

茶渣中蛋白质提取方法研究进展

罗发美*, 谭文翰, 刀仕强, 李绍仙, 张俊雄, 李 艳, 周恩蔡德

(国家普洱茶产品质量监督检验中心, 普洱 665099)

摘 要: 中国是茶叶生产与消费大国, 每年在生产茶多酚、茶饮料、速溶茶等产品的同时, 产生大量的剩余残渣, 这些茶渣中残留多种营养成分, 其中蛋白质含量高达 20%左右, 绝大部分是非水溶性蛋白质的谷蛋白和醇溶性蛋白, 同时研究发现茶蛋白具备降血脂、抗氧化、消除自由基及预防辐射等积极的作用; 但茶蛋白结构复杂, 对茶渣中茶蛋白的提取、纯化等均有一定的技术难度, 本文主要针对茶蛋白提取方法(碱法提取、酶法提取、复合提取法)、茶蛋白纯化及茶蛋白的特性等进行阐述, 并对存在的问题进行了讨论, 以期为茶渣中蛋白质的研究提供参考。

关键词: 茶渣; 蛋白质; 碱法提取; 酶法提取; 复合提取法; 纯化

Research progress of protein extraction method from tea residue

LUO Fa-Mei*, TAN Wen-Han, DAO Shi-Qiang, LI Shao-Xian, ZHANG Jun-Xiong, LI Yan, ZHOU En-Cai-De

(National Pu'er Tea Product Quality Supervision and Inspection Center, Pu'er 665099, China)

ABSTRACT: China is a major tea production and consumption country, and produces a large amount of residual residues every year while producing tea polyphenols, tea beverages, instant tea and other products. These tea leaves contain a variety of nutrients, among which protein content is as high as 20%, most of which are glutenin and alcohol soluble protein of non water soluble protein. At the same time, the study fiunds that tea protein has positive effects of lowering blood lipid, antioxidant, eliminating free radicals and preventing radiation. However, the structure of tea protein is complex, and there are certain technical difficulties in the extraction and purification of tea protein from tea residue. This article focused on tea protein extraction methods (alkaline extraction, enzymatic extraction, composite extraction), tea protein purification and tea protein characteristics, etc, and discussed the existing problems, so as to provide a reference for the study of protein in tea residue.

KEY WORDS: tea residue; protein; alkali extraction; enzyme extraction; compound extraction; purification

1 引 言

我国是茶叶消费大国, 2019 年我国茶叶国内销量 200 万吨^[1]。每年在生产茶多酚、茶饮料、速溶茶等产品的同时, 产生大量的剩余残渣, 但大量的废弃的茶渣仍然残留

较多的营养成分^[2]。研究数据表明, 茶渣中残留较多的是茶蛋白, 高达 20%左右, 主要是谷蛋白和醇溶性蛋白^[3]。这些茶蛋白在降血脂^[4,5]、抗氧化^[6,7]、消除自由基^[8,9]及预防辐射^[10,11]等具有积极的作用, 越来越受到研究者们青睐, 对茶渣中茶蛋白的提取、茶蛋白纯化、茶蛋白的特性等进

基金项目: 云南省科学技术厅基础研究青年项目(2016FD133)

Fund: Supported by Yunnan Provincial Science and Technology Department, Basic Research Program for Youth (2016FD133)

***通讯作者:** 罗发美, 副高级工程师, 主要研究方向为茶叶品质及安全。E-mail: 332551921@qq.com

***Corresponding author:** LUO Fa-Mei, Deputy Senior Engineer, National Pu'er tea product quality supervision and Inspection Center, Pu'er 665099, China. E-mail: 332551921@qq.com

行了研究,也有一定的文献报道。本文针对茶渣中蛋白质的碱法提取、酶法提取、复合提取法、茶蛋白的纯化及茶蛋白的特性等进行归纳整理,并对存在的问题进行了讨论,以期对茶渣中蛋白质的研究提供参考。

2 茶蛋白的提取方法

2.1 碱 法

碱法提取的原理为茶蛋白中碱溶性蛋白的含量在80%以上,碱溶性蛋白含有疏水性官能团和二硫键,碱性溶液对茶蛋白的次级键特别是氢键具有破坏作用,增加了蛋白质的溶解性,提高了蛋白质的提取率^[12]。

碱法提取工艺为:茶渣→粉碎过筛→热水浸提→过滤除杂质→碱液浸提→过滤除杂质后得粗蛋白提取液。

单一碱法提取的主要因素为碱液浓度、液固比、提取时间、提取温度4个因素。沈连清^[13]等通过正交试验证实,对蛋白质的影响从大到小依次提取时间>碱液浓度>提取温度>液固比。此外不少研究对碱法提取条件进行探讨,其中碱液浓度、液固比、提取时间、提取温度对提取率的影响详见表1。

