

马圣洲,赵 飞,吴琴燕,等. γ -氨基丁酸桑叶红茶开发研究[J]. 江苏农业科学,2016,44(6):393-395.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.06.115

γ -氨基丁酸桑叶红茶开发研究

马圣洲,赵 飞,吴琴燕,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:以采果后的果桑桑叶为原料,通过正交试验研究了桑叶含水率、处理温度以及厌氧/好氧交替次数对桑红茶 GABA 富集处理的效果;研究了加工过程中加入摇青处理后对桑红茶 GABA 含量和成茶感官品质的影响;考察了桑叶中 GABA 和多酚类物质含量随时间变化的规律及最适宜的采收时间。结果表明,以 7—9 月份采收的桑叶为原料,萎凋至含水率约 65%,然后在 30 ℃ 条件下厌氧/好氧交替处理 2 次,且每次厌氧前加 1 次轻摇青处理为最优工艺。

关键词:GABA;桑红茶;桑叶多酚

中图分类号:TS272.5⁺2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)06-0393-03

桑叶中含有多种对人体有益的功能性成分,其中含量丰富的 GABA (γ -氨基丁酸)是一种重要的抑制性神经传递物质,具有极强的降血压、镇静等生理活性。目前将 GABA 含量超过 1.5 mg/g 的茶称作 GABA 茶^[1-3]。已有研究报道,桑叶经过富集处理后 GABA 含量可达 5.02 mg/g,远超 GABA 茶的最低标准^[4]。

江苏丘陵地区的传统栽桑养蚕规模虽然逐渐减少,但是特色果树资源——果桑发展势头良好。事实上每年 5 月份桑果采摘结束后,大量的桑叶得不到任何利用,全部闲置浪费在田间。根据此现象,本试验即采用果桑鲜叶为原料,经过研

究加工技术去除桑叶绿茶所特有的青臭气与青涩味,制成口感较佳的 GABA 桑红茶,为桑叶资源利用、桑农增收提供新途径。

1 材料与方法

1.1 供试样品

供试桑叶于 2014 年 5—11 月采于江苏省句容市春城镇南山子村桑园,品种为台湾一号,叶位 2~7 片,均于晴朗天气上午 08:00—10:00 采摘。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 GABA 标准品、没食子酸标准品、双蒸酚、次氯酸钠、甲醇、乙腈、碳酸钠、福林酚、均为分析纯,纯净水(娃哈哈)。

1.2.2 主要仪器设备 紫外分光光度计 T6 新世纪(普析通用),6CR-35 茶叶揉捻机(浙江上洋机械有限公司),5B 红茶发酵机(安溪县永丰机械有限公司),微型粉碎机。

收稿日期:2016-03-11

基金项目:江苏省句容市科技创新专项资金(编号:NY2014029)。

作者简介:马圣洲(1982—),男,山东临朐人,硕士,助理研究员,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。

E-mail:yqzhuang@sina.com。

[10]高 峻,王应军,陈 颖,等. 桔梗资源的研究[J]. 中国医药指南,2012,10(34):421-423.

[11]周秀娟. 桔梗的质量研究[D]. 合肥:安徽中医药大学,2013.

[12]李文庭,祝 明,马临科,等. 桔梗的 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(22):50-53.

[13]罗夫来,郭巧生. 百蕊草矿质元素含量测定和主成分分析[J]. 中国中药杂志,2010,35(10):1226-1230.

[14]付绍智,王婷婷,高文远,等. 基于主成分分析的不同初加工方法大黄的蒽醌及酚酸类成分比较研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(5):833-837.

[15]汪云伟,钟 恋,焦小珂,等. 基于主成分及相关性分析的益母草综合质量评价[J]. 时珍国医国药,2014,25(7):1777-1779.

[16]安开龙,李德坤,周大铮,等. 不同干燥方法对五味子药材品质的影响[J]. 中国中药杂志,2014,39(15):2900-2906.

[17]曾 燕,郭兰萍,杨 光,等. 环境生态因子对药用植物皂苷成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(17):313-318.

[18]张 岩,曹国杰,张 燕,等. 黄酮类化合物的提取以及检测方法的研究进展[J]. 食品研究与开发,2008,29(1):154-158.

[19]Han S B, Park S H, Lee K H, et al. Polysaccharide isolated from the

radix of *Platycodon grandiflorum* selectively activates B cells and macrophages but not T cells[J]. International Immunopharmacology, 2001, 1(11):1969-1978.

