

马圣洲,吴琴燕,杨敬辉,等. 江苏丘陵地区 $\gamma$ -氨基丁酸茶适制性品种筛选[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):272-274.

# 江苏丘陵地区 $\gamma$ -氨基丁酸茶适制性品种筛选

马圣洲,吴琴燕,杨敬辉,张文文,陈宏州,庄义庆

(江苏丘陵地区镇江农业科学研究所,江苏句容 212400)

**摘要:**以江苏丘陵地区主栽的12个茶树品种为研究对象,对其夏季鲜叶原料谷氨酸脱羧酶活性、谷氨酸和 $\gamma$ -氨基丁酸含量做了对比分析。结果显示谷氨酸脱羧酶活性是影响茶叶 $\gamma$ -氨基丁酸富集效果的主要因素;福鼎大毫是本地加工 $\gamma$ -氨基丁酸茶的最佳选择,碧云、鸠坑、龙井长叶、龙井43及锡茶5号等几个品种次之。

**关键词:** $\gamma$ -氨基丁酸茶; $\gamma$ -氨基丁酸(GABA);谷氨酸脱羧酶(GAD);谷氨酸

**中图分类号:**TS272 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)08-0272-02

$\gamma$ -氨基丁酸(GABA)是一种非蛋白质氨基酸,广泛存在于自然界的动植物体内,是一种重要的抑制性神经递质,具有极强的生理活性<sup>[1-3]</sup>。20世纪80年代,日本研究者志田藤二郎等首先发现,将茶鲜叶经过一定时间的厌氧处理会产生大量的 $\gamma$ -氨基丁酸,以此加工成的绿茶具有显著的降血压效果,并将此茶命名为Gabaron Tea,即 $\gamma$ -氨基丁酸茶(含量在1.5 mg/g以上)<sup>[4]</sup>。

茶叶中的GABA主要是由“GABA支路”中的L-谷氨酸在L-谷氨酸脱羧酶(GAD)的催化作用下脱羧形成<sup>[5]</sup>。GAD是一种应激性酶,加工GABA茶时,一般通过厌氧、机械刺激等方式改变细胞质pH值来将其激活。有研究证明,人为厌氧处理过程中,茶叶GAD活性与其种质在自然状态下的GAD活性呈显著正相关<sup>[6]</sup>;因此,加工GABA茶应选择GAD活性强且谷氨酸含量高的茶树品种。例如在日本加工绿茶型GABA茶用的是数北种等绿茶品种,生产乌龙茶型和红茶型GABA茶则用红富士等茶树品种<sup>[7]</sup>。

近年来,GABA茶作为夏秋茶开发利用的新产品受到业内关注。江浙等名优绿茶产区,亦开始尝试用夏秋中低档鲜叶原料开发GABA茶,以提高其产品附加值,但生产上对适制性品种的选择尚存在盲目性。本试验以江苏丘陵地区主栽的12个茶树品种为研究对象,对其夏季鲜叶原料GAD活性、谷氨酸和GABA含量做了对比分析,旨在筛选出GABA茶的适制性品种,为后续GABA茶的生产提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 茶鲜叶

于2013年5月20日采自江苏省句容市张庙茶场茶园,品种为福鼎大毫、龙井长叶、龙井43、碧云、鸠坑、楮叶齐、乌牛早、锡茶5号、浙农113、浙农139、福云6号及安吉白茶(百叶茶1号)等12个品种,采摘标准为1芽2叶。

### 1.2 主要试剂和仪器

1.2.1 衍生试剂 准确称取150 mg OPA,加入3 mL甲醇溶解,加入27 mL 0.1 mol/L的四硼酸钠缓冲溶液(pH值9.5),最后加入0.5 mL  $\beta$ -巯基乙醇,混合均匀后,避光冷藏备用。

1.2.2 其他试剂 聚乙烯吡咯烷酮、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、磷酸吡哆醛均为分析纯,甲醇为色谱纯,哇哈哈饮用纯净水、谷氨酸及GABA标准品。

1.2.3 仪器 LC-15 HPLC(日本岛津),检测器为SPD-15C UV-VIS Spectrophotometric Detector(190~700 nm),色谱柱为Wondasil C<sub>18</sub>(4.6 mm×150 mm)。

### 1.3 方法

1.3.1 GAD活性测定 称取1 g鲜叶,加入0.5 g PVPP(聚乙烯吡咯烷酮)、少量石英砂和预冷的磷酸盐缓冲液(pH值5.8),在冰浴上研磨成均浆后定容至10 mL,4℃、10 000 r/min条件下离心15 min,上清液即为粗酶液。取2 mL 0.1%谷氨酸溶液(pH值5.8),加入1 mL 0.25 mmol/L PLP(磷酸吡哆醛)、2 mL粗酶液,对照以蒸馏水代替谷氨酸溶液。于40℃水浴反应2 h后,95℃处理5 min灭酶活。测定GABA含量(方法如“1.3.3”),以每30 min生成1  $\mu$ mol的GABA作为GAD的1个酶活单位(U)。

