

# 微波对茶多酚浸出及其结构和组成的影响研究

汪兴平<sup>1</sup>, 周志<sup>1</sup>, 莫开菊<sup>1</sup>, 张家年<sup>2</sup>

(11 湖北民族学院; 21 华中农业大学)

**摘要:** 该文以中、低档绿茶为原料, 研究了微波对绿茶多酚类物质浸出及其结构和组成的影响, 结果表明: 以水为介质, 微波处理绿茶有利于茶叶多酚类物质的浸出, 平均粒径 0.1246 mm 的绿茶用料液比 (w/v) 1:20, 时间 3 min, 微波处理 2 次, 再 50 ℃ 水浴浸提 10 min 1 次, 茶多酚浸提率达 90.173%, 高于乙醇水浸提; HPLC 分析结果显示, 经微波处理制备的茶多酚制品主要含表没食子儿茶素 (EGC)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 和表儿茶素没食子酸酯 (ECG) 3 种儿茶素。儿茶素总含量占茶多酚的 78.14%, 其中以 EGCG 含量最高, 约占 3 种儿茶素总量的 45.18%。与乙醇水溶液浸提法制备的茶多酚相比, 其儿茶素组成略有变化, 酯型儿茶素 EGCG 和 ECG 的含量略有减少, 但其减少量远小于沸水提取法。紫外和红外光谱分析证实, 微波对茶多酚制品的化学结构无影响。

**关键词:** 微波; 茶多酚; 浸出特性; 儿茶素; 组成

**中图分类号:** Q 946.184<sup>+</sup> 1

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-26819(2002)02-0110-05

茶叶中富含茶多酚 (Tea polyphenols, 简称 TP), 其中以黄酮醇类化合物 (主要是儿茶素类) 为主, 约占多酚类总量的 80% 左右。茶多酚具有清除自由基、抗氧化、抗衰老、抗癌变、防辐射、降血脂和胆固醇、抗动脉粥样硬化以及抑菌等作用<sup>[1,2]</sup>。为此, 国内外学者对茶多酚的提取分离技术等方面做了大量研究。在茶多酚提取制备中, 茶叶常采用沸水或有机溶剂浸提。但有机溶剂提取较水浸提成本高, 产品安全性低; 传统的沸水浸提耗时长, 温度高, 严重影响茶多酚制品儿茶素的组成<sup>[3]</sup>。

近年来, 因微波促进反应的高效性和强选择性, 及其操作简便、耗能少、产率高等优点, 已应用于海藻糖、丹参酮等天然产物的浸提过程, 有效地提高了得率<sup>[4]</sup>, 但微波在茶叶有效成分提取分离方面的研究尚无报道。本研究拟通过对绿茶进行微波处理, 探讨微波对绿茶多酚浸出特性影响, 分析经微波处理提取的茶多酚制品结构和组分变化, 为微波在茶叶有效成分提取方面的研究奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

绿茶: 产地, 湖北省宣恩县; 等级, 六级。

### 1.2 主要仪器

Galanz WD 800s 型微波炉: 中国顺德格兰仕电器厂有限公司; RE 252A 型旋转蒸发器: 上海亚荣生

化仪器厂; DL 25 型低速大容量离心机: 上海安亭科学仪器厂; ZL 21 真空冷冻干燥机: 上海医疗器械厂; 岛津 LC 210A TVP 型液相色谱仪: 日本岛津; Shimadzu UV 2265FW 紫外可见分光光度计; HITACHI 260210 型红外光谱仪。

