

# 绿茶与红茶浸提液功能性成分含量和抗氧化能力的差异研究

陈挺强, 刘淑敏, 黄惠华

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 作为全球公认的三大无酒精饮料之一, 茶及其制品具有丰富的营养价值和独特的保健功效。本实验以自制的绿茶和红茶为原料, 采用 1, 1-二苯基-2-三硝基法 (DPPH)、氧自由基吸收能力法 (ORAC) 和细胞抗氧化法 (CAA) 对两种茶浸提液的抗氧化能力进行测定和比较, 并研究了两种茶浸提液中各类功能性成分含量的差异。实验结果表明: 两种自制茶浸提液均具有较高的抗氧化活性, 但是其抗氧化能力随茶浸提液发酵程度的加深而降低 (DPPH 法  $IC_{50}$  值: 绿茶  $14.58 \mu\text{g DM/mL}$  < 红茶  $24.14 \mu\text{g DM/mL}$ ; ORAC 值: 绿茶  $5313.92 \pm 318.75 \mu\text{mol TE/g DM}$  > 红茶  $3684.14 \pm 233.59 \mu\text{mol TE/g DM}$ ; CAA 值: 绿茶  $26.23 \pm 0.43 \mu\text{mol QE/100 mg DM}$  > 红茶  $16.41 \pm 0.17 \mu\text{mol QE/100 mg DM}$ ); 随着发酵程度的加深, 茶浸提液干物质总量降低, 尤以茶多酚含量降低最为显著; 茶多酚是影响茶浸提液抗氧化能力的主要功能性成分。

**关键词:** 茶浸提液; 功能性成分; 抗氧化能力; 1, 1-二苯基-2-三硝基法; 氧自由基吸收能力法; 细胞抗氧化法

文章编号: 1673-9078(2014)10-141-146

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.10.024

## Comparative Evaluation of Functional Components and Antioxidant Activity between Green and Black Tea Extracts

CHEN Ting-qiang, LIU Shu-min, HUANG Hui-hua

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** As one of the globally recognized nonalcoholic beverages, tea and their products have high nutritional values and unique health benefits. In this study, the antioxidant activities of two types of tea, homemade green and black teas, were measured and compared using the 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl (DPPH), oxygen radical absorbance capacity (ORAC), and cellular antioxidant activity (CAA) methods. The difference between the contents of the functional components of green and black tea extracts was also measured. The results showed that both the homemade tea extracts had high antioxidant activity; however, their antioxidant activity decreased with increasing fermentation time.  $IC_{50}$  of DPPH in green tea ( $14.58 \mu\text{g DM/mL}$ ) was lower than that in black tea ( $24.14 \mu\text{g DM/mL}$ ); while ORAC and CAA values of green tea ( $5313.92 \pm 318.75 \mu\text{mol TE/g DM}$  and  $26.23 \pm 0.43 \mu\text{mol QE/100 mg DM}$ , respectively) were higher than those of black tea ( $3684.14 \pm 233.59 \mu\text{mol TE/g DM}$  and  $16.41 \pm 0.17 \mu\text{mol QE/100 mg DM}$ , respectively). The results indicated that with increasing fermentation time, the total dry matter of tea extracts decreased; in particular, the amount of tea polyphenols (TP) showed the highest decrease among the functional components. Thus, tea polyphenols are the major functional components that affect the antioxidant activity of tea extracts.

**Key words:** tea extract; functional components; antioxidant activity; 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl) hydrazyl; oxygen radical absorbance capacity; cellular antioxidant activity

茶是世界上消费量最大的饮料之一, 其中红茶占其产量的 78%, 主要在西方国家消费; 绿茶占其产量的 20%, 主要在亚洲国家消费<sup>[1]</sup>。茶具有多种保健功

收稿日期: 2014-04-15

基金项目: 广东省科技计划项目 (2010B020312005); 广州市科技计划项目 (2010Z1-E221)

作者简介: 陈挺强 (1990-), 男, 在读硕士, 研究方向食品工程; 刘淑敏; 并列第一作者

通讯作者: 黄惠华 (1959-), 男, 博士生导师, 研究方向农产品加工与贮藏

能, 如防治心血管疾病<sup>[2]</sup>、防癌抗癌<sup>[3]</sup>、防龋齿<sup>[4]</sup>等, 而其抗氧化能力是体现其功能活性的一个重要指标。茶叶中成分复杂, 已经明确鉴定出的有机化学成分在 600 种以上, 无机矿物元素亦达到 40 多种, 包括茶多酚、茶多糖、咖啡碱、蛋白质、氨基酸、茶色素、矿物质及微量元素等, 因而其品质无法用单一的成分含量量化直接反映。而茶叶的品质直接受其发酵程度影响, 其发酵程度则影响到茶叶产品中的生化成分及其功能活性。根据发酵程度将茶叶分为不发酵茶、前酵

