红碎茶发酵过程中蛋白质组成含量变 化 规 律 的 研 究

王汉生(华南农业大学农学系)

摘要 本研究探讨了红碎茶发酵过程中简单蛋白质组成和复合蛋白的含量变化规律。在发酵过程中,简单蛋白质含量逐步减少,复合蛋白含量不断增加,两者的含量变化高度相关。发酵叶的简单蛋白质中,谷蛋白占 64%左右。发酵过程简单蛋白质的含量减少主要是谷蛋白,占减少总量的66%~72%,其次是醇溶蛋白、白蛋白、球蛋白。研究表明,红碎茶发酵过程能与多酚类及其氧化产物产生结合的蛋白质主要是谷蛋白。发酵叶温高,蛋白质与多酚类的结合作用加强。各类简单蛋白质的减少量和复合蛋白的增加量都明显提高,发酵叶中水溶性多酚类、儿茶素的保留量明显下降。发酵 60~80 min,蛋白质的结合作用最大。

关键词 红碎茶;发酵;蛋白质中图分类号 TS272.52

红碎茶的制造工艺中,发酵是形成红碎茶特有品质的关键。在红碎茶发酵过程中,茶鲜叶中的蛋白质能与多酚类化合物产生结合沉淀[1.4],使水溶性多酚类总量减少35%~45%甚至50%左右[3]。水溶性多酚类是形成红碎茶品质最重要也是最基本的物质,与红碎茶内质的相关系数高达0.920[2],如果发酵中其含量明显减少,将显著降低茶汤品质,因此,提高其保留量,对提高红碎茶品质有着十分重要的意义。

茶叶多酚类的主要成分是儿茶素类。Roberts E. 等报导^[6],发酵中儿茶素类能与蛋白质形成复合物沉淀。Jiro Sekiya 等证实^[5],主要儿茶素 L—ECG 和 L—EGCG,在 pH 值 4~7 范围内能与蛋白质生成沉淀。作者的研究表明,在红碎茶发酵过程的复合蛋白中,已水解分离出儿茶素类、黄酮甙、茶黄素、茶红素和茶褐素等水解产物,均有明显含量(另文发表)。发酵中蛋白质能大量沉淀儿茶素等多酚类及其氧化产物,但能产生这些结合沉淀作用的蛋白质主要是什么蛋白质,未见资料报导。本文旨在研究红碎茶发酵过程中蛋白质组成的含量变化规律,探明发酵过程能与多酚类化合物产生结合的蛋白质主要种类,为进一步探讨抑制蛋白质结合活性的手段,提高水溶性多酚类的保留量提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

制茶试验的鲜叶原料采用华南农业大学校内茶园云南大叶种,三级青。

1.2 试验工艺

国家自然科学基金资助项目内容之一。
 1993—03—29 收稿

分别于 4 月 20 日、5 月 11 日、6 月 18 日进行 3 批试验。鲜叶自然萎凋 $14\sim15$ h, 40 型揉捻机揉捻 10 min. 小型 CTC 揉切机揉切 2 次。揉切叶分空调通气发酵(室温 $23\sim24$ $\mathbb C$)和室内自然发酵(室温 $27\sim28$ $\mathbb C$)。发酵叶每 20 min 取样 1 次,每次 2 个重复。

1.3 分析方法

蛋白质分简单蛋白和复合蛋白两大类。根据蛋白质在不同溶剂中的溶解特性,分别用蒸馏水,10%NaCl 溶液、70%乙醇、0.2%NaOH 溶液对样品中的蛋白质进行多次提取及离心分离^[7],将简单蛋白分为白蛋白、球蛋白、醇溶蛋白,谷蛋白 4 类。残留难溶蛋白为复合蛋白、蛋白质的含量测定用日本产 VsKT-P 自动凯氏定氯仪定氯法。

2 结果与分析

2.1 红碎茶发酵过程蛋白质组成含量变化

表 1 测定结果,红碎茶发酵过程白蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白 4 类简单蛋白的含量均逐步减少,相反,复合蛋白的含量则逐渐增加,蛋白质总量虽有减少趋势,但变化量很小,尤其发酵 60 min 以前。

