

不同贮藏年份普洱茶功能特性研究

周丽静, 侯彩云*, 乔艳慧, 赵 静
(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 为了解普洱茶品质变化情况, 利用分光光度计对不同年份普洱茶抗氧化能力、清除 NO_2^- 能力、抑制 α -淀粉酶作用进行研究。结果表明: 普洱茶抗氧化能力与 VC 相当, 各茶样对 NO_2^- 均具有良好的清除效果(大于 50%); 随贮藏年份的延长, 普洱茶抗氧化性、清除 NO_2^- 能力未呈现明显增强规律性, 而对 α -淀粉酶抑制作用有所增加。
关键词: 普洱茶; 贮藏; 抗氧化; 清除 NO_2^- ; α -淀粉酶

Functional Properties of Pu-erh Tea with Different Storage Years

ZHOU Li-jing, HOU Cai-yun*, QIAO Yan-hui, ZHAO Jing
(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: In order to understand the quality change of Pu-erh tea, separate scavenging capacities against DPPH free radicals and NO_2^- as well as inhibition effect on α -amylase of Pu-erh tea with different storage years were evaluated using a spectrophotometer. Results indicated that the antioxidant activity of Pu-erh tea was similar to that of vitamin C and all of the tested Pu-erh tea samples with different storage years had a strong NO_2^- scavenging capacity, with a scavenging rate of higher than 50%. The separate scavenging capacities against DPPH free radicals and NO_2^- of Pu-erh tea failed to exhibit an obvious increase with prolonged storage year; however, the inhibition effect on α -amylase activity increased.

Key words: Pu-erh tea; storage; antioxidant activity; NO_2^- scavenging capacity; α -amylase

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)13-0019-04

普洱茶是云南特色茶, 原产于云南西双版纳、思茅等地, 现代普洱茶是指将晒青毛茶经过发酵处理精制而成的茶叶。据报道普洱茶有抗氧化、降血脂、降血糖、抑菌、助消化、醒酒、解毒等作用^[1-4]。从普洱茶色、香、味、形品质特点来看, 以越陈品质越佳著称。而越陈越佳被认为是衡量品质优良普洱茶的重要指标之一^[5], 也是普洱茶与其他茶类的最大区别之处。市场上普洱茶贮藏年份越久, 价格也越高。人们购买普洱茶更看重的是其对人体的保健作用, 普洱茶功能性是否随着贮藏年份的延长而增强则是消费者非常关心的问题。针对这一状况, 本研究选取不同贮藏年份的普洱茶, 对其功能特性变化情况进行分析, 旨在为普洱茶的科学饮用、理性收藏提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

选用同一茶厂生产的不同年份的普洱茶饼(熟茶)为

研究对象, 所有试验材料均购自云南某茶厂, 编号如表 1 所示。

表 1 样品编号
Table 1 Codes of Pu-erh tea samples

年份	2002	2003	2005	2006	2007
编号	1	2	3	4	5

DPPH 试剂 Sigma 公司; 其他试剂均为国产分析纯。

高速粉碎机 北京环亚天元机械技术有限公司;
SPS402 电子天平 梅特勒-托利多(常州)称重设备系统有限公司; Senco W201 恒温水浴锅 上海申生科技有限公司; 752 型分光光度计 上海精密科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 茶样浸出液主要成分测定方法^[6]

茶多酚测定: 酒石酸亚铁比色法; 黄酮类测定:

收稿日期: 2009-11-02

基金项目: “十一五” 国家科技支撑计划项目(2006BAD05A06)

作者简介: 周丽静(1986—), 女, 硕士研究生, 主要从事茶叶品质鉴别工作。E-mail: jing_river784@sina.com

* 通信作者: 侯彩云(1963—), 女, 教授, 博士, 主要从事食品质量检测工作。E-mail: cyhou@cau.edu.cn

三氯化铝比色法；茶多糖含量测定：水浸提法；茶褐素含量测定：比色法。

1.2.2 茶样处理

将茶叶样品磨碎，过40目筛。称取3.00g茶粉，加入150mL沸腾蒸馏水，静置5min，过滤，所得滤液即为实验用样品液。

1.2.3 清除DPPH自由基实验^[7-8]

配制20mg/mL的VC溶液作为对比，DPPH溶液浓度为 6.5×10^{-3} mol/L。如表2所示准备反应液。

表2 清除DPPH自由基实验加样表
Table 2 Table of DPPH addition

吸光度	加样
A_0	2mL DPPH溶液+2mL无水乙醇
A_i	2mL DPPH溶液+2mL样品液
A_j	2mL无水乙醇+2mL样品液

将上述反应液在室温下静置30min后，在波长517nm处测定 A_0 、 A_i 、 A_j 所表示样品的吸光度。样品对DPPH自由基的清除能力可表示为：

$$\text{清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100 \quad (1)$$

1.2.4 清除NO₂能力实验^[9]

