不同贮藏年份康砖茶主要成分差异及其抗氧化活性比较

乔小燕[1,2,3]，操君喜[2]，车劲[4]，陈栋[1,4]，刘仲华[1,3]

（1.湖南农业大学茶学教育部重点实验室，湖南长沙 410128）（2.广东省农业科学院茶叶研究所，广东省茶树资源创新利用重点实验室，广东广州 510640）（3.湖南农业大学国家植物功能成分利用工程技术研究中心，湖南长沙 410128）（4.广东省茶叶收藏与鉴赏协会，广东广州 510640）

摘要：以不同贮藏年份康砖茶为试验材料，检测其儿茶素、没食子酸和茶色素含量，测定其多酚提取物还原铁离子的能力、清除 DPPH 和 ABTS 自由基的能力，比较其抗氧化活性。结果表明：随着贮藏年份的增加，康砖茶总黄酮、茶褐素和没食子酸含量呈显著增加的趋势（p<0.05）。多酚提取物 FRAP·EC_{50}（8.28 μg/mL~14.55 μg/mL）显著高于 DPPH·EC_{50}（4.26 μg/mL~4.99 μg/mL）和 ABTS EC_{50}（5.14 μg/mL~5.50 μg/mL），且 DPPH EC_{50} 显著低于 ABTS EC_{50}（p<0.05）。随着贮藏年份的增加，DPPH EC_{50} 显著降低；FRAP EC_{50} 先显著增加，后显著降低（p<0.05）。贮藏期 6 年（YA2010）ABTS EC_{50} 显著低于其他年份（p<0.05）。贮藏时间为 15 年（YA2001）和 23 年（YA1993）的康砖茶还原铁离子的能力和清除 DPPH 自由基的能力高于其他年份康砖茶。相关性分析表明，FRAP EC_{50} 和 DPPH·EC_{50} 均与没食子酸、茶褐素呈显著负相关（p<0.05）；ABTS·EC_{50} 与没食子酸呈显著正相关（p<0.05）。因此，康砖茶多酚提取物具有抗氧化活性。贮藏时间越长，还原能力和清除 DPPH 自由基能力越强，但清除 ABTS 自由基的能力与贮藏时间没有明显的规律性。

关键词：黑茶；抗氧化活性；相关性分析；PLS-DA

文章篇号：1673-9078(2020)08-48-55 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.8.0085

Comparative Analysis on Chemical Components and Antioxidant Activity for Different Aged Kang Bricks Teas

QIAO Xiao-yan[1,2,3], CAO Jun-xi[2], CHE Jin[4], CHEN Dong[1,4], LIU Zhong-hua[1,3]

(1.Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China) (2.Tea Research Institute, Guangdong Provincial Key Laboratory of Tea Plant Resources Innovation & Utilization, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China) (3.National Research Center of Engineering Technologies for Utilization of Functional Ingredients from Botanicals, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China) (4.Guangdong Tea Collection and Appreciation Association, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Five aged Kang brick teas were used as analytical materials to comparatively analyze its tea polyphenols, catechins and tea pigments. EC_{50} analysis of antioxidant activities were determined of FRAP, DPPH· and ABTS·. The results showed that contents of the components increased significantly (p<0.05), including catechins, gallic acid, theabrownin and flavonoids during storage period. The median effect concentration (EC_{50}) of FRAP reached from eight point twenty-eight μg/mL to fourteen point fifty-five μg/mL, which were higher than

引文格式：

乔小燕,操君喜,车劲,等.不同贮藏年份康砖茶主要成分差异及其抗氧化活性比较[J].现代食品科技,2020,36(8):48-55

QIAO Xiao-yan, CAO Jun-xi, CHE Jin, et al. Comparative analysis on chemical components and antioxidant activity for different aged kang bricks teas [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(8): 48-55

收稿日期：2020-01-31

基金项目：国家自然科学基金(31600560)；省农村科技领域项目（2017A020208020）；国家茶叶产业技术体系项目(CARS1909B)

作者简介：乔小燕（1982-），女，博士，副研究员，研究方向：茶树种质资源鉴评、茶叶加工、功能成分

通讯作者：刘仲华（1965-），男，博士，教授，中国工程院院士，研究方向：茶叶深加工及功能成分利用

that of DPPH· (4.26 μg/mL~4.99 μg/mL) and ABTS· (5.14 μg/mL~5.50 μg/mL) (p<0.05). EC_{50} of DPPH· was lower than that of ABTS· (p<0.05). With the prolongation of storage period, DPPH·EC_{50} decreased significantly, and FRAP EC_{50} increased and next decreased significantly. ABTS·EC_{50} was significantly lower than other samples in storage period of 6 years. The ability of reducing iron ion and scavenging DPPH· radical of the extracts stored for 15 years and 22 years was significantly higher than that of other years. The correlation analysis showed that EC_{50} of FRAP and EC_{50} of DPPH were negatively correlated with gallic acid and theanine (p<0.05), and the EC_{50} of ABTS was positively correlated with gallic acid (p<0.05). Therefore, the polyphenol extract of Kang bricks tea has antioxidant activity. The longer the storage time is, the stronger the ability of reducing and scavenging DPPH· radical are, but there is no obvious relavance between the ability of removing ABTS and the storage time.

