

不同方法降解绿茶渣制备水溶性还原糖

Processing of water-soluble reducing sugar from extracted green tea residue by different degradation methods

孔莹莹^{1,2} 刘安^{1,2} 许伟^{1,2}

KONG Ying-ying^{1,2} LIU An^{1,2} XU Wei^{1,2}

张拓^{1,2} 龚志华^{1,2} 肖文军^{1,2,3}

ZHANG Tuo^{1,2} GONG Zhi-hua^{1,2} XIAO Wen-jun^{1,2,3}

(1. 湖南农业大学茶学教育部重点实验室, 湖南长沙 410128; 2. 湖南农业大学国家植物功能成分利用工程技术研究中心, 湖南长沙 410128; 3. 湖南省植物功能成分利用协同创新中心, 湖南长沙 410128)

(1. Key Lab of Tea Science of Ministry of Education, Changsha, Hunan 410128, China; 2. National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Changsha, Hunan 410128, China; 3. Hunan Collaborative Innovation Center for Utilization of Botanical Functional Ingredients, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128, China)

摘要:为进一步开发利用茶渣中的多糖类物质,以绿茶水提之后的茶渣为原料,以水溶性还原糖得率为考察指标,在优化筛选辐照降解、碱降解、酸降解制备水溶性还原糖的基础上,探讨辐照预处理+碱降解+酸降解绿茶渣制备水溶性还原糖的效果。结果表明,辐照降解在辐照吸收量为 1 200 kGy 的降解效果最佳,水溶性还原糖得率为 4.13%;碱降解的最佳工艺组合为 0.05 mol/L 氢氧化钠于 90 °C 下降解 1 h,水溶性还原糖得率为 2.08%;酸降解的最佳工艺组合为 9% 硝酸于 100 °C 下降解 2 h,水溶性还原糖得率为 10.57%;辐照预处理+碱降解+酸降解的最佳工艺组合为先将茶渣进行 1 000 kGy 剂量的辐照降解,然后采用最佳碱降解工艺组合进行降解,再采用最佳酸降解工艺组合进行降解,水溶性还原糖得率为 13.18%,说明 1 000 kGy 辐照预处理+最佳碱降解+最佳酸降解的组合工艺是利用绿茶渣制备水溶性还原糖的最优工艺技术。

关键词:绿茶;茶渣;还原糖;辐照降解;碱降解;酸降解

Abstract: In order to further develop and utilize the polysaccharides in tea residue, taking tea residue after green tea water extraction as raw material, and the yield of water-soluble reducing sugar was taken as the index, the effects of irradiation degradation + alkali

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFD0400803);长沙市科技计划重大专项(编号:kq1703003)

作者简介:孔莹莹,女,湖南农业大学在读硕士研究生。

通信作者:肖文军(1969—),男,湖南农业大学教授,博士。

E-mail: xiaowenjun88@sina.com

收稿日期:2018-01-03

degradation + acid degradation on green tea residue preparation of water-soluble reducing sugars were discussed on the basis of optimization of radiation degradation, alkali degradation and acid degradation for preparation of water-soluble reducing sugars. Results: The best degradation rate of irradiation was 1 200 kGy with a yield of 4.13%. The best combination of alkali degradation was 0.05 mol/L sodium hydroxide at 90 °C for 1 h, the yield was 2.08%. The optimal process of acid degradation was 9% nitric acid at 100 °C for 2 h, and the yield was 10.57%. The best combination of radiation degradation + alkali degradation + acid degradation was that the tea residue was firstly irradiated by irradiation at 1 000 kGy, degraded by the best combination of alkali degradation, and then degraded by the best combination of acid degradation, with the water-reducing sugar yield of 13.18%. The combination of degraded water-soluble reducing sugar has the highest yield.