	EX. =										
	₩ =	萎凋叶	发 酵 叶(min)								
	样品		20	40	60	80	100	120	140	160	
	白蛋白	0. 598	0.584	0. 560	0. 525	0. 473	0. 431	0. 406	0. 389	0. 381	
简	球蛋白	0. 292	0.284	0. 272	0. 259	0. 240	0. 225	0. 217	0. 211	0. 206	
简单蛋白	醇溶蛋白	0. 521	0.504	0. 477	0. 438	0. 379	0. 333	0. 304	0. 283	0. 275	
百	谷蛋白	2. 596	2.471	2. 329	2. 169	1. 948	1. 767	1. 654	1. 569	1.506	
	总量	4.007	3.843	3. 6 3 8	3. 391	3. 040	2. 756	2. 581	2. 452	2. 368	
	复合蛋白	13. 074	13. 233	13. 437	13.671	13. 998	14.261	14. 423	14. 542	14.615	
쟿	蛋白质总量	17. 081	17. 076	17.075	17. 0 62	17. 038	17. 017	17. 004	16. 994	16. 983	

表 1 红碎茶发酵过程蛋白质组成的含量(%)变化"

为进一步验证蛋白质组成分析结果,本研究同时进行了发酵叶和萎凋叶的蛋白质总量全量分析,结果表明(表 2),组成分析的总量与全量分析很接近,分析差异都在 0.5%以下。

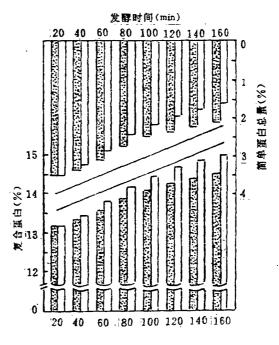
表 2 蛋白质总量(%)的全量分析与组成分析结果比较

44 5	## \@a.l.	发 酵 叶(min)								
样品	菱凋叶	40	08	120	160					
全量分析	17. 163	17. 144	17. 113	17. 088	17. 056					
组成分析	17. 081	17. 075	17. 038	17. 004	16. 983					
总量分析差异	-0.082	-0.069	- 0. 075	-0.084	-0.073					
分析差异占全量分析的%	0. 478	0. 403	0. 438	0. 492	0. 428					

¹⁾表中数据为3批试验平均数,含量单位以样品的干物重计算,后同。

2.2 红碎茶发酵过程中简单蛋白和 复合蛋白的含量变化

图 1 显示,发酵过程中简单蛋白含量的减少与复合蛋白含量的增加呈明显的相关性,减少的变化趋势与增加的变化趋势基本上相对应,不同发醇处理两类蛋白质的含量变化规律也相一致。



🖾 空调通气发酵 🔲 自然发酵

与非蛋白成分结合而成^[7]。发酵中因 图1 发酵过程简单蛋白与复合蛋白的含量变化关系 多酚类及其氧化产物均能与蛋白质产生结合^[1],因而使简单蛋白含量逐步减少而转化成复 合蛋白,使复合蛋白含量逐步增加。

表 3 发酵过程中简单蛋白和复合蛋白的变化量(%)

发酵时间(min)		20	40	60	80	100	120	140	160
	阶段减量	-0.164	-0.205	-0. 247	-0.351	-0.284	- 0. 175	-0.129	-0.084
简单蛋白	递减量	-0.164	-0.369	—0.61 6	-0.967	-1.251	-1.426	-1.555	-1.639
~ A ~ Z	阶段增量	+0.159	+0.204	+0.234	+0.327	+0.263	÷0.162	+0.119	+0.073
复合蛋白	递增量	+0.159	+0.363	+0.597	+0.924	+1.187	+1.349	+1.468	+1.541

2.3 红碎茶发酵过程中简单蛋白质的组成含量比例变化

根据测定,制茶原料鲜叶中简单蛋白质的组成,谷蛋白占 62.92%,醇溶蛋白 16.86%,白蛋白 12.39%,球蛋白 7.83%;萎凋叶中简单蛋白质的组成比例,谷蛋白和白蛋白分别上升为 64.79%和 14.92%,醇溶蛋白和球蛋白分别下降为 13.00%和 7.29%;发酵过程中白蛋白和球蛋白的含量比例有所提高,谷蛋白及醇溶蛋白则有所下降,详见表 4。

