

低温处理对茶树叶片中 γ -氨基丁酸和其他活性成分含量的影响

夏兴莉, 廖界仁, 任太钰, 马媛春, 王玉花, 房婉萍, 朱旭君^①

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

Effect of low temperature treatment on contents of γ -aminobutyric acid and other active components in leaf of *Camellia sinensis* XIA Xingli, LIAO Jieren, REN Taiyu, MA Yuanchun, WANG Yuhua, FANG Wanping, ZHU Xujun^① (College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2020, 29(5): 75-77

Abstract: Taking leaf of *Camellia sinensis* (Linn.) Kuntze 'Longjing 43' as research material, variations of contents of γ -aminobutyric acid (GABA) and other active components in leaf were analyzed after 4 °C low temperature treatment for 0 (CK), 3, 6 and 9 h. The results show that after 4 °C low temperature treatment for different times, there is a certain degree of change in contents of GABA, water extracts, free amino acids, tea polyphenols and catechins in leaf, while no significant variation in contents of caffeine, gallic acid, epigallocatechin, catechin and epicatechin. In which, GABA content is the highest ($0.98 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) after treatment for 6 h, and significantly ($P < 0.05$) higher than that of the control; contents of water extracts and free amino acids after treatment for 3 and 6 h are significantly higher than those of the control, while there are no significant differences in other components; contents of tea polyphenols, catechins and 2 esterified catechins components after treatment for 9 h are all significantly lower than those of the control. The comprehensive analysis result shows that 4 °C low temperature treatment for 3-6 h can maintain the tea quality and accumulate GABA.

关键词: 茶树叶片; 低温处理; γ -氨基丁酸(GABA); 茶多酚; 茶叶品质

Key words: leaf of *Camellia sinensis* (Linn.) Kuntze; low temperature treatment; γ -aminobutyric acid (GABA); tea polyphenols; tea quality

中图分类号: Q945.78; S571.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2020)05-0075-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2020.05.09

γ -氨基丁酸(GABA)是一种有天然活性的非蛋白质氨基酸,广泛分布于动物和植物体内,有多种生理功能^[1-2]。富含GABA的茶树[*Camellia sinensis* (Linn.) Kuntze]叶片有降血压和减少细胞凋亡等生物活性^[3-5],因而,提高茶叶中GABA含量可提升茶叶的保健功效。目前,茶叶GABA的富集主要采用厌氧处理,邢志强^[6]采用多种胁迫方法研究了茶叶中GABA的富集效应,认为水浸渍、真空、紫外线和冷冻处理富集GABA的效果均低于各类厌氧处理;然而,虽然厌氧处理富集GABA效果较好,但会导致茶叶的色泽与性质发生变化,对茶叶品质有较大影响^[7-8],因而,探究既能富集茶叶中GABA又对茶叶品质影响较小的处理技术十分必要。

目前,低温处理富集GABA在桑(*Morus alba* Linn.)^[2]和马铃薯(*Solanum tuberosum* Linn.)^[9]等植物中已得到验证。低温处理在茶叶运输和贮藏等环节有重要作用,可延缓茶叶品

质劣变。为明确低温处理对茶叶中GABA富集的影响,探讨GABA含量与茶叶品质的关系,作者以茶树品种‘龙井43’(*Camellia sinensis* ‘Longjing 43’)为研究对象,测定4 °C低温处理不同时间后茶树叶片中GABA和其他活性成分含量的变化,以期对茶叶中GABA含量富集技术及品质调控奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

供试茶树品种‘龙井43’于2018年4月28日采自南京中山陵园管理局中山陵茶厂试验茶园(东沟一区地),采摘标准为一芽一叶至一芽二叶,共采集叶片约200 g。将鲜叶置于4 °C下分别处理0(对照)、3、6和9 h,微波(75 W)杀青、揉捻后,于80 °C烘干至恒质量,冷却后磨成粉,待用。

收稿日期: 2019-10-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31870680); 江苏省现代农业(茶叶)产业技术体系项目(JATS[2019]423); 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-19); 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2020]1Y004)

