

不同发酵条件对发酵桑叶茶生物活性成分含量的影响

肖洪¹, 黄先智², 沈以红², 丁晓雯^{1,*}, 张亚琼¹, 梁菡峪¹, 张迪¹

(1.西南大学食品科学学院, 重庆市农产品加工重点实验室, 重庆 400715; 2.家蚕基因组生物学国家重点实验室, 重庆 400715)

摘要:目的: 研究不同发酵条件下发酵桑叶茶中脱氧野尻霉素(DNJ)等生物活性成分含量变化。方法: 采用HPLC法测DNJ含量, 比色法测定黄酮、多糖、多酚含量。结果: 与对照组比较, 不同温度发酵后发酵桑叶茶中的多糖、黄酮和多酚含量均降低, 发酵温度为30℃时发酵桑叶茶中DNJ含量增加了7.37%, 黄酮含量略微降低; 不同发酵时间发酵后发酵桑叶茶中的DNJ含量增加, 在发酵时间为6h时DNJ含量最高增加7.10%, 多糖含量增加6.45%; 黄酮含量降低, 发酵4h时多酚含量增加20.00%; 菌种接种量为 4×10^7 CFU时发酵桑叶茶中DNJ含量增加4.23%, 多糖含量最高增加3.68%, 而黄酮和多酚含量降低。结论: 发酵温度30℃、发酵时间6h、菌种接种量 4×10^7 CFU, 最有利于发酵桑叶茶的功能性质。

关键词: 发酵; 桑叶茶; 脱氧野尻霉素; 黄酮; 多糖; 多酚

Effects of Different Fermentation Conditions on the Contents of Bioactive Ingredients in Fermented Mulberry Leaf Tea

XIAO Hong¹, HUANG Xian-zhi², SHEN Yi-hong², DING Xiao-wen^{1,*}, ZHANG Ya-qiong¹, LIANG Han-yu¹, ZHANG Di¹

(1. Chongqing Key Laboratory of Agricultural Product Processing, College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. State Key Laboratory of Silkworm Genome Biology, Chongqing 400715, China)

Abstract: Objective: To investigate the changes of 1-deoxynojirimycin (DNJ) and other bioactive compounds in fermented mulberry leaf tea with different fermentation conditions. Methods: DNJ was determined by HPLC. Flavonoids, polysaccharides and polyphenols were determined by spectrophotometric methods. Results: Compared with those in mulberry leaves, the contents of flavonoids, polysaccharides and polyphenol in mulberry leaf tea fermented at any of the fermentation temperatures tested were decreased. DNJ content in mulberry leaf tea fermented at 30 °C was increased by 7.37%, whereas the content of flavonoids was slightly decreased. DNJ content in mulberry leaf tea fermented for different times was increased, with the highest increase by 7.10% at 6 h, accompanied by a 6.45% increase in polysaccharide content. The content of polyphenols was increased by 20.00% in mulberry leaf tea fermented for 4 h, while the amount of flavonoids became lower. The contents of DNJ and polysaccharides were increased by 4.23% and 3.68%, respectively, but flavonoid and polyphenol contents were decreased in mulberry leaf tea fermented with an inoculum amount of 4×10^7 CFU. Conclusion: Mulberry leaf tea fermented at 30 °C, 6 h with 4×10^7 CFU of inoculum has the most favorable functional properties.

Key words: fermentation; mulberry leaf tea; deoxynojirimycin (DNJ); flavonoid; polysaccharide; polyphenol

中图分类号: S886.9

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)23-0216-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201323045

桑叶茶(mulberry-leaf tea)是由桑叶加工制作而成的新型茶品, 目前一般采用自然晒干和按绿茶生产加工方式为主进行生产。桑叶绿茶甘醇香甜; 桑叶乌龙茶爽口醇和, 有淡淡的花香; 桑红茶甘醇醇厚, 有近似香蕉的果香味^[1]。但桑叶茶普遍存在汤色发黑, 豆腥味重, 感官品质不佳的问题, 为此, 人们尝试开发桑叶乌龙茶、

