

# 茶多糖提取条件的研究

倪德江, 谢笔钧, 宋春和, 余家林  
(华中农业大学)

摘 要: 采用二次回归正交旋转组合设计方法研究温度、时间、料液比、pH 值对绿茶、乌龙茶、红茶等茶多糖(TPS)提取率及活性的影响。结果表明, 各因子对三类茶 TPS 提取率影响的大小依次为 pH 值、温度、时间、料液比; 对 TPS 活性影响最大的是 pH 值, 在酸性或碱性环境下提取的 TPS 活性都最低。建立的回归模型显著性检验均达极显著水平, 无失拟因素存在, 模型较好的拟合了 TPS 提取率与各因子之间的关系。结合 TPS 提取率及活性测定, 利用期望函数途径进行模拟选优, 并进行验证, 得到 TPS 提取率的优化条件为温度 0~ 1 水平, 时间 0~ 1 水平, 料液比 0~ 0.5 水平, pH 值 0.95 水平左右。

关键词: 茶叶; 多糖; 提取; 活性

中图分类号: S571.1; TQ 028.32

文献标识码: A

文章编号: 1002-6819(2003)01-0176-04

## 1 引言

茶多糖(TPS)是继茶多酚之后发现的又一重要的生理活性物质。药理研究表明, 茶多糖具有降血糖、降血脂、抗凝血、抗血栓、降血压、耐缺氧、增加冠状动脉血流量、防辐射、增强机体免疫力、抗炎、抗癌等多种功效, 尤其是显著的降血糖效果和免疫活性, 茶多糖可望成为预防治疗糖尿病及心血管疾病, 增加免疫功能的天然药物<sup>[1~3]</sup>。提取是 TPS 分离纯化的第一步, 直接影响 TPS 得率和生物活性。日本曾就不同提取温度所得 TPS 用于降血糖试验作过研究, 而国内的研究都集中在后续的分选纯化方面<sup>[4~8]</sup>。为此, 在前期试验的基础上, 首次采用二次回归正交旋转组合设计方法对影响绿茶、乌龙茶、红茶 TPS 提取的关键因子温度、时间、料液比、pH 值作进一步的研究, 并对建立的数学模型进行优化, 以确定茶多糖提取的最佳条件, 为工业化生产提供依据。

## 2 材料和方法

### 2.1 材料

4 级绿茶(由湖北宣恩县香树林有机茶厂提供); 工夫红茶(云南凤庆茶厂生产, 云南农业大学茶学系提供); 4 级乌龙茶(由福建省宜春市玉斗镇茶厂提供)。

### 2.2 方法

- 1) 实验设计: TPS 提取条件采用二次回归正交旋转组合设计方法<sup>[9]</sup>, 实验因子的水平及编码见表 1。实验三次重复。
- 2) TPS 提取与分离: 茶叶 粉碎 浸提 过滤 调 pH 值 6.5 左右 45℃ 下减压浓缩 3 倍 95% 乙醇沉淀 离心 沉淀物用无水乙醇、丙酮、乙醚交替洗涤 2 次 冷冻干燥。不同 pH 的浸提液用硼砂缓冲液配制。

3) 分析方法: 糖含量: 蒽酮比色法<sup>[10]</sup>; 蛋白质含量: 考马斯亮蓝 G—250 比色法<sup>[11]</sup>; TPS 活性: 以对 (·OH) 自由基清除率的大小表示, 采用 D-脱氧核糖-铁体系法<sup>[12]</sup>; 数据统计分析: 采用 SAS 统计软件包进行处理。

表 1 实验因素和水平  
Table 1 Test factors and levels

水平	温度(X <sub>1</sub> )/	时间(X <sub>2</sub> )	料液比(X <sub>3</sub> )/mL	pH 值(X <sub>4</sub> )
-2	20.0	0.5	10.0	5.00
-1	37.5	1.0	17.5	6.25
0	55.0	1.5	25.0	7.50
1	72.5	2.0	32.5	8.75
2	90.0	2.5	40.0	10.00

