

分类号: TS255.2

单位代码: 10335

密 级: 无

学 号: 21613063

浙江大学

硕士学位论文



中文论文题目: 黄秋葵叶茶品质评价及其生物活性研究

英文论文题目: Quality evaluation and study of biological
activity of okra leaf tea

申请人姓名: 魏丹

指导教师: 苏平

专业名称: 食品工程

研究方向: 果蔬加工

所在学院: 生物系统工程与食品科学学院

论文提交日期 **2019 年 1 月 4 日**

分类号: TS255.2

单位代码: 10335

密 级: 无

学 号: 21613063

浙江大学

硕士学位论文



中文论文题目: 黄秋葵叶茶品质评价及其生物活性研究

英文论文题目: Quality evaluation and study of biological
activity of okra leaf tea

申请人姓名: 魏丹

指导教师: 苏平

专业名称: 食品工程

研究方向: 果蔬加工

所在学院: 生物系统工程与食品科学学院

论文提交日期 2019 年 1 月 4 日

黄秋葵叶茶品质评价及其生物活性研究



论文作者签名: 魏丹

指导教师签名: 郭军

论文评阅人 1: 隐名

评阅人 2: 隐名

评阅人 3: 隐名

答辩委员会主席: 孙培龙 教授 浙江工业大学

委员 1: 刘东红 教授 浙江大学

委员 2: 陈健初 教授 浙江大学

委员 3: 陈士国 副教授 浙江大学

委员 4: 郭鸣鸣 研究员 浙江大学

答辩日期: 2019 年 2 月 26 日

Quality evaluation and study of biological activity of okra leaf tea



Author's signature: Wei Dan

Supervisor's signature: Sun Pei

Thesis reviewer 1: Anonymous reviewer

Thesis reviewer 2: Anonymous reviewer

Thesis reviewer 3: Anonymous reviewer

Chairman: Sun Peilong, Professor, Zhejiang University of Technology
(Committee of oral defence)

Committeeman 1: Liu Donghong, Professor, Zhejiang University

Committeeman 2: Chen Jianchu, Professor, Zhejiang University

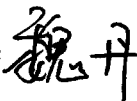
Committeeman 3: Chen Shiguo, Professor, Zhejiang University

Committeeman 4: Guo Mingming, Researcher, Zhejiang University

Date of oral defence: 2019.2.26

浙江大学研究生学位论文独创性声明

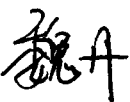
本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得 浙江大学 或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

学位论文作者签名： 签字日期：2019 年 03 月 08 日

学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解 浙江大学 有权保留并向国家有关部门或机构送交本论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。本人授权 浙江大学 可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索和传播，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

（保密的学位论文在解密后适用本授权书）

学位论文作者签名：

导师签名：

签字日期：2019 年 03 月 08 日

签字日期：2019 年 03 月 08 日

致 谢

我们总会感叹时光飞逝，岁月如梭，那是因为幸福的时光总是难忘而短暂，当我们一步步追寻远方的时候，却未曾想，一转身，即将说再见。此刻，我又将这两年半的时光细细地回想了一番，这其中交织的美好与辛酸教会了我成长与勇敢，我想对所有关心和帮助过我的人说声谢谢，感谢你们的关怀和指导，鼓励和支持，让我在迷茫时找到方向，让我能够更坚毅地面对未来。

首先我要特别感谢我的导师苏平老师，苏老师在我刚成为一名研究生的时候就曾对我说，不要看重结果，而是要将过程走完美，我一直将这句话铭记于心，并以此作为我学习和生活的指路明灯。本论文是在苏老师的悉心指导下完成的，从论文的选题、实验方案的设计直至该论文的最终完成，我取得的每一点成绩和进步都凝聚着老师的汗水和心血，感谢苏老师的支持让我能够顺利完成课题。苏老师不仅在科研中给予我帮助，在生活中也像家长一样关心我，让我倍感亲切与温暖。苏老师渊博的专业知识，严谨的治学态度，都令我敬佩不已，在此，向敬爱的苏老师表达我最衷心的感谢和祝福。

加入食品加工工程创新团队这个大家庭，让我觉得万分荣幸。感谢课题组的叶兴乾老师、刘东红老师、陈健初老师、胡亚芹老师、陈士国老师、丁甜老师、郭鸣鸣老师、程焕老师的帮助和指点，各位老师严谨治学的态度，执着科研的精神让我钦佩不已。感谢李梅老师、闫雪梅老师、余丹丹老师在实验方面的帮助和支持。在此，向各位敬爱的老师表达我最衷心的感谢和祝福。

感谢蒲云峰师兄在实验方面给予我的帮助和指点，每当我实验遇到困难的时候，蒲师兄的建议总能令我茅塞顿开，并且让我清楚地找到自己实验的方向，感谢蒲师兄一直以来的帮助和鼓励，让我的实验能够顺利地完成。他严谨的科研态度，扎实的理论基础和实验技能，都让我感到钦佩，在此，向蒲师兄表达我最衷心的感谢和祝福。

感谢孙昕、侯福荣、蒋晶、韦朝阳、严鲁峰、陈卫军、邹明明、陶文扬等师兄师姐在实验中给予我的帮助和鼓励，感谢梁文康、刘懿、陈虹吉、陈亦欣、彭建斌、林雨等师弟师妹的信任与陪伴，感谢同窗好友张婷婷、骆双灵、黄睿、沈淑妤、陈虹霖、尹培、楼乐燕、王梦婷、王雷、张华、廖新浴、姚洁玉、邵颖等以及食品专硕班每位同学的帮助和支持，正是有了你们才让我这两年半的时光多姿多彩，令人难忘。

感谢我最最亲爱，每天与我朝夕相伴的室友王微、江杨阳、沈妮，感谢缘分让我们相聚于 302，感谢这段时光里你们的陪伴与鼓励，信任与支持，是你们让我在喜悦时有人分享，悲伤时有人安慰，受挫时有人鼓励，我不会忘记每次熬夜归来时桌上的一杯热水和一盏明灯，以及一直蔓延到心间的温暖，感恩我们的相遇，感恩我们一起度过的每一天。遇到你们，真好！特别感谢我的家人和挚友一直以来的信任和鼓励，你们永远是我坚实的后盾！

最后，我要向百忙之中参与审阅、评议本论文的专家和答辩委员会的各位专家、教授表达最衷心的感谢！

魏丹

二零一八与二零一九之交于浙大紫金港

摘要

黄秋葵 (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) 原产于非洲, 其嫩果荚是主要食用部位, 营养丰富, 具有多种保健功能。黄秋葵叶也含有多种营养成分, 目前对于它的研究主要集中在成分分析、活性成分提取及抗氧化活性评价等方面, 对其深加工的研究相对较少, 虽有将黄秋葵叶加工成茶的报道, 但并没有从茶叶角度对其进行全面分析, 不利于黄秋葵叶资源的开发与利用。本文以黄秋葵鲜叶为原料, 按绿茶加工工艺将其加工成黄秋葵叶茶, 对其品质成分进行测定以分析其品质特征, 并对其冲泡条件进行优化, 同时研究常规静态和磁力搅拌两种提取方式下黄秋葵叶茶水提物的提取动力学, 并分析其不同温度水提物的抗氧化活性、清除亚硝酸盐能力、降血糖和降血压能力。主要研究内容和结果如下:

1、分析黄秋葵叶茶基本成分、滋味成分、色泽成分和香气成分, 结果表明其各成分含量基本满足国家标准, 总灰分含量因品种原因高于国家标准, 粗蛋白含量最高, 且具有较高的钾钠比; 滋味成分中含有多酚, 游离氨基酸, 咖啡碱等, 且酚氨比较低, 茶汤味淡而鲜爽, 多酚类化合物主要是以槲皮素和山奈酚为苷元的黄酮醇, 能够赋予茶汤丝滑口感, γ -氨基丁酸 (GABA) 和谷氨酸含量较高, 阈值较低, 两者滋味占主导; 色泽成分包括叶绿素和类胡萝卜素, 类胡萝卜素中叶黄素含量较高; 干茶中共鉴定出 28 种香气成分, 其中醛类化合物含量达到 47.53%, 二甲基硫醚、D-柠檬烯及 β -紫罗酮等都属于其特征香气物质。

2、利用感官评价和色差分析对冲泡条件进行初筛, 在此基础上以茶汤中多酚和 GABA 含量为指标, 利用单因素和正交试验对黄秋葵叶茶冲泡条件进行优化, 确定最佳冲泡条件为茶水比 1:70 (g/mL), 冲泡时间 7 min, 冲泡温度 95 °C; 在最佳冲泡条件下, 多酚和 GABA 含量分别为 14.58 mg/g 和 2.77 mg/g, 均高于正交试验各组, 茶汤中的可溶性总糖和游离氨基酸等滋味成分以及雪松醇、 β -紫罗酮和香叶基丙酮等特征香气成分, 使茶汤口感醇厚并具香甜花香。

3、采用常规静态和磁力搅拌两种方式提取黄秋葵叶茶中的生物活性成分, 结果表明磁力搅拌提取方式下水提物中生物活性成分的浓度高于常规静态提取, 且两种提取方式下, 各生物活性成分的浓度均随温度升高而增加, 且各生物活性成分的浓度在不同提取温度下, 随时间延长先快速增长后缓慢增长或趋于平缓, 仅多酚在磁力搅拌方式下提取 10 min 后下降; 利用伪二级和一级提取动力学方

程对黄秋葵叶茶中生物活性成分的水提过程进行拟合,建立提取动力学模型,通过比较动力学参数可知,磁力搅拌提取方式下各生物活性成分更易溶出,且提取速率和提取量均随温度升高而增加;选取两种提取条件对建立的模型进行验证,结果表明模型精度良好,具有一定预测能力。

4、分析黄秋葵叶茶水提物的抗氧化活性,清除亚硝酸盐,降血糖和降血压能力,结果表明其能够有效清除 DPPH 自由基 (DPPH $\cdot$)、羟基自由基 ($\cdot$ OH)、超氧阴离子 ($O_2^{\cdot-}$) 和亚硝酸盐,并且能够抑制血管紧张素转换酶 (ACE) 的活性,但抑制 α -葡萄糖苷酶的效果一般,且水提物生物活性随温度升高而增强;水提物中的多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 含量均随温度升高而增加,黄酮含量随温度升高而降低,但未达到显著性差异 ($p>0.05$);水提物除了对 $\cdot$ OH 的清除能力仅与多酚和多糖呈显著相关 ($p<0.05$) 外,对 DPPH $\cdot$ 、 $O_2^{\cdot-}$ 和亚硝酸盐的清除能力均与多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 呈极显著相关 ($p<0.01$),而对 α -葡萄糖苷酶的抑制与多糖呈极显著相关 ($p<0.01$),对 ACE 的抑制与游离氨基酸和 GABA 的相关性更高。

关键词: 黄秋葵叶茶; γ -氨基丁酸; 提取动力学; 水提物; 抗氧化; 降血压

Abstract

Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) is a native plant from Africa. Its tender pod is main edible part, which is nutritious and have various healthy functions. Okra leaf also contains a variety of nutrients. At present, the research about it mainly focused on the analysis of components, the extraction of bioactive components and the evaluation of antioxidant activity. While the study on its deep processing was relatively few. Although the tea made of okra leaf has been reported, it has not been comprehensively analyzed from the perspective of tea, which will influence the development and utilization of okra leaf resources. In this paper, the okra leaf tea was gotten from fresh okra leaves. The quality components of okra leaf tea were measured and analyzed, and its brewing conditions were optimized. At the same time, the extraction kinetics of aqueous extracts of okra leaf tea were studied, and the biological activity of aqueous extracts at different temperatures were analyzed. The main research contents and results were as follows:

1. The results indicated that the contents of each component basically met the national standards. The total ash was higher than the national standards for variety, the crude protein was the highest, and the ratio of potassium to sodium was also higher; The flavor components included polyphenols, free amino acids and caffeine. And the phenol ammonia ratio was relatively low, and it tasted light and refreshing. Flavonoid glycosides with quercetin and kaempferol as aglycones were the main polyphenolic compounds. The taste was dominant by γ -aminobutyric acid (GABA) and glutamic acid, whose proportion were higher and the threshold values were lower. The color components were composed of chlorophyll and carotenoids. A total of 28 aroma components were identified, and content of aldehyde compounds reached 47.53%, and dimethyl sulfide, D-Limonene and β -ionone were characteristic aroma substances of it.

