

普洱茶茶多酚及清除·OH能力的研究

侯冬岩, 回瑞华, 唐蕊, 刘晓媛, 李学成
(鞍山师范学院化学系, 辽宁鞍山 114007)

摘 要: 采用光谱法测定普洱茶中茶多酚的含量。方法的回收率为 94%~105%, 变异系数小于 1.00%。用邻菲罗啉— Cu^{+} — H_2O_2 化学发光体系, 结合流动注射技术研究普洱茶清除·OH 的能力。实验结果表明, 普洱茶中茶多酚的含量和清除·OH 的能力, 随着贮藏时间延长、贮藏温度提高而下降。

关键词: 普洱茶; 茶多酚; 化学发光; 流动注射

Study on the Catechin and the Scavenge of ·OH Radical for Puer Teas

HOU Dong-yan, HUI Rui-hua, TANG Rui, LIU Xiao-yuan, LI Xue-cheng
(Department of Chemistry, Anshan Normal University, Anshan 114007, China)

Abstract: Determination of catechin in puer teas by spectrophotometry method was described, the coefficient is 94%~105% and the efficient of variation is 1.00%. The effect of puer teas on the scavenge of ·OH was measured by the chemiluminescence system of 1, 10-phenanthroline-cuprous chloride-hydrogen peroxide and flow-injection technology. The optimum conditions were investigated by examining the influence of various factors. The results show that the contents of catechin and scavenging ·OH radical in puer-tea were decreased with the increasing of time and temperature of storage.

Key words: puer teas; catechin; chemiluminescence; flow-injection

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)10-0165-03

普洱茶是我国特有的茶类, 原产于云南西双版纳、思茅等地。普洱茶分为散茶和蒸压成型两大类, 在制造上属于后发酵茶。从外形品质特点看, 普洱散茶外形条索肥硕壮实, 色泽褐红, 或带灰白色, 压制的普洱茶是用晒青毛茶或普洱散茶经蒸压做型而成, 前者又称生普, 后者称熟普。从内质上看, 云南普洱茶最大特点是滋味浓厚回甘, 耐冲泡^[1, 2]。普洱茶具有降血脂、降血压、抑菌、助消化、解毒等多种保健功效, 深受港、澳、台及东南亚消费者的青睐, 在日本、法国、意大利、香港、澳门等国家和地区有“美容茶”、“减肥茶”、“益寿茶”和“窈窕茶”的美称。普洱茶中含有丰富的茶多酚, 茶多酚具有很强的清除人体自由基的作用, 是极强的消除有害自由基的天然物质^[3]。现代研究认为, 人体衰老的原因在于人体的细胞在代谢过程中连续不断地产生具有高度活性的自由基和细胞自身的抗氧化酶及超氧化物歧化酶(SOD)不断消除作用的失衡, 使自由基浓度过剩。人体内的自由基是一些强氧化性的物质, 自由基及其诱导的氧化反应会引起膜的氧化损

伤和交联键的形成, 其结果降低了上述两种酶的活性, 使核酸代谢受到影响, 溶酶体内衰老色素和脂褐素堆积, 致使细胞衰老。本文采用三波长光谱法测定普洱茶中茶多酚的含量, 用邻菲罗啉— Cu^{+} — H_2O_2 —碳酸盐缓冲液, 流动注射化学发光新方法测定普洱茶清除·OH 的能力, 为进一步开发利用普洱茶提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

TU036 紫外可见分光光度计 VARIAN; 旋转蒸发器 RE52CS 型 上海亚荣生化仪器厂; 电热恒温水浴锅 HHS21-4 型 上海医疗器械五厂; 旋片式真空泵 2XZ-4 型 临海市精工真空设备厂; 中华牌加热器 ZH0 型 巩义市英峪仪器一厂; 电子节能控温仪 DKW-III 型 巩义市英峪仪器一厂; IFFM-D 型流动注射化学发光仪 西安瑞迈电子科技有限公司; pH-3C 精密 pH 计 上海精密科学仪器有限公司。

茶多酚标样 辽宁生物技术科学股份有限公司; 普

收稿日期: 2006-08-10

基金项目: 辽宁省教育厅科学技术基金资助课题(20331079)

作者简介: 侯冬岩(1962-), 男, 教授, 主要从事天然功能食品科学教学与研究。

表2 方法精密度及回收率
Table 2 Experiment of the precision and the recovery

样品浓度($\mu\text{g/ml}$)	加标量(μg)	测定值($n=9$) ($\mu\text{g/ml}$)	测定平均值($\mu\text{g/ml}$)	回收率(%)	标准偏差($\times 10^{-3}\mu\text{g/ml}$)	变异系数(%)
19.20	6.0	25.27~25.36	24.76	105	0.719	0.29
24.00	6.0	29.79~29.88	29.53	102	1.26	0.43
28.80	6.0	34.52~34.58	34.30	97	1.35	0.39
33.60	6.0	39.81~39.89	39.11	98	1.52	0.39
38.40	6.0	43.51~44.94	43.88	94	4.39	1.00
43.20	6.0	46.25~49.32	49.05	94	4.25	0.95

