

## 茶多糖分离提取技术研究

周 志 汪兴平

(湖北民族学院园艺系,恩施,445000)

张家年

(华中农业大学食品科技系,武汉,430070)

**摘 要** 以中、低档绿茶为原料,研究了茶叶多糖提取技术,结果表明:微波水提结合醇析法制备茶多糖的得率为 2.52%,经 Sevag 法脱蛋白后,茶多糖得率和含糖量依次为 1.56% 和 30.93%,紫外和红外光谱分析证实,该工艺分离对茶多糖制品的化学结构无影响。

**关键词** 茶多糖,分离,提取技术

茶叶多糖(tea-polysaccharide,简称 TPS)是茶叶中一类与蛋白质结合在一起的酸性多糖或一种酸性糖蛋白,具有降血糖、抗炎、抗凝、抗血栓、抗辐射及增加碳粒廓清速度等药理作用<sup>[1,2]</sup>。日本的清水岑夫<sup>[3]</sup>研究发现,茶叶中具有降血糖效果的成分是茶叶多糖,其组成成分是阿拉伯糖、核糖和葡萄糖。而汪东风等<sup>[4]</sup>研究结果表明,茶多糖由糖类、蛋白质、果胶和灰分等物质组成,其中多糖部分为阿拉伯糖、木糖、岩藻糖、葡萄糖和半乳糖等,各单糖的组成比例依次为 5.52:2.21:6.08:44.20:41.99。

目前,茶多糖的提取分离方法大致可归纳为三类:(1)原料→水浸提→过滤→取滤液浓缩→乙醇沉淀→过滤→粗多糖→精制、干燥→茶多糖;(2)原料→乙醇浸泡回流→取滤饼→沸水提取→过滤→提取液浓缩、脱脂、脱蛋白、脱色等→乙醇沉淀→取滤饼精制、干燥→茶多糖;(3)原料→水浸提→超滤→取滤液→乙醇沉淀→干燥→茶多糖。鉴于微波具有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,已被用于天然产物的浸提过程,有效地提高了得率<sup>[5]</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,醇析法分离,制备茶多糖,探讨微波浸提结合醇析法对茶多糖的分离效果和结构影响,为微波在茶多糖提取方面的研究创造条件。

## 1 材料与方法

## 1.1 材 料

低档绿茶 湖北省宣恩县茶叶公司提供。

## 1.2 主要仪器

Galanz WD800s 型微波炉:中国顺德格兰仕电器厂有限公司;RE-52A 型旋转蒸发器:上海亚荣生化仪器厂;DL-5 型低速大容量离心机:上海安亭科学仪器厂;ZL-1 真空冷冻干燥机:上海医疗器械高等专科学校实验工厂;Shimadzu UV-265FW 紫外可见分光光度计;HITACHI 260-10 型红外光谱仪。

## 1.3 实验及检测方法

## 1.3.1 茶多糖提取工艺

提取工艺见图 1。

茶叶 $\xrightarrow{\text{粉碎}}$ 茶叶末 $\xrightarrow{\text{固液分离}}$ 取滤液浓缩 $\rightarrow$ 乙醇沉淀 $\rightarrow$ 真空冷冻干燥 $\rightarrow$ 粗茶多糖(I) $\rightarrow$ Sevag 法脱蛋白 $\rightarrow$ 干燥 $\rightarrow$ 茶多糖(II)

图 1 茶多糖提取工艺流程图

## 1.3.2 茶多糖的提取及纯化

称取一定量的茶叶末,用一定量水,微波联合水浴浸提数次,粗滤,离心,滤液浓缩,醇析,离心,沉淀物用无水乙醇、丙酮、乙醚交替搅拌洗涤 2 次后,真空冷冻干燥,得灰色粗茶多糖粉状物(I),然后经 Sevag 法除蛋白质,得灰白色茶多糖(II)。

脱蛋白前得率  $E_1(\%) = \frac{\text{脱蛋白前粗茶多糖质量}(g)}{\text{绝干茶叶粉末质量}(g)} \times 100\%$

脱蛋白后得率  $E_2(\%) = \frac{\text{脱蛋白后茶多糖质量}(g)}{\text{绝干茶叶粉末质量}(g)} \times 100\%$

所脱蛋白含量  $E_3(\%) = \frac{\text{脱蛋白质量}(g)}{\text{粗提物质量}(g)} \times 100\%$

## 1.3.3 茶多糖的紫外——可见光谱分析

提取的茶多糖配制成  $100\mu\text{g/mL}$  浓度的水溶液进行 200~700 nm 范围紫外扫描,观察其紫外光谱特性。

### 1.3.4 茶多糖的红外分析

取提取的茶多糖 2.0 mg, KBr 压片, 用 HITACHI 260-10 型红外光谱仪在  $4\ 000\sim650\text{ cm}^{-1}$  区间内进行红外扫描。

