第 38 卷 第 1 期　　华 中 农 业 大 学 学 报　　Vol.38 No.1
2019 年 1 月　　Journal of Huazhong Agricultural University　　Jan. 2019,103～111

恩施富硒茶硒和茶多酚的溶出特征及抗氧化活性研究

郑宏彬　张婉君　穆　青　谢笔钧　孙智达

华中农业大学食品科学技术学院,武汉 430070

摘要　以硒溶出量为指标,采用单因素和正交试验优化恩施富硒茶的冲泡工艺,并考察水质和冲泡次数对恩施富硒茶硒和茶多酚的溶出特征以及抗氧化活性的影响。结果表明:恩施富硒茶的最优冲泡条件为茶水比 2∶50 (m/V,g/mL)、冲泡温度 100 ℃、冲泡时间 6 min、茶叶粒径 150 μm;在最优冲泡条件下,硒的溶出量为 385.57 ng/g,且一道茶汤中硒的浸出率约为 12%,分别是二道茶汤和三道茶汤的 3 倍和 6～7 倍。自来水冲泡的茶汤硒溶出量要高于超纯水冲泡的茶汤,每道茶汤中四价硒所占比例为 70%～90%,且溶出的硒大部分存在于茶叶溶出的小分子部分。茶多酚的溶出规律与硒相似,一道茶汤中茶多酚的溶出量达到 60 mg/g,分别是二道茶汤和三道茶汤的 2 倍和 3 倍。抗氧化实验表明,富硒茶茶汤具有良好的抗氧化活性,且超纯水冲泡的茶汤抗氧化性要优于自来水;随着冲泡次数增加,茶汤的抗氧化活性也随之降低,冲泡 3 次即可达到对活性成分的较大利用。

关键词　富硒茶;茶汤;硒;茶多酚;抗氧化活性

中图分类号　TS 201.2　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1000-2421(2019)01-0103-09

茶作为世界三大饮料之一,被誉为“药食同源”的国饮[1]。茶树作为一种富硒能力很强的植物,能将吸收的无机硒转化为有机硒并储存在茶叶等器官中。全国供销合作总社发布的富硒茶标准为硒含量 0.2～4.0 mg/kg[2],因此,饮用富硒茶是一种理想的补硒途径。近年来,人们对硒和富硒茶的研究越来越广泛,涉及硒的含量[3]、赋存形态[4-5]、浸出率[6]及生物活性[7-10]等方面。Yu 等[11]通过对比普通绿茶和富硒绿茶的抗氧化活性,发现富硒绿茶的抗氧化活性要远高于普通绿茶。Hu 等[12]研究发现富硒茶中硒的浓度与抑制肿瘤的作用呈显著正相关。杜琪珍等[13]采用 Se^{75} 同位素示踪技术分析出硒在茶叶中主要以有机硒(约占 80%)和无机硒(约占 8%)2 种形态存在。钟颜麟等[14]采用 DNA 荧光法对茶叶中硒的价态进行分析,得出茶叶中 Se^{4+}、Se^{2-} 分别占总硒的 3.89%～14.17%和 87.13%～96.11%。焦自明等[5]研究表明,蛋白硒、多糖硒、茶多酚硒分别占茶叶总硒的 60.12%、18.06%和 0.89%,蛋白质组分中又以碱溶性蛋白含硒量最高,为 23.81%。黎梅雨等[15]、赵宁等[16]对影响硒溶出量的因素进行了研究,但都不系统,结论也存在较大差异。本研究对富硒茶冲泡过程中影响硒溶出量的多个因素进行系统分析,优化富硒茶的冲泡条件,并研究不同水质及冲泡次数对恩施富硒茶硒的溶出量、赋存价态、形态分布以及茶多酚的溶出情况和抗氧化活性等的影响,旨在为科学饮茶补硒提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

恩施富硒茶由湖北恩施花枝山生态农业股份有限公司提供。高氯酸(优级纯)、硝酸(优级纯)、硼氢化钠(分析纯)、氢氧化钠、铁氰化钾,国药集团化学试剂有限公司;盐酸(优级纯),中国平煤神马集团开封东大化工有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS),美国 Sigma 公司;硒标准溶液(100 μg/mL),中国计量科学研究院。自来水(pH 7.60,导电率 281 μS/cm)为武汉市供水系统提供的城市

收稿日期:2017-12-25
基金项目:湖北省特色农产品深加工关键技术装备与产业化示范(2016-620-000-001-044)
郑宏彬,硕士研究生. 研究方向:天然产物化学. E-mail:zhenghb131@163.com
通信作者:孙智达,博士,教授. 研究方向:天然产物化学和食品安全. E-mail:sunzhida@mail.hzau.edu.cn

自来水；超纯水（pH 7.09，导电率 0.71 μS/cm）由实验室超纯水仪制备。

1.2 仪器与设备

AFS-9700 原子荧光光度计，北京海光仪器有限公司；EH35A 电热板，LabTech 有限公司；KX-100 粉碎机，浙江武义鼎藏日用金属制品厂；EL-104 电子天平，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；DF-101S 恒温加热磁力搅拌器，武汉科尔仪器设备有限公司；5840R 冷冻离心机，德国 Eppdorf 公司；RE-3000 旋转蒸发器，上海亚荣生化仪器厂；Direct-u8 超纯水仪，贝徕美生物科技有限公司；FE-20 实验室 pH 计，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；NH310 电脑色差仪，深圳市三恩时科技有限公司；UV-2100 紫外可见分光光度计，尤尼柯（上海）仪器有限公司。

