

# 微波技术提取茶多糖的研究

聂少平, 谢明勇\*, 罗 珍

(南昌大学 食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047)

**摘 要:** 为了保持茶多糖的生物活性, 提高得率, 采用微波技术提取茶多糖。通过正交试验确定了微波提取的最佳工艺参数, 用该法提取的茶多糖含量由蒽酮-硫酸法测定。试验结果表明, 微波提取茶多糖的最佳工艺参数为: 茶叶与水的质量比为 1:15, 在微波强度为 100% 的条件下提取 75s。通过与其它提取方法比较, 微波提取方法时间短, 得率高, 是茶多糖提取的一种优选方法。同时, 通过对  $\alpha$ -淀粉酶酶活抑制效果试验可以看出, 微波对茶多糖抑制  $\alpha$ -淀粉酶酶活的活性无影响。

**关键词:** 微波技术; 茶多糖; 提取

## Extraction of Tea Polysaccharides by Microwave Technique

NIE Shao-ping, XIE Ming-yong\*, LUO Zhen

(Key Laboratory of Food Science of Ministry of Education, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

**Abstract:** Tea polysaccharides were extracted by microwave technique in order to preserve their bioactivity and to improve their extracting rate. The optimum parameters of the technology were obtained through orthogonal test. Then this technique was used for the extraction of the tea polysaccharides whose contents were determined with anthrone-sulfuric acid method. The results showed that the optimum technical parameters were: the ratio of [S]/[L] of 1:15 and the extracting time of 75s under the microwave intensity of 100%. In contrast to other extraction methods, it was confirmed that the extraction rate of the microwave technique was higher and the extraction time was shorter. The microwave technique could be a better method for extracting the tea polysaccharides. Meanwhile, it was found that the ability inhibiting the  $\alpha$ -amylase activity of the tea polysaccharides extracted by microwave technique has not been changed.

**Key words:** microwave technique; tea polysaccharides; extraction

收稿日期: 2004-11-18

\* 通讯作者

基金项目: 国家自然科学基金项目(20462005); 江西省主要学科学术和技术带头人培养计划项目

作者简介: 聂少平(1978-), 男, 博士研究生, 主要从事食品化学与营养学研究。

- [9] Reboloso Fuentes M M, Ación Fernández G G, Sánchez Pérez J A, et al. Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*[J]. *Food Chem*, 2000, 70(3): 345-353.
- [10] Herrera A. Recovery of c-phycoyanin from the cyanobacteria *Spirulina maxima*[J]. *J Appl Phycol*, 1989, (1): 325-331.
- [11] 吴克刚, 杨连生, 黄通旺. 超声波破碎 *Thraustochytrium* 提取脂质的研究[J]. *郑州工程学院学报*, 2001, 22(4).
- [12] 裴海燕, 李富生, 汤浅晶, 等. 藻细胞破碎释放有机物的特性[J]. *中国环境科学*, 2003, 23(3): 272-275.
- [13] 温少红, 赵呈龙, 张莉萍. 紫球藻 B-藻红蛋白的分离纯化[J]. *中国海洋药物杂志*, 2001, (3): 33-35.
- [14] 赵永芳. 生物化学技术原理及应用[M]. 科学出版社, 2002: 42-46.
- [15] 吕延成, 曾庆华, 卢兴武. 羟基磷灰石层析法分离染色质中组蛋白的改进方法[J]. *东北师大学报自然科学版*, 1997, (2): 58-60.
- [16] 伍华菊, 张建平, 夏安东. 条斑紫菜中 R-藻红蛋白的生化特性[J]. *生物化学与生物物理学报*, 1994, 26(5): 491-496.
- [17] 王长海, 温少红, 欧阳藩. 紫球藻生物活性物质[J]. *海洋通报*, 1999, 18(3): 25-28.
- [18] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 科学出版社, 2002.
- [19] 陈钧辉, 陶力, 李俊, 等. 生物化学实验[M]. 科学出版社, 2003.

