

茶叶中有效成分综合提取的研究

陈荣义¹, 张新申¹, 申金山¹, 谢君²

(1. 四川大学轻纺与食品学院, 四川 成都 610065; 2. 华南农业大学测试中心, 广东 广州 510642)

摘要: 以绿茶为原料, 采用 ZJL 大孔离子交换树脂和 ZJX 大孔吸附树脂从茶叶的浸提液中提取茶氨酸、咖啡因、茶多酚和茶多糖。通过对树脂的静态、动态吸附性能的实验研究, 确定了咖啡因、茶氨酸、茶多酚及茶多糖联合分离提取的工艺。研究表明: 该工艺能有效的从茶叶中提取咖啡因、茶氨酸和茶多酚, 提取的咖啡因纯度达 83.23%, 提取率为 1.9%, 茶氨酸纯度达 85.43%, 提取率为 0.94%, 提取的茶多酚纯度达 95.62%, 提取率为 12.35%, 且茶多酚中的咖啡因含量低于 0.7%, 茶多糖的纯度达 51%, 提取率为 1.1%。

关键词: 茶多酚; 咖啡因; 茶氨酸; 茶多糖; 提取

Study on Comprehensive Extraction of Tea Polyphenols, Caffeine, Theanine and Tea Polysaccharides

CHEN Rong-yi¹, ZHANG Xin-shen¹, SHEN Jin-shan¹, XIE Jun²

(1. College of Light Industry and Textile and Food Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China;

2. Test Center of South China Agriculture, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Tea caffeine, theanine polysaccharides and polyphenols were purified from the extract of green tea with ZJL macroporous cation exchange resin and ZJX macroporous adsorption resin with column chromatography respectively. The optimal operation conditions were obtained by the static and dynamic state experiments. Production rate and purity of caffeine were 1.9% and 83.23% respectively. Production rate and purity of theanine were 0.94% and 85.43% respectively. Production rate and purity of tea polyphenols were 12.35% and 95.62% respectively. The content of caffeine in tea polyphenols was less than 0.7%. Production rate and purity of tea polysaccharides were 1.1% and 51% respectively.

Key words: tea polyphenols; caffeine; theanine; tea polysaccharides; extraction

中图分类号: TQ243.11; S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)04-0174-04

茶叶是除水以外世界第一饮料, 茶叶中含有多种具有生物活性的物质, 如茶多酚、茶氨酸及咖啡因等。大量的研究表明, 茶多酚具有抗氧化、清除自由基、降血压、降血脂、抗辐射、防癌抗癌等生物活性和药理作用^[1], 茶氨酸具有抗肿瘤、降压安神、促进神经生长等医疗功效^[2], 咖啡因具有兴奋大脑皮层, 增强机体免疫功能和强心利尿等作用^[3], 而茶多糖具有降血脂、降血压、降血糖和增强免疫功能等药理作用^[4], 因此, 安全有效的从茶叶中提取和分离茶多酚、茶氨酸、咖啡因和茶多糖具有重要的实际意义。而作为药物原料的茶多酚必须是高纯度, 尤其是咖啡碱的含量要低, 以减少药物对病人的兴奋作用, 因此去咖啡因是茶多酚提取的关键^[5]。有文献报道茶多酚、茶氨酸、咖啡因及茶多糖各自的提取方法^[6~10], 但未见茶多酚、茶氨酸、咖啡因及茶多糖综合提取的报道。本研究以绿茶为原

料, 由于所用树脂均不吸附茶多糖, 故先用大孔离子交换树脂从茶叶浸提液中提取咖啡因和茶氨酸, 再用大孔吸附树脂提取茶多酚, 最后用乙醇沉淀、分离茶多糖, 通过实验以期找出茶多酚、茶氨酸、咖啡因和茶多糖的最佳分离提取的工艺, 为生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 茶叶 绿茶, 四川辰农生物公司提供。

