

发酵桑叶茶生物活性成分变化研究

肖 洪¹, 沈以红², 黄先智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: 研究不同菌种单独或组合发酵桑叶制得桑叶茶中脱氧野尻霉素(DNJ)等生物活性成分的含量变化。方法: HPLC法测DNJ, 比色法测定黄酮、多糖、多酚。结果: 与自然发酵比较, 4种菌单独或复合发酵得到的14种桑叶茶中有10种的DNJ含量无变化或者降低, 其中以绿色木霉发酵的降低最多(6.42%); 有4种发酵桑叶茶中DNJ含量增加, 以日本根霉单独发酵的桑叶茶增加最多(10.63%); 大多发酵桑叶茶中黄酮、多糖、多酚含量均下降, 其中以经黑曲霉发酵后的桑叶茶中黄酮、多糖、多酚含量下降最高, 分别下降了23.64%、14.49%、32.26%; 而日本根霉发酵后桑叶茶中黄酮含量增加了5.82%, 日本根霉与青霉共同发酵的桑叶茶中多酚最高增加了9.68%。结论: 以日本根霉发酵能有效增加发酵桑叶茶中DNJ、黄酮、多酚含量。

关键词: 发酵; 桑叶茶; DNJ; 黄酮; 多糖; 多酚

Comparative Study of Bioactive Compounds of Mulberry Leaf Tea Fermented by Different Strains

XIAO Hong¹, SHEN Yi-hong², HUANG Xian-zhi², 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: The effect of single and combined inoculation with different strains on the contents of deoxynojirimycin (DNJ), polysaccharides, flavonoids and polyphenolics in fermented mulberry leaf tea was studied. Methods: DNJ was determined by HPLC, and flavonoids, polysaccharides and polyphenols were determined spectrophotometrically. Results: Compared with naturally fermented mulberry leaf tea, DNJ content in 10 of 14 samples obtained from inoculated fermentation was decreased or unchanged. It was decreased by a maximum of 6.42% in mulberry leaf tea fermented by *Trichoderma viride* but increased in 4 samples from inoculated fermentation, by a maximum of 10.63% in the one fermented by *Rhizopus japonicus* Vuillemin. The contents of flavonoids, polysaccharides and polyphenols in most of the fermented mulberry leaf tea samples from inoculated fermentation were decreased compared to natural fermentation, and the highest decreases in flavonoids, polysaccharides and polyphenols by 23.64%, 14.49% and 32.26% were observed for the one fermented by *Aspergillus niger*. The content of flavonoids was increased by 5.82% by fermentation with *Rhizopus japonicus* Vuillemin, and the content of polyphenols by up to 9.68% using *Rhizopus japonicus* Vuillemin in combination with *Penicillium*. Conclusion: DNJ, flavonoids and tea polyphenols in fermented mulberry leaf tea can be considerably increased by inoculation with *Rhizopus japonicus* Vuillemin.

Key words: fermentation; mulberry leaf tea; DNJ; flavonoids; polysaccharides; polyphenols

中图分类号: Q815

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)19-0176-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201319037

桑叶茶(mulberry-leaf tea)是由桑叶加工制作而成的新型茶品, 目前一般采用直接烘干或自然发酵的方式生产。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]。但桑叶绿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、白藜芦醇、氧化芪三酚、 β -胡萝卜素等生物活性物质^[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

收稿日期: 2013-02-05

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

薄,比茶叶更易溶解出较多的有效成分,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、脂质过氧化物、过氧化氢及酶类所不能清除的羟自由基等^[8],具有降血压、抗氧化、防癌、抗炎、抗过敏、利尿、解痉、镇咳、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。

目前对采用人工接种发酵生产桑叶茶及其对其中DNJ、黄酮、多糖、多酚等主要功能成分含量影响的研究鲜有报道。本实验分别以4种菌单独或组合发酵桑叶制得的桑叶茶,分析其中DNJ、黄酮、多糖、多酚4种功能成分含量的变化,旨在为桑叶的深度开发利用提供数据。

1 材料与方法

1.1 材料与菌种

自然发酵桑叶茶、人工发酵桑叶茶由本实验室自制。

黑曲霉(*Aspergillus niger*)GSICC 60108、青霉(*Penicillium*)GSICC 61603 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4种菌种的安全等级均高,其生物危害程度为4类,在通常情况下不会引起人类或者动物疾病。

1.2 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(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。

1.3 方法

1.3.1 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10mL菌液 10^7 CFU/mL(自然发酵只加10mL无菌水),复揉,28℃发酵5h,微波干燥,制得桑叶茶。

1.3.2 DNJ的测定

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1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。

