

不同树龄武夷水仙茶多糖抗氧化活性研究

石玉涛,林小娥,郑淑琳,李远华

(武夷学院 茶与食品学院/福建省武夷茶资源创新利用重点实验室/福建省高校茶叶工程研究中心/中国乌龙茶产业协同创新中心(培育),福建 武夷山 354300)

摘要:为探明不同树龄武夷水仙茶叶中主要生化成分及其茶多糖的抗氧化活性的差异,以树龄为 6、30、60 a 的武夷水仙茶叶为试材,测定了主要生化成分含量,通过水提醇沉淀法提取茶多糖,分析了茶多糖的基本组分,并研究了 3 种茶多糖清除 DPPH 自由基和超氧阴离子自由基的活性。结果表明:3 种水仙茶叶中茶多酚、游离氨基酸和黄酮类含量随着树龄的增长逐渐降低,可溶性糖含量随树龄的增长而升高;3 种武夷水仙茶多糖的得率及其组分中的中性糖、蛋白质、糖醛酸、茶多酚的含量存在明显差异,茶多糖的得率随树龄的增长而提高,得率较高的老丛水仙茶多糖组分中的中性糖、蛋白质的含量也较高;3 种茶多糖清除 DPPH 自由基的能力较为接近,其 IC_{50} 分别为:0.051、0.055、0.060 $mg \cdot mL^{-1}$;3 种茶多糖清除超氧阴离子自由基的能力存在明显差异,其 IC_{50} 分别为:1.131、1.121、0.431 $mg \cdot mL^{-1}$,树龄为 60 a 的老丛水仙茶多糖清除超氧阴离子自由基活性明显高于树龄为 6 和 30 a 的水仙茶多糖,具有较强的抗氧化活性。

关键词:武夷水仙;树龄;生化成分;茶多糖;抗氧化活性

中图分类号:S571.1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)11-0116-05

武夷山是世界红茶、乌龙茶发源地,产茶历史悠久,茶树种质资源十分丰富,素有“茶树品种王国”之称。福建水仙(*C. sinensis* cv. Fujian-shuixian),又名武夷水仙、水吉水仙,是武夷岩茶的当家品种之一,栽培历史约 200 余年^[1]。武夷山当地茶农把树龄在 30 a 以下的水仙茶树称为普通水仙,树龄在 30~50 a 的称为高丛水仙,树龄在 50 a 以上的称为老丛水仙。采用树龄 50 a 以上的老丛水仙茶树鲜叶原料制作的武夷岩茶,品质优异且具有独特的“丛味”,深受消费者喜爱^[2]。近年来,有不少茶企开始培育高丛、老丛茶园。研究表明,树龄对茶叶品质有较大影响。王烨军分析了不同生育年龄祁门红茶毛茶的感官品质并测定了其鲜叶理化成分,结果表明祁红品质成分随树龄的变化而有差异^[3]。肖星等对不同树龄的紫鹃茶树营养元素进行了研究,发现在不同的生长发育阶段,紫鹃茶树地上部分生物量随着树龄的增长而增加^[4]。关于不同树龄水仙茶的研究,仅

见陈德华和林和的报道。陈德华调查了武夷山吴三地的老丛水仙,发现其品质均优于大宗水仙^[2]。林和等研究了不同提取方法对老丛水仙和奇兰中茶多酚含量的影响,结果表明无论用恒温水浴法还是用超声波震荡法,老丛水仙中茶多酚的含量都明显高于奇兰^[5]。

茶多糖(tea polysaccharides, TPS)是茶叶中一种重要的生物活性物质,具有抗氧化、降血糖、增强机体免疫调节能力等药理作用^[6],抗氧化活性已成为当前茶多糖研究领域的热点。陈玉琼等^[7]对福鼎大白茶及白毫早等 7 个代表性茶树品种以及新梢不同部位的叶片和茎梗多糖进行分析,结果表明不同品种茶多糖含量、多糖中性糖、糖醛酸、蛋白质含量以及清除羟基自由基($\cdot OH$)和超氧阴离子自由基($O_2\cdot$)的能力存在明显差异,说明茶多糖特性和生物活性存在品种多样性。孙娅、刘思思、石玉涛等研究也表明不同茶树品种间茶多糖抗氧化活性有较大差异,存在品种间多样性^[8-10]。而关于树龄对茶多糖抗氧化活性的影响的研究鲜见报道。

该文以树龄为 6、30 和 60 a 的武夷水仙茶叶为原料,测定了主要生化成分的含量,以相同方式提取茶多糖,比较研究了不同树龄武夷水仙茶多糖清除 DPPH 自由基和超氧阴离子自由基的能力,以期对武夷水仙的科学种植与推广消费,及其茶多糖的开发利用提供依据。

