

# 响应面法优化万源富硒红茶茶多酚提取工艺

杨琳<sup>1</sup>, 龚燕川<sup>2\*</sup>, 陈启昊<sup>2</sup>, 颜爽<sup>2</sup>, 田从良<sup>1</sup>, 饶秋林<sup>1</sup>, 王伟<sup>3</sup>

<sup>1</sup>万源市富硒产品检验中心, 四川 达州

<sup>2</sup>四川文理学院特色植物开发研究四川省高校重点实验室, 四川 达州

<sup>3</sup>万源市计量检定测试所, 四川 达州

收稿日期: 2023年7月10日; 录用日期: 2023年8月11日; 发布日期: 2023年8月22日

## 摘要

响应面法优化万源富硒红茶中茶多酚提取工艺, 以茶多酚提取率为指标, 通过单因素试验考察乙醇浓度、超声温度、液料比、超声时间对万源富硒红茶茶多酚提取率的影响, 响应面法优化万源富硒红茶茶多酚的超声波乙醇辅助提取工艺。结果表明, 万源富硒茶在固定超声功率为360 W下的最佳提取工艺为: 乙醇浓度为41%, 超声时间为50 min, 液料比为25:1 mL/g, 超声温度为60°C, 茶多酚提取率为16.12%。该法提取效率高, 为万源富硒红茶中茶多酚开发利用提供理论依据。

## 关键词

万源富硒红茶, 茶多酚, 响应面分析, 提取工艺优化

# Optimization of Extraction Process of Tea Polyphenols from Wanyuan Selenium-Rich Black Tea by Response Surface Methodology

Lin Yang<sup>1</sup>, Yanchuan Gong<sup>2\*</sup>, Qihao Chen<sup>2</sup>, Shuang Yan<sup>2</sup>, Congliang Tian<sup>1</sup>, Qiulin Rao<sup>1</sup>, Wei Wang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Wanyuan Selenium Rich Product Inspection Center, Dazhou Sichuan

<sup>2</sup>Key Laboratory of Exploitation and Study of Distinctive Plants in Education Department of Sichuan Province, Sichuan University of Arts and Science, Dazhou Sichuan

<sup>3</sup>Wanyuan Metrological Verification and Testing Institute, Dazhou Sichuan

Received: Jul. 10<sup>th</sup>, 2023; accepted: Aug. 11<sup>th</sup>, 2023; published: Aug. 22<sup>nd</sup>, 2023

\*通讯作者。

文章引用: 杨琳, 龚燕川, 陈启昊, 颜爽, 田从良, 饶秋林, 王伟. 响应面法优化万源富硒红茶茶多酚提取工艺[J]. 环境保护前沿, 2023, 13(4): 991-1000. DOI: 10.12677/aep.2023.134120

## Abstract

Optimization of extraction process of tea polyphenols from Wanyuan selenium-rich black tea by response surface methodology, with the extraction rate of tea polyphenols as an index, the effects of ethanol concentration, liquid to material ratio, ultrasonic temperature and ultrasonic time on the extraction rate of tea polyphenols from Wanyuan selenium rich black tea were investigated through a single factor experiment. Response surface methodology was used to optimize the ultrasonic ethanol assisted extraction process of tea polyphenols from Wanyuan selenium rich black tea. The results showed that the optimal extraction process for Wanyuan selenium rich tea under a fixed ultrasound power of 360 W was as follows: ethanol concentration of 41%, liquid-solid ratio of 25:1 mL/g, ultrasound temperature of 60°C ultrasound time of 50 min, and the extraction rate of tea polyphenols could reach 16.12%. This method has high extraction efficiency and can provide a theoretical basis for the development and utilization of tea polyphenols in Wanyuan selenium rich black tea.

