

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 茶飲料工廠廢棄茶渣中 ECG 與 EGCG 之製備

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC91-2626-B-041-002-

執行期間：91年08月01日至92年07月31日

執行單位：嘉南藥理科技大學生物科技研究所

計畫主持人：葉東柏

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫涉及專利或其他智慧財產權，1年後可公開查詢

中 華 民 國 92 年 10 月 30 日



## 一、中文摘要

關鍵詞：茶渣 兒茶素類 有機肥料

本計畫乃針對於國人飲茶風氣盛行，每年茶飲料工廠所產生之茶渣量相當可觀。如能將相當量的兒茶素類物質（特別是 ECG 及 EGCG）進行回收，以提高茶葉之附加價值以及國際競爭能力，並減少環境污染及對於生物成長之抑制作用。本研究採用 47% 食用酒精萃取茶飲工廠之廢棄茶渣可有效的回收相當可觀的兒茶素類物質，再經管柱層析及半製備式高效層析可以得到純度達 95% 的精製半成品。而經去除兒茶素類物質之二次殘渣則進一步加以有效利用，除直接作為花卉栽培用之基材外，本研究更配合調整 C/N 比及添加其他廢棄材料(包括豆渣及蔗渣)的情況下試行 107 天的發酵程序以製作有機肥料。經三週的小白菜成長試驗，顯示廢棄茶渣所作成的堆肥的確有顯著的促進生長的效果。

## 二、英文摘要

Keywords: tea wastes catechins fermentation  
This study is based on the prevalence of tea drinking in our country, and there are thousands tons of tea wastes are produced from the factories each year. In the wastes of tea, there are still large quantity of catechins (especially EGCG & ECG) remained. In this study, we extracted first the residual catechins from tea wastes obtained from industry with 47.5% ethanol. The gallyl ester forms of the catechins; such as ECG and EGCG was isolated further by large scaled column and semi-preparative HPL chromatographies. The retreated tea residue then was used for growth of vegetable after being fermented further with or without exogenous bacteria in the presence or absence of bagasse or soybean dregs to increase its digestibility and fertilizing activities. On the other hand, this study is also significant in preventing the contamination of tea residue to the soil and increasing the economic competition in the world.

## 三、緣由與目的

茶 (*Camellia sinensis*) 是古今中外非常普遍的天然保健飲料原材，台灣茶葉年產量在兩萬公噸以上<sup>(1)</sup>。我國罐裝茶飲料的產製，2001 年其銷售金額約為一百三十億元新台幣以上；估計每年茶飲料工廠所需茶葉約為四、五千公噸<sup>(2,3)</sup>。

廢棄之綠茶及烏龍茶茶渣中仍然含有相當量的兒茶素類物質，特別是沒食子酸酯類 (ECG 及 EGCG)<sup>(4,5)</sup> 如果能夠進行回收，再加以精製，應可做為食品(包括油製品等)之天然抗氧化劑或直接當做抗氧化食品之重要成份。以提高茶葉之利用率，增加經濟效益，並減少因不利植物生長而造成環境之傷害。本研究乃嘗試應用適當的吸附劑及層析介質，針對茶渣之二次萃取液做處理，希望能夠達到大量分離與製備的目的，以低成本回收有用的兒茶素類物質。

由於茶葉中富含無機元素，約佔乾重的 5-7%。而茶葉經兩次沖泡後，主要成份(鉀、磷、鈣及鎂元素)仍殘留達 1500-2000 ppm 以上，而微量及次微量元素亦多留存在殘渣中<sup>(6)</sup>。因此茶渣經酒精徹底去除兒茶素類物質之二次殘渣中理應仍含有多量的無機元素，本研究將對二次殘渣做進一步處理，以做成堆肥，應能更有效的被植物加以吸收與利用，由此將可以提高茶渣的利用價值。

