

不同等级红茶的抗氧化活性及关键成分比较分析

乐婷^{1,2}, 王伟伟¹, 王蔚^{1,2}, 张建勇¹, 薛金金^{1,2}, 杨刘艳³, 江和源^{1*}

(1. 中国农业科学院茶叶研究所, 农业部茶树生物学与资源利用重点实验室, 浙江省茶叶加工工程重点实验室, 浙江杭州 310008) (2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081)

(3. 福建正山堂茶业有限责任公司, 福建南平 354399)

摘要: 为了分析三个不同等级红茶的抗氧化活性强弱及关键差异成分, 该研究检测分析了红茶样品抗氧化活性及主要化学成分的含量。实验结果表明: 红茶抗氧化活性随红茶等级的升高呈现出递增趋势, 其中特级红茶和二级红茶之间差异达到显著水平 ($p < 0.05$); 此外, 这五款不同品类红茶间抗氧化活性强弱水平也参差不齐, 存在较大差异。检测成分发现, 红茶样品内的咖啡碱、多酚、儿茶素、非酯型儿茶素、没食子酸、茶黄素含量随红茶等级升高逐渐增加; 而多酚和酯型儿茶素含量变化则与品类间红茶活性变化一致; 相关性分析发现红茶的抗氧化活性与多酚、儿茶素、非酯型儿茶素、酯型儿茶素、没食子酸、茶黄素等成分含量具有较强的正相关, 其中多酚含量与 4 种抗氧化活性指标相关性均达到极显著水平 ($p < 0.01$), 与 T-AOC 值和 DPPH 值相关系数均达到 0.9 以上。综上可知, 红茶的等级会对其抗氧化活性造成影响, 多酚及其衍生物是决定红茶等级和抗氧化活性的重要指标。

关键词: 红茶; 等级; 品类; 抗氧化活性; 成分含量; 相关性

文章编号: 1673-9078(2022)08-97-104

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.8.1175

Antioxidant Activity and Key Components of Three Grades of Black Tea

LE Ting^{1,2}, WANG Weiwei¹, WANG Wei^{1,2}, ZHANG Jianyong¹, XUE Jinjin^{1,2}, YANG Liuyan³, JIANG Heyuan^{1*}

(1. Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Tea Biology and Resources Utilization of Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Tea Processing Engineering of Zhejiang Province, Hangzhou 310008, China) (2. Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China) (3. Fujian Zhengshantang Tea Co. Ltd., Nanping 354399, China)

Abstract: Three grades of black tea were investigated to determine their antioxidant activity and main chemical components. The results showed that the antioxidant activity of black tea samples increased with increasing tea grade, with a significant difference between special-grade and second-grade black teas ($p < 0.05$). In addition, antioxidant activity also varied significantly among five different categories of black tea. Composition analysis revealed that the levels of caffeine, polyphenols, catechins, non-ester catechins, gallic acid, and theaflavins increased gradually with increasing tea grade; whereas the polyphenol and ester catechin levels were consistent with the changes in antioxidant activity among the five different categories of black tea samples. Correlation analysis indicated that the antioxidant activity of black tea was significantly positively correlated with the levels of polyphenols, catechin, non-ester catechin, ester catechin, gallic acid, and theaflavins. Among them, the correlation of polyphenols with the four indicators of antioxidant activity were highly significant ($p < 0.01$), and the correlation coefficients with T-AOC and DPPH exceeded 0.9. In conclusion, the grade of black tea can influence its antioxidant activity, while polyphenols and its derivatives can serve as key components for determining the grade and antioxidant activity of black tea.

Key words: black tea; grade; category; antioxidant activity; component content; correlation

引文格式:

乐婷,王伟伟,王蔚,等.不同等级红茶的抗氧化活性及关键成分比较分析[J].现代食品科技,2022,38(8):97-104

LE Ting, WANG Weiwei, WANG Wei, et al. Antioxidant activity and key components of three grades of black tea [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(8): 97-104

收稿日期: 2021-10-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31670692); 中国农业科学院基本科研业务费专项 (Y2021GH06); 中国农业科学院科技创新工程 (CAAS-ASTIP-2020-TRICAAS)

作者简介: 乐婷 (1996-), 女, 硕士, 研究方向: 茶叶加工与食品质量安全, E-mail: letin@tricaas.com

通讯作者: 江和源 (1974-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 茶叶化学与加工, E-mail: jianghy@tricaas.com

红茶是世界上最受欢迎的茶类,可占到全球茶叶生产量的75%,贸易量的78%^[1,2]。红茶之所以受到广大消费者青睐,除优异的品质特征之外,其突出的生理功效也至关重要。研究人员通过多种抗氧化活性评价方法证实了红茶在生物体内及体外实验体系中均具有良好的抗氧化能力,而抗氧化活性是红茶发挥其他生理功效的基础,对于红茶保健功能价值的评定具有重要意义^[3]。与其他茶类相比,红茶抗氧化活性也呈现独特的特征,红茶内含成分螯合金属离子的活性较其他茶类更强^[4]。红茶内茶黄素等成分可以通过直接清除自由基、络合金属离子、调节生物酶系等途径发挥抗氧化作用。研究显示,红茶抑制氧化应激能力,可能是红茶发挥其他生理功效,是预防肥胖、糖尿病、预防癌症等疾病的重要途径^[5-7]。

