

·中药制剂与分析·

## 响应面设计试验法优化复方药茶饮料提取工艺参数

肖作为<sup>1</sup>,陈光宇<sup>1</sup>,葛云鹏<sup>1</sup>,谭 琥<sup>1</sup>,陈子硕<sup>1</sup>,罗 堃<sup>1,2</sup>,彭思源<sup>1</sup>,何 群<sup>1,2\*</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南 长沙 410208;2.湖南省药学“十二五”重点学科,湖南 长沙 410208)

**[摘要]** 目的 优选复方药茶饮料的最佳提取工艺,为工业化生产提供依据。方法 采用福林酚法测定药茶中茶多酚的含量并作为评价工艺的指标,响应面设计试验法优选复方药茶饮料最优提取工艺参数,单因素考察提取次数。结果 药茶粉碎成20目,92℃热浸法提取2次,第1次加水量为药茶量的16倍,提取时间25min;第2次加水量为药茶量的12倍,提取时间25min。结论 按此工艺制备复方药茶饮料可最大限度的保存茶香,提取工艺科学、合理、可行。

**[关键词]** 复方药茶饮料;响应面设计试验法;福林酚法;茶多酚;热浸法

**[中图分类号]** R284.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.11.015

### Optimization of Extraction Process of Compound Herb Tea Drink by Response Surface Methodology

XIAO Zuwei<sup>1</sup>, CHEN Guangyu<sup>1</sup>, GE Yunpeng<sup>1</sup>, TAN Hu<sup>1</sup>, CHEN Zishuo<sup>1</sup>, LUO Kun<sup>1,2</sup>, PENG Siyuan<sup>1</sup>, HE Qun<sup>1,2\*</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine; 2. The 12 th Five-Year Plan Key Subject of Pharmacy in Hunan Province, Changsha, Hunan 410208, China)

**[Abstract]** **Objective** To optimize the extraction process of Compound Herb Tea Drink, provide the basis for industrial production. **Methods** The tea polyphenols in tea as the evaluation index was determined by Folin phenol method. The extraction parameters of Compound Herb Tea Drink were optimized by the response surface design method, and the extraction times were investigated by single factor. **Results** The herb tea is crushed into 20 meshes, 92℃ hot dipping method for 2 times. The amount of water for first time is 16 times of tea, extraction time for 25 min. The amount of water second time is 12 times of tea, extraction time for 25 min. **Conclusion** According to the preparation process of c Compound Herb Tea Drink can get the most of keeping the smell of tea, and the extraction process is feasible, scientific and reasonable.

**[Keywords]** Compound Herb Tea Drink; response surface methodology; Folin-phenol reagent method; tea polyphenol; hot dipping method

黑茶是六大茶类之一,属后发酵茶,尤其以湖南安化黑茶全国闻名<sup>[1]</sup>。野尖茯砖黑茶是黑茶中的一种高档品种,具有降脂、降胆固醇、抗氧化及降血脂的作用,茯砖茶提取物具有治疗腹泻的作用<sup>[2-5]</sup>。茶中的多酚类、茶多糖类、茶皂素类、氨基酸生物碱类和无机元素等皆具有保健功能,茶多酚(Tea polyphenols, TP)又名茶丹宁、茶鞣质,是从茶叶中提取出来的一种生物活性物质,以儿茶素类为主,由大约30种酚性物质组成的羟基酚类化合物<sup>[6]</sup>。随着社会经济的发展

人民生活水平的提高,具有天然、方便、健康、快捷等特点的茶饮料产品受到消费者的欢迎和青睐,已成为国际软饮料市场上的生力军。

本课题研制的复方药茶饮料系以黑茶为主,加入金银花等药材以增强降血压、降血糖、降胆固醇、抗氧化及降血脂的作用,药茶结合,为生活节奏快的人群提供能够方便饮用含有中药的复方药茶饮料保健食品。前期研究曾采用单因素和正交设计试验法提取复方药茶饮料,但发现中药材提取的常规

**[收稿日期]** 2016-05-06

**[基金项目]** 湖南中医药大学校企合作科研项目(50010026);湖南省科技厅软科学研究计划(2013ZK3006);湖南省教育厅一般项目(12C0257);湖南省教育厅科研项目(13c671);湖南省“中药学”重点学科资助(湘教通[2011]76号);湖南大学生创新课题(0110-0901002016)。