1.3 样品制备

1）茶叶样的准备。将恩施富硒茶粉碎并过筛，混匀后装入密封塑料袋，编号备用。

2）茶汤样的制备。准确称取适量茶叶于干燥锥形瓶中，加入实验用水 50 mL（提前在冲泡温度下预热 10 min，使水温达到冲泡温度），封口，放入对应温度的水浴锅中恒温冲泡一段时间，取出，冷水浴 5 min冷却至室温，将冷却后的茶汤于 6 000 r/min 离心 5 min，上清液用脱脂棉过滤并定容至 50 mL，储备待用。

1.4 硒的测定

1）样品的消化。参照 GB/T 21729—2008 茶叶中硒含量的检测方法[17]，称取 0.4 g 茶叶或吸取 5 mL茶汤于 100 mL 烧杯中进行消化，消化完后，将消化液转移至 10 mL 比色管，加 100 g/L 的铁氰化钾 1 mL，浓盐酸 2 mL，用超纯水定容混匀，放置 6 h 后用原子荧光光度计测定荧光强度，同时做样品空白对照。

2）硒标准曲线的绘制。采用荧光光度法绘制硒标准曲线[17]，将 100 μg/mL 的硒标准溶液稀释 1 000倍，得 100 μg/L 的应用液，分别取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 应用液于 10 mL 比色管，加 100 g/L的铁氰化钾 1 mL，浓盐酸 2 mL，用超纯水定容混匀，得质量浓度为 0、2、4、6、8、10 μg/L 的硒标准溶液，放置 6 h 后测定，并绘制硒标准浓度-荧光强度标准曲线。

3）茶叶或茶渣含硒量的计算。

$$含硒量=\frac{c\times V}{m\times 1000} \tag{1}$$

式（1）中：c 为消化液中硒质量浓度，μg/L；V 为消化液总体积，mL；m 为茶叶或茶渣质量，g。

4）硒溶出量的计算。

$$硒溶出量=\frac{c\times V\times V_t}{V_0\times m} \tag{2}$$

式（2）中：c 为消化液中硒质量浓度，μg/L；V 为消化液总体积，mL；V_t 为茶汤总体积，mL；V_0 为消化时所取茶汤的体积，mL；m 为冲泡茶汤所用茶叶质量，g。

1.5 恩施富硒茶的冲泡工艺优化

分别考察茶水比、冲泡温度、冲泡时间和茶叶粒径对恩施富硒茶冲泡过程中硒溶出量的影响。按照本文“1.3 样品制备”方法制备茶汤，并参照本文“1.4 硒的测定”方法测定茶汤含硒量和计算每克茶叶的硒溶出量。

1）茶水比。按照 0.5∶50、1∶50、2∶50、3∶50、4∶50、5∶50、6∶50（m/V，g/mL）的茶水比，准确称取一定量的茶样于锥形瓶中，加 100 ℃超纯水 50 mL，并在 100 ℃下冲泡 10 min。

2）冲泡温度。准确称取 3.0 g 茶样于锥形瓶中，分别加 60、70、80、90、100 ℃超纯水 50 mL，并在对应温度下冲泡 10 min。

3）冲泡时间。准确称取 3.0 g 茶样于锥形瓶中，加 100 ℃超纯水 50 mL，并分别在 100 ℃下冲泡 0、2、4、6、8、10、12 min。

4）茶叶粒径。准确称取 3.0 g 粒径分别为 150、180、250、380、830 μm 的粉碎茶样和 3.0 g 原茶于锥形瓶中，加 100 ℃超纯水 50 mL，并在 100 ℃下冲泡 6 min。

5）正交试验。在单因素实验基础上，采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行正交试验设计，确定恩施富硒茶的最优冲泡条件，正交试验的因素水平由单因素实验较佳水平带入，试验因素及水平见表 1。

1.6 茶汤的基本性质

在最优冲泡工艺基础上，分别用自来水和超纯水作为实验用水冲泡恩施富硒茶，每份茶叶冲泡 3 次，考察不同水质及冲泡次数对茶汤的基本性质、硒的溶出特征及抗氧化活性的影响。茶汤的 pH 采用实验室 pH 计测定，茶汤的色泽采用色差仪测定，茶汤的多酚含量参照 GB/T 8313—2008 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法，采用福林酚试剂法测定。

表 1　正交试验因素水平表

Table 1　Factors and levels of orthogonal array design

水平 Levels	A 茶水比/(g/mL) Ratio of tea and water	B 冲泡温度/℃ Brewing temperature	C 冲泡时间/min Brewing time	D 茶叶粒径/μm Tea particle size
1	2∶50	80	4	250
2	3∶50	90	6	180
3	4∶50	100	8	150

1.7　茶汤硒的溶出特征

1)茶汤中硒赋存价态的测定。参照王梅等[18]的方法对每道茶汤中硒的赋存价态进行测定。样品经混合酸加热消化，不加 6 mol/L 的盐酸还原，直接转移至 10 mL 比色管，加入铁氰化钾和浓盐酸，所测得的硒即为四价硒。将总硒减去四价硒即为六价硒。