Key words: dark teas; antioxidant activity; correlation analysis; partial least squares discrimination analysis

人体新陈代谢的过程中可产生氧自由基（活性氧），若自由基积累可导致细胞和组织的损伤，加速机体衰老。多酚类、维生素和皂苷类等具有抗氧化、延缓衰老作用的天然产物广泛存在于植物中，而这些天然产物的抗氧化能力与生物机体的抗病性及延缓衰老密切相关。因此，评价和筛选具有强抗氧化活性的天然资源是当前医学和食品科学研究的热点。目前常用的抗氧化方法有 $ABTS^{+}\cdot$[1]、DPPH·[2,3]、FRAP[4]三种，FRAP 通过还原亚铁离子的能力来评价总抗氧化能力，$ABTS^{+}\cdot$[5]和 DPPH·[6]则是通过清除水溶性自由基和脂溶性自由基的能力用来评价抗氧化活性。

茶叶含有丰富的酚类化合物，如茶单宁、茶鞣质和儿茶素等具有较强抗氧化能力的次生代谢产物，2006 年茶叶提取物获得美国 FDA 批准成为新的处方药[7]。黑茶作为六大茶类的之一，体外抗氧化实验表明，黑茶具有较强的清除自由基和络合亚铁离子的能力[8-10]。广东省东莞市是全国陈年黑茶仓储量最多的地方，康砖茶仓储量仅次于普洱茶，位居第二。康砖茶主产于四川雅安，属后发酵茶，现有研究主要集中于对其微生物种群鉴定[11,12]和加工工艺的研究[13]，对康砖茶功能成分及其保健功效的研究更为鲜少。因此，本研究以四川雅安茶厂不同贮藏年份的康砖茶为试验材料，比较分析其茶多酚、儿茶素组分、茶黄素、茶红素和茶褐素含量等影响康砖茶抗氧化活性的功能成分，采用 $ABTS^{+}\cdot$、DPPH·和 FRAP 三种方法评价其抗氧化活性，通过相关性分析，探明其主要生化成分差异，为揭示黑茶抗氧化活性机理提供理论依据，对陈年黑茶的开发利用具有重要的理论意义及实际应用价值。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

本试验于 2016 年 12 月开展，试验材料为四川雅安茶厂生产的不同年份康砖茶（编号：YA1993-YA2015）。供试样品均由仓储地位于广州的广州市雪域黑金茶业有限公司，每个年份康砖茶均从同一竹蔑包装中随机挑选，共抽取 24 块茶砖作为参试茶样（详细信息见表 1）。

儿茶素标准品购自上海源叶生物科技有限公司，分别为表儿茶素（EC）、表儿茶素没食子（ECG）、表没食子儿茶素（EGC）、表没食子儿茶素没食子酸（EGCG）、儿茶素（C）、没食子儿茶素（GC）、儿茶素没食子酸（CG）、没食子儿茶素没食子酸（GCG）和没食子酸（GA）。

DPPH（1,1-二苯基-2-三硝基苯肼，$C_{18}H_{12}N_5O_6$）、$ABTS^{+}\cdot$[2,2-联氮基双(3-乙基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐，$C_{18}H_{16}N_4O_6S_4(NH_2)_2$]、TPTZ（2,4,6-三吡啶基-1,3,5-三嗪，$C_{18}H_{12}N_6$），上海源叶生物科技有限公司；色谱级甲酸（Tedia）、色谱级乙腈（Honeywell）广州艾欣科学仪器有限公司。

表 1 参试茶样目录

Table 1 The list of the experimental materials

年份	贮藏期/年	数量/个	广州入库时间	规格/g	厂家	品牌
YA 1993	22	4	2006	500	四川雅安茶厂	民族团结牌
YA 2001	15	5	2006	500	四川雅安茶厂	民族团结牌
YA 2006	10	5	2006	500	四川雅安茶厂	民族团结牌
YA 2010	6	5	2010	500	四川雅安茶厂	民族团结牌
YA 2015	1	5	2015	500	四川雅安茶厂	民族团结牌

1.2 试验方法

1.2.1 茶多酚和儿茶素测定

茶多酚和儿茶素组分待测液提取方法参照 GB/T 8313-2008[14]，儿茶素组分测定采用 HPLC，方法参照乔小燕等[15]。茶黄素、茶红素和茶褐素采用系统分析法[16]。对参试的 24 个样品进行测定，每个样品 3 个平行。

1.2.2 总黄酮的测定

总黄酮测定方法参考黄华林等[17]，并做一些调整。对参试的 24 个样品进行测定，每个样品 3 个平行。

1.2.3 抗氧化活性的测定

FRAP 总抗氧化能力测定：参照 Biskup 等[18]报道的方法并做一些调整。吸取上述 1.2.1 浸提的多酚提取液，用 70%甲醇分别稀释配制梯度浓度为 10、40、80、100、200 μg/mL 的多酚提取液。Trolox 为阳性对照，浓度为 40.0~250.0 μg/mL。对参试的 24 个样品进行测定，每个样品 3 个平行。

DPPH 自由基清除率测定：参照 Chen 等[19]、Omp 和 Tejk[20]报道的方法部分修改。吸取上述 1.2.1 浸提的多酚提取液，用 70%甲醇分别稀释配制梯度浓度为 60、80、100、200、300 μg/mL 的多酚提取液。Trolox 为阳性对照，浓度为 10.00~100.00 μg/mL。对参试的 24 个样品进行测定，每个样品 3 个平行。