当今的茶叶市场,红茶是分级进行加工和消费的。茶叶,一般是通过原料嫩度、采摘时间和感官品质等方式来进行分级,近阶段也相继推出了视觉图像技术、光谱技术、电子鼻、电子舌等技术进行茶叶分级^[8]。此外,Guo等^[9]通过非靶标代谢组学分析,提出阿夫儿茶精没食子酸酯、山奈酚葡萄糖苷和茶双没食子儿茶素A等成分为不同等级祁门红茶差异标记物,并推断这些差异成分与红茶降糖的活性存在密切关联。因此,利用茶叶生理活性差异来辅助茶叶分级也逐渐引起研究人员注意。

不同等级红茶的抗氧化活性存在一定差异,Zhang等^[10]以不同等级祁门红茶为原料,得到高等级祁门红茶化学抗氧化活性要强于低等级祁门红茶的结论,但对于这种差异的来源并未进行深入分析,且上述研究均以祁门红茶为对象,关于其他红茶的研究还鲜见报道。此外,红茶茶汤内含物质丰富,涉及的抗氧化机制复杂,需要用多种抗氧化评价方法来进一步验证试验结果的准确性。

本研究选用五个地区不同等级的红茶样品,最大限度提取其抗氧化活性成分,并结合铁离子还原法(ferric reducing antioxidant power, FRAP)、清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基活性、清除2,2'-联氨基-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate), ABTS)自由基活性和氧化自由基吸收能力法(Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC)来对其抗氧化活性强弱进行检测,进一步分析得到红茶等级与其抗氧化活性关联及其关键活性成分,为人们对于不同等级红茶产品的科学认知提供初步的理论借鉴,可为消费者选购红茶时在功效方面的考量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

15个红茶样品,均为2020年春茶,主要包括骏眉红、普安红、广元红、古丈红、滇红五个品类及特级、一级、二级三个等级,其中滇红茶样为线上渠道(直营店)购买,其它茶样为从生产厂家取样收集,常温贮存,如表1所示。

主要试剂:所有试剂未明确标注的均属于分析纯。儿茶素类化合物标准品、茶黄素类化合物标准品、芦丁标准品、乙腈[高效液相色谱(High performance liquid chromatography, HPLC)级]、95%乙醇、冰乙酸、福林酚、碳酸钠、没食子酸、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、茛三酮、L-谷氨酸、三氯化铝、乙酸钠、葡萄糖、葱酮、硫酸、荧光素钠、AAPH、Trolox、T-AOC试剂盒、DPPH、ABTS、超纯水。

表1 红茶样品

Table 1 Black tea samples

样品编号	样品名称	样品等级	样品代号
1		骏眉中国.特级	JM-1
2	骏眉红	骏眉中国.一级	JM-2
3		骏眉中国.二级	JM-3
4		普安红.特级	PA-1
5	普安红	普安红.一级	PA-2
6		普安红.二级	PA-3
7		广元红.特级	GY-1
8	广元红	广元红.一级	GY-2
9		广元红.二级	GY-3
10		古丈红.特级	GZ-1
11	古丈红	古丈红.一级	GZ-2
12		古丈红.二级	GZ-3
13		滇红.特级	DH-1
14	滇红	滇红.一级	DH-2
15		滇红.二级	DH-3

主要仪器:Waters alliance w2695型高效液相色谱仪,沃特世科技(上海)有限公司;LC-20AD高效液相色谱仪,日本岛津公司;UV-3600型分光光度计,日本岛津公司;Sartorius Quintix224-1CN型分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;Centrifuge 5810R型离心机, Sigma公司; Synergy H1酶标仪,美国伯腾仪器有限公司;DK-S26型电热恒温水浴锅,上海精宏实验设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 茶样提取物制备

准确称取磨碎红茶样品 0.125 g, 按 1:40 固液比用 80%乙醇在 70 °C 温度下提取 10 min, 5 min 振荡一次, 离心机在 3000 r/min 离心 10 min, 提取两次, 合并两次提取液。

1.2.2 福林酚法检测提取液中茶多酚含量测定

参照 GB/T 8313-2008《茶: 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法-茶叶中茶多酚的检测》福林酚法测定。

1.2.3 提取液中总糖含量测定

参照傅博强等^[11]的方法, 蒽酮-硫酸法比色测定。

1.2.4 提取液中氨基酸含量测定

参照 GB/T 8314-2013《茶: 游离氨基酸总量测定》茚三酮比色法测定。

1.2.5 儿茶素、没食子酸、咖啡碱组成与含量

参照薛金金等^[12]的研究方法: 色谱柱: 日本 Cosmosil 5C18-AR-II 柱 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m); 流动相: A 相为 50 mmol/L 磷酸, B 相为 100%乙腈; 进

样量: 10 μ L; 流速: 0.8 mL/min; 检测波长: 280 nm; 柱温: 35 °C; 洗脱梯度: 0~39 min, A 相由 96%降至 70%; 39~54 min, A 相由 70%降至 25%; 54~55 min, A 相由 25%升至 96%。

1.2.6 茶黄素的组成与含量

参照王坤波等^[13]的研究方法, 略有改动。具体为: 色谱柱: Hypersil ODS2 (4.6 mm×250 mm, 5 μ m) 柱; 流动相: A 相为 2%的醋酸水溶液, B 相为乙腈-乙酸乙酯溶液 (体积比为 7:1); 进样量: 10 μ L; 流速: 1.5 mL/min; 检测波长: 380 nm; 柱温: 35 °C; 洗脱梯度: 0~27 min, A 相由 92%降至 74%; 27~36 min, A 相由 74%升至 92%。