## 四、研究方法

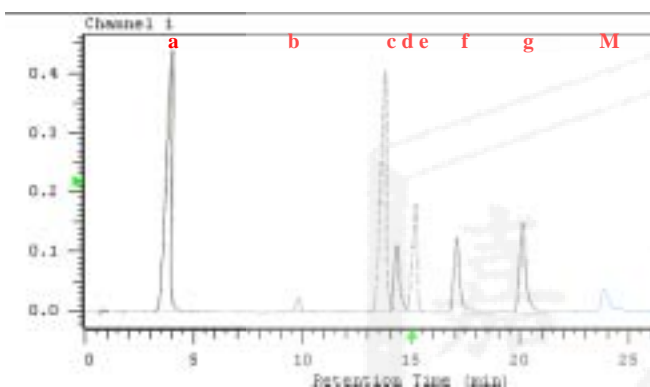
1. 本研究所用之茶渣，除部分為自行製備外，其他則直接來自統一公司新市廠。茶渣取回後直接進行 47.5% 食用酒精(購自隆田酒廠)萃取、分離與冷藏。
2. 兒茶素類物質之萃取分離、純化與鑑定：兒茶素類的單離乃利用 Sephadex gel(購自 Pharmacia)吸附法、RP-18 管柱常壓分離及製備式 HPLC (RP-18 管柱)，移動相所需之溶劑 (Methanol, acetonitrile 等) 購自 Merck。萃取液利用 HPLC 法進行兒茶素類及咖啡因含量的分析<sup>(8)</sup>。
3. 兒茶素類物質抗氧化能力：採用 TEAC 法<sup>(9)</sup>

測定。

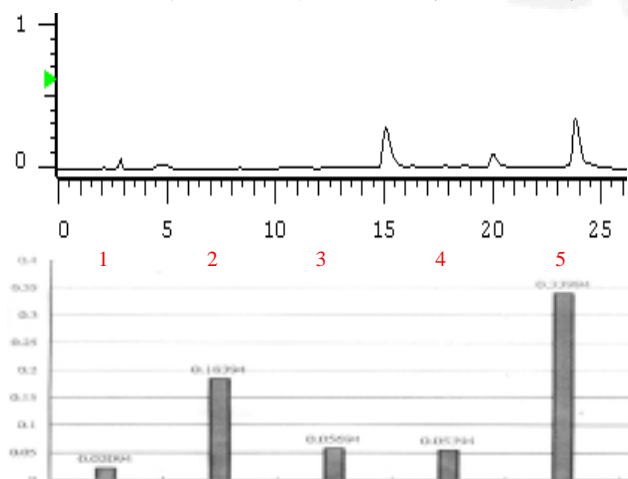
4. 二次茶渣之分析與再利用：需要的菌種包括溶磷菌及分解菌等，除向食品工業發研所購買外，部份則自行篩選。茶渣及二次茶渣送請國科會南部貴重儀器中心進行礦物質分析。茶渣經重新萃取所得之第二次殘渣，配合蔗渣與豆渣進行 C/N 比之調整，在不添加或添加溶磷菌等情況下以製備堆肥，再進行如小白菜之栽培試驗。(10,11)

## 五、結果與討論

### 1. 茶渣抽出液之分析



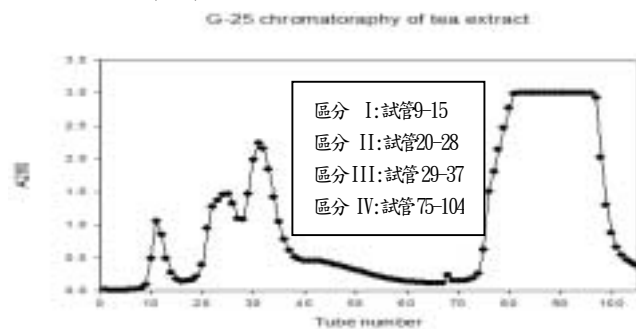
上圖為標準品之 HPLC (RP18, 0.45x250) 分析結果。a: gallic acid; b: EGC; c: caffeine; d: EGCG; e: EC; f: GCG; g: ECG; M: 甲醇洗出物。由甲醇洗出物波峰顯示有多量非極性物。下圖為茶渣抽出液之分析圖及抗氧化活性 (TEAC 值)。



