

# 超微粉碎对绿茶黄酮类物质提取率及风味物质含量的影响

杨春瑜<sup>1,2</sup>, 薛海晶<sup>3</sup>, 夏文水<sup>1</sup>

(1. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122

2. 哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076 3. 东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘 要:** 本实验对比研究了经过干、湿法超微粉碎后绿茶粉和原料绿茶中黄酮类物质提取率和风味物质含量的变化。采用水提和醇提两种方法比较绿茶中黄酮类物质的提取率, 摸索了效果较好的醇法提取粗黄酮的最优条件: 固液比为 1:15, 浓度为 90% 的乙醇, 提取温度 45℃, 提取时间为 5h。在最优条件下对比绿茶中黄酮类物质提取率, 结果表明干法(球磨法)超微粉碎效果最好, 其次是湿法(胶体磨), 制冷粗粉碎法效果最差。粗黄酮通过大孔树脂纯化后, 黄酮纯度提高显著。茶叶中的风味物质在粉碎后没有发生明显的变化。

**关键词:** 绿茶; 黄酮类物质; 超微粉碎

Effects of Ultrafine Grinding on Extraction Rate of Flavonoids and Flavor of Green Tea

YANG Chun-yu<sup>1,2</sup>, XUE Hai-jing<sup>3</sup>, XIA Wen-shui<sup>1</sup>

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China;

3. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** The changes of extracting rate of flavonoids and contents of flavors in green tea were compared after processing by dry and wet ultra-fine grinding and extracting by water and ethanol. The optimal extracting conditions of ethanol were confirmed after trial and error: ratio of solid to liquid 1:15, the concentration of ethanol 90%, the extraction temperature 45℃, the extraction time 5h. The extracting rate of flavonoids under the best conditions showed that more flavonoids were extracted after being ultra-fine ground by dry method than wet method, and these two methods are better than normal grinding under cool condition. The finess of flavonoids of green tea are enhanced greatly after being purified through large hole AB-8 ressin. There is no privious changes about the components of flavors after ultra-fine ground.

**Key words** green tea flavonoids ultra-fine grinding

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)09-0319-06

具有很强抗氧化能力的茶多酚是茶叶中对人体健康最有益的物质, 它能够有效清除氧自由基和脂类自由基, 预防脂质的过氧化, 而且具有抑制肿瘤发生, 延缓衰老和预防癌症等功能<sup>[1-2]</sup>。茶多酚的主要组分是黄烷醇类、羟基-4-黄烷醇类、花色苷类和黄酮醇类等黄酮类物质。黄酮类物质占茶鲜叶干重 15%~28% 左右, 是决定茶叶滋味, 颜色的主体成分<sup>[3]</sup>。

茶叶深加工通常以黄酮类物质、药用咖啡碱、茶多糖等功效成分为目的产物, 经浸提或萃取后进一步纯化提高纯度, 应用到食品和制药工业中<sup>[4-6]</sup>。

影响茶叶中黄酮类物质提取率的因素主要有温度、萃取剂浓度、时间和固液比, 此外茶叶粉碎程度也对提取率有影响<sup>[7-8]</sup>。黄酮类物质检测通常以芦丁为标准品, 在 500nm 波长下测定 OD 值计算含量或采用 HPLC 方法直接测定<sup>[9-11]</sup>。

茶叶经过超微粉碎加工后, 由于超微粉体比表面积和孔隙率的增加, 常具有独特的物理化学性能, 例如良好的分散性、吸附性、溶解性、化学活性等, 可以大大简化传统速溶茶生产方法中茶叶有效成分萃取出来后浓缩、干燥制成粉状速溶茶的工艺过程。

收稿日期: 2007-07-30

基金项目: 江南大学博士后项目(006977); 黑龙江省教育厅科研项目(11511094)

作者简介: 杨春瑜(1975-), 女, 副教授, 博士后, 研究方向为活性大分子物质分离纯化。

本实验目的是研究干、湿法超微粉碎对茶叶中黄酮类物质提取率和茶叶中风味成分的影响,为提高茶叶的生物利用率、改善茶叶营养成分吸收和开发茶叶新制品提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