红茶等产品。桑叶茶的主要功能成分包括生物碱、茶多酚、花青素、绿原酸等生物活性物质^[2-3]。桑叶茶的矿物元素含量比茶叶高出3~6倍; 总糖、酚类物质、氨基酸含量都较高; 同时桑叶叶面较薄, 比茶叶易溶解出更多的有效成分, 更有利于人体的吸收^[4]。脱氧野尻霉素(deoxynojirimycin, DNJ)是一种极性含N化合物, 其

收稿日期: 2013-04-15

基金项目: 国家现代农业(蚕桑)产业技术体系建设专项(CARS-22-ZJ0503); 重庆市科委应用技术项目(cstc2012gg-yyjs80022)

作者简介: 肖洪(1989—), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品安全与质量控制。E-mail: xiaohong463108359@163.com

*通信作者: 丁晓雯(1963—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品安全与功能食品。E-mail: xiaowend@sina.com

化学名称为3, 4, 5-三羟基-2-羟甲基四氢吡啶, 分子式为 $C_6H_{13}NO_4$, 相对分子质量为163^[5-6], 是一种 α -葡萄糖苷酶抑制剂, 具有降血糖^[7-8]、降血脂^[9-10]、抗肿瘤^[11]、抑制变形链球菌生长^[12]、抗病毒^[13]等功效。桑叶是植物中DNJ含量比较高的, 但不同叶位、加工工艺等诸多因素都可能影响到桑叶茶中DNJ的含量^[14-15]。黄酮类物质是一类天然的抗氧化剂, 能够清除人体中超氧阴离子自由基、氧自由基及酶类所不能清除的羟自由基等^[8], 具有降血压、抗氧化、降血脂等生理作用^[16]。桑叶中含有的多糖具有显著的降血糖作用^[17], 可以抑制 α -葡萄糖苷酶和猪胰液 α -淀粉酶的活性^[18]等作用。

前期的实验研究了不同菌种单一或组合人工发酵多桑叶茶中DNJ、黄酮、多糖、多酚4种生物活性成分的影响, 并筛选出黑曲霉:日本根霉:绿色木霉为2:1:2(接种量比, 下同)时可使发酵桑叶茶中DNJ含量增加最高, 本实验旨在研究不同发酵条件对人工接种发酵桑叶茶中DNJ、黄酮、多糖、多酚主要功能成分含量影响, 分析发酵条件对桑叶茶中4种功能成分含量变化, 为桑叶的深度学习开发利用提供数据。

1 材料与方法

1.1 材料

人工发酵桑叶茶由本实验室自制。

1.2 菌种

黑曲霉(*Aspergillus niger*)GSICC 60108 甘肃省微生物菌种保藏中心; 日本根霉(*Rhizopus japonicus* Vuillemin) GIM3.119、绿色木霉(*Trichoderma viride*)GIM3.443 广东省微生物研究所微生物菌种保藏中心; 以上3种菌种的安全等级均高, 其生物危害程度为四类, 在通常情况下不会引起人类或者动物疾病。

1.3 试剂与仪器

DNJ标准品 北京德威纳生物技术有限公司; 甘氨酸(Gly)、9-苄基氯甲酸甲酯(FMOC-Cl) 美国Sigma公司; 乙腈为色谱纯 天津市四友精细化学品有限公司; 没食子酸标准品 中国药品生物制品检定所; 芦丁标准品 北京德威纳生物技术有限公司; 其他常用试剂均为分析纯。

Waters 1525 HPLC 美国Waters公司; 5810型台式高速离心机 德国Eppendorf公司; Spectrumlab 22可见分光光度计 上海棱光技术有限公司; KQ5200DB型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司。

1.4 方法

1.4.1 发酵桑叶茶的制备

采摘从顶芽往下数4~10片的新鲜桑叶, 去柄, 切为4cm×4cm的小叶片, 混匀后称取100g叶片用微波杀

青90s, 揉捻, 加入不同菌量的黑曲霉+日本根霉+绿色木霉菌液10mL, 复揉, 不同温度下发酵不同时间, 微波干燥, 制得桑叶茶。前期实验研究发现黑曲霉、日本根霉、绿色木霉菌种比例为2:1:2时发酵桑叶茶综合品质好。本实验原料桑叶采摘时间为11月初, 桑叶采用80℃烘干, 常温保存。

