

油溶性茶多酚—茶多酚脂肪酸酯的研制

王洪新, 聂小华

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 将含量约87%的普通茶多酚同丙酸酐、棕榈酸酰氯、油酸酰氯溶于乙酸乙酯中, 在碱性催化剂催化下进行非水相酯化反应, 得到的产品经油溶性、抗氧化性等指标比较知以茶多酚棕榈酸酯效果较佳。经过单因素及正交试验, 确定了最佳合成条件为: 茶多酚/棕榈酸酰氯/催化剂N为1:3.0:2.5(摩尔比), 茶多酚/乙酸乙酯为1:40(W/V), 反应温度40℃, 时间8h。在此条件下得到的茶多酚棕榈酸酯产品的产率为85.24%, Rancimat的诱导时间290min, 抗氧化保护系数为1.89, 产品为淡黄色, 200×10^{-6} 添加量时不改变油脂的澄清透明度, 浊度与折光指数均与空白对照基本一致。用ESI质谱分析, 初步判断产品中含有几种儿茶素的一酯、二酯和少量未反应的儿茶素及棕榈酸。

关键词: 茶多酚; 棕榈酸酰氯; 碱性催化剂; 茶多酚棕榈酸酯

Studies on the Preparation of Soluble Tea Polyphenol-Palmitate-Oil

WANG Hong-xin, NIE Xiao-hua

(School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The reaction products between the common Tea Polyphenols (TP) and propionic anhydride or palmitoyl chloride or oleinoyl chloride in ethyl acetate solution (with alkaline catalyst) were evaluated by the antioxidative activity and solubility

收稿日期: 2004-05-08

作者简介: 王洪新(1964-), 男, 副研究员, 博士, 主要从事食药天然资源有效成分的研究开发。

本文对三种孔径无机陶瓷膜微滤、中空纤维超滤和果胶酶澄清处理对梨汁的澄清效果的影响进行实验, 经过以上分析讨论得出如下结论:

(1) 0.8μm和0.2μm孔径无机陶瓷膜微滤对梨汁的可溶性固形物含量、VC含量和还原糖含量影响不大, 澄清梨汁得率较高, 并且基本保持了梨汁的原有风味; 但前者处理后梨汁浊度较大, 出现梨汁分层现象, 后者适合梨汁澄清生产。

(2) 50nm孔径无机陶瓷膜微滤和中空纤维超滤对梨汁的可溶性固形物含量、VC含量和还原糖含量影响较大, 营养成分损失较大, 澄清梨汁得率较低, 梨汁的风味失去较多; 虽然澄清效果最好, 但不适合梨汁澄清生产。

(3) 果胶酶澄清处理对梨汁的可溶性固形物含量、还原糖含量和梨汁的风味影响较小, 且澄清梨汁得率较高; 但VC损失较大, 浊度太大, 短时间出现沉淀, 不适合梨汁澄清生产。

参考文献:

- [1] 蔡同一, 李景明, 闫红, 等. 聚砜、磺化聚砜及共混膜在草莓汁超滤澄清中的应用研究[J]. 膜科学与技术, 1998, 18(3): 36-39.
- [2] Camposa D C P, Santosb A S, Wolkoffc D B, et al. Cashew apple juice stabilization by microfiltration[J]. Desalination, 2002, 148: 61-65.
- [3] 李秀芬, 付学起. 膜分离技术在抗生素提炼过程中的应用[J]. 膜科学与技术, 2001, 21(6): 44-48.
- [4] 陈逢凯, 张海东. 新型食品分离技术[J]. 食品研究与开发, 2001, 22(6): 3-5.
- [5] Girard B, Fukumoto L R. Apple juice clarification using microfiltration and ultrafiltration polymeric membranes[J]. Lebensm.-wiss.u.-technol, 1999, 32: 290-298.
- [6] 赵晖, 金江, 陈悦. 无机膜超滤技术在红茶澄清中的应用[J]. 食品工业科技, 2002, 23(8): 45-47.
- [7] 食品卫生标准使用手册·理化检验方法[S]. 卫生部食品卫生监督检验所, 1985.