电子天平ALC-210.2 北京赛多利斯仪器系统有限公司;台式离心机TDL-5 上海安亭科学仪器厂;721E型可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司;电热恒温水浴锅DK-98-1 天津市泰斯特仪器有限公司;XA-II型制冷式样品粉碎机LF-1、制冷循环槽XWC-100-1 上海思尔达科学仪器有限公司;R-201 旋转蒸发仪、W201B 恒温水浴锅 上海申胜生物技术有限公司;HL-2S 恒流泵、BSZ-100 自动收集器 上海沪西分析仪器厂有限公司;6890N-5973N 型气相色谱-质谱分析仪 AGILENT;ND7 变频行星式球磨机 南京南大天尊电子有限公司;JM 系列胶体磨 温州市七星乳品设备厂;TU-1900 双光束紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

### 1.2 材料与试剂

绿茶 湖北产;盐酸 天津市精细化工开发中心;氢氧化钠(分析纯) 天津市富禄化工试剂厂;无水乙醇 天津市东丽区天大化学试剂厂;AB-8 型大孔吸附树脂 天津市汇达化工有限公司;芦丁标准品 中国药品生物检定所。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 黄酮类物质检测方法

##### 1.3.1.1 标准曲线的制作

分别将0、20、40、60、80、100、120、140mg 芦丁标准品溶于20ml 的95%的乙醇中,配成浓度从1mg/ml 到7mg/ml 的芦丁溶液。以第一瓶为空白溶液,用721E 型可见分光光度计在500nm 上测定吸光度。绘制吸光度值与浓度之间关系的标准曲线。

##### 1.3.1.2 黄酮的测定方法

将水提和醇提的提取物浓缩至膏状后,加入20ml 的95%的乙醇将其溶解,取1ml 稀释至10ml (对比干、湿法超微粉碎效果时将膏状样品稀释至100 倍),用721E 型可见分光光度计在500nm 上测定吸光度。

根据标准曲线得到黄酮浓度后乘以稀释倍数为最终浓度。

#### 1.3.2 原料的干法、湿法超微粉碎

将市售有机绿茶挑选去杂,用制冷粉碎机进行粗粉碎,保证进料样粒度小于10mm,进行球磨粉碎,用密封袋保存得干法茶叶粉。将球磨茶叶粉中加入5 倍体积的纯净水,混合均匀后用胶体磨机进行湿法超微粉碎。循环两次后旋转蒸发浓缩,样品中的含水量不大于3% 时,烘干,保存备用。

#### 1.3.3 黄酮类物质分离提取

游离的黄酮类化合物一般难溶于水,而溶于甲醇、乙醇、乙酸乙酯、乙醚等有机溶剂,而结合的黄酮一般易溶于热水,还能溶于甲醇、乙醇、乙酸乙酯、吡啶等有机溶剂。而茶叶中的黄酮有游离的,也有结合生成糖苷的,所以我们选择有机和无机两种溶剂进行提取。

##### 1.3.3.1 水提法提取黄酮

取10g 球磨粉碎样品加200ml 蒸馏水煮沸浸提,分别提取1、2、3 和4h。过滤后将滤液合并,1500r/min 条件下离心15min,取上清液加热浓缩(加热温度为85℃ 左右),冷却后加入等体积的95% 乙醇,在冰箱中放置2h 后在1500r/min 下离心15min。取上清液,85℃ 左右蒸发浓缩,待乙醇蒸发后,取膏状提取物稀释,测定其中粗黄酮的含量。将滤渣采用同样方法进行二次提取,重复两次。

##### 1.3.3.2 醇浸提法

取10g 球磨绿茶粉放入100ml 的50% 的乙醇中,在60℃ 水浴中提取5h,提取过程中注意将试管口用保鲜膜封严,防止乙醇挥发带来的误差。将上清液倒出后,对茶叶粉沉淀进行二次提取,过程如上,将两次提取得到的上清液合并,离心,置于旋转蒸发仪中进行浓缩,温度为85℃。测定其中粗黄酮的含量。