1.3.2 鲜叶GABA富集 将茶鲜叶用真空处理3 h后,在空气中摊晾2 h,再真空处理3 h后,用微波炉杀青。

1.3.3 茶叶中谷氨酸及GABA测定 将茶叶用105℃烘干至恒重后磨碎,按茶水比1:100的比例沸水浴浸提。采用OPA柱前衍生高效液相色谱法检测,衍生试剂与样品溶液按照1:1混合,经0.22  $\mu$ m针孔过滤器过滤后,进行高效液相色谱分析。色谱条件:流动相A为pH值5.0的磷酸缓冲溶液;流动相B为甲醇。检测波长为338 nm,柱温为35℃,流速1 mL/min,进样量为20  $\mu$ L。洗脱梯度如表1所示。

1.3.4 数据处理 采用DPS软件对试验数据进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同茶树品种适制性比较

对12个茶树品种的GAD活性(以鲜叶质量计算)、谷氨酸含量及GABA含量进行分析,结果显示不同茶树品种间的3项指标均存在显著性差异,方差分析及变异度分析结果分别如表2、表3所示。

收稿日期:2013-06-30

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[(编号:CX(13)5074)]。

作者简介:马圣洲(1982—),男,山东临朐人,硕士,工程师,主要从事茶叶加工及新产品开发。E-mail:markzhou983@163.com。

通信作者:庄义庆,博士,研究员,主要从事农业资源开发利用研究。

Email:yqzhuang@sina.com。

表1 洗脱梯度

时间(min)	流动相 A(%)	流动相 B(%)
0	90	10
27	56	44
35	10	90
39	10	90
40	90	10
45	90	10

表2 12个茶树品种的GAG活性、谷氨酸及GABA含量

品种	GAD活性 (U,以鲜叶计)	谷氨酸含量 (mg/g)	GABA含量 (mg/g)
福鼎大毫	2.93a	3.68a	0.08c
碧云	1.38b	2.93bc	0.08c
鸠坑	1.35b	3.15b	0.16a
龙井长叶	1.32b	3.21ab	0.08c
龙井43	1.19bc	3.34ab	0.10c
锡茶5号	1.08bc	3.05bc	0.12bc
浙农113	0.98bcd	2.88bc	0.09c
褚叶齐	0.83cd	3.26ab	0.10c
福云6号	0.63d	3.12bc	0.15a
乌牛早	0.63d	3.10bc	0.16a
浙农139	0.12e	2.65c	0.14ab
安吉白茶	0.10e	3.29ab	0.15ab

注:同列数据后不同小写字母表示 $P < 0.05$ 。

表3 12个茶树品种的GAG活性、谷氨酸及GABA含量变异度分析

项目	最大值	最小值	均值	标准差	CV(%)
GAD活性(U)	2.93	0.10	1.05	0.74	70.60
谷氨酸含量(mg/g)	3.68	2.65	3.14	0.26	8.22
GABA含量(mg/g)	0.16	0.08	0.12	0.03	27.55

2.1.1 品种间GAD活性比较 不同品种间的GAD活性存在显著性差异,变异度达70.60%。其中以福鼎大毫的2.93 U为最高,显著高于其他11个品种;碧云、锡茶5号等5个品种显著高于福云6号、安吉白茶等4个品种;安吉白茶最低,为0.10 U,与浙农139显著低于其他10个品种(表2)。GAD作为植物在逆境条件下的应激反应性酶,与抗逆性有关,安吉白茶酶活最低,其各方面抗性也最差;福云6号、浙农139等品种虽然抗寒抗旱性均强,但其抗病虫能力却相对较弱。可能是因为GAD活性与植物防御功能的相关性比抗寒抗旱性更强。

2.1.2 品种间谷氨酸及GABA含量比较 不同品种间的谷氨酸含量变异度只有8.22%,但仍然呈现出显著性差异。其中福鼎大毫谷氨酸含量最高,为3.68 mg/g,浙农139最低,为2.65 mg/g,其余10个品种的含量未达显著性差异(表2)。数据分析显示,不同品种间的GAD活性与谷氨酸含量呈正相关趋势,相关系数0.63。