## Keywords

Wanyuan Selenium-Rich Black Tea, Tea Polyphenols, Response Surface Analysis, Optimization of Extraction Process

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

红茶作为一种全发酵茶，具有产量高、消费广和国际贸易量大等特点[1]。红茶含有多种功能性活性成分，具有抗氧化、抗癌、防治心血管疾病和抗炎等生理功能[2]。万源市地处大巴山腹地，属于全国三大富硒区之一，是四川唯一的天然富硒区。富硒名优产品众多，其中富硒茶叶作为万源四大富硒产业之一。万源富硒茶茶叶嫩度好，茸毛多，芽叶内含物积累高[3]。

目前红茶主要集中于加工工艺和风味差异性研究，而万源富硒红茶化学成分的研究未见报道[4] [5] [6]。茶多酚是多羟基酚类化合物的复合物，由 30 种以上的酚类物质组成，其主要成分是儿茶素及其衍生物，是茶叶中产生保健功能的主要化学成分[7]。近年来，关于茶多酚有许多提取方法及其抗氧化活性研究，研究人员已对日照绿茶、黑茶及信阳毛尖茶的提取工艺进行优化[8] [9] [10]。由于茶叶的不同，其提取的最佳条件都不尽相同[11]。因此，本论文研究万源富硒红茶中茶多酚的超声波乙醇辅助提取法的工艺优化，为万源富硒红茶在食品、医药的开发中提供理论基础。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 原料

四川省万源市固军精制茶场富硒红茶。

### 2.2. 主要试剂

福林酚、PBS 缓冲液(生化试剂，飞净生物科技有限公司)；无水碳酸钠、95%乙醇、无水乙醇、30%过氧化氢、水杨酸、抗坏血酸(分析纯，成都市科隆化学品有限公司)；没食子酸、七水合硫酸亚铁、DPPH(上海麦克林生化科技有限公司)；ABTS<sup>+</sup>、过硫酸钾(上海阿拉丁生化科技股份有限公司)。

### 2.3. 主要仪器

Heraeus Megafuge 8R 高速冷冻离心机, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; Varioskan LUX 多功能酶标仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器, 河南予华仪器有限公司; MFJ-W317 粉碎机, 北京利仁科技有限责任公司。

### 2.4. 试验方法

#### 2.4.1. 茶多酚标准曲线

以没食子酸为标准品, 参考张秀芬等[12]的测定方法绘制没食子酸标准曲线。通过拟合所得线性回归方程为  $y = 0.0101x + 0.0786$ ,  $R^2 = 0.9978$ , 表明标准曲线具有良好的线性关系。

#### 2.4.2. 茶多酚提取率的测定

称取  $0.5 \pm 0.001$  g 茶叶粉末样品于锥形瓶中, 按一定液料比加入乙醇, 封口后在一定的超声温度下, 处理一定的时间, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液定容至 25 mL, 得到提取物母液, 取 1 mL 提取物母液定容至 100 mL, 得到样品待测液。每个实验重复三次, 茶多酚的提取率见式(1):

$$\text{茶多酚提取率} = (c \times V \times n) / (m \times 10^6) \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $c$  为提取液中茶多酚的浓度,  $\mu\text{g/mL}$ ;

$V$  为茶多酚提取液母液体积, mL;

$n$  为稀释倍数;

$m$  为茶粉质量, g。

#### 2.4.3. 茶多酚提取的单因素试验

以茶多酚提取率为评价指标, 通过单因素实验探究各因素对茶多酚提取率的影响。准确称取  $0.5 \pm 0.001$  g 万源富硒红茶, 在超声功率为 360 W 下, 对不同乙醇浓度(30%、40%、50%、60%、70%)、液料比(10:1、15:1、20:1、25:1、30:1 mL/g)、超声时间(20、30、40、50、60 min)、超声温度(30℃、40℃、50℃、60℃、70℃)进行考察, 研究其对茶多酚提取率的影响。

#### 2.4.4. 响应面试验优化茶多酚提取工艺

在单因素实验的基础上, 选取对茶多酚提取率影响较大的因素, 根据 Box-Behnken 设计原理, 以茶多酚提取率为响应值, 分析三因素之间的相互作用, 优化万源富硒红茶茶多酚的提取工艺, 试验因素及水平见表 1。

