

绿茶有效成分分离及其对自由基的清除能力

王海宽 赵新淮 李海平

王静

(东北农业大学食品学院 哈尔滨 150030 黑龙江省鸡西鑫源生物化学制品厂)

摘要 对绿茶水提取物及提取的茶多酚的羟自由基清除能力进行评价,结果显示提纯的茶多酚(茶多酚浓度为 27.391 mg/ml)对羟自由基清除能力高于绿茶水提取物(茶多酚浓度为 27.391 mg/ml),

关键词 绿茶提取物 羟自由基 自由基清除能力

Abstract The Hydroxyl radical scavenging activity of green tea water extract and green tea polyphenols extracted was evaluated in vitro. The results obtained showed the solution of green tea polyphenols isolated (the concentration of green tea polyphenols =27.391 mg/ml) had the higher ability to scavenge hydro-radical than green tea water extract (the concentration of green tea polyphenols =27.391 mg/ml).

Key words green tea water extract ; Hydroxyl radical ; radical scavenging activity

自由基可诱发癌症、心血管等诸多疾病^[1-3]。在众多的自由基中,羟自由基是最活泼的,其反应速度极快,它是对机体危害最大的自由基,超过了 $\cdot O_2$ 和 1O_2 两种活性氧自由基。目前,对羟自由基的研究已涉及到不同的学科。寻找对羟自由基具有良好清除能力的清除剂,特别是从常见的食品资源中进行筛选,就是一个非常有必要的研究课题,如此可保证体内自由基的有效清除,维护机体的正常机能,也可预防某些疾病的发生。

故此,选用药食同源的绿茶为研究对象,对其主要成分茶多酚进行分离提取,采用生物化学方法测定、研究绿茶水提取物及提取的茶多酚对羟自由基的清除能力。

1 材料与方法

1.1 材料 样品选用绿茶,分析测定用试剂除个别试剂为化学纯外,大多数为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 绿茶水提物的制备 预先将绿茶略加粉碎以利于其成分的提取,取一定量的绿茶,加入 10 倍量水 100 °C 提取 5 min,然后冷却至室温;用滤纸过滤得样品提取液,若提取液浑浊

则在离心机中高速离心 5 min,便可得到澄清的提取物,然后用于测定。

1.2.2 茶多酚的提取分离

于 10 g 磨碎的绿茶末中,加入 50 ml 85 % 的乙醇,35~45 °C 水浴上不断搅拌,提取 20 min,过滤,残渣用 2~3 倍量的 85 % 乙醇按上法提取 20 min,过滤,合并滤液,在 40~45 °C 水浴上减压浓缩至乙醇基本除尽,将浓缩液移入分液漏斗中,加 1 倍量的三氯甲烷,振摇,静置分层,弃去含有色素,树脂、咖啡碱等杂质的三氯甲烷层,再用三氯甲烷萃取数次,至三氯甲烷层基本无色止。放出含多酚的水层,用热风驱除残存的三氯甲烷和乙醇,放冷,转入另一分液漏斗中,用一倍量的乙酸乙酯萃取茶多酚,重复萃取数次,合并乙酸乙酯提取液,在 40~50 °C 水浴上减压浓缩至干,然后加少量蒸馏水洗出浓缩物,得 x 液,备用。

1.2.3 茶多酚含量的测定

取经适当稀释的上述提取的茶多酚溶液(x 液)1 ml,加入 25 ml 容量瓶中,加蒸馏水 4 ml,然后再加酒石酸铁溶 5 ml,摇匀,再加入 pH 7.5 磷酸缓冲液稀释至刻度,以蒸馏水代替供试液加入同样试剂作空白,选择 540 nm 和 0.5 cm

的比色杯测定光密度 A_1 。

则此茶多酚溶液浓度:

$$S_1(\text{mg/ml})=7.826 \times A_1$$

注 光密度为 1.00 时, 供试液茶多酚溶液浓度为 7.826 mg/ml)

