

茶叶中蛋白质含量的测定

张贤忠^{1,2}, 刘铁兵^{1,2*}, 郭小青¹, 尹新哲¹

(1. 浙江科技学院生物与化学工程学院, 浙江杭州 310023; 2. 安徽省宣城市环境保护科学研究所, 安徽宣城 242001)

摘要 [目的] 了解茶叶中蛋白质的含量。[方法] 研究了 Folin-酚检测法测定蛋白质的基本原理、试剂的制备及配制, 以绿茶的嫩叶粉、老叶粉和茶叶提取物为检测样品, 选用 Folin-酚的检测方法对茶叶中的蛋白质含量进行了检测。[结果] Folin-酚法测定茶叶中蛋白质含量的线性方程为 $y = 0.6376x + 0.0435$, 线性相关系数为 0.9994, 绿茶中蛋白质的含量分别为嫩叶粉 9 234.8 mg/kg、老叶粉 4 125.6 mg/kg、茶叶提取物 26 508.8 mg/kg。[结论] 研究表明, Folin-酚法测定茶叶中蛋白质含量的原理科学、方法成熟, 茶叶中蛋白质含量丰富, 可以进行有效的应用。

关键词 茶叶; 蛋白质; 测定; Folin-酚检测法

中图分类号 S571 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)21-09058-02

Determination of Protein in Tea

ZHANG Xian-zhong et al (School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou, Zhejiang 310023)

Abstract [Objective] To understand the content of protein in tea. [Method] The basic principle of Folin-phenol detection method, the reagent preparation and compounding solvent were studied. With tea extracts, tea shoot powder and older tea powder as samples, the protein content in tea was determined by Folin-phenol method. [Result] The linear equation is $y = 0.6376x + 0.0435$, and the linear correlation coefficient is 0.9994, the content of protein in green tea respectively, older leaves is 4 125.6 mg/kg, tender shoot tea is 9 234.8 mg/kg, tea extracts is 26 508.8 mg/kg. [Conclusion] The content of protein is rich in tea and Folin-phenol method can be applied effectively.

Key words Tea; Protein; Determination; Folin-phenol

茶叶是我国的传统食品和农产品, 营养丰富、保健功能独特。蛋白质的分析方法有凯氏定氮法^[1]、考马斯亮蓝法^[2]、Folin-酚试剂法^[3]、紫外吸收光谱法^[4]等。其中 Folin-酚法是双缩脲法的发展, 反应的第一步涉及到在碱性溶液中铜-蛋白质复合物的形成, 然后该复合物去还原磷钨酸-磷钼酸试剂 (Folin 氏剂), 产生深蓝色 (钼蓝和钨蓝混合物)。Folin-酚法灵敏度高, 较双缩脲法灵敏 100 倍。笔者以嫩茶叶粉、老茶叶粉和茶叶提取物为原料, 选用 Folin-酚试剂法对其蛋白质含量进行了检测。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂及配制。标准牛蛋白血清溶液: 称取 0.089 mg 牛血清蛋白 (上海博奥生物科技有限公司), 加蒸馏水到 50 ml, 则配成 1.798 mg/ml 的标准牛血清蛋白溶液。

Folin-酚试剂甲由下述 4 种溶液配制而成: 4% 碳酸钠 (AR, 上海虹光化工厂) 溶液、0.2 mol/L 氢氧化钠溶液、1% 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (AR, 杭州萧山化学试剂厂) 溶液、2% 酒石酸钾钠 (AR, 上海美兴化工有限公司) 溶液。在使用前, 将 4% 碳酸钠溶液和 0.2 mol/L 氢氧化钠溶液等体积混合成碳酸钠-氢氧化钠溶液。将 1% 硫酸铜与 2% 酒石酸钾钠溶液等体积混合配成硫酸铜-酒石酸钾钠溶液。然后将这 2 种溶液按 50:1 的比例混合, 即为 Folin-酚试剂甲, 现配现用。

基金项目 国家质量监督检验检疫总局、国家标准化管理委员会农业标准体系专项研究项目 [2012(5)]; 浙江省质监系统科技计划项目 (20110236); 安徽省宣城市 2011 年度科技项目。

作者简介 张贤忠 (1960-), 男, 安徽宣城人, 高级工程师, 从事环境保护的科学研究, E-mail: xchks@163.com。* 通讯作者, 正高级工程师, 从事食品农产品及环境质量安全研究, E-mail: tiebingliu@163.com。