in refined edible oil, while the Tea Polyphenol Palmitate (TPP) showed the best result. The optimized synthesis conditions through further studies were as following: TP/palmitoyl chloride/alkaline catalyst N=1:3.0:2.5 (mole), TP/ethyl acetate=1:40 (W/V), 40°C, 8h. Under these conditions the light yellowish product was obtained. Its yield was 85.24%, the Rancimat (120°C) Induction period (IP) was 290min whereas control refined rapeseed oil was 154min. The Protection Index (PI) was 1.89. The transparency, turbidity value and diopter were showing no difference between the oil contained 200×10^{-6} TPP and the oil control. It was preliminary concluded by Electric Spray Ionization Mass Spectrum (ESI-MS) that TPP contained the mono-ester, di-ester of several catechins, and some non-reactioned catechins and palmitic acid.

Key words: tea polyphenols; palmitoyl chloride; alkaline catalyst; tea polyphenol-palmitate

中图分类号: Q539

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2004)12-0092-05

茶叶茶多酚(Tea Polyphenols, TP)是从茶叶中提取分离得到的多酚类天然抗氧化剂, 具有抗氧化性强, 安全低毒等特性, 被列为 GB2760-1996《中华人民共和国食品添加剂使用卫生标准》名录中, 行业标准为 QB2154-95。其中主要的几种儿茶素是表儿茶素(EC)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG), 它们的基本结构为 α -连(或邻)苯酚基苯并吡喃衍生物, 并因此其抗氧化活性明显高于一般非酚性或单羟基酚类抗氧化剂^[1]。此外, 茶多酚已被证实有抗癌、抗辐射、预防治疗心脑血管疾病、减肥等功效^[1,2]。目前我国由于得天独厚的资源优势, 已成为世界性的茶多酚生产基地。

据笔者研究^[3], 我国许多食用色拉油很容易氧化, 即使未出厂贮存在加工厂的贮罐中, 一般不超过3个月其POV值都已超标。而茶多酚由于其酚羟基较多, 水溶性极好而油溶性很差, 直接将茶多酚应用于日常食用的小包装色拉油中会引起沉淀、浑浊或悬浮物, 所以至今这种天然、优良的食品抗氧化剂还不能很好地应用于小包装色拉油中。而居民日常家用食用油主要是以这种小包装的色拉油为主, 因此研究开发油溶性茶多酚以用于食用色拉油中, 将大大拓展茶多酚的应用市场并对人们的健康起到积极作用。

本文所指的油溶性茶多酚是将茶多酚改性成茶多酚脂肪酸酯, 既保持其强的抗氧化性, 又具备良好的油溶性, 直接加入食用油中不改变油脂的理化指标。不同于目前一些用户或生产厂采用下述方法制得的油溶性茶多酚: 有的将茶多酚溶解于乙醇等有机溶剂再加入到油脂中, 乙醇起到夹带剂的作用, 这样易引起溶剂残留; 有的加入乳化剂后添加到油脂中。这些方法在食品加工用油方面部分是可行的, 但都不适用于日常烹调用的小包装(精炼)色拉油, 因为精炼色拉油在透明度、色度、杂质含量等方面有严格的国标。

将茶多酚与高级脂肪酸酯化生成茶多酚脂肪酸酯从而增加其油溶性, 在理论和实践上都是可行的, 理论上酚类物质可以和脂肪酸酐或脂肪酸酰卤发生酯化反应

形成酚酯^[4]; 实践上有些研究人员用酶法或化学法合成了多种酚酯^[5~7]。但日本专利^[5]是用儿茶素单体在酯基转移酶的非水相催化反应下得到了一酰化儿茶素, A. De Groot 等人^[6]是将儿茶素在 4-N, N-二甲基吡啶胺的催化下与苯甲酸酯化, 得到儿茶素苯甲酸酯。至今尚未有从工业化应用角度出发, 将茶多酚混合物酯化, 以得到低成本的油溶性茶多酚, 便于应用的研究报道。鉴于酶法合成需要非常特殊的酯基转移酶, 且成本很高, 不利于实际应用推广, 故本文采用非水相化学合成法制备茶多酚脂肪酸酯, 从1996年开始研究, 取得了良好的进展。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

