

不同茶叶水提取物抗氧化活性研究

王玉婷^{1,2}, 吕佳佳^{1,2}, 杨新河^{1*}, 肖 畅^{1,2}

(1. 湖北工程学院 生命科学技术学院, 湖北 孝感 432000; 2. 湖北大学 生命科学学院, 湖北 武汉 430062)

摘 要:采用 ABTS、DPPH、FRAP 和总还原力等 4 种体系评价 9 种茶叶水提取物的抗氧化活性, 结果表明, 不同茶叶水提取物均具有抗氧化能力, 但抗氧化活性差异明显, 在 4 种评价体系中抗氧化能力最强的均为五峰毛尖茶。相关性分析结果表明, 总多酚和黄酮含量及茶汤 L^* 值的高低与抗氧化活性大小呈极显著正相关, 水溶性糖含量及茶汤 a^* 、 b^* 和 ΔE 值的高低与抗氧化活性大小呈极显著负相关。

关键词:茶叶; 成分; 色差; 抗氧化活性; 相关性分析

中图分类号: S571.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-4824(2020)06-0015-04

茶叶制成的茶饮料, 是世界三大饮料之一^[1]。茶叶含有 450 多种有机化合物^[2], 15 种以上的无机矿物质^[3], 而这些成分有益于人体的健康^[4], 例如能够改善肠道、调节免疫功能、降血糖血脂、减肥、抗癌、抗衰老等^[5-9]。茶叶抗氧化作用被认为是其保健抗癌最重要的机理^[10], 与其含有的茶多酚、茶多糖及黄酮等生化成分密切相关^[11]。

对于茶叶抗氧化作用研究, 虽然已有一些报道, 但研究还不够: 一是茶叶抗氧化作用研究大多局限于单一茶类, 尚未见对红茶、黄茶、绿茶、黑茶、白茶和乌龙茶这几种茶类抗氧化作用同时进行比较研究的报道; 二是茶叶抗氧化作用与其含有茶多酚、茶多糖、黄酮、茶黄素等抗氧化物密切相关, 但缺少同时考察茶叶提取物中多种生化成分的含量与其抗氧化作用相关性的研究报道; 三是尽管对茶叶汤色品质采用色差分析的研究较多^[12], 但几乎没有茶叶的颜色参数与抗氧化活性相关性的研究报道。

本研究选取不同茶类的 9 种茶叶, 采用 DPPH 法、ABTS 法、铁离子还原 FRAP 法和总还原力法评价其水提取物的抗氧化活性, 采用比色法测定其生化成分总多酚、水溶性糖和黄酮的含量, 并用色差仪测定茶汤色值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE , 以期

探讨茶叶抗氧化活性与生化成分和色差值的相关性, 为深入研究茶叶的抗氧化活性及深度开发利用茶叶提供参考。

1 实验部分

1.1 材料与试剂、仪器

茶叶样品: 五峰毛尖茶, 湖北采花茶业有限公司; 普洱茶生茶, 云南滇南古韵茶业有限公司; 黄茶, 湖北鹿溪玉贡茶业有限公司; 乌龙茶, 福建省安溪铁观音集团有限公司; 红茶, 广东英德市国畅茶业有限公司; 米砖茶, 湖北省赵李桥茶厂有限公司; 普洱茶熟茶, 云南滇南古韵茶业有限公司; 康砖茶, 四川雅安吉祥茶业有限公司; 青砖茶, 湖北省赵李桥茶厂有限公司。

主要试剂: 1, 1-二苯基-2-苦基肼自由基 DPPH, 梯希爱(上海)化成工业发展有限公司; 2, 2-联氨-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸) ABTS, 麦克林; 2, 4, 6-三(2-吡啶基)三嗪 TPTZ, 合肥博美生物科技有限责任公司。

主要仪器: HH-6 数显恒温水浴锅, 常州市亿能实验仪器厂; GTR16-2 型高速冷冻离心机, 北京时代北利离心机有限公司; RE-52AA 旋转蒸发仪, 上海亚荣生化仪器厂; V-1000 型可见分光光度计,

收稿日期: 2020-09-12

作者简介: 王玉婷(1996-), 女, 湖北武汉人, 湖北工程学院生命科学技术学院硕士研究生。

杨新河(1974-), 男, 湖北赤壁人, 湖北工程学院生命科学技术学院教授, 博士, 本文通信作者。

翱艺仪器(上海)有限公司;PerkinElmer EnSpire 多功能酶标仪,珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 茶叶水提取物的制备