由于桑叶中的生物活性物质会随着生长季节和采摘时间的变化而变化, 因此本实验中为了尽量减小采摘时间对最终制得的桑叶茶中生物活性物质的影响, 因此同一天采摘桑叶并制作得到桑叶茶, 所以将发酵时间和菌接种量对发酵桑叶茶中生物活性成分含量影响的发酵温度也设置为25℃。

1.4.2 DNJ含量测定

测试样品的制备: 取桑叶茶粉末0.5g, 加入一定量超纯水, 80℃水浴浸提2h(每20min摇匀一次), 抽滤后, 滤渣再加水浸提2次。合并浸提液, 用超纯水定容至50mL, 即得样品提取液。

DNJ的衍生化及测定方法按照参考文献[19]进行。色谱条件: 色谱柱: C_{18} 柱(150mm×4.6mm, 5 μ m); 流动相: 乙腈-0.1%醋酸(50:50, V/V); 流速: 1.0mL/min; 柱温25℃; 进样量10 μ L; 紫外检测器, 检测波长254nm。

1.4.3 黄酮含量测定

取桑叶茶粉末0.5g于50mL离心管中, 加70%乙醇15mL, 80℃水浴80%功率超声提取15min, 7000r/min离心5min, 抽滤, 得到滤液。如此共提取3次, 滤液用70%的乙醇定容至50mL。吸取1.0mL滤液, 用 $AlCl_3$ 比色法^[20]测定。

1.4.4 多糖含量测定

取桑叶茶粉末0.250g于玻璃广口瓶中, 加入20mL沸蒸馏水, 在100%功率条件下55℃超声提取20min, 将提取液过滤后定容至25mL。取1.0mL滤液用苯酚-硫酸法^[4]测定多糖含量。

1.4.5 多酚含量测定

按照GB/T 8313—2008《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》^[21]进行测定。

1.5 数据统计与分析

各实验至少重复3次以上, 实验数据用Excel和SPSS16进行统计处理。

2 结果与分析

2.1 发酵温度对发酵桑叶茶中DNJ等活性成分含量的影响

分别在25、30、35、40、45、50℃条件下加入共 10^7 CFU的黑曲霉:日本根霉:绿色木霉为2:1:2的菌液10mL发酵5h生产桑叶茶, 以桑叶为对照组, 研究其DNJ等活性成分含量的变化, 结果见表1。

表1 不同发酵温度下发酵桑叶茶中活性成分含量
Table 1 Contents of functional components of mulberry leaf tea fermented at different temperatures

发酵温度/℃	DNJ含量/(mg/100g)	多糖含量/(g/100g)	黄酮含量/(g/100g)	多酚含量/(g/100g)
对照组	84.11±2.88	14.41±0.09	1.25±0.04	0.25±0.01
25	84.51±5.86	11.98±0.07**	0.90±0.03**	0.20±0.01**
30	90.31±2.48*	12.41±0.29**	1.08±0.04**	0.21±0.01**
35	90.04±3.22*	12.30±0.26**	0.95±0.03**	0.23±0.01*
40	83.36±3.25	13.61±0.62**	0.92±0.01**	0.23±0.01
45	87.62±0.62	12.90±0.37**	0.91±0.03**	0.20±0.01**
50	87.31±0.41	12.69±0.18**	0.84±0.05**	0.16±0.00**

注：表中数据均以干质量计；*、与对照组相比有显著性差异($P<0.05$)；**、与对照组相比有极显著性差异($P<0.01$)。表2、3同。

由表1可知，不同发酵温度下发酵桑叶茶中DNJ含量比较，发现在25~35℃范围内随着发酵温度的增加，发酵桑叶茶中的DNJ含量增加，在30~35℃有利于发酵桑叶茶中DNJ的产生，温度为30℃时最利于发酵桑叶茶中DNJ的形成。而当温度>35℃时发酵桑叶茶中DNJ含量降低。与对照组比较各发酵温度仅40℃时，发酵桑叶茶中DNJ含量略微低于对照组，因此总的来说，经黑曲霉+日本根霉+绿色木霉发酵后有利于提高桑叶茶中DNJ含量，而提高发酵桑叶茶中DNJ含量的最适温度为30℃，此时发酵桑叶茶中DNJ含量增加了7.37%，与对照组比较有显著性差异($P<0.05$)。