茶和后发酵茶三类,其中绿茶属于不发酵茶类,红茶则属于全发酵茶类。

目前,天然产物体外抗氧化能力的评价方法主要分为化学分析法和生物学方法两类。其中,1,1-二苯基-2-三硝基法(DPPH)因其快速性和简便性而成为目前应用最为广泛的评价方法;氧自由基吸收能力法(ORAC)具有很高的特异性,其结果具有良好的重现性,是国内外评价天然产物总抗氧化活性的重要指标;但是这两种方法都不能全面、准确地反映物质的总抗氧化能力。与其相比,细胞抗氧化法(CAA)更具生物相关性,是前述两种方法的很好补充。本实验通过DPPH法、ORAC法和CAA法对两种自制茶叶(绿茶和红茶)浸提液的抗氧化能力进行测定和比较,研究发酵对茶的抗氧化能力的影响;同时对浸提液中功能性成分含量进行测定和比较,研究不同发酵程度下茶浸提液功能性成分的变化情况,为更好地开发和利用绿茶和红茶资源提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料和仪器

茶叶:实验所用茶叶为2012年7月11日生产红绿茶(夏茶),茶鲜叶取自华南农业大学2号(从凌云白毛种选育)茶树,鲜叶的采集以一芽二、三叶为标准,其制作工艺如下:

绿茶:鲜叶摊晾12h→200℃杀青→揉捻→100℃烘干;

红茶:鲜叶摊晾萎凋18h→揉捻→发酵150min→100℃烘干

1,1-二苯基-2-三硝基(DPPH),日本TCI公司;2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT),阿拉丁试剂(上海)有限公司;2,2'-偶氮二(2-咪唑丙烷)二盐酸盐(AAPH)、水溶性维生素E(Trolox)、羟基乙酯呱嗪乙烷硫酸(HEPES),美国Sigma公司;L-谷氨酸,广州菲博生物科技有限公司;荧光素钠,上海源叶生物科技有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)、Hank's平衡盐溶液(HBSS)、DMEM培养基,美国Gibco公司;胎牛血清,杭州四季青生物工程材料有限公司;青霉素-链霉素溶液(100X)、DCFH-DA,碧云天生物技术研究所;人肝癌细胞系HepG2,中山大学肿瘤研究所。

Varioskan Flash酶标仪、Hepa Class 100二氧化碳培养箱,美国Thermo公司;XW-80A旋涡混合器,上海精科实业有限公司;UV-1800紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;BSA124S-CW电子分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;JW-3021HR高速冷冻离心机,安徽嘉文仪器装备有限公司;PHS-25 pH

计,上海仪电科学仪器股份有限公司;THZ-C台式恒温振荡器,苏州培英实验设备有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 茶浸提液的制备

称取3.0g自制茶叶,加入30mL蒸馏水,80℃下浸提3次,每次20min,收集的浸提液经100目过滤后加蒸馏水定容至100mL,4℃储藏备用。使用时以相应溶剂稀释至不同浓度。

#### 1.2.2 茶浸提液的浸提率以及主要功能性成分含量的测定

茶浸提液的浸提率的计算公式如下:

$$\text{茶浸提液的浸提率}/\% = \frac{[\text{干茶重量} - \text{茶渣重量}]}{\text{干茶重量}} \times 100\%$$

注:茶渣重量为茶浸提液制备后所得滤渣于105℃烘干至恒重得到。

茶浸提液的干物质总量(Dry Matter, DM)测定:取茶浸提液1mL于已知重量的称量皿中,于60℃烘干至恒重,在干燥器内冷却后称重,二者差值即每毫升茶浸提液的干物质总量。

茶多酚(Tea Polyphenols, TP)含量测定:采用GB/T 8313-2008,福林酚比色法。茶多糖含量测定:采用蒽酮-硫酸法。咖啡碱含量测定:采用高效液相(HPLC)法, Dionex Acclaim120 C18(250mm×4.6mm, 5μm)柱,柱温30℃,检测波长280nm,流速0.8mL/min,进样体积10μL,等度洗脱流动相为甲醇-水-冰醋酸(24:75:1, V/V/V)。流动相及进样液均需经0.45μm微孔滤膜过滤。蛋白质含量测定:采用考马斯亮蓝G-250比色法。游离氨基酸含量测定:采用GB/T 8314-2002,茚三酮比色法。叶绿素含量测定:采用丙酮法。茶色素含量测定:采用系统分析法。