### 1.1.3 主要试剂

茶多酚标样: 按文献[5]法制备

儿茶素标样: 生化试剂, SIGMA 公司

### 1.1.4 实验及检测方法

#### 1.1.4.1 茶多酚的紫外-可见光谱分析

将茶多酚样品配制成 50 mg/mL 浓度的甲醇溶液进行 190~500 nm 波长范围内紫外扫描, 观察其紫外光谱特性。

#### 1.1.4.2 茶多酚红外光谱分析

样品采用溴化钾 (KBr) 压片, 用 HITACHI 260210 型红外光谱仪进行分析。

#### 1.1.4.3 茶多酚纯度的测定

按 GB 8313-287 进行

#### 1.1.4.4 茶多酚中儿茶素总量的测定

香荚兰素比色法<sup>[5]</sup>

#### 1.1.4.5 茶多酚中儿茶素的 HPLC 色谱分析

称取一定量的茶多酚, 用 25% 甲醇水溶液配成浓度 110 mg/mL 的溶液, 按以下条件进行 HPLC 分析。

柱型: VP ODS 150 × 4.16 mm (ID); 柱温: 10 ℃; 流动相: 15% 乙腈: 2% 乙酸乙酯: 0.105% 磷酸; 流速: 0.16 mL/min; 检测仪器: 岛津 SPD 210A V P, UV; 检测波长: 273 nm; 进样量: 5 μL; 记录仪: 岛津 CR 6A; 根据标样的保留时间进行定性, 按峰面积计算组分的含量。

收稿日期: 2001-12-02 修订日期: 2001-12-21

基金项目: 湖北省教育厅资助项目 (95(青)04)

作者简介: 汪兴平, 男, 1963 年 12 月生, 安徽怀宁人, 副教授, 硕士生导师, 湖北省有突出贡献中青年专家, 主要从事茶叶及生物资源开发利用研究。湖北恩施 湖北民族学院园艺系, 445000

## 2 结果与分析

### 2.1 茶叶有效成分的微波浸提

茶多酚的提取制备一般采用沸水或有机溶剂浸提<sup>[6,7]</sup>。本试验将盛有绿茶样品及适量水的三角瓶置于微波炉中进行微波浸提。

#### 2.1.1.1 微波浸提条件的选择

在研究微波单因素处理的试验基础上, 取平均粒径 0.1246 mm 的茶叶, 采用  $L_9(3^4)$  正交试验, 研究茶叶在不同的微波处理条件下茶多酚的浸出效果, 选择最佳浸提条件。见表 1、2 和表 3。

表 1 微波处理正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment on microwave leaching

水平	A	B	C
	料液比	时间/min	浸提次数
1	1:10	1	1
2	1:20	3	2
3	1:30	5	3

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	茶多酚含量/%
1	1	1	1	1	12.128
2	1	2	2	2	21.128
3	1	3	3	3	22.187
4	2	1	2	3	17.146
5	2	2	3	1	23.198
6	2	3	1	2	21.122
7	3	1	3	2	16.165
8	3	2	1	3	16.182
9	3	3	2	1	24.107
$K_1$	56.143	46.139	50.132		$K = 176.163$
$K_2$	62.166	62.108	62.181		
$K_3$	57.154	68.116	63.150		
$k_1$	18.181	15.146	16.177		
$k_2$	20.189	20.169	20.194		
$k_3$	19.118	22.172	21.117		
极差 R	2.108	7.126	4.14		

注: 供试茶叶质量 5100g。

表 3 处理条件方差分析

Table 3 Variance analysis of the extracting conditions

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F	显著性
A	7.136	2	3.168	4.128	
B	84.112	2	42.106	48.191	3
C	36.169	2	18.135	21.134	3
误差	1.172	2	0.186		
总和	129.189	8			

注:  $F_{0.05(2,2)} = 19.10$ ;  $F_{0.01(2,2)} = 99.10$

表 2、3 结果表明:

1) 时间(因素 B)的影响达到显著水平, 在一定时间范围内, 茶多酚的浸出量随微波处理时间的增加而增加, 但时间过长, 不仅会产生爆沸现象, 而且可能会影响茶多酚制品儿茶素的组成。

2) 次数(因素 C)的影响也达到显著水平。一次处理与多次处理的浸出值差异非常大, 经两次微波处理, 茶多酚已基本达到浸出极值, 若再增加处理次数, 由于水分的增加将导致浓缩困难和增加能耗。

3) 料液比(因素 A)的影响未达到显著水平, 说明在该试验的水平范围内, 因素 A 各水平间的差异不大。原因有二, 一是水溶剂用量过少, 试验时间内会出现爆沸现象; 二是水溶剂用量过多, 溶剂吸收微波能量亦增多, 茶多酚浸出效率也随之降低。

最佳浸提条件为: 茶叶平均粒径为 0.1246 mm, 料液比为 1:20, 微波解冻档浸提 2 次, 每次 3 min, 茶多酚的浸出率达 86.133%。

#### 2.1.1.2 微波与水浴联合浸提

联合浸提法是指先微波浸提后水浴浸提。取平均粒径为 0.1246 mm 的 5100 g 茶叶样品, 先按  $A_1B_2C_2$  条件浸提, 再以料液比 1:20 于 50℃ 水浴中浸提不同时间, 结果见表 4。