1.1.2 主要试剂 各种化学试剂均为分析纯; 咖啡因从 Sigma 公司购买的生物试剂; 茶氨酸标样, 日本东京化成工业株式会社提供。

1.1.3 ZJL 大孔阳离子交换树脂、ZJX 大孔吸附树脂本实验室自制。

收稿日期: 2004-03-17

作者简介: 陈荣义 (1974-), 男, 在读博士生, 从事天然有机化学研究。

1.1.4 主要仪器 层析柱(玻质 Φ 1cm \times 40cm), 电热恒温水浴锅, R201 旋转蒸发仪, 756MC 紫外可见分光光度计, HL-2 型恒流泵, 岛津 LC-10A 高效液相色谱仪。

1.2 方法

1.2.1 上样液制备 茶叶去尘净化, 粉碎过 60 目筛, 加蒸馏水于 70℃ 下浸提 30min 后过滤, 重复该操作 3 次, 然后合并浸提液。

1.2.2 ZJL 树脂的预处理 用蒸馏水浸泡后, 经 5% 盐酸和 5% 氢氧化钠重复处理 2 次后, 用 5% 盐酸转型, 最后用蒸馏水洗至中性。

1.2.3 ZJX 树脂的预处理 用蒸馏水或氯化钠溶液浸泡后, 以盐酸、氢氧化钠和乙醇洗涤至无色。

1.2.4 茶氨酸含量的测定 按文献^[11], 用高效液相色谱法进行分析。

1.2.5 咖啡因含量的测定 按 GB8312-87, 用紫外分光光度法进行分析。

1.2.6 茶多酚总量的测定 按 GB8313-87, 用酒石酸亚铁法进行比色分析。

1.2.7 茶多糖总量的测定 按文献^[12], 蒽酮-硫酸比色测定。

1.2.8 静态吸附和解吸附 称取一定质量干树脂(ZJX 树脂或 ZJL 树脂), 加入到一定体积的上样液中, 25℃ 下摇床振荡 24h, 测上样液中被吸附物质(茶多酚或茶氨酸和咖啡因)在吸附前后的溶液浓度, 树脂再用洗脱液洗脱, 并测定浓度, 最后计算树脂的吸附量和解吸附率。

1.2.9 动态法分离茶氨酸、咖啡因、茶多酚 将上样液依次通过 ZJL 树脂层析柱与 ZJX 树脂层析柱, 分别用氯仿和柠檬酸钠溶液作洗脱液从 ZJL 树脂上洗脱咖啡因、茶氨酸, 再以乙醇作洗脱剂从 ZJX 树脂上洗脱茶多酚, 浓缩回收溶剂, 干燥得咖啡因、茶氨酸和茶多酚成品。

1.2.10 茶多糖的纯化 将已通过 ZJL 树脂层析柱与 ZJX 树脂层析柱的柱流出液减压浓缩, 用 Sevag 法除蛋白后, 加等乙醇使茶多糖沉淀, 然后真空冷冻干燥得茶多糖成品。

2 结果与讨论

2.1 静态吸附和解吸附实验

2.1.1 ZJL 树脂对茶氨酸和咖啡因的吸附性能以及 ZJX 树脂对茶多酚的吸附性能

由于茶氨酸是两性化合物, 而咖啡因是一种生物

碱, 故它们都可以与 ZJL 树脂产生阳离子交换作用, 从而被交换到 ZJL 树脂上。茶多酚则通过范德华作用力或氢键作用被吸附到 ZJX 树脂上。ZJL 树脂同时对茶氨酸和咖啡因的吸附量为: 茶氨酸 51.43mg/g、咖啡因 73.57mg/g; ZJX 树脂对茶多酚的静态吸附量为 157.65mg/g。