中图分类号: Q539

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)11-0103-05

茶叶是世界上三大饮料(茶叶、咖啡、可可)之一, 由于其对人体的医疗保健作用, 愈来愈受到人们的欢迎。在我国浩瀚的古籍中饮茶与健康的记载很多, 其中有的经过验证, 有的还是值得研究的问题。相传“神农尝百草, 日遇七十二毒, 得茶而解之”, 可见茶叶在最早是作为药物被人们利用的<sup>[1]</sup>。而茶多糖是茶叶中极具开发价值的一种生理活性物质。现代药理研究发现, 茶多糖具有降血糖、降血脂、降血压及减慢心率、耐缺氧等作用, 在抗凝血、防血栓形成、保护血相、增加冠状动脉流量和增强人体非特异性免疫功能等方面也有明显的功效<sup>[2,3]</sup>。

传统的茶叶多糖提取方法包括煎煮、有机溶剂浸出等, 但提取温度高、时间长、提取率低、成本高。而微波技术是近几年来用于天然植物有效成分提取的一项新技术<sup>[4]</sup>, 它具有快速、高效、安全、有效成分得率高、节能等特点, 刘依等<sup>[5]</sup>采用微波技术应用于板蓝根多糖的提取, 结果表明, 粗多糖得率和多糖质量分数均明显高于单独使用水煎煮法。这说明微波浸提法值得推广应用。本文将首次通过正交设计方法探讨了微波技术用于茶叶多糖提取的最佳提取工艺, 同时采用对 $\alpha$ -淀粉酶酶活抑制效果试验对不同方法提取得到的茶叶多糖的生物活性做一比较, 以期达到提高其提取率、缩短提取时间、减少能耗和有效保存茶叶多糖生物活性的目的。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

茶叶为江西分宜产粗老绿茶 江西省分宜县茶场; 耐温 $\alpha$ -淀粉酶 Termamyl<sup>®</sup> 丹麦诺维信公司(原诺和诺德公司); 可溶性淀粉 浙江菱湖食品化工联合公司;

无水葡萄糖、蒽酮、浓硫酸、无水乙醇、丙酮、乙醚、氯仿、正丁醇、柠檬酸、柠檬酸钠、氢氧化钠、碘化钾、碘、磷酸氢二钠、盐酸, 以上试剂均为分析纯。

WD700ATL17-3 电脑型烧烤微波炉 Galanz, UV2000 紫外分光光度计 尤尼柯(上海)仪器有限公司; FA1104 电子天平 上海精天电子仪器厂; 电子恒温不锈钢水浴锅 上海精宏实验设备有限公司; RE-52 旋转蒸发仪 上海亚荣生化有限公司; ZK-82A 型真空干燥箱 上海实验仪器总厂; TDL-5A 离心沉淀机 上海安亭分析仪器有限公司; SY3200 型超声波清洗器 上海声源超声波仪器设备有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 茶多糖含量测定

采用蒽酮-硫酸比色法<sup>[6]</sup>, 将醇沉洗涤后的茶叶粗多糖沉淀加蒸馏水复溶、定容至设定体积, 用蒽酮-硫酸显色后测定吸光度(A), 由葡萄糖标准曲线得出的回归方程  $C = -0.0012 + 0.1465 A$  计算供试液中葡萄糖质量浓度(C), 由精制茶多糖测得茶多糖相对葡萄糖的换算因子<sup>[7]</sup> $f = 4.220$ 。

#### 1.2.2 茶多糖提取率计算

$$\text{多糖提取率}(\%) = C \cdot D \cdot f / W \times 100 \quad (1)$$

式(1)中: C 为供试液中葡萄糖浓度(mg/ml), D 为多糖的稀释因素, f 为换算因子, W 为供试茶样的重量(g)。

$$\text{粗多糖(干重)提取率}(\%) = M / W \times 100 \quad (2)$$

式(2)中: M 为粗多糖(干重), W 为供试茶样的重量(g)。

#### 1.2.3 $\alpha$ -淀粉酶酶活力测定及茶多糖对其酶活抑制效果的计算<sup>[8]</sup>

分光光度计法吸取可溶性淀粉溶液 20.0ml 和 pH6.0 的磷酸缓冲液 5.0ml 于试管中, 在 70℃ 恒温水浴中预热平衡 5min, 然后加入到在 55℃ 预温 20min 的混合溶液中(含 1ml 茶多糖提取液和 1.00ml 待测酶液, 酶液已稀释至合适浓度)。摇匀, 准确反应 5min。立即吸取反应液 1.00ml, 加到预先盛有 0.5ml 盐酸(0.1mol/L)和 5.00ml 稀碘液的试管中, 摇匀。以蒸馏水代替淀粉溶液作试剂空白调零。660nm 处用 10mm 比色皿迅速测定其吸光度(A)。