2)茶汤中硒形态分布的测定。为了探究硒与茶汤中其他成分的结合情况，将茶汤中的多糖与蛋白质等大分子采用醇沉的方法与小分子物质分离，并对两部分的含硒情况及价态进行分析。茶汤中大分子和小分子物质的分离参照张卫红等[19]的方法并稍作修改，取 50 mL 茶汤在 50 ℃下真空浓缩至 10 mL左右，加入 3 倍体积 95%的乙醇，静置 6 h，沉淀多糖等大分子物质，于 4 500 r/min 离心 5 min，沉淀再次水溶、醇沉、离心，合并 2 次上清液并定容至 100 mL，得含小分子物质的醇溶液，将沉淀水溶并定容至 50 mL，得含大分子物质的水溶液。

1.8　抗氧化活性测定

在测定茶汤抗氧化活性的同时，测定不同浓度 Vc 溶液的抗氧化能力并绘制标准曲线，将茶汤的抗氧化活性以同等抗氧化能力的 Vc 当量表示(mg/mL)。DPPH 自由基清除能力参照 Xu 等[20]的方法测定，ABTS 自由基清除能力参照 Zeng 等[21]的方法测定，还原能力参照 Li 等[22]的方法测定，总抗氧化能力按照试剂盒说明书上的方法测定。

1.9　茶渣含硒情况测定

将冲泡 3 次后的茶渣冷冻干燥，准确称取干燥后的茶渣 0.4 g，分别按照本文“1.4 硒的测定”和本文“1.7 茶汤硒的溶出特征”中方法对硒的含量及价态进行测定。

1.10　超声辅助萃取与传统冲泡的对比

准确称取 2.0 g 茶叶于干燥锥形瓶中，加入沸水 50 mL，在 100 ℃下冲泡 6 min，取出，冷水浴 5 min冷却至室温，然后冰水浴控温，分别在 150、300 W 超声萃取 10、30、60 min，考察不同的超声条件对茶汤的性质及硒的溶出情况的影响。

1.11　数据处理

每个实验重复 3 次，结果用平均值±标准偏差表示。利用 SPSS 19.0 软件对结果进行统计学分析，采用 t 检验分析 2 组独立样本平均值的差异性，采用 LSD 方差分析检验单因素多个独立样本平均值的差异性。

2　结果与分析

2.1　茶叶含硒情况

经测定，实验用恩施富硒茶的总硒含量为 3.35 mg/kg，达到了富硒茶 0.2～4.0 mg/kg 的含硒标准[2]，其中 Se^{4+} 含量为 2.89 mg/kg，占比 86.27%，Se^{6+} 含量只有 0.46 mg/kg，由此可知，恩施富硒茶中的硒主要以 Se^{4+} 存在。

2.2　恩施富硒茶的冲泡工艺优化

1)茶水比对硒溶出量的影响。由图 1A 可知，随着茶叶量的增加，硒溶出量先迅速增加后趋于平缓，当茶水比为 3∶50 时，溶出量达到最大值 298.50 ng/g，之后再增大茶叶量，硒溶出量无显著性提高($P>0.05$)。虽然茶叶量较高时，硒也能较好溶出，但茶汤太浓，不符合饮茶习惯。因此，选择 3∶50 为较优的茶水比，选择 2∶50、3∶50、4∶50 作为正交试验中茶水比的 3 个水平。

2)冲泡温度对硒溶出量的影响。由图 1B 可知，在 60～100 ℃范围内，随着冲泡温度的增加，硒的溶出量逐渐增加。高温虽然会对茶汤中的一些营养物质造成破坏，但单从补硒考虑，100 ℃为较优的冲泡温度。因此，选择 80、90、100 ℃作为正交试验中冲泡温度的 3 个水平。

3)冲泡时间对硒溶出量的影响。由图 1C 可知，随着冲泡时间的延长，硒的溶出量也随之增加，当冲泡时间达到 6 min 后，硒的溶出量趋于稳定。6～12 min 硒溶出量虽略有增加，但并无显著性差异($P>0.05$)。因此，选择 6 min 为较优的冲泡时间，选择 4、6、8 min 作为正交试验中冲泡时间的 3 个水平。

4)茶叶粒径对硒溶出量的影响。直接原茶冲

泡，硒的溶出量只有100.67 ng/g，将茶叶粉碎后再冲泡，硒的溶出量明显增加，这可能与茶叶粉碎后增大了茶水接触面积有关。由图1D可知，茶叶粒径越大，硒的溶出量越低，其中，在180～830 μm范围内，硒的溶出量显著降低（$P<0.05$），在150～180 μm之间，溶出量虽也略有降低，但并不显著。而且茶叶颗粒太细，不仅会增加粉碎成本，也不便于茶汤与茶渣的分离。因此，选择180 μm为较优的茶叶粒径，选择150、180、250 μm作为正交试验中茶叶粒径的3个水平。

5）正交试验结果。由表2极差分析可知，各因素对恩施富硒茶中硒溶出量影响的主次关系为：A（茶水比）＞D（茶叶粒径）＞B（冲泡温度）＞C（冲泡时间）。由表3方差分析可知，茶水比对硒溶出量影响极显著（$P<0.01$），茶叶粒径对硒溶出量影响显著（$P<0.05$），冲泡温度对硒溶出量有一定影响，而冲泡时间的影响则相对较小。综合表2和表3，确定恩施富硒茶的最佳冲泡工艺为$A_1B_3C_2D_3$，即茶水比2∶50、冲泡温度100 ℃、冲泡时间6 min、茶叶粒径150 μm。以最佳冲泡工艺进行3次平行实验，得出恩施富硒茶的硒溶出量为（385.57±5.32）ng/g，优于正交试验中其他组合。