##### 1.3.3.3 醇浸提法单因素试验

通过以上实验的结果我们可知醇提法优于水提法,故选用醇提的方法摸索最优条件。选择乙醇的浓度、提取时间、提取温度、固液比进行单因素实验。各因素水平见表1。

表1 醇浸提法单因素试验水平  
Table 1 Factors of single test of extracting by ethanol

试验号	1	2	3	4	5
乙醇浓度(%)	50	60	70	85	95
提取时间(h)	2	4	6	8	—
提取温度(℃)	40	50	60	70	—
固液比	1:10	1:15	1:25	1:40	1:60

##### 1.3.3.4 醇浸提法提取的正交试验

根据醇提法单因素实验结果确定正交试验条件,采

用 $L_9(3^4)$ 正交表,以总黄酮的含量为实验指标,正交试验因素水平如表2所示。

表2 醇提法正交试验因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal test of extracting by ethanol

水平	因素			
	A 乙醇浓度(%)	B 提取时间(h)	C 提取温度(℃)	D 固液比
1	80	5	45	1:10
2	85	6	50	1:15
3	90	7	55	1:20

1.3.4 干法(球磨法)和湿法(胶体磨)超微粉碎效果比较  
以制冷粗粉碎法茶叶粉为对照,将干法(球磨法)和湿法(胶体磨)超微粉碎茶叶粉在正交试验中得出的最佳条件(90%乙醇,5h,55℃,固液比为1:15)下按上述醇提的方法进行提取,测定三种绿茶粉的粗黄酮的含量。

### 1.3.5 粗黄酮的纯化

#### 1.3.5.1 纯化条件

选用AB-8弱酸性阳离子交换树脂,1.5×15cm离子交换柱,称量15g树脂放入95%的乙醇中浸泡8h,或回流溶胀2h,同时可排除气泡;用3%~5%的三倍体积盐酸浸泡2.5h,倾泻掉漂浮树脂,用蒸馏水反复清洗至pH为中性;再用3%~5%的三倍树脂体积的NaOH浸泡2.5h,洗至中性,放置在30%的乙醇中。装柱后用30%乙醇缓冲液,2ml/min的流速平衡两倍体积以上,至流出液加水不呈白色浑浊为止。

分别将1ml的醇提法得到的制冷粗粉和干、湿法超微粉的粗黄酮上柱,用30%乙醇洗脱,流速为2ml/min,每4min收集一管。用721E型可见分光光度计在500nm处测定吸光度。

#### 1.3.5.2 黄酮含量的计算方法

将收集的各管样品分别测得吸光值后绘制出黄酮含量的趋势图,从出峰开始计算一直到出峰结束,根据标准曲线得到以上各管中黄酮的浓度,求出总和后乘以稀释的倍数。

$$\text{即 } m = \sum C_{\text{黄酮}} \times 50 (\text{稀释倍数}) \quad (1)$$

### 1.3.6 茶叶粉中风味物质GC-MS检测

#### 1.3.6.1 样品处理

将制冷、球磨和胶体磨处理后的茶叶粉采用醇浸提法最优条件浸提,浓缩至膏状,将三种样品分别溶于95%的乙醇,各取1ml进行气相色谱-质谱检测。

#### 1.3.6.2 GC-MS条件

色谱柱:HD-5MS(30m×0.25mm×0.25mm);进口样温度:250℃;色谱柱温:120℃,以8℃/min进

行升温,1min后升至240℃;进样量:1ml;载气流速:1ml/min;载气:氦气;溶剂延迟:5min;质谱扫描范围:30~400amu。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄酮含量测定标准曲线