收稿日期:2014-08-11

基金项目:福建省教育厅 A 类科技资助项目[JJA11260];武夷学院青年教师专项科研基金资助项目[xq201014];武夷学院大学生创新性试验计划资助项目[xj2011014]

第一作者简介:石玉涛(1984-),男,陕西省榆林市人,硕士,助教,从事茶叶生物化学与资源综合利用研究。E-mail: shiyt2010@163.com。

通讯作者:李远华(1963-),男,福建省仙游县人,博士,教授,从事茶学及生物技术研究。E-mail: yhli@mail.wuyiu.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 材料

供试茶叶样品有树龄为 6 a 的普通水仙(SX-6)、30 a 的高丛水仙(GC-30)、60 a 的老丛水仙(LC-60)成品茶,由武夷山岩皇茶厂提供。粉碎后过 40 目筛,取筛下样。主要试剂为 1,1-二苯基苦基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl,DP-PH),AR,Sigma-Aldrich Co. USA;超氧化物歧化酶试剂盒(南京建成生物工程研究所);其它试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 不同树龄武夷水仙生化成分测定 游离氨基酸总量测定采用茚三酮比色法^[11];茶多酚含量测定采用酒石酸铁比色法^[11];可溶性糖含量测定采用硫酸-蒽酮比色法^[11];黄酮类化合物总量测定采用三氯化铝比色法^[12]。

1.2.2 不同树龄武夷水仙茶多糖提取 采用水提醇沉淀法^[13]。取粉碎后烘至足干的茶样 20 g,用预热至 55℃ 的蒸馏水以 1:20 的固液比例于 55℃ 水浴锅中搅拌浸提 2.5 h,过滤,冷却后以 4 000 r·min⁻¹ 的速度离心 15 min,取上清液,用 3 倍体积的 95% 乙醇沉淀,4 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 后取沉淀,冷冻干燥后得粗茶多糖。计算茶多糖得率:

得率(%)=(干燥后的多糖重量/茶样重量)×100

1.2.3 不同树龄武夷水仙茶多糖组分测定 中性糖含量测定采用硫酸-蒽酮比色法^[14];蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 法^[15];糖醛酸含量测定采用硫酸-咔唑法^[16];茶多酚测定含量采用酒石酸铁比色法^[11]。

1.2.4 不同树龄武夷水仙茶多糖清除自由基活性测定 不同树龄武夷水仙茶多糖清除超氧阴离子自由基活性测定采用黄嘌呤氧化酶法^[7],清除 DPPH 自由基活性测定参考李雷的方法^[17]。

1.2.5 数据统计分析 采用 Microsoft Office Excel 2013、IBM SPSS 20.0 软件进行数据统计分析处理,不同组间差异采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间两两比较采用 Duncan 检验法。对以百分数为单位的数据先做平方根反正弦变换后再进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同树龄武夷水仙生化成分分析

由表 1 可知,3 种水仙样品中茶多酚、游离氨基酸、黄酮类和可溶性糖含量存在极显著差异。SX-6 中茶多酚、游离氨基酸、黄酮类含量高于 GC-30 和 LC-60,而 LC-60 中可溶性糖含量高于 SX-6 和 GC-30。

表 1 不同树龄武夷水仙生化成分分析

Table 1 Biochemical components of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian with different ages

样品 Samples	茶多酚/% Tea polyphenol	游离氨基酸/% Free amino acids	黄酮类/% Flavonoids	可溶性糖/% Soluble sugar
SX-6	18.21±0.68 aA	2.84±0.04 aA	10.98±0.22 cC	5.11±0.04 aA
GC-30	15.46±0.69 bB	2.13±0.13 bB	10.04±0.13 bB	5.50±0.15 bA
LC-60	15.26±0.37 bB	1.97±0.16 bB	8.98±0.07 aA	5.75±0.02 cB

注:同列不同大小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平。下同。

Note: Different capital letters and lowercases in the same line indicate significant difference at 0.01 and 0.05 level. The same below.