从表1可以看出,单一碱法提取效率不高,提取效率从21.89%~77.35%,研究者们利用超声波、微波等提取技术在碱法提取的基础上进行改进。

超声波-碱法提取,利用超声波在一定范围内,产生的空化作用和机械效应增大,空化泡崩溃时间变短,茶渣中所含的物质与浸提液的接触更加充分,所以茶渣蛋白的提取效率增大。黄晓辉等^[21]以茶渣为原料,通过超声波碱法提取茶渣中的蛋白质。确定超声波碱法提取茶渣蛋白的最优工艺为超声功率为100 W、碱液浓度0.9 mol/L、浸提时间为80 min、浸提温度为55℃、超声时间40 min、料液比1:20 (g:mL),茶渣中蛋白质的提取率可达90.82%;陆晨等^[22]以茶渣为原料,采用超声波技术辅助碱法提取茶渣蛋白质,茶渣蛋白质一次提取率为86.50%,超声波-碱法提

取相对于单一碱法提取,一次提取率提高了37.2%。

微波辅助-碱法提取是利用微波能加热与样品相接触的溶剂,将所需化合物从样品基体中分离出来并进入溶剂,是在传统提取工艺的基础上强化传热、传质的一个过程。文静等^[9]采用微波辅助碱法提取茶渣蛋白,试验表明对茶蛋白提取率的影响顺序为微波提取功率>碱液浓度>微波提取时间>液料比,最佳工艺条件为微波功率630 W、碱液浓度0.4 mol/L、微波时间5 min、液料比20:1(mL:g)。在此条件下,茶蛋白最高提取率可达89.01%。Ishmael等^[23]研究了茶渣蛋白质的超声辅助碱提,并与传统的热辅助碱提进行了比较研究。超声辅助碱提的蛋白得率提高了56.83%,时间缩短了89.17%,总氨基酸含量提高了43.08%,疏水性氨基酸含量提高了35.12%,芳香族氨基酸含量提高了25%,带正电荷氨基酸含量提高了54.85%、带负电荷氨基酸含量提高了48.05%。

碱法提取茶渣中的蛋白质工艺简单,企业生产成本较低,资金和设备投入较小,适合应用于工业规模化生产,但高浓度的碱会导致蛋白的营养学特性发生变化,生成赖丙氨酸。Zhang等^[24]在碱性条件下分离水稻残渣蛋白,发现碱处理可降解胱氨酸、赖氨酸、苏氨酸和精氨酸以生成赖丙氨酸。此外,高浓度的碱液还会导致出现不良现象,如促进蛋白与糖类等之间发生美拉德反应、茶蛋白发生不可逆变性以及非蛋白类物质溶出而加大茶蛋白分离纯化的难度等,同时会对环境造成严重污染^[25]。

2.2 酶解法

酶法提取蛋白质主要使用的是蛋白酶,酶法提取的原理为通过蛋白酶降解和修饰蛋白质,使蛋白质发生降解,肽链缩短,分子量减小。在水解蛋白质的同时,蛋白酶也可将蛋白质相连的其他物质水解,从而达到提高蛋白质提取率的目的^[12]。

酶法提取的工艺为:茶渣→加水→调节pH→加酶振荡提取→加热钝化酶→离心分离→蛋白质提取液。

表 1 碱法提取条件对提取率的影响
Table 1 Influence of alkali extraction conditions on extraction rate

试验人员	提取条件				提取率/%
	碱液浓度/(mol/L)	液固比/(mL/g)	提取时间/min	提取温度/℃	
许金伟等 ^[14]	0.2	25:1	110	70	57.1
毛银等 ^[15]	0.3	30:1	60	80	77.35
李娟等 ^[16]	0.08	60:1	40	90	61.86
胡桂萍等 ^[17]	0.1	45:1	4 h	50	58.94
蔡志宁等 ^[18]	pH:11	8:1	60	60	21.89
张晓辉等 ^[19]	0.07	40:1	30	90	61.1
韩玮等 ^[20]	0.13	24.05:1	5 h	67.31	52.12