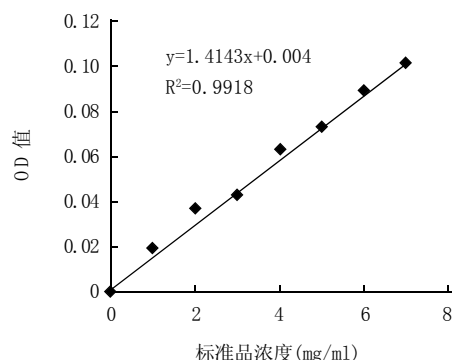


图1 黄酮含量测定标准曲线

Fig.1 Standard curve for analyzing content of flavonoids

### 2.2 水浸提法提取粗黄酮的含量

提取时间对粗黄酮提取率影响如图2。随提取时间

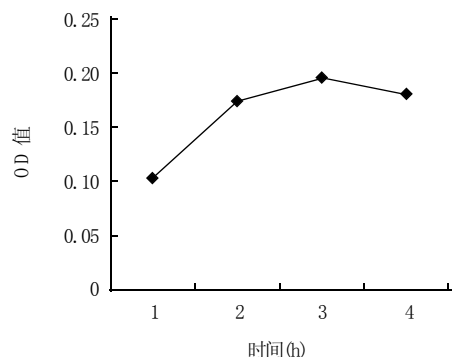


图2 提取时间对提取率的影响

Fig.2 Effects of time on extracting rate

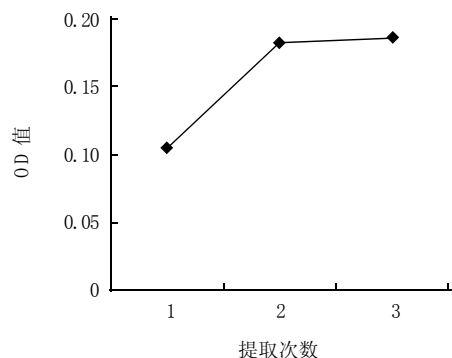


图3 提取次数对提取率的影响

Fig.3 Effects of extracting times on extracting rate

增加,粗黄酮的含量也随之增加,但当提取时间超过3h后,吸光度值反而下降。因此确定提取时间以3h为宜。经过两次提取后提取率明显增加(如图3),第三次提取后提取率基本持平,确定采用二次提取。

在时间相同,次数相同条件下水100℃,醇60℃条件下比较,结果发现醇提法显著高于水提的各结果,与文献中有机溶剂对黄酮的提取率高于水提法的提取率相符合。因此,本实验仔细摸索了醇浸提法的最优提取条件。

### 2.3 醇浸提法提取粗黄酮的含量

#### 2.3.1 醇法浸提单因素试验

乙醇浓度、提取时间、提取温度和固液比对黄酮得率的影响分别如图4~7所示。

实验结果表明:乙醇浓度为80%、提取时间为6h、固液比为1:15时提取得率较高;30℃到40℃吸光度变化不大,40℃到50℃有较大的增长,而60℃时吸光度又有所减少,提取温度为50℃时效果最好。

