

韩艳丽,凡军民,李 静,等. 果胶酶-微波法提取茶树花多糖的工艺[J]. 江苏农业科学,2017,45(2):166-168.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.050

果胶酶-微波法提取茶树花多糖的工艺

韩艳丽, 凡军民, 李 静, 贾 君

(江苏农林职业技术学院, 江苏句容 212400)

摘要:以茶树花为材料,采用果胶酶-微波法提取茶树花多糖,研究提取茶树花多糖的工艺。结果表明:通过单因素和正交试验,在加酶量 1.0%、酶解 pH 值 5.5、酶解时间 2.5 h、酶解温度 50 ℃的条件下,茶树花多糖提取率最高;茶树花经酶解后,在 700 W 微波强度下,微波时间 60 s,茶树花多糖提取率达 4.82%。由结果可知,果胶酶-微波法明显提高了茶树花多糖的提取率。

关键词:茶树花;果胶酶;微波;茶多糖

中图分类号: TS201.1;TQ281 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)02-0166-03

茶树花是茶树的生殖器官之一,其生长周期较长,营养消耗较多,茶农多弃之。近年来的研究发现,茶树花中含有与茶叶相似的生物活性成分,如茶多糖^[1]。茶多糖是茶叶中含有一类复合多糖,具有降血糖、降血脂、辅助治疗糖尿病等功效^[2-3]。茶多糖的提取方法主要有热水浸提法、酶法、超声波法、微波法等^[4-6]。其中酶工程技术方法是近几年来用于天然植物有效成分提取的一项生物工程技术。

果胶酶(pectinase)是一类通过不同机制降解果胶基质的酶的总称,主要作用于茶树花细胞壁中的果胶,破坏果胶、半纤维素组成的无定形结构,有助于茶树花中有效成分的渗出和扩散^[7]。微波提取法能显著缩短提取时间,较大程度地提

高茶树花多糖的提取效率^[8]。

本研究主要采取果胶酶-微波提取的方法,通过单因素试验和正交试验研究果胶酶提取茶树花多糖的最佳工艺条件,以期对茶树花多糖的进一步研究提供理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

茶树花采于江苏省句容市江苏茶博园内。摘取新鲜的茶树花,装入牛皮纸袋中,放置于干燥箱中,于 105 ℃杀青 10 min,然后在 70 ℃烘干、粉碎后过 60 目筛备用。

1.2 试验方法

1.2.1 果胶酶提取茶树花多糖工艺流程 主要工艺流程:茶树花粉末→果胶酶处理→灭酶→微波处理→真空抽滤→浓缩→加 95%乙醇→离心→醇沉→真空干燥→获得茶树花多糖。

1.2.2 果胶酶提取的单因素试验 在预备试验的基础上,选择酶解时间、酶解 pH 值、加酶量和酶解温度为考察因素,每

收稿日期:2015-11-19

基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK20131243)。

作者简介:韩艳丽(1979—),女,江苏铜山人,硕士,副教授,从事食品分析与检验技术研究。Tel:(0511)87290302;E-mail:45600134@qq.com。

和切片厚度的增加而增大。厚度为 1、2、3、4 mm 湖北麦冬切片的干燥活化能分别为 32.88、32.12、32.49、37.09 kJ/mol。

参考文献:

- [1] 陈心启,马元俊. 百合科药用新植物[J]. 植物科学学报,1985,3(1):25-27.
- [2] 孙永林,刘慧宏,汤尚文,等. 湖北麦冬的研究进展[J]. 襄樊学院学报,2009,30(11):74-76.
- [3] 吴美枢,柏官发,姚家国,等. 湖北麦冬与杭、川麦冬的生药学比较研究[J]. 第二军医大学学报,1990,11(1):31.
- [4] 徐晚秀,李 静,宋飞虎,等. 中草药干燥现状[J]. 中药与临床,2015,6(2):114-118.
- [5] 朱卫平. 介绍麦冬的干燥方法[J]. 中国中药杂志,1988,13(9):24.
- [6] 吴发明,张芳芳,李 敏,等. 川麦冬产地干燥方法综合评价研究[J]. 中药材,2015,38(7):1400-1402.
- [7] 食品中水分的测定:GB 5009.3—2010[S].
- [8] 谭斯元,李学琼,陈厚荣. 紫薯热风干燥工艺参数优化[J]. 食品

工业科技,2013,34(7):265-268,272.