茶多糖对其酶活抑制效果的计算公式为:

$$PE = (c_0 - c_1) V_E / C \cdot V \quad (3)$$

式(3)中: PE 为茶多糖对 $\alpha$ -淀粉酶酶活的抑制效果(U/mg 多糖), 即每 mg 多糖使酶活单位 U 的降低值;  $c_0$  为未加茶多糖的酶液中 $\alpha$ -淀粉酶的原始浓度(U/ml),  $c_1$  为经茶多糖抑制后的酶液中 $\alpha$ -淀粉酶的浓度(U/ml), C 由测得的反应液的吸光度 A 据“吸光度 A-酶浓度 C”附录表查得;  $V_E$  为所取稀释酶液的体积(ml), 本试验取 1ml; C 为经初步纯化的多糖提取液中茶多糖的浓度(mg/ml); V 为加入酶液的多糖提取液的体积(ml)。

$$PER = PE / (c_0 \cdot V_E) \times 100 \quad (4)$$

式(4)中: PER 为每 mg 茶多糖对 $\alpha$ -淀粉酶酶活力的抑制率(%), 其余同上式。

#### 1.2.4 微波提取茶多糖工艺

精密称取茶叶 5g, 加入一定量的蒸馏水, 置于微波炉中, 调整微波强度和微波提取时间进行提取, 取出后在 55℃ 水浴中保温一段时间后滤布挤压过滤, 滤渣用热蒸馏水洗涤, 合并滤液, 离心分离(4800r/min,

10min), 上清液浓缩至一定体积, 加入无水乙醇, 低温(4℃)静置 24h; 将醇沉液离心分离(4800r/min, 10min), 沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤两次, 真空干燥至恒重, 得茶叶粗多糖, 按式(2)计算粗多糖(干重)得率。参照 1.2.1 项下测定并按式(1)计算多糖提取率。

### 1.2.5 与超声等提取方法的对比试验

精密称取茶叶 5g, 加入 100ml 蒸馏水, 分别处理: (1)在室温下浸提 1h; (2)55℃水浴加热浸提 1h; (3)在火力为 100 的微波炉中微波辐射提取 65s 后再在 55℃水浴中保温 30min; (4)超声(33kHz, 100W)振荡 1h。将上述条件下的提取物分别取出后用滤布挤压过滤, 滤渣用热蒸馏水洗涤, 合并滤液, 离心分离(4800r/min, 10min), 上清液浓缩至一定体积, 加入无水乙醇, 低温(4℃)静置 24h; 将醇沉液离心分离(4800r/min, 10min), 沉淀依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤两次, 真空干燥至恒重, 得茶叶粗多糖, 计算粗多糖(干重)得率。参照 1.2.1 项下测定并按式(1)计算多糖提取率。

### 1.2.6 不同茶多糖提取物对 α-淀粉酶酶活抑制效果的对比试验

将不同提取方法得到的茶多糖粗提物和经过 Seville 法除蛋白, 透析的精制茶多糖<sup>[7]</sup>提取物, 取一定体积加入酶液中, 按 1.2.3 中的方法测定经茶多糖抑制后的 α-淀粉酶的酶活并根据式(3)、(4)计算其对 α-淀粉酶酶活抑制效果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素试验

微波提取茶多糖的单因素试验结果见图 1~4。

### 2.2 微波提取条件正交试验

根据试验, 微波提取后在 55℃水浴中保温 30min 后多糖提取率不再升高(见图 1), 在此条件下, 选择微波时间、微波强度、茶叶与水的质量比为考察因素, 以多糖提取率为考察指标, 根据微波提取单因素实验结果(图 2~4), 确定各正交设计因子的水平, 见表 1。按 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表对微波提取工艺进行研究, 确定茶多糖微波

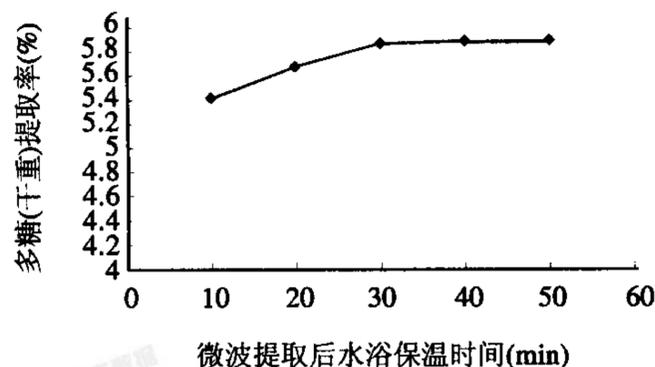


图1 多糖提取率与微波提取后水浴保温时间的关系

Fig.1 The relation between the percent of extraction of tea polysaccharides and the heat preservation time