表 4 表明,发酵过程中简单蛋白质的含量减少,主要是谷蛋白,其减少量占简单蛋白减

谷蛋白

少总量的 66.05%~76.22%,由此说明,发酵过程与多酚类及其氧化产物产生结合的蛋白质主要是谷蛋白。其次是醇溶蛋白,减少量占 10.37%~15.30%。

发酵时间(min)	20	40	60	80	100	120	140	160
占总量的%	15. 19	15. 39	15. 48	15. 56	15. 64	15. 73	15. 86	16. 09
占减少总量的%	8. 53	10.30	11. 85	12. 93	13. 35	13. 46	13. 44	13. 24
占总量的%	7. 39	7. 48	7. 64	7.90	8. 16	8. 41	8. 61	8. 70
占减少总量的%	4. 88	5. 42	5. 36	5.38	5. 35	5. 26	5. 21	5. 25
占总量的%	13. 12	13. 11	12. 92	12. 46	12. 08	11. 78	11. 54	11.61
占减少总量的%	10. 37	11.92	13. 47	14. 68	15. 03	15. 22	15. 30	15. 01
	占总量的% 占减少总量的% 占总量的% 占减少总量的% 占总量的%	占总量的% 15.19 占减少总量的% 8.53 占总量的% 7.39 占减少总量的% 4.88 占总量的% 13.12	占总量的% 15.19 15.39 占减少总量的% 8.53 10.30 占总量的% 7.39 7.48 占减少总量的% 4.88 5.42 占总量的% 13.12 13.11	占总量的% 15.19 15.39 15.48 占减少总量的% 8.53 10.30 11.85 占总量的% 7.39 7.48 7.64 占减少总量的% 4.88 5.42 5.36 占总量的% 13.12 13.11 12.92	占总量的% 15.19 15.39 15.48 15.56 占减少总量的% 8.53 10.30 11.85 12.93 占总量的% 7.39 7.48 7.64 7.90 占减少总量的% 4.88 5.42 5.36 5.38 占总量的% 13.12 13.11 12.92 12.46	占总量的% 15.19 15.39 15.48 15.56 15.64 占减少总量的% 8.53 10.30 11.85 12.93 13.35 占总量的% 7.39 7.48 7.64 7.90 8.16 占减少总量的% 4.88 5.42 5.36 5.38 5.35 占总量的% 13.12 13.11 12.92 12.46 12.08	占总量的% 15.19 15.39 15.48 15.56 15.64 15.73 占减少总量的% 8.53 10.30 11.85 12.93 13.35 13.46 占总量的% 7.39 7.48 7.64 7.90 8.16 8.41 占减少总量的% 4.88 5.42 5.36 5.38 5.35 5.26 占总量的% 13.12 13.11 12.92 12.46 12.08 11.78	占总量的% 15.19 15.39 15.48 15.56 15.64 15.73 15.86 占减少总量的% 8.53 10.30 11.85 12.93 13.35 13.46 13.44 占总量的% 7.39 7.48 7.64 7.90 8.16 8.41 8.61 占减少总量的% 4.88 5.42 5.36 5.38 5.35 5.26 5.21 占总量的% 13.12 13.11 12.92 12.46 12.08 11.78 11.54

64. 30 64. 02 63. 96 64. 08 64. 12 64. 08 63. 99 63. 60

76. 22 72. 36 69. 32 67. 01 66. 27 66. 06 66. 05 66. 50

表 4 发酵过程中简单蛋白质组成的含量比例和减少量比例变化"

占总量的%

占减少总量的%

2.4 不同发酵处理的蛋白质组成含量变化

试验处理分空调通气发酵和室内自然发酵,两种处理的发酵叶叶温变化如图 2。空调通气发酵叶温较低,发酵 40 min 后叶温较快下降,最高叶温 37.5℃,最低叶温 23℃;自然发酵叶温较高,发酵 60 min 后叶温才渐降,最高叶温 30℃,最低叶温 37.5℃.

从图 3 可以看出:①不同发酵处理发酵过程中简单蛋白的减少量与复合蛋白的增加量都呈明显负相关,减少量愈多,增加量愈大,而且变化量相近。②发酵过程不同发酵处理简单蛋白的减少量变化和复合蛋白的增加量变化都呈单高峰曲线,但高峰期不同,自然发酵高峰在 60 min,通气发酵在 80 min。③自然发酵由于叶温较高,叶温持续时间也较长,促进了蛋白质与多酚类等的结合作用,因此,发酵中简单蛋白的减少量或复合蛋白的增加量都高于通气发酵。如发酵在 60~80 min 区段,简单蛋白的平均减少量增加了 29.33%,复合蛋白的平均增加量提高了 31.02%。红碎茶发酵叶温太高有损制茶品质,这是其中重要原因之一。图 4证实,自然发酵的水溶性多酚类和儿茶素保留量都明显低于通气发酵,如发酵 60~80 min,多酚类平均减少 18.71%,儿茶素减少 45.32%。④不同发酵处理各类简单蛋白的减少规律一致,自然发酵各简单蛋白的减少量都高于通气发酵。在两种处理中,减少量最大者都是谷蛋白,其它依次是醇溶蛋白、白蛋白、球蛋白。