[20]Yoon Y D, Kang J S, Han S B, et al. Activation of mitogen-activated protein kinases and AP-1 by polysaccharide isolated from the radix of *Platycodon grandiflorum* in RAW 264.7 cells[J]. International Immunopharmacology, 2004, 4(12):1477-1487.

[21]邹元锋,陈兴福,杨文钰,等. 不同种植区九寨刀党综合质量比较研究[J]. 中草药,2011,42(8):1600-1604.

[22]焦晓林,高微微. 环境因子对药用植物三萜皂苷合成影响的研究进展[J]. 中草药,2011,42(2):398-402.

[23]黄壮嘉,刘迪秋,葛 锋,等. 植物三萜皂苷生物合成中关键后修饰酶研究进展[J]. 西北植物学报,2014,34(10):2137-2144.

[24]徐文燕,高微微,何春年. 环境因子对植物黄酮类化合物生物合成的影响[J]. 世界科学技术:中医药现代化,2006,8(6):68-72.

[25]张铁军. 中药质量认识与质量评价[J]. 中草药,2011,42(1):1-9.

1.3 试验方法

1.3.1 GABA 富集处理 将桑叶萎凋至不同含水率,在不同温度下进行厌氧富集处理,以真空密闭厌氧 3 h 后解封摊晾 1 h 为 1 次交替处理,应用正交表 $L_9(3^4)$ 设计 3 因素 3 水平正交试验,条件设置见表 1,每个试验重复 3 次后取平均值。

表 1 GABA 桑红茶加工工艺正交试验设计

水平	因素		
	A:含水率(%)	B:温度(℃)	C:厌氧/好氧交替次数
1	55	5	1
2	65	30	2
3	75	40	3

1.3.2 摇青处理 在每次厌氧处理前将桑叶用摇青机轻摇 1 次,至青臭气强烈散发。

1.3.3 桑红茶加工 将桑叶揉捻 90 min 后置于红茶发酵机中发酵,根据本课题组其他试验结果,设置发酵温度 30 ℃、湿度 90%,发酵 4 h;120 ℃烘干 10 min,摊晾至室温后 105 ℃烘至足干,取样待测。

1.3.4 样品检测 GABA 含量检测参照冀宪领等的方法^[5];多酚含量测定参照 GB/T 8313—2008;感官审评,采用专家密码审评,由于桑叶不同于茶叶,没有既定的参照标准来做比较,故只选用评语法评价成茶品质。

2 结果与分析

2.1 不同富集处理对桑叶 GABA 含量的影响

GABA 富集的原理是对桑叶进行逆境处理,使鲜叶中的谷氨酸在谷氨酸脱羧酶作用下脱羧生成 GABA,其中研究和利用最多的是厌氧/好氧交替处理。而厌氧处理时鲜叶含水率、处理温度、时间及厌氧/好氧交替次数等都会影响桑叶中 GABA 的生成量。

由表 2、表 3 可知,处理温度是影响桑叶 GABA 的首要因素,其次是厌氧/好氧交替次数,桑叶含水率的影响最小,其中最优处理水平组合为 $A_2B_2C_3$ 。

表 3 GABA 桑红茶加工工艺正交试验方差分析

变异来源	平方和 (SS)	自由度 (df)	均方 (MS)	F 值	P 值	显著性
A:含水率(%)	3.65	2	1.82	0.09	0.91	
B:温度(℃)	37 341.28	2	18 670.64	963.78	0.001	**
C:厌氧/好氧交替次数	1 596.66	2	798.33	41.21	0.02	*
误差	38.74	2	19.37			
总和	38 980.33					

注:“*”表示差异显著($P<0.05$),“**”表示差异极显著($P<0.01$),下同。

综上所述,实际生产中桑叶 GABA 富集的最优处理为 $A_2B_2C_2$,即桑叶含水率 65%,在 30 ℃条件下厌氧/好氧交替处理 2 次为最优工艺。

2.2 摇青处理对富 GABA 桑茶品质的影响

摇青是乌龙茶加工过程中的关键步骤,目的是通过机械力损伤叶缘细胞,使茶叶内部发生一系列的理化变化,促进多酚类化合物的氧化、芳香化合物及香气前体物质的形成及青臭气的散失^[6]。而青臭气是大多数桑叶茶产品中的共有缺点,本试验将乌龙茶的摇青工艺引入到桑叶茶的加工中,并考察了摇青对桑茶 GABA 富集效果和感官品质的影响。