#### 1.2.3 1,1-二苯基-2-三硝基(DPPH)法测定茶浸提液的抗氧化能力

参照Chen等<sup>[1]</sup>的方法进行。取1mL待测茶浸提液与3mL DPPH溶液(0.1mmol/L,无水乙醇配制)混合并充分摇匀,室温避光静置30min后于517nm处测定其吸光度(A<sub>样品</sub>)。同时,以等量蒸馏水代替茶浸提液作空白对照实验(A<sub>空白</sub>)。以样品和无水乙醇混合液作为样品调零,以蒸馏水和无水乙醇混合液作为空白对照调零。以Trolox和BHT作为阳性对照实验。DPPH清除率由以下列公式计算得出:

$$\text{清除率}/\% = \frac{[1 - A_{\text{样品}}]}{A_{\text{空白}}} \times 100\%$$

通过建立待测样品和阳性对照的浓度与自由基清除率的回归方程,计算当清除率取50%时对应的样品或阳性对照的浓度,即为IC<sub>50</sub>。

#### 1.2.4 氧自由基吸收能力法(ORAC)测定茶

## 浸提液的抗氧化能力

参照 Dávalos 等<sup>[6]</sup>的方法, 并进行适当修改。该反应在 75 mM 磷酸缓冲溶液 (pH 7.4) 中进行, 最终的反应混合物为 200  $\mu\text{L}$ 。将待测茶浸提液 (20  $\mu\text{L}$ , 使用磷酸盐缓冲液稀释 1000 倍所得) 和荧光素钠 (120  $\mu\text{L}$ , 终浓度 70 nM) 溶液加入 96 孔荧光微孔板中, 37  $^{\circ}\text{C}$  预置 15 min 后, 使用多道移液器快速添加 AAPH 溶液 (60  $\mu\text{L}$ , 终浓度 12 mM) 将微孔板立即放入酶标仪中, 短时振荡后记录荧光强度值, 每 1 min 读取一次, 测定时间设为 60 min。1 个使用磷酸缓冲溶液代替抗氧化剂的空白对照 (FL+AAPH) 以及 8 个使用水溶性维生素 E (Trolox, 1-8  $\mu\text{M}$ ) 作为抗氧化剂的标定溶液也在每次实验中测定。

抗氧化曲线 (荧光值对应时间) 通过乘以原始数据因子 (荧光值<sub>空白, t=0</sub>/荧光值<sub>样品, t=0</sub>) 被相对应的空白对照第一次校正。通过校正曲线, 荧光衰退曲线下面积 (AUC) 可用以下公式计算:

$$\text{AUC} = 1 + \sum_{i=1}^{i=60} \frac{f_i}{f_0}$$

注:  $f_0$  是在 0 分钟时的最初荧光值读数,  $f_i$  是  $t=i$  (min) 时的荧光值读数。

茶浸提液的 ORAC 值为每 g 干物质相当于 Trolox 的量 ( $\mu\text{mol TE/g DM}$ ), 计算如下:

$$\text{ORAC 值} = \frac{\text{AUC}_{\text{Sample}} - \text{AUC}_{\text{AAPH}}}{\text{AUC}_{\text{Trolox}} - \text{AUC}_{\text{AAPH}}} \times \frac{\text{Trolox 浓度}}{\text{茶浸提液浓度}}$$

## 1.2.5 细胞抗氧化 (CAA) 法测定抗氧化能力

参照 Wolf 和 Liu<sup>[7]</sup>的方法, 并进行适当修改。以  $6 \times 10^4$ /孔的接种密度将人肝癌细胞系 HepG2 接种在 96 孔微孔板中, 每孔加入 100  $\mu\text{L}$  生长培养基 (10% 胎牛血清+1%青霉素-链霉素+89% DMEM)。37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  孵育 24 h 后, 除去培养基, 并用 PBS 清洗每个接种孔。然后加入样品处理液 (100  $\mu\text{L}$ , 含 25  $\mu\text{mol/L}$  的 DCFH-DA 的抗氧化培养基 (2  $\mu\text{L}$  谷氨酸+10 mM HEPES+DMEM) 配制而成), 空白孔和对照孔分别加入含 DCFH-DA 的抗氧化培养基, 继续培养 1 h 后取出, 用 100  $\mu\text{L}$  PBS 洗涤后, 空白孔加入氧化培养基 (100  $\mu\text{L}$ , 10 mM HEPES+HBSS), 其余孔加入 HBSS (100  $\mu\text{L}$ , 含 600  $\mu\text{mol/L}$  AAPH), 采用荧光酶标仪于 37  $^{\circ}\text{C}$  扫描微孔板, 在波长 538 nm 处激发, 在发射波长 485 nm 处测定, 每 5 min 测定一次, 测定时间设为 1 h。