上圖分別為 1: 50% MeOH; 2: EC; 3: 茶渣水抽; 4: 茶渣 23% 乙醇抽; 5: 茶渣 47% 乙醇抽的結果。2-5 的濃度均為 0.1mg/mL。

2. 茶渣抽出液之 Sephadex G-25 管柱處理  
茶渣抽出液之凍乾物，溶於水後注入 Sephadex

G-25 管柱進行吸附、水洗(I-III)，再以 47.5% 酒精溶出(IV)。



表一 烏龍茶湯之 Sephadex G-25 膠體吸附試驗 (0.5 克烏龍茶湯之毫克數)

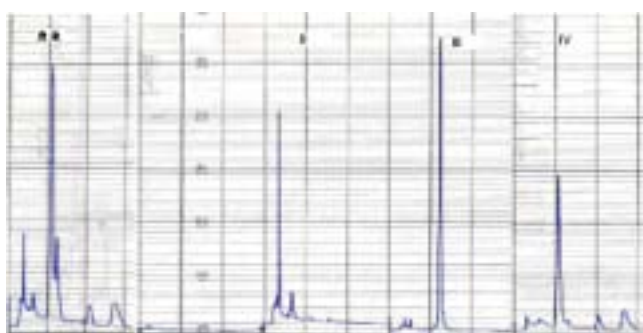
	GA	EGC	EGCG	Caff	ECG
原液	0.17	12.60	11.82	7.70	1.16
未吸 + 水洗	0.15	10.45	-	6.36	-
酒精水溶液	-	-	9.99	-	0.98
<b>Total</b>	<b>0.15</b>	<b>10.45</b>	<b>9.99</b>	<b>6.36</b>	<b>0.98</b>
<b>Yield (%)</b>	<b>90.5</b>	<b>82.9</b>	<b>84.5</b>	<b>82.6</b>	<b>84.5</b>

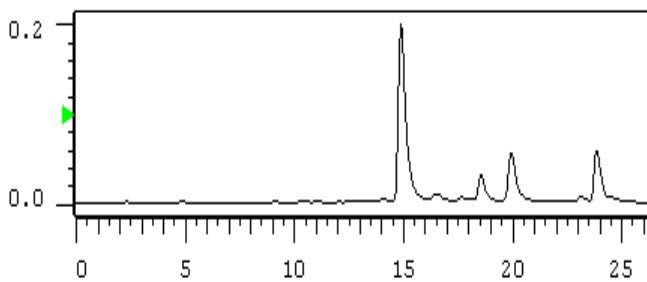
表二 烏龍茶渣萃取液之 Sephadex G-25 膠體吸附試驗

	GA	EGC	EGCG	Caff	ECG
原液 (毫克)(註)	0.47	15.54	48.58	6.64	6.03
未吸 + 水洗	0.39	15.51	-	5.98	-
酒精水溶液	-	-	39.34	-	5.03
<b>Total</b>	<b>0.39</b>	<b>15.51</b>	<b>39.34</b>	<b>5.98</b>	<b>5.03</b>
<b>Yields (%)</b>	<b>83.3</b>	<b>99.8</b>	<b>81.0</b>	<b>90.0</b>	<b>83.3</b>

註: 200 毫克烏龍茶渣萃取液凍乾物之水溶液

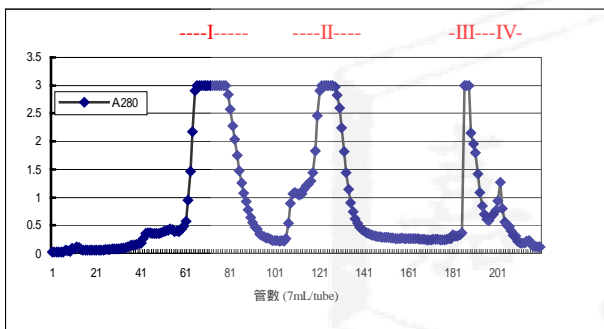
上圖及上表為茶渣抽出液經 Sephadex G-25 管柱分離的結果。下圖為處理後各區分(參見上圖)之 HPLC 層析圖。