ABTS 自由基清除率测定：参照 Arnao[21]和 Thaipong 等[22]报道的方法部分修改。吸取上述 1.2.1 浸提的多酚提取液，用 70%甲醇分别稀释配制梯度浓度为 60、100、200、300、400 、600 μg/mL 的多酚提取液。Trolox 为阳性对照，浓度为 5.0~200.0 μg/mL。对参试的 24 个样品进行测定，每个样品 3 个平行。

1.2.4 EC_{50} 值计算

对所有参试康砖茶的多酚提取物配制物质量浓度梯度，构建拟合曲线函数，计算所有参试样品当 DPPH·、$ABTS^{+}$·和 FRAP 清除率为 50%时所需的半数有效浓度（Median effect concentration；EC_{50}）。

1.2.5 数据处理和分析

所有数据统计及计算使用 Microsoft Excel 2013 分析；Graphpad prism 6 软件进行绘图和相关性分析；SPSS.25 软件对原始数据进行多重比较，PLS-DA 分析采用 MetaboAnalyst 4.0（https://www.metaboanalyst.ca/MetaboAnalyst/faces/home.xhtml）。不同大小写字母表示在 p=0.05，p=0.01 水平上差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同贮藏年份康砖茶茶多酚和儿茶素分析

由表 2 结果可知，不同贮藏年份康砖茶中茶多酚含量保持在 2.59%~3.25%，样品间差异不显著。EGCG、CG、GCG、ECG、EGC、C、EC 和 GC 随着贮藏年份的增加含量总体显著降低，而在 YA1993 样品中有所增加，但差异不显著。EGCG 和 CG 始终是康砖茶中的主要儿茶素组分，EGC（1.78 mg/g~4.56 mg/g）含量高于 CG（1.58 mg/g~3.12 mg/g）。与高力和刘通讯[23]对不同年份普洱熟茶的分析结果一致，EGCG（0.07 mg/g~0.85 mg/g）和 EGC（0.84 mg/g~1.89 mg/g）是含量最高的儿茶素组分。GC 则仅在 YA2015 和 YA2010 样品中检测到。GA 是黑茶重要的品质成分。康砖茶中 GA 含量随着贮藏年份的增加显著降低，后显著增加。YA1993 样品 GA 含量显著高于其他年份康砖茶。与薛晨等[24]对 2011~2007 年间普洱茶熟茶中茶多酚和 GA 的分析结果不同，普洱茶在 5 年间茶多酚降低，GA 含量增加，2006~2016（贮藏 10 年）年青砖茶中 GA 含量也增加[25]。这可能与试验所采用的样品原料等级有关，含梗量较多的原料 GA 含量较低。

表 2 不同贮藏年份康砖茶茶多酚和儿茶素组分含量分析

Table 2 Polyphenols and catechins analysis of different aged Kang brick teas (mg/g Dry weight; %)

样品	GA	EGCG	CG	GCG	ECG	EGC	C	EC	GC	茶多酚/%
YA2015	38.92±2.76^{b}	13.37±0.53^{a}	3.12±0.12^{a}	3.90±0.37^{a}	1.35±0.12^{a}	4.56±0.72^{a}	0.53±0.10^{a}	1.75±0.11^{a}	11.63±0.39^{a}	3.25±0.54^{a}
YA2010	19.25±2.27^{d}	8.97±0.54^{ab}	1.98±0.11^{b}	1.25±0.14^{b}	0.20±0.05^{b}	2.20±0.23^{b}	0.21±0.04^{b}	0.50±0.05^{b}	8.33±0.59^{b}	3.10±0.44^{a}
YA2006	23.25±1.74^{c}	2.73±0.12^{c}	1.60±0.03^{c}	0.35±0.40	<0.003	-	0.24±0.00^{b}	<0.006	-	2.59±0.15^{a}
YA2001	35.82±1.26^{b}	4.93±1.03^{c}	1.58±0.18^{c}	0.27±0.08^{c}	<0.003	1.78±0.26^{b}	<0.003	<0.006	-	3.14±0.98^{a}
YA1993	45.46±5.27^{a}	6.78±1.88^{ab}	1.73±0.05^{c}	<0.033	0.20±0.16^{b}	2.38±0.68^{b}	0.23±0.03^{b}	0.11±0.15^{b}	-	2.93±0.40^{a}

注：表儿茶素（EC）、表儿茶素没食子（ECG）、表没食子儿茶素（EGC）、表没食子儿茶素没食子酸（EGCG）、儿茶素（C）、没食子儿茶素（GC）、儿茶素没食子酸（CG）、没食子儿茶素没食子酸（GCG）和没食子酸（GA）。

表 3 不同贮藏年份康砖茶茶黄素、茶红素和茶褐素含量分析

Fig.3 Theaflavins, thearubigins and theabrownin contend analysis of different aged Kang brick teas

样品	茶黄素/%	茶红素/%	茶褐素/%	总黄酮/(mg/g 干重)
YA2015	0.39±0.12^{a}	1.96±0.31^{a}	16.54±1.05^{bc}	10.87±0.26^{b}
YA2010	0.46±0.06^{a}	2.22±0.16^{a}	15.41±1.72^{c}	11.48±0.51^{b}
YA2006	0.39±0.02^{a}	1.97±0.17^{a}	15.65±0.48^{c}	9.06±0.08^{c}
YA2001	0.44±0.06^{a}	2.30±0.31^{a}	17.81±1.39^{b}	10.66±0.58^{b}
YA1993	0.38±0.20^{a}	2.27±0.85^{a}	20.35±1.47^{a}	12.14±1.56^{a}