酶法提取使用的蛋白酶主要是商品化碱性蛋白酶、复合蛋白酶、中性蛋白酶等。其中碱性蛋白酶和中性蛋白酶等均属于细菌蛋白酶,但两者相比较,碱性蛋白酶的活性更高;复合蛋白酶是一种蛋白酶和肽酶的复合体,含有内切蛋白酶和外切肽酶 2 种活性,酶活范围为中性和偏酸性,主要作用于已溶出的蛋白质,使其改变为更少的肽。沈连清^[26]等采用单一酶提取法和双酶复合提取法提取茶渣中蛋白质,经验证在中性蛋白酶、碱性蛋白酶、复合蛋白酶和复合风味蛋白酶等 4 种蛋白酶中,以碱性蛋白酶提取效果最好,提取率达 34.2%,其次是复合蛋白酶为 18.63%;双酶法提取率可达 47.76%。

酶法提取的主要影响因素为酶解温度、pH、底物浓度、酶添加量、提取时间 5 个因素;李园园等^[27-29]对酶法提取条件进行探讨,酶解温度、pH、底物浓度、酶添加量、提取时间对提取效率的影响详见表 2。

在实际工作中,由于酶法提取反应条件温和,温度不宜过高,有效组分不易溶出,加上植物细胞的细胞壁对其中有效组分的溶出具有一定的阻碍作用,共同导致蛋白酶提取效果不佳,但提取后的茶蛋白溶解性和营养价值相比于碱法提取,具有多种活性的生物活性肽^[4],提取后的茶蛋白具有较广的适用范围。

2.3 复合提取法

由于单一碱法提取、酶法提取均有一定的局限性,研究者们采用复合提取法完成茶渣中蛋白质的提取,现有文献报告的主要有碱性电解水耦合酶提取、复合酶碱法提取。

碱性电解水耦合酶提取法采用电解水制备过程中阴极生成的含有 NaOH 等物质的碱性水,与传统的 NaOH 水溶液相比,强碱性电解水在制备过程中氧化还原电位(redox potential,ORP)值可达 -1000 mV 以下,具有强还原性,另外水的表面张力低,含有的活性成分性质不稳定,易逐渐恢复为普通水,因而不易对环境造成污染,较 NaOH 使用安全可靠。谭晓妍等^[30]采用碱性电解水提取后再添加碱性蛋白酶提取茶渣蛋白,优化后最佳工艺条件为:碱性电解水 pH 为 12.5,提取温度 120 °C,液固比为 40:1 (mL/g),提取时间 40 min,碱性蛋白酶酶解 pH 9.0,酶解时间 32 h,酶添加量 2500 IU/g 茶渣。在该条件下,蛋白质提取率为 83%。

复合酶碱法主要利用茶叶蛋白易溶于碱,经过碱溶后茶叶中的蛋白质溶出较多,在 pH 值改变不大的前提下添加适量的蛋白酶更有利于酶和蛋白接触,从而提高蛋白的提取效率。邹小明等^[31]采用碱溶后再进行酶解的工艺提取茶梗中蛋白,并与单一酶法、碱溶法进行比较,复合酶碱法效率最高,在该条件下蛋白质提取率为 81.83%。勒伟刚等^[29]采用以纤维素酶和半纤维素酶为主的复合酶 B 进行复合酶碱法提取,在确定的提取工艺条件下(固液比 1:35(mL/g),复合酶 B 加量 0.5%,碱浓度 0.1 N,温度 50 °C(2 h)→90 °C(2 h)),蛋白提取率达到 85.3%。

综上所述,茶渣中蛋白质的提取方法各有优劣,详见表 3,因此采用何种方法提取茶渣中蛋白质应根据应用目的和条件来确定。

表 2 酶法提取条件对提取率的影响
Table 2 Influence of enzyme extraction conditions on extraction rate

试验人员	提取条件						提取率/%
	酶种类	酶解温度/°C	pH	底物浓度	酶添加量/%	提取时间	
李园园等 ^[27]	碱性蛋白酶	60	9.5	20:1	2.5	1.5 h	56.95
于鹏亮等 ^[28]	碱性蛋白酶	60	8.7	未考察	2	90 min	20.93
靳伟刚等 ^[29]	复合酶 B	50	9.0	10%	2	4 h	74.0

表 3 蛋白质提取方法的比较
Table 3 Comparison of protein extraction methods

方法	优点	缺点
单一碱法	工艺简单,适合于工业化生产	提取效率不高,对环境造成污染
酶法	提取后蛋白质具有多种活性的生物活性肽,适用范围广	提取效率不高,成本高
复合法	蛋白质提取效率高	工艺复杂,工业化生产有一定难度

3 茶渣蛋白的纯化

茶渣蛋白分离纯化主要有：沉淀、脱色、纯化等过程。

茶叶蛋白的沉淀主要采用等电点沉淀、盐析和有机溶剂沉淀，等电点沉淀法提取率低；主要因为茶蛋白的等电位不完全一致，不能把所有蛋白都析出^[32]；中性盐沉淀方法温和，不容易产生蛋白变性现象^[33]，有机溶剂沉淀需要在低温下进行，否则容易变性^[34]。