分别取适量茶叶,研磨后过 40 目筛,以 1:10 (g/mL)的料液比,称取 20 g 固体粉碎茶叶样品置于装有 200 mL 蒸馏水的锥形瓶中,将其移入 95 ℃ 恒温水浴锅,提取 15 min。浸提后离心取上清液,滤渣重复浸提、离心后合并 2 次上清液并旋转浓缩至约 80 mL。

1.2.2 抗氧化能力评价

ABTS⁺· 的清除能力:参照 Thaipong 等^[13]的方法,并稍作修改于 734 nm 处测定样品吸光值为 A_1 ,无水乙醇代替 ABTS⁺· 溶液测得样品空白 A_2 ,蒸馏水代替样品测定对照 A_0 。

ABTS⁺· 清除率(%) = $[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ 。

DPPH· 的清除能力:参照杨新河等^[14]的方法,并稍作修改于 518 nm 处测定样品吸光值为 A_1 ,无水乙醇代替 DPPH 溶液测得样品空白 A_2 ,蒸馏水代替样品测定对照 A_0 。

DPPH· 清除率(%) = $[1 - (A_1 - A_2) / A_0] \times 100\%$ 。

FRAP 值:参照 Thaipong 等^[13]的方法,并稍作修改于 593 nm 处测定。制作 FeSO₄ 标准液回归方程: $y = 3.0112x + 0.0681$, $R^2 = 0.9966$ 。以达到同样吸光值时所需的标准液浓度表示茶样的抗氧化能力。

总还原力:参照 Lee 等^[15]的方法,并稍作修改后于 700 nm 处测定。每个样品平行测定 3 次。

1.2.3 抗氧化成分的测定

按照 GB/T 8313—2018《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》^[16]测定不同茶叶中的总多酚含量。采用蒽酮-硫酸法测定其水溶性糖含量。参照硝酸铝显色法测定茶叶中黄酮含量^[14]。使用 CR-400 色差仪测定茶汤色差值,以蒸馏水作为空白对照溶液,测定茶叶样品溶液与蒸馏水的色差值 L^* 、 a^* 、 b^* 、 ΔE 。

1.2.4 数据分析

所有实验重复测定 3 次,并使用 SPSS 18.0 软件,对所测数据进行方差分析、最小显著差异多重比较法、相关性等分析。其中采用 LSD 法检测差异显著性,当 $P < 0.05$ 时,说明所测数据具有

统计学意义。

2 结果与分析

2.1 茶叶水提取物抗氧化活性分析

2.1.1 茶叶水提取物清除 ABTS⁺· 及 DPPH· 的能力

由表 1 可以看出,在 9 种茶叶水提取物中,清除 ABTS⁺· 及 DPPH· 的 IC₅₀ 值最高的均为米砖茶,最低的为五峰毛尖茶,均大于阳性对照 V_E 。由此可知,9 种茶叶水提取物均能清除 ABTS⁺· 及 DPPH·,抗氧化能力最强的为五峰毛尖茶,最弱的为米砖茶,不过清除 ABTS⁺· 及 DPPH· 的能力均弱于 V_E 。

表 1 茶叶水提取物清除 ABTS⁺· 及 DPPH· 的能力

茶叶水提取物	ABTS/ IC ₅₀ (mg/mL)	DPPH/ IC ₅₀ (mg/mL)
黄茶	0.0848	0.0144
五峰毛尖茶	0.0661	0.0143
乌龙茶	0.0806	0.0168
普洱茶生茶	0.0712	0.0147
普洱茶熟茶	0.1084	0.0293
红茶	0.0696	0.0167
青砖茶	0.1212	0.0387
米砖茶	0.1669	0.0419
康砖茶	0.0943	0.0296
CK(V_E)	0.0477	0.0072

2.1.2 茶叶水提取物的总抗氧化能力 FRAP 值 不同茶叶水提取物的 FRAP 值见图 1。

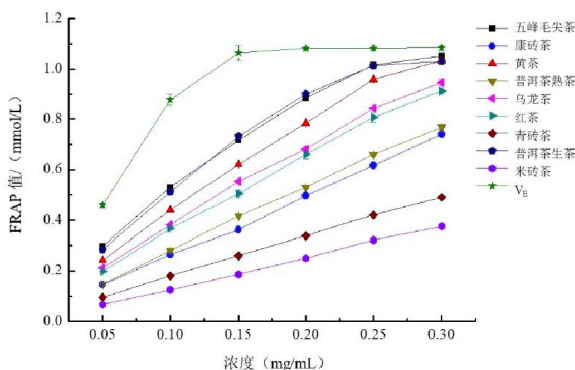


图 1 不同茶叶水提取物的 FRAP 值

由图 1 可知,当 9 种茶叶水提取物的浓度为 0.05 ~ 0.30 mg/mL 时,随着浓度的增加,FRAP 值也随之增大,当浓度为 0.30 mg/mL 时,FRAP 值差异显著,且五峰毛尖茶的 FRAP 值最高,是米砖茶的 2.8 倍。结果说明抗氧化能力由强到弱依次为五峰毛尖茶、黄茶、普洱茶生茶、乌龙茶、红茶、普洱茶熟茶、康砖茶、青砖茶、米砖茶,但均不