2.2 不同贮藏年份康砖茶茶黄素、茶红素和茶褐素分析

由表 3 可知，茶红素和茶黄素含量在 5 个贮藏年份的康砖茶中差异不显著。茶褐素含量随贮藏年份的增加，总体呈显著增加的趋势。茶褐素在 YA2006、YA2010 和 YA2015 样品间差异不显著。这与唐飞等[25]对 2006、2010、2016 年青砖茶的分析结果不同，3 个年份青砖茶间茶褐素差异显著，但茶红素和茶黄素在 2006 和 2016 样品间有显著差异。康砖茶和青砖茶在贮藏过程中茶三素含量变化规律不同的主要原因，可能与实验所选样品数量和仓储地不同有关，不同的仓储条件下茶色素的转化速度有所差异。总黄酮是茶叶中重要的功能成分，康砖茶中总黄酮含量随贮藏年份的增加呈现先降低，后增加的趋势。YA2006 样品中总黄酮含量最低为 9.06 mg/g，YA1993 样品总黄酮含量最高，为 12.14 mg/g。

2.3 不同贮藏年份康砖茶多酚提取物抗氧化活性分析

2.3.1 多酚提取物 FRAP 铁离子还原能力分析

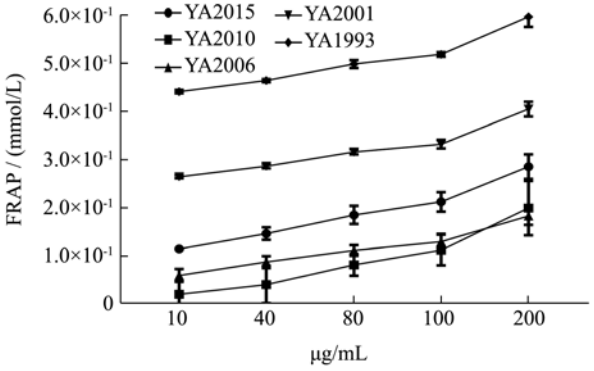


图 1 多酚提取物 FRAP 铁离子还原能力分析

Fig.1 Antioxidant activities of polyphenols extracts as determined by the FRAP assay

由图 1 可以看出，康砖茶多酚提取物的铁离子还原能力因贮藏年份的不同，铁离子还原能力也不同。YA2010 和 YA2006 样品多酚提取物的还原能力接近，且还原能力低于其他年份康砖茶；YA2015 和 YA2001 样品的铁离子还原能力高于 YA2006；YA1993 样品的铁离子还原能力最强。因此，康砖茶多酚提取物有还原铁离子的能力，随着质量浓度增大而增强，在 10.00 μg/mL~200.00 μg/mL 的浓度范围内，其剂量效应关系表现出较好的直线关系。

2.3.2 多酚提取物 DPPH 自由基清除能力分析

由图 2 可以看出，康砖茶多酚提取物的 DPPH 自由基清除能力以 YA2006 样品最低，贮藏时间最长的 YA1993 清除率最高。在质量浓度为 60.00 μg/mL~200.00 μg/mL 时，不同贮藏年份康砖茶多酚提取物的清除能力有差异，当质量浓度达到 300.00 μg/mL 时，其清除率接近 100%。因此，康砖茶多酚提取物对 DPPH 自由基有较强的清除能力，随着质量浓度的增大，清除能力增强，在 100.00 μg/mL~200.00 μg/mL 的浓度范围内，其剂量效应关系表现为较好的直线关系。

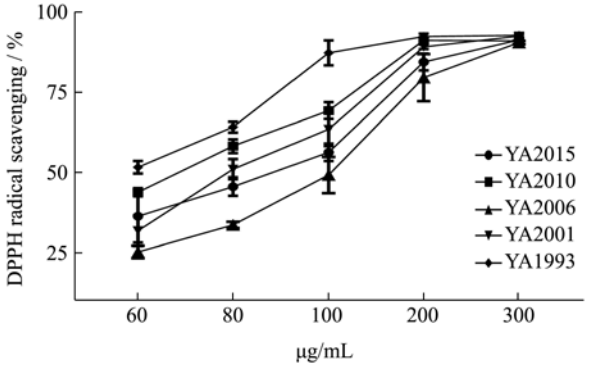


图 2 多酚提取物对 DPPH 自由基清除作用

Fig.2 Radical scavenging activity of polyphenols extracts as determined by the DPPH assay

2.3.3 多酚提取物 ABTS 自由基清除能力分析

由图 3 可以看出，以 YA2010 多酚提取物对 ABTS 自由基的清除率最高。在 60.00~100.00 μg/mL 的浓度下，YA2015-YA2001 清除率接近，以 YA1993 清除率最低；随着质量浓度的增大，样品间清除率差异增大，当质量浓度达到 400.00 μg/mL 时，YA1993 的清除率大于 YA2015、YA2006 和 YA2001，以 YA2006 清除

率最低。由此可知，康砖茶多酚提取物有清除 ABTS 自由基的能力，在较高的质量浓度下，其清除能力表现出一定的差异性，随着质量浓度的增大，清除能力增强，在 100.00~600.00 μg/mL 的浓度范围内，其剂量效应关系表现为较好的直线关系。