除去空白值和初始荧光值后, 每个茶浸提液样品对应时间-荧光值曲线下的积分面积即样品的 CAA 值, 计算公式如下:

$$\text{CAA} = 100 - \left( \frac{\text{SA}}{\text{CA}} \right) \times 100$$

注: [SA 表示时间-样品荧光值曲线下完整面积, [CA 表示时间-对照荧光值曲线下完整面积。茶浸提液的 CAA 值以每 100 mg 干物质相当于槲皮素 (QE) 的微摩尔当量表示, 由半数有效浓度 (EC<sub>50</sub>) 值转化成。EC<sub>50</sub> 值可根据  $\log(f_a/f_u)$  对  $\log(\text{dose})$  的中效原理计算得到, 其中:  $f_a$  为样品作用效应 (CAA unit),  $f_u$  为 (1-CAA unit)。

## 1.2.6 统计分析

所有实验数据至少 3 次重复, 结果以“平均值 $\pm$ 标准偏差”表示。作图采用 Origin 8.6, 回归分析和 F 检验采用 SPSS 19.0 统计分析软件, 单因素方差分析采用 One-Way ANOVA, 显著性分析采用 LSD 检验 (P<0.5 时差异显著, P<0.1 时差异极显著)。

## 2 结果与分析

### 2.1 发酵对茶浸提率及浸提液功能性成分含量的影响

目前关于茶叶的功能性成分研究很多且深入, 如茶多酚的抗氧化功能<sup>[8]</sup>, 茶多糖的降血糖功能<sup>[9]</sup>, 茶色素的调节血脂功能等等。本实验对未发酵的自制的绿茶和全发酵的红茶的浸提率及浸提液功能活性成分进行测定, 结果见表 1。

表 1 两种茶浸提率及浸提液功能性成分含量

Table 1 Extraction rates and contents of the main functional components of green and black tea extracts

成分	绿茶	红茶
浸提率/%	37.30 $\pm$ 0.67	27.70 $\pm$ 0.33
干物质总量	11.20 $\pm$ 0.20	8.30 $\pm$ 0.10
茶多酚	4.51 $\pm$ 0.02	2.24 $\pm$ 0.03
茶多糖	0.88 $\pm$ 0.02	0.91 $\pm$ 0.01
咖啡碱	1.00 $\pm$ 0.01	0.93 $\pm$ 0.01
蛋白质	0.78 $\pm$ 0.02	0.89 $\pm$ 0.01
氨基酸	0.65 $\pm$ 0.05	0.52 $\pm$ 0.02
叶绿素	0.02 $\pm$ 0.00	0.01 $\pm$ 0.00
茶黄素	0.02 $\pm$ 0.00	0.05 $\pm$ 0.00
茶红素	0.33 $\pm$ 0.01	0.22 $\pm$ 0.01
茶褐素	0.39 $\pm$ 0.01	0.79 $\pm$ 0.01

注: 表中数值均以平均值 $\pm$ 标准偏差表示, n=3; 功能性成分含量以每 1 mL 茶浸提液中所含有的量表示, 单位为 mg/mL。

由表 1 可知, 随着发酵程度的加深, 茶的浸提率下降, 干物质总量减小; 在各功能活性成分中, 茶多酚含量变化最大 (含量减半), 茶黄素和茶褐素含量有所增加但变化不大, 其它功能活性成分的含量基本持平。因而可知, 在发酵过程中, 茶浸提液主要发生变

化的物质是茶多酚。

## 2.2 1,1-二苯基-2-三硝基 (DPPH) 法测定茶

### 浸提液的抗氧化能力

自从上个世纪 50 年代末 Marden Blois<sup>[10]</sup>提出以来, DPPH 法已发展为广泛应用于天然提取物或纯化合物抗氧化能力评价和筛选的重要方法。其基本原理是: DPPH 有单电子, 其醇溶液呈深紫色, 在紫外-可见光区 516 nm 波长处具有最大光吸收。当其 with 自由基清除剂混合时, 会形成还原形式(孤对电子配对), 紫色减退, 在 517 nm 处的吸光度减小, 溶液颜色变化程度与自由基的清除程度呈线性关系。因此, 可通过测定吸光度的减小程度来评价抗氧化剂的自由基清除活性。本实验通过该法测定自制的绿茶和红茶浸提液的抗氧化能力, 同时以 Trolox 和 BHT 作为阳性对照, 结果如表 2 所示。