**[作者简介]** 肖作为,男,讲师,主要研究方向:中药保健食品研究与开发。

**[通讯作者]** \*何 群,女,教授,硕士研究生导师, E-mail: hequn88@126.com。

工艺不适用于提取药茶,因黑茶中茶香受热温度高、时间长很易损失,药茶的提取不但要求提取活性成分,更主要的是应设法保留茶香,提高口感。已知粉碎程度、提取次数、加水量、热浸温度、热浸时间参数的改变,对茶香损失影响很大,因处方中最易损失的成分是茶多酚,虽然茶多酚不是茶香的成分,但茶多酚的含量与茶香的含量成正相关<sup>[26]</sup>,可以代表制备过程中茶香的损失指标,故本试验以茶多酚含量为评价指标,采用响应面设计试验法优选减少茶多酚损失的工艺方法与参数。

## 1 材料

### 1.1 实验材料

野尖茯砖黑茶购于湖南安化茶厂;金银花、决明子购于隆回药材公司,仙草购于广东省进出口贸易公司(产地:印度尼西亚)。

### 1.2 仪器

PW135 型中草药粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司);LD 型电子天平(沈阳龙腾店子有限公司);HH-600 型三用恒温水箱(金坛市神科仪器厂);SP-756 型紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司);DW-F351 型超低温冷冻储存箱(中科美菱低温科技有限责任公司);HG53-P 型水分测定仪(瑞士,梅特勒-托利多仪器有限公司);LGJ-12 冷冻干燥机(北京松源华兴科技发展有限公司);YC-015 喷雾干燥仪(上海雅程仪器设备有限公司)。

### 1.3 试剂

BM0548 福林酚试剂(高纯,合肥博美生物科技有限公司);无水  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ (分析纯,广东汕头市西陇化工厂);其他试剂皆为分析纯;蒸馏水(自制)。

## 2 方法与结果

### 2.1 茶多酚的含量测定方法<sup>[7-8]</sup>

2.1.1 对照品溶液的配制 取没食子酸对照品 0.050 0 g,精密称定,用蒸馏水溶解并定容至 500 mL,摇匀,即得 0.098 6 mg/mL 没食子酸对照品储备液。

2.1.2 标准曲线的建立 分别移取 0.098 6 mg/mL 的没食子酸对照品溶液 0.50、1.00、2.00、3.00、4.00 和 5.00 mL 于 6 个 100 mL 的容量瓶中,加甲醇稀释并定容,分别配制成 4.93、9.86、19.72、29.58、39.44 和 49.30  $\mu\text{g/mL}$  的没食子酸对照品溶液,再分别移取 1 mL 对照品溶液和 1 mL 蒸馏水混合,加入 5 mL 0.2 mol/L 福林酚试剂。振荡 5 min 混匀,再分别加入 4 mL 7.5% 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,振荡 30 s,室温

反应 1 h 后,于 765 nm 处测定吸光值,以没食子酸浓度 C 对吸光度 A 作标准曲线,回归方程为  $A=0.010\ 3\ C+0.001\ 1$  ( $r=0.998\ 8$ ),说明线性关系良好。

2.1.3 供试品溶液的制备 (1)0.2 mol/L 福林酚试剂:精密吸取 10 mL 福林酚试剂转移到 100 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容并摇匀;(2)7.5% 碳酸钠(质量浓度)溶液:称取 37.50 g 碳酸钠加适量蒸馏水溶解并转移至 500 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容并摇匀;(3)药茶液的制备:分别移取 3 mL 提取液于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度;(4)测试液的制备:分别取适量药茶液,用 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤,取 1 mL 滤液于 100 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,摇匀,备用。

2.1.4 含量的测定 分别移取没食子酸对照品溶液、蒸馏水及供试液各 1.0 mL 于 10 mL 刻度试管内,在每个试管中分别加入 5.0 mL 的 0.2 mol/L 福林酚试剂,摇匀,反应 3~8 min 内,加入 4.0 mL 7.5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液,加蒸馏水定容至刻度,摇匀,室温下放置 60 min,在 765 nm 波长条件下用紫外分光光度计测定吸光度(A)。

