

凤凰单枞乌龙茶抗氧化特性研究

苏新国^{1,2}, 蒋跃明², 汪晓红³, 段俊², 宓穗卿¹, 王宁生¹

(1. 广州中医药大学临床药理研究所, 广东 广州 510405;

2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650; 3. 马鞍山红星中学, 安徽 马鞍山 243000)

摘要: 本文研究了凤凰单枞乌龙茶、绿茶(龙井和碧螺春)以及红茶(滇红和英德红茶)水浸出物的抗氧化特性。结果表明凤凰单枞乌龙茶具有较多的水浸出物, 并富含茶多酚、氨基酸、可溶性糖; 同时表现出较高的DPPH、超氧阴离子和羟自由基清除能力和抑制油脂过氧化特性, 与绿茶水浸出物的抗氧化能力相似, 显著高于红茶。这与凤凰单枞乌龙茶的水浸出物中存在较高含量的茶多酚、茶黄素和茶红素, 特别是与其中的儿茶素类密切相关。

关键词: 凤凰单枞乌龙茶; 抗氧化特性; 儿茶素

The Original Research of the Oolong Tea (*Camellia sinensis* cv. Fenghuangdancong) Antioxidant Property

SU Xin-guo^{1,2}, JIANG Yue-ming², WANG Xiao-hong³, DUAN Jun²,

MI Sui-qing¹, WANG Ning-sheng¹

(1. Institute of Clinical Pharmacology, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. South China Botanic Garden, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 3. Middle School of Red Star, Maanshan 243000, China)

Abstract: The antioxidant properties of water extracts of oolong tea (*Camellia sinensis*, commercial name: Fenghuangdancong), green tea (Longjing and Biluochun) and black tea (Dianhong and Yingdehongcha) were investigated. The oolong tea have high water yield, concentration of amino acid and soluble sugar. Similar to green tea, oolong tea extracts had a strong antioxidant property (higher radical scavenging activity and lower peroxide value), which was attributed to a high concentration of polyphenols, particularly in catechins and theaflavin. Furthermore, the antioxidant activity of oolong tea was related to catechin concentrations, but not to total polyphenols.

Key words oolong tea (commercial name: Fenghuangdancong); antioxidant property; catechin

中图分类号: TS272.59

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)03-0055-05

近年来的大量的流行病学和实验证实茶叶具有抗氧化、抗衰老、抗突变、抗癌变、抗动脉粥样硬化和清除自由基等多种生物功能^[1], 其主要的生物活性物质为多酚类化合物^[2]。茶多酚是茶叶的主要活性组分, 其组成除酚酸之外, 主要是以 α -苯基苯并吡喃为结构基

础的类黄酮化合物, 其中羟取代基作为质子的供体, 使其具有特殊的生理功效^[3]。茶叶中含有的30多种茶多酚, 其中主要组分是表没食子儿茶酸酯(EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)、表没食子儿茶素(EGC)和表儿茶素(EC), 占茶多酚总量的60%~80%^[4]。目前, 对绿茶

收稿日期: 2005-10-12

基金项目: 中国科学院农委重点项目(2002-2004)

作者简介: 苏新国(1977-), 男, 博士后, 主要从事天然产物化学及其药理作用研究。

23(3): 33-35.

[15] 李琰, 王晓羲, 马珂. 胡萝卜汁、苹果醋复合饮料的生产研究[J]. 粮油加工与食品机械, 2003, (12): 67-68.

[16] A Kaya, K B Belibal. Rheology of solid Gaziantep Pekmez[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 54(3): 221-226.

[17] J Giner, A Ibarz, S Garza, et al. Rheology of Clarified Cherry Juices[J]. Journal of Food Engineering, 1996, 30(1-2): 147-154.

[18] A Ibarz, A Garvin, J Costa. Rheological behaviour of sloe (*Prunus spinosa*) fruit juices[J]. Journal of Food Engineering, 1996, 27(4): 423-430.