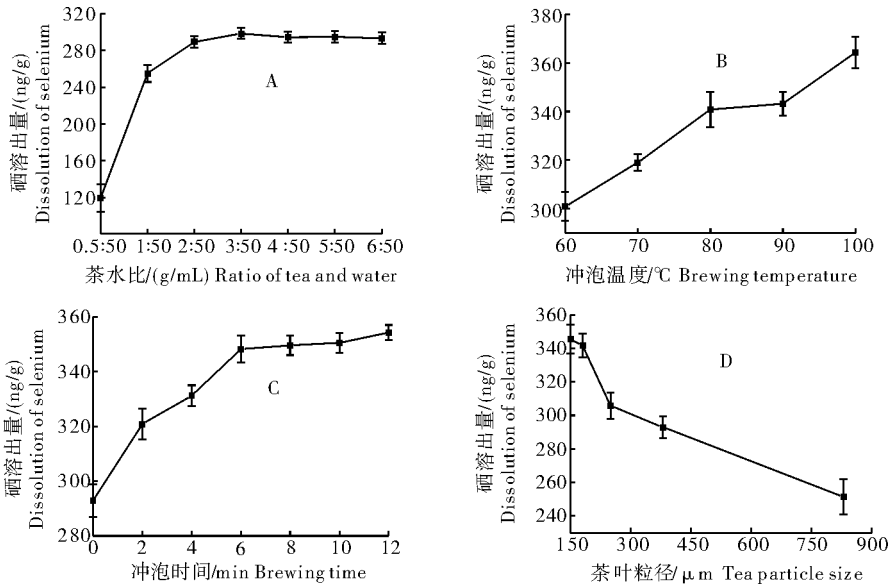

图1 茶水比（A）、冲泡温度（B）、冲泡时间（C）、茶叶粒径（D）对硒溶出量的影响

Fig.1 Effects of tea-to-water ratio(A), brewing temperature(B), brewing time(C), tea particle size(D) on the dissolution of selenium

表2 $L_9(3^4)$正交试验设计及结果

Table 2 $L_9(3^4)$ orthogonal array design and result

试验编号 Test number	A	B	C	D	硒溶出量/(ng/g) Dissolution of selenium
1	1	1	1	1	333.26±7.11
2	1	2	2	2	370.06±1.91
3	1	3	3	3	379.61±9.13
4	2	1	2	3	335.99±5.75
5	2	2	3	1	317.12±5.38
6	2	3	1	2	344.24±8.87
7	3	1	3	2	297.64±6.20
8	3	2	1	3	309.06±5.20
9	3	3	2	1	292.54±2.32
$k1$	360.98	322.30	328.85	314.31	
$k2$	332.45	332.08	332.86	337.31	
$k3$	299.75	338.80	331.46	341.55	
R	61.23	16.50	4.01	27.25	

表 3　正交试验的方差分析

Table 3　Variance analysis for the orthogonal array design

因素 Factors	偏差平方和 Anova SS	自由度 DF	F	显著性 Significance
茶水比 Ratio of tea and water	5 632.392	2	226.783	**
冲泡温度 Brewing temperature	413.077	2	16.632	
冲泡时间 Brewing time	24.836	2	1.000	
茶叶粒径 Tea particle size	1 289.665	2	51.927	*
误差 Error	24.84	2		

注：** 差异极显著($P<0.01$)，* 差异显著($P<0.05$)。$F_{0.01}(2,2)=99$，$F_{0.05}(2,2)=19$。Note: ** extremely significant difference ($P<0.01$), * significant difference($P<0.05$)。

2.3　茶汤的基本性质

由表 4 可知，实验用的自来水、超纯水 pH 值分别为 7.60、7.09，均偏弱碱性，但冲泡后的茶汤 pH 值在 5.82～6.58 之间，均偏弱酸性，说明溶出到茶汤中的物质酸性成分所占比例更大；自来水冲泡的茶汤 pH 降低幅度大于超纯水冲泡的茶汤，说明自来水冲泡的茶汤中含有更多的酸性基团。用不同水质冲泡的茶汤，颜色存在一定的差异，自来水冲泡的茶汤更偏红、偏黄，可能是因为自来水中含有的金属离子及余氯使茶汤中的多酚类物质发生氧化而影响了汤色[23]。在饮茶补硒的同时，还需兼顾考虑茶汤中茶多酚的含量。由表4可知，虽然是以硒的溶出量为指标得出的最优冲泡工艺，但茶多酚也能较好地溶出，一道茶汤达到了 60 mg/g。茶多酚的溶出规律与硒相似，且随着冲泡次数的增加而减少。