- [9] 杨爱金,刘 璇,毕金峰,等. 食品干燥过程中水分扩散特性的研究进展[J]. 食品与机械,2012,28(5):247-250.
- [10] 王宝和. 干燥动力学研究综述[J]. 干燥技术与设备,2009,7(1):51-56.
- [11] 林喜娜,王相友. 苹果切片红外辐射干燥模型建立与评价[J]. 农业机械学报,2010,41(6):128-132.
- [12] 黄枝梅. 南瓜热风干燥特性与动力学模型[J]. 包装与食品机械,2014,32(1):23-27.
- [13] Evin D. Thin layer drying kinetics of *Gundelia tournefortii* L. [J]. Food and Bioproducts Processing,2012,90(2):323-332.
- [14] 肖旭霖. 洋葱真空远红外薄层干燥模型[J]. 食品科学,2002,23(5):40-43.
- [15] 吴 振,李 红,罗 杨,等. 银耳红外辐射干燥特性研究及动力学模型构建[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(4):471-474.
- [16] 孟岳成,王 君,房 升,等. 熟化红薯热风干燥特性及数学模型适用性[J]. 农业工程学报,2011,27(7):387-392.

个因素设定 4 个水平,即加酶量设定为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%,酶解 pH 值设定为 3.5、4.5、5.5、6.5,酶解时间设定为 1.0、1.5、2.0、2.5 h,酶解温度设定为 25、35、45、55 ℃,按照上述工艺流程参数,考察茶树花多糖提取的最佳工艺。

1.2.3 果胶酶提取的正交试验 在单因素试验基础上,设酶解 pH 值为 5.5,以加酶量(A)、酶解时间(B)、酶解温度(C)为考察因素,设计 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验,筛选茶树花多糖提取的最优组合。因素水平设计详见表 1。

表 1 正交设计因素和水平

水平	因素		
	A:加酶量 (%)	B:酶解时间 (h)	C:酶解温度 (℃)
1	0.5	1.5	40
2	1.0	2.0	45
3	1.5	2.5	50

1.2.4 果胶酶-微波提取试验 茶树花多糖提取最佳酶解条件试验结束后,再进行微波浸提,考察微波强度(350、490、700W)、微波时间(30、60、90s)对茶树花多糖提取率的影响。

1.3 测定方法

1.3.1 茶树花多糖含量测定 采用蒽酮-硫酸比色法,将上述提取的茶树花多糖加蒸馏水复溶、定容至设定体积,用蒽酮-硫酸显色后,测加酶量,依据葡萄糖标准曲线 $A = 0.0077C + 0.0032$ ($r^2 = 0.99992$) (A 为吸光度, C 为葡萄糖质量浓度),计算葡萄糖质量浓度,得到茶树花多糖含量。

1.3.2 茶树花多糖提取率计算 多糖提取率计算公式:

$$\text{多糖提取率} = \frac{C \times D \times f}{m} \times 100\%$$

式中: C 为葡萄糖质量浓度, mg/mL; D 为多糖的稀释倍数; f 为换算因子, $f = 4.220$; m 为供试茶树花的质量, g。

2 结果与分析

2.1 果胶酶提取的单因素试验结果

2.1.1 加酶量对茶树花多糖提取率的影响 由图 1 可知,随着加酶量的增加,茶树花多糖的提取率呈逐渐升高的趋势;当加酶量在 0.5% ~ 1.0% 时,随着加酶量的增大,多糖提取率明显提高;但是,当加酶量为 1.0% ~ 2.0% 时,多糖提取率提高不明显。这可能是酶浓度达到一定值时,酶分子过于饱和,与底物结合机会较少的缘故。结合节约成本的原则,果胶酶的最佳添加量以 1.0% 为宜。

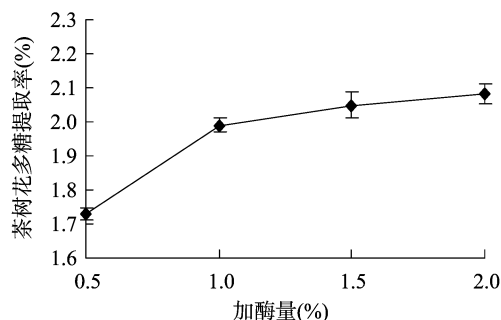


图 1 加酶量对茶树花多糖提取率的影响

2.1.2 酶解 pH 值对茶树花多糖提取率的影响 由图 2 可见,随着酶解 pH 值的升高,茶树花多糖在 pH 值 3.5 ~ 4.5 范

围内提取率提高缓慢;在 pH 值 4.5 ~ 5.5 范围内,提取率明显提高,其中以 pH 值为 5.5 时茶树花多糖的提取率最高;在 pH 值 5.5 ~ 6.5 范围内茶树花多糖提取率呈逐渐下降的趋势。因此,选择 pH 值为 5.5 为最佳酶解 pH 值。

