



利用茶渣制备茶黄素工艺的研究

单圣晔, 阮美娟, 杨立伟, 王二利
(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘要: 以茶渣为原料进行化学氧化制备茶黄素的工艺研究. 着重研究氧化剂 $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ 、 $FeCl_3$ 、 $Fe_2(SO_4)_3$ 、 $Fe(NO_3)_3$ 的氧化效果. 结果表明, 茶渣浸提液在以上 4 种氧化剂作用下均可氧化形成茶黄素, 而碱性氧化剂 $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ 的氧化效果最好, 当质量浓度为 40 mg/mL、添加量为 3%、20 °C 下反应 20 min 时, 茶黄素生成量最高为 0.23%.

关键词: 茶渣; 儿茶素; 茶黄素; 化学氧化

中图分类号: TS209

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2010)01-0013-03

Technology Study of Preparation Theaflavins by Tea Residue

SHAN Sheng-ye, RUAN Mei-juan, YANG Li-wei, WANG Er-li

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology,
Tianjin 300457, China)

Abstract: There was a method of preparation of theaflavins with tea residue by chemical oxidation. Oxidation effect of oxidants that $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$, $FeCl_3$, $Fe_2(SO_4)_3$ and $Fe(NO_3)_3$ were focused studied. The results show that tea residue can be oxidized to theaflavins by the four oxidants. And the effect of alkaline oxidant, $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ is the best. The optimum conditions were the adding volume of $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ of 3%, 20 °C reaction 20 min. And the highest content of theaflavins was 0.23%.

Keywords: tea residue; catechin; theaflavins; chemical oxidation

茶黄素(theaflavin)是存在于红茶中的一种金黄色色素,在红茶发酵过程中由多酚类及其衍生物氧化缩合而来^[1]. 茶黄素含量是红茶品质的重要指标,在红茶中的含量为 0.2%~2%. 茶黄素具有抗癌、抗突变、抑菌、抗病毒、改善和治疗心脑血管疾病、治疗糖尿病等多种生理功能^[2-3]. 茶黄素自被提取分离以来,在基础研究和应用研究方面取得了一定的进展. 但是,由于茶黄素产量低、价格昂贵,制约了茶黄素的应用.

茶叶经浸提后产生的茶渣中仍残留 1%~2%的茶多酚,其中 70%~80%为儿茶素,而儿茶素正是制备茶黄素的前体物质^[4]. 因此,可以利用价格低廉的茶渣制备茶黄素,提高茶叶的附加产值.

本文主要对利用茶渣制备茶黄素的方法进行研究. 采用儿茶素化学氧化法制取茶黄素,并用紫外分

光光度法和高效液相色谱法(HPLC)分析茶黄素的化学组成.

1 材料与方法

1.1 材料

绿茶渣和红茶渣,饮料厂提供;茶黄素复合标样(茶黄素总量 80%)、儿茶素标样(儿茶素总量 96%),Sigma 公司;乙腈,色谱纯;乙酸乙酯、柠檬酸、铁氰化钾、碳酸氢钠、氯化铁、硝酸铁、硫酸铁均为国产分析纯.

756MC 型紫外分光光度计、SP-2102PC 型高效液相色谱仪,上海光谱仪器有限公司.

1.2 茶渣中儿茶素含量分析

准确称取茶渣,在 100 °C 的条件下,按料液比

(g : mL) 1 : 50 浸提 45 min. 趁热过滤, 迅速冷却后备用. 采用 HPLC 对茶渣浸提液中儿茶素含量进行测定^[5-6].

1.3 化学氧化法制备茶黄素工艺参数

1.3.1 氧化剂类型的选择

选择碱性氧化剂 $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ 和酸性氧化剂 $FeCl_3$ 、 $Fe_2(SO_4)_3$ 、 $Fe(NO_3)_3$ 分别在同一条件下进行绿茶渣浸提液的氧化实验, 以茶黄素含量(吸光度)为指标考察其氧化效果^[7-8].

1.3.2 氧化条件的优化

碱性氧化剂合理用量选择: 分别添加碱性氧化剂 1%、2%、3%、4%、5%, 20 °C 反应 20 min, 在 280 nm 处测定吸光度以确定最佳添加量.

反应时间的单因素实验: 在氧化剂添加量为 3%、20 °C 的条件下, 分别反应 10、20、30、40、50 min, 在 280 nm 处测定吸光度, 以确定最佳反应时间.

反应温度的单因素实验: 氧化剂添加量为 3%, 分别在 20、30、40、50、60 °C 反应 20 min, 在 280 nm 处测定吸光度, 以确定最佳反应温度.

正交实验: 在单因素实验基础上, 设计 $L_9(3^3)$ 正交实验的因素和水平, 以确定化学氧化法制备茶黄素的最佳工艺条件.