表 2 两种茶浸提液 DPPH 自由基清除的 IC<sub>50</sub> 值

Table 2 IC<sub>50</sub> values of green and black tea extracts for scavenging DPPH free radicals

样品名称	回归方程	相关系数	IC <sub>50</sub> / (μg DM/mL)
绿茶	y = 648.8x + 24.67	0.964	14.58 <sup>a</sup>
红茶	y = 361.7x + 22.37	0.974	24.14 <sup>c</sup>
Trolox	y = 3024x - 5.771	0.992	17.41 <sup>b</sup>
BHT	y = 511.9x + 22.62	0.925	53.49 <sup>d</sup>

注: 茶浸提液对 DPPH 自由基清除的 IC<sub>50</sub> 值以每 1 mL 茶浸提液中所含干物质 (DM) 含量表示, 单位为 μg DM/mL。

半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 指清除一半 DPPH 时所消耗的受试物总量。作为评价抗氧化活性最常用的参考指标, IC<sub>50</sub> 值越小, 则表明该物质的抗氧化活性越强。由表 2 可知, 绿茶浸提液的 IC<sub>50</sub> 值显著低于红茶浸提液, 说明随着发酵程度的加深, 茶浸提液对 DPPH 自由基的清除能力降低, 体外抗氧化能力下降; 与两种抗氧化剂做比较, 四种物质抗氧化活性存在显著性差异 (p<0.5), 其强弱次序为: 绿茶>Trolox>红茶>BHT, 说明茶浸提液的抗氧化能力优于一般抗氧化剂。

与其它食品原料比较, 许红星等<sup>[11]</sup>采用 DPPH 法评价 10 种水果的抗氧化活性, 结果表明: 10 种水果对 DPPH 自由基的清除的 IC<sub>50</sub> 值在 21.5 mg/mL~218.7 mg/mL 之间; Surinut 等<sup>[12]</sup>测定了 15 种泰国水果对 DPPH 自由基清除的能力, 结果表明: 葡萄皮具有最强的抗氧化活性, IC<sub>50</sub> 值为 1.10 mg/mL, 木菠萝的抗氧化活性最低, IC<sub>50</sub> 值 110.46 mg/mL。对比可知, 两种自制茶叶浸提液的 IC<sub>50</sub> 值均明显小于目前研究证实

的一些抗氧化活性较强的水果, 说明茶浸提液的抗氧化能力明显优于常见的水果。

## 2.3 氧自由基吸收能力法 (ORAC) 测定茶浸

### 提液的抗氧化能力

氧自由基吸收能力法 (ORAC) 是 Cao 等<sup>[13~14]</sup>以 Glazer 的研究为基础建立起来的评价样品总抗氧化活性的重要方法, 在抗氧化研究领域得到广泛应用<sup>[15]</sup>。其原理基于以 β-藻红蛋白作为荧光指示蛋白, 以 Trolox 为定量标准, 当指示蛋白受到自由基攻击时, 在一定波长范围内其荧光强度会下降, 因此可通过测定其荧光强度衰退程度来计算待测样品对自由基的清除能力。

本实验测得绿茶浸提液 ORAC 值为 5313.92±318.75 μmol TE/g DM, 红茶浸提液 ORAC 值为 3684.14±233.59 μmol TE/g DM。对比可知, 绿茶的 ORAC 值大于红茶, 说明绿茶的自由基清除能力要优于红茶, 即随着发酵程度的加深, 茶的抗氧化活性降低。

与其它食品原料比较, Boxin Ou 等<sup>[16]</sup>选取白卷心菜、胡萝卜、豌豆、青椒等共计 13 种常见蔬菜 927 个样品进行测定, 结果发现 ORAC 值最高的为青椒 (160 μmol/g DM); 最小的是豌豆 (18 μmol/g DM)。Shiow Y Wang 等<sup>[17]</sup>研究了公认抗氧化能力较强的黑莓、红树莓、黑树莓和草莓的抗氧化活性, 其中果实的 ORAC 值范围在 35.0~162.1 μmol TE/g DM 之间, 叶子的 ORAC 值范围在 205.0~728.8 μmol TE/g DM 之间。对比可知, 茶的抗氧化活性是常见的蔬菜水果的数倍甚至数十倍, 可见茶的抗氧化活性之高。