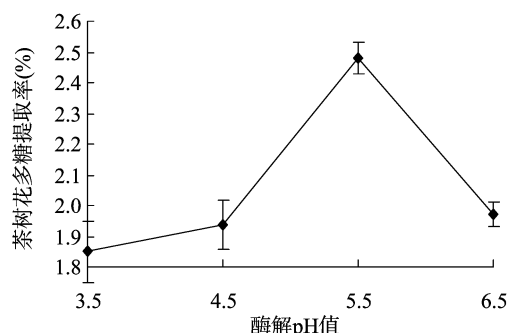


图 2 酶解 pH 值对茶树花多糖提取率的影响

2.1.3 酶解时间对茶树花多糖提取率的影响 由图 3 可知,随着酶解时间的增加,茶树花多糖的提取率呈逐渐提高的趋势;在酶解时间为 1.0 ~ 2.0 h 范围内,茶树花多糖提取率提高明显,这是由于随着时间的延长,酶与底物结合机会增加,酶解比较充分;当酶解时间大于 2.0 h 时,茶树花多糖提取率增加缓慢,这可能是由于酶解时间过长,溶剂中多糖浓度越来越高,使扩散速度减慢,达到平衡后,多糖的提取率增速缓慢。

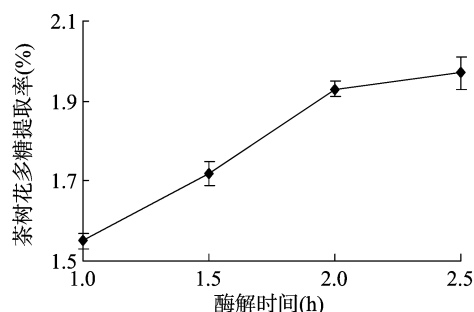


图 3 酶解时间对茶树花多糖提取率的影响

由图 4 可知,随着酶解温度的增加,茶树花多糖的提取率呈先提高后降低的趋势,当酶解温度为 45 ℃ 时,多糖提取率最高。由于在一定的温度范围内,果胶酶活性随温度的升高而增强,但温度过高时,抑制了果胶酶的活性,从而使茶多糖提取率下降。

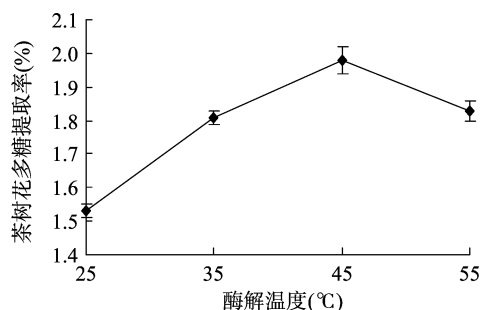


图 4 酶解温度对茶树花多糖提取率的影响

2.2 果胶酶提取的正交试验结果

由表 2 正交数据极差分析结果可知,各因素对茶树花多糖提取率影响力排序为 $A > B > C$,即加酶量对茶树花多糖提取率的影响最大,酶解时间次之,而酶解温度对提取率影响最

小。以茶树花多糖提取率为考察各因素的指标,A 可取 A₂、A₃,B 可取 B₃,C 可取 C₃,从经济角度考虑,最终确定茶树花多糖提取最佳工艺组合为 A₂B₃C₃,即加酶量 1.0%、酶解时间 2.5 h、酶解温度 50 ℃。

表 2 果胶酶提取茶树花多糖的正交试验结果

编号	A:加酶量	B:酶解时间	C:酶解温度	多糖提取率 (%)
1	1	1	1	1.73
2	1	2	2	1.94
3	1	3	3	2.14
4	2	1	2	2.74
5	2	2	3	3.47
6	2	3	1	3.08
7	3	1	3	2.76
8	3	2	1	2.96
9	3	3	2	3.57
k ₁	1.937	2.410	2.590	
k ₂	3.097	2.790	2.750	
k ₃	3.097	2.930	2.790	
R	1.160	0.520	0.200	

由表 3 方差分析结果可以看出,加酶量对茶树花多糖提取率有显著性影响($P<0.1$),即在 90% 的概率水平上,加酶量是显著影响茶树花多糖提取率的主要因素,其余因素如酶解时间与酶解温度影响均不显著。

根据果胶酶提取茶树花多糖最佳工艺组合重复试验 3 次,提取茶树花多糖的平均提取率为 $(3.62\pm0.42)\%$ 。

表 3 多糖提取条件的正交试验方差分析

因素	偏差平方和	自由度	F 值	F 临界值	显著性
加酶量	2.691	2	3.169	3.110	*
酶解时间	0.434	2	0.511	3.110	
酶解温度	0.067	2	0.079	3.110	
误差	3.40	8			