不同发酵温度下，发酵桑叶茶中多糖含量比较，发现随着发酵温度的增加，发酵桑叶茶中多糖含量总的呈现出先增加后降低的趋势，在40℃时最有利于维持发酵桑叶茶中多糖。与对照组比较，不同发酵温度下发酵桑叶茶中多糖含量均降低，发酵温度为40℃时发酵桑叶茶中多糖含量降低最少，降低了5.58%，与对照组比较有极显著性差异($P<0.01$)。

不同发酵温度下，发酵桑叶茶中黄酮含量比较，发现随着发酵温度的增加，发酵桑叶茶中黄酮含量呈现出先增加后降低的趋势；与对照组比较，不同发酵温度下发酵桑叶茶中黄酮含量均降低，但发酵温度为30℃时发酵桑叶茶中黄酮含量降低最少，降低了13.60%，但与对照组比较仍有极显著性差异($P<0.01$)。

不同发酵温度下发酵桑叶茶中多酚含量比较，发现在25~40℃范围内随着发酵温度的增加，发酵桑叶茶中的多酚含量增加，在35~40℃有利于发酵桑叶茶中多酚的产生。与对照组比较，不同发酵温度下发酵桑叶茶中多酚含量均降低，但发酵温度为40℃时发酵桑叶茶中多酚含量降低最少，降低了8.00%，与对照组比较无显著性差异($P>0.05$)。

综合不同发酵温度实验结果与对照组比较可知，经黑曲霉+日本根霉+绿色木霉发酵后发酵桑叶茶中的多糖、黄酮和多酚含量均降低。在发酵温度为30℃时DNJ含量增加了7.37%，黄酮含量降低最少为13.60%，多糖含

量降低13.88%，多酚含量降低16.00%，发酵温度为30℃有利于发酵桑叶茶中DNJ的形成以及维持桑叶茶中黄酮的含量；而发酵温度为40℃时DNJ含量降低了0.89%，黄酮降低26.40%，多糖和多酚含量降低最少，分别为5.55%和8.00%，发酵温度为40℃有利于维持桑叶茶中多糖和多酚的含量。因此，综合对发酵桑叶茶功能成分影响来看，选择发酵温度为30℃较好。

2.2 发酵时间对发酵桑叶茶中DNJ等活性成分含量的影响
分别在25℃条件下加入共 10^7 CFU的黑曲霉:日本根霉:绿色木霉为2:1:2的菌液10mL发酵1、2、3、4、5、6、7h生产桑叶茶，以桑叶为对照组，研究其DNJ等活性成分含量的变化，结果见表2。

表2 不同发酵时间下发酵桑叶茶中活性成分含量
Table 2 Contents of functional components of mulberry leaf tea fermented for different times

发酵时间/h	DNJ含量/(mg/100g)	多糖含量/(g/100g)	黄酮含量/(g/100g)	多酚含量/(g/100g)
对照组	84.11±2.88	14.41±0.09	1.25±0.04	0.25±0.01
1	85.70±4.56	12.83±0.42**	0.98±0.01**	0.22±0.01**
2	84.87±3.68	13.67±0.11*	1.06±0.05**	0.23±0.02
3	87.63±1.80	13.65±0.41*	1.03±0.03**	0.24±0.01
4	87.24±1.06	13.72±0.41*	1.19±0.05*	0.30±0.00**
5	88.67±2.42	14.08±0.37	1.11±0.02**	0.23±0.00
6	90.08±3.24*	15.34±0.36**	1.06±0.04**	0.22±0.00**
7	84.43±0.17	14.66±0.46	1.19±0.04*	0.21±0.00**