温度对桑叶 GABA 富集的影响达极显著水平,其中 5 ℃处理显著低于 30 ℃和 40 ℃水平的处理,但两者差异不显著,而且 40 ℃处理过程中容易造成桑叶发热劣变,所以最优水平为 30 ℃处理。

表 2 GABA 桑红茶加工工艺正交试验结果

处理	A:含水率 (%)	B:温度 (℃)	C:厌氧/好氧交替次数	GABA 含量 (mg/100 g)
$A_1B_1C_1$	55	5	1	124.21
$A_1B_2C_2$	55	30	2	288.13
$A_1B_3C_3$	55	40	3	293.36
$A_2B_1C_2$	65	5	2	148.41
$A_2B_2C_3$	65	30	3	295.23
$A_2B_3C_1$	65	40	1	266.18
$A_3B_1C_3$	75	5	3	161.24
$A_3B_2C_1$	75	30	1	263.33
$A_3B_3C_2$	75	40	2	281.27
k_1	705.70	433.86	653.72	
k_2	709.82	846.69	717.81	
k_3	705.84	840.81	749.83	
R	4.12	412.83	96.11	

厌氧/好氧交替次数对 GABA 富集的影响也达到显著水平。GABA 含量随着处理交替次数的增加而升高,但是 2 次和 3 次处理的结果差异已不显著,而且厌氧次数越多对桑茶品质带来的负面影响就越明显。因此,实际生产中最优选厌氧/好氧交替次数为 2 次。

桑叶含水率对 GABA 富集的影响最小,各水平间无显著性差异,由表 2 直观分析,桑叶含水率 65% 为最优水平。实际生产中,桑叶中的水分在 2 次厌氧/好氧交替处理过程中会有大量散失。初始含水率 55% 的桑叶会因为含水率过低而影响 GABA 的富集,也不利于后续的揉捻和发酵等;初始含水率 75% 的桑叶,在富集处理之后仍需将其摊晾含水率至 55% 才适于揉捻和发酵。因此实际加工过程中,以含水率约 65% 为最优水平。

由表 4 可知,和对照 CK 组相比经过摇青的桑叶茶中 GABA 含量有所上升。GAD 是一种逆境酶,植物在低温、厌氧及机械损伤等逆境条件下可激活酶促反应^[7]。摇青处理对桑叶造成轻微机械性损伤打破了底物和酶的区隔,促使两者接触;而且机械损伤会加速桑叶在厌氧状态下的无氧呼吸,加速细胞内部环境的酸化;同时,摇青的振荡作用促进了桑叶内部水分、物质的运输和重新分布,这些作用均有利于包括 GAD 等酶促反应的进行,从而提高了桑叶中 GABA 的含量。

感官品质方面,摇青处理的桑叶茶香气明显优于对照,特别是对桑茶所特有的“青臭气”具有明显的去除效果。这是

表 4 摇青对桑红茶 GABA 含量和感官品质的影响

摇青次数	GABA 含量 (mg/100 g)	感官审评
0(CK)	295.32a	汤色黄亮,香气清高略带青气,滋味甘鲜带青味
1	302.17ab	汤色黄褐明亮,香气清高,滋味鲜醇微有青味
2	321.33b	汤色黄褐明亮,香气清高略带甜香,滋味鲜醇有回甘

注:同列数据后的不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

因为摇青处理不但有利于低沸点青臭气物质的散失,促进生成高沸点香气物质及香气前体物质,而且摇青处理能促进蛋白质、多糖等大分子物质水解成氨基酸和水溶性糖,有利于茶汤浓厚度和回甘的形成。

2.3 不同采收时间对 GABA 含量及红茶品质的影响

桑叶中多酚类和 GABA 含量有着明显的季节性变化。由图 1 可知,从 5 月份到 10 月份,多酚类变化呈现“凸”字形变化,而 GABA 则与之相反呈“凹”字形变化。桑叶多酚含量最高点出现在 9 月 10 日(4.36%),而此时 GABA 的含量最低,只有 0.82 mg/g,10 月份随着气温和光照度的下降,多酚类物质含量开始大幅下降,而 GABA 含量明显上升到最高点 1.33 mg/g。这与茶叶中的茶多酚和游离氨基酸变化趋势相似,即随着气温的上升和光照的增强,桑树的碳素代谢加强而氮素代谢减弱,多酚类物质积累增加,而氨基酸类物质积累较少;反之,随着气温和光照的下降,多酚类积累减弱而氨基酸积累上升^[6]。而且试验地区秋季相对干旱少雨,容易给桑树造成干旱胁迫从而激活 GAD 酶促反应,使得 GABA 含量上升。