表3 茶多酚含量的测定结果
Table 3 Results of determination for catechin

样品名称	2003 勐海生沱	1997 生沱	15 年易武野生普洱	2003 勐海熟饼	2004 临沧熟饼	18~20 年熟砖
茶多酚含量($\mu\text{g/g}$)	150.32	149.52	119.15	48.90	47.00	30.70

洱茶样品 中国云南;酒石酸亚铁溶液 称取1.000g七水硫酸铁和5.000g四水合酒石酸钾钠,用水溶解后定至1L; pH7.5的磷酸盐缓冲液;茶多酚标准储备液 称取0.06g(准确至0.0001g),置于100ml的容量瓶中,加水使其溶解稀释至刻度,摇匀备用;邻菲罗啉 用水于50~60℃水浴溶解,浓度为 $1 \times 10^{-2}\text{mol/L}$;氯化亚铜浓度为 $5 \times 10^{-2}\text{mol/L}$;过氧化氢 需用时配制所需浓度;碳酸盐缓冲液(pH10.57);所用试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

1.2 样品前处理

称取过0.425mm筛的普洱茶1.00g,水作溶剂,固液比1:25,室温下提取30min,提取1次,过滤后定容至50ml,即得20mg/ml的测定清除·OH能力待测溶液。

1.3 茶中茶多酚含量的测定^[4,5]

1.3.1 三波长的确定

准确吸取茶多酚标准储备液1ml,注入25ml容量瓶中,加水4ml和酒石酸亚铁溶液5ml,充分混合后再加pH7.5的磷酸盐缓冲液至刻度,在波长200~900nm范围内扫描,绘制出其吸收曲线(图略),用作图法确定出三个测定波长分别为 $\lambda_1=882\text{nm}$, $\lambda_2=544\text{nm}$, $\lambda_3=439\text{nm}$ 。

1.3.2 标准曲线的绘制

分别取19.20、24.00、28.80、33.60、38.40、43.20、48.00 $\mu\text{g/ml}$ 的茶多酚标准储备液,注入25ml容量瓶中,加水4ml和酒石酸亚铁溶液5ml,充分混合后再加pH7.5的磷酸盐缓冲液至刻度,在其波长为 $\lambda_1=879\text{nm}$, $\lambda_2=544\text{nm}$, $\lambda_3=427\text{nm}$ 分别测定其吸光度值并且给出A值,结果见表1。

表1 A值与茶多酚浓度的关系
Table 1 A values of different concentration catechin

标样浓度($\mu\text{g/ml}$)	19.20	24.00	28.80	33.60	38.40	43.20	48.00
A	0.0940	0.1272	0.1598	0.1911	0.2228	0.2590	0.2888

A与浓度关系的回归方程为,相关系数 $r=0.9964$,临界相关系数 $r_{(99\%, n-2)}=0.9170$, $r > r_{(99\%, n-2)}$,说明茶多酚浓度在0~48.00($\mu\text{g/ml}$)范围内, A与浓度C之间呈良好的线性关系,可按标准曲线法进行定量分析。

1.3.3 稳定性实验

用与绘制吸收曲线配制相同的方法配制的样品进行稳定性实验,结果表明:样品放置4h以上,测得其吸光度值不变。

1.3.4 方法精密度及回收率

根据前面确定的测试条件,按上述实验方法制备6个不同浓度的样品,按标准加入标准物,在测定波长下测定A,求得其标准偏差、变异系数及平均回收率,结果列于表2。

1.3.5 样品分析

取不同品种的普洱茶,按上述实验方法制备样品溶液,按操作条件,在测定波长处测其吸光度,分析结果列于表3。

1.4 清除·OH能力的测定

1.4.1 最佳实验条件

选定最佳实验条件为:缓冲液pH值为10.57, H_2O_2 浓度为0.27mol/L, Cu^+ 浓度为 $1.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$,邻菲罗啉浓度为 $4.0 \times 10^{-4}\text{mol/L}$ 。

1.4.2 方法

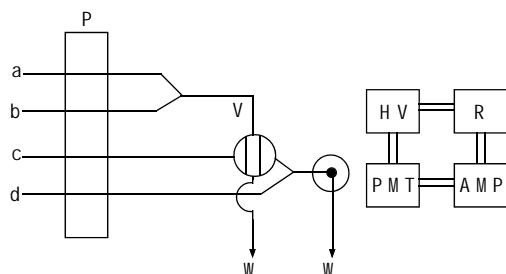
按图2所示连接流路^[6],将管路清洗干净,插入相应的溶液中,均以2.5ml/min的泵速将各流路输入分析系统。以邻菲罗啉- Cu^+ - H_2O_2 化学发光体系的发光强度(I_0)为空白,再测定一系列浓度的各样品抑制后的发光强度(I),根据下式计算出各样品的清除率。整个分析过程中采样、注样、实验数据采集及处理,均在Windows98操作系统下Remax软件完成。

$$\text{清除率} = (I_0 - I) / I_0 \times 100\%$$

以清除率为50%时溶液的浓度,即 IC_{50} 的大小来比

表4 样品清除·OH能力的测定结果
Table 4 Results of determination for scavenging ·OH radical

样品名称	2003 勐海生沱	1997 生沱	15 年易武野生普洱	2003 勐海熟饼	2004 临沧熟饼	18~20 年熟砖
IC ₅₀ (抑制率为 50% 时所需样品的浓度 mg/ml)	0.023	0.040	0.065	0.071	0.16	0.11