表 4　茶汤的基本性质

Table 4　The basic properties of tea soup

水质 Water types	冲泡次数 Brewing times	pH	L	a	b	茶多酚溶出量/(mg/g) Dissolution of tea polyphenols
自来水 Tap water	一道茶汤 First brewing tea soup	6.04±0.01**	24.17±0.12**	2.84±0.02**	1.11±0.02**	60.04±0.99
	二道茶汤 Second brewing tea soup	6.38±0.04*	23.79±0.29	2.51±0.02*	0.56±0.04*	32.68±0.32
	三道茶汤 Third brewing tea soup	6.58±0.01**	23.46±0.11*	2.62±0.11*	0.54±0.03	21.65±0.13*
超纯水 Ultrapure water	一道茶汤 First brewing tea soup	5.82±0.01	23.54±0.19	2.66±0.03	0.60±0.01	59.46±0.85
	二道茶汤 Second brewing tea soup	5.96±0.01	23.83±0.02	2.28±0.06	0.51±0.04	36.74±0.44**
	三道茶汤 Third brewing tea soup	6.01±0.01	23.07±0.23	2.29±0.05	0.33±0.03	19.51±0.27

2.4　茶汤中硒的溶出情况及赋存价态

由表 5 可知，随着冲泡次数的增加，硒的溶出量和浸出率逐渐降低，且降低比例大于茶多酚。自来水和超纯水冲泡的一道茶汤中硒溶出量分别为 401.42、385.57 ng/g，浸出率约为 12%；自来水和超纯水冲泡的二道茶汤中硒溶出量分别为 133.40、147.97 ng/g，浸出率约为 4%，是一道茶汤的 1/3；自来水和超纯水冲泡的三道茶汤中硒溶出量分别为 66.10、57.49 ng/g，浸出率不到 2%，只有一道茶汤的 1/6～1/7。因此，从补硒的角度，富硒茶冲泡 2～3 次已经足够。冲泡 3 次后，硒总的浸出率不到 18%，说明富硒茶中的硒绝大部分以不溶于水的形态存在。自来水冲泡的每道茶汤中四价硒所占比例依次为 87.50%、77.22%和 74.33%，超纯水冲泡的每道茶汤中四价硒所占比例依次为 83.31%、74.83%和 78.81%，由此可知，溶出到茶汤中的硒主要以四价形式存在，这与茶叶中硒的赋存价态一致。随着冲泡次数的增加，茶汤中四价硒和六价硒的溶出量也都随之迅速减少。自来水冲泡的茶汤总的硒溶出量要高于超纯水，这可能与自来水含有较多的矿物质，且 pH 略高，从而更有利于硒的溶出有关。但具体到每道茶汤又存在一定差异，自来水冲泡的一道茶汤和三道茶汤中硒溶出量和四价硒含量都高于超纯水，且差异显著，但在二道茶汤中，自来水冲泡的茶汤硒溶出量和四价硒含量却低于超纯水，具体原因需进一步研究。

2.5　茶汤中硒的形态分布

由表 6 可知，茶汤中的硒主要分布在茶叶溶出的小分子部分，占到了茶汤总硒的 88%以上。自来水冲泡的 3 次茶汤中，小分子部分总硒含量依次是大分子部分的 11.4、6.2、4.0 倍，四价硒含量依次是大分子部分的 18.7、7.5、5.1 倍。超纯水冲泡的 3 次茶汤中，小分子部分总硒含量依次是大分子部分的

12.3、5.4、3.9倍，四价硒含量依次是大分子部分的20.4、6.0、5.1倍。由此可知，随着冲泡次数的增加，小分子部分与大分子部分总硒及四价硒含量的比值在减小。其原因可能是小分子物质的析出速度更快，故随着冲泡次数的增加，茶渣中小分子物质的相对比例在降低，因此，随着小分子物质一起溶出的硒的相对比例也在降低。此外，小分子部分与大分子部分四价硒含量的比值明显高于总硒含量的比值。无论是小分子部分还是大分子部分，水质对总硒和四价硒含量的影响与茶汤一致，即在一道和三道中，自来水高于超纯水，在二道中，超纯水高于自来水。

表5 茶汤中硒的溶出情况及价态

Table 5 The dissolution and valence state of selenium in tea soup

水质 Water types	冲泡次数 Brewing times	硒溶出量/(ng/g) Dissolution of selenium	硒浸出率/% Leaching rate of selenium	Se^{4+}含量/(ng/g) Content of Se^{4+}	Se^{6+}含量/(ng/g) Content of Se^{6+}
自来水 Tap water	一道茶汤 First brewing tea soup	401.42±4.85*	11.99	351.23±5.43**	50.19
	二道茶汤 Second brewing tea soup	133.40±4.02	3.98	103.02±2.20	30.38
	三道茶汤 Third brewing tea soup	66.10±0.63**	1.97	49.13±0.79*	16.97
	合计 Total	600.92	17.94	503.38	97.54
超纯水 Ultrapure water	一道茶汤 First brewing tea soup	385.57±5.32	11.51	321.24±5.03	64.33
	二道茶汤 Second brewing tea soup	147.97±2.68**	4.42	110.73±2.65*	37.24
	三道茶汤 Third brewing tea soup	57.49±0.64	1.72	45.31±0.41	12.18
	合计 Total	591.03	17.65	477.28	113.75