1.3.3 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。

1.3.4 多糖含量测定

取桑叶茶粉末0.250g于100mL的玻璃广口瓶中,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^[21]测定多糖含量。

1.3.5 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》^[22]进行测定。

1.4 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

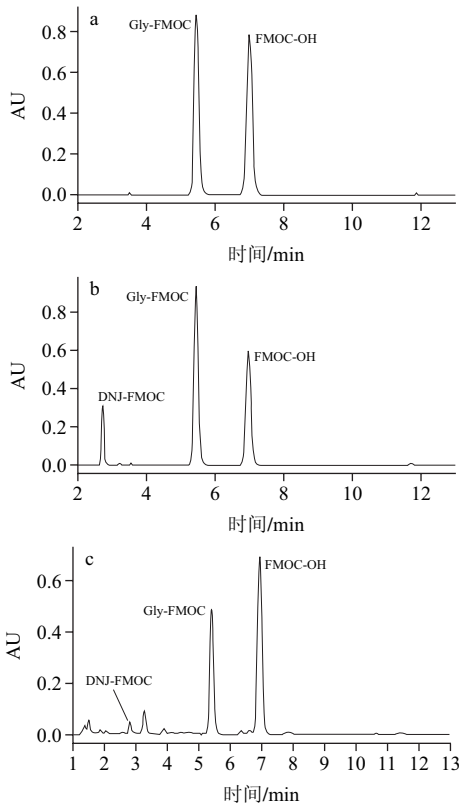
2.1 各活性成分标准曲线线性回归方程及相关系数

按照1.3节的实验方法对不同质量浓度标准溶液进行测定,以各标准溶液的质量浓度(μ g/mL)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线并得到线性回归方程,结果如表1所示,各标准曲线的相关系数均大于0.9990,线性关系良好,可用于样品中相关活性成分的测定。

表1 各标品的线性方程和相关系数
Table 1 Linear regression equations and correlation coefficients for standard samples

成分	线性回归方程	相关系数 r	线性范围(μ g/mL)
DNJ	$Y=15776X-70392$	0.9996	0~480
葡萄糖	$Y=11.622X-0.0031$	0.9997	0~720
芦丁	$Y=10.909X-0.0021$	0.9998	0~100
没食子酸	$Y=0.0208X+0.0034$	0.9998	0~50

2.2 DNJ标准品和样品的色谱图



a. 空白; b. DNJ标准品; c. 桑叶茶样品; Gly-FMOC为9-苄基氯甲酸甲酯和甘氨酸衍生物; FMOC-OH为9-苄基醇; DNJ-FMOC为DNJ衍生物。

图1 桑叶茶样品色谱图

Fig.1 Chromatogram of mulberry leaf tea samples

将DNJ经衍生化后上高效液相色谱仪进行测定,结果见图1。由图1b可知,在本实验条件下, DNJ衍生物DNJ-FMOC的保留时间为2.731min,与Gly-FMOC和FMOC-OH的峰间距分别相差2.719min和4.243min,表明这两种物质均不干扰DNJ的测定。

2.3 单一菌种发酵桑叶茶中活性成分含量变化

分别加入黑曲霉、日本根霉、绿色木霉和青霉共 10^7 CFU/mL的菌液10mL(自然发酵只加10mL无菌水)接种于桑叶中进行发酵生产桑叶茶,与自然发酵生产的桑叶茶比较其DNJ等活性成分含量的变化。结果见表2。

表2 单菌种发酵桑叶茶中活性成分含量

Table 2 Contents of DNJ, polysaccharides, flavonoids and polyphenolics in mulberry leaf tea fermented with single strains

品种	DNJ含量/(mg/100g)	多糖含量/(g/100g)	黄酮含量/(g/100g)	多酚含量/(g/100g)
自然发酵	118.92±4.97	12.49±0.20	2.75±0.02	0.62±0.02
日本根霉	131.56±2.27**	12.16±0.26	2.91±0.02**	0.57±0.02*
黑曲霉	120.42±4.25	10.68±0.22**	2.10±0.04**	0.42±0.00**
青霉	123.47±3.48	11.39±0.45**	2.73±0.01	0.55±0.05**
绿色木霉	111.28±2.95*	11.35±0.53**	2.35±0.02**	0.47±0.00**

注:以干质量计;*.与自然发酵对比,差异显著($P < 0.05$);**.与自然发酵对比,差异极显著性($P < 0.01$)。下同。

由表2可知,用绿色木霉发酵所得桑叶茶中DNJ含量为111.28mg/100g,与自然发酵得到的桑叶茶比较,下降了6.42%,且有显著性差异($P < 0.05$);而日本根霉、黑曲霉、青霉发酵后得到的桑叶茶中DNJ含量均上升,特别是日本根霉发酵后DNJ含量为131.56mg/100g,与自然发酵的桑叶茶比较增加10.63%,具有极显著差异($P < 0.01$)。