作者简介: 夏兴莉(1997—),女,四川内江人,硕士研究生,主要从事植物生理学方面的研究。

^①通信作者 E-mail: zhuxujun@njau.edu.cn

主要仪器:UH5300 双光束分光光度计(日本 Hitachi 公司)、L-8900 氨基酸全自动分析仪(日立高新技术公司)、Agilent Infinity 1290 超高压液相色谱仪(美国 Agilent 公司)。标准品:GABA(纯度大于等于 99.90%)、咖啡碱(纯度 99.90%)以及儿茶素类(包括没食子儿茶素、表没食子儿茶素、儿茶素、表儿茶素、表没食子儿茶素没食子酸酯和表儿茶素没食子酸酯,纯度 99.99%)标准品均购自上海源叶生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 GABA 标准品测定和标准曲线绘制 用超纯水将 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ GABA 标准品母液逐级稀释至 0.5、1.0、1.5、2.0 和 $2.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。各取 $200 \mu\text{L}$ 样品,加入 $100 \mu\text{L}$ OPA 衍生试剂 [$0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硼酸缓冲液(pH 9.5) 50 mL 和 $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液 23 mL 的混合溶液]反应 1 min,加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KH_2PO_4 溶液 $200 \mu\text{L}$,即为对照品溶液。按照下述色谱条件对标准品溶液进行测定。

色谱条件:ZORBAX RRHD Eclipse Plus C_{18} 柱($2.1 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}, 1.8 \mu\text{m}$);流动相 A 为 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸,流动相 B 为 $V(20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸): $V(\text{甲醇}):V(\text{乙腈})=1:2:2$ 的混合液,0~4 min 体积分数 65% 流动相 A,4~8 min 体积分数 60% 流动相 A,8~13 min 体积分数 50% 流动相 A,再运行 3 min;流速 $0.3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温 $40 \text{ }^\circ\text{C}$,激发光 350 nm 、发射光 450 nm ;进样量 $2 \mu\text{L}$ 。以峰面积为纵坐标、GABA 标准品溶液质量浓度为横坐标绘制标准曲线,拟合方程为 $y=331.113x-18.078$ ($R^2=0.998$),线性范围 $0.005\sim 2.500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

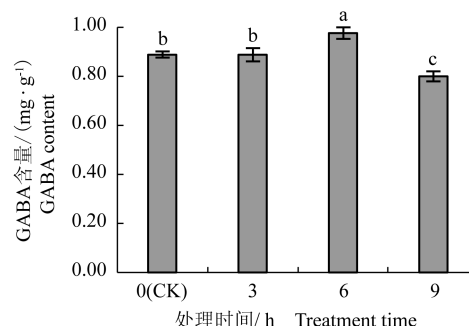
1.2.2 样品中 GABA 提取和测定 称取 0.5 g 样品粉末,加入 25 mL 蒸馏水,于 $85 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴提取 2 h;取 5 mL 提取液,室温下 $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min;取上清液 3 mL ,加入 $600 \mu\text{L}$ 三氯甲烷,室温下 $12000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min;取上清液 $800 \mu\text{L}$,

用 $0.2 \mu\text{m}$ 聚四氟乙烯滤膜过滤,得到样品溶液。按上述 GABA 标准品的测定方法和色谱条件测定样品溶液中的 GABA 含量。按照峰面积归一化法计算样品中 GABA 含量。

1.2.3 样品中其他成分含量测定 根据 GB/T 8305—2013 中的方法测定水浸出物含量,根据 GB/T 8314—2013 中的方法测定游离氨基酸含量,根据 GB/T 8313—2018 中的方法测定咖啡碱、茶多酚和儿茶素类含量。

2 结果和分析

在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 低温处理 0(对照)、3、6 和 9 h 后,茶树叶片中 GABA 含量的变化见图 1,茶树叶片中水浸出物、游离氨基酸、咖啡碱、茶多酚和儿茶素类含量变化见表 1。



不同的小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases indicate the significant ($P<0.05$) difference.