1.2.7 FRAP 法测定茶样总抗氧化活性

参照总抗氧化能力 (T-AOC) 测定试剂盒说明书操作。单位定义: 在 37 °C 时, 每分钟每毫升红茶提取物使反应体系的吸光度 (OD) 值每增加 0.01 时, 为一个总抗氧化单位。

计算公式:

$$\text{总抗氧化能力 (单位/mL 红茶提取物)} = \frac{\text{测定OD值}-\text{对照OD值}}{0.01} \div 30 \times \frac{\text{反应液总量}}{\text{取样量}} \times \text{样品测试前稀释倍数}$$

1.2.8 DPPH 自由基清除能力测定

参照 Xu 等^[14]的方法, 略有改动。具体步骤: 红茶提取物按比例稀释 40 倍, 取 10 μ L 稀释后红茶提取物或 Trolox 标准液与 200 μ L 的 DPPH 反应液 (1.14×10⁻⁴ mol/L) 于 96 孔板内, 黑暗中反应 30 min, 于 517 nm 检测吸光度值。将最后结果转换成 Trolox 当量, 用 μ mol TE/g 来表示各受测样品的抗氧化能力。

1.2.9 ABTS⁺清除能力测定

参照 Xu 等^[14]的方法, 略有改动。具体步骤: 取等体积 ABTS 储备液 (7 mmol/L) 与过硫酸钾水溶液 (2.45 mmol/L) 于黑暗中反应 12~16 h 得 ABTS 反应液 (ABTS⁺), 反应液以 1:40 比例用甲醇稀释至在 734 nm 下吸光度为 0.70±0.02, 红茶提取物按比例稀释 40 倍, 取 10 μ L 稀释后红茶提取物或 Trolox 标准液与 200 μ L 稀释后的 ABTS 反应液于 96 孔板内, 黑暗中反应 7 min, 于 734 nm 检测吸光度值。将最后结果转换成 Trolox 当量, 用 μ mol TE/g 来表示各受测样品的抗氧化能力。

1.2.10 ORAC 法

参照 Zhang 等^[15]的方法, 略有改动。具体步骤: 反应均在 pH=7.2 的磷酸盐缓冲液 (75 mmol/L) 体系中进行。红茶提取物按比例稀释 500 倍, 取 25 μ L 稀释后红茶提取物或 Trolox 标准液于 96 孔黑色荧光酶标板内, 向各微孔中添加浓度为 4.31×10⁻⁵ mmol/L 的荧光素钠溶液 150 μ L, 中速震荡 2 min, 在 37 °C 下孵育 15 min

后, 加入浓度为 76.5 mmol/L 的 AAPH 溶液 25 μ L 立即开始检测, 以激发波长 485±20 nm, 发射波长 530±20 nm 下对最终反应体系的荧光强度进行连续测定, 整个体系保持 37 °C, 每 2 min 测定一次荧光强度, 每次测定前中速震动孔板 10 s, 测定时间长度设定为荧光衰减呈基线后为止。将最后结果转换成 Trolox 当量, 用 μ mol TE/g 来表示各受测样品的抗氧化能力。