和红茶内含物及其抗氧化能力的研究较多^[5], 未见凤凰单枞乌龙茶抗氧化能力的相关报道。

本研究对凤凰单枞乌龙茶的抗氧化能力进行评价, 并对其抗氧化特性的物质基础作初步研究, 为凤凰单枞乌龙茶的开发和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料收集

桂花和芝兰香型凤凰单枞乌龙茶于2004年4月4~8日采自于广东省潮安县凤凰镇凤溪村; 当年产的浙江龙井茶和江苏碧螺春(绿茶)于2004年4月20日分别在广州市芳村和石井茶叶市场购得; 当年产的滇红和英德红茶(红茶)于2004年5月4日在广州市芳村茶叶市场购得。上述样品用隔气聚丙烯茶叶袋密闭, 在4℃恒温冷库中贮藏备用。

1.2 茶叶提取物制备

分别将上述六种茶叶样品精确称取5g, 加入200ml沸蒸馏水, 在100℃水浴中浸提10min, 并不断地搅拌, 完毕后用四层纱布过滤茶汤并将其迅速冷却至25℃, 定容至200ml, 重复6次, 收集茶汤1200ml。茶汤分成2部分, 其中3组茶汤(A)用于茶多酚、氨基酸、可溶性糖、咖啡碱、茶黄素和茶红素含量测定; 另3组茶汤经合并后在70℃下减压干燥得到粗提物干粉, 再用600ml重蒸水溶解(茶汤B), 供儿茶素含量和DPPH、 $O_2^{\cdot -}$ 、 $\cdot OH$ 自由基清除能力和油脂抗氧化能力分析。

1.3 茶多酚、氨基酸、可溶性糖和咖啡碱含量测定

分别按酒石酸亚铁比色法(GB8313-87)、水合茚三酮比色法^[6]、蒽酮比色法^[6]和紫外比色法^[7]进行, 结果均以mg/100g茶汤表示。

1.4 茶黄素、茶红素和茶褐素含量测定

参照Harbowy 和 Balentine的方法^[8], 以比色法测定茶黄素、茶红素和茶褐素含量, 结果以mg/100g茶汤表示。

1.5 儿茶素含量测定

采用HPLC法^[9], 取10ml茶汤B加入20ml二甲基亚砜, 震荡均匀, 弃除水相, 有机相为待测样品, 用0.45μm PVDF膜过滤后上样20μl。高压液相仪为Waters (600E), 使用5C18-MS packed柱(250mm×4.6mm, 5μm Cosmosil)。流动相为甲醇/双蒸水/甲酸(19.5/82.5/0.3, V/V/V), 流速为1.0ml/min, 柱温30℃, 紫外检测器为Waters 484, 波长为280nm; 结果以mg/100g茶汤表示。

1.6 DPPH 自由基清除能力的测定

参照Larrauri 等人^[10]的方法, 略有改进。取0.1ml茶汤B, 加入2.9ml 0.1mmol/L DPPH 甲醇溶液, 在室温下静置30min后测定517nm处的光吸收值。DPPH自由

基清除能力按下列公式计算: 样品对DPPH的清除百分比=1-[(A-B)/A₀]×100%, 其中A₀为未加样品的DPPH(2.9ml DPPH + 0.1ml 甲醇)的光吸收值, A为样品与DPPH反应后的光吸收值, B为样品空白(0.1ml 样品液 + 2.9ml 甲醇)的光吸收值。

1.7 超氧自由基清除能力、羟自由基清除能力和过氧化物含量的测定

分别参照Siddhuraju等^[11]、Lee等^[12]和Krings等^[13]的方法, 结果以%清除能力和meq/kg表示。

2 结果与分析

2.1 不同种类的茶叶水浸出物得率及其内含物含量的比较

表1 六种茶叶水浸出物含量及得率
Table 1 Yield and ratio of water extraction of six kinds of tea

茶叶样品 ^a	粗水浸出物总量(g)	水浸出率(%)
桂花香型乌龙茶	3.408	22.72
芝兰香型乌龙茶	3.642	24.28
龙井绿茶	3.662	24.41
碧螺春绿茶	3.977	26.51
滇红红茶	2.598	17.32
英德红茶	2.448	16.32
LSD _{0.05}	0.589	3.927