### 2.2 响应曲面设计法优化药茶热浸法提取工艺参数

2.2.1 响应曲面工艺优化设计 采用 Box-Behnken 试验设计,以加水量(A)、热浸温度(B)、热浸时间(C)、粉碎程度(D)4 个影响因素为自变量,每个因素取 3 个水平,以 -1、0、+1 编码,以茶多酚含量为响应值,考察上述 4 种因素对复方药茶提取工艺的影响,试验因素水平及编码设计见表 1。依据因素水平表,分别测定不同条件下的茶多酚含量,结果见表 2。

表 1 复方药茶提取 Box-Behnken 设计试验因素水平及编码

因素	编码水平		
	-1	0	+1
加水量/倍数(A)	8	12	16
热浸温度/ $^{\circ}\text{C}$ (B)	90	95	100
热浸时间/min(C)	20	25	30
粉碎程度/目数(D)	20	60	100

2.2.2 模型的建立及显著性分析 利用 Design Expert 8.0 软件对表 2 试验数据进行二次回归拟合,得茶多酚含量(Y)对加水量(A)、热浸温度(B)、热浸时间(C)、粉碎程度(D)二次多项回归模型方程为: $Y=-74.510\ 68+2.608\ 63\times A+1.069\ 12\times B+0.660\ 31\times C+0.099\ 408\times D-0.027\ 625\times A\times B-5.125\ 00\times 10^{-3}\times A\times C-1.464\ 29\times 10^{-3}\times A\times D+6.000\ 00\times 10^{-4}\times B\times C-$

表2 复方药茶提取 Box-Behnken 设计试验结果

列号	A	B	C	D	茶多酚含量(%)
1	8	95	30	60	2.03
2	16	100	25	60	2.15
3	12	95	30	100	1.82
4	12	90	20	60	2.29
5	12	100	25	20	2.79
6	8	95	25	100	2.72
7	12	95	20	20	2.12
8	12	95	20	100	2.15
9	8	100	25	60	2.55
10	16	95	20	60	3.45
11	16	95	30	60	3.12
12	16	90	25	60	3.83
13	8	95	25	20	1.94
14	8	90	25	60	2.02
15	12	95	25	60	2.68
16	16	95	25	20	3.69
17	12	90	30	60	2.53
18	8	95	20	60	1.95
19	16	95	25	100	3.65
20	12	90	25	100	2.48
21	12	100	20	60	2.31
22	12	100	25	100	2.27
23	12	90	25	20	2.59
24	12	100	30	100	2.61
25	12	95	30	20	2.38

$5.857 14 \times 10^{-4} \times B \times D - 8.428 57 \times 10^{-4} \times C \times D + 0.014 844 \times A^2 - 3.900 00 \times B^2 - 0.012 20 \times C^2 - 6.122 45 \times 10^{-5} \times D^2$ 。

由表3可知,实验选用的模型  $P = 0.0256 < 0.05$  具有显著性。从回归方程各项方差的进一步检验也可知,一次项中影响显著因素为A,二次项中A、B的偏回归系数达极显著水平。模型精度为  $7.830 > 4$ ,说明模型具有一定的精密度。综上所述,该模型的拟合程度比较好,试验误差小,可用此模型来分析和预测复方药茶提取工艺结果。

2.2.3 复方药茶提取工艺各因素对加强指数影响的曲面分析结果 利用 Design-Expert 8.0 软件对数据进行处理得到曲面分析结果(见图1),从回归方程各项方差的进一步检验也可看出,一次项中影响显著因素为A,二次项中A、B的偏回归系数达极显著水平。在所选的各因素水平范围内,按照对结果的影响排序:A>B>D>C,即加水量>热浸温度>粉碎程度>热浸时间。4个因素中,加水量与热浸温度之间具显著的交互作用。

