

# 绿茶中蛋白质提取纯化工艺研究

王有强 刘玉峰

山东新时代药业有限公司 山东 临沂 273400

**【摘要】**：采用碱提取法提取茶叶中的蛋白质，利用茶蛋白大部分不溶于水而溶于碱性物质的特点对茶蛋白进行提取，再利用等电子沉淀法提取碱液中的蛋白质。通过控制单因素进行提取茶蛋白的正交实验可以得到最佳提取参数：时间 120min、温度 80℃、固液比 1:8、pH 值 13，得到绿茶中的茶蛋白的提取率为 10.7%。

**【关键词】**：茶蛋白；碱提酸沉法；时间；温度；固液比；pH 值

## Study on Extraction and Purification of Protein from Green Tea

Youqiang Wang, Yufeng Liu

Shandong New Time Pharmaceutical Co., Ltd. Shandong Linyi 273400

**Abstract:** The protein in tea was extracted by alkali extraction method. The tea protein was extracted by using the characteristics that most of the tea protein was insoluble in water and soluble in alkaline substances, and then the protein in alkali solution was extracted by isoelectronic precipitation method. Through the orthogonal experiment of extracting tea protein by controlling single factor, the best extraction parameters were obtained: time 120min, temperature 80 °C, solid-liquid ratio 1:8 and pH 13. The extraction rate of tea protein in green tea was 10.7%.

**Keywords:** Tea protein; Alkali extraction and acid precipitation; Time; Temperature; Solid-to-liquid ratio; pH value

### 1 引言

#### 1.1 茶蛋白的研究背景

茶叶作为一种天然的健康绿色饮品，拥有着广大的消费人群和悠久的消费历史。近年来，随着经济的发展和人们生活观念的转变，人们对于健康生活的理念越来越重视。茶叶作为一种天然保健产品，越来越受广大消费人群的追捧。目前，我国茶叶产量领先全球其他国家，占比维持在四成以上并有逐年提升的趋势。但是从茶叶产量的利用率来看，我国的茶叶利用率低下，供给效率还有很大的晋升空间。每年茶叶生产过程中产生的茶梗、筛选后剩下的低档茶、滞销的陈年旧茶等等，给环境污染造成严重的压力，给经济造成巨大的浪费，同时也不符合绿色发展的政策方针。如何提高茶叶的利用率，这是当前急需解决的问题。茶叶中的营养成分丰富，有研究表明，茶叶中含有 450 多种成分，其中茶多酚、茶多糖、茶单宁、蛋白质、氨基酸、生物碱、维生素、脂肪约占茶叶干重的 90% 以上，其中茶多酚占 20%~35%，蛋白质占 20%~30%，茶多糖占 20%~25%<sup>[1]</sup>。随着茶叶中各种成分的药理及功能性质的不断深入研究，以茶为原料制备的各种茶多酚、茶多糖、氨基酸等产品日益更新，在当代人对健康生活的不断追求的趋势下，这些具有保健功能且无毒无害、绿色环保、价格适中的产品广受消费者的青睐。近年来对茶蛋白的研究表明，茶蛋白不仅是营养成分，还具有许多保健功能。研究表明，茶蛋白对抗突变、抗氧化、降低血脂等方面起到积极的作用，如果能将茶蛋白的提取工艺进一步完善，运用到规模生产中，提高茶叶的利用率，将给茶农和企业带来更多的经济效益，给社会带来社会效益和

经济价值。

茶叶中含量最高的茶多酚的提取工艺已经应用在工业规模生产中，但是含量仅次于茶多酚的茶蛋白在提取纯化方面的研究还仅限于实验室。目前的研究实验表明，茶蛋白的功能不亚于茶多酚，如果能将茶蛋白提取工艺运用到工业生产上，开发多元化茶产品，提高茶叶综合利用率，增加茶产业经济效益，降低茶叶生产对环境造成的污染，将大大提高茶农种植热情，增加茶农经济收入，有利于社会效益和经济效益的发展。