**Table 1.** Response surface test factors and levels

**表 1.** 响应面试验因素及水平

水平	因素		
	A 乙醇浓度/%	B 超声温度/℃	C 超声时间/min
-1	30	50	40
0	40	60	50
1	50	70	60

### 2.5. 数据分析

所有实验数据重复三次, 数据记录的方式为平均值 $\pm$ 标准差。利用 SPSS Statistics 27.0 分析实验数据,

采用单因素(ANOVA)检验法,分析单因素显著性差异。利用 Design-Expert 11 分析实验数据,采用 Box-Behnken 响应面试验法,对万源富硒红茶茶多酚的提取工艺进行优化。利用 Origin 2021 绘图。

### 3. 结果与分析

#### 3.1. 单因素试验

##### 3.1.1. 乙醇浓度对茶多酚提取率的影响

不同的乙醇浓度对茶多酚提取率影响如图 1 所示。由图 1 可知,随着乙醇浓度的增加,茶多酚提取率在乙醇浓度为 30%~40%时缓慢增加,且当乙醇浓度为 40%时,提取率最大为 13.70%,显著高于其他乙醇浓度( $P < 0.05$ )。在乙醇浓度为 40%~70%时,茶多酚提取率有所下降,原因可能是由于随着乙醇浓度的不断增加,使杂质溶出度增加,导致茶多酚的提取率降低。所以,最佳的乙醇浓度为 40%。

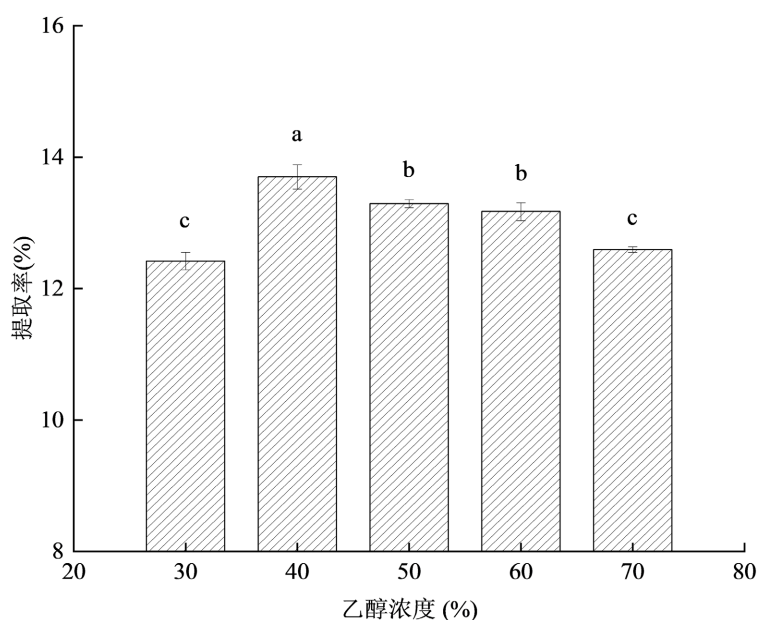


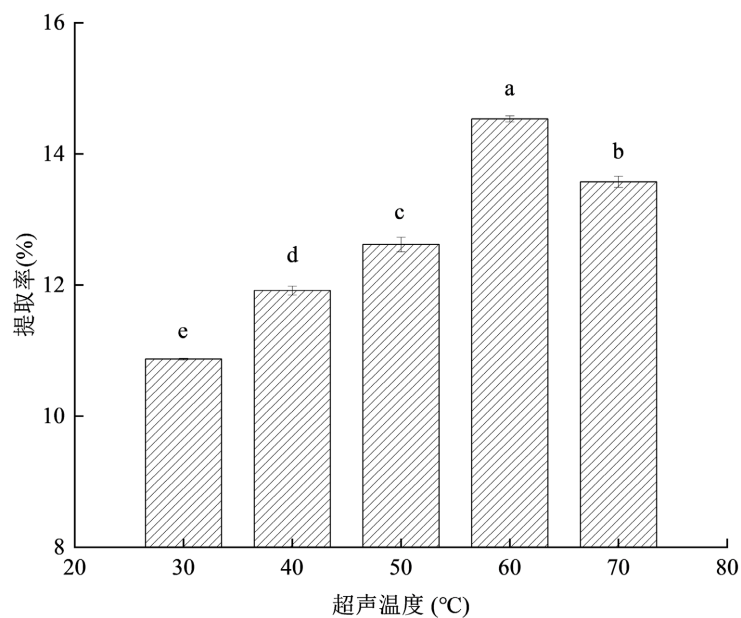
Figure 1. The effect of ethanol concentration on the extraction rate of tea polyphenols  
图 1. 乙醇浓度对茶多酚提取率的影响