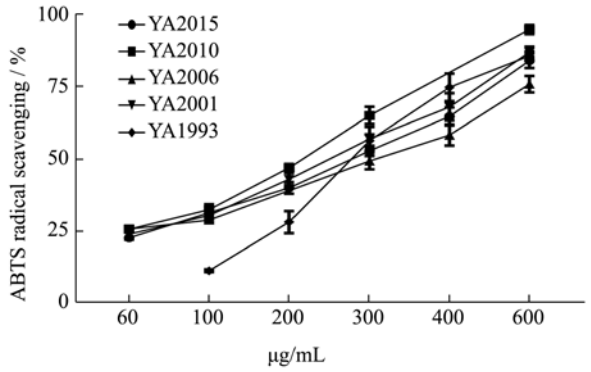


图 3 多酚提取物对 ABTS 自由基的清除作用

Fig.3 Radical scavenging activity of polyphenols extracts as determined by the ABTS assay

2.4 FRAP、DPPH·和 ABTS EC_{50} 值与茶多酚、儿茶素、茶三素的相关性分析

2.4.1 不同贮藏年份康砖茶多酚提取物 FRAP、DPPH 和 ABTS EC_{50} 值分析

EC_{50} 是评价抗氧化活性的重要指标，由图 4 可知，YA2015、YA2010、YA2006 和 YA2001 样品多酚提取物的 FRAP EC_{50} 值显著高于对照（Trolox），YA1993 FRAP EC_{50} 与对照差异不显著。随贮藏年份的增加，FRAP EC_{50} 先显著增加，后显著降低，以 YA2006 样品的 FRAP EC_{50} 最高。康砖茶多酚提取物 DPPH·EC_{50} 和 ABTS·EC_{50} 显著高于对照。DPPH·EC_{50} 随贮藏年份的增加，显著降低；YA2010 ABTS·EC_{50} 显著低于其他年份，其他年份样品间差异不显著。黄景源[26]认为茯砖茶水提物清除 DPPH 和 ABTS 自由基的能力随贮藏年份的增加而有所降低，本研究结果则表明随贮藏年份的增加康砖茶多酚提取物清除 DPPH 自由基的能力显著增强；而清除 ABTS 自由基的能力与贮藏年份没有相关性。推测参试样品的提取方法和样品年份不同是导致试验结果不同的主要原因，与水提物相比，醇提物可更多地提取和保留样品中的黄酮类物质；加之本试验中样品贮藏期选取跨度远没有茯砖茶大，样品中功能成分的转化也不尽相同，故而研究结果有较大差异。

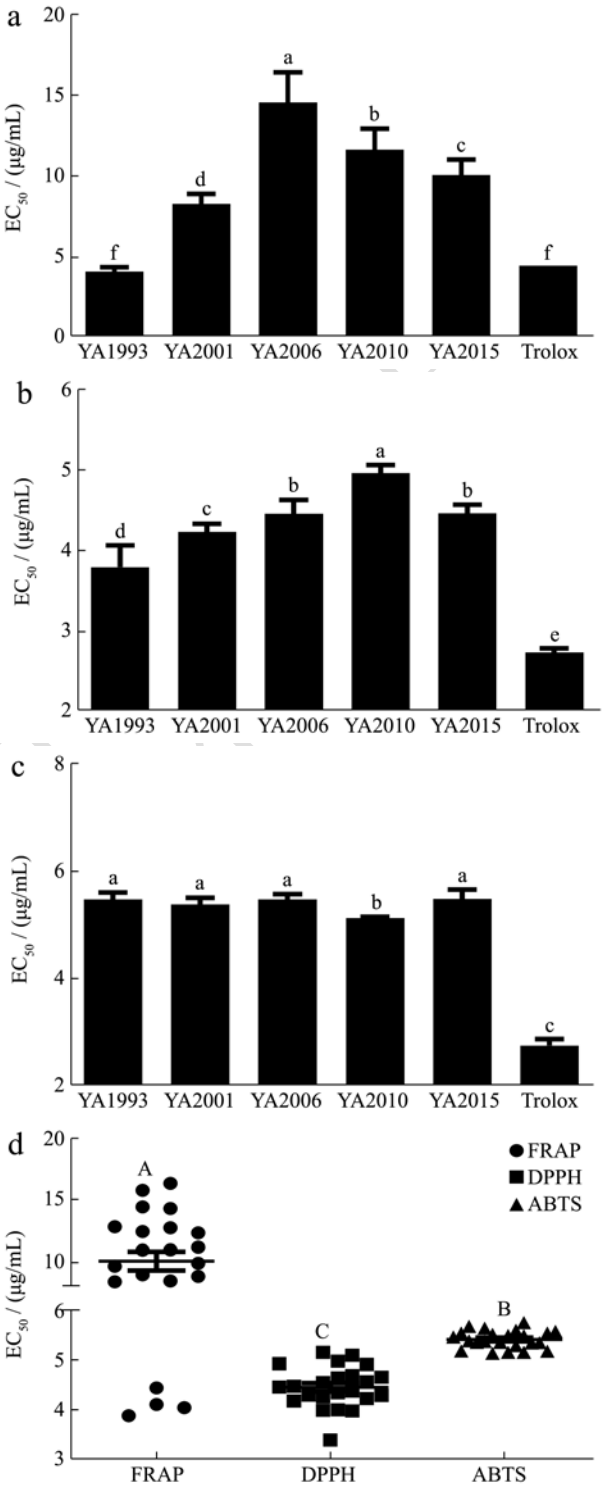


图 4 于 ABTS^{+}·，DPPH·，FRAP 的多酚提取物 EC_{50} 分析

Fig.4 EC_{50} analysis of polyphenols extracts as determined by the ABTS^{+}·, DPPH·, FRAP assays