注: a. 每次取5.00g干茶样进行水浸出物总量的测定, 总重量为三次取样之和, 共15.00g。

在同样的提取条件下, 六种不同的茶叶所制得的水浸出物得率各不相同(表1)。绿茶类的碧螺春的水浸出物的得率最高, 为26.51%, 而红茶类的英德红茶水浸出物得率最低, 仅为16.32%。茶叶水浸出物得率整体表现为绿茶类最高, 其次是乌龙茶类, 最后为红茶类, 这与不同茶类的制作鲜叶的老嫩程度, 以及制作工艺密切相关^[14]。

对这六种茶叶的水浸出物中的组分进行检测, 主要包括茶多酚、氨基酸、可溶性糖、咖啡碱、茶黄素和茶红素(表2)。绿茶类中茶多酚、氨基酸、可溶性糖含量最高, 乌龙茶类中含有较高的茶黄素, 红茶类中咖啡碱和茶红素的含量最高。绿茶茶汤的口感为甘鲜甜润、浓厚爽口, 与其中高含量的茶多酚、氨基酸和可溶性糖有关, 而中等含量茶黄素和低含量茶红素也使茶汤表现出砂绿油润的颜色^[15]。乌龙茶茶汤中也有较高含量的茶多酚、氨基酸和可溶性糖, 并且有高含量的茶黄素和一定量的茶红素, 这些均为乌龙茶茶汤鲜爽滋润, 汤色金黄的物质基础^[16]。红茶茶汤中高含量的茶红素决定其颜色呈桔红或红棕色。在茶叶制作(特别是发酵)过程中, 由于氧气和酶的作用, 茶多酚类会被氧化形成茶黄素, 茶黄素再被氧化则形成茶红素和茶褐素^[17]。因此, 上述不同茶叶茶汤中主要内含组分的差异

表2 六种茶叶水浸出物内含物含量
Table 2 Compounds of water extraction of six kinds of tea

茶叶样品	茶多酚 ^a	氨基酸	可溶性糖	咖啡碱	茶黄素	茶红素
桂花香型乌龙茶	0.1854	0.0253	0.3864	0.8815	0.0232	0.1421
芝兰香型乌龙茶	0.1753	0.0192	0.3424	0.8115	0.0217	0.1835
龙井绿茶	0.3123	0.0394	0.5124	0.4214	0.0161	0.0584
碧螺春绿茶	0.2981	0.0371	0.4725	0.3541	0.0132	0.0621
滇红红茶	0.1054	0.0091	0.2143	1.4236	0.0093	0.3254
英德红茶	0.1151	0.0114	0.1842	1.5021	0.0051	0.3931
LSD _{0.05}	0.0674	0.0102	0.1134	0.4686	0.0072	0.1056

注：a. 茶叶水浸出物内含物含量单位为 g/100ml 茶汤。

不仅在于鲜叶原料不同，更受其制作工艺的影响。

2.2 不同种类茶叶水浸出物抗氧化能力的比较

2.2.1 不同种类茶叶水浸出物 DPPH 和超氧自由基清除能力的比较

六种茶叶的水浸出物对 DPPH 自由基清除能力情况见图 1A。在 DPPH 清除的反应体系中加入 0.1ml 浸出物时，绿茶类的水浸出物都表现出最高的 DPPH 自由基清除能力，分别达 50%；而红茶类最低，仅为 25%。当加入反应体系的浸出物体积增大到 0.5ml 时，绿茶类和乌龙茶类的水浸出物的 DPPH 自由基清除能力都接近于 98%，已经基本抑制了 DPPH 自由基的生成；而红茶类的水浸出物的自由基清除能力为 75% 左右，与 0.1ml 绿茶浸出物的 DPPH 自由基清除能力相近。