取上述绿茶水提取物(绿茶:水=1:10) 1ml, 然后按上述方法测定茶多酚浓度。

1.2.4 绿茶水提取物及提取的茶多酚的羟自由基清除能力测定

将提取的茶多酚配成不同浓度溶液以及绿茶水提取物等作为样品液测定羟自由基清除能力。

取 0.20 ml 的 FeSO_4 -EDTA 混和液 ($10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 于具塞试管中, 加入 0.20 ml 的 α -脱氧核糖溶液 ($10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 然后再加入一定量的样品提取液, 并用磷酸缓冲液 ($\text{pH}=7.4, 0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 定容到 1.8 ml, 最后加入 0.20 ml 的 H_2O_2 ($10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), 混匀后于 37°C 水浴中恒温保持 1 h; 然后再加入 2.3 % (w/w) 三氯乙酸 (TCA) 溶液 1.00 ml, 1.0 % (w/w) 硫代巴比妥酸 (TBA) 溶液 1.00 ml, 混匀后沸水浴中加热 10 min, 冷水冷却后在分光光度计上 532nm 处测其吸光值 A_s 。

不加样品提取液, 同上操作处理, 测定其对比吸光值 A_c 。

不加样品提取物并且不在 37°C 水浴中反应, 其它处理同上, 测定空白吸光值 A_0 。

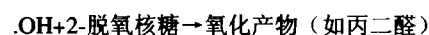
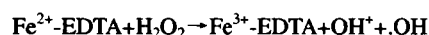
则样品提取物羟自由基清除能力 (scavenging activity, SA) 可表示为:

$$\text{SA}(\%)=[1-(A_s-A_0)/(A_c-A_0)] \times 100$$

2 结果与讨论

茶叶是我国具有悠久食用历史的一种饮料, 在茶叶所含的各种成分中, 多酚类由于具有很强的还原性而较引人注目, 在我国已被允许用于食品中作为抗氧化剂之用。本研究通过化学方法提取了绿茶中的茶多酚, 并测定了绿茶水提取物及提取的茶多酚的羟自由基清除能力, 利用 Fenton 体系产生的羟自由基通过考查,

分析羟自由基对 2-脱氧核糖分子的氧化、破坏情况, 确定样品提取物的存在是否对羟自由基具有清除作用, 保护 2-脱氧核糖分子不被氧化、破坏。整个评价过程可以用下面反应式表示为 [2, 4]:



提取的茶多酚溶液的羟自由基清除能力如图 1 所示:

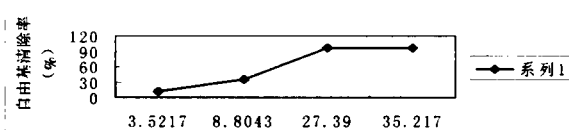


图 1 羟自由基清除能力

从上图可以看出: 茶多酚溶液对 Fenton 体系产生的羟自由基具有很强的清除能力, 并且随着茶多酚浓度升高其对羟自由基的清除作用加强, 但是当茶多酚浓度分别为 27.3910 mg/ml 和 35.2710 mg/ml 时, 其对羟自由基的清除作用几乎没有变化, 即存在一个浓度增加而羟自由基的清除作用几乎没有变化浓度区间。

本研究测定了绿茶粗提取物(绿茶:水=1:10, 茶多酚浓度为 27.3910 mg/ml) 对羟自由基的清除能力, 并且测定了 V_c 溶液(浓度为 27.3910 mg/ml) 以及提纯的茶多酚溶液(浓度为 27.3910 mg/ml) 对羟自由基的清除能力, 结果证实: 茶多酚溶液对羟自由基的清除能力最强, 在浓度为 27.3910 mg/ml 时对羟自由基的清除能力为 96.5%, V_c 溶液在浓度为 27.3910 mg/ml 时对羟自由基的清除能力为 90.6%, 茶多酚溶液清除羟自由基活性大于 V_c 溶液, 同时茶多酚溶液与绿茶粗提取物相比(两者茶多酚浓度均为 27.3910 mg/ml), 前者羟自由基清除能力大于后者, 这说明在绿茶中茶多酚为羟自由基清除能力的有效成分, 同时绿茶粗提取物中可能有一些其它成分对羟自由基清除能力有影响, 但使羟自由基清除能力减小的程度不大。

