**实验四 茶多酚的提取与精制工艺实验**

**实验目的：**

1）了解茶多酚的性质及用途；

2）了解植物天然产物的常规提取及精制方法；

3）通过实验操作掌握并熟悉茶多酚的提取与精制的方法及其操作原理及步骤；

4）掌握提取精制过程中茶多酚的分析检测方法及产品中儿茶素的分析检测方法。

**实验原理：**

茶多酚是茶叶中30多种多酚类物质的总称，含量约占茶叶干物质总量的20％～30％。茶多酚分子中带有多个活性羟基（－OH），可终止自由基链式反应，清除超氧离子，类似SOD之功效，其效果优于维生素E和维生素C。茶多酚还有抑菌、杀菌作用，能有效降低大肠对胆固醇的吸收，防止动脉粥样硬化，是艾滋病毒（人类免疫缺陷病毒HIV）逆转录酶的强抑制物，有增强机体免疫能力，并具有抗肿瘤、抗辐射、抗氧化、防衰老机理。茶多酚安全、无毒，是食品、饮料、药品及化妆品的天然添加成分。目前茶多酚已在医药、饮料、食品、保健等行业中广泛应用。

由于茶多酚易溶于热水，因此本实验首先用热水在一定温度下将茶多酚从茶叶中提取出来；再用对茶多酚具有很好选择性的有机溶剂对其进行萃取分离；最后将茶多酚萃取液通过真空浓缩、真空干燥得到茶多酚精品。

**操作方法：**

1. 浸提 称取20g过20目的茶叶末，加入500ml90℃的热水，在恒温水浴锅中90℃温度下浸提40分钟（不时搅拌），用脱脂棉过滤得茶叶浸提液。
2. 萃取 加入1gNaHSO3至浸提液中，然后用0.9倍体积的乙酸乙酯萃取3次，每次萃取时间为3min，合并萃取液。
3. 洗涤 加入0.6g维生素C至萃取液体积0.4倍的水中，用柠檬酸调节水溶液的PH=2.5~3.0,等分成两份对乙酸乙酯萃取液洗涤两次。
4. 蒸发浓缩 将洗涤后的乙酸乙酯相在60℃下真空蒸发回收乙酸乙酯，待浓缩成膏状物时，加入膏状物2倍体积的无水乙醇洗涤挂在壁上的物料，继续浓缩成稠的膏状物。
5. 干燥 将膏状物放入真空干燥箱中，在60~90℃下进行真空干燥，在前1～2h内将物料搅动几次，当物料干燥成粉状或干的块状时，结束干燥。干燥时间一般在4～8小时。
6. 包装保存 将干燥好的茶多酚产品转移至自封塑料袋中，称重、取样后立即密封，置入棕色玻璃干燥器中于室温下避光保存。

**产品中儿茶素含量的分析检测方法**

1. 原理 儿茶素是多酚类物质的主要成分。儿茶素和香夹兰素在强酸性条件下，生成橘红色到紫红色的产物，红色的深浅和儿茶素的含量呈一定的正相关关系，该反应不受花青苷和黄铜苷的干扰。实验证明香夹兰素是儿茶素的特异显色剂且显色灵敏度高，最低检出量可达0.5μg。
2. 步骤与方法

ⅰ）供试液的制备：称取0.25g茶多酚产品置于25ml容量瓶中，用95％乙醇定容至25ml为供试液。

ⅱ）吸取10μl供试液，加入装有1ml95％乙醇的带刻度的试管中，摇匀，再加入1％香夹兰素盐酸溶液5ml，加塞后摇匀呈红色，放置40分钟后，立即进行比色测定吸光度（A），

ⅲ）另以1ml乙醇加5ml1％香夹兰素盐酸溶液作空白对照。在波长500nm处，用0.5cm比色杯测定（注：如用1cm比色杯测定，需将测得的吸光度值除以2）。根据实验得知当测得吸光度值等于1.00时，被测液的儿茶素含量为145.68μg。因此，测得的任意吸光度只要乘以145.68即可得被测液中儿茶素的量（μg）。

ⅳ）结果计算 按下式计算儿茶素的总含量



**注意事项：**

1. 茶多酚对酸、碱、热、光等敏感，因此在提取精制过程中温度不能太高，时间不能过长，整个提取精制过程最好连续进行。
2. PH值调节要准确，茶多酚在PH值为3～5范围内比较稳定，因此在提取精制过程中应注意茶多酚溶液的PH值。
3. 真空蒸发浓缩时要控制好水浴温度，以避免加热温度过高造成茶多酚的氧化。