常用脱色方法常用活性炭吸附法、有机溶剂脱色法、双氧水脱色法等；李园园^[12]比较了 3 种脱色方法，发现双氧水脱色效果优于其余 2 种方法，主要原因是活性炭对茶蛋白有一定的吸附性，有机溶剂(丙酮)因残留问题及脱色效果不及双氧水，双氧水因脱色后不易复色，将有色物质氧化的同时，自身分解为羧酸、醛和二氧化碳等物质，但由于考虑到双氧水在食品中应用的安全性，采用食品级过氧化氢酶去除茶渣蛋白中残留的过氧化氢，得到色泽较好的茶渣蛋白。倪君^[35]用电点沉淀、中性盐中和法、有机溶剂法、等电点-乙醇沉淀法对茶叶蛋白进行纯化，结果表明以硫酸铵-等电点法沉淀的效率最高，达 92.29%。但盐析脱盐所需的时间较长，纯化后的蛋白具有刺激性气味，实用性不强。

纯化过程现主要采用电泳、层析、膜分离等方法进行。电泳根据带电粒子或分子在电场中向着与其电性相反的电极移动的现象。常用的蛋白质分离技术采用聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电聚焦电泳、毛细管电泳等^[36]。层析根据被分离物与层析固定相之间的物理化学性质以及生物学性质的相互作用来进行分离。层析法的种类繁多，应用较为广泛的有凝胶过滤层析、离子交换层析、疏水层析以及亲和层析。

对于蛋白质这样的生物大分子来说，超滤是比较常用的膜分离技术^[37]。超滤是一种加压的膜分离技术，在一定的压力下使小分子溶质或溶剂穿过一定孔径的薄膜，而大分子溶质不能透过，留在膜的另一边，从而使大分子物质得到分离。膜分离技术作为蛋白质的粗提取技术有着广泛的应用。Loginov^[38]等通过超滤技术分离了亚麻籽壳中提取的多酚和蛋白质，并研究了 pH 值从 13.2~3.0 变化时对分离过程的影响，他们发现 pH 值为 4.4 时的分离效果是最好的，并且 pH 值从 13.2~4.4 逐步下降的过程中过滤速度会越来越快，并且分离度也逐步调高，通过超滤分离后的多酚纯度可以达到 76%。

王洪新^[39]对茶渣蛋白通过盐析-丙酮脱色-超滤脱盐-真空干燥的初步纯化，可得到浅灰白色的茶蛋白粉。以原料计茶蛋白的提取率为 36.8%，初步纯化得率为 91%，经测定蛋白质含量 81.5%。王忠英^[32]对酶法提取的茶蛋白通过盐析-丙酮脱色-pH7.0 磷酸盐缓冲液复溶-透析-真空干燥，得到深黄色的茶叶蛋白粉，以原料计算茶叶蛋白的提取率

为 47.76%。

茶蛋白的传统纯化过程存在操作相对比较复杂，步骤多，自动化程度不高，工艺复杂，费用较高等问题^[40]，而膜分离技术作为一种新型分离、浓缩技术，具有操作温度低、能耗消耗少、无需添加化学试剂、选择范围广、适用性强等优点^[41]，在现有研究报道中，主要是压力驱动膜在蛋白质分离上的应用，包括在蛋白质脱盐、脱醇、浓缩、分级分离等方面^[41,42]，有望在蛋白质分离中扮演越来越重要的角色。