2.2 不同树龄武夷水仙茶多糖得率及主要组分分析

由表 2 可知,3 种武夷水仙茶多糖得率及茶多糖中的中性糖、蛋白质、糖醛酸和茶多酚含量存在极显著差异。LC-60 茶多糖的得率高于 SX-6 和 GC-30,推测与其原料粗老有关系。茶多糖得

率较高的 LC-60,其组分中的中性糖、蛋白质的含量也较高。由茶叶样品中生化成分对比分析可知,LC-60 中可溶性糖含量也较高,说明茶多糖的得率可能跟茶叶中的可溶性糖存在着一定的联系。

表 2 不同树龄武夷水仙茶多糖得率和基本成分的含量分析

Table 2 Analysis on yield rate and contents of basic components in tea polysaccharides of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian with different ages

样品 Sample	茶多糖得率/% Yield rate	中性糖/% Neutral sugar	蛋白质/% Protein	糖醛酸/% Uronic acid	茶多酚/% Tea polyphenol
SX-6	1.23±0.028 aA	41.21±0.14 aA	8.52±0.03 aA	31.56±0.71 bA	8.96±0.13 aA
GC-30	1.29±0.014 bA	41.98±0.97 aA	8.46±0.20 aA	33.63±0.67 cB	7.35±0.30 bB
LC-60	1.38±0.042 cB	44.09±1.82 bB	8.92±0.23 bB	30.57±0.56 aA	8.81±0.16 aA

2.3 不同树龄武夷水仙茶多糖清除 DPPH 自由基活性分析

从表 3 看出,随着茶多糖浓度的增加,茶多糖对 DPPH 自由基的清除率也逐渐增强,说明在一定的浓度范围内,茶多糖浓度与其对 DPPH 自由

基的清除率呈现一定的量效关系。根据线性回归方程计算出 3 种不同树龄武夷水仙茶多糖对 DPPH 清除率 IC_{50} 值分别为 0.051、0.055 和 0.060 $mg \cdot mL^{-1}$,可知 3 种水仙茶多糖对 DPPH 自由基清除能力较为接近。

表 3 不同树龄武夷水仙茶多糖清除 DPPH 自由基活性比较

Table 3 The activity of tea polysaccharides to scavenge DPPH of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian with different ages

茶多糖浓度/ $mg \cdot mL^{-1}$ Concentration of tea polysaccharides	SX-6	清除率/% Scavenging rate GC-30	LC-60
0.02	25.53±0.11 aA	20.04±1.82 aA	19.68±5.82 aA
0.04	43.17±0.01 bB	41.29±0.48 bB	36.53±3.41 bB
0.06	60.28±4.25 cC	57.15±0.52 cC	50.36±6.15 cC
0.08	70.31±1.63 dD	65.84±0.42 dD	65.04±1.23 dD
0.10	81.55±4.43 eE	83.96±0.74 eE	78.91±4.21 eE

2.4 不同树龄武夷水仙茶多糖清除超氧阴离子自由基活性分析

从表 4 可知,三种不同树龄的武夷水仙茶多糖随着浓度的增加,清除率也逐渐增强,说明在一定的浓度范围内,茶多糖浓度与茶多糖对 $O_2^{\cdot-}$ 自由基的清除率呈现一定的量效关系。根据线性回归

方程计算出 SX-6、GC-30、LC-60 三种不同树龄武夷水仙茶多糖对 $O_2^{\cdot-}$ 自由基清除率 IC_{50} 值分别为 1.132、1.121 和 0.431 $mg \cdot mL^{-1}$ 。即不同树龄武夷水仙茶多糖对超氧阴离子自由基清除活性为 $LC-60 > GC-30 > SX-6$,LC-60 茶多糖对 $O_2^{\cdot-}$ 自由基清除能力明显强于 SX-6 和 GC-30。

表 4 不同树龄武夷水仙茶多糖清除 $O_2^{\cdot-}$ 自由基活性比较Table 4 The activity of tea polysaccharides to scavenge $O_2^{\cdot-}$ of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian with different ages

茶多糖浓度/ $mg \cdot mL^{-1}$ Concentration of tea polysaccharides	SX-6 清除率/% Scavenging rate of SX-6	茶多糖浓度/ $mg \cdot mL^{-1}$ Concentration of tea polysaccharides	GC-30 清除率/% Scavenging rate of GC-30	茶多糖浓度/ $mg \cdot mL^{-1}$ Concentration of tea polysaccharides	LC-60 清除率/% Scavenging rate of LC-60
0.8	31.02±2.59 aA	1.0	34.78±3.30 aA	0.2	36.30±1.79 aA
1.0	40.46±4.09 aAB	1.2	48.40±2.36 abAB	0.4	49.69±4.67 bB
1.2	56.83±4.76 bBC	1.4	51.46±3.05 bcAB	0.6	56.23±4.72 bB
1.4	63.16±5.92 bCD	1.6	61.67±4.45 bcBC	0.8	72.71±3.30 cC
1.6	77.65±5.49 cD	1.8	65.14±0.25 cBC	1.0	83.54±7.38 dD
1.8	91.88±3.43 dE	2.0	79.76±4.05 dC	1.2	85.50±6.06 dD