与自然发酵比较,4种单一菌种发酵桑叶茶中多糖含量均下降,其中黑曲霉、青霉、绿色木霉发酵的桑叶茶中多糖含量与自然发酵的比较分别下降了14.49%、8.81%、9.13%,均具有极显著性差异($P < 0.01$);而日本根霉发酵桑叶茶中多糖仅下降了2.64%,无显著性差异($P > 0.05$)。

与自然发酵比较,用日本根霉发酵桑叶茶中黄酮含量增加了5.82%,有极显著性差异($P < 0.01$);而黑曲霉、青霉、绿色木霉3种菌发酵桑叶茶中黄酮含量分别降低了23.64%、0.73%、14.55%,其中黑曲霉、绿色木霉发酵的桑叶茶中黄酮含量下降有极显著差异($P < 0.01$);而青霉发酵后黄酮含量下降无显著性差异($P > 0.05$)。

与自然发酵比较,用日本根霉、黑曲霉、青霉、绿色木霉发酵桑叶茶中的多酚含量分别降低了8.06%、32.26%、11.29%、24.19%,其中日本根霉发酵桑叶茶中多酚含量下降相对较少,但也有显著性差异($P < 0.05$),而黑曲霉、青霉、绿色木霉发酵的桑叶茶中多酚含量下降有极显著性差异($P < 0.01$)。

综合单一菌种发酵实验的结果可知,与自然发酵比较,采用日本根霉发酵后所得桑叶茶中DNJ、黄酮含量有极显著增加;而多糖、多酚含量虽然有所下降,但比实验的其他菌种发酵后桑叶茶中这两种成分的降低很多。因此,从对发酵桑叶茶功能成分影响来看,单一菌种发酵以日本根霉较好。

2.4 菌种两两混合发酵桑叶茶对DNJ等功能成分含量的影响

分别将黑曲霉、日本根霉、绿色木霉和青霉两两混合(比例为1:1)共 10^7 CFU/mL菌液10mL(自然发酵只加10mL无菌水)接种于桑叶中进行发酵生产桑叶茶,与自然发酵生产的桑叶茶比较DNJ等功能成分含量的变化。结果见表3。

表3 两种菌种混合发酵桑叶茶中功能成分含量

Table 3 Contents of DNJ, polysaccharides, flavonoids and polyphenolics in mulberry leaf tea fermented with mixtures of two strains

品种	DNJ含量/(mg/100g)	多糖含量/(g/100g)	黄酮含量/(g/100g)	多酚含量/(g/100g)
自然发酵	118.92±4.97	12.49±0.20	2.75±0.02	0.62±0.02
日本根霉+绿色木霉	126.18±7.56	11.38±0.55**	2.55±0.07**	0.57±0.02*
青霉+绿色木霉	122.12±2.42	11.39±0.45**	2.89±0.08*	0.67±0.05*
日本根霉+青霉	112.04±1.93	11.44±0.54**	2.84±0.12	0.68±0.02*
黑曲霉+绿色木霉	124.23±7.91	12.56±0.31	2.76±0.03	0.53±0.02*
黑曲霉+青霉	123.74±3.71	11.86±0.13**	2.50±0.03**	0.53±0.01*
黑曲霉+日本根霉	116.15±6.48	12.34±0.53	2.82±0.04	0.54±0.02*

由表3可知,用日本根霉+绿色木霉、青霉+绿色木霉、黑曲霉+绿色木霉、黑曲霉+青霉混合发酵的桑叶茶中DNJ含量与自然发酵比较均有一定增加,但无显著性差异($P>0.05$);而经日本根霉+青霉、日本根霉+黑曲霉发酵的桑叶茶中DNJ含量与自然发酵比较有轻微降低,但无显著性差异($P>0.05$)。而由日本根霉、黑曲霉、青霉单独发酵生产的桑叶茶中DNJ含量均上升,而将它们两两混合后发酵生产的桑叶茶中DNJ含量却无此变化。表明这些菌种两两混合发酵对桑叶茶DNJ增加并无协同作用,反而可能具有一定的拮抗作用。