注：a：FRAP；b：DPPH·；c：ABTS^{+}·。

康砖茶多酚提取物平均 FRAP EC_{50}、DPPH·EC_{50} 和 ABTS·EC_{50} 值间差异极显著，FRAP EC_{50} 极显著高

于 DPPH·EC_{50} 和 ABTS·EC_{50}，DPPH·EC_{50} 极显著低于 ABTS·EC_{50}。因此，康砖茶多酚提取物清除自由基的能力要大于对铁离子的还原能力，且对脂溶性自由基（DPPH）的清除率明显高于水溶性自由基（ABTS）。这与绿茶水提物对 ABTS 和 DPPH 自由基清除效果一致[27]，但单丛茶水提物[28]和紫鹃茶提取物[29]对水溶性自由基的清除率明显高于脂溶性自由基，这可能与不同茶类中的多酚或黄酮类的含量和组成不同有关。

2.4.2 FRAP、DPPH 和 ABTS EC_{50} 值与主要生化成分的相关性分析

表 4 EC_{50} 值与茶多酚、儿茶素和茶色素的相关性分析

Table 4 Pearson's correlation coefficients between antioxidant activities and total phenolics, and catechins

EC_{50}	FARP	DPPH	ABTS
GA	-0.78**	-0.71**	0.52*
茶多酚	-0.16	-0.03	-0.38
总黄酮	-0.71**	-0.19	-0.10
EGCG	-0.10	0.19	0.05
CG	0.03	0.23	0.06
GCG	0.13	0.33	0.02
ECG	0.21	-0.02	0.50
EGC	0.21	0.10	0.37
C	0.17	-0.08	0.41
EC	0.47	0.25	0.30
GC	0.92	0.87	-0.20
茶黄素	0.08	0.04	-0.39
茶红素	-0.25	-0.24	-0.27
茶褐素	-0.79**	-0.70**	0.22

注：*，**分别表示在 0.05，0.01 水平上存在差异显著性。

由表 4 可知，FRAP、DPPH·和 ABTS·EC_{50} 值与儿茶素和茶多酚没有显著相关性，但 FRAP EC_{50} 与总黄酮有极显著负相关，相关系数为 0.71。研究证实，绿茶水提取物[30]、福建白茶提取物[31]、普洱茶提取物[32]抗氧化活性与多酚及儿茶素有显著相关性，EGCG 是清除 DPPH·[33]、ABTS[34]自由基和还原亚铁离子[35]的主要化成分，而本研究中儿茶素和总黄酮与抗氧化活性并没有相关性，康砖茶中较低的茶多酚和儿茶素组分含量可能是其主要原因。

GA 与 FRAP 和 DPPH EC_{50} 值有极显著负相关，相关系数分别为 0.77 和 0.71。ABTS·EC_{50} 与 GA 有显著正相关，相关系数为 0.52。GA 是茶叶中酚酸类化合物，既可还原铁离子（FRAP）[18]，也可清除脂溶性自由基（DPPH）[36]和水溶性自由基（ABTS）[18]。本研究结果也表明 GA 浓度越高，康砖茶多酚提取物还原能力和清除 DPPH 自由基的能力也越强，但清除 $ABTS^{+}$·的能力却越弱，这可能与 GA 清除自由基的机制不同有关。茶褐素与 FRAP 和 DPPH EC_{50} 值有极显著负相关，相关系数分别为-0.79 和-0.70。茶褐素是儿茶素氧化聚合形成的结构复杂的产物，Gong 等[32]对普洱茶提取物的抗氧化活性分析表明，茶褐素与 FRAP、DPPH·有显著相关性，茶褐素含量越高，普洱茶提取物抗氧化活性越强。本研究结果进一步证实茶褐素含量越高，康砖茶多酚提取物还原铁离子的能力和清除 DPPH·的能力也越强。

