

西北大学
 NORTHWEST UNIVERSITY
 生命科学学院

茶叶综合利用开发研究

— 优良树脂在脱除茶多酚中咖啡碱的应用 —

报告人: 李多伟副教授
单位: 西北大学生命科学学院
电话: 13227796618



提 纲

- ❖ 1、茶叶有效成分药理、药效及市场前景概述
- ❖ 2、茶叶综合利用开发研究概述
- ❖ 3、茶叶综合利用开发关键技术的研究
 - 3.1 茶叶有效成分定性、定量检测的确定
 - 3.2 茶叶提取分离工艺的优化
 - 3.2.1 茶叶提取工艺的优化
 - 3.2.2 茶叶纯化工艺的优化

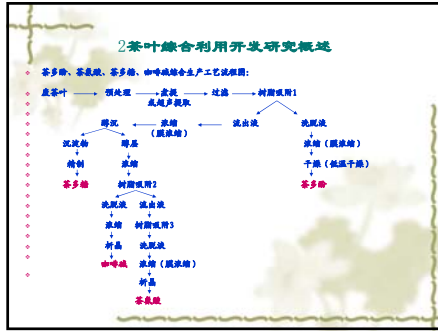
1 茶叶有效成分药理、药效及市场前景概述

- ❖ 1.1 茶多酚
 - 茶多酚 (Green Tea Polyphenols, 简称GTP) 是茶叶中儿茶素类、黄酮类、酚酸类和花色甙类化合物的总称, 因其化学结构中含有多个活性羟基, 对人体保健极为有利, 且有抑菌、杀菌、抗肿瘤、抗辐射等多项功能, 作为医药和食品等的添加剂, 开发和应用前景十分看好。
 - 茶多酚已成为医药、食品的新型添加剂, 目前除了茶多酚片剂、胶囊剂等外, 作为抗氧化剂和食品添加剂在粮油食品、方便食品、水产品、肉制品、调味品、糖果、饮料等多类食品中均有广泛的应用, 产品供不应求, 开发和应用前景十分广阔。

- ❖ 1.2 茶氨酸
 - 茶氨酸 (L-Theanine) 是茶叶中特有的游离氨基酸, 有甜味。茶氨酸在化学构造上与脑内活性物质谷氨酸、谷氨酰胺相似, 是茶叶中生津润喉的主要成份。茶氨酸含量因茶的品种、部位而变动, 茶氨酸含量均为新茶的1-2%左右, 占茶叶中游离氨基酸总量的50%以上, 其含量随发酵过程减少。
 - 茶氨酸是21世纪的健康食品, 目前的保健食品市场上多数是为成人防病或改善作用的品种。像茶氨酸这种既不具有有限, 又可以解消疲劳、降低血压和提高学习记忆能力的保健食品实为少见, 引人注目。为此, 茶氨酸曾在1998年德国召开的国际食品原料会上获得研究部门大奖。茶氨酸作为健康食品的原料有着广阔的市场。

- ❖ 1.3 咖啡碱
 - 咖啡碱是重要的医药、保健原料, 茶叶中含有比较丰富的咖啡碱, 含量为干物质量的2%-5%, 咖啡碱在人体代谢中分解速度较快, 副作用甚微, 在医药、食品、饮料等行业有较大的需求。
 - 咖啡碱可以明显增添碳酸饮料诸如可乐型饮料的风味和提高人的精神活力, 已被160多个国家准许在饮料中作为香味剂使用, 70%以上的饮料以0.02%的浓度加入, 并且在冰淇淋和一些食品中也有加入, 大大刺激消费者的热情。咖啡碱作为一种纯天然的添加剂广泛地应用于食品、饮料的生产中。美国、日本等国家法律明文禁止“合成咖啡碱不得加入食品饮料中”, 从而为天然咖啡碱的开发带来无限商机。由于咖啡碱是国务院颁布的《精神药品管理办法》规定第一类管制品种, 目前主供出口, 限制内销。因此, 茶叶中天然咖啡碱的开发应用潜力巨大, 重在寻求突破。