表 4 联合浸提时水浴浸提时间与茶多酚浸提率的变化

Table 4 Change of the leaching rate of tea polyphenol with the extracting time of hot water during combined leaching

水浴时间/min	5	10	20
茶多酚/%	22.160	22.180	23.111
浸提率/%	89.126	90.105	91.127

表 4 表明: 茶叶用料液比 1:20 微波处理 2 次, 每次 3 min, 再以料液比 1:20 于 50℃ 水浴中浸提 10 min 1 次。茶多酚的浸提率可达 90% 以上, 明显高于 80% 乙醇水溶液 50℃ 浸提 2 次, 每次 30 min 的茶多酚浸提率。显然再延长水浴浸提时间, 茶多酚浸出量虽有所增加, 但增幅不大, 且延长了茶多酚的生产周期及增加能耗, 故水浴浸提时间以 10 min 为宜。所以微波与水浴联合浸提的最佳条件为: 平均粒径为 0.1246 mm 的茶叶以料液比 (w/v) 1:20, 时间 3 min, 微波处理 2 次, 再以 50℃ 水浴浸提 10 min, 1 次。按以上条件重复 5 次浸提试验, 测定在该条件下茶叶中茶多酚的浸提率, 结果见表 5。茶多酚的平均浸提率为  $(90.173 \pm 1.139)\%$ 。

表 5 微波联合水浴的最佳浸提条件下茶多酚浸提率的重复试验(置信度 95%)

Table 5 Repeated experiments of the extracting rate of Tea polyphenol under the combined extracting condition of microwave and hot water

试验号	1	2	3	4	5
茶多酚浸提率 $\delta\%$	92137	90162	90115	89138	91115
平均浸提率 $\delta\%$	90173 $\pm$ 1139				
变异系数 $\delta CV$	1124				

注: 茶叶中茶多酚含量: (25132  $\pm$  0110)% ; 茶叶中水分含量: (4191  $\pm$  0110)%

212 微波对儿茶素组成的影响

茶多酚中的主要成分是儿茶素类, 4 种主要儿茶素抗脂质过氧化效果的大小依次为 EGCG (表没食子儿茶素没食子酸酯) > ECG (表儿茶素没食子酸酯) > EGC (表没食子儿茶素) > EC (表儿茶素)<sup>[8]</sup>。为了了解微波对儿茶素组成的影响, 试验按图 1 制备茶多酚(与乙醇水溶液提取法作对照), 采用 HPLC 分析, 比较微波处理结合水浴浸提和乙醇水溶液浸提对茶多酚主要成分——儿茶素组成的影响, 其结果见图 2。

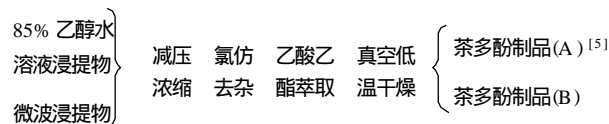
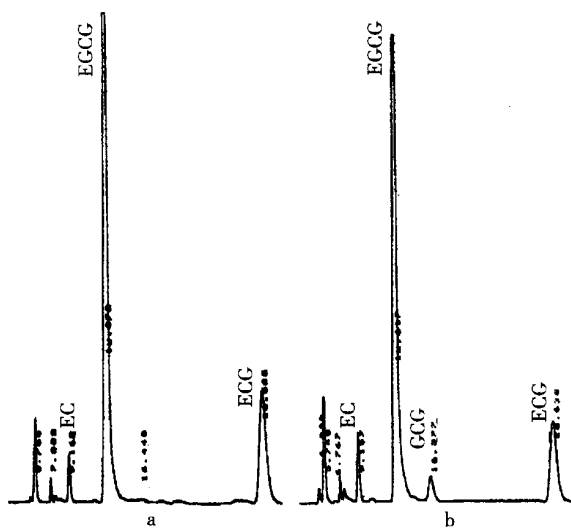


图 1 微波浸提物和乙醇水溶液浸提物的茶多酚制备工艺流程图

Fig 1 Technology of tea polyphenol processing by microwave extracting or by the mixture of ethyl alcohol extracting



a) 185% 乙醇水溶液提取(制品 A) b) 微波法提取(制品 B)