2. The brewing conditions were screened by sensory evaluation and color difference analysis. Further on, taking the contents of polyphenols and GABA as the indexes, the brewing conditions of okra leaf tea were optimized by single factor and orthogonal test. The the best brewing condition was achieved: ratio of tea to water was

1:70, brewing time was 7 min, and brewing temperature was 95 °C. The contents of polyphenols and GABA reached 14.58 mg/g and 2.77 mg/g respectively. The flavor components of tea soup, such as soluble total sugar and free amino acids, and the characteristic aroma components such as cedrol, β -ionone and geranyl acetone made the tea soup mellow and fragrant.

3. The concentrations of the bioactive components by magnetic stirring extraction were higher than that by conventional static extraction, and the concentrations of each bioactive component increased with the improvement of temperature. The concentrations increased rapidly first, and then increased slowly or tended to be flat. Only polyphenols decreased after 10 minutes by magnetic stirring extraction. The kinetics equations of pseudo-second-order and first-order were used to fit the water extraction process of okra leaf tea. It was found that the bioactive components were extracted more easily by magnetic stirring extraction, and the extraction rate and amounts increased with the improvement of temperature. The model has been verified to have good accuracy and predictive ability.

4. Aqueous extracts of okra leaf tea could effectively scavenge DPPH $\cdot$, $\cdot$ OH, O $_2^{\cdot-}$ and nitrite, and inhibit ACE activity, but the effect of inhibiting α -glucosidase was general. And the biological activity of aqueous extracts increased with the improvement of temperature. Polyphenols, polysaccharides, free amino acids and GABA increased, while flavonoids decreased with the improvement of temperature ($p>0.05$). Besides the ability of scavenging $\cdot$ OH was only significantly related to polyphenols and polysaccharides ($p<0.05$), and the ability of scavenging DPPH $\cdot$, O $_2^{\cdot-}$, and nitrite was highly correlated with polyphenols, polysaccharides, free amino acids and GABA ($p<0.01$). The effect of inhibiting α -glucosidase was highly correlated with polysaccharides ($p<0.01$), and the effect of inhibiting ACE was more correlated with free amino acids and GABA.

Key words: okra leaf tea; γ -aminobutyric acid; extraction kinetics; aqueous extracts; antioxidation; antihypertensive capacity

目 录

致 谢.....	i
摘 要.....	I
Abstract.....	III
第一章 绪论.....	1
1.1 黄秋葵叶的研究概况.....	1
1.1.1 黄秋葵叶的营养价值.....	1
1.1.2 抗氧化活性.....	3
1.2 新型茶的研究概况.....	4
1.2.1 新型茶的品质分析.....	4
1.2.2 新型茶的冲泡工艺研究.....	5
1.2.3 新型茶水提物的生物活性研究.....	6
1.3 黄秋葵叶茶的研究概况.....	9
1.4 研究目的与意义.....	10
1.5 研究内容与创新点.....	10
1.5.1 研究内容.....	10
1.5.2 创新点.....	11
第二章 黄秋葵叶茶品质分析.....	12
2.1 材料与仪器.....	12
2.1.1 材料与试剂.....	12
2.1.2 设备与仪器.....	12
2.2 试验方法.....	13
2.2.1 样品处理.....	13
2.2.2 主要化学成分测定.....	13
2.2.3 总糖和多糖含量测定.....	14
2.2.4 粗纤维含量测定.....	14
2.2.5 矿物质含量测定.....	15
2.2.6 游离氨基酸种类及含量测定.....	15
2.2.7 多酚类物质测定.....	15
2.2.8 叶黄素和 β -胡萝卜素含量测定.....	16
2.2.9 香气成分测定.....	16
2.3 数据分析.....	17
2.4 结果分析.....	17
2.4.1 基本成分分析.....	17
2.4.2 滋味成分分析.....	18
2.4.3 色泽成分分析.....	23
2.4.4 香气成分分析.....	25
2.5 本章小结.....	28
第三章 黄秋葵叶茶冲泡条件优化.....	29
3.1 材料与仪器.....	29
3.1.1 材料与试剂.....	29
3.1.2 设备与仪器.....	29
3.2 试验方法.....	30

3.2.1 冲泡条件的筛选.....	30
3.2.2 感官评价.....	30
3.2.3 汤色测定.....	31
3.2.4 冲泡条件的优化.....	31
3.2.5 主要滋味成分的测定.....	32
3.2.6 GABA 含量的测定	32
3.2.7 GC-MS 分析.....	32
3.3 数据分析.....	33
3.4 结果分析.....	33
3.4.1 冲泡条件的筛选.....	33
3.4.2 冲泡条件的优化.....	37
3.4.3 黄秋葵叶茶茶汤感官品质分析.....	42
3.5 本章小结.....	44
第四章 黄秋葵叶茶水提物提取动力学研究.....	46
4.1 材料与仪器.....	46
4.1.1 材料与试剂.....	46
4.1.2 设备与仪器.....	46
4.2 试验方法.....	47
4.2.1 常规静态提取.....	47
4.2.2 磁力搅拌提取.....	47
4.2.3 生物活性成分的测定.....	47
4.2.4 水提物中生物活性成分在不同提取方式下的提取动力学方程.....	47
4.2.5 验证提取动力学模型.....	48
4.3 数据分析.....	49
4.4 结果分析.....	49
4.4.1 不同提取方式对水提物中生物活性成分浓度的影响.....	49
4.4.2 常规静态提取方式下水提物中生物活性成分的提取动力学.....	52
4.4.3 磁力搅拌提取方式下水提物中生物活性成分的提取动力学.....	54
4.4.4 不同提取方式对水提物中生物活性成分提取活化能的影响.....	57
4.4.5 不同提取方式下水提物中生物活性成分提取动力学模型的验证.....	58
4.5 本章小结.....	58
第五章 黄秋葵叶茶水提物的生物活性研究.....	60
5.1 材料与仪器.....	60
5.1.1 材料与试剂.....	60
5.1.2 设备与仪器.....	61
5.2 试验方法.....	61
5.2.1 黄秋葵叶茶水提物的制备.....	61
5.2.2 DPPH 自由基清除试验	61
5.2.3 羟基自由基清除试验.....	62
5.2.4 超氧阴离子清除试验.....	62
5.2.5 亚硝酸盐清除试验.....	62
5.2.6 α -葡萄糖苷酶抑制试验	63
5.2.7 血管紧张素转换酶抑制试验.....	63
5.2.8 主要活性成分的测定.....	64

5.3 数据分析.....64

5.4 结果分析.....64

 5.4.1 黄秋葵叶茶水提物的抗氧化活性及清除亚硝酸盐能力.....64

 5.4.2 黄秋葵叶茶水提物的降血糖及降血压能力.....65

 5.4.3 黄秋葵叶茶水提物中主要活性成分的含量.....66

 5.4.4 水提物中主要活性成分与生物活性之间的相关性分析.....67

5.5 本章小结.....68

第六章 结论与展望.....69

 6.1 结论.....69

 6.2 展望.....70

参考文献.....71

附 录.....81

作者简介.....83

第一章 绪论

1.1 黄秋葵叶的研究概况

黄秋葵 (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench), 别名秋葵、羊角豆、女人指, 属于锦葵科秋葵属, 是一种可食用的开花植物^[1], 它原产于非洲, 现广泛分布亚洲、南欧和美洲^[2]。黄秋葵嫩果荚是其主要食用部位, 富含膳食纤维、矿物质、维生素及多糖等营养成分^[3, 4], 具有降血糖^[3]、免疫调节^[5]、降血脂^[6]、抗抑郁^[7]等多种保健功能。

黄秋葵叶叶柄长, 叶片大似掌状, 呈五裂^[8], 表面有绒毛, 边缘呈锯齿状^[9]。嫩叶可以作为绿叶蔬菜被食用, 还可被添加到汤中以增加稠度, 增添风味^[10, 11]。黄秋葵叶还可以入药, 可作为利尿剂, 伤口愈合药和胃溃疡药等^[12]。《云南中草药选》记载: “其治疗骨折, 跌打损伤”; 《贵州草药》记载: “其消肿止痛, 治疗疮疽”^[13]。由于黄秋葵叶具有一定的营养和药用价值, 因此对它的研究也正在逐步深入。

1.1.1 黄秋葵叶的营养价值

1.1.1.1 蛋白质与氨基酸

蛋白质是生物体重要的营养素, 与健康关系密切。黄秋葵叶蛋白质含量高达 22.9-31.1%^[14]。吴佳静等^[15]测得的黄秋葵叶粉中粗蛋白含量相对较低, 约为 18.35%; 周兆祥^[16]将黄秋葵叶加工成茶叶, 测得其中粗蛋白含量为 25.77%, 并利用氨基酸自动分析仪对氨基酸组成进行了分析, 发现其中氨基酸组成丰富, 且含有多种人体必需氨基酸; 靳银杰^[17]采用色谱分离技术, 经分离和纯化, 鉴定出黄秋葵叶中含有色氨酸。

1.1.1.2 多糖类物质

植物多糖具有降血糖、抗肿瘤等多种生物活性, 因而备受关注。黄秋葵叶多糖可以作为植物多糖的来源之一, 程旺开等^[18]采用响应面法优化超声辅助提取黄秋葵叶多糖提取工艺, 得到最佳提取工艺为超声功率 160 W, 提取温度 54 °C, 超声时间 91 min, 在该条件下黄秋葵叶多糖提取率为 4.81%; 白石琦^[19]采用水提醇沉的方式得到黄秋葵叶粗多糖, 经纯化得到分子量分别为 192 KDa 和 1561 KDa 的 RPS-11 和 RPS-22 组分, 它们主要由 D-阿拉伯糖、D-甘露糖、木糖和半乳糖

组成,通过核磁共振仪、原子力显微镜和刚果红试验对其分子结构进行分析,结果表明各组分多糖都具有 α -糖苷键且存在糖醛酸结构,分子间互相缠绕,呈现规则团聚状,且不具有三螺旋立体构型。

纤维素属于大分子多糖,富含纤维的食物具有较低的能量密度,能够增加饱腹感,在控制能量平衡方面发挥作用^[10]。Camciuc 等^[12]研究发现不同品种黄秋葵叶中纤维素含量为 7.97-9.17%,半纤维素含量为 5.95-7.44%,木质素含量为 1.51-2.70%,由于黄秋葵叶中纤维素含量相对较低(小于 18%),粗蛋白含量丰富(大于 20%),因此可被用作优质的植物蛋白饲料^[20],而半纤维素在流变学中应用广泛,同时还可用来加工具有良好机械性能的覆盖膜^[12]。

1.1.1.3 脂肪酸与挥发油

脂肪酸对于人体的运作必不可少,而多不饱和脂肪酸是组成生物体细胞膜和神经系统的重要元素^[21]。黄秋葵叶的脂肪酸组成主要以不饱和脂肪酸为主,白石琦^[19]采用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)对黄秋葵叶中的脂肪酸进行了测定,发现其中包含的不饱和脂肪酸有亚麻酸、十六烷酸、11-十八碳烯酸等,亚麻酸作为人体必需脂肪酸之一,具有很好的保健功能,但它只能从食物中获取,自身无法合成^[22]。而靳银杰^[17]从黄秋葵叶中提取挥发油,并通过 GC-MS 进行分析,发现其主要由链状芳香族化合物和萜类化合物等组成。

1.1.1.4 矿物元素

人体对矿物元素的需求量较小,但与多种生理功能密切相关,对人体健康意义重大。黄秋葵叶作为非洲的绿叶蔬菜,其矿物元素含量很早就受到研究学者的关注。Boukari 等^[23]测得黄秋葵叶中钙元素含量达到 2850 mg/100 g,而 Obahiagbon 等^[24]测得黄秋葵叶中硒元素含量较低,为 0.01 mg/100 g;周兆祥等^[16]通过电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)测得黄秋葵叶茶中含有丰富的矿物元素,其中钾、钙和镁含量最高,分别为 1143.38 mg/100 g、478.16 mg/100 g 和 162.16 mg/100 g,同时其具有较高的 K/Na,有利于人体健康。