及阳性对照 V_E 。

2.1.3 茶叶水提取物的总还原力

不同茶叶水提取物的总还原力见图 2。

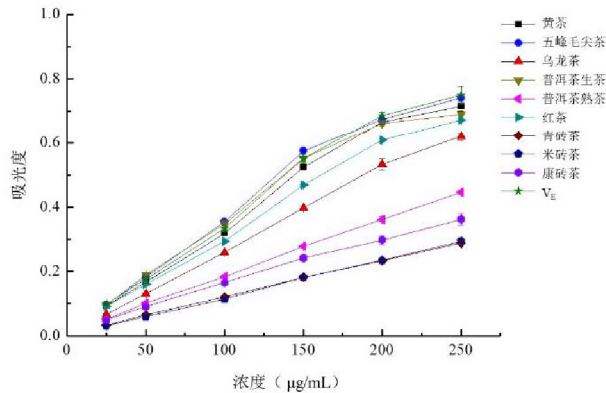


图 2 不同茶叶水提取物的总还原力

表 2 抗氧化活性、成分与颜色参数的相关性分析

相关系数	DPPH	ABTS	FRAP	总还原力	总多酚	水溶性糖	黄酮
ABTS	0.846**		0.884**	0.871**	0.917**	-0.621**	0.633**
FRAP	0.946**	0.884**		0.931**	0.934**	-0.693**	0.538**
总还原力	0.890**	0.871**	0.931**		0.917**	-0.787**	0.592**
总多酚	0.910**	0.917**	0.934**	0.917**		-0.694**	0.725**
水溶性糖	-0.615**	-0.621**	-0.693**	-0.787**	-0.694**		-0.677**
黄酮	0.504**	0.633**	0.538**	0.592**	0.725**	-0.677**	
L^*	0.720**	0.542**	0.694**	0.644**	0.575**	-0.223	-0.082
a^*	-0.559**	-0.573**	-0.556**	-0.611**	-0.563**	0.269	-0.167
b^*	-0.661**	-0.502**	-0.658**	-0.579**	-0.508**	0.211	0.163
ΔE	-0.659**	-0.501**	-0.650**	-0.585**	-0.512**	0.215	0.165

注：*、** 分别表示在 0.05 和 0.01 水平下相关显著。

由表 2 可知, 9 种茶叶水提取物中总多酚含量与 DPPH、ABTS、FRAP 和总还原力等抗氧化活性 4 个指标呈极显著的正相关 ($P < 0.01$), 相关系数分别为 0.910、0.917、0.934、0.917; 黄酮含量与抗氧化活性 4 个指标也呈极显著的正相关 ($P < 0.01$), 相关系数分别为 0.504、0.633、0.538、0.592; 水溶性糖含量与抗氧化活性 4 个指标呈负相关 ($P < 0.01$), 相关系数分别为 -0.615、-0.621、-0.693、-0.787。茶叶水提取物中总多酚、水溶性糖、黄酮含量是影响茶叶水提取物抗氧化活性大小的重要生化成分, 表 2 结果表明三者对茶叶水提取物抗氧化活性的影响大小依次为总多酚、水溶性糖和黄酮。另外, 茶叶水提取物的水溶性色差参数与总多酚含量、抗氧化活性也有显著相关性 ($P < 0.01$), 其中 L^* 与抗氧化活性、总多酚含量有着显著的正相关性, 而 a^* 、 b^* 、 ΔE 与总多酚含量、抗氧化活性则呈显著的负相关。

由图 2 可知, 当茶叶水提取物浓度为 25 ~ 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 随浓度的增大, 总还原力随之增大。当浓度为 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 五峰毛尖茶的总还原力最高, 接近阳性对照 V_E , 且显著高于其他茶类; 其次是黄茶和普洱茶生茶。另外红茶的总还原力接近普洱茶生茶, 显著高于乌龙茶、普洱茶熟茶和康砖茶。而总还原力最低的是米砖茶和青砖茶, 两者间差异不显著。由上可知, 五峰毛尖茶的总还原力最强, 青砖茶最弱, 它们的总还原力均弱于 V_E 。