图 2 两种浸提方法制备的茶多酚 HPLC 色谱图

Fig 2 HPLC of tea polyphenol prepared by two kinds of different extracting methods

图 2 显示, 两种不同浸提方法制备的茶多酚的 HPLC 色谱图基本相似。只是与制品(A)相比, 制品(B)中 EGCG 下降了 315%, ECG 下降了 314%, 并且制品(B)色谱图中 EGCG 和 ECG 两峰之间出现一个小峰, 经鉴定为 GCG, 含量达 512%。表明微波的短时高温提取使 EGCG 和 ECG 含量下降并出现了 GCG。但与文献[5]相比, 制品(B)中 EGCG 和 ECG 的下降量均远少于用沸水提取 0.15 h 的下降量。

213 茶多酚的光谱分析

21311 紫外-可见光谱分析

茶多酚甲醇溶液(50 Lg $\delta$ mL) 在 190~ 500 nm 波长范围内进行扫描, 其结果见图 3。

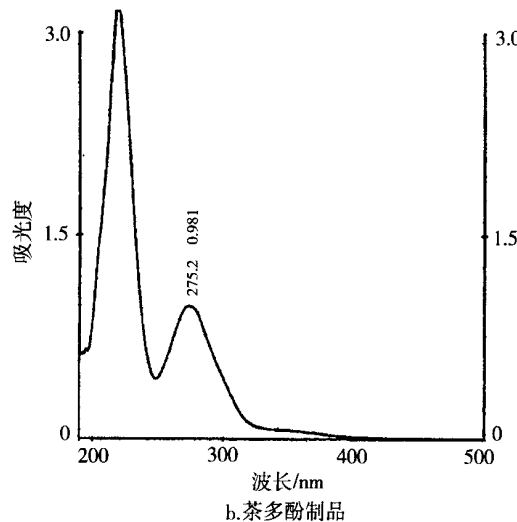
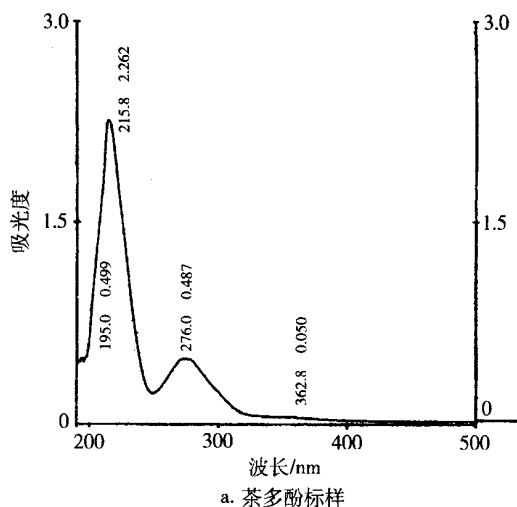


图 3 茶多酚紫外-可见光谱图

Fig 3 Ultra-violet Visible Light Spectra of tea polyphenol

由图 3 可知, 按图 1 制备的茶多酚(B)和茶多酚标样的紫外吸收图谱基本相同, 都只在 270~ 280 nm 处出现儿茶素类物质的特征吸收。

21312 红外光谱分析

按图 1 制备的茶多酚(B)与茶多酚标样的红外光谱分析结果表明,其红外光谱图基本一致(见图 4): 3 500~ 3 100  $\text{cm}^{-1}$ 处为儿茶素类  $\text{VO}2\text{H}$  伸缩振动吸收峰,在 1 695  $\text{cm}^{-1}$ 处有一个较强的  $\text{V}_{\text{C}=\text{O}}$  伸缩振动吸收峰,1 600~ 1 450 处有一组  $\text{V}_{\text{C}=\text{C}}$  伸缩振动吸收峰(即为几个苯环的骨架峰),1 240~ 1 190  $\text{cm}^{-1}$ 处为  $\text{V}_{\text{C}-\text{O}-\text{C}}$  非对称伸缩振动吸收峰。