1.1.1.5 多酚类物质

多酚类物质因具有多种生物活性一直是人们研究的重点。黄秋葵叶中也含有多酚类物质,Nwachukwu 等^[25]对黄秋葵叶中多酚和黄酮含量进行了测定,结果表明嫩叶中多酚含量更高,老叶中黄酮含量更高,分别为 9.9 mg TNE/g 和 8.0 mg

QE/g; 靳银杰^[17]采用正交试验优化超声辅助提取黄秋葵叶黄酮提取工艺, 得到最佳提取工艺为用 20 倍体积的 60%乙醇提取 2 次, 每次 30 min, 最终得到黄酮含量为 18.73 mg/g; 靳银杰^[17]还鉴定出黄秋葵叶中含有黄酮类化合物槲皮素、槲皮素-3-O- β -D-葡萄糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- β -D-葡萄糖苷和槲皮素-3-O- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- α -D-葡萄糖苷, 说明黄秋葵叶可以作为黄酮类化合物的优质资源。

1.1.1.6 类胡萝卜素

类胡萝卜素是存在与植物、真菌、藻类和细菌中的天然色素, 它不仅可以作为着色剂应用于食品、饮料和饲料领域, 而且还对人体健康发挥重要作用^[26]。经热带农业科学院热带作物品种资源研究所研究人员的初步测定, 发现黄秋葵叶中含有丰富的叶黄素和 β -胡萝卜素^[27], 两者属于类胡萝卜素, 都具有重要的生理功能, 其中叶黄素是视网膜黄斑色素之一, 与眼睛健康关系密切^[28], β -胡萝卜素是维生素 A 的前体物质, 补充 β -胡萝卜素对于有利于防治维生素 A 缺乏症^[26]。李永平等^[29]研究发现黄秋葵叶中叶黄素和 β -胡萝卜素的积累与番茄红素 β -环化酶基因的表达量呈正相关; 罗燕春等^[30]对黄秋葵叶粉中叶黄素和 β -胡萝卜素稳定性进行了研究, 发现光会导致两者降解, 矿物元素都不利于 β -胡萝卜素的稳定, 而维生素 C 有利于两者的稳定, 经 0.24%维生素 C 处理的黄秋葵叶粉中叶黄素和 β -胡萝卜素的含量分别达到 20.51 mg/100 g 和 10.97 mg/100 g; 吴佳静等^[15]研究发现由于叶黄素和 β -胡萝卜素的存在, 向饲料中添加黄秋葵叶粉对鸡肉和蛋黄具有很好的着色效果, 并且能够提高蛋鸡的生产性能和蛋品质, 因此黄秋葵叶可作为禽用着色剂的天然来源。

1.1.2 抗氧化活性

黄秋葵叶中的大量营养成分使其可以作为天然的抗氧化剂, 部分研究学者采用 DPPH 法和 FRAP 法测定黄秋葵叶提取物的抗氧化活性, 李孟秋等^[31]研究发现黄秋葵叶水提物清除 DPPH 自由基(DPPH $\cdot$)的 EC₅₀ 值为 523.67 μ g/mL, FRAP 值(FeSO₄ 当量)为 0.091 mmol/g; 靳银杰^[17]研究发现黄秋葵叶乙醇提取物对 DPPH $\cdot$ 的清除能力为 7.18 mg Trolox/g DW, FRAP 总还原能力为 8.63 mg Trolox/g DW; 刘剑波^[32]研究发现 1 μ L 黄秋葵叶挥发油对 DPPH $\cdot$ 的清除能力为 0.0373 mg Trolox, 而 FRAP 抗氧化能力为 35.86 mg Trolox/g DW; 此外, 黄秋葵叶多糖也具有良好的抗氧化效果, 程旺开等^[18]研究发现黄秋葵叶多糖清除 DPPH $\cdot$ 和羟基

自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的 IC_{50} 值分别为 2.65 和 1.47 g/L; 白石琦^[19]研究发现无论是黄秋葵叶粗多糖还是纯化后的各组分均对 $\text{DPPH}\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 、超氧阴离子 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 和 ABTS^+ 自由基 ($\text{ABTS}^+\cdot$) 具有一定的清除效果。

1.2 新型茶的研究概况

茶是除水之外,全世界消费量排名第二的饮料,远远领先于咖啡、啤酒、葡萄酒和碳酸饮料^[33],它可分为三大类:未发酵的绿茶、半发酵的乌龙茶和全发酵的红茶,分别占世界茶叶总产量的 24%、1%和 75%^[34,35],我国作为茶的本土国家,制茶和饮茶的历史悠久,自唐朝以来茶就被推广为休闲饮品^[36]。除传统茶叶外,一些新型茶因具有特殊营养价值和多种保健功能也受到广泛关注,新型茶的出现进一步丰富了茶的概念,拓宽了茶的保健功能,实现了茶产品的多元化发展。

目前,国内外对于新型茶的研究均取得了一定的进展。Novita 等^[37]通过烘烤方式将咖啡叶加工成咖啡叶茶,其具有咖啡因含量低,抗氧化效果好等特点^[38]; Ma 等^[39]通过冷冻干燥、蒸汽处理和加热烘干等工艺将沙棘鲜叶加工成沙棘叶茶,其富含黄酮醇,口感香甜温和,具有良好的抗氧化和抗肿瘤活性; Adam 等^[40]总结了沉香叶茶的多种加工工艺,表明鲜叶经直接干燥、粉碎或经发酵、烘干、揉捻等工艺均可制成沉香叶茶,其不含苦味,香气浓郁^[41],具有抗氧化和降血脂的功效^[42]; 郑立红等^[43]通过杀青、揉捻和微波干燥等加工工艺将枸杞叶加工成茶,成品色泽翠绿,口感良好,具有抗菌消炎,清热解毒的功效^[44]; 林娇芬^[45]按萎凋、杀青和揉捻等绿茶加工工艺将安溪油柿叶制成柿叶绿茶,成品色泽黄绿,柿叶香浓厚,滋味甘醇,富含维生素 C 和类黄酮,尤其是维生素 C 含量高于普通绿茶、红茶和茉莉花茶^[46]; 藤茶鲜叶大多采用绿茶加工方式,经杀青、揉捻、渥堆及烘干等工艺制成茶产品^[47],成品富含二氢杨梅素等黄酮类化合物,具有显著的抗氧化活性、抗病毒和降糖作用^[48]。

1.2.1 新型茶的品质分析

茶叶品质分析需要综合多方面因素,其中包括滋味、色泽和香气等特征,它们从不同方面反映茶叶品质^[49],甚至决定其市场价值。对新型茶品质特征的分析不能单纯依靠感官评价,而是要对其中的品质成分进行测定,这样才能全面了解新型茶品质特征,并对其市场价值进行精准定位。

茶叶中关注的滋味成分包括提供苦涩味的多酚和咖啡碱,提供鲜味的游离氨

基酸,提供甜醇味的糖类以及酸味的有机酸等^[50],茶的滋味是这些物质的组成比例及化学转化的综合反映^[51],它们在为茶汤提供滋味的同时,还赋予茶汤营养价值,因此分析新型茶滋味成分,既能了解其滋味特征又能明确其营养价值;色泽是反映茶叶品质最直观的特征之一,茶叶中的色泽成分主要包括一些脂溶性色素,如叶绿素 a、叶绿素 b、叶黄素和 β -胡萝卜素等,它们对新型茶的色泽贡献巨大,同时还具有抗癌,抗氧化以及增强免疫力等生物活性^[52];香气成分虽然仅占茶叶干重的 0.01%,但对茶叶品质至关重要^[53],对香气成分进行分析能够明确新型茶的特征香气成分,了解其香气特征。

由于新型茶各具特点,因此在进行品质分析的时候,研究学者关注的品质特征以及选取的分析角度有所不同。王富河等^[54]通过信阳毛尖制作工序将翅铃鲜叶制成翅铃古茶,并着重分析其滋味成分,发现其水浸出物含量达到 48.20%,可溶性糖含量达到 14.70%,因而具有“鲜浓、甜醇、爽口、芳香”的口感特征;弓威等^[55]将山楂叶通过传统的绿茶加工工艺制成山楂茶,着重对其滋味成分和香气成分进行分析,发现有效成分得到保留,且氨基酸总量提高 33.08%,同时产生多种包括 α -紫罗酮、香叶基丙酮和二氢猕猴桃内酯在内的多种茶叶特征香气成分;章宏慧^[56]分别采用绿茶、红茶和黑茶加工工艺将新鲜水芹制成水芹茶,并对其香气成分进行分析,发现水芹茶的香气成分主要为萜烯类化合物,其中 β -金合欢烯, α -蒎烯和 α -香柑油烯的组成和比例决定了不同加工方式下水芹茶的香气特征,水芹绿茶清香宜人,水芹红茶和黑茶具有特殊发酵香,且水芹黑茶香气更厚重;杨梅叶蚊母树嫩叶经铁观音茶加工工艺制成酸茶,唐源江等^[57]着重对其滋味成分和色泽成分进行分析,发现其多酚和黄酮含量丰富,分别为 26.29%和 7.16%,可溶性总糖含量高达 19.90%,因此,茶汤滋味醇和,风味独特,色泽成分叶绿素为 0.054%,其中叶绿素 a 为 0.43 mg/g,叶绿素 b 为 0.11 mg/g;周继荣等^[58]通过窈制和提花等工艺将蜡梅鲜花加工成蜡梅花茶,并对其品质成分进行分析,发现其中茶多酚含量约为 30%,叶绿素含量约为 2%,主要香气成分为乙酸苜酯、芳樟醇和 α -紫罗酮等,它们共同赋予蜡梅花茶清新淡雅的香气特征。

1.2.2 新型茶的冲泡工艺研究

茶汤的感官品质和营养价值与其中的活性成分含量直接相关,而影响茶汤中活性成分含量的因素包括冲泡茶水比、温度、时间、水质及次数等^[59,60],上述因

素形成的不同冲泡条件会使茶汤中活性成分的组成和比例有所不同,因而具有不同的营养价值和保健功能。因此针对不同的茶叶需要选择合适的冲泡条件,以使其发挥出最大的功效,实现营养价值的最大化。

国内外学者根据新型茶各自不同的特征,选取不同考察指标对新型茶的冲泡条件进行探索。张涛等^[61]关注绞股蓝珠茶中特有的功效成分绞股蓝皂甙,并以其溶出率为主要指标,采用正交试验优化绞股蓝珠茶冲泡条件,研究发现最佳冲泡条件为茶水比 1:75 (m:m), 冲泡温度 80 °C, 冲泡时间 6 min, 冲泡 3 次, 此时绞股蓝皂甙溶出率最高, 达到 1.92%; 秦振华等^[62]关注藤茶的抗氧化活性, 因此以 $\bullet\text{OH}$ 清除率为指标, 采用正交试验优化藤茶冲泡条件, 研究发现茶水比为 1:60 (g/mL) 时, 用 80 °C 去离子水单次冲泡 20 min, 可获得抗氧化性能最佳的茶汤, 此时 0.2 mL 茶汤对 $\bullet\text{OH}$ 的清除率达到 48.2%, 且具有比绿茶更稳定、更优异的抗氧化活性; 姜慧等^[63]关注菊花茶中的功效成分, 因此以绿原酸和黄酮含量为指标, 采用正交试验优化菊花茶冲泡条件, 研究发现 2 g 菊花茶用 120 mL 100 °C 的水冲泡 15 min, 且冲泡 1 次, 即可获得绿原酸含量 (119 mg/100 g) 和黄酮含量 (2055 mg/100 g) 最高的茶汤; İlyasoğlu 等^[64]关注玫瑰果茶的抗氧化性能, 因此以抗坏血酸, 多酚含量和 FRAP 值为指标, 采用响应面试验优化玫瑰果茶冲泡条件, 研究发现在茶水比为 1:50 (g/mL) 时, 最佳冲泡条件为冲泡温度 84-86 °C, 冲泡时间 6-8 min, 此时玫瑰果茶中抗坏血酸含量约为 3.15 mg/100 mL, 多酚含量约为 61.44 mg/100 mL, 抗氧化指标 FRAP 值约为 2591 μmol , 抗氧化性能最佳; Irakli 等^[65]关注奥林匹斯山茶 (*Sideritis scardica*) 中的活性成分, 因此以多酚, 黄酮含量和 DPPH $\bullet$ 清除率为指标, 采用响应面试验优化奥林匹斯山茶的冲泡条件, 最终获得不同部位的最佳冲泡条件为冲泡温度在 87.5-99.8 °C 范围内, 冲泡时间为 10 min, 且在最佳冲泡条件下奥林匹斯山茶中最主要的酚酸绿原酸在不同部位的含量为 45.9-101.4 mg/100 g。