2.2 相关性分析

对不同茶叶水提取物的抗氧化活性、总多酚、水溶性糖、黄酮的含量及色差值之间进行相关性分析, 结果见表 2。

3 结论

本研究结果表明, 采用 ABTS、DPPH、FRAP 和总还原力等 4 种体系评价 9 种茶叶水提取物的抗氧化活性, 得到的抗氧化活性结果有所不同, 但都表明不同茶叶水提取物均具有抗氧化能力, 不同茶叶水提取物之间抗氧化活性差异明显, 且在 4 种评价体系中抗氧化能力最强的均为五峰毛尖茶, 最弱的为米砖茶和青砖茶。相关性分析表明, 总多酚和黄酮含量与抗氧化活性 4 个指标呈极显著正相关, 水溶性糖含量与抗氧化活性 4 个指标呈极显著负相关, 茶汤颜色参数 L^* 值与抗氧化活性 4 个指标、总多酚含量呈极显著正相关, a^* 、 b^* 和 ΔE 值高低与抗氧化活性 4 个指标、总多酚含量呈极显著负相关。

[参 考 文 献]

[1] MACEDO J A, BATTESTIN V, RIBEIRO M L,

- et al. Increasing the antioxidant power of tea extracts by biotransformation of polyphenols [J]. Food Chemistry, 2011, 126(2):491–497.
- [2] 黄国荣, 糜漫天. 2 种茶饮料的研制及营养评价[J]. 第三军医大学学报, 2000(2):165–169.
- [3] 齐红革, 尹华涛, 廖振宇, 等. ICP-MS 法测定不同产地绿茶中矿物质和微量元素[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(8):65–67.
- [4] 肖玫, 杨丽琴, 刘晓明, 等. 茶叶的营养与保健价值及其开发利用[J]. 中国食物与营养, 2005(12):23–24.
- [5] 戴申, 鹿颜, 余鹏辉, 等. 茶叶预防衰老及衰老相关疾病研究进展[J]. 茶叶科学, 2019, 39(1):23–33.
- [6] 张鑫, 马丽苹, 张芸, 等. 茶叶儿茶素对肠道微生物的调节作用[J]. 食品科学, 2013, 34(5):232–237.
- [7] 方崇业, 付学奇, 盛军. 茶叶组分抗菌、抗病毒和免疫增强作用的研究进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(8):910–912.
- [8] 叶小燕, 黄建安, 刘仲华. 茶叶减肥作用及其机理研究进展[J]. 食品科学, 2012, 33(3):308–312.
- [9] 孙世利, 刘雅琼, 刘瑾, 等. 不同年份普洱茶体外降糖降脂作用及其物质基础[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(9):152–158.
- [10] 方允中. 茶叶抗氧化作用的抗癌机制[J]. 中国肿瘤, 2000(1):21–22.
- [11] 白亚欣, 侯彩云. 几种茶叶生化成分及其抗氧化活性分析[J]. 中国食物与营养, 2020, 26(1):31–36.
- [12] 王璟, 高静, 刘思彤, 等. 基于色差系统的黄茶外观色泽评价模型构建及其关键物质基础分析[J]. 食品科学, 2017, 38(17):145–150.
- [13] THAIPONG K, BOONPRAKOB U, CROSBY K, et al. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2006, 19(6–7):669–675.
- [14] 杨新河, 吕帮玉, 黄明军, 等. 青砖茶清除 DPPH· 能力及其多酚和黄酮含量研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(23):1–5.
- [15] LEE S C, JEONG S M, KIM S Y, et al. Effect of far-infrared radiation and heat treatment on the antioxidant activity of water extracts from peanut hulls[J]. Food Chemistry, 2004, 94(4):489–493.
- [16] 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法:GB/T 8313—2018[S]. 北京:中国标准出版社, 2018.

Study on Antioxidant Activity of Different Tea Water Extracts

Wang Yuting^{1,2}, Lv Jiajia^{1,2}, Yang Xinhe^{1*}, Xiao Chang^{1,2}

(1. College of Life Science and Technology, Hubei Engineering University, Xiaogan, Hubei 432000, China;

2. College of Life Science, Hubei University, Wuhan, Hubei 430062, China)

Abstract: The antioxidant activities of nine different tea water extracts were evaluated by ABTS assay, DPPH assay, FRAP assay and total reducing power assay. The results showed that there were significant differences between the antioxidant activities of tea water extracts and Wufeng Maojian tea had the highest antioxidant capacity in all the four evaluation system. The correlation analysis showed that the content of total polyphenols, flavonoids and the L^* value of tea soup were significantly positively correlated with the antioxidant activity, however, the content of soluble sugars, the values of a^* , b^* and ΔE were negatively correlated with antioxidant activity.

Key Words: tea; composition; color difference; antioxidant activity; correlation analysis

(责任编辑:邹礼平)