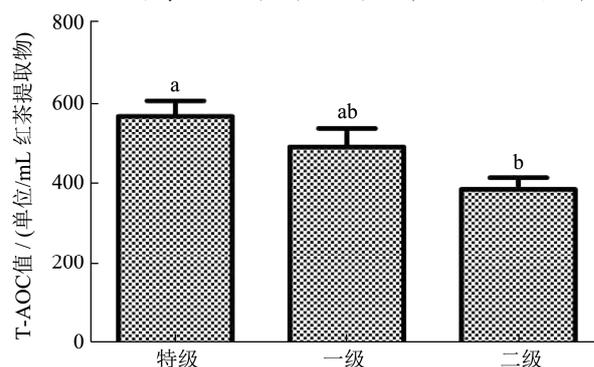
1.3 数据处理

采用 SPSS Statistics 23、Simca 数据处理软件进行数据分析。

2 结果与讨论

2.1 红茶样品抗氧化活性情况

2.1.1 不同等级红茶样品的抗氧化活性分析



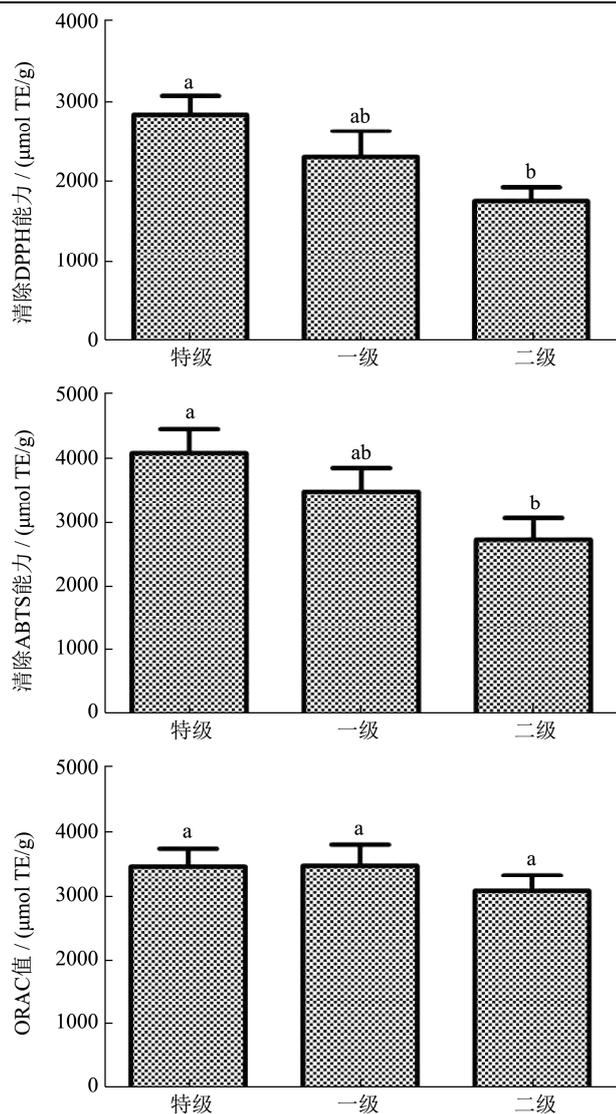


图1 不同等级红茶抗氧化活性组图

Fig.1 Antioxidant activity of different grades black tea

注：同一柱状图内上标的小写字母表示具有显著差异 ($p < 0.05$)。

如图1所示，将五个产区的特级、一级、二级三个等级红茶做平均值来进行分析，从上图我们可以发现，红茶在FRAP、清除DPPH自由基、清除ABTS自由基、ORAC等四个体系中均表现出良好抗氧化活性。

统计分析结果表明，在FRAP、清除DPPH自由基、清除ABTS自由基三个体系中，三个等级红茶样品抗氧化活性强弱随红茶等级的下降呈递降的趋势，其中特级的红茶样品的T-AOC值(567.76单位/mL红茶提取物)、清除DPPH能力(2835.32 $\mu\text{mol TE/g}$)、清除ABTS能力(4094.72 $\mu\text{mol TE/g}$)显著高于二级的红茶样品(其值分别为384.81单位/mL红茶提取物、1755.80 $\mu\text{mol TE/g}$ 、2730.10 $\mu\text{mol TE/g}$) ($p < 0.05$)，特级红茶抗氧化数值是二级红茶抗氧化数值近两倍，而

一级的样品介于特级和二级的红茶样品之间，但是与两者的差异均不显著，不同检测方法测定的抗氧化指标的总变化趋势相同。Zhang等^[15]通过FRAP法、DPPH自由基清除体系和总还原力测定法对8个等级祁门红茶抗氧化活性进行测定，实验结果也证实高等级祁门红茶抗氧化活性均值要明显高于低等级祁门红茶，与本研究结论一致。此外，从上图可知，在本研究的ORAC体系中，三个不同等级红茶样品的ORAC值相差不大，但Serpen等^[16]用ORAC法测定7个等级土耳其红茶则发现高等级土耳其红茶(1~3级)抗氧化活性要明显强于低等级土耳其红茶(4~7级)，这可能是实验所用红茶样品以及样品处理方式不同导致。

综合上述结果，红茶在各个抗氧化体系中均具有良好的抗氧化活性，且红茶抗氧化活性随红茶等级的升高呈现出递增趋势。

2.1.2 五款不同品类红茶样品的抗氧化活性分析

除了探究红茶等级对红茶抗氧化活性的影响外，我们还分析了这五款不同类别红茶抗氧化活性差异。如图2所示，将15个红茶样品分为JM、PA、GY、GZ、DH五个类别，这五款红茶的抗氧化活性平均值结果显示不同品类间红茶样品抗氧化活性也存在显著性差异。

在FRAP测定体系中，这五类红茶的T-AOC值差异显著，其中普安红T-AOC值最高(590.20单位/mL红茶提取物)，显著高于其余四种红茶 ($p < 0.05$)；在清除DPPH体系中，普安红、骏眉红、广元红三类红茶清除DPPH能力强于古丈红和滇红 ($p < 0.05$)；清除ABTS体系中，这五类红茶在清除ABTS能力同样存在显著差异，普安红清除能力最强(4401.7 $\mu\text{mol TE/g}$)，显著高于广元红、古丈红、滇红样品 ($p < 0.05$)，骏眉红介于普安红和广元红之间，与二者均无显著差异；在ORAC体系中，我们可以看到，这五款红茶样品ORAC值相差很大，ORAC值强弱排序为普安红最高(4190.84 $\mu\text{mol TE/g}$)，骏眉红其次，再后为古丈红，广元红和滇红ORAC值最低 ($p < 0.05$)。

这五类红茶的4种抗氧化活性分析结果，既存在相似规律，又表现出一些细微差异。总的来看，普安红的4种抗氧化活性均较高，滇红的4种抗氧化活性均较低，骏眉红和古丈红居中，广元红ORAC值较低，其余3种抗氧化活性居中，说明市场上红茶的抗氧化活性强弱存在较大差异，且不同抗氧化活性评价方法也会造成检测结果不完全一致，因此在评价茶样抗氧化活性情况时最好用2种以上方法来进行检测。影响

这五款红茶抗氧化活性的因素十分复杂,包括品种、产区、加工工艺等多种因子,因此会出现普安红和滇红虽均是来自于西南茶区的大叶种红茶,但所检测出的抗氧化活性却存在显著差异的情况。