1.2.3 新型茶水提物的生物活性研究

茶中内含物质具有水溶性, 且日常饮用方式为用水冲泡, 因此研究茶水提物的生物活性对人体健康更具意义。为了充分利用茶资源, 需要将其中的活性成分更高效地提取出来, 以最大程度地发挥其保健功能, 目前采用的提取方式包括磁力搅拌提取、振荡水浴提取、超声辅助提取、酶提取及超高压提取等^[66, 67], 经提

取得到的水提物因含有多种活性成分,可以作为营养保健品和膳食补充剂^[68]。新型茶因具有不同的活性成分而表现出不同的生物活性,目前对茶水提物的生物活性研究主要集中在抗氧化活性、降血糖、降血压、降血脂及抗炎作用等方面^[69]。

1.2.3.1 抗氧化活性研究

人体由于暴露在多种氧化剂条件下,会导致一些生物大分子,如脂类、DNA和蛋白质等发生氧化损伤,进而引发慢性疾病,而食用具有抗氧化效果的食物能够有效预防或减缓由自由基引发的氧化应激,因此需要对食物的抗氧化效果进行评估,一般选取多种抗氧化体系以使评估结果更加准确^[70,71]。传统茶叶因富含茶多酚而具有优异的抗氧化效果,而新型茶中含有多种活性成分,因此其水提物的抗氧化活性也备受关注。

周志阳等^[72]将枸杞叶茶和芽茶按照固液比 1:40,在 96 °C 下充分浸提 30 min,重复两次,经冻干后得到枸杞叶茶和芽茶的水提物,选取 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}$ 和 O $_2^{\cdot-}$ 生成系统等评价其抗氧化活性,结果发现二者对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}$ 和 O $_2^{\cdot-}$ 均具有良好的清除能力,且枸杞芽茶效果更好,但均与维生素 C 存在一定差距;Sakanaka 等^[70]将 50 g 柿叶茶用 10 倍体积的蒸馏水浸提,并在 80 °C 下振荡提取 1 h,经冻干后得到柿叶茶水提物,选取 DPPH $\cdot$ 、 $\cdot$ OH 和 O $_2^{\cdot-}$ 生成系统等考察其抗氧化活性,结果发现浓度为 0.1% 的柿叶茶水提物对 DPPH $\cdot$ 的清除率约为 90%,几乎与 10 mM 的抗坏血酸相当,浓度为 1% 的柿叶茶水提物对 $\cdot$ OH 的清除率约为 30%,几乎与 1 mM 的抗坏血酸相当,1% 浓度的柿叶茶水提物对 O $_2^{\cdot-}$ 的清除率达到约 85%,表明柿叶茶水提物具有很强的抗氧化活性;Sugahara 等^[73]将 2 g 辣木叶茶用 100 mL 超纯水浸提,并在 95 °C 下保持 20 min,重复两次,经冻干后得到辣木叶茶水提物,选取 DPPH $\cdot$ 、ABTS $^{+}$ 和多种 O $_2^{\cdot-}$ 生成系统等考察其抗氧化活性,尤其重点关注对 O $_2^{\cdot-}$ 的清除能力,结果发现辣木叶茶水提物对 DPPH $\cdot$ 和 ABTS $^{+}$ 等均具有清除能力,但低于标准抗氧化剂 Trolox,值得注意的是其对 O $_2^{\cdot-}$ 的清除能力比 Trolox 高 3.80 倍,且在黄嘌呤氧化酶和细胞 O $_2^{\cdot-}$ 生成系统中均能比 Trolox 更有效地清除 O $_2^{\cdot-}$,推测其中的咖啡酸和绿原酸可能是负责清除 O $_2^{\cdot-}$ 的活性物质,因而能够有效预防由 O $_2^{\cdot-}$ 引发的氧化损伤。

1.2.3.2 降血糖活性研究

II 型糖尿病是一种以高血糖为特征的慢性代谢病,并可能引起多种并发症^[74],

血糖控制是糖尿病治疗过程中的主要关注点,它能够帮助预防糖尿病并发症的发作和延迟,同时降低发病率和死亡率^[75],目前用于控制血糖的有效策略是通过抑制碳水化合物水解酶,如 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶等,来延缓葡萄糖的吸收^[76],而新型茶中的多种活性成分可以作为天然的碳水化合物水解酶抑制剂,因此其水提物的降血糖活性也被广泛研究。

Banu 等^[75]通过人体试验研究桑叶茶提取物降低II型糖尿病患者餐后高血糖的作用,结果发现在摄入桑叶茶提取物 90 min 后能够有效抑制餐后血糖水平升高,也有研究报道桑叶水提物具有很好的降血糖潜力,它能够有效抑制麦芽糖酶(IC_{50} 为 0.59 mg/mL)和蔗糖酶(IC_{50} 为 0.94 mg/mL),进而延缓碳水化合物的消化^[77],其中发挥主要作用的成分为 1-脱氧野尻霉素^[78];Kato 等^[79]通过体外试验和动物试验对洋甘菊茶水提物的降血糖作用进行全面分析,结果发现其能够显著抑制蔗糖酶(IC_{50} 为 0.9 mg/mL)和醛糖还原酶(IC_{50} 为 16.9 μ g/mL),其中发挥主要作用的成分可能是七叶亭和槲皮素等,在动物试验中,每天口服 500 mg/kg 的洋甘菊茶水提物能够显著降低链脲佐菌素(STZ)诱导的糖尿病大鼠的血糖水平,同时提高肝糖原水平,表明洋甘菊茶水提物具有良好的降血糖效果,能够有效预防高血糖和糖尿病。

1.2.3.3 降血压活性研究

高血压由于患病率高,已成为全球公共健康的重要挑战,同时它也是导致心血管、视网膜和肾脏疾病的主要原因^[80],原发性高血压不易控制,需要使用药物治疗,而血管紧张素转换酶(ACE)抑制剂是治疗高血压最常用的药物之一^[81]。目前,寻找天然的 ACE 抑制剂已成为研究热点,如苹果皮中的槲皮素-3-O-葡萄糖苷和桑叶中的 γ -氨基丁酸(GABA)都被证明具有良好的降血压效果^[80,82],而新型茶中由于含有多种活性成分,因此其水提物的降血压作用也值得被深入研究。

杨利等^[83]将 2 kg 罗布麻茶用 20 倍体积的沸蒸馏水浸提,并于 80 $^{\circ}$ C 采用超声辅助的方式提取 30 min,重复一次,蒸发浓缩至 1 g/mL 得到罗布麻茶水提物,并研究其对于自发性高血压大鼠(SHR)血压的调节作用,结果发现罗布麻茶水提物对 SHR 收缩压具有先升高后降低的双向调节作用,也有研究报道罗布麻叶水提物(10 μ g/mL)能够有效抑制血管紧张素II,通过清除 $O_2^{\cdot-}$,保护内皮舒张因子(NO)免受攻击,因而具有良好的内皮依赖性血管舒张作用^[84];洛神花水

提物的降血压活性在动物模型中已经得到验证^[85], 而 McKay 等^[86]进一步研究洛神花茶水提取物对人体血压的影响, 他将 1.25 g 洛神花茶用 240 mL 沸水冲泡 6 min 制得洛神花茶水提取物, 并进行人体实验, 结果表明洛神花茶水提取物能够有效降低轻度高血压患者的血压, 其中发挥作用的物质可能是黄酮类化合物飞燕草素-3-桑布双糖苷和矢车菊素-3-桑布双糖苷。

1.2.3.4 其他生物活性研究

除上述三种生物活性外, 新型茶水提取物在其他方面的作用也被广泛研究, 侯改霞^[87]关注连翘叶茶水提取物的降血脂作用, 用蒸馏水将茶以 1:10 (v:v) 的固液比浸提, 并在 100 °C 下搅拌 30 min, 重复两次, 采用减压蒸发除去水分, 使其浓缩至膏状, 得到连翘叶茶水提取物, 并研究其对高脂血症小鼠的降血脂作用, 结果发现连翘叶茶水提取物具有降低血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG) 和低密度脂蛋白 (LDL-C), 升高高密度脂蛋白 (HDL-C) 的作用, 并能降低肝脏 TC, 预防脂肪肝的发生, 同时对心脏和脾脏均有一定的保护作用; Chen 等^[88]对不同加工方式下咖啡叶茶水提取物的抗炎活性进行研究, 结果发现其能够抑制炎症介质, 或通过诱导炎性细胞因子的产生来激活免疫系统, 进而发挥抗炎作用, 而其中的芒果苷和绿原酸被认为是发挥抗炎作用的主要物质^[89,90]; Ferdousi 等^[91]关注橄榄叶茶对人体血液健康的作用, 按照 5:1 (g/L) 的茶水比制出橄榄叶茶水提取物, 经 1:2 的体积比稀释后进行研究, 结果发现其对血液健康有益, 并且有可能成为预防和治疗贫血及其他红细胞疾病的有效手段。

1.3 黄秋葵叶茶的研究概况

黄秋葵叶富含多种营养成分, 因此其深加工产品也具有很大的市场潜力, 将黄秋葵叶加工成茶是深加工方式的一种, 得到的茶产品不仅方便携带, 便于保存, 而且还能充分发挥黄秋葵叶的保健功能, 因此受到广泛关注。

研究人员采用不同的加工工艺制得黄秋葵叶茶, 仰榴青等^[92]将黄秋葵叶经 8-12 h 摊晾后, 切碎, 于 90-115 °C 杀青 5-7 min, 再经揉捻, 于 50-70 °C 烘 6-12 h 制成黄秋葵叶茶, 它不仅营养价值丰富, 而且水提取物还具有很好的抗氧化活性。除采用单一材料进行加工外, 车振明等^[93]还将黄秋葵叶、花和果渣按 2:6:2-1:6:3 的质量比进行混合, 经炒制和窈制等工艺制成黄秋葵养生保健茶, 该茶口感细腻, 香气浓郁, 具有多种保健功能。但上述研究缺乏对黄秋葵叶茶品质成分和多种生

物活性的分析, 因此, 这方面的研究空白有待补充。

1.4 研究目的与意义

由于经济增长, 生活方式发生改变, 人们更加重视饮品的营养与健康, 而茶叶具有便于保存, 方便携带兼具多种保健功能等特点, 越来越受到消费者的青睐。新型茶是对传统茶的补充, 其出现进一步丰富了茶叶市场, 拓宽了茶叶的保健功能。同时新型茶的开发一方面能够有效避免植物资源的浪费, 另一方面也因其天然性对消费者大有裨益。对于新型茶的开发与研究需要从多角度进行, 如分析其品质成分以了解其品质特征, 探索其冲泡条件以使其充分发挥功效, 分析其活性成分的提取过程以研究其提取动力学, 研究其水提物的多种生物活性以明确其保健功能等。

黄秋葵叶富含多种营养成分, 在实际生产生活中, 它并没有得到有效地利用, 而是作为废物被丢弃或仅用作饲料, 这是对黄秋葵叶资源的极大浪费; 在科学研究中, 对黄秋葵叶的研究主要集中在成分分析、活性成分提取及抗氧化活性评价方面, 虽有将黄秋葵叶加工成茶的报道, 但并没有从茶叶角度对其进行全面分析, 也没有对抗氧化之外的生物活性进行研究, 虽有对黄秋葵叶茶功效进行描述的报道, 但并没有数据支撑。因此, 本研究以黄秋葵鲜叶为原料, 按绿茶加工工艺将其制成黄秋葵叶茶, 对其品质成分进行测定分析其品质特征, 并对其冲泡条件进行优化, 同时研究不同提取方式下黄秋葵叶茶水提物的提取动力学, 并从多个角度分析其水提物的生物活性, 以期黄秋葵叶茶的开发与利用提供理论支持, 同时进一步丰富新型茶市场, 为消费者提供一种具有多种保健功能的新型茶。