#### 1.2 茶蛋白的介绍

茶作为世界三大饮料之一，具有天然的保健功能。近年来的研究分析，茶叶中的各个成分有着不同的理化性质，通过提取不同成分开发成具有商业价值的保健成品在市面上广受消费者的青睐。其中对茶多酚、茶多糖的研究开发已经很成熟了，具有一整套完整的工业流程，而对茶蛋白的开发研究还仅限于实验室。目前提取茶蛋白较为成熟的工艺是采用碱提取法，也有采用酶提取法等其他方法的。茶叶中的蛋白质主要是不溶于水的谷蛋白和醇溶蛋白质，醇溶蛋白主要为谷蛋白、球蛋白、精蛋白、白蛋白等，这些占茶叶干重比约 20%，且在茶叶加工过程中，有一部分茶蛋白会与茶多酚结合形成难溶性物质<sup>[1]</sup>，在实际冲泡中，茶汤中的蛋白质不到 2%<sup>[1]</sup>，仅靠这一部分茶蛋白起到保健功能的效果是微乎其微的，只有将茶叶进行深加工，将茶蛋白提取出来加工成可直接食用吸收的产品才能起到作用。溶于茶汤中的茶蛋白虽然含量不高，却是影响茶汤滋味的主要的成分之一。凡是蛋白质含量高的制茶原料，从外形来看，叶色嫩绿，叶质柔软，具备制成高档茶的基本条件，能形

成各种形美的茶叶。茶蛋白不仅有影响茶汤滋味的作用，还具有许多保健功能。Bu-Abbas A<sup>[2]</sup>等的研究表明，茶蛋白可以有效抵抗放射性治疗带来的致突变效应对人体的伤害。靳伟刚<sup>[3]</sup>等对茶蛋白的酶分解产物进行研究，发现茶蛋白具有抗氧化能力，对羟自由基和超氧阴离子自由基有很强的清除能力。活泼<sup>[4]</sup>等的研究表明茶蛋白不但对冠状动脉心脏病和动脉粥样硬化有良好的预防作用而且还可以有效地降低血脂。茶蛋白不仅可以开发成保健产品，同时它也是一种十分优秀的植物蛋白质，是一种绿色环保可再生的高分子可降解材料。未来工业研究方向上可用茶蛋白作为原料，研制可被生物降解的绿色塑料。

茶蛋白作为一种植物蛋白，与大豆蛋白具有相同起泡性、吸油性、乳化性、凝胶性等的功能性质，通过近年来的研究表明，通过不同的提取方法，茶蛋白的这些的功能性质会有所区别，如何将不同的功能性质运用到不同的场景中，将对未来充分利用开发茶蛋白具有重大意义。

通过对茶蛋白的水解产物研究，其氨基酸含量和组成也是十分优秀的，具有与牛奶和母乳相似的氨基酸评分，高于大豆蛋白氨基酸，但是茶蛋白的功能性质研究得还不够透彻。如能深入研究茶蛋白的性质功能，探究茶蛋白提取纯化工艺，将茶蛋白的保健功能开发成具有商业价值和社会价值的品，推广到市场，将具有广阔的发展前景，是未来茶农和企业扩展经济市场的新指向。

### 1.3 本论文的主要内容

茶蛋白的提取工艺目前还处于不成熟阶段，主要采用碱提取法、酶提取法等，酶法提取又分为单酶提取、双酶分步提取法和双酶复合提取法。酶法存在的问题主要是成本高、提取率低、工艺繁琐等问题，这是制约提取茶蛋白工艺生产的主要因素之一。目前实验室较为成熟的提取茶蛋白的方法是碱提取法，优点是：提取工艺简单、成本低、提取率高。与酶提取法相比，碱提取法提取的蛋白质容易在过碱环境下发生蛋白质变质，产生褐色有害物质，溶出其他物质出来，其提取的蛋白质没有酶提取法的蛋白质性质优良，纯度高。这些是一直制约提取茶蛋白工艺发展的主要因素，未来探索方向可在这方面多做研究。

本课题主要探究碱提取法，在前人的研究基础上表明，碱提取法的提取率主要受到浸取温度、时间、液料比、pH值等因数的影响，如果能在控制成本、生产工艺流程的基础上，得到提取茶蛋白的最佳提取参数，用较低的成本得到较高产量的产品，这将对未来提取茶蛋白的工艺研究有一定的参考价值。