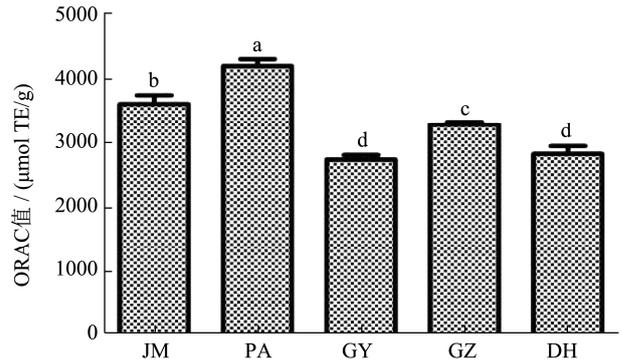
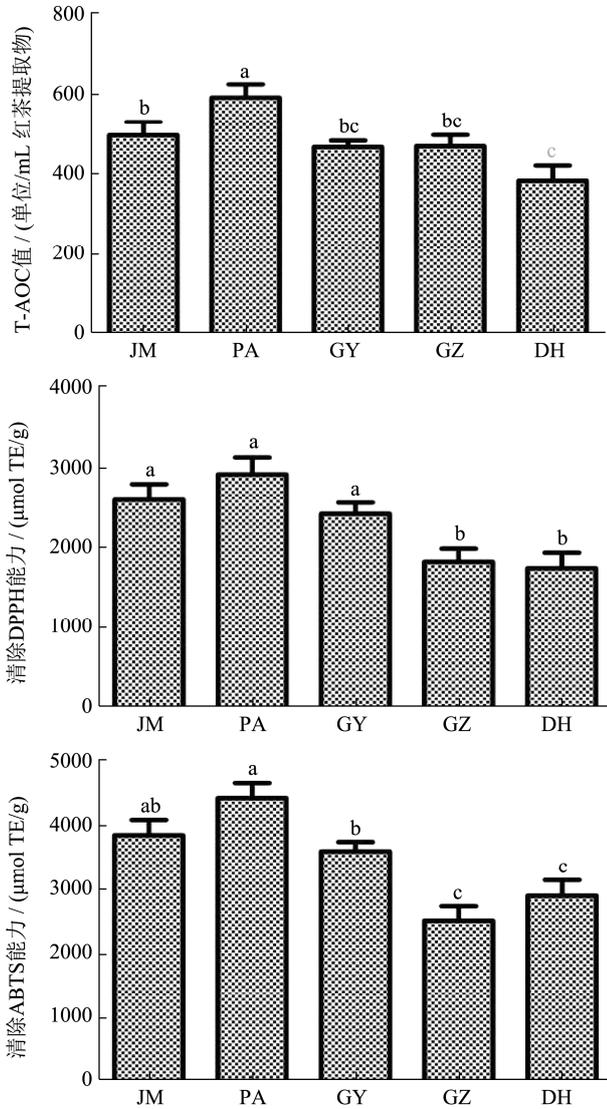


图2 五款不同品类红茶样品的抗氧化活性情况

Fig.2 Antioxidant activity of black tea samples of five different categories

注:同一柱状图内上标的小写字母表示具有显著差异 ($p<0.05$)。

2.2 红茶主要化学成分分析

2.2.1 不同等级红茶的主要化学成分比较

将五个地区三个等级的样品分成特级、一级、二级三个等级后取平均值进行分析,从表2可以看出,不同等级红茶样品中咖啡碱、总糖、多酚、儿茶素总量、非酯型儿茶素、没食子酸、茶黄素总量含量存在差异,而氨基酸和酯型儿茶素在不同等级红茶中含量差异不大,其中咖啡碱、多酚、儿茶素总量、非酯型儿茶素、没食子酸、茶黄素总量等的含量且随红茶等级升高逐渐增加;总糖含量随红茶等级升高含量逐渐降低。

具体表现为:不同等级红茶样品咖啡碱含量差异显著,特级红茶>一级红茶>二级红茶,三个等级间的差异均达到显著级 ($p<0.05$);不同等级红茶内总糖的含量也存在一定差异,其中,二级红茶的总糖要显著高于特级红茶 ($p<0.05$)。

表2 不同等级红茶样品主要化学成分含量 (%)

Table 2 The levels of major chemical components of different grades black tea (%)

红茶等级	咖啡碱	总糖	氨基酸	多酚	儿茶素总量	非酯型儿茶素	酯型儿茶素	没食子酸	茶黄素总量
特级	3.42±0.17 ^a	15.19±1.64 ^b	4.12±0.37 ^a	13.40±1.60 ^a	5.55±1.37 ^a	2.85±1.10 ^a	2.69±0.93 ^a	0.28±0.02 ^a	1.13±0.18 ^a
一级	3.11±0.16 ^b	16.45±0.51 ^{ab}	4.10±0.09 ^a	12.38±1.62 ^a	4.55±1.44 ^{ab}	2.22±0.68 ^{ab}	2.33±1.00 ^a	0.24±0.06 ^{ab}	1.02±0.12 ^a
二级	2.73±0.13 ^c	17.71±2.29 ^a	3.81±0.44 ^a	10.29±1.09 ^b	3.09±1.07 ^b	1.35±0.62 ^b	1.74±0.68 ^a	0.19±0.02 ^b	0.81±0.10 ^b