棕榈酸 A.R 上海化学试剂采购供应站 油酸 A.R 苏州正兴化工研究所 氢氧化钠(NaOH) A.R 宜兴化学试剂厂; 无水碳酸钠(Na_2CO_3) A.R 上海虹光化工厂; 纯正大豆色拉油, 起始POV, 0.09meq/kg; 纯正菜籽色拉油, 起始POV, 0.10meq/kg; 乙酸乙酯 A.R 上海试剂厂; 二氯亚砷(SO_2Cl_2) A.R 金山化学试剂厂; 其它药品试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器与设备

岛津UV-240紫外可见分光光度计 日本岛津; WAY阿贝折光仪 新天精密光学仪器厂; 617 Rancimat仪 瑞典 Brinkmann公司 ZFA-02旋转蒸发仪 上海玻璃仪器厂; SHZ-03型水环真空泵 河南巩义市杜甫仪器厂; 79-1磁力加热搅拌器 常州市国华仪器厂; Waters 209 HPLC 美国Waters公司 HP1100 MSD LC/MS 美国HP公司; 其它若干仪器(略)。

1.2 实验方法

1.2.1 茶多酚原料中茶多酚、儿茶素含量测定

茶多酚测定按 QB2154-95(酒石酸亚铁比色法)。

儿茶素类化合物测定: Waters 209 HPLC 仪, Wa-

ters 490 UV 检测器, Hypersil ODS4.6 \times 250mm 色谱柱, 20% 冰醋酸(A)和 100% 乙腈(B)梯度洗脱, 流速 1ml/min, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 5 μl ; 外标 D, L-C、EC、GCG、ECG、EGCG、咖啡因(Caffeine)标准品定性定量。

1.2.2 脂肪酸类型的选择

选用低级脂肪酸(丙酸酐)和高级脂肪酸(棕榈酸、油酸和硬脂酸)进行合成反应, 再进行若干指标的对比选择。

1.2.3 催化剂的选择

选用浓 H_2SO_4 、 NaOH 、 Na_2CO_3 、三乙胺及上述催化剂的复配物 N 进行对比选择。

1.2.4 棕榈酸酰氯的制备

采用亚硫酸酰氯法制备棕榈酸酰氯^[7,8]: 在三颈反应瓶中放入棕榈酸和亚硫酸酰氯(摩尔比 1:1.0~1.1), 温度 75 $^{\circ}\text{C}$, 搅拌反应 2h; 再于 90 $^{\circ}\text{C}$ 下回流 2h。重复三次。该产品目前已可从市场购得, 当时未采购到, 所以自制。

1.2.5 茶多酚棕榈酸酯的合成工艺及优化

1.2.5.1 合成工艺路线

茶多酚 \rightarrow 溶于乙酸乙酯中 \rightarrow 加一定量的脂肪酸酰氯(或酸酐) \rightarrow 于一定温度下搅拌反应若干时间 \rightarrow 稀酸洗涤反应液(酯相) \rightarrow 水洗至中性 \rightarrow 负压蒸发乙酸乙酯 \rightarrow 干燥 \rightarrow 粉末固体产品。

1.2.5.2 单因素及正交试验

以茶多酚 / 棕榈酸酰氯摩尔比(A)、茶多酚 / 催化剂摩尔比(B)、乙酸乙酯用量(C)、温度(D)、搅拌反应时间(E)等为反应条件因素, 以产物得率, Rancimat 仪诱导时间和 200×10^{-6} 产物的油溶性情况为综合评价指标, 进行单因素及正交试验优化。

正交试验设计因素与水平见表 1, 并按正交表 $L_{16}(4^5)$ 安排实验。

1.2.6 产品油溶性、透明度测定

将一定量产品及对照品加入到油脂(色拉油中), 采用肉眼观察及用可见分光光度计在 660nm 波长下测定油样的吸光度来表达浊光度, 用阿贝折光仪测定折光指数, 从而衡量产品油溶性大小及透明度。