收稿日期 2013-07-01

Folin-酚试剂乙: 在 2 L 的磨口回流装置内加入钨酸钠 ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (AR, 国药集团化学试剂有限公司) 100 g、钼酸钠 ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (AR, 合肥科华精细化工研究所) 25 g、蒸馏水 700 ml、85% 磷酸 (AR, 杭州高晶精细化工有限公司) 50 ml 和浓盐酸 100 ml, 充分沸合后以小火回流 10 h, 再加入硫酸锂 (Li_2SO_4) (AR, 上海美兴化工股份有限公司) 150 g, 蒸馏水 50 ml 及数滴液溴水 (AR, 南京化学试剂有限公司)。然后开口继续沸腾 15 min, 以驱除过量的溴。冷却后定容到 1 000 ml, 过滤, 溶液呈绿色。

用 Folin-酚试剂乙滴定标准氢氧化钠溶液 (1 mol/L 左右) 以标定 Folin-酚试剂乙的浓度。以酚酞 (AR, 上海三爱思试剂有限公司) 为指示剂。当溶液的颜色由红色变为紫红色、紫灰, 再突然转变为墨绿时, 即为终点。该试剂酸度一般为 2 mol/L 左右, 此为贮存液。也可以用氢氧化钠去滴定 Folin-酚试剂乙, 但终点较不易掌握, 此时溶液颜色由浅黄变为浅绿, 再变为灰紫为终点。使用前应予以适当稀释, 使其成为 1 mol/L 的酸, 此为 Folin-酚试剂乙使用液。

以上 2 种溶液均应装于棕色瓶内, 贮于冰箱中, 可以长期保存。

1.1.2 主要仪器。721 型可见光分光光度计, 上海和勤分析仪器有限公司; 分析天平, 上海精密仪器仪表有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品的处理。称取嫩茶叶粉 0.628 6 g, 老茶叶粉 0.680 0 g, 老茶叶提取物粉 0.670 6 g, 分别放入 3 个 100 ml 的烧杯中, 加沸水 80 ml, 加盖, 摇匀, 浸泡 2 h, 然后分别过滤, 将滤液加入到 100 ml 的容量瓶, 用蒸馏水定容, 备用。

1.2.2 标准曲线的绘制及样品测定。取 10 支试管, 编号后, 分别加入 0.0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml 标准牛血清蛋

白质溶液,0.1 ml 嫩茶粉样品,0.1 ml 老茶粉样品,0.1 ml 老茶提取粉样品,用蒸馏水补足 1 ml。

在每支试管中用定量加样器加入 5 ml 甲液,混匀,于 30 ℃ 下放置 10 min。在每支试管中喷射加入 0.5 ml 乙液,立即振荡混匀,在 30 ℃ 下保温 30 min。准确到 30 min 后,以不加标准蛋白试管中的溶液为空白,在 650 nm 下用 1 cm 光程的比色杯对系列标准蛋白溶液进行比色,测定吸光度值。

1.2.3 蛋白质标准曲线。以蛋白质浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。计算公式如下:

$$X = \frac{C \times 6.5 \times 100 \times 1\,000}{1 \times m \times x}$$

式中, X 为样品中蛋白质的含量(mg/kg); C 为样品吸光度相当于蛋白质浓度(mg/ml); m 为样品的质量(g); x 为代表干物质的含量(%)。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的制作 按照“1.2.2”方法取蛋白标准溶液,共 6 份,测出对应的吸光值,得出线性方程为 $y = 0.637\,6x + 0.043\,5$,线性相关系数为 0.999 4。该方法线性关系较好,可用于茶叶中蛋白质的定量分析。

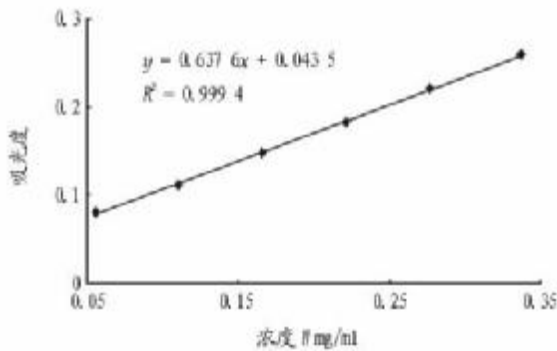


图1 蛋白质检测的标准曲线

(上接第 9057 页)