图 1 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 低温处理不同时间对茶树品种‘龙井 43’叶片中 γ -氨基丁酸(GABA)含量的影响

Fig. 1 Effect of $4 \text{ }^\circ\text{C}$ low temperature treatment for different times on γ -aminobutyric acid (GABA) content in *Camellia sinensis* ‘Longjing 43’ leaf

表 1 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 低温处理不同时间对茶树品种‘龙井 43’叶片中主要活性成分含量的影响 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Effect of $4 \text{ }^\circ\text{C}$ low temperature treatment for different times on contents of main active components in *Camellia sinensis* ‘Longjing 43’ leaf ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

处理时间/h Treatment time	各成分的含量/% Content of each component				
	水浸出物 Water extracts	游离氨基酸 Free amino acids	咖啡碱 Caffeine	茶多酚 Tea polyphenols	儿茶素类 Catechins
0(CK)	$55.42 \pm 0.01c$	$3.57 \pm 0.00d$	$5.16 \pm 0.24a$	$25.19 \pm 0.01a$	$15.57 \pm 0.32a$
3	$57.02 \pm 0.01b$	$3.95 \pm 0.01a$	$5.02 \pm 0.53a$	$25.27 \pm 0.00a$	$14.44 \pm 1.19ab$
6	$59.06 \pm 0.00a$	$3.86 \pm 0.00b$	$4.78 \pm 0.06a$	$25.22 \pm 0.01a$	$13.90 \pm 0.77ab$
9	$58.25 \pm 0.01a$	$3.61 \pm 0.01c$	$4.88 \pm 0.06a$	$21.70 \pm 0.01b$	$12.19 \pm 0.02b$

处理时间/h Treatment time	各成分的含量/% Content of each component					
	没食子儿茶素 Gallocatechin	表没食子儿茶素 Epi-gallocatechin	儿茶素 Catechin	表儿茶素 Epicatechin	表没食子儿茶素没食子酸酯 Epi-gallocatechin-3-gallate	儿茶素没食子酸酯 Epi-catechin-3-gallate
0(CK)	$1.46 \pm 0.07a$	$1.01 \pm 0.11a$	$1.27 \pm 0.05a$	$0.31 \pm 0.01a$	$7.45 \pm 0.11a$	$4.08 \pm 0.29a$
3	$1.30 \pm 0.02a$	$1.11 \pm 0.07a$	$1.39 \pm 0.19a$	$0.31 \pm 0.01a$	$7.14 \pm 0.53a$	$3.19 \pm 0.40ab$
6	$1.37 \pm 0.09a$	$1.17 \pm 0.05a$	$1.32 \pm 0.01a$	$0.30 \pm 0.00a$	$6.59 \pm 0.59ab$	$3.14 \pm 0.21ab$
9	$1.49 \pm 0.18a$	$0.97 \pm 0.07a$	$1.21 \pm 0.10a$	$0.31 \pm 0.00a$	$5.50 \pm 0.03b$	$2.71 \pm 0.14b$

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant ($P<0.05$) difference.

由图1可见:随低温处理时间的延长,茶树叶片中的GABA含量呈先升高后降低的变化趋势,并在处理6h后达到最高($0.98\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$),在处理9h后降至最低($0.80\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$),且二者与对照(处理0h)和其他处理时间均存在显著($P<0.05$)差异。

由表1可见:经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理不同时间后,茶树叶片中的水浸出物、游离氨基酸、茶多酚和儿茶素类含量存在一定差异,而咖啡碱含量无显著差异。其中,处理3~9h后水浸出物和游离氨基酸的含量均显著高于对照,处理9h后茶多酚和儿茶素类含量均显著低于对照,但其他处理时间均与对照无显著差异。

由表1还可见:经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理不同时间后,没食子儿茶素、表没食子儿茶素、儿茶素和表儿茶素含量均无显著变化,而表没食子儿茶素没食子酸酯和儿茶素没食子酸酯含量在处理9h后显著低于对照,但其他处理时间均与对照无显著差异。

总体上看, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理3和6h后茶树叶片中的水浸出物和游离氨基酸含量显著高于对照,咖啡碱、茶多酚和儿茶素类含量与对照无显著差异。

3 讨论和结论

已有研究表明:在低温环境下菠菜(*Spinacia oleracea* Linn.)^[10]、胡萝卜(*Daucus carota* var. *sativa* Hoffm.)^[11]和荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)^[12]叶中的GABA含量均不同程度升高;而本研究中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理6h后,茶树叶片中GABA含量显著($P<0.05$)高于对照(处理0h),说明低温处理可富集茶树叶片中GABA。这是由于低温处理可加速蛋白质分解,活化GABA合成酶谷氨酸脱羧酶(GAD)催化谷氨酸合成GABA,同时在低温条件下GABA代谢酶(GABA-T)的活性降低,阻碍了GABA代谢,使GABA得到富集^[7,13]。