1.5 研究内容与创新点

1.5.1 研究内容

(1) 黄秋葵叶茶品质分析

以黄秋葵鲜叶为原料, 参照绿茶加工工艺将其制成黄秋葵叶茶, 并从茶叶角度对其基本成分、滋味成分、色泽成分和香气成分进行全面分析, 同时参考国家标准描述其品质特征, 明确其营养价值。

(2) 黄秋葵叶茶冲泡条件优化

利用感官评价和色差分析对黄秋葵叶茶的冲泡条件进行初步筛选, 并在此基

基础上以茶汤中的主要功效成分多酚和 γ -氨基丁酸含量为指标,采用单因素和正交试验优化黄秋葵叶茶冲泡条件,并对最佳冲泡条件下的茶汤品质进行分析。

(3) 黄秋葵叶茶水提物提取动力学研究

采用常规静态和磁力搅拌两种提取方式对黄秋葵叶茶中生物活性成分进行提取,研究不同提取温度下水提物中可溶性固体、游离氨基酸和多酚随时间的浓度变化,并采用伪二级和一级提取动力学方程对水提过程进行拟合,建立提取动力学模型并加以验证,为准确预测水提过程中生物活性成分的浓度提供理论指导。

(4) 黄秋葵叶茶水提物的生物活性研究

在不同温度下,以第四章所述的磁力搅拌方式对黄秋葵叶茶进行提取,经冻干后获得黄秋葵叶茶水提物,研究不同温度水提物的抗氧化活性、清除亚硝酸盐能力、降血糖和降血压能力,并对其主要活性成分进行测定,考察温度对生物活性和主要活性成分的影响,并分析两者之间的相关性。

1.5.2 创新点

(1) 根据黄秋葵叶茶中品质成分,首次从茶叶角度描述黄秋葵叶茶品质特征,并测定了其中多酚类物质组成、咖啡碱和 γ -氨基丁酸等物质的含量。

(2) 以茶汤中多酚和 γ -氨基丁酸含量为指标,利用正交试验优化黄秋葵叶茶的冲泡条件,并对茶汤品质成分进行了分析。

(3) 采用常规静态和磁力搅拌两种提取方式对黄秋葵叶茶进行提取,并研究了两种提取方式下水提物的提取动力学。

(4) 首次分析黄秋葵叶茶水提物清除亚硝酸盐能力、降血糖和降血压能力。

第二章 黄秋葵叶茶品质分析

黄秋葵叶具有一定的营养价值和药用价值,目前对黄秋葵叶的研究主要集中在营养成分如蛋白质、矿物质元素、多酚、黄酮和多糖等^[12,19,23,25,30]的分析上,以及对活性成分胡萝卜苷、羽扇豆醇、色氨酸、槲皮素、 β -谷甾醇等^[17]的分离纯化与鉴定方面,虽有学者将黄秋葵叶加工成茶^[16],但并未从茶叶角度对其品质进行分析。

本章以黄秋葵鲜叶为原料,参照绿茶加工工艺将其制成黄秋葵叶茶,并从茶叶角度对其基本成分、滋味成分、色泽成分和香气成分进行分析,旨在全面了解黄秋葵叶茶品质特征,掌握其营养价值,明确将黄秋葵叶加工成茶的实际意义,为后续的研究开发奠定理论基础。

2.1 材料与仪器

2.1.1 材料与试剂

黄秋葵鲜叶:于2017年10月采摘于浙江嘉善。

丙酮、甲醇、苯酚、硫酸铜、硫酸钾、氯化铝、葡萄糖、石油醚、无水乙醇、氢氧化钠、抗坏血酸、水合茚三酮、无水碳酸钠、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、5-磺基水杨酸均为分析纯,浓硫酸、硝酸、高氯酸为优级纯,谷氨酸、福林酚为生化试剂,购自国药集团化学试剂有限公司;草酸、乙酸钾、没食子酸、氯化亚锡、一水柠檬酸、2,6-二氯靛酚钠盐均为分析纯,甲酸、正己烷、甲基叔丁基醚均为色谱纯,纤维素酶(10000 U/g)购自阿拉丁试剂有限公司;芦丁,购自安耐吉化学有限公司;乙腈、甲醇均为色谱纯,购自TEDIA有限公司; β -胡萝卜素购自上海源叶生物科技有限公司;叶黄素购自上海信裕生物科技有限公司;咖啡碱购自上海士峰生物科技有限公司。

2.1.2 设备与仪器

磁力搅拌水浴锅	金坛市良友仪器有限公司
JA1003N 型电子天平	上海菁海仪器有限公司
SH220 型石墨消解仪	上海志行仪器设备有限公司
SRJX-4-13D 型马弗炉	上海和呈仪器制造有限公司
HE53/02 型水分测定仪	梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司

k9890 型全自动凯式定氮仪	济南海能仪器股份有限公司
ZM200 型超离心粉碎机	德国 Retsch 公司
Waters e2695 型高效液相色谱仪	美国 Waters 公司
DKZ 系列电热恒温振荡水槽	上海一恒科技有限公司
HP-18 型陶瓷封闭式恒温电炉	上海学森仪器有限公司
DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱	杭州蓝天化验仪器厂
UV-2550 型紫外可见分光光度计	日本 SHIMADZU 公司
VELP Raw Fiber Extractor 型纤维素测定仪	意大利 VELP 公司
7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪	美国 Agilent 公司
手动 SPME 进样器	美国 Supelco 公司
50/30 μm DVB/CAR/PDMS 型萃取头	美国 Supelco 公司
Centrifuge 5418R 型高速离心机	德国 eppendorf 公司
HC-3018R 型高速冷冻离心机	安徽中科中佳科学仪器有限公司
98-1-B 型电子调温电热套	天津市泰斯特仪器有限公司
DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器	杭州杰尔实验仪器设备有限公司
全自动扁形茶炒制机	浙江新昌县均一机械有限公司
6CCT-50 型滚筒炒干机	浙江新昌县均一机械有限公司
Acquity TM ultra 型高效液相色谱仪	美国 Waters 公司
Triple TOF 5600+型飞行时间质谱 (配有电喷雾离子源)	美国 AB SCIEX 公司

2.2 试验方法

2.2.1 样品处理

黄秋葵鲜叶采摘后, 置阴凉干燥通风处摊晾 9-12 h, 切条, 置于全自动扁形茶炒制机中, 于 200-230 $^{\circ}\text{C}$ 杀青 6.5 min, 摊晾 30 min-1 h, 于 110 $^{\circ}\text{C}$ 下辉锅 40 min-1 h, 得黄秋葵叶茶成品 (见附录 2), 经超离心粉碎机粉碎后, 通过 60 目筛, 得到茶粉, 装袋置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 贮藏, 用于后续分析。

2.2.2 主要化学成分测定

采用水分测定仪测定水分, 采用自动凯式定氮仪法 (GB/T 5009.5—2016) 测定粗蛋白的含量, 采用索氏提取法 (GB/T 5009.6—2016) 测定粗脂肪含量, 采用

高温灼烧法 (GB/T 5009.4—2016) 测定灰分含量, 采用称量茶渣差数法 (GB/T 8305—2013) 测定水浸出物量, 采用茚三酮比色法 (GB/T 8314—2013) 测定游离氨基酸含量, 采用福林酚比色法 (GB/T 8313—2008) 测定多酚含量, 采用分光光度计法 (NY/T 1295—2007) 测定黄酮含量, 采用 2,6-二氯靛酚滴定法 (GB/T 5009.86—2016) 测定维生素 C 含量, 采用 HPLC 法 (GB/T 8312—2013) 测定咖啡碱的含量, 并略作改动, 参照王学奎等^[94]测定叶绿体色素含量的方法测定类胡萝卜素总量, 并略作改动。

2.2.3 总糖和多糖含量测定

参照李文德等^[95]的提取方法, 并略作改动。准确称取黄秋葵叶茶粉 1 g (精确至 0.001 g), 使用纤维素酶 (10000 U/g), 加酶量 1.5%, 用柠檬酸缓冲液 (pH 4.8) 作为溶剂, 料液比 1:40, 在 50 °C 下水浴提取 3 h, 离心后收集上清液, 用柠檬酸缓冲液定容至 50 mL, 适当稀释后, 采用苯酚-硫酸法测定总糖含量, 参照 GB/T 15672—2009; 将收集的上清液加入 4 倍体积的无水乙醇, 4 °C 醇沉过夜, 离心后取沉淀用水复溶, 定容至 100 mL, 适当稀释后, 采用苯酚-硫酸法测定多糖含量。

2.2.4 粗纤维含量测定

采用 Weende 法^[96]测定粗纤维, 准确称取烘至恒重的黄秋葵叶茶粉 1 g (精确至 0.001 g) 于预处理恒重的坩埚内, 将坩埚置于纤维测定仪中, 用加热板预热试剂后加入 1.25% 的硫酸到 150 mL 的刻度, 加入 3-5 滴辛醇用做防沫剂, 完全沸腾后再煮沸 30 min, 连接真空来排放硫酸。用 30 mL 热去离子水清洗 3 次, 在排掉最后一遍清洗液时, 加入 150 mL 预先加热的 1.25% 的氢氧化钠和 3-5 滴防沫剂, 煮沸 30 min。按前述方法过滤并清洗, 最后用冷去离子水清洗来冷却坩埚, 并用 25 mL 丙酮将坩埚内的样品洗 3 遍, 每次清洗都用压缩空气搅拌。将上述坩埚及残留物在 105 °C 的烘箱中烘 1 h, 放在干燥器中冷却, 称量 (精确至 0.001 g), 直至恒重。将已称量的坩埚放在马弗炉中, 于 550 °C 灰化 3 h, 待炉温降至 300 °C 左右时, 取出坩埚, 在干燥器中冷却, 称量 (精确至 0.001 g)。样品中粗纤维计算公式如下:

$$X(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_0} \quad (2.1)$$

(2.1) 式中: X—粗纤维, %; m_1 —灰化前坩埚及残留物的质量, g; m_2 —

灰化后坩埚、灰分的质量, g; m_0 —样品的质量, g。

2.2.5 矿物质含量测定

参照 Jabeen 等^[97]的方法, 并略作改动。准确称取 0.2 g (精确至 0.001 g) 黄秋葵叶茶粉于消化管中, 加入 7 mL 浓硝酸, 室温静置过夜, 向消化管中加入 0.5 mL 高氯酸。放入消解仪中, 先加热到 120 °C 预消解 1 h, 再加热到 200 °C 消解, 直至获得透明无浑浊的液体。当液体体积加热至 1 mL 左右时, 冷却, 将液体转移至 50 mL 容量瓶中, 加入超纯水, 定容至刻度。将定容后的消解液过 0.22 μ m 滤膜后, 分别测定钾 (K)、钠 (Na)、钙 (Ca)、铁 (Fe)、锌 (Zn)、锰 (Mn)、镁 (Mg)、和硒 (Se) 8 种元素的含量。

2.2.6 游离氨基酸种类及含量测定

准确称取烘至恒重的茶粉 1 g (精确至 0.001 g) 于锥形瓶中, 加入 100 mL 沸水, 并在沸水浴中浸提 45 min, 取 1 mL 浸提液, 加入 1 mL 5-磺基水杨酸 (2-5%), 离心, 取上清液, 用 0.22 μ m 滤膜过滤, 取 1-1.5 mL 至进样瓶中, 用氨基酸分析仪进行测定。

2.2.7 多酚类物质测定

2.2.7.1 样品处理

参照 GB/T 8313—2008 进行样品制备, 并略作修改。称取 0.2 g (精确到 0.0001 g) 均匀磨碎的黄秋葵叶茶粉于 10 mL 离心管中, 加入在 70 °C 中预热的 70% 甲醇溶液 5 mL, 用玻璃棒充分搅拌均匀湿润, 立即移入 70 °C 水浴锅中浸提 10 min, 将上清液转移至 10 mL 容量瓶, 残渣再用 5 mL 的 70% 甲醇溶液提取, 重复以上操作。合并提取液定容至 10 mL, 用氮吹仪吹至 1 mL, 过 0.22 μ m 膜, 待测。

2.2.7.2 液相色谱-质谱条件

色谱条件: 色谱柱为 Spuril C18 (250×4.6 mm, 5 μ m); 流动相 A 为 0.1% 甲酸-水溶液, B 为乙腈, 梯度洗脱: 0-5 min, 4% B; 6-20 min, 8% B; 20-45 min, 8-26% B; 45-65 min, 26-90% B, 流速为 1.0 mL/min, 柱温为 30 °C, 进样体积 10 μ L, 检测波长设置为 280 nm。