表6 茶汤中硒的形态分布

Table 6 The speciation distribution of selenium in tea soup ng/g

水质 Water types	冲泡次数 Brewing times	小分子部分含硒情况 Selenium content in small molecules		大分子部分含硒情况 Selenium content in macromolecule	
		总硒含量 Content of total selenium	Se^{4+}含量 Content of Se^{4+}	总硒含量 Content of total selenium	Se^{4+}含量 Content of Se^{4+}
自来水 Tap water	一道茶汤 First brewing tea soup	367.62±1.11**	325.92±2.89*	32.19±1.77*	17.44±0.76
	二道茶汤 Second brewing tea soup	112.53±1.11	88.75±0.75	18.07±0.18	11.82±0.23
	三道茶汤 Third brewing tea soup	62.46±0.36*	45.50±0.21**	15.68±1.02	8.95±1.16
超纯水 Ultrapure water	一道茶汤 First brewing tea soup	350.14±0.55	305.51±2.68	28.58±0.80	14.97±0.11
	二道茶汤 Second brewing tea soup	116.31±0.01	91.92±0.82*	21.66±0.31**	15.40±0.17*
	三道茶汤 Third brewing tea soup	56.74±0.77	37.82±0.44	14.60±0.20	7.39±0.38

2.6 茶汤的抗氧化活性

由表7可知，超纯水冲泡茶汤的4种抗氧化活性指标均要优于自来水所冲泡茶汤。原因可能是不同冲泡用水的pH差异影响了茶多酚类物质的浸出效率。另外，pH值越低越有利于H^+的还原作用和电子转移，也可能是超纯水冲泡茶汤的抗氧化活性更优的原因，但还有待于进一步实验确证。随着冲泡次数的增加，茶汤的抗氧化活性也随之降低，一道茶汤抗氧化活性是二道茶汤的1.02～1.64倍，三道茶汤的1.91～3.41倍，由此可见，饮用富硒茶

表7 茶汤的抗氧化活性

Table 7 Antioxidant activity of tea soup mg/mL

水质 Water types	冲泡次数 Brewing times	DPPH自由基清除 DPPH radical scavenging	ABTS自由基清除 ABTS radical scavenging	还原能力 Reducing power	总抗氧化能力 Total antioxidant capacity
自来水 Tap water	一道茶汤 First brewing tea soup	4.94±0.02	5.63±0.10	3.65±0.12	2.32±0.05
	二道茶汤 Second brewing tea soup	3.56±0.05	3.51±0.04	2.26±0.04	2.28±0.07
	三道茶汤 Third brewing tea soup	2.58±0.03	2.50±0.02	1.30±0.02	0.68±0.03
超纯水 Ultrapure water	一道茶汤 First brewing tea soup	5.05±0.09	6.40±0.18**	4.10±0.11**	3.48±0.10**
	二道茶汤 Second brewing tea soup	4.02±0.05**	3.90±0.20*	2.67±0.03**	2.51±0.12*
	三道茶汤 Third brewing tea soup	2.62±0.03	2.55±0.02	1.47±0.02**	1.16±0.06**

对健康是有益的，且冲泡 3 次即可使主要活性成分得到充分利用。

2.7　茶渣的含硒情况

由表 8 可知，冲泡过 3 次的茶叶，硒溶出量并不高，仍有 74%以上的硒残存在茶渣中，故从硒的利用率考虑，茶渣还有很大的利用空间，可用于制备富硒茶蛋白或其他产品。从赋存价态看，茶渣中 90%以上的硒以四价硒形式存在，略高于茶叶中 86.27%的比例，说明溶出的四价硒比例要相对低于茶叶所含四价硒的比例，这与茶汤中得到的结果相印证。

2.8　超声辅助萃取与传统冲泡的对比

由表 9 可知，超声辅助萃取能显著提高茶汤中硒的浸出率，且功率越高，超声时间越长，硒的浸出率越高，最高达到了 19.49%，接近传统冲泡的 2 倍。但功率和时间增加到一定的程度后，硒的溶出量增加缓慢，差异也不再显著，考虑到能源消耗等因素，以 300 W 的功率超声 30 min 为宜。超声辅助萃取还能显著提高茶汤中茶多酚的溶出量和茶汤的抗氧化活性，但提高程度并没有硒的溶出量明显，且与超声功率和时间不成正相关，只有合适的超声功率和时间才能让茶多酚的溶出量与茶汤的抗氧化活性达到最优，超声时间过长反而会对茶多酚造成破坏，降低了茶多酚溶出量和茶汤抗氧化活性，这可能是由于超声增加了茶汤中的溶解氧从而使茶多酚氧化所导致的。由此可见，在制作茶饮料时，适当超声辅助处理是提高硒和活性物质茶多酚溶出量的一种理想方法，但要探究适宜的超声条件。

表 8　茶渣含硒情况

Table 8　Selenium content in tea residue

水质 Water types	茶渣质量/g Mass of tea residue	硒含量/(mg/kg) Content of selenium	硒残存率/% Residual rate of selenium	Se^{4+} 含量/(mg/kg) Content of Se^{4+}	Se^{6+} 含量/(mg/kg) Content of Se^{6+}
自来水 Tap water	1.18±0.02	4.45±0.05*	78.37	4.03±0.04**	0.42
超纯水 Ultrapure water	1.16±0.01	4.32±0.02	74.83	3.89±0.04	0.43