Keywords: green tea; tea residue; reducing sugar; radiation degradation; alkali degradation; acid degradation

茶叶是中国主要经济作物之一,在浙江、云南、安徽、湖南等地多有种植。中国每年茶叶深加工消耗茶叶 $1.0 \times 10^5 \sim 1.5 \times 10^5$ t,占茶叶总产量的 7%~9%^[1],而日本、美国茶叶深加工占比已达到 40%以上^[2],说明中国茶叶深加工产业发展空间巨大,且深加工后的茶渣并未得到妥善处理。研究发现,深加工后的茶渣仍残留 17%~19% 的粗蛋白、16%~18% 的粗纤维^[3],可做肥料、饲料和吸附剂,可从中提取利用蛋白、茶多糖^[4]。其中,将茶渣纤维素转化为燃料乙

醇不仅能减少环境污染,还可缓解能源危机^[5]。近期研究^[6]发现 Co⁶⁰ 辐照可使油菜秸秆的纤维素发生链剪切和交联反应,降解纤维素;碱处理玉米秸秆,可使纤维素的氢键断裂^[7];孙万里等^[8]发现酸处理水稻秸秆能脱除木质素、半纤维素,使糖得率提高;彭资等^[9]发现酸能促进辐照芒草纤维素降解糖化。然而,目前相关研究主要是以农作物秸秆为原料,鲜有对茶渣降解糖化的研究。已有研究^[10]表明茶渣可用纤维素酶解,提取蛋白和还原性糖,但还原糖得率较低。以上研究拟主要使用单一技术降解,而非多种方法综合降解。因此本研究拟以茶渣为原料,分别采用 Co⁶⁰ 辐照、氢氧化钠、硝酸处理,并通过 3,5-二硝基水杨酸法测定水溶性还原糖的得率,探讨不同降解方法的效果,以期对茶叶深加工中茶渣的开发利用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

茶渣:为中小种绿茶在茶水比 1:15 (g/mL)、95 ℃下提制 30 min 后的水提残渣,于 70 ℃烘箱中烘干,粉碎,过 40 目筛。经检测,茶渣中有 15.05% 纤维素、4.21% 果胶、1.76% 水溶性还原糖,含水量为 4.73%;

乙二醇四乙酸二钠、硼酸钠、十二烷基硫酸钠、乙二醇乙醚、无水磷酸氢二钠、浓硫酸、十六烷三甲基溴化铵、无水亚硫酸钠、氰化萘、丙酮、无水草酸氨、氨水、乙醇、盐酸、氢氧化钠、冰乙酸、无水氯化钙、葡萄糖标准物质、3,5-二硝基水杨酸、苯酚、酒石酸钾钠、浓硝酸:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器

电子天平:FA2104S 型,上海精科天美仪器有限公司;
循环水式真空泵:SHZ-D(Ⅲ)型,浙江黄岩求精真空泵厂;

电热鼓风干燥箱:101A-2 型,上海实验仪器总厂;

恒温水浴锅:HH 数显型,金坛市金城国胜实验仪器厂;

可见光光度计:722E 型,上海光谱仪器有限公司。

1.2 降解方法

1.2.1 辐照降解 选择 Co⁶⁰ 为辐照源,将烘干后的茶渣以 200,600,800,1 000,1 200 kGy 的辐照剂量进行辐照降解,优选水溶性还原糖得率高的辐照剂量。