4 茶蛋白的特性

经提取后的茶渣蛋白具有积极的作用。研究者们主要研究了茶渣蛋白在吸水性、吸油性、起泡性、稳定性、氨基酸构成、分子量分布和蛋白体外消化性、抗氧化性等方面的特性。张士康等^[43]发现茶渣蛋白在 pH 4.0 附近氮溶解指数最低，其吸水性为 4.13 g/g，吸油性为 4.86 g/g，茶蛋白具有优于大豆蛋白的乳化性、乳化稳定性、起泡性和起泡稳定性，且这 4 个功能特性几乎不受浓度影响，并分析其原因可能是由于提取过程中部分变性所致。谢蓝华^[44]证实茶蛋白在吸水性、持水力、起泡性和乳化性等方面均表现出一定特性；陆晨^[45]研究发现，碱性蛋白酶酶解后的茶蛋白具有较好的乳化性及优越的乳化稳定性，泡沫稳定性受 pH 显著影响，pH 为 7 时泡沫稳定性最好。张士康等^[46]对碱法提取的茶渣蛋白进行了研究，结果表明茶渣蛋白中氨基酸种类丰富，其中必需氨基酸含量均高于 FAO/WHO/UNU1985 年的推荐值；茶渣蛋白在十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳中分子量分布呈现 4 条主要条带，对应分子量分别为 40.54 a、30.77 k、24.09 和 20.04 kDa；茶渣蛋白的体外消化性比大豆蛋白低 20%。赵立娜等^[47,48]研究发现经酶解的 0.1 mg/mL 多肽复合物 DPPH·自由基清除率为 90.30%，1.0 mg/mL 多肽复合物羟自由基($\cdot\text{OH}$)清除率为 65.18%。在亚油酸体系中，多肽复合物的抗氧化性高于维生素 C，略低于丁基羟基甲苯(butylated hydroxytoluene, BHT)；应用在鸡肉产品中可有效抑制氧化变质，其中分子量>8000 Da 的多肽抗氧化性最强。祝子坪等^[49]经超声辅助酶解茶渣制备酶解液对 DPPH 清除率达为 85.36%，比对照活性提高了 31.87%。

茶蛋白在吸水性、吸油性、起泡性、稳定性、抗氧化性等方面均表现出较好的特性，研究发现不同提取方法得到的茶蛋白的乳化性、起泡性、吸水性等功能性质存在差异^[50]，应根据茶蛋白的应用目的选择不同的提取方法。

5 结 论

茶渣资源的综合利用，特别是茶渣中蛋白质的提取是近年来研究的热点，综上所述，单一的碱法提取、酶法

提取均有一定的局限性, 茶渣中蛋白提取率不高(50%-75%); 在碱法提取的基础上, 加以微波、超声波或者添加酶能显著提高茶渣蛋白的提取率; 茶蛋白的纯化过程有新的研究突破, 如膜分离技术, 但缺乏统一质量标准等问题, 从总体来看, 茶蛋白资源较为丰富, 应用范围广, 但在提取、纯化、应用、推广中存在实验室研究居多, 工业化生产应用较少等问题, 对工艺参数和机理等问题有待进一步研究, 随着科技发展, 各种新技术的应用, 茶渣蛋白有望实现高值化利用。