## 3 结果与分析

### 3.1 TPS 提取率二次回归模型的组建与检验

各处理 TPS 的提取率、糖量、蛋白质含量及对 ·OH 自由基的清除率测定结果如表 2 所示。

由表 3 可知, 无论是绿茶、乌龙茶还是红茶, 各试验因子对 TPS 提取率的影响都达到显著水平, 重要程度依次为浸提液 pH、温度、料液比和提取时间。失拟性分析表明, 三类茶 TPS 提取率回归方程无失拟因素存在, 回归模型与实测值能较好地拟和。

### 3.2 TPS 提取工艺的优化与验证

根据回归方程的降维分析, 4 因子对 TPS 提取率的影响如图 1、图 2、图 3 所示。不同茶类浸提因子对 TPS 提取率的影响趋势基本一致。随浸提温度的提高、浸提时间的延长以及料液比例的加大, TPS 提取率增加; 但当提取时间在 0.6 水平、料液比在 1.0 水平以后, TPS 增加的幅度明显降低, 这说明可以控制浸提时间、茶/水比来降低成本。随 pH 值的增加, TPS 得率呈先降后升的趋势, 在 -1.3 水平左右得率最低, 在碱性环境浸提 TPS, 其得率明显增加, 这与 TPS 是一种酸性杂多糖有关, 因在碱性溶液中较易浸出。

活性高低是检验 TPS 质量的重要依据, 而 TPS 活性与其中的糖、蛋白质含量以及结构有关。从表 2 分析

收稿日期: 2002-03-19  
基金项目: 国家自然科学基金资助(30270939); 湖北省自然科学基金资助(2002AB101); 中国科学院上海有机化学研究所生命有机国家重点实验室资助  
作者简介: 倪德江(1966-), 男, 四川名山人, 在职博士生, 副教授, 从事茶叶加工与功能化学的教学与科研工作。武汉市华中农业大学园艺林学院茶学专业, 430070