取样品液5mL置于25mL比色管中，加入5μg/mL的NaNO₂标准液3mL，用磷酸-柠檬酸缓冲液调pH3，37℃恒温水浴中反应30min，取出后立即加入2mL 0.4g/100mL对氨基苯磺酸溶液，混匀，静置3~5min，加入1mL 0.2g/100mL盐酸萘乙二胺溶液，加水至刻度，混匀，静置15min，用1cm比色杯于波长538nm处测定吸光度。通过NaNO₂标准曲线得到相应的NaNO₂含量，按下式计算清除率：

$$\text{清除率}/\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad (2)$$

式中： m_1 为加入标准NaNO₂质量； m_2 为NaNO₂残余质量。

1.2.5 对α-淀粉酶活性抑制实验

碘-淀粉比色法^[10-11]。

2 结果与分析

2.1 茶样浸出液主要成分含量

普洱茶由云南原产的大叶中晒青绿茶经发水、渥堆、陈化及干燥工序加工而成。加工过程中，其内含成分发生氧化、聚合、缩合、分解等一系列极为复杂的变化，形成了普洱茶特有的品质。

表3 普洱茶主要化学成分含量
Table 3 Major chemical components of Pu-erh tea

成分	样品编号				
	1	2	3	4	5
茶多酚/%	7.06	6.81	6.35	5.03	4.75
茶多糖/%	2.13	2.54	2.70	2.62	3.40
黄酮类/(mg/g)	10.11	10.29	11.57	11.15	10.19
茶褐素/%	55.39	57.93	60.92	65.27	70.81

如表3所示，普洱茶中茶多酚类物质含量较少，且随着年份增加，含量逐渐降低，茶褐素含量较高，随着年份增加，含量逐渐增加。茶多糖及黄酮类物质含量较少，且没有明显的变化规律。

2.2 普洱茶清除DPPH自由基能力

DPPH自由基在有机溶剂中是一种稳定的自由基，其孤对电子在517nm附近有强吸收(显深紫色)。当有机清除剂存在时，孤对电子被配对，吸收消失减弱，通过测定吸收减弱的程度，可评价自由基清除剂的活性^[12-13]。按照1.2.3节中的实验方法测定不同年份普洱茶和VC对DPPH自由基的清除率，所得结果如图1所示。

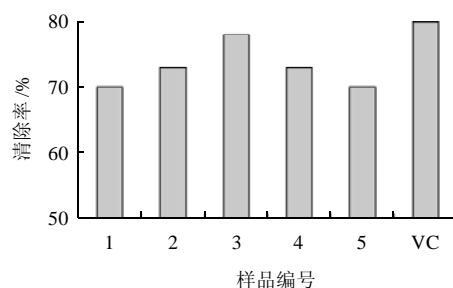


图1 普洱茶对DPPH自由基的清除率

Fig.1 Scavenging rate of Pu-erh tea against DPPH free radicals

由图1可以看出，普洱茶具有较强的清除DPPH自由基能力，5个不同年份普洱茶的清除DPPH自由基效果与VC大体相当。随着贮藏年份的增加，普洱茶清除DPPH自由基能力并未呈现增长趋势。这可能是由于普洱茶清除DPPH自由基的有效成分较复杂，随着年份延长，化学成分发生多元性变化，各成分的配比、协同作用等对清除能力均有不同程度的影响。

2.3 普洱茶清除NO₂能力

如果某种物质具有清除亚硝胺或其前体物NO₂的作用，那么这种物质就可能具有防癌的作用^[14-15]。按照1.2.4节方法测定普洱茶对NO₂的清除作用，所得结果如图2所示。

由图2可以看出，普洱茶有较强的清除NO₂能力，且清除率均在50%以上。本实验所选不同年份普洱茶的清除率有一定差异，随着贮藏年份的延长，清除率总体呈现下降趋势。有报道认为，茶叶中影响亚硝基化合物合成反应的成分主要是茶多酚^[16]。随着贮藏年份的