参考文献

- [1] 李佳禾. 2019 中国茶叶消费市场报告[J]. 茶世界, 2019, (11): 43-51.
Li JH. Report on China's tea consumption market in 2019 [J]. Tea world, 2019, (11): 43-51.
- [2] 宛晓春. 茶叶生物化学(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
Wan XC. Tea biochemistry (third edition) [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2003.
- [3] 黄梦姣. 茶渣深加工综合利用及咀嚼片的工艺研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2018.
Huang MJ. Research on comprehensive utilization of tea residue deep processing and chewing tablet technology [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2018.
- [4] 活泼, 黄光荣, 张晓晖, 等. 非水溶性茶叶蛋白降血脂作用的研究[J]. 茶叶科学, 2005, (2): 95-99.
Lively, Huang GR, Zhang XH, et al. Study on the hypolipidemic effect of water-insoluble tea protein [J]. Tea Sci, 2005, (2): 95-99.
- [5] 华伟. 茶蛋白降血脂及抗氧化作用的实验研究[C]. 中国疾病预防控制中心中心达能营养中心. 食物功效成分与健康——达能营养中心第九次学术年会会议论文集. 中国疾病预防控制中心中心达能营养中心: 中国疾病预防控制中心达能营养中心, 2006: 302-307.
Hua W. Experimental study of tea protein for lowering blood lipid and anti-oxidation effect [C]. China Center for Disease Control and Prevention Danone Nutrition Center. Food Efficacy Composition and Health——Proceedings of the 9th Annual Conference of Danone Nutrition Center Danone Nutrition Center of Chinese Center for Disease Control and Prevention: Danone Nutrition Center of Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2006: 302-307.
- [6] 姚慧英, 余明喜, 刘启贵, 等. 茶叶蛋白抗自由基作用的探讨[C]. '96 上海国际茶文化节组委会. '96 上海国际茶文化节茶—人体健康研讨会文集. '96 上海国际茶文化节组委会: 上海市茶叶学会, 1996: 60-61.
Yao HY, Yu MX, Liu QG, et al. Discussion on the anti-free radical effect of tea protein [C]. '96 Shanghai International Tea Culture Festival Organizing Committee. '96 Shanghai International Tea Culture Festival Tea-Human Health Seminar Collection. Organizing Committee: Shanghai Tea Society, 1996: 60-61.
- [7] 张子迪, 李宜慧, 朱彩霞, 等. 绿茶蛋白质的提取及抗氧化肽的制备研究[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(7): 202-206, 212.
Zhang ZD, Li YH, Zhu CX, et al. Study on extraction of green tea protein and preparation of antioxidant peptides [J]. Anhui Agric Sci, 2020, 48(7): 202-206, 212.
- [8] 靳伟刚, 张洋, 罗蓓琳, 等. 茶渣资源的开发与利用——茶叶蛋白肽的功能性研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(5): 52-58.
Jin WG, Zhang Y, Luo JL, et al. The development and utilization of tea residue resources-functional study of tea protein peptides [J]. Chin J Food Sci, 2011, 11(5): 52-58.
- [9] 文静, 解新安, 李雁, 等. 微波辅助碱法提取茶渣蛋白工艺及抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(5): 41-44.
Wen J, Xie XA, Li Y, et al. Microwave-assisted alkali extraction technology and antioxidant activity of tea residue protein [J]. Food Oil, 2017, 30(5): 41-44.
- [10] 李燕, 蔡东联, 夏雪君, 等. 茶蛋白液预防辐射引起的突变效应[J]. 癌变. 畸变. 突变, 2001, (1): 32-36.
Li Y, Cai DL, Xia XJ, et al. Tea protein solution prevents the mutation effect caused by radiation [J]. Carcinogen Aberrant Mutat, 2001, (1): 32-36.
- [11] 蔡东联. 茶蛋白液抗辐射效应及机理[C]. 上海市茶叶学会、上海市营养学会. 饮茶与富裕型疾病防治专题学术研讨会论文集汇编. 上海市茶叶学会、上海市营养学会: 上海市茶叶学会, 2000: 32-38.
Cai DL. Tea protein solution anti-radiation effect and mechanism [C]. Shanghai Tea Society, Shanghai Nutrition Society. Compilation of academic seminars on tea drinking and affluent disease prevention. Shanghai Tea Society, Shanghai Nutrition Society: Shanghai Tea Society, 2000: 32-38.
- [12] 李圆圆. 茶渣蛋白的酶法提取及功能性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
Li YY. Enzymatic extraction and functional properties of tea residue protein [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2013.
- [13] 沈莲清, 黄光荣, 王向阳, 等. 茶渣中蛋白质的碱法提取工艺研究[J]. 中国食品学报, 2007, (6): 108-112.
Shen LQ, Huang GR, Wang XY, et al. Study on the alkaline extraction technology of protein in tea residue [J]. Chin J Food Sci, 2007, (6): 108-112.
- [14] 许金伟, 周晓红, 张星海, 等. 正交试验法优选茶渣蛋白提取工艺研究[J]. 广州化工, 2017, 45(21): 80-82.
Xu JW, Zhou XH, Zhang XH, et al. Study on optimizing extraction technology of tea residue protein by orthogonal test method [J]. Guangzhou Chem Ind, 2017, 45(21): 80-82.
- [15] 毛银, 王彬, 朱科学, 等. 碱法提取茶渣蛋白工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(14): 36-38.
Mao Y, Wang B, Zhu S, et al. Research on the process of extracting tea residue protein by alkaline method [J]. Food Res Dev, 2013, 34(14): 36-38.
- [16] 李娟, 活泼, 杨海燕. 茶叶中非水溶性蛋白质提取工艺及功能性质的研究[J]. 浙江农业科学, 2006, (2): 150-153.
Li J, Huo P, Yang HY. Study on extraction technology and functional properties of water-insoluble proteins in tea [J]. Zhejiang Agric Sci, 2006, (2): 150-153.
- [17] 胡桂萍, 石旭平, 张国彪, 等. 茶渣蛋白提取工艺条件的优化[J]. 贵州农业科学, 2016, 44(5): 127-130, 135.
Hu GP, Shi XP, Zhang GB, et al. Optimization of extraction process conditions of tea residue protein [J]. Guizhou Agric Sci, 2016, 44(5): 127-130, 135.
- [18] 蔡志宁, 王春燕, 梁翠金, 等. 茶渣蛋白提取工艺研究[J]. 茶叶科学, 2008, (4): 309-312.
Cai ZN, Wang CY, Liang CJ, et al. Study on extraction technology of tea