尽管厌氧处理具有明显的GABA富集效应,但长时间厌氧处理易造成茶叶品质和口感变化^[1,7-8]。经 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理3和6h后,茶树叶片中的水浸出物和游离氨基酸含量显著增加,而咖啡碱含量、茶多酚和儿茶素类含量无显著变化,其中酯型儿茶素类成分(苦涩味成分)含量一定程度降低,表明 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温处理3~6h既可保持茶叶品质,又能富集GABA。

由于本实验设计较为粗放,涉及的茶叶品种单一,因而,后续将细化低温处理条件(包括处理温度和处理时间),扩大茶树品种范围,针对不同茶树品种筛选出各自适宜的低温处理条件,以期在茶叶中GABA富集技术的开发应用提供基础研究数据。

参考文献:

- [1] TSUSHIDA T, MURAI T, OMORI M, et al. Production of a new type tea containing a high level of gamma-aminobutyric-acid [J]. Nippon Nōgeikagaku Kaishi-Journal of the Japan Society for Bioscience Biotechnology and Agrochemistry, 1987, 61 (7): 817-822.
- [2] LI E, LUO X, LIAO S, et al. Accumulation of γ -aminobutyric acid during cold storage in mulberry leaves [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2018, 53: 2664-2672.
- [3] 谭俊峰, 林智, 彭群华, 等. γ -氨基丁酸超微绿茶粉辅助降压功能研究 [J]. 茶叶科学, 2012, 32(5): 461-464.
- [4] DI LORENZO A, NABAVI S F, SUREDA A, et al. Antidepressive-like effects and antioxidant activity of green tea and GABA green tea in a mouse model of post-stroke depression [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2016, 60(3): 566-579.
- [5] CHEN B, HUNG M, WANG H, et al. GABA tea attenuates cardiac apoptosis in spontaneously hypertensive rats (SHR) by enhancing PI3K/Akt-mediated survival pathway and suppressing Bax/Bak dependent apoptotic pathway [J]. Environmental Toxicology, 2018, 33: 789-797.
- [6] 邢志强. 茶叶 γ -氨基丁酸富集方法及其检测方法的研究 [D]. 合肥: 安徽农业大学茶与食品科技学院, 2009: 16-19.
- [7] WU Q Y, MA S Z, ZHANG W W, et al. Accumulating pathways of γ -aminobutyric acid during anaerobic and aerobic sequential incubations in fresh tea leaves [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 1081-1086.
- [8] 沈强, 许凡凡, 张小琴, 等. 真空厌氧间歇技术富集福鼎大白茶茶鲜叶GABA的参数优化 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 156-160.
- [9] 白青云, 严煌情, 陈迁迁, 等. 冷胁迫处理对马铃薯富集 γ -氨基丁酸的影响 [J]. 食品科技, 2015, 40(4): 82-87.
- [10] YOON Y, KUPPUSAMY S, CHO K M, et al. Influence of cold stress on contents of soluble sugars, vitamin C and free amino acids including gamma-aminobutyric acid (GABA) in spinach (*Spinacia oleracea*) [J]. Food Chemistry, 2017, 215: 185-192.
- [11] 朱惠文, 汤静, 金鹏, 等. 贮藏温度对鲜切胡萝卜品质及总酚和 γ -氨基丁酸含量的影响 [J]. 食品科学, 2019, 40(9): 213-219.
- [12] 周沫霖, 胡卓炎, 赵雷, 等. 不同低温贮藏对荔枝 γ -氨基丁酸富集及贮藏品质的影响 [J]. 现代食品科技, 2016, 32(3): 189-196.
- [13] LEGOCKA J, SOBIESZCZUK-NOWICKA E, LUDWICKI D, et al. Putrescine catabolism via DAO contributes to proline and GABA accumulation in roots of lupine seedlings growing under salt stress [J]. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 2017, 86(3): 3549.

(责任编辑: 郭严冬)