质谱条件: 采用负离子扫描模式; 扫描范围: m/z 100-1500; 雾化气 (GS₁): 50 psi; 雾化气 (GS₂): 50 psi; 气帘气 (CUR): 35 psi; 离子源温度 (TEM): 500 °C; 离子源电压 (IS): -4.5 kV; 一级扫描: 去簇电压 (DP): 100 V; 聚焦

电压 (CE): 10 V; 二级扫描: 使用 TOF MS~Product Ion~IDA 模式采集质谱数据, CID 能量为 20、40 和 60 V, 进样前, 用 CDS 泵做质量轴校正, 使质量轴误差小于 2 ppm。

2.2.7.3 质谱分析

采用 Analyst® TF 1.6 software (AB-Sciex) 自带软件 Peak view1.2 对未知峰分子式计算拟合, 结合 Chemspider (包括 HMDB, PubChem, MassBank 三个数据库) 进行二级质谱匹配, 以匹配率 $P \geq 80\%$ 为判定标准。

2.2.8 叶黄素和 β -胡萝卜素含量测定

2.2.8.1 样品处理

准确称取烘至恒重的茶粉 2 g (精确至 0.001 g), 加入 10 mL 正己烷, 完全混匀后 37 °C 提取 30 min, 重复 3 次, 取上清液混合后定容至 50 mL。通过 0.22 μm 滤膜, 最后上机分析。

2.2.8.2 色谱条件

色谱柱: YMC carotenoid (250×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为甲醇:MTBE:水=82:15:3, B 相为甲醇:MTBE:水=7:90:3, 梯度洗脱: 0-50 min, 0-35% B, 流速为 0.7 mL/min, 柱温为 25 °C, 进样体积 10 μL , 检测波长设置为 450 nm。

2.2.9 香气成分测定

2.2.9.1 HS-SPME

准确称取 2 g (精确至 0.001 g) 黄秋葵叶茶粉, 置于 20 mL 样品瓶中, 在 60 °C 水浴条件下静置 10 min, 顶空达到平衡后, 插入装有 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 型 SPME 装置, 并推出萃取头吸附黄秋葵叶茶中的挥发性物质, 保持时间为 30 min, 然后快速取出, 插入 GC-MS 进样口, 250 °C 解吸附 3 min。

2.2.9.2 GC-MS 条件

色谱柱: DB-5 毛细管色谱柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm), 柱温 40 °C; 载气为 He, 流速 1.5 mL/min。色谱条件: 进样口温度 250 °C, 不分流; 升温程序: 起始温度 40 °C, 保持 3 min, 以 5 °C/min 升温至 150 °C, 再以 10 °C/min 升温至 250 °C, 保持 3 min。

质谱条件: 电离方式为 EI; 电子能量 70 eV; 离子源温度 230 °C, 接口温度 250 °C; 灯丝电流 150 μA ; 扫描质量范围为 30-500 amu。

2.3 数据分析

每个实验重复 3 次, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Microsoft Excel 软件对数据进行整理, Origin 9 软件作图以及 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。

2.4 结果分析

2.4.1 基本成分分析

采用国家标准, 行业标准等测定黄秋葵叶茶中基本成分含量, 具体结果见表 2.1。茶叶的含水量影响茶叶的贮存和运输, 因按照绿茶的加工工艺进行加工, 故参照国家标准《GB/T 14456.1—2017 绿茶》^[98]进行评定, 其要求炒青绿茶含水量低于 7.0%^[98], 而黄秋葵叶茶中水分含量为 5.01%, 符合国家标准。粗蛋白含量最高, 达到 25.92%, 说明黄秋葵叶茶在后序的加工过程中可以作为一种优质的蛋白质来源。可溶性总糖含量为 11.41%, 高于一般绿茶, 其对茶叶品质意义重大, 它参与茶叶香气的形成, 同时也为茶汤提供甜醇味, 增加茶汤浓度^[99, 100]。而多糖含量为 3.56%, 研究发现, 植物多糖具有多种生理活性^[101], 而白石琦^[19]研究发现黄秋葵叶多糖具有较好的体外抗氧化活性, 多糖的存在进一步增加黄秋葵叶茶的营养价值。粗脂肪含量为 5.22%, 而其中的游离脂肪酸能够为茶汤提供陈味感^[100]。白石琦^[19]研究发现黄秋葵叶中含有亚麻酸等不饱和脂肪酸, 保健功能较好, 而且 α -亚麻酸可以作为六到十碳香气物质的前体, 为茶叶提供清新香气^[99]。灰分是茶叶的品质指标, 国标中规定总灰分含量不超过 7.5%^[98], 而黄秋葵叶茶总灰分含量为 14.77%, 高于国家标准, 这可能是由于黄秋葵叶茶与绿茶品种不同所致。粗纤维含量与茶叶品质呈负相关, 可作为评定茶叶老嫩的指标之一, 而且还会影响茶汤感官特性^[102], 国标中规定粗纤维含量不超过 16%^[98], 而黄秋葵叶茶粗纤维含量为 10.99%, 符合国家标准。

茶叶中富含全部人体所需的矿物质, 其中有 50-60%在热水冲泡时溶于茶汤中, 而且茶叶中的矿物质大多以有机态存在, 有利于人体吸收。经常饮茶可满足人体对一些矿物质元素的需求^[103, 104]。因此测定矿物质含量对于判定茶叶品质十分重要。采用 ICP-MS 和原子吸收法测定了黄秋葵叶茶中 8 种矿物质含量, 具体结果见表 2.1。一般绿茶中矿物质元素含量较高的有 K、Ca、Na、Mg^[105]。而黄秋葵叶茶也与之相似, 其含量最高的矿物质元素为 K, 达到 1754.13 mg/100 g,

临床研究表明，服用数周的钾补充剂可以降低人类的血压^[106]。Na 含量为 79.93 mg/100 g，黄秋葵叶茶的 K/Na 约为 22:1，而高 K/Na 的食物恰恰满足人体需求，有益于健康^[19]。Ca 含量为 621.12 mg/100 g，高于一般绿茶（188.6-375.6 mg/100 g）^[105]，Mg 含量为 71.48 mg/100 g，低于一般绿茶（149.4-210.4 mg/100 g）^[105]。而两种元素都是存在于骨骼中的元素，Ca 对于维持人体各个系统的正常生理功能起重要的调节作用，而 Mg 能够激发酶的活性，促进物质代谢^[104]。而另外四种矿物质元素 Mn、Fe、Zn、Se 含量较低，尤其是 Se 含量仅为 0.01 mg/100 g，但它们的功能性依然不可忽略，如 Fe 是血中的矿物质，它可以与血红蛋白结合输送氧，而 Zn 是人体胰岛素的成分，组成人体内的 100 多种酶，同时参与 DNA 合成^[104]。这些结果表明，饮用黄秋葵叶茶能为人体补充一定量的矿物质元素。

表 2.1 黄秋葵叶茶中基本成分含量

Table 2.1 The contents of elementary components of okra leaf tea

基本成分	含量（%, DW）	矿物质元素	含量（mg/100 g, DW）
水分	5.01±0.07	Na	79.93
粗蛋白	25.92±0.59	Mg	71.48
可溶性总糖	11.41±0.04	K	1754.13
多糖	3.56±0.10	Ca	621.12
粗脂肪	5.22±0.54	Mn	25.23
总灰分	14.77±0.11	Fe	21.27
粗纤维	10.99±0.21	Zn	6.69
		Se	0.01

2.4.2 滋味成分分析

2.4.2.1 主要滋味成分含量

除基本成分的研究外，滋味成分的研究对于评价黄秋葵叶茶的品质更是不可或缺，它不仅影响着茶汤的色泽，滋味以及香气，而且还决定着黄秋葵叶茶的营养价值。经测定，黄秋葵叶茶的主要滋味成分见表 2.2。

表 2.2 黄秋葵叶茶中主要滋味成分含量

Table 2.2 The contents of main taste components of okra leaf tea

滋味成分	含量（%, DW）	滋味成分	含量（mg/100 g, DW）
水浸出物	46.12±0.15	维生素 C	24.17±0.43
多酚	1.47±0.01	咖啡碱	6.43±0.28
游离氨基酸	1.70±0.02		
黄酮	1.18±0.01		

水浸出物是茶叶中能溶于热水的可溶性物质，其含量体现茶叶内含物质的多少，决定了茶汤的色泽、浓淡和口感，与茶叶品质成正相关^[54, 100]，国家标准中规定其含量应大于 34%^[98]，而黄秋葵叶茶中的水浸出物含量为 46.12%，符合国家标准。茶多酚是评价茶叶品质的重要指标，绿茶中的茶多酚含量为 18-30%^[100]，而黄秋葵叶茶的多酚含量仅为 1.47%，这说明因品种差异，黄秋葵叶茶中的多酚含量无法与绿茶媲美。但黄秋葵叶茶的多酚含量与桑叶茶（0.99%）^[107]、薄荷叶茶（1.30%）^[108]等较为接近，低于荷叶茶（5.21%）^[109]。虽然较低的多酚含量会影响黄秋葵叶茶的营养价值，但却大大降低了茶汤的苦涩感。游离氨基酸对茶汤鲜味的贡献率达到 70%^[110]，同时，其对茶叶香气的形成也起着重要作用，绿茶中游离氨基酸含量为 3-4%^[111]，黄秋葵叶茶中游离氨基酸含量为 1.70%，稍低于绿茶。黄酮类物质为茶汤提供苦涩味，且对茶叶的营养价值贡献较大。黄秋葵叶茶黄酮含量为 1.18%，稍高于桑叶茶（0.69%）^[107]、薄荷叶茶（0.47%）^[108]，低于荷叶茶（3.10%）^[109]。总体而言，由于多酚含量较低，游离氨基酸含量相对较高，酚氨比较低，因此，黄秋葵叶茶茶汤苦味淡而鲜爽。

茶叶中的酸味成分大部分是茶鲜叶中固有的^[100]，如维生素 C，虽然在加工过程中会损失部分维生素 C，但在加工完成的黄秋葵叶茶中仍有维生素 C 的存在，经测定其含量为 24.17 mg/100 g，维生素 C 一方面可以增加黄秋葵叶茶营养价值，另一方面也进一步丰富了茶汤滋味。咖啡碱是茶叶中主要的生物碱之一，主要为茶汤提供苦味，但它与多酚类及其氧化产物形成络合物后，就会减轻茶汤的苦涩味^[54, 111]。绿茶中的咖啡碱含量为 3-4%^[111]。王萍等^[112]研究表明，黄秋葵及其不同组织部位均不含咖啡碱，这与美国国家营养数据库（USDA）一致，但黄阿根等^[113]研究却发现黄秋葵种子中的咖啡碱含量达到 1%左右。因此，采用

HPLC 法对黄秋葵叶茶中的咖啡碱进行测定，结果见表 2.2 和图 2.1，可以看出黄秋葵叶茶中含有咖啡碱，且含量为 6.43 mg/100 g。由于咖啡碱含量较低，因此，可以随时饮用黄秋葵叶茶而不会影响正常休息。