¹⁾ 发酵各阶段样品均以简单蛋白质总量、简单蛋白质减少总量为100%。

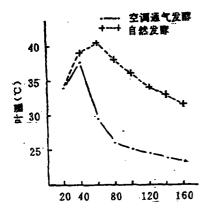


图 2 不同发酵处理的叶温变化

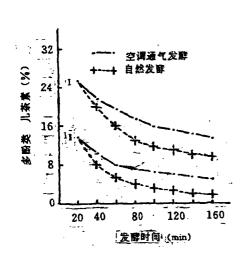


图 4 不同发酵处理茶多酚和儿茶素的含量变化 I一多酚类 I一儿茶素

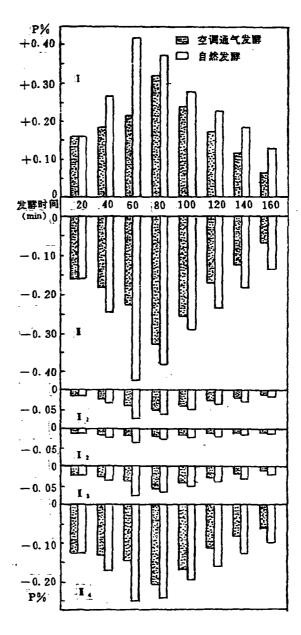


图 3 不同发酵处理复合蛋白的增加量和简单蛋白 及其组成的减少量 1-复合蛋白 I-简单蛋白 I₁-白蛋白 I₂-球蛋白 I₃-酶溶蛋白 I₄-谷蛋白

致谢 王登良、周煜夫、曹藩荣、王皓等同志参加部分试验分析工作,特此致谢。

参考文献

- 1 安徽农学院主编、茶叶生物化学、北京:农业出版社,1988.237
- 2 阮字成,程启坤,浓培和.提高红碎茶品质的理论与技术.中国茶叶,1982(3),2
- 3 程启坤. 论茶多酚与红茶品质. 浙江茶叶,1979(3):15
- 4 Bokuchava M A Technology of tea production and Biochemistry. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1980, 12(4): 303
- 5 Jiro Sekiya, Jadohiko Kajiwara, Jeruaki Monma, et al. 茶儿茶素与蛋白质的相互作用:形成蛋白质沉淀. 顾雯,等译. 浙江茶叶, 1986(3):55
- 6 Roberts E. Mayers M. The phenolic substances of manufactured tea. J Sci Food Agr, 1959(10): 167
- 7 X.H波钦诺克著、植物生物化学分析方法、荆家海等译、北京:科学出版社,1981.91~95

STUDIES ON THE DEVELOPING PATTERN OF PROTEIN COMPOSITION AND CONTENT IN BROKEN BLACK TEA DURING THE FERMENTATION

Wang Hansheng

(Dept. of Agronomy South China of Agr. Univ.)

Abstract The research investigated the developing pattern of the simple protein composition and combined protein content of broken black tea during its fermentation. In the process of fermentation, the quantity of simple protein gradually decresed, but combined protein continuously increased. The content variance of both kinds of protein was highly interrelated. It was found glutelin was about 64% in the simple protein during the fermentation. On the decrease of simple protein during the fermentation, it was mainly due to the glutelin decrement which occupied $66\% \sim 72\%$ of the total decrement. The vesidual was the decrements of prolamin, alumin and globulin. The study showed that glutelin was the major protein which can combine the polyphenols and its oxides during the fermentation of broken black tea. As the fermentation temperature was higher, the combination effect of protein and polyphenols was stronger, and the decrement of different kinds of simple protein and the increment of complex protein were increased significantly. While the fermentation was processing, the retention of water—soluble polyphenols and catechin sharply decreased. After $60 \sim 80$ minutes of fermentation, the protein combination effect was the strongest.

Key words Broken black tea; Fermentation; Protein