## 2.4 细胞抗氧化活性法 (CAA) 测定茶浸提液

### 的抗氧化能力

为进一步探究茶浸提液的抗氧化能力, 采用细胞抗氧化活性法 (CAA) 对其进行评价。CAA 法通过细胞模型实验来测定待测样品的抗氧化活性, 比前述的 DPPH 法和 ORAC 法更具生物相关性, 与化学分析法结合使用将更具说服力<sup>[18]</sup>。其测定原理是基于细胞用抗氧化活性物质以及指示剂二氯荧光黄双乙酸盐 (DCFH-DA) 预处理, 抗氧化活性物质和 DCFH-DA 穿过细胞膜, 其中 DCFH-DA 会被细胞酯酶分解成还原型二氯荧光素 (DCFH), 而 DCFH 极易被自由基氧化成可通过分光光度法测定的荧光物二氯荧光素 (DCF)。2,2-偶氮二异丁基脒二盐酸盐 (AAPH) 可

通过细胞膜进入细胞并分解形成过氧化自由基 ROO<sup>-</sup>，继而激发产生更多自由基或活性氧 (ROS<sup>-</sup>)。抗氧化剂可与膜外的氧自由基或膜内的 ROO<sup>-</sup>和 ROS<sup>-</sup>结合而阻止 DCFH 被氧化成荧光物 DCF。因此，通过比较实验组和空白组的细胞内荧光物质的减少量可判断该物质的抗氧化能力<sup>[9]</sup>。CAA 法测定两种茶浸提液的抗氧化能力结果如 1 和 2。

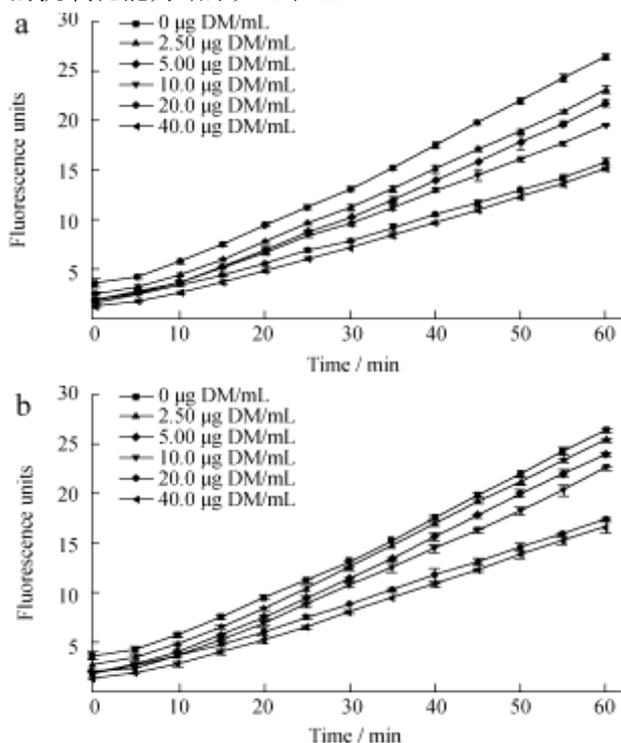


图 1 HepG2 细胞中 AAPH 产生的过氧化氢自由基氧化 DCFH 的动力学曲线

Fig.1 Kinetic curves for the oxidation of DCFH by peroxy radicals generated in HepG2 cells

图 1 为 HepG2 细胞中 AAPH 产生的过氧化氢自由基氧化 DCFH 的动力学曲线，可以看出，随着茶浸提液中所含干物质浓度升高，荧光值不断减小，说明两种茶能有效抑制 DCF 的生成；图 2 为抑制过氧化氢自由基诱导 DCFH 氧化的中效原理图，根据两图可算得两种茶的 EC<sub>50</sub> 值，将其转化为槲皮素当量，得表 2~4。

由表 3 可知，绿茶有比红茶更低的 EC<sub>50</sub> 值，说明绿茶的抗氧化能力强于红茶。与其它食品原料比较，王立峰等<sup>[20]</sup>通过对薏米样品多酚类物质游离型和结合型部分构建细胞模型，测定了三种公认具有良好抗氧化活性的薏米品种，结果发现其 CAA 平均值为 0.97 µmol QE/100 g，其中结合型龙薏 1 号薏米的 CAA 值最高，其值为 1.37±0.48 µmol QE/100 g；游离型贵州黑谷薏米的 CAA 值最低，其值为 0.53±0.12 µmol QE/100 g。对比可知，茶的细胞抗氧化能力比一般公