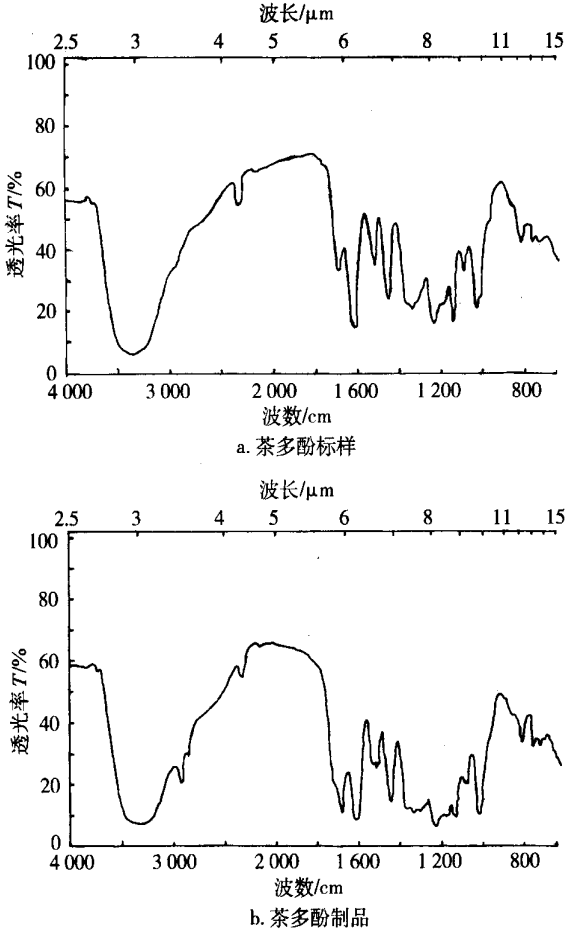


图 4 茶多酚红外光谱图

Fig 4 Infra-red spectra of tea polyphenol

上述红外、紫外光谱分析说明,茶多酚(B)结构特征与茶多酚标样相同,按图 1 所示的复合提取工艺对其茶多酚制品儿茶素结构无影响。

### 3 讨论

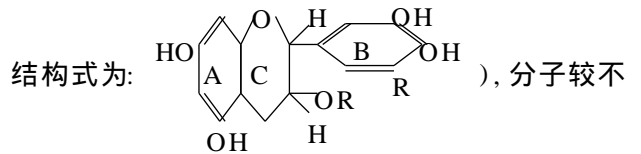
#### 3.1 微波技术与茶叶多酚类物质的浸出效果

微波技术应用于茶叶多酚类物质的提取具有短时、高效、节能等优点。与乙醇水提取相比,微波处理结合水浴提取,不仅茶多酚浸出率高,而且降低了成本和减少了污染;与沸水提取相比,微波处理结合水浴提取能有效地降低酯型儿茶素 EGCG 和 ECG 的下降量,保持茶叶活性成分的稳定。即微波处理结合

水浴提取法有效地弥补乙醇提取成本高,沸水提取时间长,有效成分破坏大的不足。微波联合水浴浸提的高效性,从细胞破碎的微观角度看,可能是因为微波加热导致细胞的极性物质,尤其是水分子吸收微波能,产生大量热量,使胞内温度迅速上升,液态水汽化产生的压力将细胞膜和细胞壁冲破,形成微小的孔洞;进一步加热,导致细胞内和细胞壁水分减少,细胞收缩,表面出现裂纹。孔洞或裂纹的存在使胞外溶剂容易进入细胞内,溶解并释放出胞内产物。

#### 3.2 微波对茶多酚制品儿茶素组成的影响

微波处理结合水浴浸提制得的茶多酚制品主要成分——儿茶素组成略有变化(EGCG 和 ECG 两峰之间出现了一个峰,见图 2)。这可能与罐装茶饮料加热灭菌过程中 EC 含量下降,+ C 含量增多<sup>[9]</sup>的原因相似。因为表型儿茶素结构中的两个较大基团—B 环和—OR 在 C 环平面的同侧(儿茶素的基本



稳定,顺式(表)儿茶素尤其是 EGCG 易发生异构化作用,转化为反式儿茶素 GCG,表明微波能产生的高温,导致了少量 EGCG 的异构化,但酯型儿茶素 EGCG 和 ECG 含量下降不大。这可能是微波作用短时的缘故。