增加,由表3可见,茶多酚含量降低,这可能是导致清除 NO_2^- 能力降低的原因。

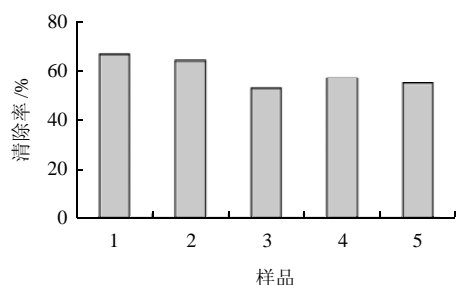


图2 普洱茶对 NO_2^- 的清除率
Fig.2 Scavenging rate of Pu-erh tea against NO_2^-

2.4 普洱茶对 α -淀粉酶活性抑制率

α -淀粉酶抑制剂是国外近年来开发的一类新型口服抗糖尿病药物^[17],据报道普洱茶内存在对 α -淀粉酶具有抑制作用的物质^[18-19]。按照1.2.5节方法测定普洱茶对 α -淀粉酶的抑制作用,所得结果如图3所示。

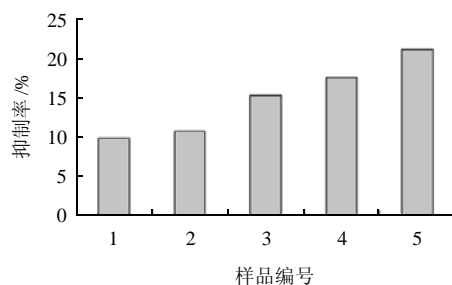


图3 普洱茶对 α -淀粉酶的抑制率
Fig.3 Inhibition rate of Pu-erh tea against α -amylase

普洱茶对 α -淀粉酶活性有一定的抑制效果。根据本实验所选样品,随着普洱茶贮藏年份的增加,普洱茶样品对 α -淀粉酶的抑制作用增强。据相关资料报道, α -淀粉酶抑制剂主要是单宁、多酚类和蛋白质或多肽^[20],样品中这些内含物的多少直接或间接地影响着对 α -淀粉酶的抑制作用。

2.5 普洱茶中有效成分与功能性的相关性

为考察影响普洱茶功能性的主要成分,计算各化学成分与各功能性的相关系数,结果见表4。

表4 普洱茶中有效成分与功能性的相关性
Table 4 Correlation between active components of Pu-erh tea and its functions

成分	清除DPPH自由基能力	清除 NO_2^- 能力	抑制 α -淀粉酶能力
茶多酚	0.1690	0.6877	-0.9586
黄酮类	0.8850	-0.6834	0.2513
茶多糖	-0.0685	-0.7215	0.8838
茶褐素	-0.1491	-0.7376	0.9826

查相关系数显著性检验表可知, $r_{0.05}(n-2)=r_{0.05}(3)=0.8783$ 。由表4可知黄酮类物质与清除DPPH自由基能力有显著相关性,茶多糖、茶褐素与抑制 α -淀粉酶能力显著相关。可以考虑采用多元线性回归来进一步分析研究它们之间的关系。

利用SPSS软件进行多元回归分析,采用逐步筛选法(step-wise),且回归系数显著性 t 检验的相伴概率值小于0.05的自变量引入了回归方程,大于0.1的自变量剔除了回归方程,经计算得到统计结果如表5。

表5 回归系数极显著性检验表
Table 5 Significance test table for regression coefficients

模型	回归系数	回归系数标准误	标准化回归系数	t	P
1	常数项	25.846		1.810	0.168
	黄酮类物质	4.404	0.885	3.292	0.046
2	常数项	-31.430		-7.188	0.006
	茶褐素	0.748	0.987	10.659	0.002

对于清除DPPH自由基能力,最后自变量进入回归方程的只有黄酮类物质,其余成分全部被从回归方程中剔除了。清除DPPH自由基能力的最终回归方程为:

$$y(\text{清除DPPH自由基能力})=25.846+4.404x(\text{黄酮类物质})$$

对于抑制 α -淀粉酶能力,最后自变量进入回归方程的只有茶褐素,其余成分全部被从回归方程中剔除了。抑制 α -淀粉酶能力的最终回归方程为:

$$y(\text{抑制}\alpha\text{-淀粉酶能力})=-31.430+0.748x(\text{茶褐素})$$

表6 模型总体参数表
Table 6 Parameter list of models

模型	R	R^2	调整 R^2	估计值的标准误
1	0.885	0.783	0.711	1.75857
2	0.987	0.974	0.966	0.85876

从表6可以看出,两模型的相关系数分别达到了0.885、0.987,说明自变量与因变量之间比较好的相关性。决定系数分别为0.783、0.974(R^2 反映出总体回归效果,越接近1越好),即在清除DPPH自由基能力变化中,有78.3%可由黄酮类物质的变化来解释。在抑制 α -淀粉酶能力变化中,有97.4%可由茶褐素的变化来解释。

表7 回归方差分析表
Table 7 Analysis of variance for regression

模型	平方差	自由度	均方	F 值	P
1	回归	33.522	1	33.522	10.840
	残差	9.278	3	3.093	
	总计	42.800	4		
2	回归	83.788	1	83.788	113.615
	残差	2.212	3	0.737	
	总计	86.000	4		