黑曲霉+绿色木霉发酵的桑叶茶中多糖含量与自然发酵相比增加了0.56%,日本根霉+黑曲霉发酵的下降了1.20%,但差异无显著性($P>0.05$);日本根霉+绿色木霉、青霉+绿色木霉、日本根霉+青霉、黑曲霉+青霉发酵的桑叶茶多糖含量分别下降了8.89%、8.81%、8.41%、5.04%,有极显著性差异($P<0.01$)。而用4种菌单独发酵的桑叶茶中多糖含量仅日本根霉发酵的与自然发酵比较下降差异无显著性,而其他3种菌发酵的桑叶茶多糖含量下降均具有极显著性差异。表明这4种菌两两混合后发酵生产桑叶茶与单独接种一样,会导致其中多糖含量下降。

经日本根霉+绿色木霉、黑曲霉+青霉发酵桑叶茶中黄酮含量与自然发酵比较分别下降了7.27%和9.09%,有极显著性差异($P<0.01$);青霉+绿色木霉、日本根霉+青霉、黑曲霉+绿色木霉、日本根霉+黑曲霉发酵后桑叶茶中黄酮含量与自然发酵比较分别增加了5.09%、3.27%、0.36%、2.54%,除青霉+绿色木霉发酵的增加有显著性差异($P<0.05$)外,其他发酵的差异不显著。而当用4种菌单独发酵的桑叶茶中,除日本根霉发酵的桑叶茶中黄酮明显增加外,其余3种菌发酵的桑叶茶中黄酮含量均下降。实验结果表明,这4种菌两两混合发酵对桑叶茶中黄酮含量有下降的作用。

用青霉+绿色木霉、日本根霉+青霉发酵后的桑叶茶中多酚含量与自然发酵比较分别增加了8.06%、9.68%,均有显著性差异($P<0.05$);日本根霉+绿色木霉、黑曲霉+绿色木霉、黑曲霉+青霉、日本根霉+黑曲霉发酵桑叶茶中多酚含量分别降低了8.06%、14.52%、14.52%、12.90%,均具有显著性差异($P<0.05$)。而用4种菌单独发酵的桑叶茶中多酚含量与自然发酵比较均降低,其中日本根霉发酵的下降相对较少。实验结果表明,如用青霉+绿色木霉、日本根霉+青霉两两混合发酵对桑叶茶中多酚含量的增加有一定的协同作用。

2.5 3种菌种混合发酵桑叶茶对DNJ等功能成分含量变化

分别将黑曲霉、日本根霉、绿色木霉和青霉3种混合(比例为1:1:1)共 10^7 CFU/mL菌液10mL(自然发酵只加10mL无菌水)接种于桑叶中进行发酵生产桑叶茶,与自然发酵生产的桑叶茶比较其中DNJ等功能成分含量的变化。结果见表4。

表4 3种菌种混合发酵桑叶茶中功能成分含量

Table 4 Contents of DNJ, polysaccharides, flavonoids and polyphenolics in mulberry leaf tea fermented with mixtures of three strains

品种	DNJ含量/(mg/100g)	多糖含量/(g/100g)	黄酮含量/(g/100g)	多酚含量/(g/100g)
自然发酵	118.92±4.97	12.49±0.20	2.75±0.02	0.62±0.02
黑曲霉+绿色木霉+青霉(A)	124.18±2.13	11.60±0.13*	2.70±0.14	0.54±0.00**
绿色木霉+日本根霉+青霉(B)	125.11±5.37	10.75±0.44**	2.52±0.03**	0.55±0.00**
黑曲霉+绿色木霉+日本根霉(C)	128.55±8.19*	11.12±0.38**	2.29±0.05**	0.48±0.01**
黑曲霉+日本根霉+青霉(D)	112.03±1.62	11.32±0.80**	2.50±0.00**	0.58±0.01**

由表4可知,经A、B、C这3种菌种混合发酵生产的桑叶茶中DNJ含量与自然发酵得到的桑叶茶比较,分别增加了4.42%、5.21%、8.10%,其中经C混合发酵得到的桑叶茶中DNJ与自然发酵的比较具有显著性差异($P<0.05$);而D发酵得到的桑叶茶中DNJ含量与自然发酵的比较降低了5.79%,但无显著性差异($P>0.05$)。而当用日本根霉、黑曲霉、青霉发酵生产的桑叶茶中DNJ含量均上升,而将它们3种菌混合发酵生产的桑叶茶中DNJ含量虽有增加,但不如单独接种日本根霉增加的多,进一步证明它们混合发酵对桑叶茶中DNJ增加的影响无协同效应,而是可能具有拮抗作用。

