

ORAC 法评价 16 种茶叶的抗氧化能力

徐维盛¹, 张桂雨², 刘静³, 朱婧³, 杨月欣¹

(1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050; 2. 广州白云山汉方现代药业有限公司, 广州 510970;
3. 北京市科学技术研究院, 北京市营养源研究所, 北京 100069)

摘要: 目的 评价 4 类不同发酵类型 16 种茶叶样品总抗氧化能力。方法 采用氧自由基吸收能力(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)法。结果 闽红茶样品 ORAC 值最高, 为 1379.1 $\mu\text{mol TE/g}$, 其次为乌龙茶水仙, 其 ORAC 值为 1270.7 $\mu\text{mol TE/g}$, 第三位绿茶品种的古丈毛尖, 其 ORAC 值为 1247.1 $\mu\text{mol TE/g}$ 。绿茶样品整体均具有较高的 ORAC 值, 但 4 类茶叶的 ORAC 值无统计学差异($P>0.05$)。结论 4 类茶叶样品均具有一定的抗氧化活性, 但尚不能认为不同种类茶叶的 ORAC 值不同。

关键词: ORAC 值; 绿茶; 乌龙茶; 红茶; 黑茶; 抗氧化活性

Study on antioxidant activities of 16 kinds of tea

XU Wei-Sheng¹, ZHANG Gui-Yu², LIU Jing³, ZHU Jing³, YANG Yue-Xin^{1*}

(1. National Institute of Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China; 2. Guangzhou Hanfang Pharmaceutical Co., LTD, Guangzhou 510970, China; 3. Beijing Research Institute for Nutritional Resources, Beijing Academy of Science and Technology, Beijing 100069, China)

ABSTRACT: Objective To study the antioxidant activities of 16 kinds of tea **Methods** Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) method was used. **Results** The top three average ORAC value were 1379.1 $\mu\text{mol TE/g}$ of Fujian tea, 1270.7 $\mu\text{mol TE/g}$ of oolong tea, and 1247.1 $\mu\text{mol TE/g}$ of Guzhang maojian tea. The green tea had a higher ORAC value. There was no statistical difference in ORAC values of four kinds of tea ($P>0.05$), **Conclusion** All the 16 kinds of tea under different concentrations had free radical scavenging capacity, and it is not sure that the ORAC value of different kinds of tea is different.

KEY WORDS: oxygen radical absorbance capacity; green tea; oolong tea; black tea; antioxidant activity

1 引言

茶文化在我国具有悠久的历史, 随着时代和科技的进步, 人们对茶叶的保健功能越来越关注, 对茶保健功能的研究也越来越深入。根据茶叶的不同加工制作方法并结合我国贸易习惯, 可将茶叶划分为绿

茶、黄茶、黑茶、白茶、青茶、红茶以及再制茶七大类^[1-4]。现代研究^[5-8]证明, 茶对包括肿瘤、冠心病在内的多种慢性病以及癌症、心血管疾病均具有有预防作用, 这与其较强的抗氧化活性有着密切的联系。目前, 茶叶抗氧化活性的研究主要采用 DPPH 法、水杨酸法、碱性邻苯三酚法、铁还原抗氧化能力法等

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAD33B01)、北京市科学技术研究院青年骨干项目(2012-019)

Fund: Supported by the National Science and Technology Support Plan (2012BAD33B01); the Youth Projects of Beijing Science and Technology Research Institute (2012-019)

*通讯作者: 杨月欣, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为食品营养。E-mail: xyang@263.net

*Corresponding author: YANG Yue-Xin, Professor, National Institute of Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, No.29, Nanwei Road, Xicheng District, Beijing 100050, China. E-mail: xyang@263.net