- residue protein [J]. *Tea Sci*, 2008, (4): 309–312.
- [19] 张晓晖, 章克昌, 活泼, 等. 非水溶性茶蛋白的提取工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2005, (3): 64–67.
- Zhang XH, Zhang KC, Huo P, *et al.* Study on the extraction technology of water-insoluble tea protein [J]. *Food Res Dev*, 2005, (3): 64–67.
- [20] 韩玮, 杨芙莲, 董文宾, 等. 夏秋茶中茶蛋白的提取工艺研究[J]. *食品科技*, 2017, 42(2): 226–231.
- Han Wei, Yang FL, Dong WB, *et al.* Study on extraction technology of tea protein from Xiaqiu tea [J]. *Food Sci Technol*, 2017, 42 (2): 226–231.
- [21] 黄晓辉, 王颖, 林辉. 超声波提取茶渣中蛋白质的工艺研究[J]. *化学工程与装备*, 2019, (10): 4–8.
- Huang XH, Wang Y, Lin H. Study on the technology of ultrasonic extraction of protein in tea residue [J]. *Chem Eng Equip*, 2019, (10): 4–8.
- [22] 陆晨, 邹雨虹, 张士康, 等. 响应面法优化超声辅助提取茶渣蛋白质的工艺条件[J]. *食品与生物技术学报*, 2012, 31(3): 319–325.
- Lu C, Zou YH, Zhang SK, *et al.* Optimization of the ultrasonic-assisted extraction process of tea residue protein by response surface method [J]. *J Food Biotechnol*, 2012, 31(3): 319–325.
- [23] Ishmael A. Ultrasound-assisted alkali extraction of protein from tea residue and its activity evaluation [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2019.
- [24] Zhang ZL, Wang Y, Dai CH, *et al.* Alkali extraction of rice residue protein isolates: Effects of alkali treatment conditions on lysinoalanine formation and structural characterization of lysinoalanine-containing protein [J]. *Food Chem*, 2018, 261:261.
- [25] Chavan UD, McKenzie DB, Shahidi F. Functional properties of protein isolates from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) [J]. *Food Chem*, 2001, 74(2): 177–187.
- [26] 沈莲清, 黄光荣, 王向阳, 等. 茶渣中蛋白质酶法提取工艺[J]. *食品与生物技术学报*, 2006, (6): 7–12, 33.
- Shen LQ, Huang GR, Wang XY, *et al.* Enzymatic extraction process of protein in tea residue [J]. *J Food Biotechnol*, 2006, (6): 7–12, 33.
- [27] 李圆圆, 王洪新, 殷飞, 等. 响应面优化酶法提取茶渣蛋白的工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(7): 247–251.
- Li YY, Wang HX, Yin F, *et al.* Study on the technology of extracting tea residue protein by response surface optimization enzymatic method [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2013, 34(7): 247–251.
- [28] 于鹏亮. 茶渣中蛋白质和多糖的综合提取及其分离纯化[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.
- Yu PL. Comprehensive extraction and purification of proteins and polysaccharides in tea residues [D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2013.
- [29] 靳伟刚, 张洋, 罗璠琳, 等. 茶渣资源的开发与利用——茶渣中茶叶蛋白的酶法提取和酶法水解[J]. *中国食品添加剂*, 2011, (4): 54–58.
- Jin WG, Zhang Y, Luo JL, *et al.* Development and utilization of tea residue resources-enzymatic extraction and enzymatic hydrolysis of tea protein in tea residue [J]. *China Food Addit*, 2011, (4): 54–58.
- [30] 谭晓妍, 孙君社, 王慧娟, 等. 碱性电解水耦合酶提取茶渣蛋白工艺优化[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(15): 213–218, 227.
- Tan XY, Sun JS, Ning HJ, *et al.* Optimization of the process of extracting tea residue protein by alkaline electrolyzed water coupling enzyme [J]. *Food Ind Sci Technol*, 2018, 39(15): 213–218, 227.
- [31] 邹小明, 谢骞, 朱立成, 等. 茶叶蛋白的提取工艺研究[J]. *江苏农业科学*, 2007, (1): 169–171.
- Zou XM, Xie Q, Zhu LC, *et al.* Study on the extraction process of tea protein [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2007, (1): 169–171.
- [32] 王忠英. 茶叶中蛋白的提取及理化性质的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2006.
- Wang ZY. Study on the extraction of protein from tea and its physical and chemical properties [D]. Hangzhou: Zhejiang Technology and Business University, 2006.
- [33] 万婧, 王明繁. 蛋白酶的纯化方法及其研究进展[J]. *粮食与食品工业*, 2012, 19(4): 38–40.
- Wan J, Wang MF. Protease purification methods and research progress [J]. *Food Food Ind*, 2012, 19(4): 38–40.
- [34] 周艳利. 酶的分离纯化过程中的沉淀分离技术[J]. *饮料工业*, 2007, (4): 1–3.
- Zhou YL. Precipitation separation technology in enzyme separation and purification process [J]. *Beverage Ind*, 2007, (4): 1–3.
- [35] 倪君. 绿茶中非水溶性蛋白及酶解效果的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- Ni J. Research on water-insoluble protein and enzymolysis effect in green tea [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2007.
- [36] 王启迪, 罗坚, 全灿. 蛋白质纯化技术研究进展[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(32): 6389–6392, 6223.
- Wang QD, Luo J, Quan C, *et al.* Research progress of protein purification technology [J]. *Prog Mod Biomed*, 2017, 17(32): 6389–6392, 6223.
- [37] Zydne AL. Membrane technology for purification of therapeutic proteins[J]. *Biotechnol Bioeng*, 2009, 103(2): 227–230.
- [38] Loginov M, Boussetta N, Lebovka N, *et al.* Separation of polyphenols and proteins from flaxseed hull extracts by coagulation and ultra filtration [J]. *J Membrane Sci*, 2013, 442(1–2): 177–186.
- [39] 王洪新, 胡昌云. 茶叶蛋白质提取及初步纯化研究[J]. *食品工业科技*, 2004, (12): 69–71, 73.
- Wang HX, Hu CY. Study on tea protein extraction and preliminary purification [J]. *Food Ind Sci Technol*, 2004, (12): 69–71, 73.
- [40] Chan R, Chen V. Characterization of protein fouling on membranes: opportunities and challenges [J]. *J Membrane Sci*, 2004, 242: 169–188.
- [41] Arunima S, Bijay PT, Mahendra K, *et al.* Membrane-based techniques for the separation and purification of proteins: An overview [J]. *Adv Coll Interf Sci*, 2009, 145: 1–22.
- [42] Wakeman RJ, Williams CJ. Additional techniques to improve microfiltration [J]. *Separat Purif Technol*, 2002, 26: 3–18.
- [43] 张士康, 陆晨, 朱科学, 等. 茶渣蛋白功能特性研究[J]. *中国茶叶加工*, 2012, (3): 31–34, 7.
- Zhang SK, Lu C, Zhu S, *et al.* Study on the functional characteristics of tea residue protein [J]. *Chin Tea Process*, 2012, (3): 31–34, 7.
- [44] 谢蓝华, 杜冰, 张嘉怡, 等. 不同提取方法对茶渣蛋白功能特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(21): 130–133.
- Xie LH, Du B, Zhang JY, *et al.* The effect of different extraction methods on the functional characteristics of tea residue protein [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 33(21): 130–133.
- [45] 陆晨. 茶渣中蛋白质的提取、脱色及改性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- Lu C. Study on extraction, decolorization and modification of protein in tea residue [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012.