2.1.2 咖啡因的解吸附 由于茶氨酸不溶于氯仿, 而咖啡因溶于氯仿, 所以可先用氯仿将咖啡因从 ZJL 树脂上洗脱下来, 静态解吸附率为 93.43%。

2.1.3 氨基酸的解吸附 氨基酸是一种两性化合物, 分子上的静电荷取决于氨基酸的等电点和溶液的 pH 值。当溶液 pH 值大于氨基酸等电点时, 氨基酸带负电荷, 其与阳离子交换树脂间的离子键力减弱, 而被洗脱下来。不同的氨基酸等电点不同, 故随着洗脱液 pH 值提高, 这些氨基酸被依次洗脱。实验分别以不同 pH 值的柠檬酸盐缓冲液为洗脱剂, 洗脱 ZJL 树脂(已经解吸附咖啡因)上的茶氨酸, 结果如图 1 所示。由图 1 可见, 洗脱液的 pH 值较低时, 对茶氨酸的洗脱能力较低, 当 pH 值 > 6.3 时, 洗脱液洗脱能力增加较快, 在 pH 值 6.3~7.1 之间有一突变点, 洗脱时 pH 值应大于 7.1。茶氨酸的等电点为 5.6, 而实验所应采用的洗脱液 pH 值要大些, 原因可能是滞后现象所致。

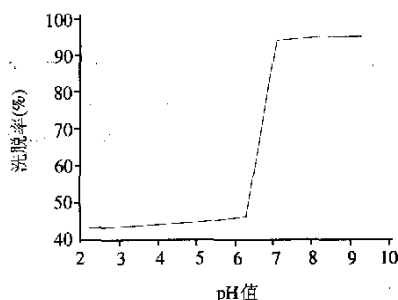


图 1 洗脱剂 pH 值对茶氨酸的解吸附能力

Fig.1 Desorption capacity of eluent under different pH

2.1.4 茶多酚的解吸附 甲醇、乙醇、乙酸乙酯及丙酮都可以作为茶多酚的解吸剂, 但解吸剂应从解吸效率、节能、廉价和食品卫生等角度来选择, 综合考虑乙醇为最佳。采用不同浓度(体积比)的乙醇液作为茶多酚的洗脱剂进行静态解吸附, 结果如表 1 所示。

表 1 洗脱剂洗脱茶多酚的实验
Table 1 Experiments on eluent

洗脱剂	水	乙醇(60%)	乙醇(70%)	乙醇(80%)	乙醇(90%)
洗脱率(%)	6.42	84.75	88.77	92.44	92.65

注: 表中乙醇浓度皆为体积比。

从表 1 可知, 随乙醇溶液浓度的增加洗脱能力加强, 但当乙醇浓度大于 80%(体积比)后, 洗脱能力增加

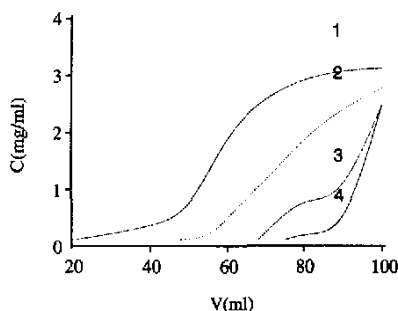
不大,因此选用80%(体积比)乙醇作洗脱剂较为合理。

2.2 动态吸附和解吸附实验

准确称量10.5g干ZJL树脂和6.5g干ZJX树脂,采用湿装法分别装入玻质 $\phi 1\text{cm} \times 40\text{cm}$ 和玻质 $\phi 1\text{cm} \times 30\text{cm}$ 柱中。