2.5 茶多糖活性与茶多糖组分相关性分析

由表 5 可知,茶多糖对 DPPH 自由基清除活性与茶多糖组分中的蛋白质、茶多酚、糖醛酸和中性糖含量的偏相关系数低,无明显的相关性。茶多糖对 $O_2\cdot$ 自由基的清除率与茶多糖中的中性糖、

糖醛酸和茶多酚含量的偏相关系数较大,存在明显的正相关性,故推测 3 种武夷水仙茶多糖组分中的中性糖、糖醛酸、茶多酚在清除超氧阴离子自由基方面存在着协同作用。

表 5 茶多糖得率、多糖的基本组分以及对 DPPH、 $O_2\cdot$ 自由基清除率的偏相关分析

Table 5 Partial correlation yield rate,basic composition of TPS and its scavenging rate of DPPH and $O_2\cdot$

项目 Items	清除 DPPH 能力 Scavenging rate of DPPH	清除 $O_2\cdot$ 能力 Scavenging rate of $O_2\cdot$	中性糖 Neutral sugar	糖醛酸 Uronic acid	蛋白质 Protein
清除 DPPH 能力 Scavenging rate of DPPH					
清除 $O_2\cdot$ 能力 Scavenging rate of $O_2\cdot$	-0.193				
中性糖 Neutral sugar	0.192	0.999 **			
糖醛酸 Uronic acid	0.201	0.999 **	-1.000 **		
蛋白质 Protein	-0.166	-0.995 **	0.999 **	0.998 **	
茶多酚 Tea polyphenol	0.199	0.999 **	-1.000 **	-1.000 **	0.999 **

注: * * 表示相关性达 0.01 显著水平。
Note: * * means significant difference at 0.01 level.

3 结论与讨论

3 种不同树龄武夷水仙茶叶中茶多酚、游离氨基酸和黄酮类含量随着树龄的增长逐渐降低,可溶性糖含量随树龄的增长而增加,在树龄为 60 a 的老丛水仙中含量最高;3 种武夷水仙茶多糖得率及其组分中的中性糖、蛋白质、糖醛酸和茶多酚含量存在明显差异,茶多糖得率随树龄的增长而提高,得率较高的老丛水仙茶多糖组分中的中性糖、蛋白质含量也较高;3 种武夷水仙茶多糖清除 DPPH 自由基的能力较为接近,其 IC_{50} 分别为:0.051、0.055 和 0.060 $mg\cdot mL^{-1}$,树龄为 6 a 的水仙茶多糖活性略强;3 种茶多糖清除 $O_2\cdot$ 自由基的能力存在明显差异,其 IC_{50} 分别为 1.131、1.121 和 0.431 $mg\cdot mL^{-1}$,树龄为 60 a 的老丛水仙茶多糖清除 $O_2\cdot$ 自由基活性明显高于树龄为 6 和 30 a 水仙茶多糖。对 3 种武夷水仙茶多糖清除自由基活性与其基本组分的偏相关性分析结果表明,茶多糖清除 DPPH 自由基活性与多糖基本组分含量并无明显关系,而茶多糖清除 $O_2\cdot$ 自由基活性与多糖基本组分中中性糖、糖醛酸和茶多酚含量呈明显的正相关。

DPPH 自由基是一种以氮为中心的稳定的自由基,其溶液具有特征的紫红色吸收峰,抗氧化剂可以与其单电子配对而使其吸收逐渐消失^[18]。

超氧阴离子自由基能够引起生物大分子的氧化损伤,引发生物体产生衰老和多种疾病^[7]。目前,清除 DPPH 自由基和 $O_2\cdot$ 自由基试验已广泛用于抗氧化剂的筛选与活性评价中。本研究结果表明,3 种武夷水仙茶多糖对 DPPH 自由基和 $O_2\cdot$ 自由基均有较好的清除效果,综合来看,以树龄为 60 a 的老丛水仙茶多糖清除自由基效果最好,表明老丛水仙茶多糖是一种较好的自由基清除剂,具有较强的抗氧化活性。研究结果显示 3 种武夷水仙茶多糖清除 DPPH 自由基的能力较为接近,而清除 $O_2\cdot$ 自由基的能力存在明显差异,并且清除 DPPH 自由基活性与多糖基本组分含量并无明显关系,而清除 $O_2\cdot$ 自由基活性与多糖基本组分含量呈现明显的正相关,可能与不同树龄茶多糖清除不同自由基的机理不同以及其结构存在差异有关^[8,10],与孙娅、石玉涛的研究结果一致。不同树龄武夷水仙茶多糖的结构特性的研究有待进一步深入。

参考文献:

[1] 江昌俊. 茶树育种学[M]. 北京:中国农业出版社,2005: 51-52.
[2] 陈德华,陈桦,刘宝顺,等. 武夷山当家品种——水仙[J]. 福建茶业,2011(3):39-43.
[3] 王辉军. 茶树树龄与祁红品质关系研究[J]. 福建茶叶, 2001(1):11-13.