注:同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($p<0.05$)。

茶叶中的酚类物质含量非常丰富,现有研究也证实酚类化合物是茶叶中重要的抗氧化活性物质^[17]。在不同等级红茶中,特级和一级的红茶样品茶多酚含量(分别为13.40%和12.38%)显著高于二级红茶样品(10.29%) ($p<0.05$)。儿茶素是茶多酚内主体物质,不同等级红茶样品儿茶素总量和多酚含量变化存在相同的趋势,即特级红茶样品儿茶素含量最高

(5.547%),显著高于二级红茶样品(3.087%) ($p<0.05$),这与Ozdemir等^[18]研究一致,即红茶品质越高,其内含的儿茶素含量也随之增高;儿茶素根据结合的没食子酰基的不同可区分为简单儿茶素和酯型儿茶素,其中非酯型儿茶素含量在不同等级红茶内存在显著差异,这表明不同等级茶叶内儿茶素含量差异可能是由于非酯型儿茶素含量差异导致。没食子酸和

茶黄素是红茶中重要的多酚衍生物,具有较强的抗氧化活性,其中茶黄素还被证实是不同等级红茶差异标记物^[9]。从表 2 可以看出,红茶内没食子酸和茶黄素含量随红茶等级升高呈增加趋势,特级红茶与二级红茶内含量差异达到显著级 ($p>0.05$)。

一般来说,红茶等级越高,所用的鲜叶也越嫩。现有研究表明,原料越嫩的鲜叶,咖啡碱和多酚含量也相对越高,导致高等级红茶咖啡碱和酚类物质含量更为丰富^[19]。此外,茶芽中 EGCG 含量也更为丰富,EGCG 是茶黄素生成的重要底物,而茶芽中原花青素含量较成熟叶片低,原花青素会抑制多酚氧化酶的活性,减少茶黄素的产生,因此嫩叶所制成的高等级红茶儿茶素和茶黄素含量会更高^[20]。

2.2.2 五款不同品类红茶样品的主要化学成分比较

分析五款不同类别红茶的抗氧化活性可以发现,这五类红茶样品在总糖含量、氨基酸含量、多酚含量和酯型儿茶素含量上存在显著差别,其中多酚和酯型儿茶素含量变化趋势和不同品类间茶样抗氧化活性变化趋势一致。

这五类茶样在总糖含量上存在显著差异,其中广元红(18.00%)中总糖含量显著高于滇红(14.55%) ($p<0.05$);而在氨基酸含量方面,则是古丈红和骏眉

红含量最高,滇红(3.62%)含量最低。五个品类红茶在多酚和酯型儿茶素含量上同样存在显著差异,其中普安红(14.01%)最高,骏眉红、广元红和古丈红其次,滇红(10.67%)含量最低,其中普安红和滇红间多酚含量差异达到显著级 ($p<0.05$);酯型儿茶素含量变化与多酚变化一致,均为普安红(3.34%)含量最高,滇红(1.00%)最低,且二者之间差异也达到显著级 ($p<0.05$)。

这五款红茶样品内含物质检测结果表明不同品类红茶的化学成分也存在差异,其中多酚和酯型儿茶素的含量的不同可能与红茶的抗氧化活性密切相关。此外,查阅相关文献可知,一般来说,大叶种红茶酚类物质含量要高于小叶种红茶样品,普安红的实验结果很好地验证了这个结论。但是,本实验所用的同样为大叶种滇红样品的多酚含量却相对较低,这种现象可能是茶样发酵程度不同和多酚检测方法—比色法局限所致。

2.3 红茶样品抗氧化活性的关键成分分析

从表 4 可以看出,就方法而言,红茶中主要化学成分和茶样 T-AOC 值、DPPH 值、ABTS 值相关性更好,与 ORAC 值相关度稍弱,这可能与 ORAC 体系更为复杂有关。

表 3 五款不同品类红茶样品主要化学成分含量 (%)

Table 3 The levels of major chemical components of black tea of five different categories (%)

红茶类别	总糖	氨基酸	多酚	儿茶素	简单儿茶素	酯型儿茶素	茶黄素	没食子酸	咖啡碱
JM	16.20±1.61 ^{ab}	4.19±0.11 ^a	11.98±2.09 ^{ab}	4.57±1.72 ^a	2.00±1.06 ^a	2.57±0.68 ^{ab}	0.96±0.24 ^a	0.25±0.05 ^a	3.20±0.38 ^a
PA	17.32±0.27 ^{ab}	3.94±0.08 ^{ab}	14.01±2.10 ^a	6.28±1.35 ^a	2.95±0.67 ^a	3.34±0.68 ^a	1.08±0.22 ^a	0.24±0.06 ^a	3.00±0.34 ^a
GY	18.00±2.23 ^a	3.93±0.29 ^{ab}	11.84±1.03 ^{ab}	3.48±0.73 ^a	1.35±0.33 ^a	2.13±0.42 ^b	0.94±0.01 ^a	0.24±0.03 ^a	2.95±0.37 ^a
GZ	16.18±2.13 ^{ab}	4.36±0.26 ^a	11.61±1.68 ^{ab}	3.93±1.18 ^a	1.70±0.84 ^a	2.23±0.44 ^b	1.08±0.27 ^a	0.25±0.05 ^a	3.13±0.30 ^a
DH	14.55±1.33 ^b	3.62±0.43 ^b	10.67±1.90 ^b	3.70±1.84 ^a	2.69±1.39 ^a	1.00±0.46 ^c	0.86±0.12 ^a	0.19±0.08 ^a	3.14±0.42 ^a