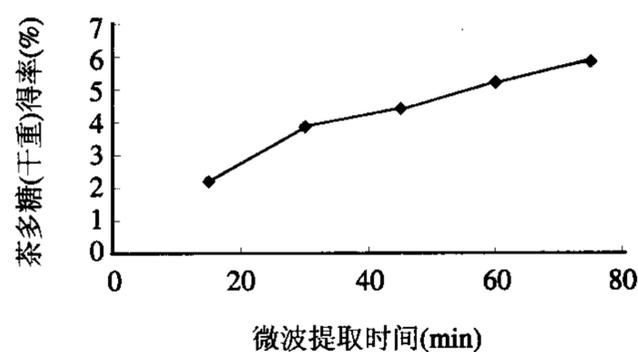


图2 多糖提取率与微波提取时间的关系

Fig.2 The relation between the percent of extraction of tea polysaccharides and the extracting time

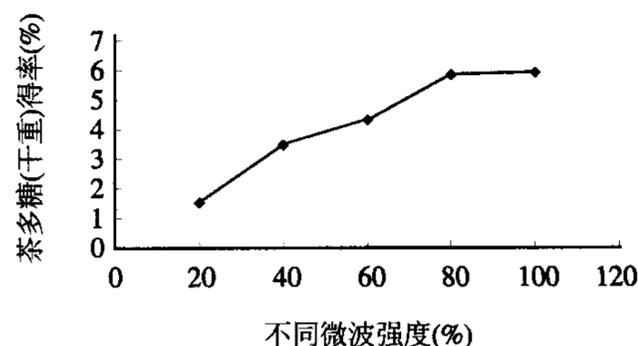


图3 多糖提取率与微波强度的关系

Fig.3 The relation between the percent of extraction of tea polysaccharides and the microwave intension

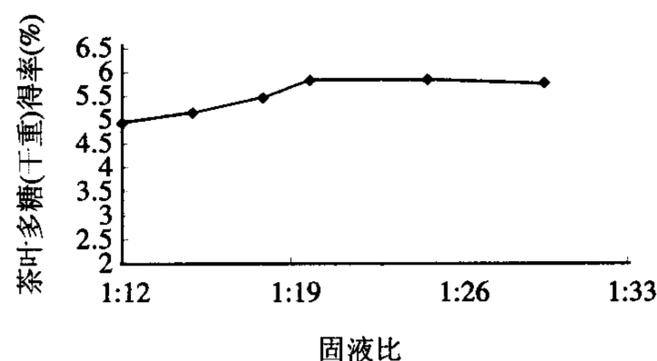


图4 多糖提取率与茶叶与水的质量比的关系

Fig.4 The relation between the percent of extraction of tea polysaccharides and the ratio of [S]/[L]

表1 正交设计因子和水平表

Table 1 The factors and levels of orthogonal test

水平	微波时间 A(s)	微波强度 B(%)	茶叶与水的质量比 C
1	45	60	1:15
2	60	80	1:18
3	75	100	1:20

提取的最佳工艺参数。

微波提取条件的正交实验结果及极差、方差分析见表 2、表 3。

由极差及方差分析可知, 影响多糖提取率各因素的主次关系为: 微波时间 > 微波强度 > 固液比, 由方差分析可知, 微波时间和微波强度均在 5% 水平上存在显著性差异, 固液比在 1% 水平上无差异。综合考虑, 选择微波提取茶多糖的最佳工艺条件为: A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>1</sub>, 即微波时间 75s, 微波强度 100%, 固液比 1:15。

### 2.3 与超声等方法的对比试验

表3 方差分析表

Table 3 The analysis of variance

方差来源	平方和 $S_j$	自由度 $f_j$	均方 $S_j$	$F_j^{\Delta}$	表值 F	显著性
A 微波时间	2.927	2	1.4635	45.974	$F_{0.99}(2,2)=99.0$	*5% 显著
B 微波强度	0.127	2	0.0635	1.995	$F_{0.95}(2,2)=19.0$	*5% 显著
C 固液比	0.017	2	0.0085	0.267	$F_{0.9}(2,2)=9.0$	
误差	0.13	2	0.065			
总和	3.607	8				