1.2.7 产品抗氧化性能测定

用 Rancimat 仪在 120 $^{\circ}\text{C}$, 空气流量 20L/h, 走纸速度 2cm/h 条件下测定油脂的氧化诱导时间 IP(h)和计算保护系数 PI(加入抗氧化剂油样的诱导时间 / 空白对照油样的诱导时间)。

1.2.8 产品成分的初步分析

由于茶多酚原料为组分较复杂的混合物, 因此上述酯化反应后得到的产品也是混合物, 除含有茶多酚各成分的脂肪酸酯外, 可能还含有未反应物、游离棕榈酸,

表 1 正交试验因素与水平表

水平	因素				
	A	B	C(ml)	D($^{\circ}\text{C}$)	E(h)
1	1:3.0	1:2.5	70	60	10
2	1:3.5	1:3.0	60	50	8
3	1:4.0	1:3.5	50	40	6
4	1:2.5	1:4.0	40	30	4

反应物也可能是一酯、二酯等。为更好地判断产品组成和反应程度, 采用软电离质谱 - 电喷雾法(Electric Spray Ionization-ESI质谱)来分析产品的大致组成。ESI 质谱能使稳定的分子在一定条件下发生软电离, 只产生分子离子峰而不产生碎片离子峰, 从而可以确定化合物的分子量。

2 结果与讨论

2.1 茶多酚原料测定及平均分子量表示

用 QB2154-95 中酒石酸亚铁比色法测定, 本实验所用茶多酚原料中茶多酚含量为 87.86%, 为普通茶多酚。这是考虑到该技术及产品的实用性(原料易得且成本低)而不选用高纯度茶多酚。

用 Waters 209 HPLC 法, 采用标准品外标法定性定量分析, 得到所用茶多酚中儿茶素组成如表 2。由表 2 可知, 100g 茶多酚原料中含 6 种儿茶素总量为 70.83g, 共 0.1737mol, 计算得儿茶素的平均分子量为 M407.8。

由于茶多酚为混合物, 很难完全定性、定量其所含成分, 故很难确切计算其平均分子量。又由于儿茶素类化合物是其中的主要成分, 占到 80.62%(70.83/87.86), 因此本研究中假定茶多酚中只含有儿茶素类化合物, 即假定茶多酚平均分子量为 407.8, 以此计算所用茶多酚的摩尔数, 作为原料与催化剂、酰化剂的相对比例计算依据。这样仅产生系统误差, 不影响结果的可靠性。

2.2 脂肪酸类型的选择

按照茶多酚/脂肪酸(酐或酰氯)/氢氧化钠(催化剂)的一定摩尔比例, 溶于乙酸乙酯中, 于 60 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌反应 6h, 然后用稀酸洗涤反应液数次, 再水洗至中性, 回收乙酯, 真空恒温干燥, 分别得到淡黄色固体粉末。用产品的油溶性和抗氧化性为衡量指标, 结果见表 3。

由表 3 看出, 用丙酸酐酯化后的产品不能完全溶于油脂中, 这可能因为茶多酚与丙酸酐反应后的产物中含有茶多酚丙酸一酯、二酯和三酯, 丙酸碳链很短, 其中一酯、二酯的油溶性很小造成的。茶多酚棕榈酸和油酸酯产物, 当茶多酚 / 酯化剂 / 催化剂比例为 1:3:3 或 1:4:4 时, 能完全溶于油脂中(200×10^{-6} 添加量), 且抗氧化性也较好, 防护系数达到 1.5 左右, 且茶多酚棕榈

表2 实验用茶多酚原料中主要儿茶素组成(100g原料计)

成分名称	保留时间(min)	相对含量(%)	分子量	含量(mol)
D, L - C 左旋成右旋儿茶素	5.779	2.81	290	0.0097
EGCG 表没食子儿茶素没食子酸酯	7.664	27.17	458	0.0593
CAF 咖啡因	8.874	8.39	—	—
EC 表儿茶素	10.545	6.19	290	0.0213
GCG 没食子儿茶素没食子酸酯	11.077	15.76	458	0.0344
ECG 表儿茶素没食子酸酯	19.310	12.71	442	0.0288
EGC* 表没食子儿茶素	—	6.19	306	0.0202
儿茶素总量	—	70.83	M407.8	0.1737