- [46] 张士康, 陆晨, 朱科学, 等. 茶渣蛋白理化特性研究[J]. 中国茶叶加工, 2012, (2): 38–40.
Zhang SK, Lu C, Zhu S, *et al.* Study on the physical and chemical properties of tea residue protein [J]. Chin Tea Process, 2012, (2): 38–40.
- [47] 赵立娜, 汪少芸, 饶平凡, 等. 茶渣蛋白的提取、有限酶解及抗氧化性质研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(2): 53–60.
Zhao LN, Wang SY, Rao PF, *et al.* Study on extraction, limited enzymolysis and antioxidant properties of tea residue protein [J]. Chin J Food Sci, 2012, 12(2): 53–60.
- [48] 赵立娜, 汪少芸, 江勇, 等. 茶渣蛋白有限酶解条件优化及在脂-肉体系中的应用[J]. 中国食品学报, 2013, 13(5): 92–99.
Zhao LN, Wang SY, Jiang Y, *et al.* Optimization of limited digestion conditions of tea residue protein and its application in fat-meat system [J]. Chin J Food Sci, 2013, 13(5): 92–99.
- [49] 祝子坪, 欧燕清, 刘家全等. 超声辅助酶解茶渣蛋白制备抗氧化活性肽[J]. 分子植物育种, 2020, 18(2): 573–578.
Zhu ZP, Ou YQ, Liu JQ, *et al.* Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis of tea residue protein to prepare antioxidant active peptides [J]. Molecul Plant Breed, 2020, 18(2): 573–578.
- [50] 李永富. 茶渣蛋白和茶渣多肽的制备及性质的初步研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2015.
Li YF. Preliminary study on the preparation and properties of tea residue protein and tea residue polypeptide [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2015.

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介



罗发美, 副高级工程师, 主要研究方向为茶叶品质及安全。
E-mail: 332551921@qq.com