表 2 试验安排及结果

Table 2 Test factors, levels and results

					乌 龙 茶				绿 茶				红 茶			
试验组合	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$Y_1$	$Y_{11}$	$Y_{12}$	$Y_{13}$	$Y_2$	$Y_{21}$	$Y_{22}$	$Y_{23}$	$Y_3$	$Y_{31}$	$Y_{32}$	$Y_{33}$
1	1	1	1	1	8.50	11.20	5.63	46.28	9.19	8.97	3.45	37.22	10.37	11.91	5.18	49.94
2	1	1	1	-1	3.55	29.64	10.65	66.07	2.5	19.06	6.77	49.02	3.81	20.31	8.33	63.46
3	1	1	-1	1	5.39	14.31	7.13	42.63	6.38	12.84	4.19	39.33	6.87	13.46	5.58	50.90
4	1	1	-1	-1	2.95	29.82	13.00	66.36	2.20	21.20	7.16	58.32	3.31	20.75	8.97	65.92
5	1	-1	1	1	7.04	8.88	4.26	46.13	7.29	6.57	3.23	32.42	8.12	11.82	5.92	49.57
6	1	-1	1	-1	2.82	26.97	10.35	71.30	2.00	18.31	8.50	61.39	3.60	20.66	9.33	71.59
7	1	-1	-1	1	4.80	12.97	6.78	54.14	4.96	11.77	4.42	50.70	5.38	13.95	7.03	53.92
8	1	-1	-1	-1	2.51	29.20	12.29	73.96	1.75	20.44	9.48	62.39	2.94	21.77	10.29	70.04
9	-1	1	1	1	5.20	10.31	3.61	41.36	7.95	5.24	2.49	44.43	6.29	6.53	4.13	44.81
10	-1	1	1	-1	2.42	22.53	8.71	70.08	1.65	17.73	8.65	56.88	2.55	19.20	8.36	67.97
11	-1	1	-1	1	3.07	12.08	3.26	49.34	4.76	7.91	3.26	36.36	3.39	9.82	5.66	49.21
12	-1	1	-1	-1	2.23	22.75	10.71	70.74	1.35	18.66	8.97	56.09	2.39	20.17	9.55	65.54
13	-1	-1	1	1	4.45	9.33	2.33	40.03	5.71	4.75	3.39	37.43	5.45	5.28	3.84	35.69
14	-1	-1	1	-1	2.05	21.20	5.81	66.62	1.25	18.75	5.74	58.26	2.14	17.46	7.03	67.12
15	-1	-1	-1	1	2.35	9.64	2.62	40.57	3.74	5.77	3.58	37.30	2.81	8.17	4.49	53.11
16	-1	-1	-1	-1	1.66	19.68	6.16	66.49	0.67	19.20	6.26	58.47	1.89	18.31	8.07	70.01
17	2	0	0	0	7.12	15.64	5.81	40.43	6.43	10.75	5.00	40.58	7.69	14.80	7.16	53.82
18	-2	0	0	0	3.60	5.20	2.58	44.41	1.34	5.73	2.94	44.51	3.37	5.06	3.19	48.46
19	0	2	0	0	5.55	5.42	3.36	40.30	4.50	5.42	2.71	37.96	5.87	7.68	4.81	59.91
20	0	-2	0	0	3.22	5.86	3.58	40.41	3.12	4.40	4.50	35.60	3.10	7.64	4.81	59.47
21	0	0	2	0	5.53	5.46	1.97	40.27	5.44	4.31	3.68	34.02	7.02	5.91	3.81	53.45
22	0	0	-2	0	2.21	17.51	6.58	54.49	1.71	12.53	3.76	42.28	3.24	15.11	6.19	45.29
23	0	0	0	2	9.05	11.28	5.07	43.32	9.53	8.66	5.84	40.31	11.26	10.57	4.13	57.23
24	0	0	0	-2	5.06	5.20	2.16	39.78	5.15	4.84	2.76	48.57	5.04	5.33	2.87	44.32
25	0	0	0	0	5.12	5.95	3.51	44.17	4.67	5.42	3.39	36.78	5.58	8.44	6.09	51.02
26	0	0	0	0	5.15	7.42	3.51	34.33	3.02	5.95	3.62	35.73	4.48	8.71	6.26	52.59
27	0	0	0	0	4.56	7.64	3.84	38.58	5.22	6.08	3.58	31.01	5.50	9.28	6.07	48.11
28	0	0	0	0	5.55	7.02	3.84	34.99	3.84	5.86	3.74	29.01	4.51	9.02	5.68	49.92
29	0	0	0	0	4.43	8.08	4.00	40.58	5.32	5.73	2.97	28.45	6.06	8.31	6.03	55.65
30	0	0	0	0	4.21	6.75	3.22	38.60	4.81	6.32	3.62	37.92	5.85	8.40	6.07	49.19
31	0	0	0	0	3.22	6.80	3.84	38.11	3.71	5.92	3.53	40.31	4.05	8.20	6.01	47.21
32	0	0	0	0	4.50	7.00	3.56	43.57	3.16	5.87	3.56	35.22	5.76	8.45	6.26	40.15
33	0	0	0	0	4.22	6.22	3.53	43.55	4.62	5.88	3.55	27.56	4.0	8.57	5.98	50.78
34	0	0	0	0	4.33	7.22	3.51	41.29	3.80	6.02	3.61	29.27	5.55	9.01	5.93	52.37
35	0	0	0	0	6.11	6.32	3.85	42.18	4.0	6.13	3.56	37.98	4.42	8.73	6.16	41.56
36	0	0	0	0	2.84	6.22	3.28	40.29	4.36	6.07	3.59	36.25	4.06	8.35	6.00	42.44

注:  $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $Y_3$  分别指乌龙茶 TPS、绿茶 TPS、红茶 TPS 的提取率(%) ,  $Y_{11}$ 、 $Y_{21}$ 、 $Y_{31}$  分别指乌龙茶 TPS、绿茶 TPS、红茶 TPS 的糖含量(%) ,  $Y_{12}$ 、 $Y_{22}$ 、 $Y_{32}$  分别指乌龙茶 TPS、绿茶 TPS、红茶 TPS 的蛋白质含量(%) ,  $Y_{13}$ 、 $Y_{23}$ 、 $Y_{33}$  分别指乌龙茶 TPS、绿茶 TPS、红茶 TPS 对·OH 自由基的清除率(%)。