#### 2.3.2 醇提工艺的正交试验结果

醇提方法中各因素对粗黄酮提取率影响的次序是:提取时间>乙醇浓度>提取温度>固液比。醇提的优水

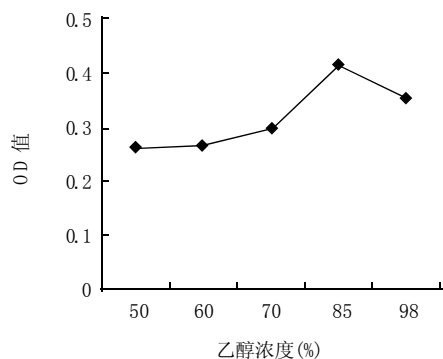


图4 乙醇浓度对提取率的影响

Fig.4 Effects of concentration of ethanol on extracting rate

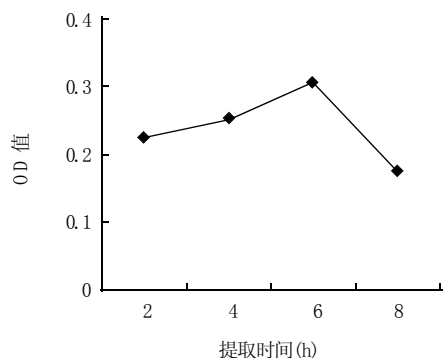


图5 提取时间对提取率的影响

Fig.5 Effects of extracting time on extracting rate

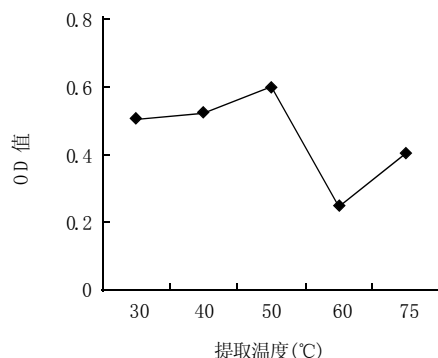


图6 提取温度对提取率的影响

Fig.6 Effects of temperature on extracting rate

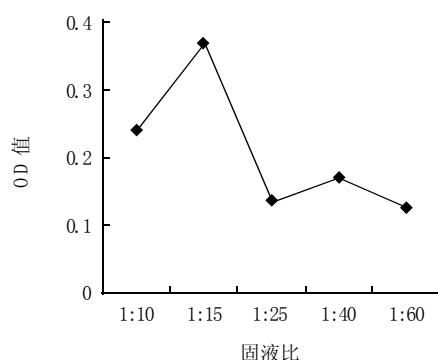


图7 固液比对提取率的影响

Fig.7 Effects of ratio of solid to liquid on extracting rate

表3 醇提正交试验结果  
Table 3 Results of orthogonal test of extracting by ethanol

试验号	因素				OD 值
	A 乙醇浓度 (%)	B 提取时间 (h)	C 提取温度 (°C)	D 固液比 (%)	
1	A <sub>1</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>1</sub>	0.332
2	A <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>2</sub>	0.280
3	A <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>3</sub>	0.124
4	A <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	0.281
5	A <sub>2</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	0.226
6	A <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	0.157
7	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	C <sub>3</sub>	D <sub>2</sub>	0.373
8	A <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>	C <sub>1</sub>	D <sub>3</sub>	0.303
9	A <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>2</sub>	D <sub>1</sub>	0.199
K <sub>1</sub>	0.736	0.986	0.792	0.757	
K <sub>2</sub>	0.664	0.809	0.760	0.810	
K <sub>3</sub>	0.875	0.480	0.723	0.708	
k <sub>1</sub>	0.245	0.329	0.264	0.252	
k <sub>2</sub>	0.221	0.270	0.253	0.270	
k <sub>3</sub>	0.292	0.160	0.241	0.236	
R	0.071	0.169	0.023	0.018	

平为: A<sub>3</sub>、B<sub>1</sub>、C<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>, 即乙醇浓度为90%, 提取时间为5h, 提取温度为45℃, 固液比为1:15。

#### 2.4 干法(球磨法)和湿法(胶体磨)超微粉碎效果比较

根据三种样品在最优条件(固液比为1:15, 浓度为90%的乙醇, 提取温度45℃, 提取时间为5h)下提取粗

表4 方差分析表  
Table 4 Analysis of variance

差异来源	方差	自由度	均方差	F 值	显著性检验
A	0.011203	2	0.005602	2.63	不显著
B	0.047490	2	0.023745	111.37	极显著
C	0.004764	2	0.002382	1.117	不显著
D	0.004264	2	0.002132	1.00	不显著

注:  $F_{0.01}(2, 2)=99$ ,  $F_{0.05}(2, 2)=19$ 。

黄酮的 OD 值计算粗黄酮的浓度, 乘稀释倍数后得黄酮含量, 如表 5。

表5 粗黄酮提取率比较  
Table 5 Comparison of extracting rate of flavonoids

方法	样品量(g)	黄酮含量(g)	吸光度值	浓度(g/ml)	提取黄酮总量(g)	提取率(%)
制冷	1	0.1	0.036	0.0226	0.0452	45.2
球磨	1	0.1	0.041	0.0262	0.0524	52.4
胶体磨	1	0.1	0.030	0.0184	0.0398	39.8

可见干法(球磨法)超微粉碎效果最好, 其次是湿法(胶体磨), 制冷粗粉碎法效果最差。球磨法处理的样品含量最高, 较原料中黄酮的得率提高了 15.9%。

## 2.5 粗黄酮的纯化

将制冷粉碎和干、湿法超微粉碎后提取的粗黄酮加样后, 用 30% 的乙醇进行洗脱, 将收集起来的样品经过处理后用紫外分光光度计在 500nm 下测其吸光度值, 洗脱曲线如图 8~10。