注: * 由于没有EGC 标样, 故EGC 的精确含量没有测定, 参照文献EGC 含量与EC 含量相近而假定EGC 含量等于EC 含量。

表3 茶多酚脂肪酸酯的油溶性和抗氧化性

条件(摩尔比)	产率*(%)	油溶性(200×10 ⁻⁶)	Rancimat诱导时间IP(min)	保护系数PI
茶多酚 / 丙酸酐 / NaOH				
1:3:3	62.68	不完全		
1:4:4	70.61	不完全		
1:5:5	76.52	不完全		
茶多酚 / 棕榈酸酐 / NaOH				
1:1:1	48.40	不完全	198	1.22
1:2:2	57.35	不完全	210	1.30
1:3:3	72.00	完全	252	1.56
1:4:4	68.80	完全	246	1.51
茶多酚 / 油酸酐 / NaOH				
1:1:1	50.10	不完全	174	1.07
1:2:2	58.42	不完全	192	1.19
1:3:3	70.89	完全	234	1.44
1:4:4	67.11	完全	228	1.41

注: * 产率% = 产品(g) / [茶多酚(g) + 脂肪酸酐或酐氯(g)] × 100%;

** 本实验用“元宝”牌大豆色拉油, 空白样诱导时间162min。

表4 催化剂选择实验结果

催化剂种类	得率及溶解情况		外观现象
	1:3:3	1:4:4	
浓硫酸	—	—	加入茶多酚的乙酸乙酯溶液后, 溶液随即浑浊; 反应中有粘稠物出现
氢氧化钠	得率 72.00% 完全溶解	得率 68.82% 完全溶解	反应进行到结束时, 有黑色焦状物出现
三乙胺	—	—	加入茶多酚的乙酸乙酯溶液后, 溶液随即浑浊; 反应中有粘稠物出现
碳酸钠	得率 72.43% 不完全溶解	得率 73.15% 不完全溶解	加入茶多酚的乙酸乙酯溶液后, 溶液颜色由红棕色转为淡绿色; 反应液为淡黄色的浆状
催化剂 N	得率 76.48% 不完全溶解	得率 79.67% 完全溶解	现象同碳酸钠

酯效果稍优于茶多酚油酸酯。这是因为棕榈酸为饱和脂肪酸, 本身比油酸氧化稳定性好。另外棕榈酸酐比油酸酐价格低, 两者的产物得率均为 70% 左右, 所以决定下面以合成棕榈酸酯为主要研究内容而进行优化。

2.3 催化剂的选择

酚类物质与酸酐或酐氯的酯化反应催化剂有碱性和酸性两类。酸性催化剂一般有浓硫酸、浓盐酸和甲基苯磺酸等, 碱性催化剂一般有 NaOH、Na₂CO₃、乙酸钠、三乙胺和吡啶等。经初步实验发现, 以浓硫酸作催化剂反应中会出现粘稠性物质, 这可能因为茶多酚与浓硫酸形成盐, 容易沉淀析出, 从而阻碍反应的进一

步进行。以 NaOH 为催化剂, 茶多酚首先形成酚盐, 在乙酸乙酯中分布较均匀, 溶液由棕红色变为淡绿色, 但当 NaOH 用量较大时 ($\text{NaOH}/\text{茶多酚} \geq 3/1$), 反应器中有少量黑色焦状物出现。故进一步比较了浓硫酸、NaOH、 Na_2CO_3 、三乙胺和催化剂 N (自制复配型碱性催化剂)。结果见表 4。

由表 4 看出, 只有用 NaOH 和催化剂 N 的反应得到的产品能完全溶解于油脂中。综合比较选用催化剂 N 进一步实验优化。

2.4 棕榈酸酰氯的合成

三次合成实验产率分别为 76.00%, 74.94% 和 77.32%, 平均产率 76.09%。

2.5 茶多酚棕榈酸酯合成实验

首先通过单因素试验, 初步确定了茶多酚 / 催化剂 N 为 1:2.5, 茶多酚 / 棕榈酸酯 1:3.0, 温度 30°C , 搅拌反应时间 7h, 乙酸乙酯用量 (溶解 1g 茶多酚) 40ml 为较佳的条件。