注:“*”表示影响显著($P<0.1$)。

2.3 果胶酶-微波提取试验结果

2.3.1 微波功率对茶树花多糖提取率的影响 茶树花粉经酶解、灭酶后,分别用 350、490、700 W 微波处理 30 s 后提取茶树花多糖,测定茶树花多糖含量。如图 5 所示,随着微波强度的增大,茶树花多糖提取率呈逐渐提高趋势,350~490 W 阶段增长较快,490~700 W 阶段增长较为平缓,微波强度为 700 W 时,茶树花多糖提取率最高,达 4.51%。

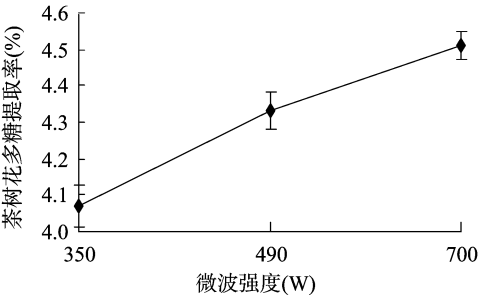


图5 微波强度对茶树花多糖提取率的影响

2.3.2 微波时间对茶树花多糖提取率的影响 茶树花粉经酶解、灭酶后,再用 700 W 微波分别处理 30、60、90 s 后,提取茶树花多糖并测定其含量。由图 6 可知,随着微波处理时间的延长,茶树花多糖提取率呈先提高后降低的趋势,这可能由于微波时间过长,多糖分解而造成损失,微波时间为 60 s 时,茶树花多糖提取率最高。

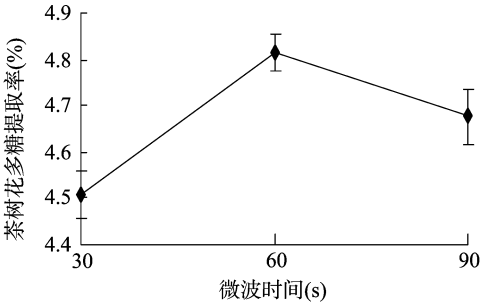


图6 微波时间对茶树花多糖提取率的影响

3 结论

茶树花具有丰富的营养成分,茶树花多糖因具有降血糖、降血脂、降血压、增强免疫力、减慢心率、增加冠脉流量、抗凝血、抗血栓等作用而受到人们的重视。本试验采用果胶酶-微波法提取茶树花多糖,进行果胶酶单因素和正交试验,然后在此基础上进行微波提取试验,得出果胶酶-微波法提取茶树花多糖的最佳工艺条件:加酶量 1.0%,酶解 pH 值 5.5,酶解时间 2.5 h,酶解温度 50 ℃,微波强度 700 W,微波时间 60 s,此条件下茶树花多糖提取率达到 4.82%,比单纯微波提取时的 2.61%^[8] 高 85%。

果胶酶-微波法具有耗能少、提取快、提取率高等优点,这可能是因为果胶酶降解了茶树花中的果胶、纤维素,从而破坏了细胞壁,增大细胞的通透性,加速了多糖的溶出^[9]。

参考文献:

[1] 崔晓明,喻云春,张广成,等. 茶树花的化学成分及开发利用研究进展[J]. 黑龙江农业科学,2012(1):139-143.
[2] 毕彩虹,杨 坚,王立波. 茶多糖的保健作用研究进展[J]. 蚕桑茶叶通讯,2007(2):18-20.
[3] 曹鹏飞. 茶多糖提取工艺条件的正交试验研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(14):4287-4287,4322.
[4] 聂少平,谢明勇,罗 珍. 微波技术提取茶多糖的研究[J]. 食品科学,2005,26(11):103-107.
[5] 苏冰霞,葛会林,段 云,等. 山苦茶多糖提取工艺及其部分成分分析[J]. 食品科学,2013,34(12):51-55.
[6] 王元凤,金征宇. 酶法提取茶多糖工艺的研究[J]. 江苏农业科学,2005(3):122-124.
[7] 龚玉雷,魏 春,王芝彪,等. 生物酶在茶叶提取加工技术中的应用研究[J]. 茶叶科学,2013,33(4):311-321.
[8] 韩艳丽,凡军民,李 静,等. 茶树花多糖微波辅助提取工艺[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):273-275.
[9] 李亚辉,马艳弘,黄开红,等. 响应面法优化复合酶提取芦荟多糖工艺及其抗氧化活性分析[J]. 食品科学,2014,35(18):63-68.