##### 3.1.2. 超声温度对茶多酚提取率的影响

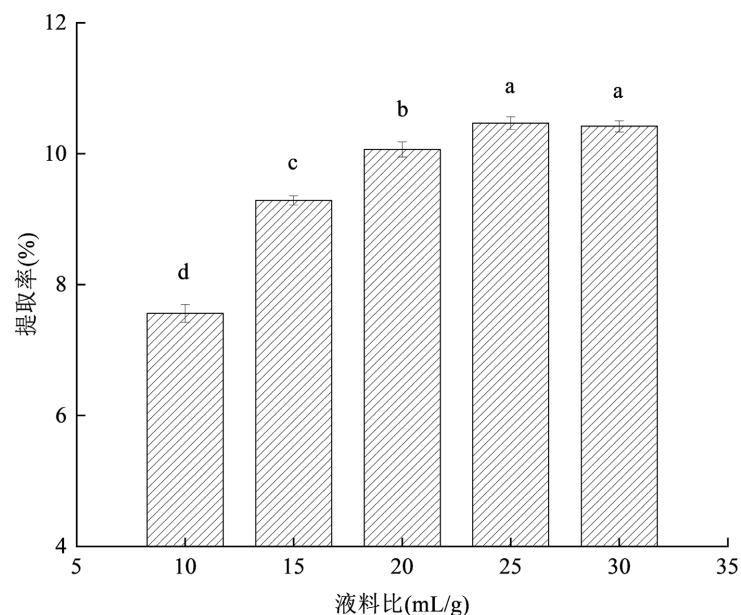
不同的温度对茶多酚提取率影响如图 2 所示。由图 2 可知,温度对茶多酚提取率的影响具有双重效应,随着超声温度的升高,茶多酚的提取率在超声温度为 30℃~60℃时逐渐增加,且当超声温度为 60℃时,提取率最大为 14.53%,显著高于其他超声温度( $P < 0.05$ )。在超声温度为 60℃~70℃时,茶多酚提取率有所下降,原因可能是由于高于最适温度后,高温使杂质溶出,杂质与多酚类物质与乙醇分子竞争性结合,从而导致提取率降低。所以,最佳的超声温度为 60℃。

##### 3.1.3. 液料比对茶多酚提取率的影响

不同的液料比对茶多酚提取率影响如图 3 所示。由图 3 可知,随着液料比的增加,茶多酚提取率在液料比为 10:1~25:1 mL/g 时逐渐增加,且当液料比为 25:1 mL/g 时,提取率最大为 10.47%,显著高于除 30:1 mL/g 以外的液料比( $P < 0.05$ )。在液料比为 25:1~30:1 mL/g 时,茶多酚提取率有所下降,原因可能是由于随着乙醇溶液的增加,提取率不断增加,达到饱和时,乙醇溶液的增加对提取率的影响程度会减弱。所以,最佳的液料比为 25:1 mL/g。



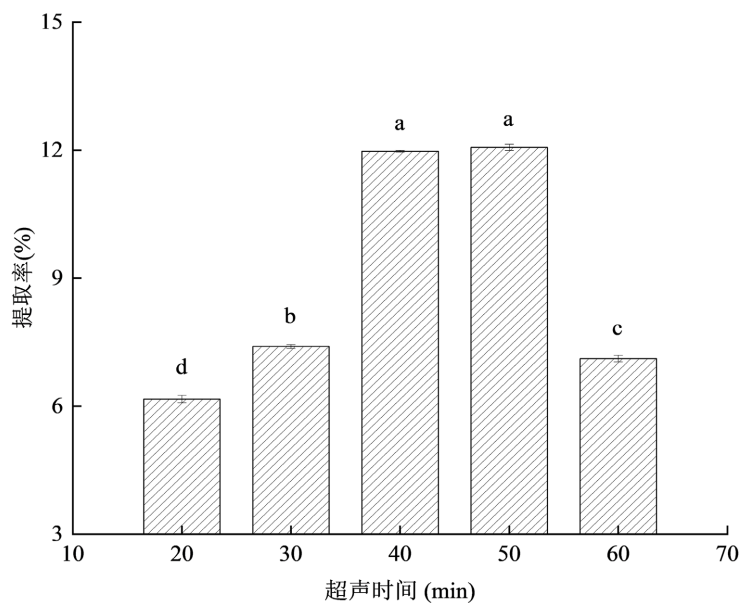
**Figure 2.** The effect of ultrasonic temperature on the extraction rate of tea polyphenols  
**图 2.** 超声温度对茶多酚提取率的影响