表5 不同茶多糖提取物对  $\alpha$ -淀粉酶酶活抑制效果的比较Table 5 The inhibition effects of tea polysaccharides using different extraction methods to  $\alpha$ -amylase

不同提取方法	浓度(mg/ml)	未加多糖提取液时 $\alpha$ -淀粉酶活力(U/ml)	加入多糖提取液后 $\alpha$ -淀粉酶活力(U/ml)	抑制效果(以多糖计)(U/mg)	抑制率(%)
室温水提粗多糖	1.532	4.492	4.176	0.206	4.78
室温水提精制多糖	1.081		3.517	0.902	20.85
水提粗多糖	1.294		4.214	0.215	4.59
水提精制多糖	1.316		3.283	0.918	20.08
超声法粗多糖	1.468		4.201	0.198	4.41
超声法精制多糖	1.715		2.907	0.924	19.57
微波法粗多糖	1.324		4.210	0.213	4.74
微波法精制多糖	1.591		3.004	0.935	20.69

表2 正交实验数据及极差分析表

Table 2 The data of orthogonal test and the analysis of difference

试验号	微波时间 A (s)	微波强度 B (%)	固液比 C	D (空白)	AR (%)
1	1(45)	1(60)	1(1: 15)	1	4.19
2	1(45)	2(80)	2(1: 18)	2	4.51
3	1(45)	3(100)	3(1: 20)	3	4.58
4	2(60)	1(60)	2(1: 18)	2	5.18
5	2(60)	2(80)	3(1: 20)	3	5.04
6	2(60)	3(100)	1(1: 15)	1	5.41
7	3(75)	1(60)	3(1: 20)	3	5.67
8	3(75)	2(80)	1(1: 15)	1	5.87
9	3(75)	3(100)	2(1: 18)	2	5.92
I	4.427	5.013	5.157	5.050	T=46.37
II	5.210	5.140	5.203	5.197	
III	5.820	5.303	5.097	5.210	$\bar{ER}=5.152$
R	1.393	0.290	0.106	0.160	

因素主次 A > B > C

表4 不同提取方法所得多糖提取率比较

Table 4 The percent of extraction of tea polysaccharides using different extraction methods

提取方法	多糖提取率(%)
室温水提法	1.89
水提法	3.74
微波提取法	4.73
超声波法	4.36

取率及技术经济等方面,微波提取法比其它方法要优越得多。

#### 2.4 不同茶多糖提取物对 $\alpha$ -淀粉酶酶活抑制效果的对比试验

$\alpha$ -淀粉酶能参与人体的糖代谢过程,茶多糖对  $\alpha$ -淀粉酶水解淀粉的活力进行抑制,延缓葡萄糖的释放,可能是其降血糖的机理之一。通过测定不同茶多糖提取物对  $\alpha$ -淀粉酶酶活的抑制效果,可从一个侧面反映提取工艺的可行性。其结果见表5。

由表5可知,不同方法提取的茶多糖抑制  $\alpha$ -淀粉酶活性的能力相差不大,水提粗多糖、超声法粗多糖和微波法粗多糖对  $\alpha$ -淀粉酶酶活的抑制率分别是室温水提粗多糖的96.0%、92.3%和99.2%;水提精制多糖、超声法精制多糖和微波法精制多糖对  $\alpha$ -淀粉酶酶活的抑制率分别是室温水提精制多糖的96.3%、93.9%和99.2%。同时,从表5中也可以看出精制多糖抑制  $\alpha$ -淀粉酶活性的能力远远高于粗多糖的抑酶活性。可见微波工艺对茶多糖抑制  $\alpha$ -淀粉酶酶活的能力无影响。

#### 参考文献:

- [1] 杨克同.茶叶的主要化学成分及其营养价值[J].食品科学,

王航宇等<sup>[9]</sup>用超声波法提取甘草多糖,研究发现超声提取比常规提取所得含量高出36%,超声波提取主要是利用超声波空化产生的极大压力造成被破碎物细胞壁及整个生物体破裂,而且整个破裂过程在瞬间完成;同时超声波产生的振动作用加强了胞内物质的释放、扩散及溶解,加速植物中的有效成分进入溶剂,使其进一步增大了有效成分的溶出。本文在研究微波提取的同时,也与超声提取及水提取作了一个比较。不同提取方法所得多糖提取率结果见表4。