表 3 二次回归模型参数

Table 3 Coefficients of regression model

模型	乌 龙 茶			绿 茶			红 茶		
	非标准化系数	$t$	显著性检验	非标准化系数	$t$	显著性检验	非标准化系数	$t$	显著性检验
$B_0$	4.349	26.784	0.000	4.200	26.010	0.000	4.937	32.009	0.000
$X_1$	0.882	4.435	0.000	0.807	4.081	0.001	1.089	5.764	0.000
$X_2$	0.429	2.156	0.043	0.474	2.396	0.026	0.508	2.689	0.014
$X_3$	0.738	3.710	0.001	0.800	4.043	0.001	0.871	4.612	0.000
$X_4$	1.191	5.990	0.000	1.890	9.559	0.000	1.604	8.49	0.000
$X_{12}$	0.05063	0.208	0.837	-0.004375	-0.018	0.986	0.124	0.538	0.596
$X_{13}$	0.09063	0.372	0.714	-0.02188	-0.09	0.929	0.09063	0.392	0.699
$X_{14}$	0.449	1.845	0.079	0.133	0.55	0.588	0.507	2.191	0.040
$X_{23}$	0.06188	0.254	0.802	0.09188	0.379	0.708	0.04812	0.208	0.837
$X_{24}$	0.08813	0.362	0.721	0.284	1.174	0.253	0.229	0.991	0.333
$X_{34}$	0.506	2.076	0.050	0.554	2.289	0.033	0.638	2.758	0.012
$X_{11}$	-0.0159	-0.093	0.927	-0.199	-1.161	0.259	-0.09156	-0.56	0.582
$X_{22}$	-0.260	-1.508	0.147	-0.218	-1.271	0.218	-0.353	-2.157	0.043
$X_{33}$	-0.388	-2.255	0.035	-0.276	-1.614	0.122	-0.192	-1.171	0.255
$X_{44}$	0.408	2.368	0.028	0.665	3.882	0.001	0.563	3.444	0.002

表 4 TPS 提取率回归方程及其显著性测定和失拟性检验

TPS 提取率回归方程	失拟性检验 $F_1$	显著性检验 $F_2$	决定系数 $R^2$
乌龙茶: $Y_1 = 4\,349 + 0\,882X_1 + 0\,429X_2 + 0\,738X_3 + 1\,191X_4 + 0\,05063X_1X_2 + 0\,09063X_1X_3 + 0\,449X_1X_4 + 0\,06188X_2X_3 + 0\,08813X_2X_4 + 0\,506X_3X_4 - 0\,0159X_1^2 - 0\,26X_2^2 - 0\,388X_3^2 + 0\,408X_4^2$	1.31 < $F_{0.05}(10, 11)$	6.788 > $F_{0.01}(14, 21)$	0.819
绿茶: $Y_2 = 4\,20 + 0\,807X_1 + 0\,474X_2 + 0\,800X_3 + 1\,890X_4 - 0\,004375X_1X_2 - 0\,02188X_1X_3 + 0\,133X_1X_4 + 0\,09188X_2X_3 + 0\,284X_2X_4 + 0\,554X_3X_4 - 0\,199X_1^2 - 0\,218X_2^2 - 0\,276X_3^2 + 0\,665X_4^2$	2.43 < $F_{0.05}(10, 11)$	11.274 > $F_{0.05}(14, 21)$	0.883
红茶: $Y_3 = 4\,937 + 1\,089X_1 + 0\,508X_2 + 0\,871X_3 + 1\,604X_4 + 0\,124X_1X_2 + 0\,09063X_1X_3 + 0\,507X_1X_4 + 0\,04812X_2X_3 + 0\,229X_2X_4 + 0\,638X_3X_4 - 0\,09156X_1^2 - 0\,353X_2^2 - 0\,192X_3^2 + 0\,563X_4^2$	1.75 < $F_{0.05}(10, 11)$	11.849 > $F_{0.05}(14, 21)$	0.888

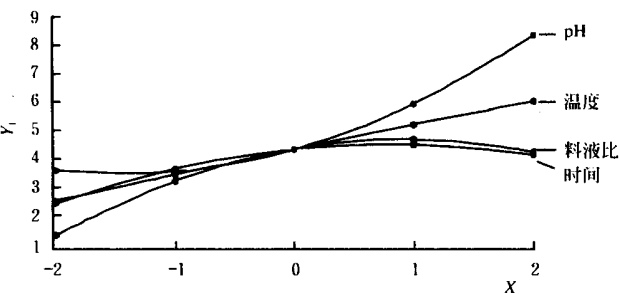


图 1 温度、时间、料液比和 pH 值对乌龙茶多糖含量的影响  
Fig 1 Effect of temperature, heating time, ratio of tea to water and pH on TPS of Oolong tea