**Figure 3.** The effect of liquid-material ratio on the extraction rate of tea polyphenols  
**图 3.** 液料比对茶多酚提取率的影响

#### 3.1.4. 超声时间对茶多酚提取率的影响

不同的超声时间对茶多酚提取率的影响如图 4 所示。由图 4 可知，随着超声时间的增加，茶多酚的提取率在超声时间为 20~50 min 时逐渐增加，且当超声时间为 50 min 时，提取率最大为 12.06%，显著高于除 40 min 以外的超声时间 ( $P < 0.05$ )。在超声时间为 50~60 min 时，茶多酚提取率有所下降，原因可能是由于提取后期醇溶性杂质也被提取出来，从而导致提取率的降低。所以，最佳的超声时间为 50 min。



**Figure 4.** The effect of ultrasonic time on the extraction rate of tea polyphenols  
**图 4.** 超声时间对茶多酚提取率的影响

## 3.2. 响应面试验的优化

### 3.2.1. 响应面试验

根据对单因素试验的分析, 采用 Box-Behnken 响应面试验法研究乙醇浓度、超声时间、超声温度三个因素之间的相互关系, 并使用 Design-Expert 11 软件进行数据处理, 进行茶多酚提取工艺优化, 响应面试验设计方案及结果见表 2。

**Table 2.** Response surface test design scheme and results

**表 2.** 响应面试验设计方案及结果

试验号	A 乙醇浓度/%	B 超声温度/°C	C 超声时间/min	茶多酚提取率/%
1	-1	-1	0	9.49
2	1	-1	0	11.40
3	-1	1	0	10.01
4	1	1	0	10.98
5	-1	0	-1	9.68
6	1	0	-1	10.97
7	-1	0	1	9.84
8	1	0	1	10.83
9	0	-1	-1	11.19
10	0	1	-1	11.53
11	0	-1	1	10.33
12	0	1	1	10.88
13	0	0	0	16.58

Continued

14	0	0	0	16.20
15	0	0	0	16.16
16	0	0	0	16.17
17	0	0	0	16.10

### 3.2.2. 方差分析

使用 Design-Expert.V11.1.0.1 软件分析表 2 中的数据, 得到茶多酚提取率( $Y$ )对自变量乙醇浓度( $A$ )、超声温度( $B$ )、超声时间( $C$ )的回归方程:

茶多酚提取率( $Y$ ) =  $16.24 + 0.6435A + 0.1234B - 0.1865C - 0.2368AB - 0.0734AC + 0.0544BC - 3.21A^2 - 2.56B^2 - 2.70C^2$ 。通过回归模型方差分析检验方程的有效性。

**Table 3.** ANOVA for the regression model

**表 3.** 回归模型的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	117.54	9	13.06	161.85	<0.0001	***
A-乙醇浓度/%	3.31	1	3.31	41.06	0.0004	***
B-超声温度/°C	0.1217	1	0.1217	1.51	0.2590	
C-超声时间/min	0.2781	1	0.2781	3.45	0.1057	
AB	0.2243	1	0.2243	2.78	0.1394	
AC	0.0216	1	0.0216	0.2672	0.6211	
BC	0.0119	1	0.0119	0.1470	0.7128	
A <sup>2</sup>	43.47	1	43.47	538.68	<0.0001	***
B <sup>2</sup>	27.59	1	27.59	341.85	<0.0001	***
C <sup>2</sup>	30.71	1	30.71	380.58	<0.0001	***
残差	0.5649	7	0.0807			
失拟项	0.4179	3	0.1393	3.79	0.1153	not significant
净误差	0.1470	4	0.0367			
总和	118.11	16				