不同品种间的GABA含量也存在显著性差异,以乌牛早和鸠坑的0.16 mg/g为最高,福鼎大毫、碧云等4个品种的0.08 mg/g为最低(表2),变异度为27.55%。GABA含量与GAD活性及谷氨酸含量相关性很小,且规律不明显,与此前有文献报道的呈显著正相关<sup>[6]</sup>不同。

## 2.2 品种间GABA富集效果比较

选择福鼎大毫、龙井长叶和安吉白茶等3个代表性品种,经过8 h间歇性厌氧富集处理,然后对其含量进行比较分析,结果如图1所示。

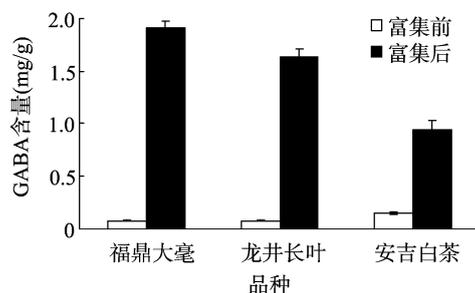


图1 富集前后GABA含量比较

经厌氧富集后,3个品种的茶叶GABA含量呈现出显著性差异( $P < 0.05$ )。福鼎大毫和龙井长叶的GABA含量分别为1.91 mg/g和1.63 mg/g,比富集前的鲜叶原料分别增长了22.8倍和19.5倍,而安吉白茶的GABA含量为0.94 mg/g,只增长了6.3倍。

3个品种鲜叶原料的谷氨酸含量没有显著性差异,安吉白茶鲜叶原料的GABA含量虽然显著高于福鼎大毫和龙井长叶,但富集后含量却最低。说明鲜叶原料中的GAD活性才是影响GABA富集效果的决定性因素,虽然品种间的鲜叶GABA含量相差可达1倍,但是由于其绝对含量非常低,对最终的富集效果影响不明显;而谷氨酸作为反应底物,其浓度影响反应的速度和进程。

## 3 结论

江苏丘陵地区以夏茶1芽2叶为原料的12个主栽茶树品种,福鼎大毫GAD活性高,谷氨酸含量也高,是加工GABA茶的最佳选择;碧云、鸠坑、龙井长叶、龙井43和锡茶5号等几个品种,GAD活性和谷氨酸含量相对也较高,也可以用来加工GABA茶。安吉白茶的谷氨酸和GABA含量都较高,在生产中经常被用来生产GABA茶,但本研究显示,其GAD活性太低,并不适合加工GABA茶。另外,实际生产中还要考虑茶类的适制性,例如笔者在试验中发现,龙井43夏秋季鲜叶更适合加工成GABA红茶,而非绿茶。

本研究中发现,GABA含量与GAD活性、谷氨酸含量相关性很小,且规律不明显,与此前有文献报道的呈显著正相关<sup>[6]</sup>不同。可能是由于取样茶树生长环境良好,GABA支路并未启动或者运行较少,GABA含量太低,还不足以表现出相关性。

此外,茶叶中的GAD活性及谷氨酸含量,除受茶树种质本身的影响外,还受到栽培条件及环境因素的影响<sup>[8-9]</sup>。如何通过农艺措施,提高茶树的GAD活性和谷氨酸含量,为生产GABA茶提供更优质的鲜叶原料也值得进一步探索。

## 参考文献:

- [1] Okada T, Sugishita T, Murakami T, et al. Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness, depression, autonomic disorder by oral administration[J]. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2000, 47(8): 596-603.

祝海娟,赵晨霞,张翌楠,等. 盐法提取大麦虫蛋白质的研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):274-276.

# 盐法提取大麦虫蛋白质的研究

祝海娟<sup>1</sup>, 赵晨霞<sup>2</sup>, 张翌楠<sup>2</sup>, 刘沐阳<sup>2</sup>, 彭旭嗣<sup>2</sup>, 霍卫东<sup>2</sup>

(1. 新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆乌鲁木齐 8430012; 2. 北京农业职业学院园艺系, 北京 102442)

**摘要:**采用盐提法提取大麦虫蛹中的蛋白质。以蛋白质提取率为评价指标,通过单因素试验研究了盐浓度、料液比、提取温度、提取时间对大麦虫蛹中蛋白质提取率的影响。在单因素试验基础上,通过正交试验优化提取工艺。结果表明:大麦虫蛹中蛋白质的最佳提取工艺条件为盐浓度 1.0 g/100 mL、料液比 1 g : 15 mL、提取温度 50 ℃、提取时间 2.0 h。在此条件下,通过 3 次验证试验所得蛋白质产品的粗蛋白质含量为 76.22%,蛋白质提取率为 53.74%。