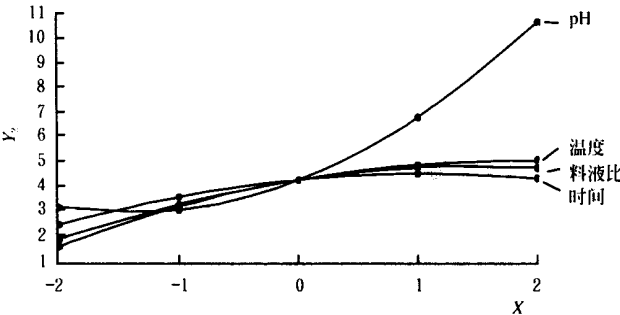


图 2 温度、时间、料液比和 pH 值对绿茶多糖含量的影响  
Fig 2 Effect of temperature, heating time, ratio of tea to water and pH on TPS of green tea

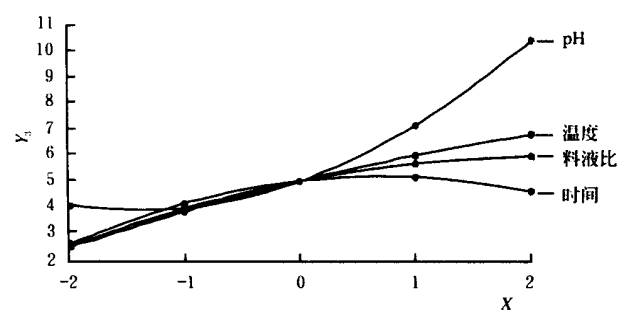


图 3 温度、时间、料液比和 pH 值对红茶多糖含量的影响  
Fig 3 Effect of temperature, heating time, ratio of tea to water and pH on TPS of black tea

可知,在酸性或碱性环境下浸提所得 TPS 糖和蛋白质含量均较低,其 TPS 清除( $\cdot\text{OH}$ )自由基的能力较低,活性不强。相关性分析表明,温度、时间及料液比对 TPS 活性影响较小,只是温度超过 1 水平后,TPS 活性有所下降;pH 对 TPS 活性的影响较大,pH 值与对  $\cdot\text{OH}$  清

除率呈极显著负相关(相关系数  $r_{\text{绿}} = -0.531^{**}$ ,  $r_{\text{乌}} = -0.535^{**}$ ,  $r_{\text{红}} = -0.486^{**}$ ),不同茶类 TPS 中糖和蛋白质含量相关分析还表明,两者呈极显著的正相关( $r_{\text{绿}} = 0.879^{**}$ ,  $r_{\text{乌}} = 0.921^{**}$ ,  $r_{\text{红}} = 0.886^{**}$ ),这更进一步说明 TPS 是一种糖蛋白,其中的蛋白质并非杂物,可能对其活性有重要贡献。相关工作尚在进行中。表 2 TPS 对  $\cdot\text{OH}$  自由基清除率分析还表明,绿茶 TPS 清除  $\cdot\text{OH}$  自由基的能力低于乌龙茶和红茶 TPS,这一结果与三类茶降血糖结果完全吻合。结合 TPS 提取率及生物活性,利用期望函数途径计算出 TPS 浸提的最佳参数,再对该参数进行检验,所得结果见表 5。验证结果表明,TPS 得率理论值和实测值基本一致,而且糖含量和蛋白质含量都较高,TPS 对( $\cdot\text{OH}$ )自由基清除率分别达到绿茶 61.25%、乌龙茶 72.55%、红茶 70.92%。优化值分析表明,不同茶类 TPS 浸提所掌握的参数有一定差异,这与茶叶的加工工艺、原料老嫩度有密切关系,因为不同来源的茶叶多糖理化性质存在一定差异,对浸出率、活性都有影响。综合三类茶 TPS 浸提优化参数,可得到茶叶多糖浸提的最佳条件为温度 0~1 水平,时间 0~1 水平,茶/水比 0~0.5 水平,pH 值-0.95 水平左右。