采用微波加热主要是使得细胞内部温度迅速上升,细胞内部液态水份汽化产生的压力将使细胞膜和细胞壁急剧破裂,形成微小的孔洞,使可溶性物质快速溶出,从而增加多糖的提取率。结果表明,在提

# 鹿苑茶闷堆工艺研究

周继荣, 陈玉琼, 孙 娅, 倪德江 \*  
(华中农业大学园艺林学学院, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:** 通过4因素3水平正交试验, 研究了揉捻时间、茶叶含水量、闷堆温度和闷堆时间对鹿苑茶品质的影响。结果表明, 茶叶含水量、闷堆温度和闷堆时间对茶多酚和叶绿素含量影响达到极显著水平, 而闷堆温度和闷堆时间对蛋白质、氨基酸和可溶性糖的含量影响不显著; 茶叶含水量、闷堆温度和闷堆时间之间两两交互作用对叶绿素含量影响较大; 茶多酚和叶绿素含量随茶叶含水量、闷堆温度和闷堆时间的增加呈下降趋势。应用L\* a \* b \* 表色系统描述干茶和茶汤色泽, 随着茶叶含水量、闷堆温度和闷堆时间的增加, 干茶和茶汤 a \* 为负值, 均呈上升趋势; 干茶和茶汤 b \* 均为正值, 茶汤 b \* 呈增加趋势, 干茶 b \* 变化趋势不明显。结合感官审评结果、品质成分和色泽分析, 鹿苑茶最佳闷堆条件为: 茶叶含水量40%左右, 闷堆温度35℃左右, 闷堆时间7h左右。

**关键词:** 黄茶; 鹿苑茶; 闷堆

## Studies on the Piling Technological Effects on Luyuan Yellow Tea

ZHOU Ji-rong, CHEN Yu-qiong, SUN Ya, NI De-jiang\*  
(College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The effects of rolling time, water content of tea, piling temperature and piling duration on the quality of Luyuan yellow tea were studied in orthogonal design. Results showed that the effects of water content, piling temperature and duration on the contents of tea polyphenols and chlorophyll respectively were significant, but the effects of piling temperature and duration on the contents of protein, amino acids and soluble sugar were not significant. The effects of the mutual -factor interactions among water content, piling temperature and duration on the content of chlorophyll were significant. With the increasing of water content, piling temperature and duration, the contents of tea polyphenols and chlorophyll appeared in a decreased trend. L\* a \* b \* color system was applied to describe the color of drying tea and tea liquor. The a\* values of drying tea and tea liquor were all negative and declined with the increasing of water content, piling temperature and duration, and the b\* value of drying tea and liquor were positive, the b\* value of tea infusion tended to increase, but that of drying tea showed no obvious trend. Combining with the organoleptic testing results and the changing trend of biochemistry components and color, the optimizing piling conditions were:

收稿日期: 2004-11-19

\* 通讯作者

基金项目: 湖北省“九五”科技攻关项目(991P1001)

作者简介: 周继荣(1973-), 男, 工程师, 硕士, 研究方向为茶叶加工和茶叶生物化学。

- 1984, (6): 8-14.
- [2] 严鸿德, 汪东风. 茶叶深加工技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [3] 傅博强, 谢明勇, 周鹏. 茶叶多糖的提取纯化、组成及药理作用研究进展[J]. 南昌大学学报(理科版), 2001, 25(4): 358-364.
- [4] 张代佳, 刘传斌, 修志龙, 等. 微波技术在植物细胞内有效成分提取中的应用[J]. 中草药, 2000, 31(9): 附5.
- [5] 刘依, 韩鲁佳. 微波技术在板蓝根多糖提取中的应用[J]. 中国农业大学学报, 2002, 7(2): 27-30.
- [6] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术(第二版)[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1998.
- [7] 傅博强, 谢明勇, 聂少平, 等. 茶叶中多糖的含量测定[J]. 食品科学, 2001, (11): 69-72.
- [8] 姜锡瑞. 酶制剂应用手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社出版, 1999. 276.
- [9] 王航宇, 刘金荣, 江发寿, 等. 新疆甘草多糖的超声提取及含量测定[J]. 基层中药杂志, 2002, 16(1): 7-8.