2.5 不同贮藏年份康砖茶主要生化成分和抗氧化活性的 PLS-DA 分析

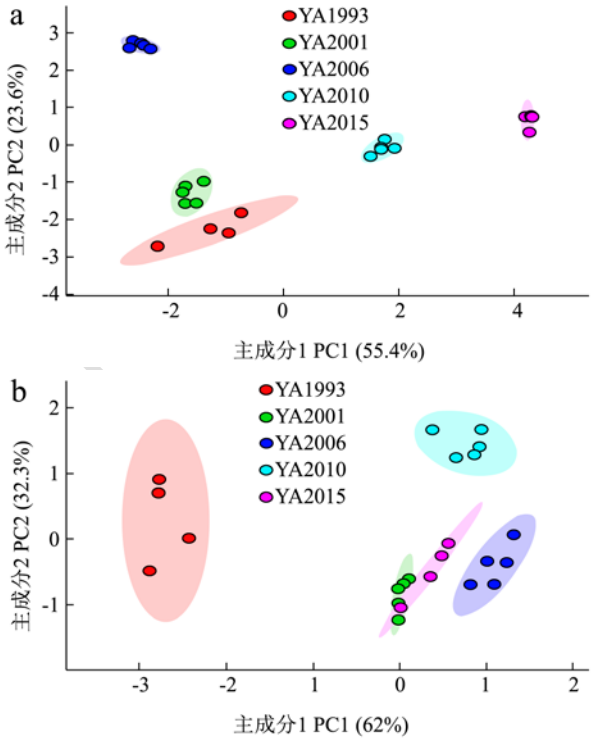


图 5 PLS-DA 分析

Fig.5 Partial least squares discrimination analysis

对 24 个参试样品的 14 个功能成分和抗氧化活性分别进行 PLS-DA 分析。由图 5a 可知，前两个主成分 PC1 和 PC2 分别为 55.40%和 23.60%，累计贡献率为 79%，基本涵盖了所有原始数据信息。YA1993、YA2001、YA2006、YA2010 和 YA2015 在 PLS-DA 平面上可明确区分开，样品间物质基础差异明显，其中 YA2001 和 YA1993 样品的物质基础最为接近，位于同一象限。由图 5b 可知，以 FRAP、DPPH·和 ABTS·EC_{50} 值为变量，PLS-DA 前两个主成分 PC1 和 PC2 分别为 62.00%和 32.30%，累计贡献率为 93.90%。5 个不同贮藏年份康砖茶抗氧化能力在 PLS-DA 平面上基本上可区分开，YA2015、YA2006 和 YA2001 样品的抗氧

化能力接近，位于同一象限。

由上可知，YA1993、YA2001、YA2006、YA2010和 YA2015 样品的物质基础差异明显，其抗氧化能力也有明显差异。但不同贮藏年份康砖茶的抗氧化能力却与其物质基础并不是一一对应的，物质基础相近其抗氧化能力也可以相差很大。

3 结论

3.1 随贮藏年份的增加，康砖茶中总黄酮、没食子酸和茶褐素含量总体上呈现显著增加的趋势，儿茶素组分含量则呈现先显著降低，后增加的趋势。

3.2 康砖茶多酚提取物具有还原铁离子和清除自由基的能力，随质量浓度增大，抗氧化活性增强。康砖茶多酚提取物清除自由基的能力高于对铁离子的还原能力，且对脂溶性自由基的清除能力显著高于水溶性自由基。随着贮藏年份的增加，清除脂溶性自由基的能力显著增强，但清除水溶性自由基的能力与贮藏年份并没有表现出一定的规律性

3.2 贮藏时间为 15 年（YA2001）和 22 年（YA1993）的康砖茶还原铁离子的能力和清除脂溶性自由基的能力显著高于贮藏时间 1 年（YA2015）、6 年（YA2010）和 10 年（YA2006）的康砖茶，高含量的没食子酸和茶褐素是其抗氧化活性差异的主要原因。不同贮藏年份康砖茶清除自由基的种类和能力的机深层次的机理，还有待于进一步研究，这对针对性地开展其保健功效和产品开发研究具有现实意义。

参考文献

[1] Leong L P, Shui G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets [J]. Food Chemistry, 2002, 76(1): 69-75

[2] Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity [J]. LWT-Food Science and Technology, 1995, 28(1): 25-30

[3] Gil M I, Tomás-Barberán F A, Hess-Pierce B, et al. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin c contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(17): 4976-4982

[4] Guo C, Yang J, Wei J, et al. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay [J]. Nutrition Research, 2003, 23(12): 1719-1726

[5] 张逸波,郑文杰,黄峙,等.硒杂环化合物 SPO 清除 DPPH 和 ABTS 自由基的光谱学研究[J].光谱学与光谱分析,2010, 30(7):1866-1871
ZHANG Yi-bo, ZHEN Wen-jie, HUANG Shi, et al. Spectrometric investigation of the antioxidant activity of a novel synthetic selenadiazole derivative SPO against DPPH and ABTS free radicals [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2010, 30(7): 1866-1871

[6] Mazid M, Khan T A, Mohammad F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants [J]. Biology and Medicine, 2011, 3(2): 232-249

[7] 陈宗懋.茶叶有效成分首次获美国 FDA 批准为处方药上市[J].中国茶叶,2007,6:19
CHEN Zong-mao. The effective ingredients of tea first approved by the US FDA for prescription drugs [J]. China Tea, 2007, 6: 19

[8] 赵宝权,邵宛芳,刘家奇,等.六堡茶、黑茶茶粉和普洱(熟茶)茶粉对 Wistar 大鼠调节血脂及抗氧化功能的比较研究[J].云南农业大学学报,2013,28(2):236-241
ZHAO Bao-quan, SHAO Wan-fang, LIU Jia-qi, et al. Comparative study on effect of fermented Pu-erh tea powder, dark tea powder and liupu tea on regulation of blood lipid and antioxidant in hyperlipidemia model rats [J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2013, 28(2): 236-241

[9] 陈红艳,李雨浩,岑浩彬.黑茶茶多酚类物质的提取及其抗氧化性能研究[J].中国农业大学学报,2017,22(9):101-107
CHEN Hong-yan, LI Yu-hao, CEN Hao-bing. Studies on polyphenols extraction technology and the performance of the antioxidants arising from dark tea [J]. Journal of China Agricultural University, 2017, 22(9): 101-107

[10] 向丽敏,刘雅琼,赖幸菲,等.不同茶类陈年茶的生化成分分析及其抗氧化活性[J].现代食品科技,2018,34(224):62-68
XIANG Li-min, LIU Ya-qun, LAI Xing-fei, et al. Biochemical component analysis and antioxidant activities of different kinds of aged tea [J]. Modern Food Science & Technology, 2018, 34(224): 62-68