## 2 实验部分

### 2.1 试剂和仪器

#### 2.1.1 药品

材料：市售高山绿茶

试剂：氢氧化钠：AR，西陇化工股份有限公司、盐酸：AR，上海三鹰化学试剂有限公司

#### 2.1.2 仪器

DFY-500 摇摆式高速中草药粉碎机，温州温岭林大机械有限公司；HH-4S 数显恒温水浴锅，江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司；TDL-5 低速大容量离心机，上海安亭科学仪器厂、电子天平、真空抽滤器、干燥箱、PHS-3C 精密 pH 计。

### 2.2 茶蛋白提取实验

#### 2.2.1 茶叶原料的处理

将茶叶放进干燥箱中干燥至恒重，温度设置成 50°C。将干燥冷却完的茶叶放进小型粉碎机进行粉碎，粉碎后过 50 目筛，得到茶叶粉末。

#### 2.2.2 茶蛋白的提取

采用文献中的碱提酸沉的方法提取茶叶中的茶叶蛋白质，采用等电子沉淀将蛋白质沉淀分离出来，通过查阅文献，得到最佳沉淀等电子值为 3，沉淀时间 20min 可以将蛋白质完全沉淀出来。确定茶叶中的蛋白质的浸取时间在 1 小时到 2 小时之间，提取温度在 40°C~100°C，固液比设定在 1:4~1:12 之间，pH 值在 10~14 之间，在这些条件下设定单因素实验，通过正交实验得到最佳提取条件。茶蛋白提取工艺：茶叶→粉碎→水浴浸提→分离→沉淀→分离→干燥。称取 5g 茶叶粉末，在烧杯中加入不同固液比的碱溶液，搅拌均匀放置到水浴锅加热反应一定时间。控制单因素实验设计正交试验。将提取后的液体与滤渣分离，得到滤液，往滤液中加入盐酸溶液调节至 pH 值到 3，溶液静置 20min，得到粗产物沉淀。将沉淀与滤液通过离心机分离，得到粗蛋白质提取物沉淀，烘干后得到粗蛋白质提取物。

## 3 结果与讨论

### 3.1 探究不同因素对蛋白质提取率的影响

为确定提取蛋白质的最佳提取条件，分别进行浸取温度、时间、液料比、pH 值对茶蛋白提取效果的单因素实验，设计茶蛋白提取实验的正交实验，探究上述条件对茶蛋白提取率的影响。

#### 3.1.1 茶蛋白提取实验确定最佳提取时间

在实验前首先确定茶蛋白的提取时间，设置两组对比实验，第一组实验固液比 1:6，提取液 pH 值在 13，温度设定在 60°C，温度梯度设置为 60min、80min、100min、120、140min；另一组实验与第一组实验条件除温度设定在 80°C 这一不同外，其他条件均一致。提取干燥后得到茶蛋白提取率，在 60°C 和 80°C 的浸取温度条件，茶蛋白的提取率在 60~120min 是呈上升趋势的，120min~140min 的提取率并没有很大幅度的提升，可知，两小时已经可以将茶蛋白大部分提取出来，如果再提升浸

取时间,在工艺生产上将浪费更多的资源,造成环境污染,由此可以确定最佳提取温度控制在 120min,既不浪费资源又可以得到较高的提取率。

### 3.1.2 茶蛋白提取实验确定最佳提取 pH 值

确定了最佳浸取时间、浸取温度、提取固液比,再设置一组单因素实验探究最佳提取 pH 值,时间为 120min、温度为 80℃、固液比 1:8。pH 值梯度设置为 10、11、12、13、14。由图 4-1 可以看出随着 pH 值的升高,茶蛋白的提取率也随着增大,在 pH 值到达 13 时,提取率的增长速度减缓,在未来工业生产中如果采用碱提酸沉法提取茶蛋白,碱液使用后的废水处理将给环境造成严重的压力。在保护环境和节约成本的前提下,pH 值 14 的提取率比 pH 值 13 的提取率高出来的部分可以忽略不计,所以可以得到最佳提取 pH 值为 13。

