

两种白茶的抗突变和体外抗癌效果

王刚¹, 赵欣²

(1. 重庆大学化学化工学院, 重庆 400030; 2. 釜山国立大学食品科学与营养学科, 韩国釜山 609-735)

摘要: 本实验对两种绿茶和两种白茶进行抗突变和体外抗癌效果评价。采用 Ames 实验对绿茶和白茶的抗突变特性进行比较, 得出白茶的抗突变效果好于绿茶的结果。通过 MTT 实验验证其抗癌效果。在 400 $\mu\text{g/ml}$ 浓度处理下, 白牡丹和白毫银针表现出对 AGS 和 HT-29 癌细胞的生长抑制效果好于龙井绿茶和云雾绿茶。由此得出, 白茶的抗突变和体外抗癌效果好于绿茶。

关键词: 白茶; 绿茶; 抗突变; 体外抗癌

Comparative Study on Antimutagenic and *in vitro* Anticancer Activities between Two Kinds of White Tea and Green Tea

WANG Gang¹, ZHAO Xin²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University, Chongqing 400030, China;

2. Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea)

Abstract: Antimutagenic and antitumor effects of two kinds of green tea and white tea products were investigated by Ames test and MTT assay, respectively. Ethanolic extract of white tea displayed significantly higher antimutagenicity against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)-induced mutation of nutrient deficiency strain TA100 of *Salmonella typhimurium* than that of green tea at 1.25 mg/disc and 2.5 mg/disc. At the concentration of 400 $\mu\text{g/ml}$, Baimudan white tea and Baihaoyinzen white tea showed better inhibitory effects against the growth of AGS and HT-29 cancer cells than Longjing green tea and Yunwu green tea. These results suggest that the antimutagenic and anticancer effects of white tea are higher than those of green tea.

Key words: white tea; green tea; antimutagenicity; *in vitro* anticancer

中图分类号: TS272.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)11-0243-03

白茶是我国的特种茶, 是我国传统的六大茶类之一, 我国是世界唯一产地。主产于福建的福鼎、政和、建阳、松溪等县。因制法独特, 不炒不揉, 成茶外表满披白毫, 色泽银白灰绿, 故称“白茶”。白茶依采摘标准不同分为银针、白牡丹、贡眉和寿眉。传统上, 将采自大白茶或水仙品种嫩梢的肥壮芽头制成的成品称“银针”。采自大白茶或水仙品种嫩梢的一芽一、二叶制成的成品称“白牡丹”或“水仙白”。白茶以性清凉、退热、降火、祛暑的治病效果和清幽素雅的风格, 在国内外市场素负声誉, 尤受侨胞的喜爱^[1-2]。

关于绿茶抗癌作用已经引起人们的充分重视并且进行了相关研究。白茶作为一种茶饮品, 其在抗突变和抗癌方面的研究比较少, 为了验证白茶的抗突变和抗癌效果, 本实验对白茶和绿茶进行了分析和比较。

1 材料与方

1.1 材料与试剂

白茶: 福建某茶业有限公司出品的白牡丹和白毫银针白茶; 绿茶: 杭州某茶总公司的西湖龙井绿茶和杭州某茶叶有限公司的云雾绿茶。

DMSO 日本纯正化学株式会社; D-Biotin、L-histidine·HCl (monohydrate)、D-glucose-6-phosphate (mono sodium salt)、NADP (sodium salt) 美国 Sigma 公司; RPMI 1640 培养液、Fetal bovine serum (FBS)、0.05% trypsin-0.02% EDTA、100 unit/ml Penicillin-Streptomycin 美国 Gibco 公司。

1.2 致突变物

N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG) 美国 Aldrich Chemical 公司。

1.3 标准菌株

收稿日期: 2008-10-10

作者简介: 王刚(1981-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品安全。E-mail: beidao2008@163.com

鼠伤寒沙门菌营养缺陷型菌株 TA100(碱基置换型)是由美国加州大学 Ames 教授提供。

1.4 癌细胞株

AGS 胃癌细胞株(AGS, human gastric adenocarcinoma cell)、HT-29 结肠癌细胞株(HT-29 human colon carcinoma cell)是由韩国细胞株银行(韩国首尔国立大学医学院)提供。