[11] 付润华,齐桂年.四川康砖茶的微生物研究[J].江苏农业科学,2008,5:231-234
FU Rui-hua, QI Gui-nian. Study of microorganism in Kangzhuan tea in Sichuan province [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2008, 5: 231-234

[12] 陈云兰,于汉寿,吕毅,等.康砖和青砖茶中散囊菌的分离、鉴定及其生物学特性研究[J].茶叶科学,2006,26(3):232-236
CHEN Yun-lan, YU Han-shou, LYU Yi, et al. Investigation on the isolation, identification and the biological characteristic of *Eurotium fungi* in the Kangzhuan and Qingzhuan brick tea [J]. Tea Science, 2006, 26(3): 232-236

[13] 苏晓明,齐桂年.康砖茶主要工序的成分变化[J].贵州茶叶,2004,1:12-14
SU Xiao-ming, QI Gui-nian. The chemical components of the main procedures in Kangzhuan brick tea [J]. Guizhou Tea, 2004, 1: 12-14

[14] 周卫龙,徐建峰,许凌.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
ZHOU Wei-long, XU Jian-feng, XU Lin. GB/T 8313-2008 Determination of Tea Polyphenols and Catechins in Tea [S]. Beijing: China Standard Press, 2008

[15] 乔小燕,吴华玲,韩雪文,等.仁化白毛茶生化成分与成品白茶品质的相关性研究[J].核农学报,2015,29(12):2327-2333
QIAO Xiao-yan, WU Hua-lin, HAN Xue-wen, et al, Correlation on biochemical components and made-tea quality of Renhua baimao tea [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2015, 29(12): 2327-2333

[16] 黄意欢.茶学实验技术[M].北京:中国农业出版社,1995
HUANG Yi-huan. Tea Experimental Technology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995

[17] 黄华林,乔小燕,李波,等.萎凋方式对黄化英红九号红茶品质的影响[J].食品与机械,2018,34(10):26-30,66
HUANG Hua-lin, QIAO Xiao-yan, LI Bo, et al. Effects of different withering methods on black tea quality of yellowish Yinghong No.9 [J]. Food & Machinery, 2018, 34(10): 26-30, 66

[18] Biskup I, Golonka I, Gamian A, et al. Antioxidant activity of selected phenols estimated by ABTS and FRAP methods [J]. Advances in Hygiene and Experimental Medicine, 2013, 67(863688): 958-963

[19] Chen Y C, Sugiyama Y, Abe N, et al. DPPH radical-scavenging compounds from Dou-chi, a soybean fermented food [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 2005, 69(5): 999-1006

[20] Sharma O P, Bhat T K. DPPH antioxidant assay revisited [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1202-1205

[21] Arnao M B, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity [J]. Food Chemistry, 2001, 73(2): 239-244

[22] 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

[23] 高力,刘通讯.不同年份普洱茶儿茶素等组成及含量变化研究[J].食品工业,2013,8:175-178
GAO Li, LIU Tong-xun. Catechins components analysis on different aged Kang Pu-er tea [J]. The Food Industry, 2013, 8: 175-178

[24] 薛晨,华再欣,梅玉,等.原料级别和储藏时间对普洱茶品质影响的比较[J].安徽农业大学学报,2013,40(6):917-920
XUE Chen, HUA Zai-xin, MEI Yu, et al. Effects of grades and storage durations on the quality of Pu-erh tea [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2013, 40(6): 917-920

[25] 唐飞,艾于杰,张善明,等.不同年份青砖茶改善小鼠胃肠道功能的研究[J].华中农业大学学报,2018,37(1):82-88
TANG Fei, AI Yu-jie, ZHANG Shan-ming, et al. Effect of storage time of dark brick tea on improving gastrointestinal function in mice [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2018, 37(1): 82-88

[26] 黄景源.陈放时间对茯砖茶抗氧化性的影响研究[J].食品研究与开发,2016,37(3):62-65
HUANG Jin-yuan. Analysis of antioxidant capacity of Fuzhuan tea produced in different years [J]. Food Research and Development, 2016, 37(3): 62-65

[27] 黄玉凤,蔡明瑛,倪辉,等.单宁酶对绿茶水浸出物中儿茶素及抗氧化活性的影响[J].中国食品学报,2014,14(1):52-59
HUANG Yu-fen, CAI Ming-ying, NI Hui, et al. Effect of tannase treatment on catechin and antioxidant activity of green tea infusion [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2014, 14(1): 52-59

[28] 郑善元,陈填烽,郑文杰,等.单丛茶水提物清除 DPPH 和 ABTS 自由基的光谱学研究[J].光谱学与光谱分析,2010,30(9):2417-2423
ZHEN Shan-yuan, CHEN Tian-feng, ZHEN Wen-jie, et al. Spectrometric investigation of the antioxidant activities of Dancong tea aqueous extracts against DPPH and ABTS free radicals [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2010, 30(9): 2417-2423

[29] 沈晓佳.天然红色茶叶的化学分析[D].华东理工大学,2013
SHEN Xiao-jia. Chemical analysis of natural reddish tea [D]. East China University of Science and Technology, 2013

[30] Lee K W, Kim Y J, Lee H J, et al. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(25): b7292-7295

（下转第 264 页）