- [4] 肖星,殷丽琼,刘德和,等.不同树龄的紫鹃茶树营养元素变化规律研究[J].湖南农业科学,2013(11):22-25.
- [5] 林和,叶冰莹.老丛水仙和奇兰不同提取方法的茶多酚含量[J].河南科技学报,2013,41(1):41-43.
- [6] 谢明勇,聂少平.茶叶多糖的研究进展[J].食品与生物技术学报,2006,25(2):108-109.
- [7] 陈玉琼,余志,张芸,等.茶树品种、部位和嫩度对茶多糖含量和活性的影响[J].华中农业大学学报,2005,24(4):406-409.
- [8] 孙娅.茶树品种间多糖组成、活性差异及低活性茶多糖的结构分析[D].武汉:华中农业大学,2007:12-26.
- [9] 刘思思.茶树品种间多糖组成、活性差异及高活性茶多糖的结构分析[D].武汉:华中农业大学,2009:33-36.
- [10] 石玉涛.茶多糖抗氧化和降血糖作用研究[D].武汉:华中农业大学,2010:41-52.
- [11] 张正竹.茶叶生物化学实验教程[M].北京:中国农业出版社,2009:35-44.
- [12] 钟萝.茶叶品质理化分析[M].上海:上海科学技术出版社,1989:303-304.
- [13] 倪德江,陈玉琼,谢笔钧,等.绿茶、乌龙茶、红茶的茶多糖组成、抗氧化及降血糖作用研究[J].营养学报,2004,26(1):57-60.
- [14] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,1999:12-14.
- [15] 李合生.植物生理生化实验原理及技术[M].北京:高等教育出版社,2000:184-185.
- [16] 孙平楠,周小玲,汪东风.一种水溶性茶多糖的单糖组成及糖醛酸含量的测定[J].今日药学,2008(1):53-55.
- [17] 李雷.茶叶多糖食品功能性研究[D].青岛:中国海洋大学,2006:50-53.
- [18] 聂少平,谢明勇,罗珍.用清除有机自由基 DPPH 法评价茶叶多糖的抗氧化活性[J].食品科学,2006,27(3):34-36.

Study on Antioxidant Activity of Tea Polysaccharides of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian with Different Ages

SHI Yu-tao, LIN Xiao-e, ZHENG Shu-lin, LI Yuan-hua

(College of Tea and Food Science, Wuyi University/Fujian Provincial Key Laboratory of Wuyi Tea Resources Innovation and Utilization/Tea Engineering Research Center of Fujian Higher Education/Collaborative Innovation Center of Chinese Oolong Tea Industry(Breeding), Wuyishan, Fujian 354300)

Abstract: In order to explore the difference of chemical components and the activity of tea polysaccharides of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian with different ages, taking three kinds of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian as materials which tea plant ages were 6, 30 and 60 years, the contents of flavonoids, free amino acids, soluble sugar, tea polyphenols and other major biochemical components were measured, as well as tea polysaccharides (TPS), contents of protein, neutral sugar, uronic acid and tea polyphenol. The scavenging activity of DPPH and $O_2\cdot$ by TPS were compared. The results showed that the contents of flavonoids, free amino acids and tea polyphenols decreased with the increasing of tea tree age, while the content of soluble sugar increased. There was a very significant difference in the contents of uronic acid, neutral sugar, protein and tea polyphenol of TPS, and the yield rate of TPS, the content of neutral sugar and protein in TPS increased with the increasing of tea tree age. The scavenging ability of DPPH of TPS with different tea tree ages were close to each other, IC_{50} were 0.051, 0.055 and 0.060 $mg\cdot mL^{-1}$ respectively, the scavenging ability of $O_2\cdot$ of TPS with different tea tree ages were significantly different, IC_{50} were 1.131, 1.12 and 0.431 $mg\cdot mL^{-1}$ respectively, it illustrated that TPS of *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian for 60 years had better radical scavenger than the other two which possessed a strong antioxidant activity.

Key words: *C. sinensis* cv. Fujian-shuixian; tea plant age; chemical components; tea polysaccharides; antioxidant activity