认抗氧化活性较好的谷物强。

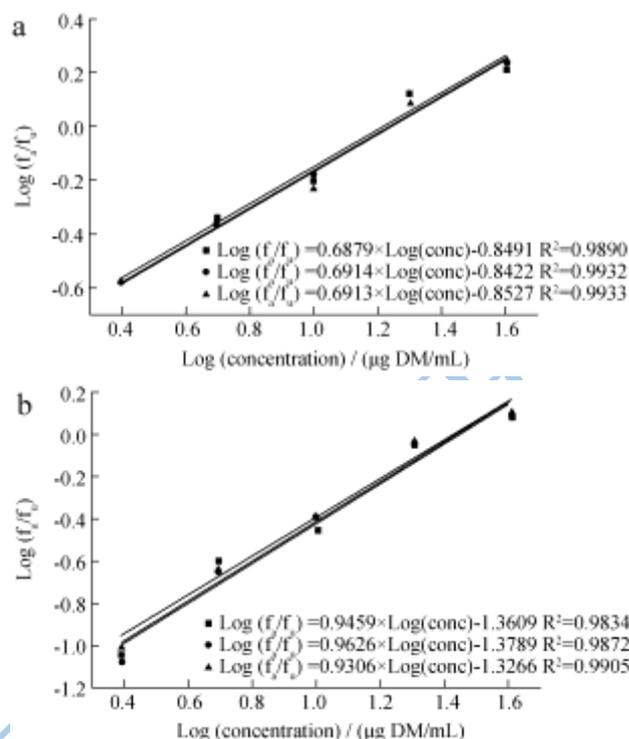


图 2 抑制过氧化氢自由基诱导 DCFH 氧化的中效原理图  
Fig.2 Median effect plots for the inhibitory effect on peroxy radical-induced DCFH oxidation

表 3 两种茶浸提液对于 HepG2 细胞的抗增殖作用能力  
Table 3 Anti-proliferation of green and black tea extracts on HepG2 cells

HepG2 cells		
样品名称	EC <sub>50</sub>	槲皮素当量
绿茶	16.93±0.27	26.23±0.43
红茶	27.06±0.28	16.41±0.17

注：茶浸提液 EC<sub>50</sub> 值以每 1 mL 茶浸提液中所含干物质 (DM) 含量表示，单位为 µg DM/mL；茶浸提液的 CAA 值以每 100 mg 干物质 (DM) 相当于槲皮素的微摩尔当量表示，单位为 µmol QE/100 mg DM。

### 3 结论

DPPH法、ORAC法和细胞抗氧化法 (CAA) 结果表明，发酵使茶浸提液的抗氧化能力显著降低。体现在 DPPH 的 IC<sub>50</sub> 值的差异为：绿茶 14.58 µg DM/mL < 红茶 24.14 µg DM/mL；而 ORAC 值的差异为：绿茶 5313.92±318.75 µmol TE/g DM > 红茶 3684.14±233.59 µmol TE/g DM；CAA 值的差异为：绿茶 26.22±0.43 µmol QE/100 mg DM > 红茶 16.41±0.17 µmol QE/100 mg DM。对两种茶浸提液的功能性成分测定发现随着发酵程度加深，茶多酚含量降低最为显著。因此可以合理推论：茶多酚是体现茶的抗氧化能力的主要成分物质。相关研究<sup>[21-22]</sup>也得到类似的结论。