1.5 仪器与设备

R-114 旋转蒸发器 瑞士 Buchi 公司; HB-205SW 恒温水浴振荡器 韩国 Hanbeak 科学株式会社; VS-15CFN 冷冻离心机 韩国 Vision 科学株式会社; IB-600M 培养箱 韩国 Jeiotech 株式会社; MCO96 二氧化碳培养箱 日本三洋电机株式会社; HB-402V 超净工作台 韩国 Hanbeak 科学株式会社; PM-10AK 倒置显微镜 日本奥林巴斯株式会社; Elx800 酶标仪 美国 Bio Tek instruments 公司。

1.6 方法

1.6.1 Ames 实验

将样品冷冻真空干燥后粉碎, 加入样品 20 倍(W/V)量的乙醇 12h 搅拌提取, 反复 3 次提取后把 3 次提取液混合后过滤, 滤液蒸干得到乙醇提取物。提取物用 DMSO 溶解稀释到 200mg/ml 保存备用。

根据加州大学 Ames 教授所建立的利用的鼠伤寒沙门氏菌的组氨酸营养缺陷型菌株 TA100 回复突变实验, 采用平板掺入法, 计算回变菌落数。实验每个样品设两个剂量组, 1.25mg/皿和 2.5mg/皿, 同时设自发回变组和对照组, 每组 3 个平行皿, 实验结果以抗突变抑制率表示。在经过干热灭菌的试管中加入磷酸盐缓冲液、12h 培养的菌株($1 \times 10^9 \sim 2 \times 10^9$ cells/ml)0.1ml、按所需浓度稀释的样品溶液 50 μ l 和致突变物 50 μ l。轻微振荡后在 37℃ 下进行 30min 预培养后加入融化的并在 45℃ 水浴中保温的顶层培养基 2ml, 迅速混合, 倒在预先准备好的底层培养基上, 37℃ 培养 48h 观察结果^[3-4]。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{对照组菌落数} - \text{样品处理组菌落数}}{\text{对照组菌落数} - \text{自发回变组菌落数}} \times 100$$

1.6.2 MTT 法癌细胞体外增殖抑制实验

将 AGS 胃癌细胞接种于含 10% 灭活小牛血清的 RPMI 1640 培养液中, 在 5% CO₂、37℃ 充分湿化条件下的培养箱中培养, 每周更换 2~3 次培养基, 6~7d 传代一次。将培养的癌细胞按浓度 1×10^4 cells/ml 接种于 96 孔培养板, 每孔 180 μ l。5% CO₂、37℃ 充分湿化条件下培养 24h。细胞贴壁后按每孔 20 μ l 加入样品。孔内实验时, 每个样品设两个剂量组, 分别为 200 μ g/ml

和 400 μ g/ml。48h 培养后。每孔加入 20 μ l MTT 试剂(浓度为 5mg/ml)继续培养 4h, 结束培养后吸弃孔内上清液后, 按每孔 150 μ l 加入 DMSO 后振荡 30min, 540nm 波长下用酶标仪测定各孔 OD 值并计算细胞增殖抑制率^[5-7]。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{空白孔}} - \text{OD}_{\text{样品孔}}}{\text{OD}_{\text{空白孔}}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 白茶和绿茶抗突变作用实验结果

表 1 白茶和绿茶乙醇提取物在致突变物 N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(MNNG, 0.4 μ g/皿)诱导 TA100 菌株下抗突变作用实验结果

Table 1 Inhibitory effects of ethandic extracts from two kinds of white tea and green tea against MNNG-induced mutation (0.4 μ g/disc) of nutrient deficiency strain TA100 of *Salmonella typhimurium*

样品	剂量(mg/皿)	
	1.25	2.5
自发回变	89 \pm 6	
对照	2564 \pm 30	
白牡丹	960 \pm 48 (65)	667 \pm 32 (77)
白毫银针	878 \pm 29 (68)	460 \pm 28 (84)
龙井绿茶	1153 \pm 36 (57)	668 \pm 28 (77)
云雾绿茶	1417 \pm 44 (46)	712 \pm 43 (75)

注: ()中数值表示突变抑制率(%)。

由表 1 可知, 样品的乙醇提取物对 MNNG 诱导 TA100 具有一定的抑制作用。以浓度 1.25mg/皿样品处理时白牡丹、白毫银针、龙井绿茶和云雾绿茶的抗突变抑制率分别为 65%、68%、57% 和 46%; 浓度 2.5mg/皿样品处理时抑制率分别为 77%、84%、77% 和 75%。样品对 MNNG 致突变物的抗突变实验结果表明, 白茶的抗突变效果略强于绿茶并且各类茶中价格高、品质优的抗突变效果强于价格低的。