由表2可知，不同发酵时间下发酵桑叶茶中DNJ含量比较，发现在2~6h范围内随着发酵时间的增加，发酵桑叶茶中的DNJ含量增加，当发酵时间>6h后，发酵桑叶茶中DNJ含量降低。与对照组比较，经黑曲霉+日本根霉+绿色木霉发酵后发酵桑叶茶中DNJ含量均增加，而当发酵时间为6h时，发酵桑叶茶中DNJ含量增加最高，为7.10%，与对照组比较有显著性差异($P<0.05$)。

不同发酵时间下，发酵桑叶茶中多糖含量比较，发现随着发酵温度的增加，发酵桑叶茶中多糖总的呈现出先增加后降低的趋势，在发酵时间为6h时发酵桑叶茶中多糖含量达到最大。与对照组比较，在发酵时间为6h时发酵桑叶茶中多糖含量增加了6.45%，与对照组比较无显著性差异($P>0.05$)。

在不同发酵时间下，与对照组比较，发酵桑叶茶中黄酮含量均降低。在发酵时间为6h时，发酵桑叶茶中黄酮含量降低15.20%；在发酵时间为4h时，发酵桑叶茶中黄酮含量下降最低，为4.80%，与对照组比较有显著性差异($P<0.05$)。

在不同发酵时间下，发酵桑叶茶中多酚含量比较，发现随着发酵温度的增加，发酵桑叶茶中多酚呈现出先增加后降低的趋势，在发酵时间为4h时发酵桑叶茶中多酚含量达到最大。与对照组比较，在发酵时间为4h时，发酵桑叶茶中多酚含量增加20.00%，与对照组比较有极显著性差异($P<0.01$)。

综合不同发酵时间实验结果与对照组比较可知,经黑曲霉+日本根霉+绿色木霉发酵后发酵桑叶茶中的DNJ含量增加,在6h时DNJ含量最高增加7.10%,多糖含量增加6.45%,黄酮含量降低15.20%,多酚含量降低12.00%;发酵4h时DNJ含量增加3.72%,多糖含量增加4.79%,黄酮含量降低4.80%,多酚含量增加20.00%。DNJ是桑叶茶中最主要的功能性成分。综合对发酵桑叶茶功能成分影响来看,选择发酵时间为6h较好。

2.3 菌接种量对发酵桑叶茶中DNJ等活性成分含量的影响

分别在25℃条件下加入 0.5×10^7 、 1×10^7 、 2×10^7 、 4×10^7 、 6×10^7 、 8×10^7 、 10×10^7 CFU的黑曲霉:日本根霉:绿色木霉为2:1:2的菌液10mL发酵5h生产桑叶茶,以桑叶为对照组,研究其DNJ等活性成分含量的变化,结果见表3。

表3 不同菌接种量下发酵桑叶茶中活性成分含量
Table 3 Contents of functional components of mulberry leaf tea fermented with inoculum concentrations

菌体接种量/(10^7 CFU)	DNJ含量/(mg/100g)	多糖含量/(g/100g)	黄酮含量/(g/100g)	多酚含量/(g/100g)
对照组	84.11±2.88	14.41±0.09	1.25±0.04	0.25±0.01
0.5	85.11±2.12	14.13±0.21	0.94±0.04**	0.17±0.02**
1	85.58±1.78	14.27±0.29	0.87±0.03**	0.17±0.01**
2	86.62±1.31	14.70±0.64	0.93±0.02**	0.21±0.01**
4	87.67±3.32	14.94±0.63	0.78±0.02**	0.22±0.01**
6	80.44±7.22	14.83±0.80	1.01±0.02**	0.24±0.01
8	86.34±1.16	14.24±0.62	0.96±0.05**	0.24±0.02
10	87.93±8.30	14.12±0.43	0.96±0.06**	0.24±0.01

由表3可知,菌体接种量为 $0.5 \times 10^7 \sim 4 \times 10^7$ CFU,随着接种量的增加,发酵桑叶茶中DNJ含量增加。与对照组比较,在接种量为 4×10^7 CFU和 10×10^7 CFU时DNJ含量增加较多,分别增加了4.23%和4.54%,与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)。