通过以上控制单因素变量实验,确定时间为 120min,温度为 80℃,固液比为 1:8,pH 值为 13,提取液在 pH 值 3.0 的条件下沉淀,确定为最佳提取参数,在此基础上平行提取茶蛋白三次,可以得到茶蛋白最高提取率为 10.7%,经冷却干燥可以得到棕褐色的茶蛋白粗提取物。这些褐色物质可能是因为茶叶中的色素、酚类含量丰富,一小部分随着提取茶蛋白也溶解出来,造成提取的粗茶蛋白颜色较深,呈现棕褐色,这在后续的

工艺研究中还需要投入更多的精力做更多探索,减少除茶蛋白产物的其他产物的带出。通过对茶蛋白的氨基酸组成分析,发现茶蛋白的氨基酸组成合理,获得与牛奶和母乳接近的氨基酸评分,属于一种优质的植物蛋白资源<sup>[1]</sup>。如能在未来将茶蛋白的提取工业化生产,将茶蛋白的功能性质研究得更加深入,将茶蛋白开发成具有商业价值和社会价值的产品,这将给茶农和企业带来新的商机,给社会带来可观的经济效益和新的发展前景。由于时间仓促,实验条件和学识水平有限,本课题还存在以下不足,尚且需要继续研究与完善:

①在提取过程中,茶蛋白提取液与滤渣无法很完全地分开,造成茶蛋白的提取率偏低,使用的碱液碱性偏高,在污水处理过程中没有很好的解决办法,这是未来工业化处理废水需要解决的问题之一。

②提取出来的茶蛋白纯度不高,在提取过程中将茶叶中的色素、茶多酚等产物也一并带出,造成提取产物呈现棕褐色。未来如何提纯茶蛋白还有待深入研究。

③由于时间有限,无法对茶蛋白的吸油性、乳化性、起泡性、凝胶性等功能性性质做深入研究和分析,无法得到这些功能性性质与提取条件的关联。未来还有待探索。

### 参考文献:

- [1] 陆晨,张士康,朱科学等.碱提酸沉法提取茶叶蛋白质的研究[J].现代食品科技,2011,27(6):673-677.
- [2] Yaghi O M, O'Keeffe M, Ockwig N W, et al. Reticular synthesis and the design of new materials[J].Nature, 2003, 423(6941): 705-714.
- [3] 王春雷.茶叶批发市场客户流失严重未来亟需进行全面转型升级[J].中国食品,2021,(05):84-87.
- [4] 罗发美,谭文翰,刀仕强,李绍仙,张俊雄,李艳,周恩蔡德.茶渣中蛋白质提取方法研究进展[J].食品安全质量检测学报,2020,11(13):4291-4297.
- [5] 张子迪,李宜慧,朱彩霞,杨薇,白东清,李涛.绿茶蛋白质的提取及抗氧化肽的制备研究[J].安徽农业科学,2020,48(07):202-206+212.
- [6] 罗发美,车涛,杨云忠.茶叶中蛋白质研究进展[J].食品安全导刊,2020,(09):35.
- [7] 许金伟,周晓红,张星海,陆芝娟,吴叶萍.正交试验法优选茶渣蛋白提取工艺研究[J].广州化工,2017,45(21):80-82.
- [8] 陈仕学,罗承琼,卢忠英.微波辅助提取茶叶蛋白质的工艺及其性质研究[J].湖北农业科学,2015,54(18):4552-4556.
- [9] 张贤忠,刘铁兵,郭小青,尹新哲.茶叶中蛋白质含量的测定[J].安徽农业科学,2013,41(21):9058-9059.
- [10] 李圆圆.茶渣蛋白的酶法提取及功能性研究[D].江南大学,2013.
- [11] 于鹏亮.茶渣中蛋白质和多糖的综合提取及其分离纯化[D].安徽农业大学,2013.
- [12] 陆晨.茶渣中蛋白质的提取、脱色及改性研究[D].江南大学,2012.