注: \*\*\*差异极显著( $P < 0.001$ ); \*\*差异较显著( $P < 0.01$ ); \*差异显著( $P < 0.05$ )。

**Table 4.** Equation correlation coefficients

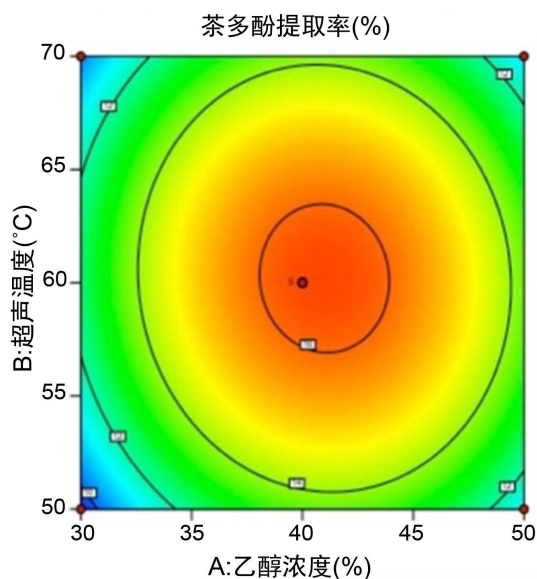
**表 4.** 方程相关系数

项目	Std.Dev.	Mean	C.V.%	PRESS
数值	0.2841	12.25	2.32	6.92
项目	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	Predicted R <sup>2</sup>	Adeq Precision
数值	0.9952	0.9891	0.9414	31.1029

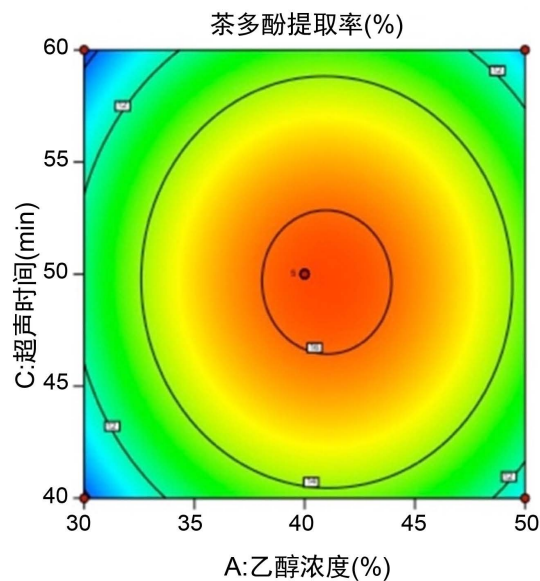
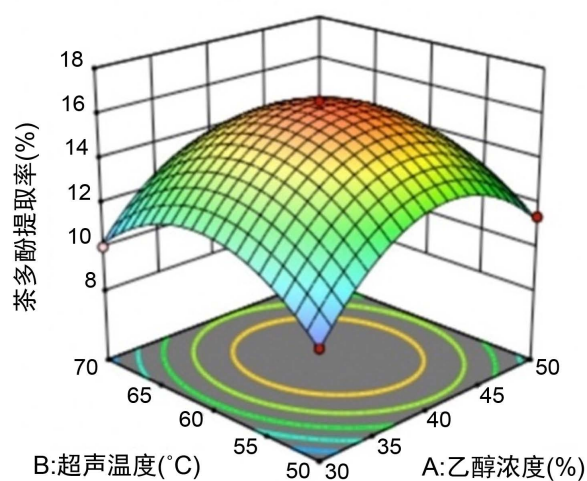
由表 3 可知, 模型的  $P < 0.0001$ , 表明此模型极具显著性。失拟项  $P > 0.05$ , 表明模型相对误差小。由表 4 可知, 模型的  $R^2$  (决定系数)、Adjusted  $R^2$  (校正决定系数)、C.V.% (变异系数) 分别为 0.9952、0.9891、2.32%, 说明模型的重复性和拟合性较好。所以, 此模型可靠, 可用于分析预测。其中, 乙醇浓度对提取率的影响极其显著( $P < 0.001$ ), 超声温度和超声时间对提取率的影响不显著( $P > 0.05$ )。所以, 对茶多酚提取率影响因子为乙醇浓度 > 超声时间 > 超声温度。