表 9　超声辅助萃取与传统冲泡的对比分析

Table 9　Comparative analysis of ultrasonic-assisted extraction and brewing

方法 Methods		硒溶出量/(ng/g) Dissolution of selenium	硒浸出率/% Leaching rate of selenium	茶多酚溶出量/(mg/g) Dissolution of tea polyphenols	DPPH 自由基清除/(mg/mL) DPPH radical scavenging	总抗氧化能力/(mg/mL) Total antioxidant capacity
传统冲泡 Brewing		379.61±3.15f	11.33	61.53±1.44d	5.15±0.04c	3.56±0.04c
超声 Ultrasonic	150 W，10 min	420.07±9.52e	12.54	70.80±0.64b	5.48±0.01ab	3.92±0.06b
	150 W，30 min	468.07±6.97d	13.97	72.93±0.39a	5.51±0.10ab	4.13±0.08a
	150 W，60 min	585.08±6.77b	17.47	68.76±0.53c	5.42±0.14b	4.03±0.15ab
	300 W，10 min	561.28±14.20c	16.75	74.29±0.72a	5.65±0.08a	4.18±0.01a
	300 W，30 min	642.20±8.93a	19.17	74.03±0.26a	5.65±0.02a	4.16±0.11a
	300 W，60 min	652.12±14.91a	19.49	69.57±1.26bc	5.57±0.02ab	4.10±0.01ab

注：同列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。Note：Different lowercase letters in the same column show significant differences ($P<0.05$).

3　讨　论

饮用富硒茶是一种理想的补硒方法。在饮茶补硒时，既要考虑茶叶的含硒情况，也要考虑如何才能更好地将茶叶中的硒溶出到茶汤中。正交试验表明，对于茶叶中硒溶出量的影响，茶水比极显著，茶叶粒径显著，冲泡温度有一定影响，冲泡时间影响相对较小；经过优化得到的最佳冲泡工艺为：茶水比 2∶50 (m/V，g/mL)、冲泡温度 100 ℃、冲泡时间 6 min、茶叶粒径 150 μm，在此条件下，恩施富硒茶的硒溶出量为 385.57 ng/g。虽然是以硒的溶出量为指标得出的最佳冲泡工艺，但同样可以摄取丰富的茶多酚，其中一道茶汤茶多酚溶出量在 60 mg/g 左右，3 次茶汤中总的茶多酚溶出量达到了 116 mg/g。整体而言，自来水更有利于硒的溶出，自来水冲泡的 3 次茶汤总的硒溶出量要高于超纯水，但

具体到每道茶汤又有所差异，自来水冲泡的一道和三道茶汤中硒溶出量要高于超纯水，二道茶汤中硒溶出量要低于超纯水。随着冲泡次数的增加，硒浸出率也随之减小，一道茶汤硒浸出率约为12%，二道茶汤只有一道茶汤的1/3，三道茶汤只有一道茶汤的1/6～1/7，3次冲泡总的硒浸出率约为18%。由价态分析可知，无论在茶叶、茶汤还是茶渣中，硒都主要以四价形式存在；不同水质冲泡的三次茶汤中，四价硒溶出趋势与总硒一致。由硒的形态分布测定结果可知，茶汤中的硒主要存在于小分子部分，少量存在于大分子部分。富硒茶茶汤具有一定的抗氧化活性，且超纯水冲泡的茶汤抗氧化活性要优于自来水冲泡的茶汤。随着冲泡次数的增加，茶汤的抗氧化活性也逐渐下降，一道茶汤的抗氧化活性是二道茶汤的1.02～1.64倍，三道茶汤的1.91～3.41倍。

优化冲泡工艺可在一定程度上提高硒的浸出率，但整体而言，仍然偏低，这主要是由于茶叶中的硒主要分布在茶蛋白中，而茶蛋白在冲泡过程中溶出量很低所导致的。超声辅助处理能显著提高茶叶中硒的溶出量，几乎可达传统冲泡的2倍，其原因可能是超声波产生的机械破碎、空化作用和热效应，增大了介质分子的运动速度和穿透力，促进了胞内含硒物质的释放、扩散和溶解[24]。但长时间、高功率超声也会在一定程度上对茶汤的茶多酚及抗氧化活性造成破坏，因此，我们通过饮茶补硒的同时，也可以通过超声辅助萃取等手段开发一些富硒茶饮料，提高富硒茶中硒的利用度，拓展补硒渠道，但在采用这些技术时，要对条件进行探究，尽量不破坏和降低茶汤中的原有成分及功能。中国营养学会发布的《中国居民膳食指南》中规定“成人的硒推荐摄入量为60 μg/d，可耐受最高摄入量为400 μg/d”。按照指南中每天饮用1 500～1 700 mL水的标准，若只饮用富硒茶（参照0.2～4.0 mg/kg的富硒标准），以每天饮用1 600 mL按照最优冲泡工艺所冲泡一道茶汤计，则每日通过饮用富硒茶可摄入的硒在1.54～30.72 μg之间。由此可知，饮用富硒茶能有效补硒，但并不能完全满足人体每天对硒的需求，还需通过其他途径加以补充。

参 考 文 献

[1] 吴双桃，朱慧.凤凰单丛古茶树叶片中硒含量及溶出特征[J].食品科学，2016，37(4)：127-131.

[2] 中华全国供销合作总社.富硒茶：GH/T 1092—2014[S].北京：中国标准出版社，2014.

[3] 梁春燕，唐颢，罗一帆.广东茶区茶叶含硒量初步调查分析[J].广东农业科学，2014，41(8)：43-46.