不同菌接种量对发酵桑叶茶中多糖含量比较,发现随着菌接种量的增加,发酵桑叶茶中多糖含量呈现出先增加后降低的趋势,当菌接种量为 4×10^7 CFU时,发酵桑叶茶中多糖含量达最高。与对照组比较,在接种量为 4×10^7 CFU,发酵桑叶茶中多糖含量最高增加了3.68%,与对照组比较无显著性差异($P>0.05$)。

在不同菌接种量下,与对照组比较,发酵桑叶茶中黄酮含量均降低,菌接种量为 6×10^7 CFU时,发酵桑叶茶中黄酮含量下降最低,为19.20%,与对照组比较有极显著性差异($P<0.01$)。

在不同菌接种量下,与对照组比较,发酵桑叶茶中多酚含量均降低,菌接种量大于 6×10^7 CFU时,发酵桑叶茶中多酚含量变化不大,均在0.24g/100g左右。

综合不同菌接种量实验结果与对照组桑叶比较可知,经黑曲霉+日本根霉+绿色木霉发酵后发酵桑叶茶,在菌接种量为 4×10^7 CFU时发酵桑叶茶中DNJ含量

增加了4.23%,多糖含量最高增加了3.68%,黄酮含量降低为19.20%,多酚含量降低12.00%;在菌接种量为 10×10^7 CFU时DNJ含量增加了4.54%,多糖含量降低了2.01%,黄酮含量降低23.20%,多酚含量降低4.00%,综合对发酵桑叶茶功能成分影响来看,选择发酵用菌接种量为 4×10^7 CFU较好。

3 结论

3.1 不同发酵温度实验结果与对照组比较可知,经黑曲霉+日本根霉+绿色木霉不同温度发酵后发酵桑叶茶中的多糖、黄酮和多酚含量均降低,在发酵温度为30℃时DNJ含量增加了7.37%,黄酮含量降低最少,为13.60%,多糖含量降低13.88%,多酚含量降低16.00%,发酵温度为30℃有利于发酵桑叶茶中DNJ的形成以及维持桑叶茶中黄酮的含量,而发酵温度为40℃仅有利于维持桑叶茶中多糖和多酚的含量。因此选择发酵温度为30℃。

3.2 不同发酵时间实验结果与对照组比较可知,经黑曲霉+日本根霉+绿色木霉不同时间发酵后发酵桑叶茶中的DNJ增加,在6h时DNJ含量最高增加7.10%,多糖含量增加6.45%,黄酮含量降低15.20%,多酚含量降低12.00%;发酵4h时DNJ含量增加3.72%,多糖含量增加4.79%,黄酮含量降低4.80%,多酚含量增加20.00%。但DNJ是桑叶茶中最主要的功能性成分,发酵桑叶中DNJ的增加更利于发酵桑叶茶的品质。因此选择发酵时间为6h。

3.3 不同菌接种量实验结果与对照组比较可知,经不同菌接种量的黑曲霉+日本根霉+绿色木霉发酵后,发酵桑叶茶在菌接种量为 4×10^7 CFU时发酵桑叶茶中DNJ含量增加了4.23%,多糖含量最高增加了3.68%,黄酮含量降低最低为19.20%,多酚含量降低12.00%。发酵菌接种量为 4×10^7 CFU最能够保证发酵桑叶茶的品质,因此选择发酵菌接种量为 4×10^7 CFU。

通过对上述研究结果的分析发现,发酵温度30℃、发酵时间6h、菌接种量 4×10^7 CFU,最有利于发酵桑叶茶的综合功能性质。

一般桑叶茶会出现浸泡后茶汤发黑的问题,通过对本实验中的桑叶茶进行浸泡,发现桑叶茶茶汤为绿色,茶汤味略带丝丝甘甜而区别于一般的绿茶的苦味,因此发酵桑叶茶表现出较好的感官品质。由于本实验接入菌种时是在自然状态下进行的,不能完全排除细菌等条件对发酵桑叶茶的影响,这是本实验的一个不足。

参考文献:

- [1] 王忠华, 吴月燕, 张燕忠. 不同加工工艺制成桑叶茶的感官品质及营养活性成分分析[J]. 蚕业科学, 2011, 37(2): 272-277.