图 1B 是六种茶叶水浸出物对超氧自由基清除能力的比较情况。当在反应体系中加入乌龙茶水浸出物 0.05ml 时，其超氧自由基清除能力达 70%，0.1ml 的清除能力达 85%。0.05ml 绿茶水浸出物的超氧自由基清除能力为 89.5%，0.1ml 浸出物为 89%；0.05ml 红茶水浸出物为 50%，0.1ml 水浸出物为 75%。这表明茶叶水浸出物对超氧自由基都有较强的清除能力，绿茶浸出物表现出最高的抑制自由基活性，乌龙茶浸出物与之相近。

2.2.2 不同种类茶叶水浸出物羟自由基清除能力和抗油脂过氧化能力的比较

六种茶叶的水浸出物的羟自由基清除能力如图 2A 所示。当反应体系中加入乌龙茶水浸出物 0.1ml 时，羟自由基的清除能力为 23%；当加入体积增加到 0.2ml 后，乌龙茶水浸出物的清除能力提高到 45%。0.2ml 的绿茶水浸出物的羟自由基清除能力为 50%，0.2ml 红茶水浸出物为 30%，茶叶水浸出物都没有表现出较强的羟自由基清除能力。

茶叶水浸出物对油脂过氧化反应的抑制作用如图 2B 所示。在反应体系中加入 10ml 茶叶水浸出物，油脂加速氧化 5d 后，其过氧化物值为 21~25meq/kg，而对照为 34.7meq/kg。当油脂氧化反应延长至 10d 后，加入乌龙茶和绿茶水浸出物的反应体系过氧化物值为 38~40meq/kg，而加入红茶水浸出物的过氧化物值达到 68~71meq/kg，对照为 94.5meq/kg。乌龙茶和绿茶水浸出物在 10d 中都表现出较强的抑制油脂过氧化的能力，而红茶水浸出物仅在前 5d 表现了强的抑制能力。

2.3 不同种类茶叶水浸出物的儿茶素含量的比较

利用高效液相色谱可以将六种茶叶水浸出物中的几种主要的儿茶素类 EGCG、EGC、C、EC 和 ECG 分离鉴定，儿茶素类的 HPLC 图谱如图 5 所示。除了分离得

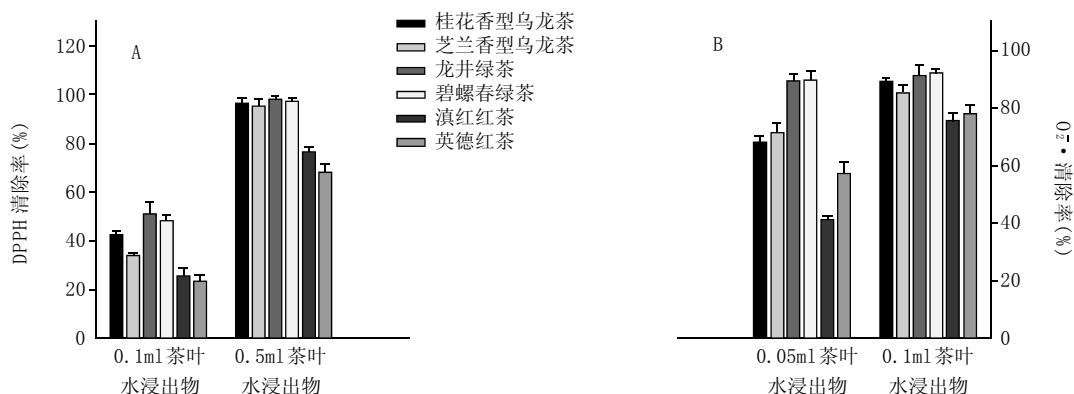


图1 不同种类茶叶水浸出物 DPPH 和超氧阴离子自由基清除能力的比较

Fig.1 Comparison of DPPH radical scavenging activity (A) and superoxide radical scavenging activity (B) of 6 kinds of tea water extract