1.4 茶黄素含量分析

色谱柱为 C_{18} (4.6 mm×150 mm, 5 μ m), 流动相 A 为 2% 乙酸, 流动相 B 为 100% 乙腈, 流量 0.8 mL/min, 柱温 40 °C, 检测波长 280 nm, 进样量 10 μ L, 梯度洗脱, 流动相 B 在 30 min 内由 18% 线性梯度变化到 26%, 35 min 回到初始状态, 平衡 5 min^[9-10].

2 结果与分析

2.1 茶渣浸提液中儿茶素含量分析

经检测, 绿茶渣中儿茶素含量为 1.95%, 红茶渣中的含量为 1.10%, 由此可见, 绿茶渣与红茶渣相比, 绿茶渣中含有更多的儿茶素. 因此, 选择以绿茶渣作为制备茶黄素的原料.

2.2 儿茶素的化学氧化

2.2.1 氧化剂类型对茶黄素形成的影响

选择碱性氧化剂 $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ 和酸性氧化剂 $FeCl_3$ 、 $Fe_2(SO_4)_3$ 、 $Fe(NO_3)_3$ 在同一条件下进行绿茶渣浸提液的氧化实验, 以茶黄素含量(吸光度)为指标考察其氧化效果, 结果见表 1.

结果表明, 添加氧化剂后绿茶渣浸提液的吸光度有明显变化, $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ 的氧化效果最佳, 其次是 $FeCl_3$; 实验过程中观察到酸性氧化剂

$FeCl_3$ 、 $Fe_2(SO_4)_3$ 、 $Fe(NO_3)_3$ 反应速度极快, 溶液由黄色迅速变为蓝黑色, 有难闻的金属味; 碱性氧化剂即 $K_3Fe(CN)_6$ 与 $NaHCO_3$ 混合氧化剂反应速度较快, 颜色先由黄色逐渐变为浅褐色、橙红色、红色, 最终为暗红色. 碱性氧化剂与酸性氧化剂相比, 碱性氧化剂效果要好于酸性氧化剂, 因此选择 $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ 作为制备茶黄素的氧化剂.

表 1 不同氧化剂的氧化效果

Tab.1 Effect of oxidation of different oxidants

氧化剂	$FeCl_3$	$Fe_2(SO_4)_3$	$Fe(NO_3)_3$	$K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$	空白
A_{280}	0.138	0.133	0.135	0.149	0.036

2.2.2 氧化条件对茶黄素生成量的影响

(1) 氧化剂用量对茶黄素生成量的影响

氧化剂用量实验结果如图 1 所示. 由图 1 可见, 随着氧化剂用量的增加, 吸光度增大; 当氧化剂用量为 3% 时, 吸光度达到最大; 继续增加氧化剂用量, 吸光度下降, 原因可能是茶黄素被进一步氧化为茶红素、茶褐素.

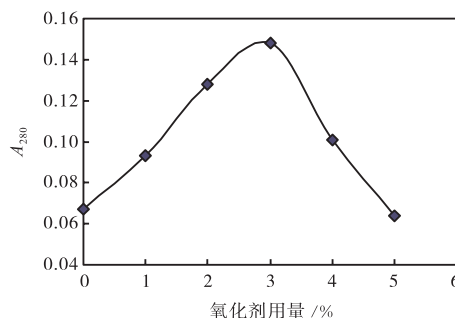


图 1 氧化剂用量对茶黄素生成量的影响

Fig.1 Effect of different adding volume of oxidant on the synthesise of theaflavins

(2) 反应时间对茶黄素生成量的影响

反应时间实验结果表明, 随着反应时间的延长, 吸光度变化不大, 变化范围为 0.12 ~ 0.14, 在反应 20 min 时吸光度最大为 0.138. 因此可认为反应时间对茶黄素生成量影响较小.

(3) 反应温度对茶黄素生成量的影响

反应温度实验结果表明, 随着反应温度的升高, 吸光度变化范围为 0.12 ~ 0.14, 在 30 °C 时吸光度最大为 0.139. 因此可认为反应温度对茶黄素生成量影响较小.

(4) 正交实验结果分析

正交实验结果及分析见表 2, 方差分析见表 3. 实验结果表明: A 因素对实验结果的影响高度显著, B、C 因素对实验结果无显著影响. 根据上述研究结果选定 $A_2B_2C_1$ 为最佳反应条件, 进行验证实验得到吸光

度为 0.153. 最终确定最佳氧化条件为:氧化剂用量 3%,反应温度为 20 °C,反应时间 20 min.