将图 8~10 洗脱曲线中含有黄酮的各管收集, 按照公式 1 计算其中纯黄酮的含量见表 6。

从表 6 中可知干法超微粉碎后黄酮的纯化率最高, 得到的纯黄酮最多, 而制冷粉碎和胶体磨处理后溶解于醇中的杂质较多。

## 2.6 制冷粉碎和干、湿法超微粉碎后茶叶粉中风味物质 GC-MS 测定

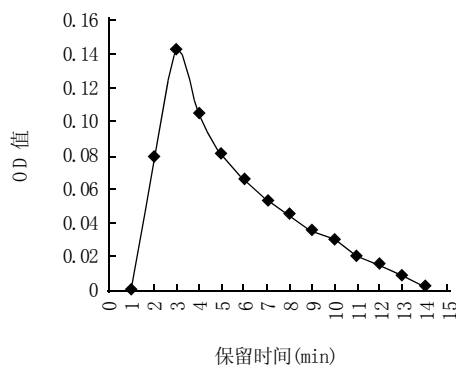


图8 制冷粉碎法提取粗黄酮的纯化曲线  
Fig.8 Purification curve of coarse flavonoids after gringding under refrigerated conditions

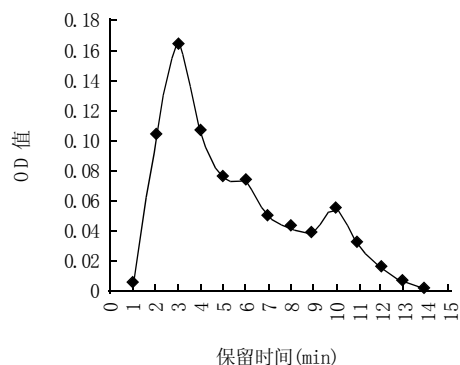


图9 干法超微粉碎茶叶粉中提取粗黄酮的纯化曲线  
Fig.9 Purification curve of coarse flavonoids after gringding by dry method

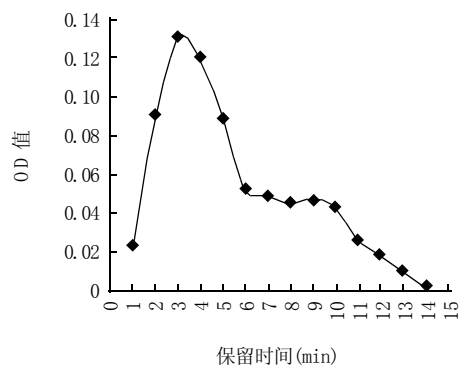


图10 湿法超微粉碎茶叶粉中提取粗黄酮的纯化曲线  
Fig.10 Purification curve of coarse flavonoids after gringding by wet method

表6 制冷粉碎和干、湿法超微粉碎后茶叶粉提取的粗黄酮纯化率  
Table 6 Purified rate of coarse flavonoids after grinding by three methods

类别	样品中黄酮的含量(g)	粗黄酮的含量(g)	纯黄酮的含量(g)	粗黄酮的提取率(%)	纯黄酮的提取率(%)
制冷	0.1	0.0452	0.01997	45.2	19.97
球磨	0.1	0.0524	0.02556	52.4	25.56
胶体磨	0.1	0.0398	0.02595	39.8	25.95

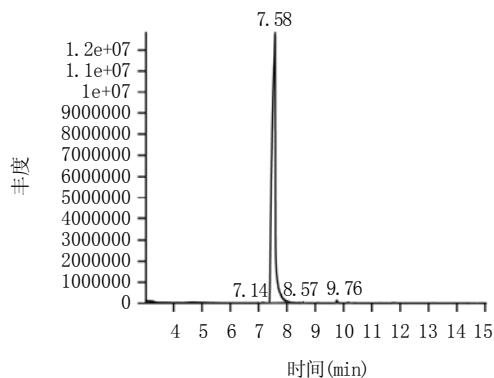


图11 三种粉碎处理后茶叶粉中风味物质 GC-MS 检测结果  
Fig.11 GC-MS analyzing results of flavors of tea powder after three processing of grinding