通过极差分析, 并从产率、油溶性、诱导时间综合分析, 得到最佳反应条件为 $A_1B_1C_4D_3E_2$, 即茶多酚 / 棕榈酸酰氯=1:3.0 (摩尔比), 茶多酚 / 催化剂 N=1:2.5 (摩尔比), 乙酸乙酯用量 40ml (溶解 1g 茶多酚), 温度 40°C , 反应时间 8h。

2.6 产品应用的澄清透明度

为了避免肉眼观察溶解性时的不准确性, 更好地评价添加了茶多酚棕榈酸酯后油样的澄清透明度, 采用了可见分光光度计于 660nm 下测定油样的吸光度: 空白样 0.036, 添加样 0.035~0.037 (10 次添加后测定); 用阿贝折光仪测定了油样的折光指数: 空白样 1.4722, 添加样 1.4720~1.4723, 均符合国家标准。

2.7 产品的 ESI 分析

根据产品正、负离子 ESI-MS 图分析, 产品中含多种化合物, 这些物质包括: EGC-棕榈酸一酯 (分子量-679.3, +681.3)、二酯 (分子量-917.5); EGC-棕榈酸一酯 (分子量+695.5)、二酯 (分子量-933.5, +935.5); EGC-棕榈酸一酯 (分子量+545.5), EC-棕榈酸一酯 (分子量+527.5)。另外尚含有少量未反应的 EGC、ECG、

EGCG 和棕榈酸等。只所以含有少量未反应的原料成分, 主要可能是产品在后处理时水洗不彻底而残留在产品中的。

3 结 论

本文研究了普通茶多酚 (含量 87.86%) 与棕榈酸酰氯反应后得到了油溶性的茶多酚棕榈酸酯, 添加 200×10^{-6} 时完全溶于食用色拉油中, 不影响油脂的透明度, 具有较强的抗氧化性能 (保护系数达到 1.90)。作者在后续工作中还研究了不同添加量下对豆油、菜籽油、猪油的添加情况, 并与合成抗氧化剂 BHA、BHT、TBHQ、PG 以及天然 VE、卵磷脂、L-AP 的对比实验及某些协同增效作用, 均证明该产品具有一定的优越性和实用性, 由于篇幅限制在此暂不予报道。但上述研究仍然是初步的, 尤其在产品组成的定性、定量上以及毒理学试验方面还有许多工作要做, 在合成工艺上仍需进一步优化。

参考文献:

- [1] 顾雄毅, 戴迎春. 茶多酚—茶叶化学研究的新领域[J]. 化学世界, 1996, (3): 123-126.
- [2] 古利伟, 翁新楚. 食用天然抗氧化剂研究进展[J]. 中国油脂, 1997, (3): 37-40.
- [3] 王洪新, 邵云天, 陈志华. 茶多酚对精炼菜籽油的抗氧化作用[J]. 中国油脂, 1994, (5): 36-38.
- [4] 恽代魁. 有机化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [5] EP 6182203
- [6] A De Groot, R Domisse, et al. Advantages of Long-Range-INEPT Measurements for Structure Determination of CatechinEsters[J]. Bulletin of Magnetic Resonance, 1995, (17): 242-243.
- [7] L Jurd. The selective alkylation of polyphenols(II): methylation of 7-, 4'-, and 3'-Hydroxyl Groups in Flavonols[J]. J Org Chem, 1962, (27): 1294-1297.
- [8] A W Ralston, W M Selby. Action of sodium upon high molecular weight fatty acid chlorides[J]. J Am Chem Soc, 1939, (61): 1019-1020.



捷克粮食产量创 14 年来最高水平

捷克国家统计局日前公布的数据显示, 今年捷克粮食产量达到 883 万吨, 同比增长 53.9%, 达到 1990 年以来的最高水平。

据捷克农业部介绍, 除满足国内消费之外, 今年所产粮食尚有 200 万吨左右剩余。预计, 欧盟将会逐步收购捷克市场上多余的约 180 万吨粮食。

专家预测, 尽管捷克今年粮食丰收, 但是食品价格不会下降。