1.2.2 碱降解 以水溶性还原糖得率为指标,取 1 g 茶渣按 1:30 (g/mL) 固液比降解。

(1) 分别用 0.03,0.05,0.07,0.09,0.11 mol/L 的氢氧化钠降解,降解温度均为 80 ℃,降解时间均为 90 min。

(2) 分别在 60,70,80,90,100 ℃ 的温度下,均用 0.05 mol/L 氢氧化钠降解,降解时间均为 90 min。

(3) 分别降解 1,2,3,4,5 h,均用 0.05 mol/L 氢氧化钠降解,降解温度均为 80 ℃。

(4) 以氢氧化钠浓度、降解温度、降解时间为考察因子进行 L₉(3³) 正交试验。

1.2.3 酸降解 以水溶性还原糖得率为指标,取 1 g 茶渣按

1:30 (g/mL) 固液比降解。

(1) 分别用 5%,7%,9%,11%,13% 的硝酸降解,降解温度均为 85 ℃,降解时间均为 90 min。

(2) 分别在 60,70,80,90,100 ℃ 的温度下,均用 5% 的硝酸降解,降解时间均为 90 min。

(3) 分别降解 0.5,1.0,1.5,2.0 h,均用 5% 的硝酸降解,降解温度均为 85 ℃。

(4) 将硝酸浓度、降解温度、降解时间为考察因子进行 L₉(3³) 正交试验。

1.2.4 辐照预处理+碱降解+酸降解 分别取 1 g 各剂量辐照后的茶渣,先按最佳碱降解工艺组合进行降解,再采用最佳酸降解工艺组合进行降解,检测水溶性还原糖得率,获得最优辐照降解+碱降解+酸降解绿茶水提茶渣制备水溶性还原糖的工艺技术组合。

1.3 理化指标测定方法

1.3.1 茶渣纤维素测定 参照文献^[11]。

1.3.2 茶渣果胶测定 按 GB/T 10742—2008 的重量法执行。

1.3.3 茶渣水溶性还原糖测定 参照文献^[12]。

1.3.4 茶渣中水分测定 按 GB/T 8304—2013 的 120 ℃ 茶叶烘干法执行。

1.3.5 水溶性还原糖得率计算 根据式(1)计算水溶性还原糖得率。

$$R = \frac{m}{M \times W} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R——水溶性还原糖得率,%;

m——茶渣降解后滤液中的水溶性还原糖量,g;

M——茶渣的样重,g;

W——试样含水量,%。

2 结果与分析

2.1 辐照处理对茶渣水溶性还原糖的影响

由图 1 可知,辐照吸收量高于 200 kGy 时,辐照可降解茶渣生成水溶性糖,并且辐照吸收量越大,生成水溶性糖越多。辐照吸收量为 1 000 kGy 时,纤维素降解为水溶性糖后,

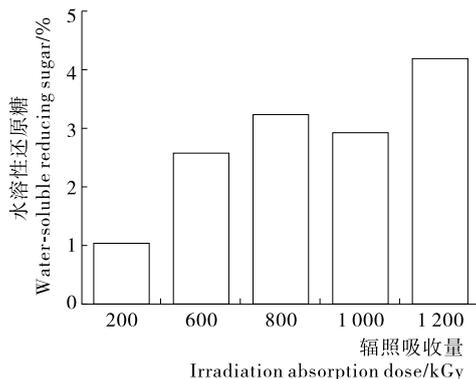


图 1 辐照后茶渣中水溶性还原糖得率

Figure 1 The yield of water-soluble reducing sugar in tea residue with irradiation absorption

发生分子内脱水生成呋喃类物质,因此水溶性糖得率偏低。辐照吸收量为 1 200 kGy 时,纤维素最大程度裂变降解,水溶性糖得率最高,为 4.13%。由此可知在一定辐照剂量范围内,辐照剂量越大,得率越高,说明高能辐照能降低纤维素聚合度^[13],使大分子的纤维素降解为小分子物质。

2.2 碱降解绿茶渣制备水溶性还原糖的效果

2.2.1 氢氧化钠浓度对水溶性还原糖得率的影响 纤维素与氢氧化钠形成 Na-cellulose 复合结构,在碱的水合离子作用下溶解^[14]。由图 2 可知,在氢氧化钠浓度为 0.05 mol/L 时,水溶性糖得率最高。随浓度的增加,碱纤维吸附多余的氢氧化钠,水溶性糖得率降低。当浓度为 0.03 mol/L 时,降解前与降解后的还原糖含量相同,说明浓度过低的氢氧化钠无法达到降解茶渣效果,因此选用 0.05, 0.07, 0.09 mol/L 的氢氧化钠溶液进行正交试验。