2.2.4 复方药茶提取 工艺参数优化结果 采用

表3 回归模型方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
模型	6.607 0	14	0.471 9	3.527 0	0.025 6
A-加水量	3.718 0	1	3.718 5	27.79 4	0.000 4
B-热浸温度	0.093 6	1	0.093 6	0.699 8	0.422 4
C-热浸时间	0.004 0	1	0.004 0	0.030 1	0.865 6
D-粉碎程度	0.014 7	1	0.014 7	0.109 9	0.747 1
AB	1.221 0	1	1.221 0	9.126 4	0.012 9
AC	0.042 0	1	0.042 0	0.314 1	0.587 5
AD	0.168 1	1	0.168 1	1.256 4	0.288 5
BC	0.000 9	1	0.000 9	0.006 7	0.936 3
BD	0.042 0	1	0.042 0	0.314 1	0.587 5
CD	0.087 0	1	0.087 0	0.650 5	0.438 7
A2	0.159 3	1	0.159 3	1.190 4	0.300 8
B2	0.026 8	1	0.026 8	0.200 6	0.663 8
C2	0.262 6	1	0.262 6	1.963 2	0.191 4
D2	0.015 9	1	0.015 9	0.118 7	0.737 6
残差	1.337 9	10	0.133 8		
综合	7.945 0	24			
精度		7.830			

程序 Design-Expert 8.0 软件对方程 Y 求解,得到复方药茶提取的最优工艺参数为:加水量 15.6 倍,热浸温度  $91.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,热浸时间 25.39 min,粉碎程度为 20 目,理论茶多酚含量应达到  $4.08\text{ mg/mL}$ 。

2.2.5 验证试验结果 对工艺所得到的优化条件进行微调:加水量 16 倍,热浸温度  $92\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,热浸时间 25.4 min,粉碎程度为 20 目,采用上述优化的复方药茶饮料提取工艺参数重复试验 3 次,实际测得茶多酚平均含量为  $4.25\text{ mg/mL}$ ,与理论值相接近,所以基于响应曲面法所得到的优化提取工艺参数准确可靠。

### 2.3 复方药茶提取次数的单因素试验

取药茶 20 目粗粉 3 份,每份 100 g,每份热浸温度皆为  $92\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,第 1 份加水量 16 倍,热浸时间 25.4 min,提取 1 次,过滤,得提取液;第 2 份第 1 次提取加水量 16 倍,热浸时间 25 min,第 2 次提取加水量 12 倍,热浸时间 25 min,合并 2 次提取液;第 3 份第 1 次提取加水量 16 倍,热浸时间 25 min,第 2 次提取加水量 12 倍,热浸时间 25 min,第 3 次提取加水量 8 倍,热浸时间 25 min,合并 3 次提取液。每次提取液制备 3 份供试品溶液,测定各份供试品溶液中茶多酚的含量,结果见表 4。