### 4 结论

1) 微波技术应用于茶叶多酚类物质的提取具有短时、高效、节能等优点。与乙醇水溶液提取相比,微波处理结合水浴浸提,不仅茶多酚浸提率高,而且降低了成本和减少了污染;与沸水提取相比,微波处理结合水浴浸提制备的茶多酚能有效地降低酯型儿茶素 EGCG 和 ECG 含量的下降程度。确定的最佳浸提条件为:平均粒径 0.1246 mm 的绿茶用料液比 (w/v) 1:20,时间 3 min,微波浸提 2 次,再 50 水浴浸提 10 min,1 次。茶多酚浸出率达 90.173%,高于乙醇水浸提。

2) 运用 HPLC 法对茶多酚制品儿茶素组成进行定性和定量分析。茶多酚制品主要含 EGC、EGCG 和 ECG 三种儿茶素,未检出有 EC 和 GCG 儿茶素。儿茶素总含量占茶多酚的 78.14%,其中以酯型儿茶素 EGCG 含量最高,占 3 种儿茶素总量的 45.18%。

3) 紫外和红外光谱分析证实,微波对茶多酚的结构无破坏性影响。

## [参 考 文 献]

- [1] 刘学铭, 梁世中. 茶多酚的保健和药理作用及应用前景 [J]. 食品与发酵工业, 1998, 24(5): 47~ 51, 71.
- [2] Kroyer Gerhard T. Antioxidant properties of tea and coffee extracts[J]. Agric Food Chem Consum, Proc, Eur Conf Food Chem 5th, 1989, (2): 433~ 437.
- [3] 严明潮, 徐向群, 单夏锋. 提取条件对茶多酚制品儿茶素组成的影响[J]. 茶叶科学, 1996, 16(2): 155~ 156.
- [4] 张代佳, 刘传斌, 修志龙等. 微波技术在植物胞内有效成分提取中的应用[J]. 中草药, 2000, 31(9): 5~ 6.
- [5] 黄意欢主编. 茶学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [6] 汪东风, 谢晓凤, 严俊等. 茶多糖等有效成分综合提取研究[J]. 中草药, 1998, 29(11): 739~ 740.
- [7] 龚正礼, 蒲建, 刘勤晋. 茶叶儿茶素提取和纯化研究[J]. 西南农业大学学报, 1995, 17(6): 545~ 548.
- [8] Guo Q, et al. Studies on protective mechanisms of four components of green tea polyphenols against lipid peroxidation in Synaptosomes[J]. FSTA, 1997, 29(10), 10H132.
- [9] 崛田博. 茶 f 二类の抽出 精制法 野茶[R]. 茶叶试验场研究报告, 1989(3): 65~ 74.

## Influence of Microwave on Extraction, Structure and Catechin Composition of Tea-Polyphenol

Wang Xingping<sup>1</sup>, Zhou Zhi<sup>1</sup>, Mo Kaijun<sup>1</sup>, Zhang Jianian<sup>2</sup>

(1) Horticultural Department, Hubei Institute for Nationalities, Enshi, Hubei, 445000, China;

(2) Department of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** Using mid-grade and low grade green tea as raw material, the influence of microwave on the extraction, structure and catechin composition of tea polyphenol was studied. Using purified water as the solvent, microwave treatment could improve leaching tea polyphenols. The green tea of size 0.1246 mm was leached 2 times by microwave (material/water ratio 1:20, Time: 3 min). Then the tea was leached 1 time in 10 minutes by purified water (50 °C). The result showed that the leaching rate of tea polyphenols was 90.173%, which was higher than that of being leaching by the mixture of ethyl alcohol and water. The analysis of HPLC demonstrated that the tea polyphenols production prepared by microwave treatment mainly contained three kinds of catechin: EGC, EGCG and ECG. The total production of catechin constituted 78.14% of tea polyphenols, among which the content of EGCG was the highest and constituted about 45.18% of the total production of catechin in comparison with the tea polyphenols extracted by the mixture of ethyl alcohol and water. Among the tea polyphenols production extracted by microwave treatment, there was a little alteration in catechin composition and it had a slight decrease to the contents of EGCG and ECG. But the decreasing amount was far lower than that by boiling water extraction. The analysis of ultraviolet-visible light spectra and infrared spectra confirmed that microwave had no influence on the chemical structure of tea polyphenols.

**Key words:** microwave; tea polyphenol; extracting characteristics; catechin; constitution