- [2] KIM D C, IN M J, CHAE H J. Preparation of mulberry leaves tea and its quality characteristics[J]. Journal of Applied Biological Chemistry, 2010, 53(1): 56-59.
- [3] SONG Wei, WANG Hanjing, BUCHELI P, et al. Phytochemical profiles of different mulberry (*Morus* sp.) species from China[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(19): 9133-9140.
- [4] 李旭玫, 傅水玉. 桑叶茶中营养成分的测定与研究[J]. 杭州师范学院学报: 自然科学版, 2006, 5(1): 58-60.
- [5] KOJI D, YOSHIHIKO I, TSUNEMATSU T. Studies on the constituents of the water extract of the root of mulberry tree (*Morus bombycis* Koidz)[J]. Chem Pharm Bull, 1986, 34(5): 2243-2246.
- [6] MARUO S, YAMASHITA H, MIYAZAKI K, et al. A novel and efficient method for enzymatic synthesis of high purity maltose using moranoline (1-deoxynojirimycin) [J]. Bios Biotechnol Biochem, 1992, 56(9): 1406-1409.
- [7] CHALUNTORN V, KIYOTAKA N, PHUMON S, et al. Development of high 1-deoxynojirimycin (DNJ) content mulberry tea and use of response surface methodology to optimize tea-making conditions for highest DNJ extraction[J]. Food Science and Technology, 2012, 45(2): 226-232.
- [8] KIMURA T, NAKAGAWA K, KUBOTA H, et al. Food-grade mulberry powder enriched with 1-deoxynojirimycin suppresses the elevation of postprandial blood glucose in humans[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(14): 5869-5874.
- [9] KOJIMA Y, KIMURA T, NAKAGAWA K, et al. Effects of mulberry leaf extract rich in 1-deoxynojirimycin on blood lipid profiles in humans[J]. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 2010, 47(2): 155-161.
- [10] TSUDUKI T, NAKAMURA Y, HONMA T, et al. Intake of 1-deoxynojirimycin suppresses lipid accumulation through activation of the beta-oxidation system in rat liver[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(22): 11024-11029.
- [11] WANG R J, YANG C H, HU M L. 1-Deoxynojirimycin inhibits metastasis of B16F10 melanoma cells by attenuating the activity and expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 and altering cell surface glycosylation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(16): 8988-8993.
- [12] ISLAM B, KHAN S N, HAQUE I, et al. Novel anti-adherence activity of mulberry leaves: inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm by 1-deoxynojirimycin isolated from *Morus alba*[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2008, 62(4): 751-757.
- [13] JACOB J R, MANSFIELD K, YOU J E, et al. Natural iminosugar derivatives of 1-deoxynojirimycin inhibit glycosylation of hepatitis viral envelope proteins[J]. Journal of Microbiology, 2007, 45(3): 431-440.
- [14] 杨清, 徐立, 王俊, 等. 桑红茶发酵工艺条件优化及活性成分含量的动力学研究[J]. 蚕业科学, 2010, 36(2): 221-228.
- [15] 孙国霞, 王俊, 龚敏, 等. 不同叶位桑叶及发酵温度对桑红茶中活性成分含量的影响[J]. 蚕业科学, 2011, 37(6): 1061-1066.
- [16] 王芳, 励建荣. 桑叶的化学成分、生理功能及应用研究进展[J]. 食品科学, 2005, 26(增刊1): 111-117.
- [17] 薛长勇, 腾俊英, 邱继红, 等. 桑叶多糖-肽复合物的降血糖、血脂作用[J]. 营养学报, 2005, 27(2): 167-168.
- [18] 寇秀颖, 杜阳吉, 徐勇. 桑叶黄酮类和多糖类化合物的提取及其降血糖作用研究[J]. 食品工程, 2010(4): 39-41.
- [19] 耿鹏, 朱元元, 杨洋, 等. 桑树资源中1-脱氧野尻霉素的测定及其生物活性分析[J]. 中草药, 2005, 36(8): 1151-1154.
- [20] 李旭玫. 桑叶茶元素分析及其保健功能分析[J]. 浙江林业科技, 2005, 25(3): 31-33.
- [21] 中国国家标准化管理委员会. GB/T8313—2008 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.