## 参考文献

- [1] Khan Naghma, Mukhtar Hasan. Tea polyphenols for health promotion [J]. *Life Sciences*, 2007, 81(7): 519-533
- [2] Deka Apranta, Vita Joseph A. Tea and cardiovascular disease [J]. *Pharmacological Research*, 2011, 64(2): 136-145
- [3] De Mejia Elvira Gonzalez, Ramirez-Mares Marco Vinicio, Puangraphant sirima. bioactive components of tea: cancer, inflammation and behavior [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2009, 23(6): 721-731
- [4] Ferrazzano Gianmaria F, Amato Ivana, Ingenito Aniello, et al. Anti-cariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea) [J]. *Fitoterapia*, 2009, 80(5): 255-262
- [5] Chen Jing-jing, Zhang Tao, Jiang Bo, et al. Characterization and antioxidant activity of Ginkgo biloba exocarp polysaccharides [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(1): 40-45
- [6] Dávalos Alberto, Gómez-Cordovés Carmen, Bartolomé Bego A. Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52(1): 48-54
- [7] Wolfe Kelly L, Liu Rui-hai. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(22): 8896-8907
- [8] 龙秀, 李国基, 耿子欢. 茶多酚对干果类食品抗氧化作用的研究 [J]. *现代食品科技*, 2005, 21(3): 118-119  
LONG Xiu, LI Guo-ji, GENG Yu-huan. Study on the anti-oxidation effect of tea polyphenols on dry fruit [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2005, 21(3): 118-119
- [9] 刘安军, 邓颖, 王雅静. 茶多糖及协同因子的降血糖作用研究 [J]. *现代食品科技*, 2012, 28(2): 139-141, 138  
LIU An-jun, DENG Ying, WANG Ya-jing. Research of hypoglycemic effects of tea polysaccharide and synergy factors [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2012, 28(2): 139-141, 138
- [10] Blois Marsden S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical [J]. *Nature*, 1958, 181: 1199-1200
- [11] 许红星, 曹晖, 刘方方. 两种方法评价常见水果的抗氧化活性 [J]. *扬州大学烹饪学报*, 2012, 4: 38-42  
XU Hong-xing, CAO Hui, LIU Fang-fang. Evaluation of two methods for antioxidant activities of common fruits [J]. *Culinary Science Journal of Yangzhou University*, 2012, 4: 38-42
- [12] Surinut P, Kaewsuthi S, Surakarnkul R. Radical scavenging activity in fruit extracts [C]/III WOCMAP congress on medicinal and aromatic plants-volume 5: quality, efficacy, safety, processing and trade in medicinal and aromatic plants. Chiang Mai: Acta Horticulturae, 2003: 201-203
- [13] Kurihara Hiroshi, Fukami Harukazu, Asami Sumio, et al. Effects of oolong tea on plasma antioxidative capacity in mice loaded with restraint stress assessed using the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2004, 27: 1093-1098
- [14] Cao Guohua, Alessio Helaine M., Cutler Richard G. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1993, 14(3): 303-311
- [15] 李武, 李艳君, 杨瑞丽. 热带水果多酚提取物的抗氧化和抗增殖活性研究 [J]. *现代食品科技*, 2013, 29(10): 2383-2387  
LI Wu, LI Yan-jun, YANG Rui-li. Antioxidant and antiproliferative activities of polyphenol extract from 12 tropical fruits [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(10): 2383-2387
- [16] Ou Boxin, Huang Dejian, Hampsch-Woodill Maureen, et al. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(11): 3122-3128
- [17] Wang Shiow Y, Lin Hsin-Shan. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(2): 140-146
- [18] Blasa Manuela, Angelino Donato, Gennari Lorenzo, et al. The cellular antioxidant activity in red blood cells (CAA-RBC): A new approach to bioavailability and synergy of phytochemicals and botanical extracts [J]. *Food Chemistry*, 2011, 125(2): 685-691
- [19] 夏春燕, 郭晓晖, 李富华, 等. 细胞抗氧化活性方法在食物抗氧化活性评价中的研究进展 [J]. *食品科学*, 2012, 15: 297-302  
XIA Chun-yan, GUO Xiao-hui, LI Fu-hua, et al. Research progress of cellular antioxidant activity assay for antioxidant evaluation of foods [J]. *Journal of Food Science*, 2012, 15: 297-302
- [20] 王立峰, 陈静宜, 谢慧慧, 等. 薏米多酚细胞抗氧化及 HepG2 细胞毒性和抗增殖作用 [J]. *中国农业科学*, 2013, 14: 2990-3002  
WANG Li-feng, CHEN Jing-yi, XIE Hui-hui, et al. Cytotoxicity and anti-proliferation effect on HepG2 cells and cellular antioxidant activity (CAA) of adlay polyphenols [J].

Scientia Agricultura Sinica, 2013, 14: 2990-3002

- [21] 曹艳妮,刘通讯.多种普洱茶水浸提物体外抗氧化性质研究[J].现代食品科技,2010,9:944-947

CAO Yan-ni, LIU Tong-xun. Antioxidant activity of water extract from different Pu-erh tea [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 9: 944-947

- [22] 陈金娥,丰慧君,张海容.红茶、绿茶、乌龙茶活性成分抗氧化性研究[J].食品科学,2009,3:62-66

CHEN Jin-e, FENG Hui-jun, ZHANG Hai-rong. Effects of active ingredients in black tea, green tea and oolong tea on antioxidant capability [J]. Journal of Food Science, 2009, 3: 62-66

现代食品科技