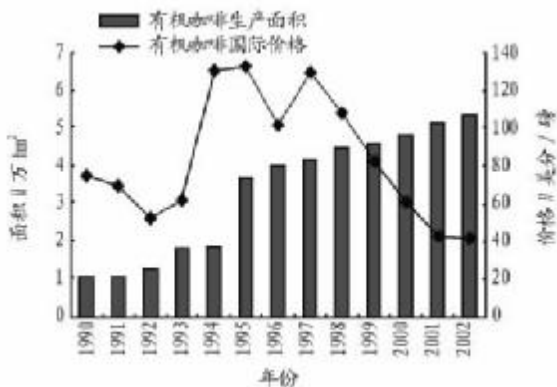


图2 1990~2002 年世界有机咖啡产量与价格变化

3.1 建设信息服务体系,引导供需均衡发展 有机食品生产经过较长的转换期,市场信息反馈滞后,尤其对我国分散化、小规模的生产者而言,决策水平低,经营风险大。有机食品行业现有统计信息非常欠缺,市场信息平台 and 数据库笑滞后,难以有效地指导生产者进行决策,实现供需均衡发展。

2.2 蛋白质含量 检测结果表明(表 1),茶叶提取物中蛋白质的含量最高,嫩茶叶次之,老茶叶最少。因为茶叶嫩芽正处于生长的旺盛时期,故蛋白质的含量较高;而茶叶提取物是经过可溶性物质的提取和干燥、浓缩后的物质,故蛋白质含量最高;生长了 1~2 年的老茶叶中则蛋白质的含量最低。这为茶叶的营养和风味提供了保证,蛋白质的检测结果也反映了国人为什么喜爱喝嫩茶叶。

表1 样品中蛋白质的含量

样品	样品质	吸光度	样品浓度	蛋白质含量
	量//g		mg/ml	mg/kg
老茶粉	6.286 1	0.115	0.112 3	4 125.6
嫩茶粉	6.800 2	0.181	0.216 0	9 234.8
提取粉	6.706 1	0.257	0.335 3	26 508.8

3 结论

根据 Folin-酚法反应的步骤可以看到,它是在碱性溶液中铜与蛋白质复合,然后这个复合物去还原磷钼酸-磷钨酸试剂,产生深蓝色复合物,检测的灵敏度高,而不产生像凯氏定氮法那样蛋白质是由测出的氮转换而来,且可靠性好。

Folin-酚法茶叶中蛋白质含量的检测原理科学、方法成熟,不可能产生以无机氮假冒的假蛋白质事件,定量分析的线性方程为 $y = 0.637\,6x + 0.043\,5$,线性相关系数为 0.999 4,线性相关系数较好。实际样品检测的结果表明,茶叶提取物中蛋白质含量最高,嫩茶叶次之,老茶叶最少,茶叶中的蛋白质可以进行有效利用。

参考文献

[1] 李晓艳. 浅谈凯氏定氮法测定食品中蛋白质注意事项[J]. 计量与测试技术,2008,35(8):74-75.
[2] 王孝平,邢树礼. 考马斯亮蓝法测定蛋白含量的研究[J]. 天津化工,2009,23(3):40-41.
[3] 林智. 食品中蛋白质含量的测定[J]. 当代化工,2010,39(2):224-226.
[4] WILSON K,WALKER J. Principles and Techniques of Practical Biochemistry[M]. 5th ed. Cambridge:Cambridge University Press,1999.

应该构建权威的统计体系,扩大信息发布渠道,及时向生产者提供有关市场价格、供求变动、病虫害预报等多种信息服务,增强生产者科学决策和抵御风险的能力。

3.2 构建有效认证体系,加强生产与市场监管 我国有机食品市场鱼龙混杂,秩序较为混乱,大大影响了消费者的信心。应该根据消费者的信任倾向,着力于规范有机认证体系。政府要进一步建立健全法规,加大执法力度,切实加强对有机食品生产的全程监控和后期的市场监督管理,避免出现食品安全危机事件给市场带来的剧烈冲击。

参考文献

[1] 尹世久,徐迎军,陈默. 消费者有机食品购买决策行为与影响因素研究[J]. 中国人口·资源与环境,2013(7):136-141.
[2] 杰弗瑞·A·杰里,菲利普·J·瑞尼. 高级微观经济理论[M]. 王根蓓,译.2 版. 上海:上海财经大学出版社,2002:85-86.
[3] 谢玉梅,冯超. 有机农业发展和有机食品价格的国际比较[J]. 价格理论与实践,2012(5):84-85.
[4] KILIAN B,JONES C,PRATT L,et al. Is sustainable agriculture a viable strategy to improve farm income in Central America? A case study on coffee[J]. Journal of Business Research,2006,59(3):322-330.