[9,10], DPPH 法衡量抗氧化能力高低是利用对 DPPH·自由基的清除效果,其清除效果明显,简单易行,但 DPPH·自由基具有刺激性,吸入或皮肤均对人体有损害,张雷等^[11]对传统 DPPH 法进行了改进,选择 HPLC-DPPH 在线联用技术比较了包括乌龙茶、绿茶在内的 11 种茶叶样品的抗氧化活性差异,为其品质评价提供了一定的理论依据;陈金娥等^[12]比较了 DPPH 法、水杨酸法及碱性邻苯三酚法对红茶、绿茶、乌龙茶三类茶叶的抗氧化活性进行了评价,不同抗氧化评价方法得出的结果有一定的差异性。氧自由基吸收能力法(oxygen radical absorbance capacity, ORAC)是目前国际上正在采用评价总抗氧化能力的最新方法,现已经成为美国农业部、美国卫生院、FDA 评价食品抗氧化能力的重要标准。美国、欧洲、日本等国家的食品、功能食品企业普遍采用 ORAC 作为功能食品的重要评价标准。本研究选择的绿茶(未发酵茶)、乌龙茶(半发酵茶)、红茶(全发酵茶)及黑茶(后发酵茶)等 4 大类 16 种茶叶样品的 ORAC 研究尚未见文献报道,本研究通过对不同类型茶叶样品总抗氧

化能力进行评价研究,以期对茶叶保健功效的评价及与国际接轨提供数据支持,为人们正确认识茶叶保健功效提供科学指导。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

Synergy H4 多功能荧光分析仪(德国 BIO-TEK 公司)及 GENE5 工作站;96 微孔板;分析用天平:ME235S 型,感量 0.01mg,德国 Sartorius 集团。

荧光物质 Sodium Fluorescein、自由基产生剂 AAPH、抗氧化标准物质 Trolox(美国 Sigma 公司);磷酸氢二钾、磷酸二氢钠均为分析纯,均购于北京试剂公司。

16 种茶叶样品均由湖南农业大学易有金教授课题组提供,包括未发酵绿茶样品 5 种,半发酵乌龙茶样品 3 种,全发酵红茶样品 4 种以及后发酵黑茶样品 4 种,除益阳茯砖茶为再加工黑茶类样品外,其余样品均为基本茶类,采样信息见表 1 所示。

表 1 茶叶样品采样信息
Table 1 The information of tea samples

茶叶类型	序号	茶叶名称	级别	生产日期	生产单位
绿茶	1	西湖龙井	三级	201005	浙江省杭州市西湖区梅家坞村一品香茶庄
	2	信阳毛尖(2011 年)	一级	201105	河南省信阳市浉河区港乡龙潭茶厂
	3	信阳毛尖(2010 年)	一级	201005	河南省信阳市浉河区港乡龙潭茶厂
	4	洞庭碧螺春	一级	201105	江苏苏州市绿扬名茶有限公司
	5	黄山毛峰	一级	201010	安徽黄山徽特商贸有限公司
	6	古丈毛尖	特级	201004	湖南张家界茅岩河食品有限公司
乌龙茶	7	水仙	特级	201005	福建政和瑞茗茶叶有限公司
	8	安溪铁观音	特级	201010	福建省安溪县长坑弘泰茶叶有限公司
	9	凤凰单枞	一级	201008	广东潮州市揭东县潮韵茶叶有限公司
	10	祁门红茶	一级	201010	黄山徽特商贸有限公司
红茶	11	滇红茶	未标示	201003	云南滇红集团股份有限公司云南省凤庆茶厂
	12	川红茶	未标示	201009	四川林湖茶叶有限公司
	13	闽红茶	二级	201004	福建政和瑞茗茶叶有限公司
黑茶	14	普洱茶	特级	200801	云南普洱市金福茶厂
	15	广西六堡茶	一级	200906	桂林市漓江茶叶加工厂
	16	益阳茯砖茶	特制	200803	湖南省安化茶厂
	17	湖北青砖茶	未标示	200812	湖北省赵李桥茶厂

2.2 试验方法

2.2.1 供试溶液及样品的准备 准确称取茶叶 5.0 g, 加 100 °C 双蒸水 100 mL 冲泡 10 min, 过滤取茶叶汁; 滤渣用同样方法浸泡 1 次, 再次过滤; 合并两次滤液, 双蒸水定容于 200 mL 容量瓶。摇匀, 使用前分别用 75 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH=7.2)稀释 1000 倍、2500 倍作为供试样品溶液。

2.2.2 试验方法 本试验参考 Huang 等^[13]方法并加以改进。空白对照组及阴性对照组每组各 8 份, 实验组设两个浓度, 每个浓度平行操作 3 次, 重复测定两次。荧光素钠盐、AAPH、Trolox 均用 75 mmol/L 磷酸盐缓冲液溶解并稀释至适当浓度, ORAC 反应在 75 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH=7.2)体系中进行, 以激发波长(485±20) nm, 发射波长(530±20) nm 进行连续测定荧光强度, 测定时间设定在荧光衰减呈基线后为止。