### 3.2.3. 响应面交互作用

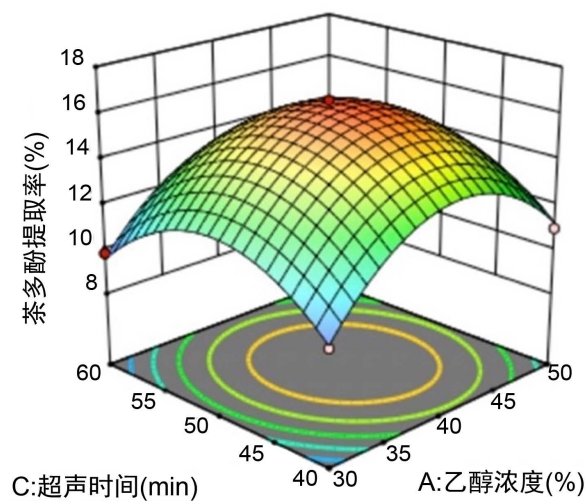
等高线图和响应面曲面图能够预测和检验响应值与自变量之间的关系。由图 5 可知, AB、AC、BC 的等高线图都近似圆形, 说明两者交互作用对万源富硒红茶茶多酚的提取率的影响均不显著( $P > 0.05$ )。



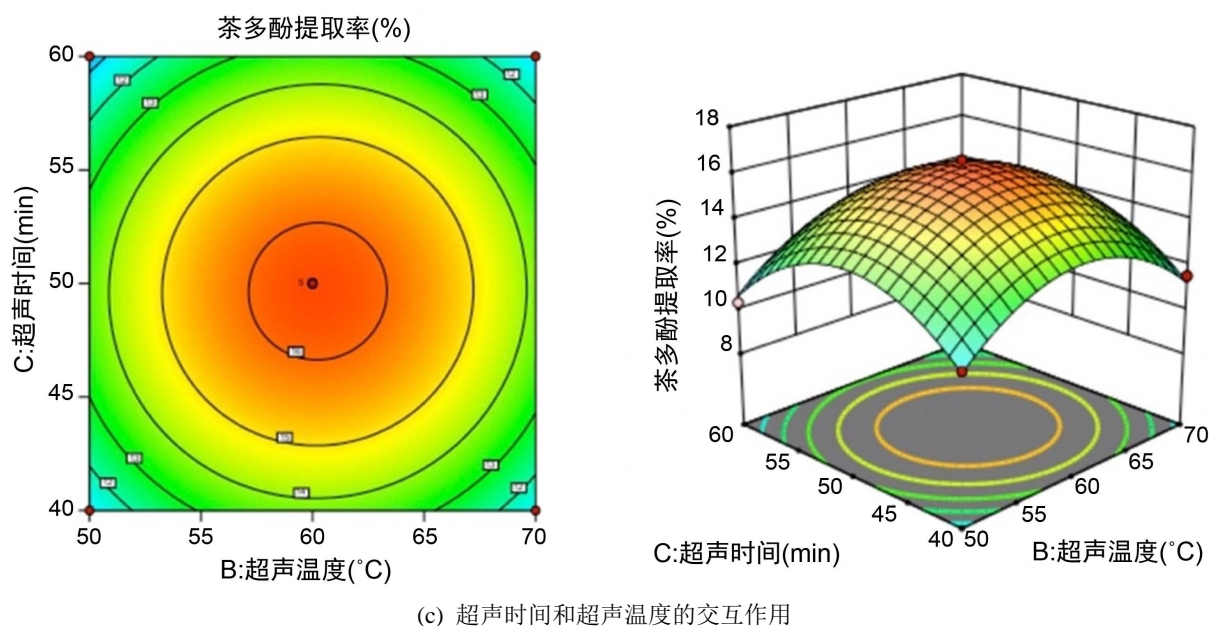
(a) 超声温度和乙醇浓度的交互作用



(b) 超声时间和乙醇浓度的交互作用







**Figure 5.** The contour line and response surface plot of the interaction of each factor  
**图 5.** 各因素交互作用的等高线和响应面图

### 3.2.4. 提取工艺优化及验证实验

通过响应面试验得出最佳条件为：乙醇浓度 40.99%，超声温度 60.19℃，超声时间 49.64 min。所以，考虑实验的经济性与可行性，最佳工艺条件调整为：乙醇浓度 41%，液料比 25:1 mL/g，超声温度 60℃，超声时间 50 min，超声功率 360 W，此时的提取率可以达到 16.28%。在此最佳工艺条件下进行了验证实验，茶多酚的提取率为 16.12%，与预测值的偏差为 0.16%，表明该模型能够很好地预测实际提取率，具有可行性。

## 4. 结论

- 1) 以万源富硒红茶为原料，研究了乙醇浓度、液料比、超声温度、超声时间对茶多酚提取率的影响。
- 2) 在单因素试验基础上，利用响应面分析法优化了万源富硒红茶中茶多酚的提取工艺条件，最佳工艺条件：乙醇浓度 41%，液料比 25:1 mL/g，超声温度 60℃，超声时间 50 min，此时的茶多酚提取率可以达到最大值为 16.12%，研究显示百色红茶在最佳工艺条件下多酚提取率仅为 5.51% [13]，可见采用该工艺，能够有效提取万源红茶中茶多酚，为万源红茶的进一步推广提供理论依据。

## 基金项目

达州市科技计划项目(21ZDYF0022)，特色植物开发研究四川省高校重点实验室项目(TSZW2101)。

## 参考文献

- [1] 雷绵森, 刘学艳, 杨坚. 滇红茶研究进展及展望[J]. 茶叶通讯, 2023, 50(2): 159-165.
- [2] 徐燕, 朱创, 邵玲玲, 等. 红茶化学成分及生理活性的研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(5): 687-696.