- ❖ 1.4 茶多糖
 - 茶多糖具有防辐射、抗凝血、抗血栓和降血糖的作用, 现已含有茶多糖作为降血糖和抗糖尿病用的药物和健康食品在市场上应用。
 - 茶多糖是天然活性成分, 但对其产品的开发还属空白, 如果开发出如茶多糖冲剂、口服液、片剂及茶多糖功能保健食品等, 无疑将为中国丰富茶资源的充分利用开辟另一条途径。



3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

- ❖ 3.1 茶叶有效成分定性、定量检测的确定
 - 3.1.1 定性检测
 - 3.1.1.1 茶多酚的薄层定性检测
 - 展开剂配制
按氯仿: 乙酸乙酯: 正丁醇: 甲酸 = 2: 1.3: 0.4: 0.3的比例配置
 - 3.1.1.2 咖啡碱的薄层定性检测
 - 展开剂配制
按甲苯: 丙酮=6: 4的比例配置
 - 3.1.1.3 茶氨酸的薄层定性检测
 - 展开剂配制
按正丁醇: 冰醋酸: 水=5: 1: 2的比例配置。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

- ❖ 3.1.2 定量检测
 - 3.1.2.1 酒石酸亚铁分光光度法测定茶多酚的含量
 - 3.1.2.2 RP-HPLC测定茶叶中EGCG的含量
流动相: 甲醇-水-冰醋酸 (18: 60: 0.2)
 - 3.1.2.3 RP-HPLC-PDAD测定茶叶中L-茶氨酸的含量
流动相: 0.05%三氟乙酸
 - 3.1.2.4 RP-HPLC法定量测定咖啡碱含量
流动相: 甲醇: 水 (40: 60)

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

3.2.1 茶叶提取分离工艺的优化

3.2.1.1 茶叶提取工艺的优化

提取溶剂及提取方法的选择

表3-1 水热回流不同提取方法的效果比较 (n=5)

提取方法	热回流提取	超声提取
茶多酚含量 %	20.76	20.25
咖啡碱含量 %	3.47	3.28
茶多糖含量 %	4.32	2.18

表3-2 超声波不同提取方法的效果比较 (n=5)

提取方法	热回流提取	超声提取
茶多酚含量 %	22.92	22.56
咖啡碱含量 %	3.92	3.68
茶多糖含量 %	0.96	0.92

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

小结: 对茶多酚、咖啡碱的提取, 水提、醇提, 超声提取和热回流提取差别不大, 对于茶多糖的提取, 水热回流提取方法远高于超声提取方法。如茶多糖不是重点考虑的产品, 则可采用水超声提取方法进行提取, 超声提取方法提取温度低, 所用时间短, 即可以大大节约时间、降低能耗, 减少生产成本, 又可避免高温对茶多酚造成的破坏作用。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

正文试验结果及分析

表3-3 水热回流提取法正文试验因素表

	A(提取温度)	B(料液比)	C(提取次数)	D(提取时间)
1	60℃	8	1	1.0h
2	80℃	12	2	1.5h
3	100℃	16	3	2.0h

结论: 茶多酚、茶多糖、咖啡碱单因素试验及正文试验结果表明: 从茶叶粉末通过水热回流提取工艺提取茶多酚、茶多糖、咖啡碱的最佳生产工艺条件为: 在料液比为1:12、热回流温度为80℃的条件下提取2次, 每次1.5h。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

3.2.2 茶叶纯化工艺的优化

大孔吸附树脂纯化工艺的研究

茶多酚产品的质量要求是茶多酚含量高、EGCG含量高, 杂质咖啡碱含量要低, 基于这个目的, 在大孔吸附树脂的选择上按这一要求进行, 即要选择有高的茶多酚、EGCG吸附和脱附能力, 又要有低的咖啡碱吸附能力的树脂。

大孔吸附树脂选择及预处理:

实验选用D101、AB-8、LX-X1-LX-X8 (西安蓝晓科技有限公司) 大孔吸附树脂, 用酸、碱、醇预处理。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

柱层析稳定性分析

茶多酚层析稳定性分析

1号为醇液; 2号为上样流出液; 3号为25%乙醇洗脱液; 4号为35%乙醇洗脱液; 5号为75%乙醇洗脱液(1); 6号为75%乙醇洗脱液(2); 7号为75%乙醇洗脱液(3)。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