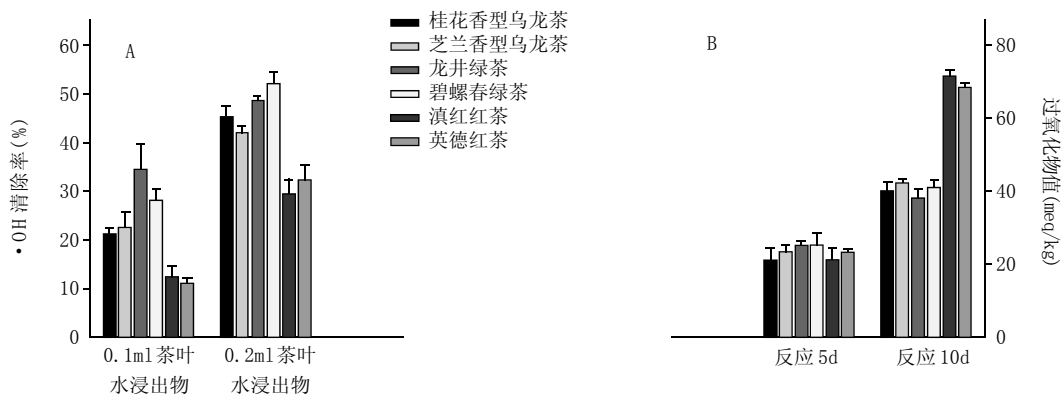


图2 不同种类茶叶水浸出物羟自由基清除能力和抗油脂过氧化能力的比较
Fig.2 Comparison of hydroxyl radical scavenging activity (A) and anti-peroxide activity (B) of 6 kinds of tea water extract

表3 六种茶叶水浸出物中儿茶素含量
Table 3 Catechin compounds of water extraction of six kinds of tea

茶叶样品	表没食子儿茶酸酯 EGCG	表没食子儿茶素 EGC	儿茶素 C	表儿茶素 EC	表儿茶素没食子酸酯 ECG
桂花香型乌龙茶	69.375	99.675	1.701	9.142	14.854
芝兰香型乌龙茶	70.812	103.075	1.775	9.541	15.028
龙井绿茶	75.314	207.975	3.775	10.526	11.151
碧螺春绿茶	77.552	198.406	3.550	9.728	11.627
滇红茶	32.525	60.354	1.025	1.637	7.554
英德红茶	30.314	58.954	0.775	2.016	10.351
LSD _{0.05}	12.321	48.367	0.563	5.365	3.581

注：茶叶水浸出物内含物含量的单位为 mg/100ml 茶汤。

到的儿茶素为EGC、C、EGCG、EC和ECG，还能检测出高含量的咖啡碱，茶叶水浸出物中各种儿茶素含量如表3所示。绿茶水浸出物中EGC、EGCG、EC和C含量最高，乌龙茶水浸出物中ECG含量最高；而红茶中儿茶素组分含量较低，特别是EGCG和EGC含量仅为乌龙茶水浸出物的约二分之一、绿茶水浸出物的三分之一。由于儿茶素类为茶叶中主要的多酚类物质^[18]，其与茶叶自身的抗氧化能力关系密切，因此儿茶素含量的多少也能反应出茶叶抗氧化能力的高低^[19]。绿茶和乌龙茶具有较强的自由基抑制能力与其水浸出物中高含量的儿茶素密切相关，红茶水浸出物中由于儿茶素含量较

低，因此表现出最低的自由基抑制能力。

3 讨论

1,1-二苯基苦基苯肼(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)是一种稳定的有机自由基，通过检测生物试剂对DPPH自由基的清除能力可以表示其抗氧化能力的强弱^[10]；而超氧自由基和羟自由基是生物体内常见的自由基之一^[19]。现代医学研究表明自由基在生物体内会伤害生物细胞的膜结构，包括蛋白质、脂类、核酸以及碳水化合物，从而引发心血管、肿瘤、过敏等方面的疾病^[20]。食物中的一些组分对人体健康的作用正日益受到人们的重视，其中植物性食品中富含的VC、VE、多酚类以及黄酮类组分被认为对清除体内自由基，减少疾病发生起到重要作用^[21]。