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($p<0.05$)。

表 4 红茶样品中主要化学成分含量与其抗氧化活性的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of the major chemical components in black tea infusions with their antioxidant activities

成分	T-AOC 值/(单位/mL 红茶提取物)	DPPH 值/($\mu\text{mol TE/g}$)	ABTS 值/($\mu\text{mol TE/g}$)	ORAC 值/($\mu\text{mol TE/g}$)
咖啡碱	0.645 ^{**}	0.590 [*]	0.528 [*]	0.329
总糖	-0.148	-0.112	-0.107	-0.008
氨基酸	0.308	0.236	0.063	0.262
多酚	0.987 ^{**}	0.911 ^{**}	0.890 ^{**}	0.766 ^{**}
儿茶素	0.932 ^{**}	0.868 ^{**}	0.854 ^{**}	0.852 ^{**}
非酯型儿茶素	0.656 ^{**}	0.611 [*]	0.635 [*]	0.589 [*]
酯型儿茶素	0.912 ^{**}	0.850 ^{**}	0.799 ^{**}	0.846 ^{**}
没食子酸	0.883 ^{**}	0.790 ^{**}	0.713 ^{**}	0.514 [*]
茶黄素	0.814 ^{**}	0.671 ^{**}	0.578 [*]	0.517 [*]

注: *: 显著相关 ($p<0.05$); **: 极显著相关 ($p<0.01$)。

具体分析成分,可以看到,相对总糖、氨基酸、咖啡碱成分来说,红茶中的酚类及酚类衍生物红茶抗氧化活性相关性更好。其中,红茶中多酚含量与T-AOC值、DPPH值、ABTS值和ORAC值均存在极显著相关性($p<0.01$),相关系数高达0.987、0.911、0.890和0.766。在多酚组分中,儿茶素含量与红茶抗氧化活性相关性最强,与红茶抗氧化活性也达到极显著级别($p<0.01$)。值得注意的是,在儿茶素中,酯型儿茶素与红茶抗氧化活性相关性要明显强于非酯型儿茶素。Paul等^[20]通过培养细胞测定红茶抗氧化潜力实验结果证实酯型儿茶素与红茶抗氧化潜力呈正相关性,而非酯型儿茶素则对红茶抗氧潜力无正向贡献,与本研究所得出的酯型儿茶素与红茶抗氧化活性相关性要明显强于非酯型儿茶素结论相符。查阅文献可知,酯型儿茶素在结构上要比非酯型儿茶素多1~2个没食子酰基,可推测没食子酰基的数量和位置会对儿茶素抗氧化活性造成较大影响^[21]。酚类衍生物没食子酸、茶黄素与红茶抗氧化活性同样呈现出很好正相关性,没食子酸与T-AOC值、DPPH值、ABTS值呈极显著正相关($p<0.01$),与ORAC值呈显著正相关($p<0.05$);相较之下,茶黄素相关性亦较强,与T-AOC值、DPPH值呈极显著正相关($p<0.01$),与ABTS值和ORAC值呈显著正相关($p<0.05$)。

此外,研究结果表明总糖、氨基酸含量与红茶样品抗氧化活性相关性并不高,其中总糖与红茶抗氧化活性还存在一定程度负相关。咖啡碱与红茶T-AOC值、DPPH值、ABTS值存在一定程度的正相关性。查阅文献可知,咖啡碱的抗氧化活性并不突出,而茶叶中咖啡碱是较为集中分布在新梢中的^[22],而嫩叶所制茶叶抗氧化活性会更高,因此推测可能并不是咖啡碱对红茶的抗氧化贡献而是咖啡碱分布部位特点导致咖啡碱含量与红茶抗氧化活性存在一定程度正相关。

综上可知,红茶中的酚类化合物及其衍生物是红茶发挥抗氧化作用的主要贡献成分。

3 结论

3.1 本文通过FRAP法、DPPH自由基清除能力测定、ABTS自由基清除能力测定、ORAC法等4种方法,对五款不同等级的红茶样品抗氧化活性进行了测定。实验结果表明,红茶的抗氧化活性会随着红茶等级的上升呈现增强的趋势,尤其是在FRAP体系、DPPH自由基清除体系、ABTS自由基清除体系内,特级红茶和二级红茶之间抗氧化活性差异显著($p<0.05$)。检测这三个等级红茶样品的主要化学成分发现,在这三个不同等级的红茶当中,咖啡碱、多酚、儿茶素总量、

非酯型儿茶素、没食子酸、茶黄素总量的含量随红茶等级升高逐渐增加,与红茶抗氧化活性变化趋势一致。相关性分析发现,红茶中的多酚、儿茶素、没食子酸、茶黄素等成分,是决定红茶等级和抗氧化活性的重要指标,其中多酚、儿茶素、非酯型儿茶素、没食子酸、茶黄素等成分可能是导致不同等级红茶抗氧化活性差异来源。综上可知,红茶抗氧化活性随红茶等级上升是存在明显递增趋势的,高等级的红茶具有更好的抗氧化功效,因此红茶抗氧化活性对于红茶等级划分和红茶消费选购具有一定的参考价值。

3.2 此外,本实验所用五款不同品类红茶之间的抗氧化活性也存在显著差异,可见在我国市场上,不同品类红茶的抗氧化活性存在较大的差距,水平参差不齐。随着人们对健康生活意识的增强,消费者对于茶叶选购需求也会随之更为多元、细化和精准,相信在不久的将来,茶叶抗氧化指标将会成为消费者选购茶叶产品依据之一,因此系统研究红茶抗氧化活性影响因素、优化红茶加工工艺、规范茶叶抗氧化活性评价体系,为有抗氧化需求的消费者提供更为有效、科学和多元的消费指导和选择必会对未来我国茶产业发展意义深远。