### 1.3.5 茶多糖的含糖量测定

蒽酮-硫酸法<sup>[6]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 茶多糖的分离提取

将平均粒径  $0.246\text{ mm}$  的绿茶以  $m(\text{绿茶}):V(\text{水})=1:20$ , 微波解冻后浸提 2 次, 每次 3 min, 再  $50^\circ\text{C}$  水浴浸提 10 min, 一次, 其浸提液于  $80^\circ\text{C}$  水浴中减压浓缩, 然后用醇析法醇析, 离心, 沉淀物用无水乙醇、丙酮、乙醚交替搅拌洗涤 2 次后, 真空冷冻干燥, 即得粗茶多糖灰色粉状物(I)。脱蛋白前茶多糖得率  $E_1$  为 2.52%。

### 2.2 茶多糖的纯化

提取的粗茶多糖(I)含有大分子的蛋白质和小分子的其它杂质。目前, 多糖脱蛋白的方法常有苯酚除蛋白、Sevag 法脱蛋白等。本试验采用 Sevag 法脱蛋白。即取一定量的茶多糖(I), 温水溶解, 然后将体积比 4:1 的氯仿/正丁醇混合液等体积加入供试液中, 提取 30 min 后, 样品中的蛋白质与混合液即形成凝胶, 离心除去凝胶, 重复 3 次, 再加入 3 倍 95% 乙醇醇析, 水溶后再醇析 2 次, 真空冷冻干燥, 得灰白色的茶多糖(II)。脱蛋白后茶多糖得率和含糖量依次为 1.56% 和 30.93%; 所脱蛋白含量为 38.25%。

### 2.3 茶多糖的紫外—可见光谱分析

取茶多糖(II)配制成  $100\text{ }\mu\text{g/mL}$  浓度的水溶液进行  $200\sim700\text{ nm}$  范围紫外扫描, 观察其紫外光谱特性, 其结果见图 2。

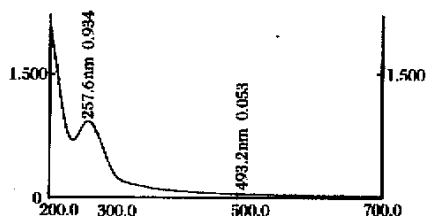


图 2 茶多糖(II)紫外-可见光谱图

由图 2 可知, 该图谱与文献<sup>[4]</sup>报道相一致。即茶多糖在  $280\sim250\text{ nm}$  处有较宽的吸收峰,  $280\text{ nm}$  处吸收峰为蛋白质特征吸收峰, 表明蛋白质不能除尽, 说明茶叶中多糖可能和蛋白质以共价键结合。

### 2.4 茶叶多糖的红外分析

取  $2.0\text{ mg}$  茶多糖(II), KBr 压片, 用 HITACHI 260-10 型红外光谱仪在  $4\ 000\sim650\text{ cm}^{-1}$  区间内进行红外扫描, 其结果见图 3。

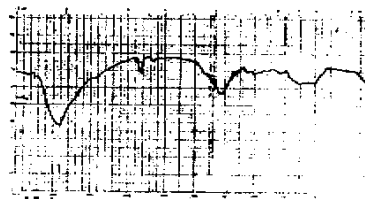


图 3 茶多糖(II)的红外光谱图

从图 3 可以看出, 在  $4\ 000\sim650\text{ cm}^{-1}$  区间具有多糖类物质的一般特征<sup>[6]</sup>, 表现在  $3\ 600\sim3\ 300\text{ cm}^{-1}$  (强、宽)谱带对应于缔合羟基的伸缩振动;  $2\ 950\text{ cm}^{-1}$  有一弱峰为 C-H 吸收峰,  $1\ 665\sim1\ 635\text{ cm}^{-1}$  的较宽吸收峰为糖的水合物所特有,  $1\ 400\sim1\ 200\text{ cm}^{-1}$  的一些峰为 C-H 的变角振动,  $1\ 150\sim1\ 060\text{ cm}^{-1}$  的较宽峰为 C-O 伸缩振动, 在  $1\ 650\text{ cm}^{-1}$  出现一典型酰胺谱图, 表明茶多糖中残留有蛋白质。

## 4 讨论与结论

(1) 研究结果表明<sup>[3,4]</sup>, 沸水提取茶多糖抗糖尿病效果较冷水提取的差, 不同提取工艺对茶多糖的活性及其单糖组成影响不同。而茶多糖提取技术的关键是如何提高其纯度又能较好地保持其生物活性。至于微波在该分离提取工艺中对茶多糖制品的活性及其单糖组成的影响及机理等有待进一步研究。

(2) 该工艺能制备得率 1.56% 的茶多糖, 茶多糖含糖量为 30.93%。

(3) 紫外和红外光谱分析证实, 该工艺分离对茶多糖制品的化学结构无影响。

## 参 考 文 献

- 1 王丁刚, 陈国华, 王淑如. 茶叶科学, 1991, 11(2): 173~174
- 2 王淑如, 王丁刚. 中草药, 1992, (5): 254~256
- 3 清水岑夫(刘维华译). 国外农学—茶叶, 1987, (3): 38~40
- 4 汪东风, 谢晓凤, 王世林等. 茶叶科学, 1996, 16(1): 1~8
- 5 张代佳, 刘传斌, 修志龙等. 中草药, 2000, 31(9): 附 5~6
- 6 张惟杰. 复合多糖生化研究技术. 上海: 上海科学技术出版社, 1987