(下转第 17 页)

两种膳食纤维在不同浓度时的粘度见图1, 其中 FIBREX 值高于 Bfibre, 但是与水溶性树脂相比较, 二者粘度都低于可溶性树脂, 这可能是由于这两种膳食纤维的水溶性膳食纤维含量低的缘故。

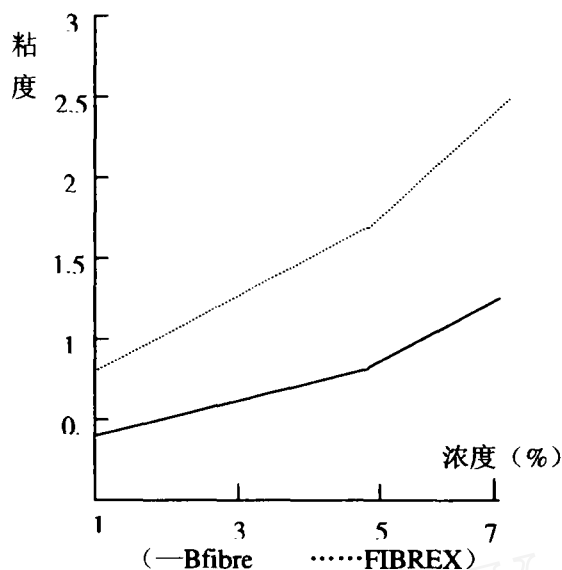


图1 两种纤维不同浓度时的粘度

4 结论

(上接第 19 页)

参 考 文 献

- 1 Chung S. K. et al. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effect of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci. Biotech. Biochem.* ,61(1):118~123
- 2 Ye G. C. et al 1997. Antioxidant and pro-oxidant effect of various tea extracts *J. Agri. Food Chem.* ,45(1):30~34
- 4 Wang H. et al . 1996. Total antioxidant capacity of

米糠是蛋白质、矿物质、不饱和脂肪酸等的良好来源, 脱脂米糠是一种很好的膳食纤维源, 与 FIBREX 相比, 它具有很好的结合脂肪能力和乳化能力, 特别是在焙烤食品中具有良好的发展潜力, 将会有很广阔的应用前景。

参 考 文 献

- 1 Prosky L, Asp N, Furda, Ietal Determination of total dietary fibre in foods, food products, and total diets: interlaboratory study. *J. Assoc off Anal Chem*, 1988, 68(1): 399.
- 2 商业部谷化所译.美国谷物化学家协会审方法(第八版),1987
- 3 郑建仙, 粮食与饲料工业, 1996, (9): 34~37
- 4 Goering, H. K. *Fibre Analysis, Agric, Handbook 379*, VSDA, Washington, D. C., 1970
- 5 Saeman, J. L. Humbert, E. S. & Soswlski, F. W. Certain function properties of sunflower membrane products. *J. Food Sci*, 1974(39): 368~370
- 6 Yasuzmasu, K., Sawaela, K., Moritaka, S. N. Fisaki, M. Tode, J. wada, T., & Ishi, K. Whipping and emulsifying properties of soybean products. *Agric Biol chem*, 1972(36): 719~737.
- 7 Frost, I., Humbert, E. S., & Clicksman, M. Objective Characterization of hydrocolloid organoleptic properties *Food Tech*, 1984(38): 118~12

fruits. *J. Agri. Food Chem*, 44(3):701~705

- 5 Gutleridge. 1984. Reactivity of hydroxyl and hydro1-like radical discriminated by release of thiobarbituric acid-reactive material from deoxy-nucleosides and benzoate. *Biochem.J.* 224(3):761~776
- 6 Zhao Xinhuai . 1999. Some factor that affect the free radical-scavenging activity of tea extracts. *Journal of Northeast Agricultural University.* 1
- 7 葛宜掌. 茶多酚提取新方法. *中草药*, 1994, (3) :124~125.