2.2.1 咖啡因和茶氨酸动态吸附和解吸附

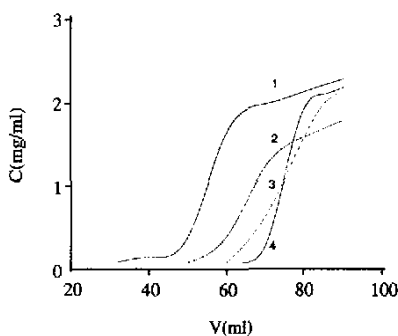
将含咖啡因3.2mg/ml、茶氨酸2.4mg/ml的上样液分别以1.0、1.5、2.0、2.5ml/min的流速上ZJL柱进行动态交换,结果见图2和图3。由图可知,随着流速的增加,泄漏点提前。为获得较大的吸附量,同时缩短生产周期,选用1.5ml/min的流速较为合适。然后采用氯仿为洗脱剂,以1.5ml/min流速将咖啡因先从树脂上解吸附下来,再用pH值7.1柠檬酸盐缓冲液为洗脱剂洗脱茶氨酸。咖啡因和茶



1=2.5ml/min, 2=2.0ml/min, 3=1.5ml/min, 4=1.0ml/min

图2 不同流速对咖啡因的吸附影响

Fig.2 Effects of elution rate on caffeine adsorption



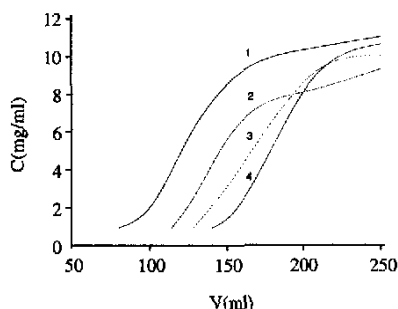
1=2.5ml/min, 2=2.0ml/min, 3=1.5ml/min, 4=1.0ml/min

图3 不同流速对茶氨酸的吸附影响

Fig.3 Effects of elution rate on theanine adsorption

2.2.2 茶多酚动态吸附和解吸附

将ZJL柱流出液分别以1.0、1.4、1.8和2.0ml/min的流速通过ZJX吸附柱进行动态吸附,结果如图4所示。由图4可知,采用1.4ml/min的流速较为合适。以80%乙醇(体积比)为洗脱剂洗脱茶多酚,茶多酚的动态解吸附率为95.63%。



1=1.0ml/min, 2=1.4ml/min, 3=1.8ml/min, 4=2.0ml/min

图4 不同流速对茶多酚的吸附影响

Fig.4 Effects of elution rate on tea polyphenols

2.3 茶多酚、茶氨酸、咖啡因及茶多糖的综合提取

将上样液以1.5ml/min的速度通过ZJL柱,流出液以1.4ml/min的速度通过ZJX柱,先用氯仿洗脱ZJL柱上的咖啡因,再用pH值7.1的柠檬酸缓冲液洗脱茶氨酸,而ZJX柱上的茶多酚则用80%乙醇(体积比)洗脱;咖啡因洗脱液回收氯仿后,真空干燥得纯度为83.23%、提取率为1.9%的咖啡因产品;将茶氨酸洗脱液减压浓缩,调pH值至茶氨酸等电点,低温结晶,制得纯度为85.43%、提取率为0.94%的茶氨酸产品。茶多酚洗脱液回收乙醇后,减压干燥得纯度达95.62%、咖啡因含量低于0.7%、提取率为12.35%的茶多酚产品;将已通过ZJL树脂层析柱与ZJX树脂层析柱的柱流出液减压浓缩,用Sevag法除去茶多糖中的部分蛋白后,加乙醇使茶多糖沉淀,真空冷冻干燥得纯度为51%、提取率为1.1%,茶多糖产品。

3 结论

通过对ZJL树脂和ZJX树脂的吸附和解吸附以及茶多酚、茶氨酸、咖啡因及茶多糖的综合提取实验,结果表明该工艺适合工业上用于茶多酚、茶氨酸、咖啡因及茶多糖的分离提取,且所制备出的茶多酚产品纯度高、咖啡因含量低。

参考文献:

- [1] 李叶云,等.茶多酚的生物活性及药理学研究进展[J].安徽中医学院学报,2002,21(5):57-59.
- [2] Segsaka Y, Kakusa T. Pharmacological effect of theanine[C]. The Organizing Committee of ISTS, 1992. 362-365.
- [3] 刘俊武,等.从茶叶中提取天然咖啡因技术综述[J].云南化工,1998,(4):10-13.
- [4] 陈建国.茶多糖的提取及其药理作用研究概况[J].中草药,2000,31(7):6-7.
- [5] 高永贵.茶叶抗氧化剂的制备方法综述[J].茶叶,1996,22(2):44-47.