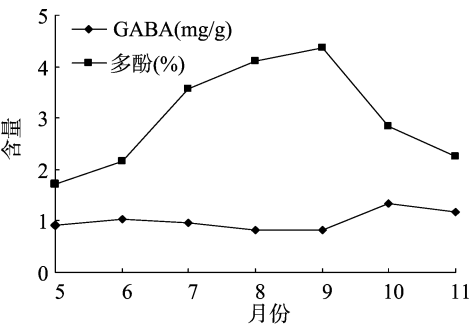


图1 不同时间桑叶 GABA 和多酚含量的变化

桑叶多酚是 GABA 桑叶红茶的主要保健内含成分之一,其含量过低会造成桑红茶发酵困难,成茶留有青味,而延长发酵时间后又容易造成滋味发酸,影响成茶的最终质量,因此选择合适的采收时间也是生产实际要考虑的问题之一。由表 5 可知,不同月份的桑叶经过富集处理后,成茶 GABA 含量均能超过 1.5 mg/g 的标准;而且其感官审评得分与多酚类含量成正相关,其中以 7—10 月桑叶加工红茶质量较好,其他月份桑叶均存在发酵困难的现象,不适合加工红茶。

3 讨论

试验结果显示,温度和厌氧/好氧交替处理次数是影响桑

表 5 采收时间对 GABA 桑红茶品质的影响

月份	GABA 含 量(mg/g)	多酚含 量(%)	感官审评
5	2.17	1.43	汤色黄亮,香气青鲜,滋味甘鲜有青味
6	2.33	1.86	汤色黄亮,香气清鲜,滋味甘鲜略有青味
7	2.14	3.04	汤色黄褐明亮,香气清高,滋味鲜醇
8	1.75	3.49	汤色红黄明亮,香气清高有甜香,滋味鲜醇有回甘
9	1.89	3.82	汤色红亮,香气清高有甜香,滋味鲜醇有回甘
10	3.18	2.51	汤色黄褐明亮,香气青高,滋味鲜醇
11	2.84	1.79	汤色黄亮,香气青鲜,滋味略有青味

叶 GABA 富集效果的主要因素。虽然低温胁迫也能激活 GAD 酶促反应,但是 GAD 的最适温度在 30~40℃ 之间,低温状态下酶促反应缓慢难以形成大量积累。试验显示厌氧/好氧交替处理次数以 2 次为宜,原因可能是随着处理时间的延长,桑叶中反应底物谷氨酸含量及 GAD 酶活性逐渐下降,造成 GABA 的富集效率降低;同时,处理次数越多耗费工时越多,而且会对桑茶品质造成不良影响。富集过程中加入摇青工艺,不但可以明显改善成茶的感官品质,同时还对 GABA 的富集起到积极作用。

采收时间方面,有研究报道桑树在 5 月份时多酚类和氨基酸含量均高^[5,8],但是本试验中的供叶品种为果桑,5 月份正是果实成熟期,果实多而叶少,可能树体营养优先供应果实,所以叶部 GABA 和多酚含量较低,待 6 月份采果完毕后枝叶大量萌发时才有可能回升。

因此综合考虑 GABA 含量及桑红茶品质的两面,认为最佳富集工艺为:以 7—9 月份桑叶为原料,萎凋至含水率约 65% 后,在 30℃ 条件下厌氧/好氧交替处理 2 次,而且每次厌氧前加 1 次轻摇青处理为最优工艺。

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.

[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. γ -氨基丁酸受体药理学及对心血管活动的调节[J]. 心肺血管报, 1991, 10(1): 46-49.

[4] 尹志亮, 毛平生, 王敏, 等. 桑叶中 γ -氨基丁酸的富集研究[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2009(3): 11-12.

[5] 冀宪领, 盖英萍, 陈恒文, 等. 桑叶中 γ -氨基丁酸含量的测定及其影响因素的研究[J]. 蚕业科学, 2007, 33(2): 176-180.

[6] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2007: 140-144, 251-253.

[7] Bown A W, Shelp B J. The metabolism and functions of γ -aminobutyric acids[J]. Plant Physiol, 1997, 115: 1-5.

[8] 沈维治, 廖森森, 邹宇晓, 等. 桑叶酚类物质的变化规律研究[J]. 中草药, 2010, 41(11): 1890-1892.