- [3] 张勋. 万源富硒黄茶加工工艺及制茶品质评价[D]: [硕士学位论文]. 雅安: 四川农业大学, 2020.
- [4] 卫春会, 吴尧, 薛康, 等. 发酵型柑橘红茶酒发酵工艺研究及挥发性成分分析[J]. 保鲜与加工, 2023, 23(2): 51-59.
- [5] 牛云蔚, 马一玮, 肖作兵, 等. 红茶特征香气成分的鉴定及感知交互作用[J]. 食品科学, 2023, 44(6): 292-300.
- [6] 潘婉舒, 胡先强, 张正义, 等. 基于 HS-SPME-GC-MS 和 PLS-DA 分析不同季节早白尖红茶挥发性风味物质[J].

- 食品工业科技, 2023, 44(1): 277-283.
- [7] 刘仲华, 黄建安, 龚雨顺, 等. 茶叶功能成分的健康作用研究新进展[J]. 中国茶叶, 2021, 43(9): 1-11.
- [8] 王燕. 日照绿茶茶多酚提取物抗氧化性研究[D]: [硕士学位论文]. 烟台: 烟台大学, 2020.
- [9] 丁东晴, 申懿玲, 杜晶, 等. 黑茶多酚提取工艺及对鲜切苹果品质影响[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(4): 129-134.
- [10] 袁佩颖, 杨潇剑, 吴振威, 等. 信阳毛尖茶残次品中茶多酚提取工艺优化及抗氧化性研究[J]. 天津农业科学, 2022, 28(10): 54-59+72.
- [11] Li, H., Guo, H., Luo, Q., *et al.* (2021) Current Extraction, Purification, and Identification Techniques of Tea Polyphenols: An Updated Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **61**, 11-19.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1995843>
- [12] 张秀芬, 何文, 谢君锋, 等. 辣木茶多酚的提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 化学与生物工程, 2019, 36(4): 37-41.
- [13] 洗丽清, 黄东滨, 秦高燕, 等. 百色红茶多酚的提取工艺优化及抗氧化, 抑菌活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2022(4): 18-27.