[4] 王珺.富硒茶中硒存在形态研究及其组分提取[D].西安：陕西科技大学，2015.

[5] 焦自明，杨建雄，张小飞，等.紫阳富硒茶中茶多糖、碱溶性茶蛋白结构形貌及硒赋存形态[J].陕西师范大学学报（自然科学版），2012，40(1)：72-76.

[6] 谢娟平.紫阳富硒茶中硒的赋存形态及浸出率研究[J].食品研究与开发，2016，37(9)：156-159.

[7] MOLAN A L，FLANAGAN J，WEI W，et al.Selenium-containing green tea has higher antioxidant and prebiotic activities than regular green tea[J].Food chemistry，2009，114(3)：829-835.

[8] 冯丽琴，杨芙莲，董文宾.富硒茶多糖的分离纯化及抗氧化性研究[J].陕西科技大学学报（自然科学版），2016，34(5)：133-136.

[9] 王瑞，陈波伟，杨晓萍，等.食物基质对模拟消化茶多酚含量及抗氧化活性的影响[J].华中农业大学学报，2017，36(6)：105-112.

[10] 刘淑媛，赵书青，倪德江，等.青砖茶不同超滤组分抑制α-淀粉酶和脂肪酶活性研究[J].华中农业大学学报，2017，36(6)：99-104.

[11] YU F，SHENG J C，XU J，et al.Antioxidant activities of crude tea polyphenols，polysaccharides and proteins of selenium-enriched tea and regular green tea[J].European food research technology，2007，225：843-848.

[12] HU Q H，PAN G X，ZHU J C.Effect of fertilization on selenium content of tea and the nutritional function of Se-enriched tea in rats[J].Plant and soil，2002，238：91-95.

[13] 杜琪珍，沈星荣，方兴汉.茶叶中的硒成分分析[J].茶叶科学，1991(2)：133-137.

[14] 钟颜麟，刘勤晋.茶硒赋存形态的研究[J].茶叶科学，1992(2)：94.

[15] 黎梅雨，张清安，魏雪.不同冲泡条件对紫阳富硒茶中硒溶出的影响[J].陕西农业科学，2014，60(11)：50-53.

[16] 赵宁，何梦飞，张清安.紫阳富硒茶冲泡过程中部分成分的溶出研究[J].农产品加工（学刊），2014(19)：45-48，51.

[17] 中国国家质量监督检验检疫总局.茶叶中硒含量的检测方法：GB/T 21729—2008[S].北京：中国标准出版社，2014.

[18] 王梅，张红香，邹志辉，等.原子荧光光谱法测定富硒螺旋藻片中不同形态、价态的硒[J].食品科学，2011，32(6)：179-182.

[19] 张卫红.复合酶解法提取茶叶中有效成分的过程研究[D].西安：西北大学，2005.

[20] XU B J，CHANG S K C.A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activity of legumes as affected by extraction solvents[J].Journal of food science，2007，72(2)：159-166.

[21] ZENG W C，ZHANG Z，GAO H，et al.Chemical composition，antioxidant，and antimicrobial activities of essential oil from pine needle(*Cedrus deodara*)[J].Journal of food science，2012，

77(7):24-29.

[22] LI X M,LI X L,ZHOU A G.Evaluation of antioxidant activity of the polysaccharides extracted from lycium barbarum fruits *in vitro*[J].European polymer journal,2007,43(2):488-497.

[23] 何靓.水质和冲泡方式对绿茶茶汤及其抗氧化性能的影响[D].杭州:浙江大学,2016.

[24] 郭维图.新技术装备助推中药工业现代化[J].机电信息,2014(2):1-11,27.

Dissolution characteristics and antioxidant activity of selenium and tea polyphenols in Enshi Se-enriched tea

ZHENG Hongbin　ZHANG Wanjun　MU Qing　XIE Bijun　SUN Zhida

College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, *China*

Abstract　The single factor and orthogonal experiments were performed to optimize the dissolution of selenium from Enshi Se-enriched tea. The effects of brewing times using tap water and ultrapure water on the antioxidant activity of the tea and the dissolution characteristics of selenium and polyphenols were studied. The results showed that the ratio of tea and water 2∶50 (m/V, g/mL), brewing temperature 100 ℃, brewing time 6 min, tea particle size 150 μm was the optimal brewing condition of Enshi Se-enriched tea. Under the optimal brewing condition, the dissolution rate of selenium was 385.57 ng/g. The selenium leaching rate of the first tea soup was about 12%, nearly 3 and 6-7 times higher than that of the second and third brewing tea soup, respectively. The general dissolution rate of selenium in tea soup using the tap water was higher than that in ultrapure water. The proportion of tetravalent selenium was 70% to 90% in each tea soup, and the selenium was mostly distributed in the small molecules of tea soluble substance. Similar trend on polyphenols was found with 60 mg/g of extraction rate in the first tea soup, 2 and 3 times higher than that in the second and third tea soup, respectively. Se-enriched tea soup had excellent antioxidant activity, and the antioxidant activity of tea soup brewed by ultrapure water was slightly higher than that of tap water. The antioxidant activity of tea soup decreased with the increase of the time of brewing. Brewing three times can achieve greater use of active ingredients.

Keywords　Se-enriched tea; tea soup; selenium; tea polyphenols; antioxidant activity

（责任编辑：陆文昌）