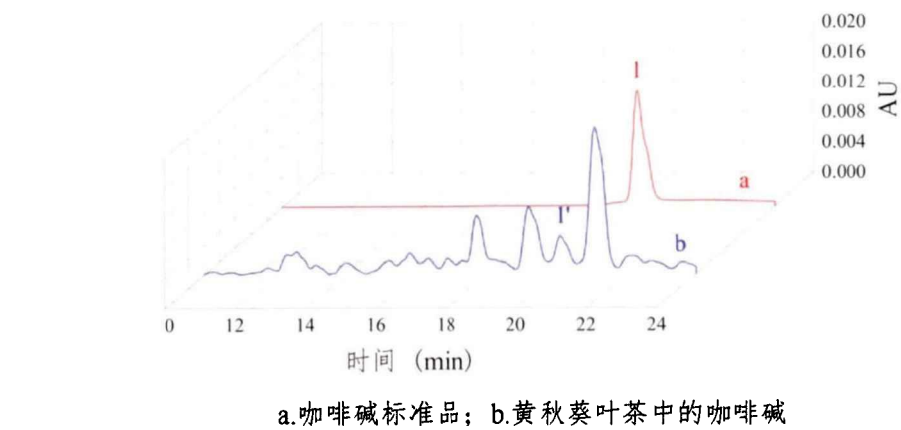


图 2.1 黄秋葵叶茶中咖啡碱及其标准品的液相色谱图

Fig.2.1 HPLC chromatograms of caffeine of okra leaf tea and standards

2.4.2.2 多酚类物质种类鉴定

茶中的多酚类物质会影响茶汤滋味和营养价值，因此有必要进一步了解其种类，采用 LC-MS/MS 分析黄秋葵叶茶中多酚类物质，具体结果见图 2.2 和表 2.3。

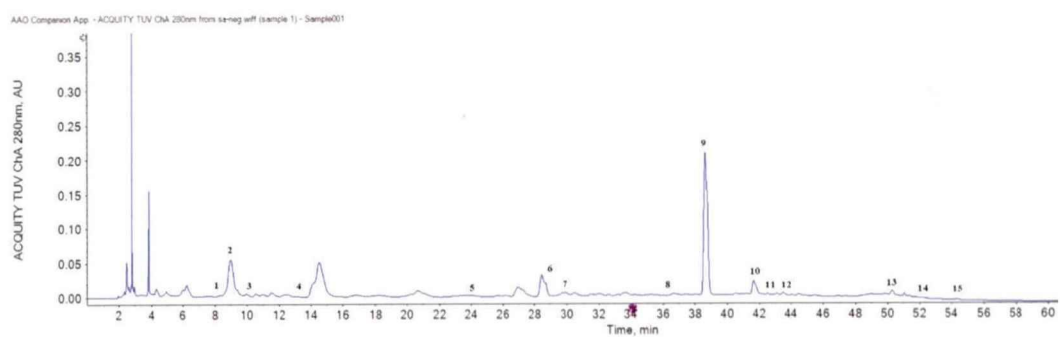


图 2.2 黄秋葵叶茶中多酚类物质的液相色谱图

Fig.2.2 LC chromatogram of polyphenols of okra leaf tea

由图 2.2 和表 2.3 可知，从黄秋葵叶茶中共鉴定出 15 种化合物，包括 5 种酚酸及其衍生物和 10 种黄酮类化合物，其中酚酸类化合物相对较少，经推测其可能为没食子酸（1）、原儿茶酸（3）和对香豆酸（5），此外，黄秋葵叶茶中可能还含有咖啡酸和羟基苯甲酸的衍生物（2 和 4），而 Arapitsas^[114]研究发现黄秋葵中含有多种羟基肉桂酸衍生物。

目前，对于黄秋葵中多酚类物质的研究大多集中在黄酮类化合物方面，主要包括原花青素，槲皮素及其衍生物和异槲皮苷等^[114-116]，Lu 等^[1]研究发现黄秋葵

表 2.3 黄秋葵茶叶中多酚类物质的 LC-MS/MS 结果

Table 2.3 LC-MS/MS results of polyphenols of okra leaf tea

类别	序号	保留时间 (min)	英文名称	中文名称	误差 (ppm)	MS [M-H] (m/z)	MS/MS (m/z)	分子式	参考文献
酚酸 及其 衍生物	1 ^a	8.72	Gallic acid	没食子酸	0.2	169.0143	169,125	C ₇ H ₆ O ₅	[117]
	2 ^b	8.95	Caffeoyl hexaric acid	咖啡酰己糖酸	-4.1	371.0620	209,191,179	C ₁₅ H ₁₆ O ₁₁	[118]
	3 ^a	9.42	Protocatechuic acid	原儿茶酸	4.6	153.0193	153,109,108,91	C ₇ H ₆ O ₄	[119]
	4 ^b	13.23	Protocatechuic acid-O-glucoside-xylopyranose	羟基苯甲酸衍生物	-3.1	447.1144	447,152,108	C ₁₈ H ₂₄ O ₁₃	[117]
	5 ^a	24.15	<i>p</i> -Hydroxycinnamic acid	对香豆酸	0.9	163.0401	119,93	C ₉ H ₈ O ₃	[120]
黄酮	6 ^b	28.91	Kaempferol-hexosyl-pentosyl-hexoside	山奈酚己糖基戊糖基己糖苷	-1.6	741.1884	741,579,446,284	C ₃₂ H ₃₈ O ₂₀	[121]
	7 ^b	29.49	5,7,4'-Trihydroxyflavanone-6,8-di-C-glucoside	5,7,4'-三羟基黄酮-6,8-二葡萄糖碳苷	-4.3	595.1668	595,475,385,355,313	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	
	8 ^b	36.12	Procyanidin trimer	原花青素三聚体	-3.6	865.1985	865,695,407,287	C ₄₅ H ₃₈ O ₁₈	[122]
	9 ^b	38.71	Quercetin-3-O-glucoside- xylopyranose	槲皮素-3-O-木糖基葡萄糖苷	4.3	595.1314	301,271	C ₂₇ H ₃₂ O ₁₅	[117]
	10 ^a	41.76	Isoquercitrin	异槲皮苷	-5.2	463.0882	463,300	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₂	
	11 ^b	42.12	Isorhamnetin-3-O-glucoside- xylopyranose	异鼠李素-3-O-木糖基葡萄糖苷	-4.9	609.1461	609,315,299	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	[114]
	12 ^a	44.61	Kaempferol-3-O-glucoside	紫云英苷	-5.6	447.0933	285	C ₂₁ H ₂₆ O ₁₁	[114]
	13 ^b	51.10	Kaempferol-deoxyhexosyl-hexoside	山奈酚脱氧己糖己糖苷	-6.4	593.1301	593,447,285,284,255	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	[117]
	14 ^a	52.12	Quercetin	槲皮素	-2.8	301.0354	301,178,151,121,107	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	[120]
	15 ^a	54.55	Isorhamnetin	异鼠李素	-3.3	315.0510	300,271,151	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	[117]

注：a 为基于标准品和参考文献推断，b 为基于质谱数据或参考文献推断。

中的低聚原花青素是抑制 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶的活性物质, 而黄秋葵叶茶中也可能含有原花青素三聚体 (8); Khomsug 等^[115]研究发现黄秋葵提取物中含有儿茶素和表儿茶素, 但经鉴定黄秋葵叶茶中不含有此类黄酮; 在黄酮类化合物的 LC-MS/MS 分析中, 槲皮素及以其为苷元的黄酮醇的特征碎片离子的 m/z 为 300 和 301, 山奈酚及以其为苷元的黄酮醇的特征碎片离子的 m/z 为 284 和 285^[117], 而化合物 9、10 和 6、12、13 的二级质谱中分别含有 m/z 为 300 (或 301) 和 284 (或 285) 的碎片离子, 说明黄秋葵叶茶中的黄酮类化合物主要是以槲皮素和山奈酚为苷元的黄酮醇; 其中, 化合物 9 的色谱峰在 LC 图谱中是最高的, 其二级质谱中含有 m/z 为 301, 说明它是一个以槲皮素为苷元的黄酮醇, 且一级质谱中碎片离子的 m/z 为 595, 两者之差为 294, 刚好与戊糖与己糖残基的分子量之和一致, 这与黄秋葵叶中一个已知的黄酮类化合物槲皮素-3-O- β -D-木糖基-(1 $\rightarrow$ 6)- α -D-葡萄糖苷的结构相符^[17], 因此, 化合物 9 可被确定; 此外, 经推测黄秋葵叶茶中可能含有槲皮素 (14) 和异鼠李素 (15) 及异鼠李素衍生物 (11) 等黄酮类化合物, 虽有研究表明黄秋葵提取物中含有少量芦丁^[115, 116], 但在黄秋葵叶茶中并未检测到。以上结果表明, 黄秋葵叶茶中富含黄酮类化合物, 而且黄酮醇在低浓度 (0.001-19.8 mM) 时就能够赋予茶汤丝滑口感^[123], 并对人体健康意义重大。

2.4.2.3 游离氨基酸种类及含量

每一种游离氨基酸都能够为茶汤提供独特的滋味, 包括甜、酸、苦、鲜味等, 它们彼此之间有协同增效的作用, 同时也可以与茶汤中的其它物质形成络合物, 进而赋予茶汤鲜爽滋味^[100]。此外, 游离氨基酸 (如 L-精氨酸) 还可与糖发生美拉德反应, 进而生成呋喃、吡嗪和吡咯等物质, 为茶叶提供烘烤香气^[111]。黄秋葵叶茶中游离氨基酸的分析结果见表 2.4。结果表明, 黄秋葵叶茶中含量较高的游离氨基酸为 GABA、Glu、Thr 和 Asp, 且 GABA 和 Glu 阈值相对较低, 故两者滋味占主导。其中 GABA 的含量高达 250.34 mg/100 g, 此前并未有研究报道过黄秋葵叶茶中含有 GABA。GABA 是一种受到广泛关注的非蛋白质氨基酸, 其在脑中浓度较高, 在中枢神经系统中作为抑制性神经递质而发挥作用^[124]。GABA 具有多种生理功能, 如稳定情绪、预防糖尿病和癌症等, 尤其在降血压方面具有显著效果^[124]。因此, 饮用黄秋葵叶茶对人体有极大的益处。

表 2.4 黄秋葵叶茶中游离氨基酸含量^[100, 125-127]

Table 2.4 The contents of free amino acids of okra leaf tea

游离氨基酸种类	含量 (mg/100 g, DW)	滋味	阈值 ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
天冬氨酸 (Asp)	92.12	鲜、酸味	998
半胱氨酸 (Cys)	6.20	甜、苦味	-
甲硫氨酸 (Met)	4.90	苦味	750
苯丙氨酸 (Phe)	29.33	苦味	9600
异亮氨酸 (Ile)	26.43	苦味	-
γ -氨基丁酸 (GABA)	250.34	涩味	2.1
苏氨酸 (Thr)	97.26	甜味	4765
丝氨酸 (Ser)	33.09	甜味	3153
谷氨酸 (Glu)	155.38	鲜甜带酸	29.4
丙氨酸 (Ala)	54.55	甜味	710
缬氨酸 (Val)	44.14	苦味	-
甘氨酸 (Gly)	4.21	甜味	-
组氨酸 (His)	18.70	苦味	7760
脯氨酸 (Pro)	3.20	甜而回味苦	2330
亮氨酸 (Leu)	12.72	苦味	1573
酪氨酸 (Tyr)	12.73	苦味	906
赖氨酸 (Lys)	22.01	甜、苦味	13160
精氨酸 (Arg)	9.15	甜而回味苦	13065

2.4.3 色泽成分分析

2.4.3.1 叶绿体色素含量

茶叶的色泽主要包括干茶色泽、汤色和叶底色泽，在绿茶加工过程中，大部分叶绿素得以保留，从而使干茶和叶底色泽呈现绿色^[100]。除了叶绿素及其转化产物外，类胡萝卜素也属于干茶和叶底色泽的主体成分。而绿茶汤色主要由水溶性色素构成，但叶绿素虽属脂溶性色素，却可通过两种形式影响茶汤颜色，一是以微细的胶质状或油状悬浮于茶汤中；二是在绿茶制造中少量转化为可溶于水的

降解产物^[100]。采用 Arnon 公式计算黄秋葵叶茶中叶绿体色素含量,结果见图 2.3,其中叶绿素总量为 6.77 mg/g,蓝绿色的叶绿素 a 为 5.37 mg/g,黄绿色的叶绿素 b 为 1.40 mg/g,叶绿素 a 含量明显高于叶绿素 b,而黄色的类胡萝卜素为 1.53 mg/g。研究表明,绿茶中叶绿素含量为 1-5 mg/g^[111],黄秋葵叶茶中叶绿素含量高于绿茶,因此,黄秋葵叶茶干茶主要呈现鲜明的绿色。