表 2 正交实验结果及分析

Tab.2 Result and analysis of orthogonal experiment

实验号	(A) 氧化剂用量/%	(B) 反应时间/min	(C) 反应温度/°C	吸光度
1	2	10	20	0.118
2	2	20	30	0.123
3	2	30	40	0.120
4	3	10	30	0.146
5	3	20	40	0.151
6	3	30	20	0.149
7	4	10	40	0.082
8	4	20	20	0.094
9	4	30	30	0.084
k_1	0.120	0.115	0.120	
k_2	0.149	0.123	0.118	
k_3	0.087	0.118	0.118	
极差	0.132	0.127	0.127	

表 3 方差分析

Tab.3 Variance analysis

因素	离差平方和	自由度	均方差	F 值	临界值
A	5.78×10^{-3}	2	2.89×10^{-3}	604.907	$F_{0.10}(2,2)=9.00$
B	8.42×10^{-5}	2	4.21×10^{-5}	8.813 953	$F_{0.05}(2,2)=19.00$
C	1.42×10^{-5}	2	7.11×10^{-6}	1.488 372	$F_{0.025}(2,2)=39.00$
误差	0	2			

2.3 茶黄素分析检测

将氧化后的绿茶渣浸提液进行检测分析,经计算得到茶黄素类总量占茶渣的 0.23%. 图 2、3、4 为茶黄素标样及浸提液反应前后茶黄素液相图,图中后 4 个峰依次为:茶黄素-3-没食子酸酯、茶黄素-3'-没食子酸酯、茶黄素没食子酸酯、茶黄素. 由图中可以看出,浸提液经化学氧化后茶黄素类各组分的含量均明显增高. 由于儿茶素的来源不同(茶叶品种不同),氧化后茶黄素的各组分含量也不相同. 由图 3、4 显示,氧化后茶黄素-3-没食子酸酯的含量最高,茶黄素、茶黄素没食子酸酯其次,茶黄素-3'-没食子酸酯最低.

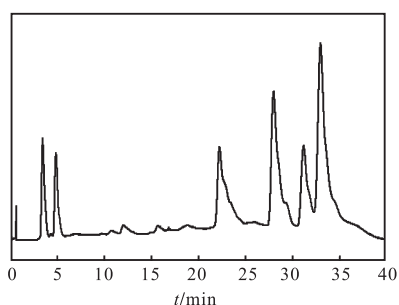


图 2 茶黄素标样 HPLC 检测图谱

Fig.2 HPLC spectrums of theaflavin standards

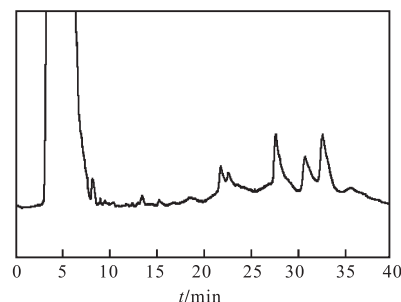


图 3 儿茶素提取液的 HPLC 检测图谱

Fig.3 HPLC spectrums of catechin liquors

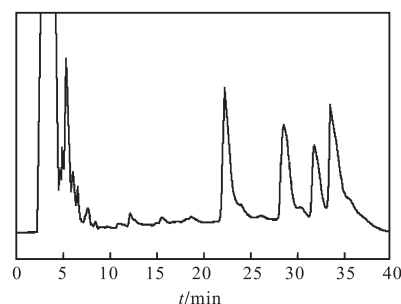


图 4 儿茶素提取液经碱性氧化后溶液的 HPLC 检测图谱

Fig.4 HPLC spectrums of catechin liquors oxidized by alkali oxidant

3 讨论

采用化学氧化法,利用茶渣制备茶黄素,为茶渣的进一步开发利用提供了一种新的途径. 目前国内一般采用从红茶中直接浸提的方法获取茶黄素,考虑到成本,工厂一般是以普通红茶为原料. 本文采用的原料为饮料厂回收的废弃茶渣,经化学氧化,茶渣中茶黄素的含量已经达到了普通红茶的含量(实验中对几种常见的市售红茶的茶黄素含量进行了检测,其含量为 0.2%~0.3%). 与直接从茶叶中提取茶黄素的工艺相比,本实验的成本相对较小,因此,此方法在实际生产中具有潜在的应用价值.

本文结果同时也表明,虽然经过化学氧化茶黄素的含量已经明显增加(与文献[4]的结果一致),但是儿茶素的转化率还比较低,因此,怎样提高儿茶素的转化率也是目前该研究领域需要解决的一个难题. 另外,茶渣化学氧化的产物相当复杂,氧化产物图谱上有一些峰面积很大的凸峰,其中可能含有一些未知的茶黄素类物质,这些未知物的分析仍有待进一步研究. 除了化学氧化法,还可以以茶渣为原料采用酶法、微生物法来制备茶黄素,从而进一步研究拓展获取茶黄素的新途径.

(下转第 42 页)