咖啡碱层析稳定性分析

1号为咖啡碱对照品; 2号为上样流出液; 3号为25%乙醇洗脱液; 4号为35%乙醇洗脱液; 5号为75%乙醇洗脱液(1); 6号为75%乙醇洗脱液(2); 7号为75%乙醇洗脱液(3)。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

茶氨酸层析稳定性分析

1号为醇液; 2号为上样流出液; 3号为25%乙醇洗脱液; 4号为35%乙醇洗脱液; 5号为75%乙醇洗脱液(1); 6号为75%乙醇洗脱液(2); 7号为75%乙醇洗脱液(3)。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

通过对薄板树脂分离茶多酚、咖啡碱、茶氨酸的分析得出如下结论:

- LX-X5树脂对茶多酚有吸附, 而对咖啡碱、茶氨酸无吸附或少吸附, 用LX-X5树脂可生产出低(或无)咖啡碱、低(或无)茶氨酸的茶多酚产品。
- D101树脂对茶多酚有吸附, 对咖啡碱也有吸附, 而对茶氨酸无吸附或少吸附, 用D101树脂生产出的茶多酚产品因含有较多的咖啡碱而不符合市场要求。
- 用LX-X5树脂生产低咖啡碱或无咖啡碱的茶多酚产品工艺: 低茶多酚含量产品: 水提、上柱、水洗、75%酒精洗脱, 浓缩, 喷雾干燥。高茶多酚含量产品: 水提、上柱、水洗、35%酒精洗脱, 75%酒精洗脱, 浓缩, 喷雾干燥。
- 利用LX-X5树脂对茶多酚有吸附, 而对咖啡碱、茶氨酸无吸附, 可用LX-X5树脂在生产出低咖啡碱的茶多酚产品的同时, 将流出液收集在分离出咖啡碱、茶氨酸产品, 达到综合利用的目的。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

表3-4 茶多酚、EGCG和咖啡碱大孔树脂静态吸附及解吸性能

型号	茶多酚吸附量 (mg/g)	EGCG吸附率 %	EGCG吸附量 (mg/g)	EGCG解吸率 %	咖啡碱吸附量 (mg/g)	咖啡碱解吸率 %
D101	96.477	99.66	59.166	98.26	15.512	99.06
AB-8	102.841	88.67	54.625	87.26	14.836	89.15
LX-X1	31.086	91.32	15.237	99.32	6.529	93.84
LX-X2	35.442	92.44	18.228	89.44	6.912	94.12
LX-X3	37.811	98.22	36.342	98.44	2.141	92.15
LX-X4	85.656	91.02	46.332	87.15	3.462	92.64
LX-X5	102.128	99.25	58.263	98.24	3.524	92.82
LX-X6	98.022	84.12	52.382	84.28	6.124	82.19
LX-X7	92.995	81.87	48.124	81.04	5.831	87.33
LX-X8	62.182	92.95	34.226	80.13	9.152	90.22

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

小站：在树脂分离优质茶多酚中，对树脂要求不仅要茶多酚、EGCG吸附量大，解吸率高，而且对树脂要求咖啡碱吸附量小，解吸率高，以保证能一次性分离出优质的茶多酚产品。根据上述要求从表3-4可看到：10种树脂中D101、AB-8、LX-X5、LX-X6树脂的茶多酚吸附量最大，解吸率也较高；而在这4种树脂中D101、AB-8树脂的咖啡碱吸附量较大，LX-X5树脂和LX-X6树脂的咖啡碱吸附量较小，在实际应用中，即要选择有高的茶多酚、EGCG吸附和脱附能力的树脂，又要有低的咖啡碱吸附能力的树脂，否则需要添加除咖啡碱的过程。因此比较上述4种树脂，LX-X5树脂是富集纯化高茶多酚含量低无咖啡碱含量的较理想的吸附材料。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

图3-1 LX-X5树脂吸附脱附曲线对茶多酚吸附的影响
图3-2 D101树脂吸附脱附的影响
图3-3 LX-X5树脂咖啡碱吸附脱附曲线
图3-4 LX-X6树脂咖啡碱吸附脱附曲线

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

放大验证实验1:

表3-5 放大实验产品得率及茶多酚和咖啡碱含量 (n=3)