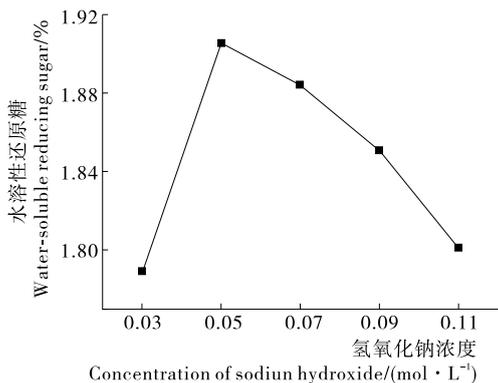


图 2 氢氧化钠浓度对水溶性还原糖得率的影响

Figure 2 The effect of concentration of sodium hydroxide on the yield of water-soluble reducing sugar

2.2.2 氢氧化钠降解温度对水溶性还原糖得率的影响 由图 3 发现,温度低于 90 °C,水溶性还原糖得率随温度的增高而增加;降解温度高于 90 °C,产物糖与蛋白质水解产生的氨基酸发生美拉德反应,水溶性还原糖得率随温度的升高而降低。

2.2.3 氢氧化钠降解时间对水溶性还原糖得率的影响 在图 4 中,降解时间在 1 h 内,随降解时间的延长,水溶性还原

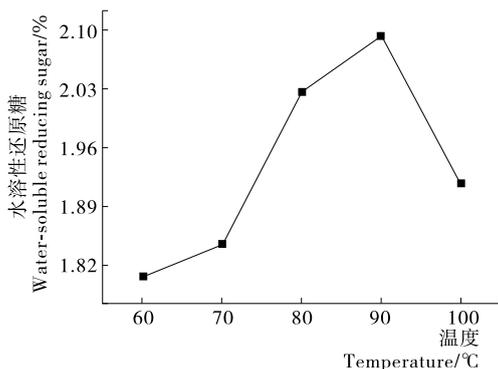


图 3 氢氧化钠降解温度对水溶性还原糖得率的影响

Figure 3 The effect of sodium hydroxide degradation temperature on the yield of water-soluble reducing sugar

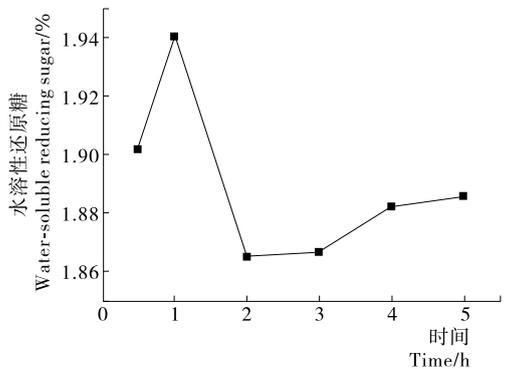


图 4 氢氧化钠降解时间对水溶性还原糖得率的影响

Figure 4 The effect of sodium hydroxide degradation time on the yield of water-soluble reducing sugar

糖得率增加。降低时间长于 1 h,由于蛋白质大部分溶于溶液^[15],与产物糖发生反应的机率增大,使水溶性糖减少。为减小蛋白质水解产生的氨基酸对水溶性还原糖得率的影响,选用 0.5, 1.0, 1.5 h 进行正交试验。降解时间超过 2 h 后,随降解时间的延长,水溶性糖得率稍有增加。

2.2.4 氢氧化钠降解的正交试验 在单因素试验基础上,进行 L₉(3³)正交试验。正交试验因素及水平见表 1,正交试验结果见表 2。

由表 2 可知,各因子对水溶性还原糖影响的主次顺序为

表 1 氢氧化钠降解的各因素正交试验水平

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment of sodium hydroxide degradation

水平	A 温度/°C	B 氢氧化钠浓度/(mol · L ⁻¹)	C 时间/h
1	80	0.05	0.5
2	90	0.07	1.0
3	100	0.09	1.5