### 3. 茶渣抽出液之 C18 管柱分離

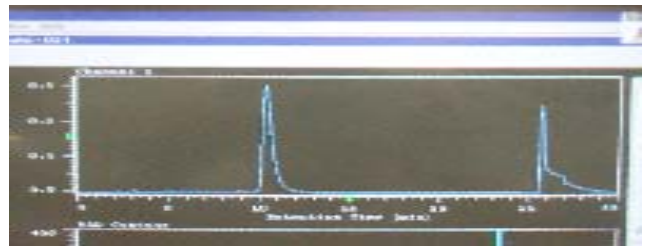
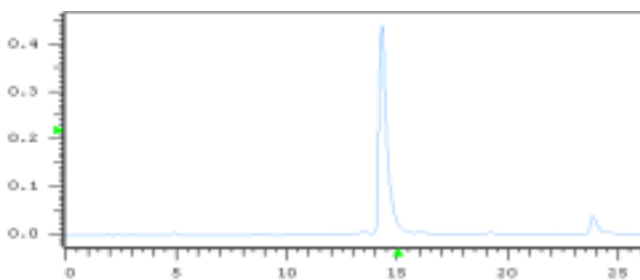
取 106 毫克上節所述之抽出液凍乾物，溶於 22.5% 之乙醇溶液後注入已平衡之 C18 管柱 (6x15cm)，再以 22.5% 之乙醇溶液溶離之，最後以 95% 乙醇溶液洗出(181 管之後)。結果如下圖。



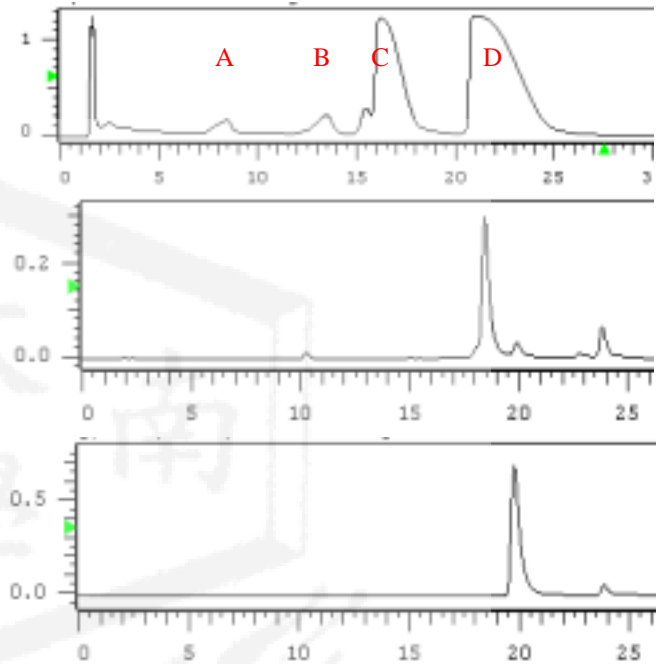
區分 I-IV 經收集凍乾後，稱重(表三)，再分別進行 HPLC 分析。其中區分 I 以兩種條件分析的結果如下圖，顯示所含成分為 EGCG，且純度已達 95% 以上。

表三 106 毫克烏龍茶渣萃取液凍乾物

Fraction	I	II	III	IV	未溶
From-to	63-88	118-136	186-200	201-206	-
Weight(mg)	44.7	18.9	21.3	3.1	9.3



由於區分 II 仍然含有兩個成分，故繼續以半製備式 HPLC (1x15cm) 分離之(下圖 1)。將最後兩個區分(C 及 D)收集並加以濃縮、凍乾，再分別進行 HPLC 分析(下圖 2, 3)。



由上圖 3 顯示所含成分為 ECG，且純度亦已達 95% 以上。

綜合以上的結果，本計畫原定純化 EGCG 與 ECG 的目標業已完成。為考慮此等產品可能用於做為食品添加物，且考量回收容易，故在製備時盡量以食用酒精為溶劑。今後將進一步探討如何提高分離效率並降低成本，以達商業化的目的。