酶法制取罗非鱼水解动物蛋白的工艺研究

粟桂娇, 阎欲晓, 申 柯, 覃子海

(广西大学生命科学与技术学院, 广西 南宁 530004)

摘 要: 利用木瓜蛋白酶、中性蛋白酶、酸性蛋白酶、碱性蛋白酶和菠萝蛋白酶对罗非鱼肉进行水解制备水解动物蛋白, 以水解度(DH)为指标对水解过程进行分析, 选取中性蛋白酶作为适宜的单酶并研究其酶法水解最适宜的工艺条件。为进一步提高水解度, 进行了中性蛋白酶与酸性蛋白酶复合酶解的研究, 并对双酶法水解的工艺条件进行了优化。酶解液分别采用酵母发酵、风味酶处理、粉末活性炭吸附、海藻糖处理进行初步脱色脱苦除腥研究。结果表明, 海藻糖和粉末活性炭脱色脱苦除腥总体效果最佳, 但两者各有侧重, 活性炭在脱色方面优于海藻糖, 海藻糖则在脱苦除腥方面优于活性炭。

关键词: 罗非鱼; 酶解; 水解度; 水解动物蛋白; 活性炭; 海藻糖

Technology Study on Hydrolyzed Animal Protein of Tilapia Meat by Proteinase

SU Gui-jiao, YAN Yu-xiao, SHEN Ke, QIN Zi-hai

(College of Life Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract : The hydrolyzings of tilapia meat by means of papain proteinase, neutral proteinase, acid proteinase, alkaline hydrolase or bromelain proteinase respectively to prepare hydrolyzed animal protein were studied, and the degree of hydrolysis (DH) were assayed during the hydrolyzing. According to the results, one neutral proteinase was selected and the methods to control hydrolyzing were studied. In order to improve the degree of hydrolysis and to choose one kind of proteinase for the hydrolyzing, the results of hydrolysis by two kinds of proteinases (neutral proteinase and acid proteinase) were studied. Then the optimum materials of decoloring and removing bitterness and fishy smell from enzymed liquid of tilapia meat were selected from yeast powder, flavourase, active carbon and fucose. The results indicated that active carbon and the fucose were the optimum materials, the decoloring effect of active carbon was better than fucose, while the bitterness and fishy smell removing effect of fucose was better than active carbon.

Key words: tilapia; enzymatic hydrolysis; degree of hydrolysis; hydrolyzed animal protein(HAP); active carbon; fucose

中图分类号: TS254.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)04-0177-06

收稿日期: 2004-03-11

作者简介: 粟桂娇(1972-), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为生物工程。

-
- [6] 萧伟祥. 应用树脂法分离制取茶多酚[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(6): 44-49.
 - [7] 孙智达. 高酯型儿茶素茶多酚制备方法的研究[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(5): 496-503.
 - [8] 徐燕, 等. 茶氨酸的制取及应用[J]. 天然产物研究与开发, 2002, 14(6): 77-80.
 - [9] 葛宜掌, 等. 茶叶天然咖啡因提取进展[J]. 精细化工, 1996, 13(2): 55-59.
 - [10] 陈海霞, 等. 茶多糖不同提取工艺的比较研究[J]. 食品工业科技, 2001, 22(2): 18-19.
 - [11] 郭升平. 高效液相色谱法测定茶叶中茶氨酸的研究[J]. 色谱, 1996, 14(6): 464-466.
 - [12] 傅博强, 等. 茶叶中多糖含量的测定[J]. 食品科学, 2001, 22(11): 69-73.