表 2 氢氧化钠溶液降解的正交结果

Table 2 The result of orthogonal experiment of sodium hydroxide degradation

试验号	A	B	C	含量/%
1	1	1	1	1.91
2	1	2	2	1.84
3	1	3	3	1.87
4	2	1	2	2.08
5	2	2	3	1.80
6	2	3	1	2.02
7	3	1	3	1.93
8	3	2	1	1.85
9	3	3	2	2.01
K ₁	1.87	1.98	1.93	
K ₂	1.97	1.83	1.98	
K ₃	1.93	1.97	1.87	
R	0.10	0.15	0.11	

氢氧化钠浓度>降解时间>降解温度,在最优工艺技术组合下,即用0.05 mol/L的氢氧化钠溶液于90℃降解1 h后,水溶性糖得率最高,为2.08%,说明碱可使纤维素分子发生润涨降解^[16]。

2.3 酸降解绿茶渣制备水溶性还原糖的效果

2.3.1 硝酸浓度对水溶性还原糖得率的影响 由图5可知,硝酸降解浓度为9%时,水溶性还原糖得率最高。因为硝酸浓度低于9%时,硝酸浓度越高,则氢离子浓度越高,对纤维素结构的破坏力更强,水溶性还原糖得率增加;当浓度高于9%时,水溶性还原糖在硝酸作用下生成糠醛、有机酸等副产物,得率降低,且硝酸浓度太高,受热分解产生的NO₂增多,污染环境。

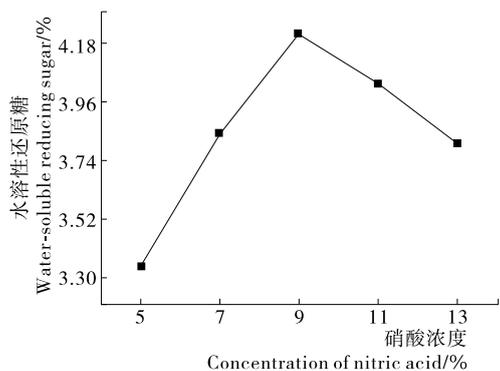


图5 硝酸浓度对水溶性还原糖得率的影响

Figure 5 The effect of the concentration of nitric acid on the yield of water-soluble reducing sugar

2.3.2 硝酸降解温度对水溶性还原糖得率的影响 由图6可知,温度高于80℃的得率较高,当降解温度低于80℃时,缺少足够的能量使纤维素的氢键断裂,水溶性还原糖得率明显偏低。

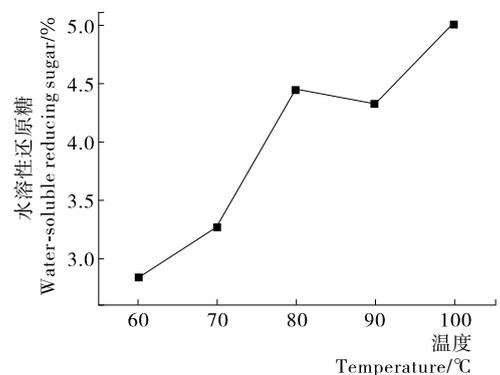


图6 硝酸降解温度对水溶性还原糖得率的影响

Figure 6 The effect of nitric acid degradation temperature on the yield of water-soluble reducing sugar

2.3.3 硝酸降解时间对水溶性还原糖得率的影响 由图7发现,随降解时间的延长,纤维素降解率越高,还原糖得率越高。但纤维素降解的同时,伴随着水溶性还原糖的降解,因此随时间的延长,糖的增长速率减小。