黑木耳经过制冷粉碎和干、湿法超微粉碎后 GC-MS 检测结果均如图 11 所示, 可见三种粉体经过乙醇提物质汽化后成分没有显著的变化, 三种样品的主要成分是咖啡碱。

因此, 干、湿法超微粉碎对黑木耳中主要挥发性风味物质的成分和含量没有影响, 对于药用咖啡碱的开发也没有影响。

### 3 结 论

本实验采用水提和醇提两种方法比较了绿茶中黄酮类物质的提取率, 通过  $L_9(3^4)$  正交试验摸索了效果较好的醇法提取粗黄酮的最优条件: 固液比为 1:15, 浓度为 90% 的乙醇, 提取温度 45℃, 提取时间为 5h。各因素对粗黄酮提取率影响的次序是: 提取时间 > 乙醇浓度 > 提取温度 > 固液比。制冷粉碎、球磨法和胶体磨法三种样品在醇提最佳条件下提取粗黄酮得率分别为 45.2%、52.4%、39.8%, 其中球磨法的提取率最高。三种样品的粗黄酮纯化后的得率分别为 44.18%、48.78%、65.19%, 其中胶体磨的粗黄酮的纯化率最高。并将三种样品的粗提取物进行气质色谱联用分析, 发现茶叶经过超微粉碎其风味物质成分不会发生明显的变化。

### 参考文献:

- [1] 谢异萍. 天然抗氧化剂茶多酚的保健作用[J]. 中国临床保健杂志, 2005(6): 573-576.
- [2] 朱桂勤, 李建科. 茶多酚的功能研究进展[J]. 食品研究与开发, 2005(2): 33-35.
- [3] 王泽农. 茶叶生物化学[M]. 北京: 农业出版社, 1980: 6-13.
- [4] 严鸿德, 汪东风, 王泽农. 茶叶深加工技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 70-85.
- [5] 黄继珍. 从茶中提取药用咖啡因方法的研究进展[J]. 中草药, 1999(6): 435-437.
- [6] MOODY G J, ONG B, QUINLAN K, et al. The determination of fluorine in coffee and tea using a microprocessor coupled with a fluoride ion selective electrode[J]. Food Technol, 1980(5): 335-343.
- [7] 张蕾, 乔旭光, 占习娟. 超微粉碎对荷叶黄酮类物质醇提工艺的影响[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(11): 142-145.
- [8] Stükrü Kalaycı, Güler Somera Ankara, Turkey. Factors affecting the extraction of fluoride from tea. Application to three tea samples[J]. Fluoride, 2003, 36(4): 67-70.
- [9] WANG Hua-fu, HELLIWELL K. Determination of flavonols in green and black tea leaves and green tea infusions by high-performance liquid chromatography[J]. Food Research International, 2001, 34: 223-227.
- [10] YAO L H, JIANG Y M, CAFFIN N. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets[J]. Food Chemistry, 2006(9): 614-620.
- [11] UEMATSU M. Studies on total fluoride concentration in green tea and the influence of brewing conditions on fluoride ion concentrations in the extracts[J]. Kanagawa Shigaku, 2001, 6(2/3): 83-84.



**欢迎订阅2008**  
**《食品工程》杂志**

专业人员的交流平台  
与企业沟通的桥梁

《食品工程》杂志为中国期刊全文数据库收录期刊, 它以实用技术为主, 设有基础研究、应用研究、工艺技术、综述评论、食品分析、食品安全、质量管理、企业风采、食事资讯等栏目。

《食品工程》全年定价27.20元, 本刊编辑部常年办理邮购。

国外刊号: ISSN 1673-6044 国内刊号: CN 14-1336/TS

地址: 山西省太原市晋祠路一段19号 邮编: 030024  
电话: 0351-6065177 6064116-8003  
传真: 0351-6172457  
网址: www.sxspggyj.com  
E-mail: sxfood@126.com 或 sxtlyhjh@163.com



**F&M**  
食品与机械

创刊于1985年,  
一份直接面向食品企业的刊物



F&M  
食品与机械

专业  
实用  
权威

订阅刊

欢迎订阅 每册10元 全年80元  
http://www.fandm.com.cn E-mail: fandm@fandm.com.cn