**关键词:**大麦虫;蛹;蛋白质;提取率;优化

**中图分类号:** Q969.97 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0274-03

统计资料表明,全世界有 2/3 的人缺乏蛋白质,在人口急剧增长的趋势下,寻求新的蛋白质资源已成为摆在我们面前的一项迫切的任务。随着社会的发展,人们清楚地认识到,昆虫蛋白是一类极具开发潜力的蛋白质资源。一方面,它来源广泛、产量大、易于加工;另一方面,昆虫蛋白营养成分十分全面、均衡,是真正的纯天然蛋白<sup>[1]</sup>。因此,21 世纪昆虫蛋白是世界开发的重点,将成为微生物细胞之后的又一大类蛋白食品来源<sup>[2]</sup>。

大麦虫隶属于节肢动物门、昆虫纲、鞘翅目、拟步甲科、粉甲属<sup>[3-6]</sup>。大麦虫幼虫含蛋白质 51%,脂肪 29%,并含有多种糖类、氨基酸、维生素、激素、酶及矿物质磷、铁、钾、钠、钙等。长期以来,由于对大麦虫缺乏系统的研究,大麦虫基本作为低廉的动物饲料,未能得到充分和有效的利用。而蛋白类功能性食品的开发无疑是大麦虫深加工最值得探索的路径之一。但是要开发蛋白类功能性食品,首先要解决的就是蛋白质提取工艺问题。本研究以大麦虫蛹为原料,采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置脱除大麦虫蛹中脂肪后,采用盐提法提取大麦

虫蛋白质,通过单因素试验和正交试验确定蛋白质的最佳提取工艺条件,试图初步探索出一条大麦虫蛋白质提取的合理路径,为今后大麦虫的综合利用提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

1.1.1 材料 大麦虫蛹,由北京农业职业学院生物防治研究所资源昆虫研究室提供,在常规条件下饲养并适时取样。

D36 mm 进口透析袋(MW:8000-14000,5 m),购买于北京德诺奥生物科技有限公司。

1.1.2 试剂 氯化钠、氢氧化钠、浓盐酸、36%浓硫酸、五水合硫酸铜、硫酸钾、甲基红、溴甲酚绿、95%乙醇,均为市售分析纯。

### 1.2 仪器与设备

HA221-50-06 型超临界萃取装置(南通华安超临界萃取有限公司),FW135 型中草药粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司),DZF-6000 系列电热真空干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂),BS-124S 分析天平(北京赛多利斯科学仪器有限公司),NSKY-200B 恒温培养振荡器(上海苏坤实业有限公司),HR/T20MM 台式大容量高速冷冻离心机(湖南赫西仪器装备有限公司),JB-5 定时双向数显恒温磁力搅拌器(江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司),K-06 型全自动定氮仪(上海晟声自动化分析仪器有限公司),PP-50 Sartorius pH 计(北京赛多利斯科学仪器有限公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 大麦虫脱脂蛹粉制备 将大麦虫蛹进行冷冻处理以

收稿日期:2013-03-01

基金项目:北京市教育委员会科技发展计划(编号:KM200900005002);北京市农业科技项目(编号:20110115);北京市自然科学基金(编号:6122024);国家公益性行业科研专项(编号:200904025)。

作者简介:祝海娟(1987—),女,江苏如皋人,硕士研究生,研究方向为昆虫蛋白。E-mail:119333909@qq.com。

通信作者:赵晨霞,硕士,教授,研究方向为昆虫蛋白。E-mail:chenxiazhao@sina.com。

[2] Abe Y, Umemura S, Sugimoto K, et al. Effect of green tea rich in  $\gamma$ -aminobutyric acid on blood pressure of Dahl salt-sensitive rats [J]. American Journal of Hypertension, 1995, 8(1): 74-79.

[3] 王来仪.  $\gamma$ -氨基丁酸,受体药理学及对心血管活动的调节[J]. 心血管学报, 1991, 10(1): 46-49.

[4] 黄友谊, 杨 坚. 中国特种茶加工[M]. 北京:中国农业出版社, 2004: 271-272.

[5] Shelp B J, Bown A W, McLean M D. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid [J]. Trends Plant Sci, 1999, 4(11):

446-452.

[6] 黄亚辉. 茶树种质间谷氨酸脱羧酶活性差异[D]. 长沙:中南林业科技大学, 2010: 38-40.

[7] 竹内敦子, 泽井裕典, 深津修一. 茶叶中酸量嫌气处理的温度时间与影响[J]. 茶研报, 1994, 80: 13-16.

[8] 张 定, 汤琴琴, 陈 暄, 等. 叶面喷施氨基酸对茶叶中  $\gamma$ -氨基丁酸含量的影响[J]. 茶叶科学, 2006, 26(4): 237-242.

[9] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3 版. 北京:中国农业出版社, 2003: 132-166.