2.3.4 硝酸降解的正交试验 在单因素试验基础上,进行L₉(3³)正交试验。正交试验因素及水平见表3,正交试验结

果见表4。

由表4可知,各因子影响水溶性还原糖的主次顺序为处理温度>处理时间>硝酸浓度。最优的工艺技术组合为9%硝酸在100℃下降解2 h,未出现在正交组合中,需进行验证实验。取茶渣按最优条件降解,水溶性还原糖得率为(10.57±0.24)%,高于正交表中任一组合,符合正交分析结果。

2.4 辐照预处理+碱降解+酸降解绿茶渣制备水溶性还原糖的效果

由图8可知,在不同方法组合降解中,辐照吸收量低于

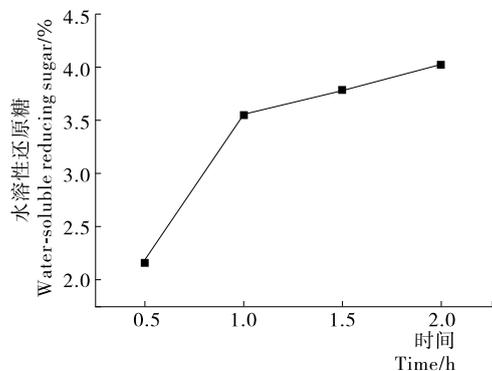


图7 硝酸降解时间对水溶性还原糖得率的影响

Figure 7 The effect of nitric acid degradation time on the yield of water-soluble reducing sugar

表3 硝酸降解的各因素正交试验水平

Table 3 Factors and levels of orthogonal experiment of nitric acid degradation

水平	A 硝酸浓度/%	B 温度/℃	C 时间/h
1	7	80	1.0
2	9	90	1.5
3	11	100	2.0

表4 硝酸降解的正交试验结果

Table 4 The result of orthogonal experiment of nitric acid degradation

试验号	A	B	时间/h	含量/%
1	1	1	1	3.66
2	1	2	2	5.09
3	1	3	3	6.59
4	2	1	2	4.29
5	2	2	3	5.96
6	2	3	1	6.11
7	3	1	3	4.86
8	3	2	1	5.08
9	3	3	2	5.90

K ₁	5.11	4.27	4.95	
K ₂	5.45	5.38	5.09	
K ₃	5.28	6.20	5.80	
R	0.34	1.93	0.85	

1 000 kGy 时,辐照吸收量越大,木质素和半纤维素的降解率越大,从而水溶性还原糖得率越高。辐照吸收量为 1 200 kGy 时,部分纤维素已降解成呋喃类物质,剩余的纤维素经过碱降解+酸降解,生成的水溶性还原糖偏少。辐照吸收量 1 000 kGy 时纤维素结构被充分破坏,且二次降解少,因此降解效果最优。取辐照量为 1 000 kGy 的茶渣用最优碱降解工艺降解,再用最优酸降解工艺降解,进行 3 次平行试验得水溶性还原糖得率为(13.18±0.14)%,说明不同方法组合降解效果最优且方法稳定。组合降解中,辐照降解破坏纤维素与木质素、蛋白质构成聚合液晶结构^[17],碱降解使纤维素分子发生润胀,增大酸与纤维素接触面。

比较图 1 与图 8 可知,组合降解明显优于单一降解。辐照后的茶渣经过碱、酸降解后,水溶性还原糖得率明显增加,说明辐照降解的机理与酸碱降解机理不同。组合降解效果的大小不是单一降解效果的简单叠加,所以组合降解实际效果可能与理论效果不同。

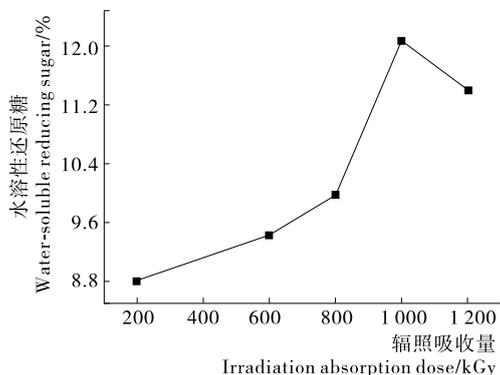


图 8 辐照吸收量对不同方法组合降解水溶性还原糖得率的影响

Figure 8 The effect of irradiation absorption dose on the yield of soluble reducing sugar with degradation of different method combination