2.2 白茶和绿茶对癌细胞体外增殖抑制实验结果

由表 2 实验结果显示, 白茶和绿茶样品对胃癌细胞和结肠癌细胞增殖均有一定的抑制作用。样品对 AGS 胃癌细胞处理时, 在 400 μ g/ml 浓度样品处理下, 白茶表现出了很强的抑制效果, 白牡丹抑制率达到 84% 和白毫银针 96%, 绿茶则同样表现出了较强的抑制率, 分别为龙井绿茶 91% 和云雾绿茶 77%; 在 200 μ g/ml 浓度样品处理下白牡丹、白毫银针、龙井绿茶和云雾绿茶也具有一定的抑制率, 分别为 55%、76%、62% 和 55%。样品对 HT-29 结肠癌细胞处理时表现与样品对 AGS 胃癌细胞处理时相似的效果, 在 400 μ g/ml 浓度样品处理下

两种白茶白牡丹(62%)和白毫银针(84%)的抑制率从整体上略高于龙井绿茶(70%)和云雾绿茶(51%), 在 200 μ g/ml 浓度样品处理下四种样品的抑制率分别为 22%、50%、27% 和 19%(表 2)。由此可见, 白茶对两种癌细胞的增殖均具有一定的抑制效果, 体外抗癌效果略强于绿茶并且各类茶中价格高、品质优的抗癌效果强于价格低的。

表 2 白茶和绿茶乙醇提取物对 AGS 人体胃癌细胞和 HT-29 人体结肠癌细胞体外抗癌作用 MTT 实验结果

Table 2 *in vitro* Inhibitory effects ethanolic extracts from two kinds of white tea and green tea against growth of AGS and HT-29 cancer cells

样品	浓度 (μ g/ml)	AGS			HT-29		
		OD _{540nm} 均值	标准 偏差	抑制率 (%)	OD _{540nm} 均值	标准 偏差	抑制率 (%)
空白对照		2.182	0.009		2.520	0.004	
白牡丹	200	0.975	0.004	55	1.953	0.010	22
	400	0.351	0.002	84	0.960	0.003	62
白毫银针	200	0.518	0.002	76	1.313	0.003	50
	400	0.092	0.003	96	0.414	0.006	84
龙井绿茶	200	0.830	0.005	62	1.835	0.008	27
	400	0.198	0.005	91	0.747	0.014	70
云雾绿茶	200	0.999	0.017	55	2.030	0.011	19
	400	0.493	0.007	77	1.126	0.009	51

3 讨论

现在对白茶抗癌作用的研究已经取得了一定成效, Nakachi 等^[8]和 Fujiki 等^[9]对绿茶在癌症预防和抗癌方面均

进行了研究, 对于白茶的抗癌研究还刚起步。本实验以绿茶为基准, 对两种杭州地区出产的绿茶和福建出产的两种代表型白茶进行抗突变和抗癌效能比较实验, 得出白茶具有强的抗突变和抗癌效果, 所以将白茶作为一种保健饮品推广是很具有价值的。

参考文献:

- [1] 袁弟顺, 郑金贵. 白茶的研究进展[J]. 福建茶叶, 2007(2): 2-4.
- [2] 池玉洲. 福建白茶的基本特性及其药理作用[J]. 福建茶叶, 2007(2): 46-47.
- [3] MARON D M, AMES B N. Revised methods for *Salmonella* mutagenicity test[J]. Mutat Res, 1983, 113: 173-215.
- [4] AMES B N, MCCANN J, YAMASAKI E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian-microsome mutagenicity test[J]. Mutat Res, 1975, 31: 347-364.
- [5] SKEHAN P, STORENG R, MONKS S A, et al. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening[J]. J Natl Cancer Inst, 1990, 82: 1107-1112.
- [6] PARK J G, KRAMER B S, STEINBER C J, et al. Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay[J]. Cancer Res, 1987, 47: 5875-5879.
- [7] ZHAO X, BAK S S, RHEE S H, et al. Fermentation period influences on antimutagenic and *in vitro* anticancer effects of Shuidouchi[J]. Cancer Prevention Res, 2008, 13(1): 40-46.
- [8] NAKACHI K, MATSUYAMA S, MIYAKE S, et al. Preventive effects of drinking green tea on cancer and cardiovascular disease: Epidemiological evidence for multiple targeting prevention[J]. BioFactors, 2000, 13: 49-54.
- [9] FUJIKI H, SUGANUMA M, IMAI K, et al. Green tea: cancer preventive beverage and/or drug[J]. Cancer Lett, 2002, 188: 9-13.