超声波在植物提取中的应用[J].中草药,1999,30(9):1-3.
- [7] 李鹤,马力,张诗静,等.微波辅助萃取提取茶叶中茶多糖的工艺研究[J].生命科学仪器,2010(8):50-53.
- [8] 黄永春,马月飞,谢清若,等.超声波辅助提取茶多糖及其分子量变化的研究[J].食品科学,2007,28(7):170-173.
- [9] 陈义勇,顾小红,汤坚.超声-微波辅助提取桦褐孔菌多糖的工艺研究[J].安徽农业科学,2009,37(31):15435-15437.
- [10] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,2003.
- [11] GIOVINNI M. Response surface methodology and product optimization[J]. Food Technology, 1999, 37(2): 41-45.
- [12] 黄生权,李进伟,宁正祥.微波-超声协同辅助提取灵芝多糖工艺[J].食品科学,2010,31(16):52-55.