试验所得的各微孔不同时间点的绝对荧光强度数据与其初始时间的荧光强度相比, 折算成相对荧光强度 f , 以相对荧光强度采用近似积分法计算荧光衰退曲线下面积(AUC)。其公式为: $AUC=0.5 \times [2 \times (f_0+f_1+\dots+f_{n-1}+f_n)-f_0-f_n] \times \Delta t$, 其中 f_n 标示第 n 个测定点的相对荧光强度, Δt 标示相邻两个时间点之间的时间间隔(即 2 min), 则上述公式可简化为: $AUC=2 \times (f_0+f_1+\dots+f_{n-1}+f_n)-f_0-f_n$ 。计算公式为: relative ORAC value= $[(AUC_{\text{sample}}-AUC_{\text{black}})/(AUC_{\text{Trolox}}-AUC_{\text{black}})]$ (molarity of Trolox/molarity of sample)^[13-15]。

测定结果以 ORAC 值表示, 数据采用 EXCEL 软件处理, 计算各样品 ORAC 值、ORAC 值平均值和相对标准偏差。

3 结果与讨论

3.1 16 种茶叶的 ORAC 值

此次研究共包括 4 类 16 种茶叶的 17 个样品, 每个样品做 3 份平行实验, 得到 Trolox 相对荧光强度和 Trolox 系列标准溶液荧光强度随时间衰减趋势如图 1 所示。以时间为横坐标, 净面积为纵坐标, 绘制 Trolox 系列标准溶液标准曲线。

Trolox 系列标准溶液标准曲线为 $Y=0.9808X+1.0344$, 相关系数 $R^2=0.9928$ 。试验研究发现, 不同茶叶样品具有不同程度的抗氧化性, 同一浓度不同种类茶叶样品及不同浓度同一茶叶样品的荧光衰减示意图见图 2 所示。分别对 16 种茶叶每个样品进行了两个不同浓度样品的抗氧化性研究, 每个样品平行称样 3 次, 通过计算获得其 ORAC 值, 结果见表 2 所示。

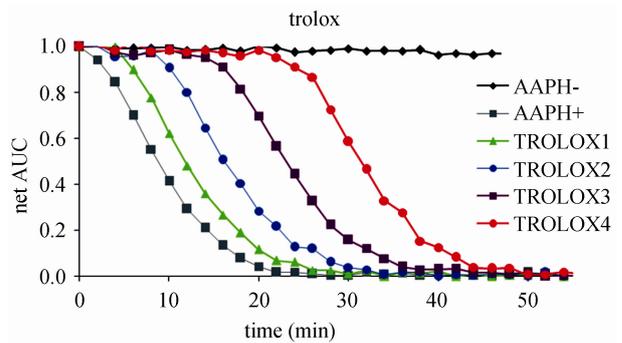
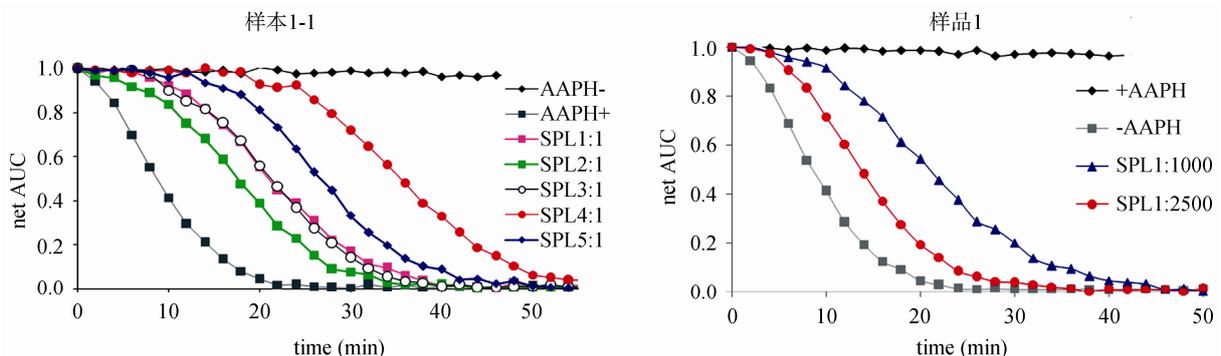