表 5 TPS 提取优化值及验证结果

Table 5 Optimum values and their verified results					
茶类	优化值	TPS 得率/%	糖含量/%	蛋白质含量/%	对 $\cdot\text{OH}$ 清除率/%
绿茶	温度 0.935; 时间 0.333;	理论值 2.80,	21.47	9.45	61.25
	茶/水 0.472; pH - 0.950	实测值 2.93			
乌龙茶	温度 0.850; 时间 0.600;	理论值 4.18,	29.52	12.43	72.55
	茶/水 0.400; pH - 0.950	实测值 3.96			
红茶	温度 0.541; 时间 0.328;	理论值 3.49,	20.55	9.67	70.92
	茶/水 0.148; pH - 0.952	实测值 3.37			

4 结 论

- 1) 在实验范围内,对 TPS 浸提率影响最大的是浸提液酸碱度,其次是温度、料液比以及浸提时间。
- 2) 在酸性或碱性条件下浸提,TPS 中糖含量和蛋白质含量低,而且清除  $\cdot\text{OH}$  自由基的能力同样较低;温度超过 1 水平后对 TPS 活性有一定影响;浸提料液比例与时间对 TPS 活性影响不显著。
- 3) 绿茶、乌龙茶、红茶 TPS 提取的回归模型都能预

测 TPS 的提取率。

### [参 考 文 献]

- [1] 清水岑夫(刘维华译). 探讨茶叶的降血糖作用以从茶叶中制取抗糖尿病的药物[J]. 国外农学—茶叶, 1987, (3): 38~40
- [2] 汪东风, 谢晓风, 王银龙. 茶多糖及其药理作用研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 1996, 16(1): 67~72
- [3] 陈海霞, 谢笔均. 茶多糖对小鼠实验性糖尿病的防治作用[J]. 营养学报, 2002, 24(1): 85~86
- [4] 汪东风, 谢晓风, 严俊等. 茶多糖等有效成分综合提取技术[J]. 中草药, 1998, 29(11): 739~740
- [5] 李步青, 张慧岭等. 中低档绿茶中茶多糖的提取及降血糖作用[J]. 茶叶科学, 1996, 16(1): 67~72
- [6] 付博强, 谢明勇, 周鹏. 茶多糖的提取、纯化、组成及药理作用研究进展[J]. 南昌大学学报, 2001, 25(4): 358~364
- [7] 黄桂宽, 李毅, 谢荣仿等. 广西绿茶多糖的分离与分析[J]. 中国茶叶, 1995, (5): 18~19
- [8] 陈海霞, 谢笔均. 茶多糖不同提取工艺的比较研究[J]. 食品工业科技, 2001, 22(2): 18~19
- [9] 余家林. 农业多元试验统计[J]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993
- [10] 钟蓼. 茶叶品质理化分析[J]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989, 258~260
- [11] 韩雅珊. 食品化学实验指导[J]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992
- [12] Barry H, John M C, Okezie I A. The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals[J]. Analytical Biochemistry, 1987, (165): 215~219

## Conditions and parameters for extraction of tea polysaccharides

NiDejiang, Xie Bijun, Song Chunhe, Yu Jialing

(Horticulture and Forestry College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The effects of temperature, heating time, ratio of tea to water and pH value on extraction rate and activities of Oolong tea, Green tea and Black tea polysaccharides (TPS) were studied. The results showed that extraction rate of TPS was noticeably affected by pH, temperature, heating time and ratio of tea to water in significant order. It was concluded that pH was the main factor affecting activity of TPS, since activity of TPS extracted on the condition of acidity or alkalinity was very low. The model of extraction rate ( $Y$ ) showed no significant lack of suitability at 5%, but it was statistically significant at 1%. The model was appropriate to express response variables. Considering high extraction rate and activity of TPS, the extracting condition was optimized by using expectant function approach for simultaneous optimization of several variable levels, these were 0~1 temperature, 0~1 heating time, 0~0.5 ratio of tea to water and -0.95 pH.

**Key words:** tea; polysaccharides; extraction; activity