由表 4 结果可知,提取 2 次茶多酚累计值占总数的 90.99%,两次转移率达到 90%以上,故药茶提取 2 次基本达到要求。

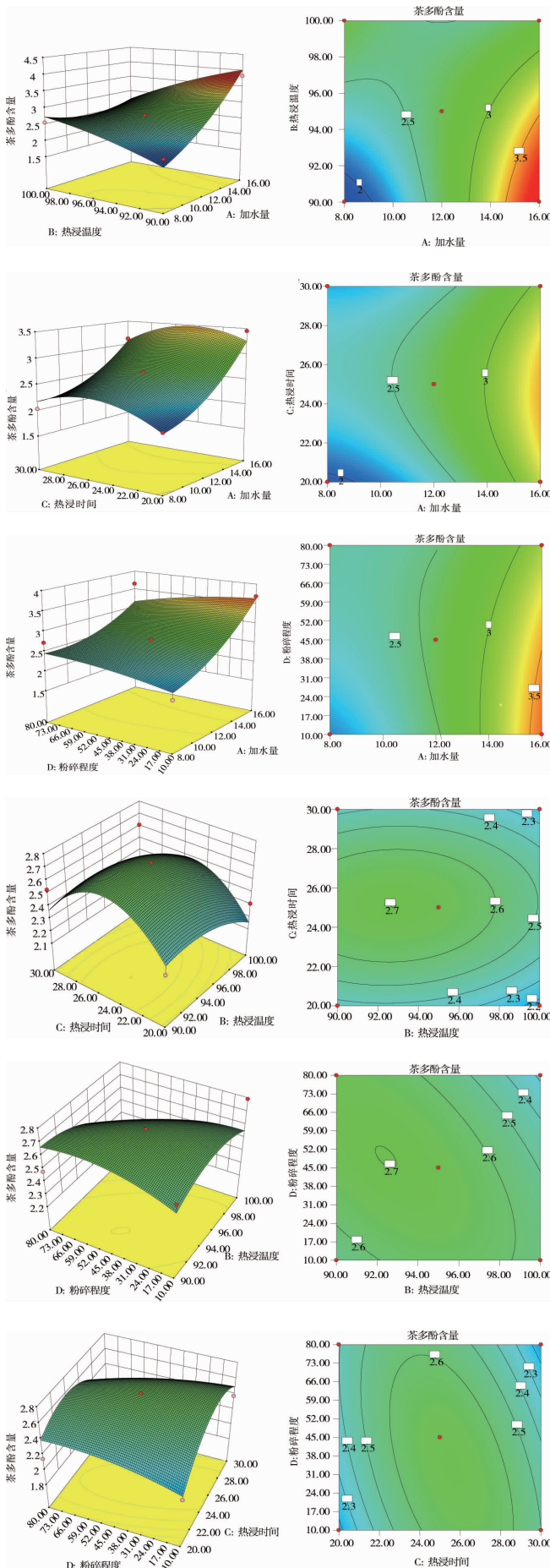


图 1 两两因素交互作用对茶多酚含量影响的曲面图(左)和等高线图(右)

表 4 各次药茶提取液的茶多酚含量

提取次数	茶多酚含量(mg/mL, n=3)		
	平均值	各次占百分比(%)	累计值
1	9.163	52.69	52.69
2	6.661	38.30	90.99
3	1.569	9.010	100.0

### 3 小结与讨论

3.1 复方药茶提取工艺研究思路是以速溶茶制法<sup>[9-10]</sup>为参照,虽然处方中含有金银花等药材,但不能按药材提取常用方法提取药茶,否则,茶香损失太多,口感很差,无实用价值和实际意义。

3.2 保健食品需长期服用,制备工艺应以提高使用者顺应性为主要目的,故评价指标以口感为主,兼顾有效成分含量,茶多酚虽然不是茶香的成分,但茶多酚的含量与茶香的含量成正相关,可以代表制备过程中茶香的损失指标,比选择金银花中的绿原酸作为评价工艺的指标更具有代表性。

3.3 本项研究表明,复方药茶粉碎成 20 目,提取 2 次,第 1 次加 16 倍量水,92 ℃热浸 25 min,第 2 次加 12 倍量水,热浸 25 min,不断搅拌,合并滤液定容。可最大限度地保留茶香,工艺科学、合理、可行。

### 参考文献:

- [1] 严英怀,林杰.茶文化及品茶艺术[M].成都:四川科学技术出版社,2003:35.
- [2] 黄怀生,田杰.茯砖茶研究进展[J].福建茶叶,2008,30(1):9-10.
- [3] 杨抚林,邓放明,赵玲燕,等.茯砖茶发花过程中优势菌的研究进展[J].茶叶科学技术,2005(1):4-7.
- [4] 傅东河,刘仲华,黄建安,等.高通量筛选研究茯砖茶降脂减肥功效[J].茶叶科学,2006,26(3):209-214
- [5] 傅东河,刘仲华,黄建安,等.高通量筛选研究茯砖茶对 FXR 的作用[J].食品科学,2007,28(5):331-334.
- [6] 刘勤晋,司辉清,钟颜麟,等.黑茶营养保健作用的研究[J].中国茶叶,1994(6):36-37.
- [7] 中国国家标准化管理委员会.GB/T8313-2008 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S].北京:中国标准出版社,2008:3-5.
- [8] 罗堃,何群,葛云鹏,等.Folin-Ciocalteu 比色法测定安化黑茶中茶多酚的含量[J].湖南中医药大学学报,2013,33(5):65-74.
- [9] 谈鸿斌,颜伟民.速溶茶粉的生产[J].食品工业科技,1999,20(3):50-51.
- [10] 沈放,路斌,全向荣,等.生产工艺对速溶普洱茶粉品质的影响[J].食品研究与开发,2010,31(3):32-34.

(本文编辑 苏维)