图 1 Trolox 系列标准溶液荧光强度随时间衰减曲线
Fig. 1 The attenuation curve of fluorescence intensity of Trolox series standard solution during different time



A 不同品种的茶叶样品(稀释 1000 倍) B 同一茶叶样品(稀释 1000 倍、2500 倍)
A The relationship between tea varieties and the antioxidants. B The relationship between tea concentration and the antioxidants.

图 2 茶叶样品溶液荧光随时间衰减曲线

Fig. 2 The attenuation curve of fluorescence intensity of tea sample solution during different time.

表 2 茶叶的 ORAC 值
Table 2 The ORAC value of tea

序号	ORAC 值($n=3$, $\mu\text{mol TE/g}$)		ORAC 均值	序号	ORAC 值($n=3$, $\mu\text{mol TE/g}$)		ORAC 均值
	浓度 1	浓度 2			浓度 1	浓度 2	
1	742.1 \pm 51.8	720.2 \pm 85.7	731.1	10	598.6 \pm 102.2	503.8 \pm 41.3	551.2
2	1060.0 \pm 48.7	1076.6 \pm 82.7	1068.3	11	564.3 \pm 20.9	648.7 \pm 30.5	606.5
3	688.4 \pm 95.2	907.8 \pm 98.9	798.1	12	755.2 \pm 56.2	853.2 \pm 78.5	804.2
4	1055.3 \pm 29.1	1274.1 \pm 123.8	1164.7	13	1146.3 \pm 68.9	1611.9 \pm 66.3	1379.1
5	863.0 \pm 75.1	963.9 \pm 34.2	913.5	14	554.3 \pm 73.7	613.3 \pm 82.1	583.8
6	1159.6 \pm 18.3	1334.6 \pm 128.3	1247.1	15	1091.9 \pm 94.3	1283.6 \pm 207.5	1187.8
7	1177.8 \pm 78.5	1363.6 \pm 160.1	1270.7	16	955.5 \pm 137.2	1307.8 \pm 107.9	1131.7
8	573.1 \pm 69.9	436.4 \pm 68.5	504.8	17	402.9 \pm 24.8	540.2 \pm 49.3	471.6
9	788.6 \pm 8.2	870.8 \pm 146.4	829.7				

结果表明, 两个不同浓度的同一样品 ORAC 值计算结果相同, 各样品 ORAC 值计算 RSD% 值均在 20% 以内。方差分析结果表明, 绿茶的 ORAC 值为 987.1 \pm 216.2 $\mu\text{mol TE/g}$; 乌龙茶的 ORAC 值为 868.4 \pm 342.1 $\mu\text{mol TE/g}$; 红茶的 ORAC 值为 796.3 \pm 296.1 $\mu\text{mol TE/g}$; 黑茶的 ORAC 值为 843.7 \pm 356.0 $\mu\text{mol TE/g}$; 方差分析结果表明: $P>0.05$, 没有统计学意义, 尚不能认为不同种类的茶叶的 ORAC 值不同。

同时对不同放置时间的茶 ORAC 值进行了方差分析, 结果表明, 不同放置时间的茶样品 ORAC 值 $P<0.05$, 但 ORAC 值与时间的相关性仅有 0.23, 尚不能说明茶 ORAC 值与放置时间直接相关。通过方差分析, 绿茶、黑茶的 ORAC 值无显著性差异 ($P>0.05$), 乌龙茶、红茶的 ORAC 值无显著性差异 ($P>0.05$), 但绿茶、黑茶的 ORAC 值较乌龙茶、红茶高。结果见表 3、4。

3.2 讨论

3.2.1 不同品种绿茶样品 ORAC 值比较

在对绿茶(未发酵茶)茶样品的抗氧化能力研究中, 选择了西湖龙井、信阳毛尖、洞庭碧螺春、黄山毛峰及古丈毛尖 5 个品种共 6 个样品作为研究对象, 结果表明: 不同品种绿茶样品的 ORAC 值存在一定的差异, 其中以古丈毛尖的 ORAC 值最高, 表明其抗氧化能力最强, 其次为洞庭碧螺春。通过对保质期内