3 结论

不同降解方法的水溶性还原糖得率由高到低依次为:不同方法组合降解>酸降解>辐照降解>碱降解。其中,辐照降解在辐照吸收量为 1 200 kGy 时降解效果最佳,为 4.13%;碱降解的最佳工艺组合为用 0.05 mol/L 氢氧化钠于 90 °C 降解 1 h,水溶性还原糖得率为 2.08%;酸降解的最佳工艺组合为用 9% 硝酸于 100 °C 降解 2 h,水溶性还原糖得率为 10.57%。将绿茶茶渣先进行 1 000 kGy 的辐照预处理,然后用 0.05 mol/L 的氢氧化钠于 90 °C 处理 1 h,再用 9% 的硝酸于 100 °C 处理 2 h,水溶性还原糖得率可达 13.18%,即采用 1 000 kGy 辐照预处理+最佳碱降解+最佳酸降解的组合工艺是利用绿茶茶渣制备水溶性还原糖的最优工艺技术。

参考文献

[1] 思雨. 提高茶叶深加工比例功能性产品将是未来目标[J]. 中国食品, 2017(1): 92-95.
[2] 尹军峰, 傅尚文, 刘新, 等. 我国茶叶深加工产品的安全问题及

对策[J]. 食品科学技术学报, 2014, 32(2): 20-23.

- [3] 叶倩, 梁月荣, 陆建良, 等. 茶渣综合利用研究进展[J]. 茶叶, 2005, 31(3): 150-153.
[4] 谢枫, 金玲莉, 涂娟, 等. 茶废弃物综合利用研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(1): 140-145.
[5] 殷福珊. 挑战纤维素的利用[J]. 日用化学品科学, 2009, 32(1): 24-26.
[6] 张春艳, 谭兴和, 熊兴耀, 等. 油菜秸秆 Co⁶⁰-γ 辐照降解产物分析[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2017, 43(1): 92-97.
[7] 郑明霞, 李来庆, 郑明月, 等. 碱处理对玉米秸秆纤维素结构的影响[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(6): 27-31.
[8] 孙万里. 稻草秸秆的预处理及生产乙醇的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2010: 13-27.
[9] 彭姿, 谭兴和, 熊兴耀, 等. 稀硫酸处理促进辐照芒草木质纤维素酶解糖化条件的优化[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(31): 12 455-12 457, 12 461.
[10] 于鹏亮. 茶渣中蛋白质和多糖的综合提取及其分离纯化[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013: 25-37.
[11] 冯继华, 曾静芬, 陈春茂, 等. 应用 Van Soest 法和常规法测定纤维素及木质素的比较[J]. 西南民族学院学报, 1994, 20(1): 55-56.
[12] 赵凯, 许鹏举, 谷广烨. 3,5-二硝基水杨酸比色法测定还原糖含量的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 534-536.
[13] 杨革生, 邵惠丽, 胡学超. 辐照对竹纤维素聚合度及其结晶结构的影响[J]. 功能高分子学报, 2007, 19-20(2): 143-147.
[14] 张帅. 新型溶剂制备再生纤维素纤维及其结构性能研究[D]. 上海: 东华大学, 2010: 45-64.
[15] 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.
[16] RUAN Dong, ZHANG Li-na, LU Ang, et al. A rapid process for producing cellulose multi-filament fibers from a NaOH/thiourea solvent system[J]. Macromolecular Rapid Communications; Publishing the Newsletters of the European Polymer Federation, 2006, 17: 1 495-1 500.
[17] 李秀艳, 谢瑞琪, 张玉芳. 纤维素水解研究进展[J]. 北京服装学院学报: 自然科学版, 2012, 32(2): 70-78.