从表7可以看出,依据 F 分布表算出对应的相伴概率值,均小于0.05,说明自变量与因变量存在显著的线性关系,即回归方程有必要成立。

3 结 论

研究表明,普洱茶有较好的清除DPPH自由基能力,自然冲泡条件下清除率皆达60%以上,与VC清除能力相当。对 NO_2 清除率皆在50%以上,对 α -淀粉酶皆有一定的抑制作用。在贮藏期十年之内,随着贮藏年份的延长,普洱茶抗氧化性、清除 NO_2 能力并未呈现增长趋势,而对 α -淀粉酶抑制能力有所增强。黄酮类物质与清除DPPH自由基能力有显著相关性,茶多糖、茶褐素与抑制淀粉酶能力显著相关,二者可能是普洱茶降血糖功能的有效成分。得出如下线性回归方程:

$y(\text{清除 DPPH 自由基能力})=25.846+4.404x(\text{黄酮类物质})$

$y(\text{抑制 } \alpha\text{-淀粉酶能力})=-31.430+0.748x(\text{茶褐素})$

本实验收集样品有限,难以准确全面反应不同贮藏年份普洱茶功能性的变化情况,因此有必要收集更多的普洱茶样品,以便为普洱茶品质研究提供更科学的依据。

参考文献:

- [1] 张东英,施兆鹏,刘亚林.普洱茶药理作用研究进展[J].福建茶业,2005(1): 43-44.
- [2] 吕海鹏,谷记平,林智,等.普洱茶化学成分及生物活性研究进展[J].茶叶科学,2007,27(1): 8-18.
- [3] 周红杰,秘鸣,韩俊,等.普洱茶的功效及品质形成机理研究进展[J].茶叶,2003,9(2): 75-77.
- [4] 赵龙飞,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.
- [5] 东方,何普明,林智.普洱茶的抗氧化活性研究进展[J].食品科学,2007,28(5): 363-365.
- [6] 黄易欢.茶学实验技术[M].北京:中国农业出版社,1997.
- [7] 许宗运,马少宾,张秀萍,等.DPPH·法评价37种植物抗氧化活性[J].塔里木农垦大学学报,2004,16(2): 1-4.
- [8] AMAROWICZ R, NACZK M, SHAHIDI F. Antioxidant activity of various fractions of non-tanin phenolics of canola hulls[J]. J Agric Food Chem, 2000, 48: 2755-2759.
- [9] 周才琼,张章,范勇,等.不同茶样冲泡浸出液对 NO_2 清除作用的体外试验研究[J].茶叶科学,2004,24(3): 201-206.
- [10] 周景祥,王桂芹,余涛.蛋白酶和淀粉酶活性检测方法探讨[J].中国饲料,2001(11): 23-24.
- [11] 张冬英,余霜,黄业伟,等.普洱茶对 α -淀粉酶抑制作用的影响研究[J].食品工业科技,2009,30(2): 77-79.
- [12] COTELLE N, BERNIER J L, CATTEAU J P, et al. Antioxidant properties of hydroxy-flavones[J]. Free Radical Biology & Medicine, 1996, 20(1): 35-43.
- [13] HU F L, SCHMIDT K, STEFKA S, et al. Radical scavengers from the entomogenous deuteromycete beauveria amorpha[J]. Plantamedica, 2002, 68: 64-65.
- [14] 梁学军.茶叶对 N -亚硝基化合物合成的影响及抗肿瘤作用的研究[J].茶叶,1992,18(2): 9-12.
- [15] 谢祥茂,丁小雯,陈俊琴.金樱子提取液对 NO_2 清除作用的体外实验研究[J].食品科学,2001,22(1): 30-33.
- [16] 吴永宁,王淮洲.茶叶中影响 N -亚硝基化反应有效成分的初步探讨[J].营养学报,1987,9(4): 304-309.
- [17] LAJOLOF M, FILHO F F. Partial characterization of the amylase inhibitor of black beans (*Phaseolus vulgaris*), variety Rico23[J]. J Agric Food Chem, 1985, 33: 132-138.
- [18] 张冬英.普洱茶降糖降脂活性成分研究[D].长沙:湖南农业大学,2006.
- [19] 耿艳艳,王岳飞.茶多酚防治糖尿病作用及其机理的研究进展[J].茶叶,2007(1): 23-25.
- [20] GIBBS B F, ALLI I. Characterization of a purified alpha-amylase inhibitor from white kidney beans[J]. Food Res Int, 1998, 31(3): 217-225.