2010 年与 2011 年产生的信阳毛尖样品的抗氧化能力比较发现, 2011 年信阳毛尖茶样品的 ORAC 值较高, 表明 2011 年信阳毛尖茶样品的抗氧化能力高于 2010 年样品。

3.2.2 不同品种乌龙茶样品 ORAC 值比较

乌龙茶又称青茶, 介于不发酵的绿茶和全发酵的红茶之间, 属于前发酵的半发酵茶, 其中安溪铁观音为我国十大传统名茶之一。本研究对凤凰单枞、安溪铁观音及水仙三个茶叶样品抗氧化能力研究结果表明, 水仙的 ORAC 值最高, 为其他两种茶样品的 2~3 倍, 表明其抗氧化能力最好。

3.2.3 不同品种红茶样品 ORAC 值比较

红茶属前发酵的全发酵茶, 本研究选择的闽红茶、川红茶、滇红茶、祁门红茶四个品种均属于工夫红茶, 其做工精细, 是我国特有的传统红茶品种。研究结果表明, 四种红茶样品中, 闽红茶的 ORAC 值最高, 表明其抗氧化活性最强, 川红茶次之, 滇红茶与祁门红茶的 ORAC 值相差无几。

3.2.4 不同品种黑茶样品 ORAC 值比较

对湖北青砖茶、益阳茯砖茶、广西留堡茶及普洱茶四种后发酵茶的抗氧化能力进行研究, 结果表明, 广西六堡茶与益阳茯砖茶的 ORAC 值相近, 湖北青砖茶与普洱茶的 ORAC 值相近, 其中前两种茶样品的 ORAC 值约为后两种茶样品的一倍, 其中以广西六堡茶样品的 ORAC 值最高, 表明其抗氧化能力较其他三种黑茶样品高。

表 3 茶叶 ORAC 值方差分析结果
Table 3 The variance analysis results of the ORAC value of tea

	Sum of Squares	d_f	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1500468.0	3	500156.0	9.14	0.00
Within Groups	3066060.8	56	54751.1		
Total	4566528.8	59			

表 4 ORAC 值方差分析结果
Table 4 The variance analysis results of the ORAC value

type	N	$\alpha=0.05$ 的子集	
		1.0	2.0
2.0	6.0	504.8	
3.0	18.0	654.0	
1.0	18.0		926.6
4.0	18.0		930.3
显著性		0.1	1.0

4 结 论

在所有的茶样品中, 闽红茶 ORAC 值最高, 为 1379.1 $\mu\text{mol TE/g}$ 。其次为乌龙茶水仙, 其 ORAC 值为 1270.7 $\mu\text{mol TE/g}$ 。第三位绿茶品种的古丈毛尖, 其 ORAC 值为 1247.1 $\mu\text{mol TE/g}$, 黑茶样品中广西六堡茶与益阳茯砖茶也具有较高的 ORAC 值, 其 ORAC 值分别为 1187.8、1131.7 $\mu\text{mol TE/g}$ 。方差分析结果表明 4 类茶叶 ORAC 值无统计学差异, 表明其均具有较好的抗氧化性。