用A、B、C、D发酵的桑叶茶中多糖含量与自然发酵比较分别降低了7.12%、13.93%、10.97%、9.37%,差异具有极显著性($P<0.01$)或显著性($P<0.05$)。而用4种菌单独发酵的桑叶茶中多糖含量仅日本根霉发酵的与自然发酵比较下降差异无显著性,而其他3种菌发酵的桑叶茶多糖含量下降均具有极显著性差异。表明这4种菌三三混合后发酵生产桑叶茶与单独接种一样,会导致其中多糖含量下降,而且它们的这种降低作用可能具有协同性。

经A、B、C、D发酵桑叶茶中黄酮含量与自然发酵比较分别下降了1.82%、8.36%、16.73%、9.09%,除A外,差异均有极显著性($P<0.01$)。而当用4种菌单独发酵得到的桑叶茶中,日本根霉发酵的桑叶茶中黄酮明显增加,其余3种菌发酵的桑叶茶中黄酮含量均下降。表明,这4种菌三三混合发酵对桑叶茶中黄酮含量可能具有协同的下降作用。

经A、B、C、D发酵后桑叶茶中多酚含量与自然发酵比较分别降低了12.90%、11.29%、22.58%、6.45%,均有极显著性差异($P<0.01$)。而用4种菌单独发酵的桑叶茶中多酚含量与自然发酵比较也是降低的,其中日本根霉发酵的下降相对较少。表明,用4种菌单独或三三混合发酵都将导致生产的桑叶茶中多酚含量下降。

3 结论

3.1 与自然发酵比较,单独接种这4种菌发酵生产桑叶茶中以接种日本根霉可使其中DNJ含量达到131.56mg/100g,比自然发酵的增加10.63%;而将4种菌

两两混合发酵而生产的桑叶茶,其中DNJ含量未受到影响;而将黑曲霉+绿色木霉+青霉、绿色木霉+日本根霉+青霉、黑曲霉+日本根霉+青霉3种菌种混合发酵生产的桑叶茶中DNJ含量比自然发酵的有一定增加,但增加得不如日本根霉发酵的多。

3.2 与自然发酵比较,单独接种4种菌发酵生产桑叶茶中,除接种日本根霉生产的桑叶茶多糖含量无明显变化外,其余3种菌均使发酵桑叶茶多糖含量下降;将4种菌两两混合接种发酵生产的桑叶茶中,只有黑曲霉+绿色木霉和日本根霉+黑曲霉发酵的桑叶茶中多糖含量未受到影响,其余的菌种两两混合发酵都使桑叶茶中多糖含量下降;而将4种菌三三混合发酵均可使生产的桑叶茶中多糖含量明显下降。

3.3 与自然发酵比较,单独接种4种菌发酵生产桑叶茶中,除用日本根霉发酵桑叶茶中黄酮增加了5.82%,青霉发酵对其中黄酮含量无影响外,另2种菌均使发酵桑叶茶中黄酮含量降低;将4种菌两两混合发酵生产桑叶茶,除青霉+绿色木霉发酵的可使黄酮含量增加5.09%外,其余的对发酵桑叶茶中黄酮含量无影响或使其下降;将4种菌三三混合发酵生产桑叶茶,除黑曲霉+绿色木霉+青霉对其中黄酮含量无影响外,其余的均使桑叶茶中黄酮含量下降。

3.4 与自然发酵比较,单独接种4种菌发酵生产桑叶茶可使其中多酚含量下降,其中日本根霉发酵桑叶茶中多酚含量下降8.06%,相对较少;将4种菌两两混合发酵生产桑叶茶,除青霉+绿色木霉、日本根霉+青霉发酵后的桑叶茶中多酚含量增加,其中日本根霉+青霉发酵的增加9.68%,较多,其余的使发酵桑叶茶中多酚含量降低;将4种菌三三混合发酵生产的桑叶茶中多酚含量均明显下降。

通过对上述研究结果的分析发现,用日本根霉单独发酵得到的桑叶茶中DNJ与自然发酵比较增加了10.63%,多糖含量未受到影响,黄酮含量增加了5.82%,多酚含量下降了8.06%,但与其他菌发酵的比较下降是最少的;经黑曲霉发酵后黄酮、多糖、多酚含量均分别下降了23.64%、14.49%、32.26%,是下降最高的。DNJ是桑叶茶中最主要的功能性成分。因此,认为日本根霉是在所用的实验菌种中保证发酵桑叶茶功能性质最好的菌种。

本实验在以后的研究工作中,在保证桑叶茶安全性的前提下,还将进一步筛选其他的微生物与日本根霉共同作用,期望能进一步提高DNJ等功能成分含量,使发酵桑叶茶成为人们喜爱的、有明显保健作用的饮品。

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] 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.
- [22] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 8313—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.