柱	1# 15%乙醇洗脱	2# 30%乙醇洗脱	3# 75%乙醇洗脱
得率%	1.56	5.82	16.74
茶多酚含量%	30.12	52.07	90.18
咖啡碱含量%	0.28	0.32	0.32

放大验证实验1表明：用12倍水于80℃下热回流提取2次，每次1.5 h，用LX-X5树脂吸附，再用75%乙醇进行洗脱，是获得高茶多酚得率、高茶多酚含量和低咖啡碱含量的较佳提取分离工艺。

3 茶叶综合利用开发关键技术的研究

放大验证实验2:

表3-6 放大实验产品得率及茶多酚、EGCG和咖啡碱含量 (n=3)

	15%乙醇洗脱	30%乙醇洗脱	75%乙醇洗脱
得率%	1.62	4.53	10.65
茶多酚含量%	29.19	54.12	99.12
EGCG含量%	2.12	5.96	56.62
咖啡碱含量%	0.28	0.12	未检出

放大验证实验2表明：用12倍水于80℃下热回流提取2次，每次1.5 h，用LX-X5树脂吸附，再分脱用乙醇进行洗脱，是获得高得率、高茶多酚、高EGCG含量和低咖啡碱含量的较佳提取分离工艺。

4 总结与展望

4.1 总结:

根据茶多酚、咖啡碱、茶多糖的用途，本课题组开发和研究工作中摸索了一整套制备生产技术，这些技术具有以下几点创新点：

- 1) 利用超临界二氧化碳提取技术：提取茶多酚、咖啡碱充分利用超临界二氧化碳的溶解作用和高压流体作用使萃取效率高且无溶剂残留的情况下得到高纯度的茶多酚、咖啡碱。使萃取工艺在提取茶多酚、咖啡碱生产得以实现。使生产及损耗率10%以上，避免了由于高温提取造成的产品氧化变性、变色等弊端；同时生产过程中连续提取和萃取了多道工序操作，可提取、浓缩、除醇回收同时操作，可连续化作业，减少作业人数，降低劳动强度等许多优点。
- 2) 利用具有对茶多酚高吸附量、对咖啡碱、茶多酚低吸附量、高洗脱性的LX-X5天然树脂，使分离、纯化更简便，更易于工业化生产，同时实现了茶多酚、茶多糖、咖啡碱和茶多酚的联合生产。
- 3) 利用超临界技术（超临界萃取或纳滤技术）：在提取茶多酚、咖啡碱生产中充分利用超临界技术萃取和分离茶多酚、咖啡碱、茶多糖，分离（无分子筛物质、多糖与小分子茶多酚、咖啡碱、茶多酚）、浓缩（含杂质）及操作简便，易于控制等许多优点。
- 4) 利用超临界干燥技术：在提取茶多酚、咖啡碱生产中充分利用超临界干燥避免了由于高温干燥造成的产品氧化变性、变色的问题；充分利用超临界干燥速度快、连续性的特点使生产速度加快减少由于干燥造成的时间浪费；同时大量节省能源降低生产成本以及操作简便、易于控制和保护等诸多优点。
- 5) 生产直接发酵培养生产高营养成分的物料原料肥料，可减少直接排放造成的环境污染，又充分利用废弃物资源，增加生产效率。

4 总结与展望

4.2 展望

本课题在粗茶（老茶）综合利用方面已取得了一些成果，但尚有许多需要提高和完善的地方，在检测方法上，分光光度法检测茶多酚含量，但不能准确的定性，还需要进一步探索更准确的茶多酚定性、定量测定方法，以避免市场假冒的泛滥。在茶多酚、茶多酚树脂吸附分离上，与树脂生产企业合作进一步寻找吸附量更大，洗脱更好的新型树脂，以减少工业化生产的生产成本，为企业创造更好的竞争优势。

本课题是生产企业迫切需求而提出的，在工业化生产技术上已取得一定成果，随着我国茶叶产业规模的不断扩大，作为粗茶（老茶）产出品也会越来越多，同时市场上可作为药品原料、食品添加剂的茶多酚、茶多糖、茶多酚及咖啡碱需求量越来越大，因此该研究课题具有良好的开发价值，其产业化必然会带来良好的经济效益、社会效益和环境效益。

西北大学
NORTHWEST UNIVERSITY
生命科学学院

谢谢各位朋友！
敬请批评指正！