参考文献

- [1] 魏先林, 徐建新. 浅谈茶叶的分类与品质特点[J]. 南昌高专学报, 2011, 96(5): 186-188.
Wei XL, Xu JX. Discussion on the classification and quality characteristic of tea [J]. J Nanchang Coll, 2011, 96(5):186-188.
- [2] 陈杖洲, 陈培钧. 浅议茶叶的分类及其品种花色(上)[J]. 茶世界, 2006, (297): 31-35.
Chen ZZ, Chen PJ. Discussion on the classification, variety and color of tea (Part I) [J]. Tea World, 2006, (297): 31-35.
- [3] 陈杖洲, 陈培钧. 浅议茶叶的分类及其品种花色(中)[J]. 茶世界. 2006, (298): 32-36.
Chen ZZ, Chen PJ. Discussion on the classification, variety and color of tea (Part II) [J]. Tea World, 2006, (297): 32-36.
- [4] 陈杖洲, 陈培钧. 浅议茶叶的分类及其品种花色(下)[J]. 茶世界. 2007, (301): 37-38.
Chen ZZ, Chen PJ. Discussion on the classification, variety and color of tea (Part III) [J]. Tea World, 2006, (297): 37-38.
- [5] 赵宝权, 邵宛芳, 刘家奇, 等. 六堡茶、黑茶茶粉和普洱(熟茶)茶粉对 Wistar 大鼠调节血脂及抗氧化功能的比较研究[J]. 云南农业大学学报, 2013, 28(2): 236-241.
Zhao BQ, Shao WF, Liu JQ, *et al.* Comparative study on effect of fermented pu-erh tea powder, dark tea powder and liupu tea on regulation of blood lipid and antioxidant in hyperlipidemia model rats [J]. J Yunnan Agric Univ, 2013, 28(2): 236-241.
- [6] 杨晓萍, 覃筱燕. 茶多酚药理活性的研究进展[J]. 中央民族大学学报(自然科学版), 2013, 22(3): 24-28.
Yang XP, Qin XY. Research advancement on pharmacological effect of tea polyphenols [J]. J MUC (Nat Sci Ed), 2013, 22(3): 24-28.
- [7] 揭国良, 何普明, 张龙泽, 等. 普洱茶提取物对高糖作用下人胚肺成纤维细胞的保护作用[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 366-369.
Jie GL, He PM, Zhang LZ, *et al.* Protective effect of pu-erh tea extracts on high-glucose-induced damage in human fibroblast cells [J]. Food Sci, 2008, 29(4): 366-369.
- [8] Duh PD, Yen GC, Yen WJ, *et al.* Effects of Pu-erh tea on oxidative damage and nitric oxide scavenging [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(26): 8169-8176.
- [9] 吴祥庭, 王爱银, 周化斌, 等. 茶叶黄酮类物质的双水相系统纯化及抗氧化研究[J]. 茶叶科学, 2012, 32(4): 289-296.
Wu XT, Wang AY, Zhou HB, *et al.* Study on Extaction by Aqueous Two-phase System and Anti-oxidation of Flavonoids from Tea [J]. J Tea Sci, 2012, 32(4): 289-296.
- [10] 钟兴刚, 刘淑娟, 李维, 等. 茶叶中黄酮类化合物对羟自由基清除实现抗氧化功能研究[J]. 茶叶通讯, 2009, 36(4): 16-18.
Zhong XG, Liu SJ, Li W, *et al.* Study on antioxidant function of tea flavonoid through the elimination of hydroxyl radical [J]. Tea Commun, 2009, 36(4): 16-18.
- [11] 张雷, 丁晓萍, 戚进, 等. HPLC-DPPH 在线联用技术评价茶

- 的抗氧化活性[J]. 中国药科大学学报, 2012, 42(3): 236–240.
- Zhang L, Ding XP, Qi J, *et al.* Determination of antioxidant activity of tea by HPLC-DPPH [J]. J China Pharm Univ, 2012, 43(3): 236–240.
- [12] 陈金娥, 丰慧君, 张海蓉. 红茶、绿茶、乌龙茶活性成分抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(3): 62–66.
- Chen JE, Feng HJ, Zhang HR. Effects of active ingredients in black tea, green tea and oolong tea on antioxidant capability [J]. Food Sci, 2009, 30(3): 62–66.
- [13] Huang DJ, Ou B, Hampsch-Woodill M, *et al.* High-Throughput Assay of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using a Multichannel Liquid Handling System Coupled with a Microplate Fluorescence Reader in 96-Well Format [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50, 4437–4444.
- [14] Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL, *et al.* Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe [J]. J Agric Food Chem, 2001, 49, 4619–4626.
- [15] 续洁琨, 姚新生, 栗原博. 抗氧化能力指数(ORAC)测定原理

及应用[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(8): 1015–1021.

Xu JK, Yao XS, Hiroshi K. Oxygen radical absorbance capacity assay and its application [J]. Chin Pharm Bull, 2006, 22(8): 1015–1021.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



徐维盛, 医学博士, 食品营养与卫生学博士后, 助理研究员, 主要研究方向为营养与功能食品分析。

E-mail: hbxuweisheng@163.com



杨月欣, 研究员, 博士生导师, 主要研究方向为食品营养。

E-mail: yxyang@263.net