### 4. 二次茶渣之堆肥化

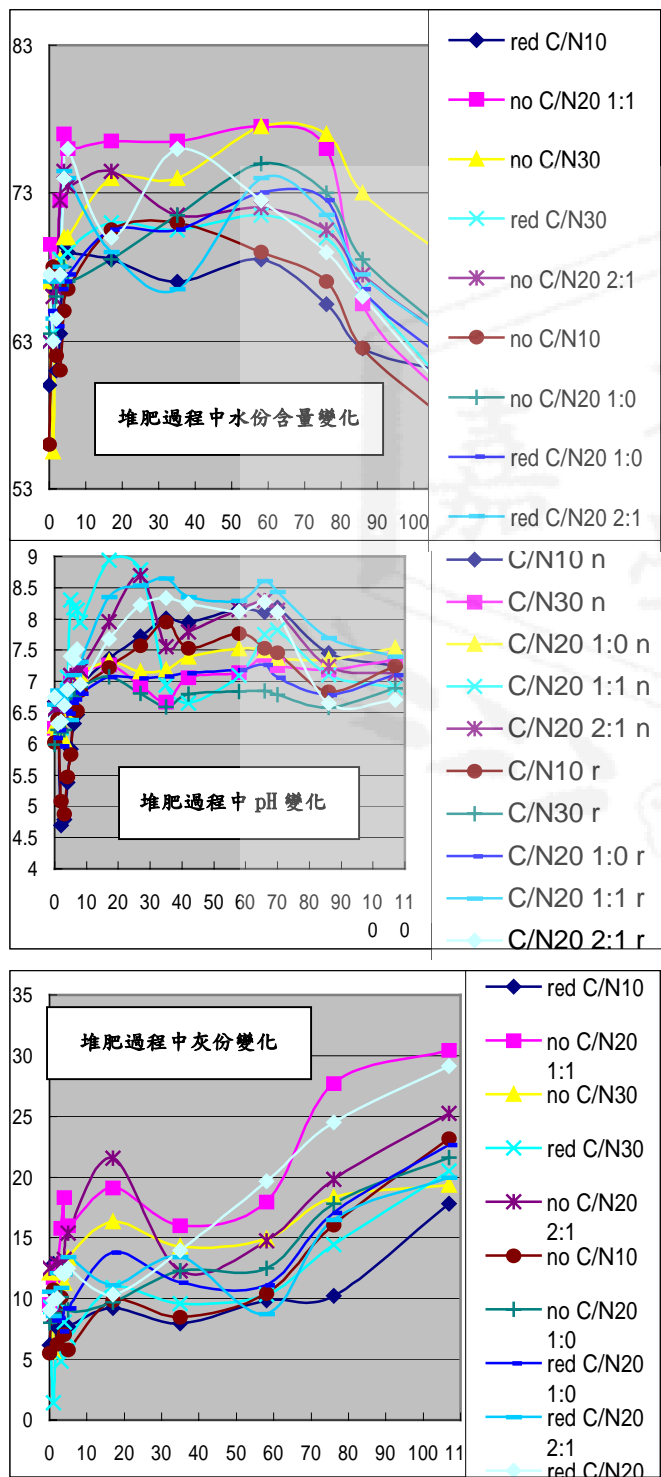
茶渣經酒精徹底去除兒茶素類物質之二次殘渣中，仍含有多量的無機元素，而且經元素分析顯示，該殘渣之 C/N 比為 12，頗適合堆肥的製作條件。故本研究乃針對二次殘渣做進一步處理，希望將之做成堆肥，並以種植小白菜來檢視堆肥的效率。

本研究使用之有機材料包括有經過再次處理的

茶渣、豆渣及蔗渣，堆肥前之配方依茶渣、豆渣及蔗渣不同的碳氮比估算調整堆肥前堆積物之 10、20 及 30 不同的碳氮比例(C/N)，而其中 C/N10 者之碳源全部為茶渣，C/N20 及 C/N30 者係以蔗渣調整，部分樣品添加豆渣(茶渣:豆渣比為 1:0, 1:1, 2:1 三種)，半數添加紅菌。