茶叶是世界上饮用最广泛的饮品，每天全世界消费的茶叶达30亿杯^[20]，理论上茶叶中抗氧化组分占总内含物的95%，富含的黄酮类、多酚类、花青素、生物碱等均具有直接或间接的抗氧化活性，其中活性较高的为多酚类物质^[22]。在凤凰单枞乌龙茶的水浸出物中，有较高含量的茶多酚，同时还具有高含量的茶黄素和茶红素。本实验中，对自由基清除能力研究表明，乌龙茶水浸出物具有较强的自由基清除能力，而且还能有效地

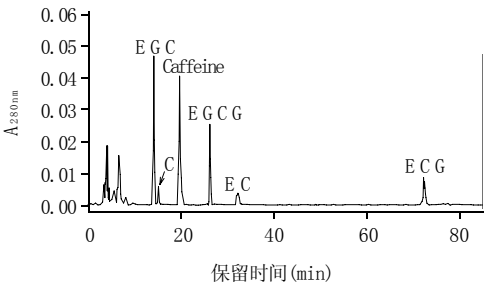


图3 茶叶水浸出物中儿茶素 HPLC 图
Fig.3 HPLC chart of catechin compounds of water extraction of tea

抑制油脂在贮藏过程中过氧化物值的升高(图2、3),与绿茶浸出物的抗氧化能力相似,高于红茶浸出物,而且乌龙茶水浸出物的自由基清除活性和抗氧化能力相近。同时在乌龙茶的水浸出物中还含有较多的氨基酸和可溶性糖(表2),而这些组分是茶汤的鲜爽滋味的物质基础^[16]。因此桂花香型和芝兰香型凤凰单枞乌龙茶不仅具有宜人的花香,爽口的滋味,同时还有较强的抗自由基,抑制过氧化的生物功效。

对六种绿茶、乌龙茶和红茶的水浸出物中儿茶素类的组分及其含量的研究发现在乌龙茶和绿茶的水浸出物中EGCG和EGC都显著地高于红茶水浸出物,其它儿茶素也以绿茶和乌龙茶中含量较高(表3)。儿茶素类是茶多酚中含量最高的组分,主要包括EGCG、EGC、C、EC和ECG^[4],现有资料表明在大白鼠肝线粒体和微粒体模拟体内脂质过氧化试验中,EGCG的抑制效果比维生素C和维生素E高18倍和16倍^[23]。对儿茶素构效关系的研究还表明,其抗氧化活性与其分子结构有关,酚羟基数目增多则抗氧化活性增强,其活性次序为依次为EGCG(8 groups)>ECG(7 groups)>EC(5 groups)>EGC(6 groups)^[5]。乌龙茶水浸出物中ECG含量最高,而绿茶中EGCG和EGC含量最高。在实验中我们还发现在两种乌龙茶水浸出物中分别有0.0232和0.0217g/100ml的茶黄素,高于绿茶和红茶,茶黄素具有良好的抗氧化和抗肿瘤活性,在某些抗氧化方面甚至还优于儿茶素类^[24]。因此,桂花香型和芝兰香型凤凰乌龙茶与绿茶水浸出物具有相近的抗氧化活性,除了其内含儿茶素组分及含量与绿茶相似之外,还与其中高含量茶黄素相关。

参考文献:

- [1] Balentine D A, Wiseman S A, Bouwens L C. The chemistry of tea flavonoids [J]. Critical Reviews of Food Science and Nutrition, 1997, 37: 693-704.
- [2] Lin J K, Liang Y C, Lin-Shiau S Y. Cancer chemoprevention by tea polyphenols through mitotic signal transduction blockade [J]. Biochemistry and Pharmacology, 1999, 58: 911-915.
- [3] Matsuo N, Yamada K, Shoji K, et al. Effect of tea polyphenols on histamine release from rat basophilic leukaemia (RBL-2H3) cells: the structure-inhibitory activity relationship [J]. Allergy, 1997, 52: 58-64.
- [4] Zhu Q Y, Zhang A, Tsang D, et al. Stability of green tea catechins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45: 4624-4628.
- [5] Wiseman S A, Balentine D A, Frei B. Antioxidants in tea [J]. Critical Reviews of Food Science and Nutrition, 1997, 37: 705-718.
- [6] 宁正祥. 食品成分分析手册 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [7] Ismail M, Manickam E, Danial A M, et al. Chemical composition and antioxidant activity of *Strobilanthes crispus* leaf extract [J]. Journal of Nutrition and Biochemistry, 2000, 11: 536-542.
- [8] Harbowy M E, Balentine D A. Tea chemistry [J]. Critical Reviews of Plant Science, 1997, 16: 415-480.
- [9] Lin Y S, Wu S S, Lin J K. Determination of tea polyphenols and caffeine in tea flowers (*Camellia sinensis*) and their hydroxyl radical scavenging and nitric oxide suppressing effects [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51: 975-980.
- [10] Larrauri J A, Sanchez M C, Saura C F. Effects of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46: 2694-2697.
- [11] Siddhura Jua P, Mohanb P S, Beckera K. Studies on the antioxidant activity of Indian Laburnum (*Cassia fistula* L.): a preliminary assessment of crude extracts from stem bark, leaves, flowers and fruit pulp [J]. Food Chemistry, 2002, 79: 61-67.
- [12] Lee J C, Kim H R, Kim J, et al. Antioxidant property of an ethanol extract of the stem of *Opuntia ficus-indica* var. Saboten [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 6490-6496.
- [13] Krings U, El-Saharty Y S, El-Zeany B A, et al. Antioxidant activity of extracts from roasted wheat germ [J]. Food Chemistry, 2000, 71: 91-95.
- [14] Sano M, Suzuki M, Miyase T, et al. Novel antiallergic catechin derivatives isolated from oolong tea [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47: 1906-1910.
- [15] 陆建良, 梁月容, 龚淑英, 等. 茶汤色差与茶叶感官品质相关性研究 [J]. 茶叶科学, 2002, 22(1): 57-61.
- [16] 刘乾刚, 林智, 蔡建明. 乌龙茶制造与品质形成的化学机理 [J]. 福建农林大学学报, 2002, 31(3): 347-351.
- [17] Obanda M, Owuor P O, Mang'oka R, et al. Changes in thearubigin fractions and theaflavin levels due to variations in processing conditions and their influence on black tea liquor brightness and total colour [J]. Food Chemistry, 2004, 85: 163-173.
- [18] Rice-Evans C A, Miller N J, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids [J]. Free Radicals in Biology Medicines, 1996, 20: 933-956.
- [19] Halder J, Bhaduri A N. Protective role of black tea against oxidative damage of human red blood cells [J]. Biochem Biophysical Research Communication, 1998, 24: 903-907.
- [20] Yang C S. Tea and health [J]. Nutrition, 1999, 15: 946-949.
- [21] Espin J C, Soler-Rivas C, Wichers H J. Characterization of the total free radical scavenging capacity of vegetable oils and oil fractions using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48: 648-656.
- [22] Cao G, Sofic E, Prior R L. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: Structure-activity relationships [J]. Free Radicals in Biology Medicines, 1997, 22: 749-760.
- [23] 胡秀芳, 沈生荣, 朴宰日, 等. 茶多酚抗氧化机理研究现状 [J]. 茶叶科学, 1999, 19(2): 93-103.
- [24] 于海宁, 沈生荣. 茶黄素类抗氧化及抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 茶叶, 2000, 27(3): 7-11.