P. 蠕动泵; V. 进样阀; C. 流通池; PMT. 光电倍增管; AMP. 放大器; HV. 负高压: 800V; R. 记录仪; W. 废液; a. 样品; b. 邻菲罗啉+Cu⁺ (碳酸盐缓冲液)。

图2 流动注射化学发光分析流程图
Fig.2 Schematic of flow-injection chemiluminescence

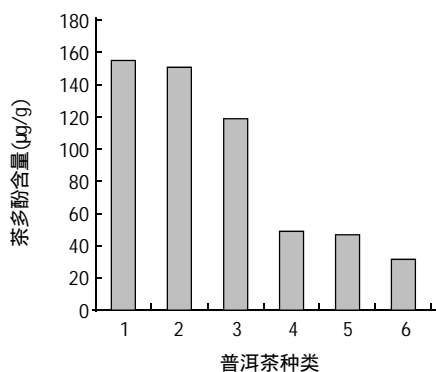
较清除·OH能力的大小。

1.4.3 样品清除·OH能力的测定

按1.2处理各样品,分别测定其清除·OH的能力。实验结果如表4所示。

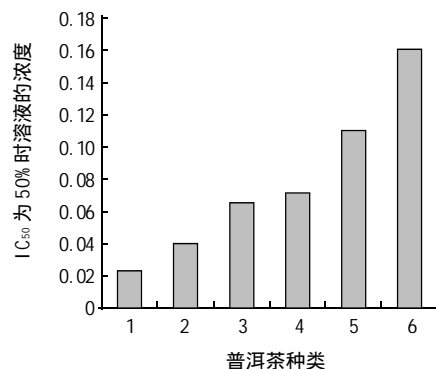
2 结果与讨论

由表3实验结果可知,不同普洱茶茶多酚含量不同,不同普洱茶茶多酚含量关系的比较,如图3所示:由表4实验结果可得,由IC₅₀(清除率为50%时溶液的浓度)的大小比较不同普洱茶清除·OH能力的大小,如图4所示。



1. 2003 勐海生沱; 2. 1997 生沱; 3. 15 年易武野生普洱; 4. 2004 临沧熟饼; 5. 2004 临沧熟饼; 6. 18~20 年熟砖。

图3 普洱茶茶多酚含量的比较
Fig.3 Comparison of the contents for catechin of puer teas



1. 2003 勐海生沱; 2. 1997 生沱; 3. 15 年易武野生普洱; 4. 2004 临沧熟饼; 5. 2004 临沧熟饼; 6. 18~20 年熟砖。

图4 不同普洱茶清除·OH能力的比较
Fig.4 Comparison of the scavenging ·OH radical of puer teas

由图3和图4可以看出,随着不同普洱茶茶多酚含量的逐渐减少,其IC₅₀呈现逐渐增加的趋势,即清除·OH的能力呈现逐渐减小的趋势,普洱茶中茶多酚含量与清除·OH的能力呈现明显的量效关系。

普洱茶的后发酵是一系列酶促氧化和微生物活动复杂的变化过程,普洱茶加工过程中微生物及酶系的变化,使其中的主要化学成分随渥堆时间延长而剧烈变化,实验结果表明:普洱茶中茶多酚的含量和清除·OH的能力,随着贮藏时间延长、贮藏温度提高而下降。

参考文献:

- [1] 赵龙,周红杰,安文杰.云南普洱茶保健功效的研究[J].食品研究与开发,2005,26(2):114-118.
- [2] 浦绍柳,何青元.发展普洱茶提升云南茶产业[J].茶业通报,2005,27(3):131-132.
- [3] Hui R H, Hou D Y, Hui Y L. Quantitative determination of beraxinate hydrochloride by three wavelength spectrophotometry[J]. Chemical Research in Chinese Universities, 1994, 10(4): 297-300.
- [4] 侯冬岩,回瑞华,关崇新,等.绿茶及其茶饮料中茶多酚的光谱分析[J].食品科学,2002,23(12):109-111.
- [5] 侯冬岩,回瑞华,刘晓媛,等.红茶茶多酚及抗氧化性能测定[J].食品科学,2005,26:367-370.
- [6] Song Zheng-Hua, Zhang Ni. Flow-injection chemiluminescence determination of reserpine in medicinal and biological fluids with controlled reagent-release technology[J]. Chinese Journal of Chemistry, 2003, 21: 175-180.