堆肥試驗程序內容如下：

原料→檢測→調配→堆肥化→監測→成品分析



由上圖顯示茶渣的堆肥化的確有在進行，包括水

分及 pH 值都能達到正常的範圍。不過，茶渣中之碳多以不溶性的多醣類(纖維素及半纖維素等)為主，導致完成發酵所需時間顯著較長。

## 5. 二次茶渣堆肥之栽培試驗

### I. 碳氮比例不同之影響

最左 :校園土壤

前排為對照組 (未發酵)(由左至右)

C/N10, 30, 20 1:0, 201:1, 20 2:1

後兩排(A)為接溶磷菌 (B)為不接菌

1.C/N10 處理

2.C/N30 處理

3.C/N20 1:0 處理

4.C/N20 1:1 處理

5.C/N20 2:1 處理



結果顯示：

- (1)二次茶渣堆肥化後明顯提升其肥力
- (2)碳氮比(C/N)為 10 及 20 者明顯優於 30 者
- (3)溶磷菌的添加沒有明顯效果

### II. 添加外生菌(包括本研究自行篩選具纖維素分解能力的紅菌及溶磷菌)之影響

碳氮比例分別為(C)C/N10 (D)C/N20

左為:校園土壤當作對照，實驗組由左至右

1. 沒加溶磷菌沒加紅菌
2. 有加溶磷菌沒加紅菌
3. 沒加溶磷菌有加紅菌
4. 有加溶磷菌有加紅菌



結果顯示:

- (1)二次茶渣堆肥確有提升小白菜生長能力
- (2)由每株平均乾重顯示,C/N10 者添加紅菌時較優於其他組。
- (3)外生菌的添加對於 C/N20 者有些效果

綜合以上的結果，二次茶渣堆肥化後明顯提升其肥力，且確有提升小白菜的生長能力。碳氮比例為 30 者所製備堆肥的肥力顯著偏低，原因可能是氮含量不足造成內生性菌的成長不良所致。至於添加外生菌(包括本研究自行篩選具纖維素分解能力的紅菌及溶磷菌)對於小白菜發芽與生長能力之影響雖有部分效果，但並未能有令人信服的結論，有待進一步的探討。

## 六、自評

1. 本計畫擬自廢棄茶葉中萃取可能對作物生長不利卻能作為食用或藥用的殘留兒茶素類物質。進而將 ECG 及 EGCG 加以純化，以作最有效之應用。最後再把二次茶渣經適當發酵程

序以製作成有機肥料。

2. 根據以上的數據顯示，本計畫預定的目標均已達成。而研究結果亦多與預期的藍圖一致。並將原為廢棄與污染物之茶渣做最有效的利用。
3. 將來預定探討如何提高分離效率並降低成本，期望將所得之高純度 EGCG 及 ECG 開發為食品級抗氧化劑或作為保健食品，並再延伸探討作為藥用之可行性。
4. 二次茶渣堆肥之生產與利用值得進一步探討，如能縮短產期亦具有相當大的發展潛力。

## 七、參考文獻

1. 廖慶樑(1999) 茶葉專訊，第 29 期，6-8
2. 阮逸明等(1995) 農特產品加工研討會專刊，61-72 頁。台灣省農林廳。台中。
3. 鄭正宏(1995) 農特產品加工研討會專刊，92-97 頁。台灣省農林廳。台中。
4. 葉東柏(1999)「機能性食品之研究與開發(一)--高單位羥自由基清除劑食品之研發」研發計畫報告(經濟部委託計畫 S187002)
5. Yeh, D. B. and Kuo, J. M. (1999) IFT's 1999 Annual Meeting. Paper #30 in Session 50A
6. 張鳳屏、楊光盛(1994) 台灣茶葉研究彙報 13, 121
7. 葉東柏、郭建民(1998) 藥物與食品分析 6(1), 47
8. 葉東柏等(1999) 中國農業化學會年會論文集 C40
9. Yu T. W. and Ong C. N. (1999) Anal. Biochem., 275:217-223, .
10. 楊盛行編(1998) “微生物與生物技術及農業生產”
11. 蔡宜峰、黃祥慶(1991) 台中區農推專訊 116 期