参考文献

- [1] Koch W, Kukula-Koch W, Komsta L. Black tea samples origin discrimination using analytical investigations of secondary metabolites, antiradical scavenging activity and chemometric approach [J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 513
- [2] Zhao Y L, Lai W Y, Xu A A, et al. Characterizing relationships among chemicals, sensory attributes and in vitro bioactivities of black tea made from an anthocyanins-enriched teacultivar [J]. *LWT*, 2020, 132: 109814
- [3] Zhang H, Qi R, Y Mine. The impact of oolong and black tea polyphenols on human health [J]. *Food Bioscience*, 2019, 29: 55-61
- [4] Carloni P, Tiano L, Padella L, et al. Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar [J]. *Food Research International*, 2013, 53(2): 900-908
- [5] Ramlagan P, Rondeau P, Planesse C, et al. Comparative suppressing effects of black and green teas on the formation of advanced glycation end products (AGEs) and AGE-induced oxidative stress [J]. *Food Function*, 2017, 8(11): 4194-4209
- [6] Mao X B, Xiao X J, Chen Daiwen, et al. Tea and its

- components prevent cancer: a review of the redox-related mechanism [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(21): 5249
- [7] Miriam, Ježovičová, Katarína, et al. Protective effects of black tea extract against oxidative DNA damage in human lymphocytes [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2016, 13(2): 1839-1844
- [8] 唐雪平.基于化学分析与机器学习的铁观音茶叶品质评价体系[D].泉州:华侨大学,2020
TANG Xueping. The quality evaluation system for Tieguanyin tea based on chemical analysis and machine learning [D]. Quanzhou: Huaqiao University, 2020
- [9] Guo X M, Long P P, Meng Q L, et al. An emerging strategy for evaluating the grades of Keemun black tea by combinatory liquid chromatography-orbitrap mass spectrometry-based untargeted metabolomics and inhibition effects on α -glucosidase and α -amylase [J]. *Food Chemistry*, 2018, 246: 74-81
- [10] Zhang L, Santos J S, Cruz T M, et al. Multivariate effects of Chinese Keemun black tea grades (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) on the phenolic composition, antioxidant, antihemolytic and cytotoxic/cytoprotection activities [J]. *Food Research International*, 2019, 125(11): 108516
- [11] 傅博强,谢明勇,聂少平,等.茶叶中多糖含量的测定[J].食品科学,2001,22(11):69-73
FU Boqiang, XIE Mingyong, NIE Shaoping, et al. Determination of the polysaccharide content in the tea [J]. *Food Science*, 2001, 22(11): 69-73
- [12] 薛金金,江和源,龙丹,等.HPLC 法同时测定茶叶中聚酯型儿茶素和茶黄素[J].中国食品学报,2014,14(5):237-243
XUE Jinjin, JIANG Heyuan, LONG Dan, et al. Simultaneous multiresidue determination of theasinensins and theaflavins in tea using high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(5): 237-243
- [13] 王坤波,刘仲华,黄建安,等.高效液相色谱法测定红茶中的茶黄素[J].色谱,2004,2:151-153
WANG Kunbo, LIU Zhonghua, HUANG Jianan, et al. Determination of theaflavins in black tea by high performance liquid chromatography [J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2004, 2: 151-153
- [14] Xu Y Q, Zou C, Gao Y, et al. Effect of the type of brewing water on the chemical composition, sensory quality and antioxidant capacity of Chinese teas [J]. *Food Chemistry*, 2017, 236: 142-151
- [15] Zhang C, Suen C L, Yang C, et al. Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade [J]. *Food Chemistry*, 2018, 244: 109-119
- [16] Serpen A, Pelvan E, Alasalvar C, et al. Nutritional and functional characteristics of seven grades of black tea produced in Turkey [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(31): 7682-7689
- [17] Tang G Y, Zhao C N, Xu X Y, et al. Phytochemical composition and antioxidant capacity of 30 Chinese teas [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(6): 180
- [18] Ozdemir F, Sahin-Nadeem H, Akdogan A, et al. Effect of altitude, shooting period, and tea grade on the catechins, caffeine, theaflavin, and thearubigin of Turkish black tea [J]. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2018, 42(5): 334-340
- [19] 宛晓春.茶叶生物化学[M].北京:中国农业出版社:2003
WAN Xiaochun. *Tea Biochemistry* [M]. Beijing: China Agriculture Press: 2003
- [20] Dias P M, Changarath J, Damodaran A, et al. Compositional variation among black tea across geographies and their potential influence on endothelial nitric oxide and antioxidant activity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(28): 6655-6668
- [21] Sun L J, Warren F J, Netzel G, et al. 3 or 3'-Galloyl substitution plays an important role in association of catechins and theaflavins with porcine pancreatic α -amylase: the kinetics of inhibition of α -amylase by tea polyphenols [J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 26: 144-156
- [22] Jiang X L, Liu Y J, Li W W, et al. Tissue-specific, development-dependent phenolic compounds accumulation profile and gene expression pattern in tea plant [*Camellia sinensis*] [J]. *Plos One*, 2013, 8(4): 62315