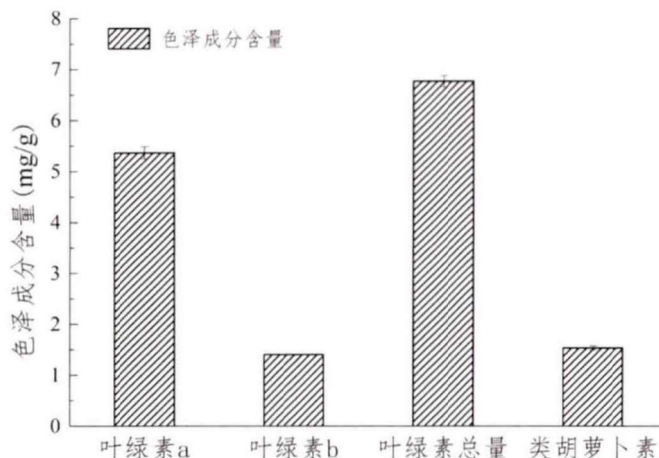
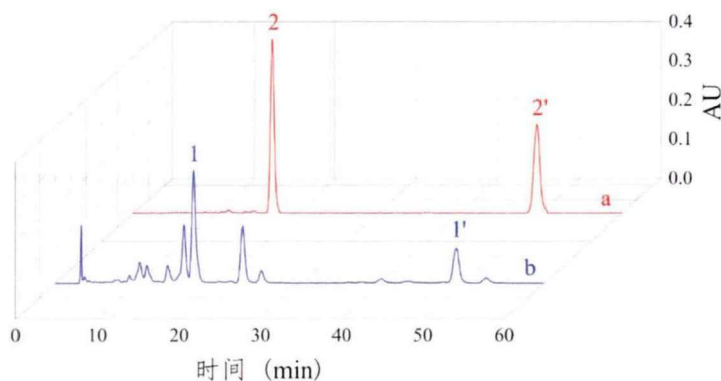


图 2.3 黄秋葵叶茶中叶绿体色素含量

Fig.2.3 The contents of chloroplast pigments of okra leaf tea

2.4.3.2 叶黄素和 β -胡萝卜素含量

黄秋葵叶中的类胡萝卜素一直是人们研究的重点,但人们将更多的关注点放在了其对于禽蛋的着色上面。实际上,类胡萝卜素的存在对于黄秋葵叶茶的加工而言意义重大。类胡萝卜素一方面会影响茶叶色泽,另一方面可以作为挥发性香气的前体物质,其通过氧化降解和裂解反应生成一系列具有香甜花香的物质^[111],如由 β -胡萝卜素可生成 β -紫罗酮,由叶黄素可生成萜类醛酮等^[99]。由 2.4.3.1 可知,黄秋葵叶茶中的类胡萝卜素总量达到 153.42 mg/100 g。采用 HPLC 法对其中的叶黄素和 β -胡萝卜素进行分析,结果见图 2.4,1 和 1'代表叶黄素,2 和 2'代表 β -胡萝卜素,黄秋葵叶茶中叶黄素含量为 97.44 mg/100 g, β -胡萝卜素含量为 29.06 mg/100 g,叶黄素含量明显高于 β -胡萝卜素,且前者为后者的 3 倍多。



a. 叶黄素和 β -胡萝卜素标准品；b. 黄秋葵叶茶中的叶黄素和 β -胡萝卜素

图 2.4 黄秋葵叶茶中叶黄素和 β -胡萝卜素及其标准品的液相色谱图

Fig.2.4 HPLC chromatograms of lutein and β -carotenoids of okra leaf tea and standards

2.4.4 香气成分分析

茶叶香气成分含量虽然微乎其微，但其对于茶叶品质影响较大，迄今为止，已鉴定的茶叶香气物质超过 600 种，它们可分为 15 大类^[100]。茶叶香气物质一部分来自于茶鲜叶本身，一部分来自于加工过程。研究发现，这些香气物质主要由 4 个途径产生，分别是以类胡萝卜素、脂类和糖苷类物质作为前体经一系列变化而形成，或经美拉德反应而产生^[99]，而不同的香气成分组合起来会赋予茶叶独特的风味。因此，分析黄秋葵叶茶的香气成分对于评价其品质至关重要。

采用 SPME 提取后，对黄秋葵叶茶干茶进行 GC-MS 分析，其总离子流图见图 2.5，各组分质谱通过计算机在 NIST 11 谱库匹配及相关文献分析，确定化合物种类，采用面积归一化法得到各组分的相对含量，最终黄秋葵叶茶香气成分分析结果见表 2.5。

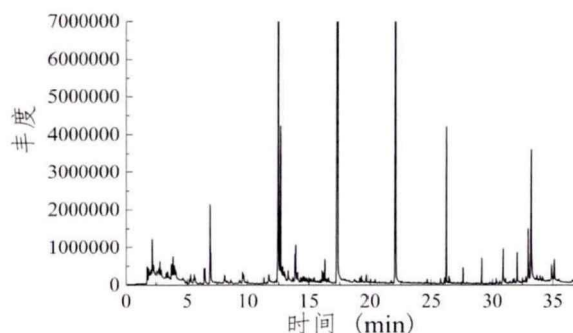


图 2.5 黄秋葵叶茶香气成分总离子流图

Fig.2.5 Total ion chromatogram of aroma components of okra leaf tea

表 2.5 黄秋葵叶茶中香气成分分析

Table 2.5 Analysis of aroma components of okra leaf tea

类别	序号	保留时间 (min)	中文名称	英文名称	相对含量 (%)	香气描述
醇类	1	5.667	顺-2-戊烯-1-醇	2-Penten-1-ol, (Z)-	2.58±0.17	绿叶清香
	2	16.451	2,6-二甲基环己醇	Cyclohexanol, 2,6-dimethyl-	1.34±0.01	
醛类	3	3.281	异戊醛	Butanal, 3-methyl-	3.72±0.51	可可、杏仁味
	4	5.281	反-2-戊烯醛	2-Pentenal, (E)-	3.49±0.33	草莓、水果香
	5	6.438	己醛	Hexanal	7.35±0.15	青草味
	6	8.059	青叶醛	2-Hexenal, (E)-	4.27±0.15	绿叶清香、水果香
	7	9.697	庚醛	Heptanal	2.19±0.23	甜杏、坚果香
	8	11.507	顺-2-庚烯醛	2-Heptenal, (Z)-	0.63±0.02	油脂、蘑菇清香
	9	11.661	苯甲醛	Benzaldehyde	5.72±0.43	苦杏仁、坚果香
	10	12.819	反,反-2,4-庚二烯醛	2,4-Heptadienal, (E,E)-	10.60±0.30	青草、水果香
	11	14.338	苯乙醛	Benzeneacetaldehyde	1.92±0.08	风信子、水果香
	12	16.279	壬醛	Nonanal	5.27±0.19	清新、玫瑰香
	13	19.733	β -环柠檬醛	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	1.81±0.04	具凉香、果香和清香
	14	30.31	肉豆蔻醛	Tetradecanal	0.56±0.01	柑橘、鳶尾样香
酮类	15	25.787	香叶基丙酮	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)-	0.89±0.05	青甜香、玫瑰香
	16	26.5	β -紫罗酮	trans-.beta.-Ionone	1.01±0.01	木香、紫罗兰香
酯类	17	27.497	二氢猕猴桃内酯	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	0.55±0.06	水果香、茶香
烷烃类	18	12.973	正癸烷	Decane	2.96±0.05	
	19	16.16	正十一烷	Undecane	2.32±0.02	
	20	19.175	正十二烷	Dodecane	2.09±0.07	
	21	24.66	正十四烷	Tetradecane	1.10±0.01	
烯烃类	22	9.364	苯乙烯	Styrene	3.42±0.08	木质清香
	23	13.917	D-柠檬烯	D-Limonene	6.93±0.40	柑橘、薄荷清香
芳香烃	24	8.64	对二甲苯	<i>p</i> -Xylene	2.24±0.07	香甜气味
	25	13.756	邻伞花烃	<i>o</i> -Cymene	0.67±0.02	木质清香
	26	18.754	萘	Naphthalene	2.88±0.09	温和芳香气味
其他	27	2.177	二甲基硫醚	Dimethyl sulfide	17.02±0.61	卷心菜清香
	28	10.023	2,6-二甲基吡嗪	Pyrazine, 2,6-dimethyl-	1.47±0.21	具有咖啡和炒花生的气味

从黄秋葵叶茶干茶中共分离鉴定出 28 种物质，主要包括醛类 12 种，醇类 2

种, 酮类 2 种, 酯类 1 种, 烷烃类 4 种, 烯烃类 2 种, 芳香烃类 3 种, 其他 2 种。醛类化合物是黄秋葵叶茶挥发性香气的主要成分之一, 占挥发性物质总含量的 47.53%, 它们大部分以不饱和脂肪酸, 如 α -亚麻酸、亚油酸、油酸及棕榈酸等作为前体物质^[99], 其中青叶醛 (4.27%)、己醛 (7.35%) 能够为黄秋葵叶茶提供青草香; β -环柠檬醛 (1.81%) 是类胡萝卜素氧化降解产物, 属于萜类化合物, 具有水果清香; 而由亮氨酸氧化后生成的异戊醛 (3.72%), 苯丙氨酸氧化后生成的苯乙醛 (1.92%), 以及庚醛 (2.19%)、苯甲醛 (5.72%)、壬醛 (5.27%) 等都被认为是使茶叶具有栗子香的关键香气成分^[128], 所以醛类化合物对黄秋葵叶茶的香气贡献较大。醇类化合物相对较少, 仅占挥发性物质总含量的 3.92%, 其中顺-2-戊烯-1-醇 (2.58%) 也能够提供绿叶清香。酮类化合物虽然仅占挥发性物质总含量的 1.90%, 但其对于黄秋葵叶茶的香气意义重大。香叶基丙酮的相对含量为 0.89%, 其具有玫瑰花香, 能够使香气更加圆润^[55]; 而 β -紫罗酮的相对含量为 1.01%, 它是绿茶的典型香气成分之一, 由 β -胡萝卜素降解而产生, 具有紫罗兰香且阈值较低 (0.007 ppb)^[99], 对黄秋葵叶茶香气贡献较大。仅检测到 1 种酯类物质是二氢猕猴桃内酯, 其相对含量为 0.55%, 它是红茶的特征香气成分之一, 由 β -胡萝卜素经酶促氧化而产生^[99], 具有水果清香。烷烃类化合物占挥发性物质总含量的 8.47%, 其一般无气味或气味微弱^[129], 对黄秋葵叶茶香气贡献较小。烯烃类化合物占挥发性物质总含量的 10.35%, 其中 D-柠檬烯 (6.93%) 相对含量较高, 它属于萜烯类化合物, 具有薄荷清香。侯鹏娟等^[130]对黄秋葵籽中挥发性成分进行分析, 发现其中也含有 D-柠檬烯、香茅烯等带有花香和木香气息的萜烯类化合物。芳香烃类化合物占挥发性物质总含量的 5.79%, 其中对二甲苯 (2.24%) 和邻伞花烃 (0.67%) 也有一定的助香作用。含硫化合物二甲基硫醚是新茶的香气成分, 其相对含量高达 17.02%, 它的形成与甲硫氨酸密切相关^[99], 被认为是绿茶清香的原由^[100], 且其阈值较低, 故推测其可能是黄秋葵叶茶特征香气成分之一。吡嗪类化合物 2,6-二甲基吡嗪是典型的美拉德反应产物, 其相对含量为 1.47%, 能够为黄秋葵叶茶提供焦糖香和烘烤香。总体而言, 黄秋葵叶茶干茶具有多种绿茶特征香气成分, 当它们组合到一起后会发生微妙的变化, 进而赋予黄秋葵叶茶独特的香气特征。而它们对于黄秋葵叶茶香气的贡献程度还需通过气味活性值 (OAV) 及气相色谱-嗅味仪 (GC-O) 等进行进一步表征。

2.5 本章小结

(1) 按照绿茶加工工艺制成黄秋葵叶茶, 对其基本成分进行测定, 发现其水分 (5.01%), 粗纤维 (10.99%) 含量都符合国家标准, 总灰分含量 (14.77%) 因品种原因高于国家标准; 且粗蛋白 (25.92%)、总糖 (11.41%)、多糖 (3.56%) 含量较高, 尤其是糖类能够增加黄秋葵叶茶的甜醇味, 使茶汤口感更加醇厚; 矿物质元素 K、Ca、Na、Mg 含量相对较高, 且具有较高的 K/Na, 益于人体健康。

(2) 黄秋葵叶茶水浸出物含量 (46.12%) 符合国家标准, 滋味成分多酚含量 (1.47%) 较低, 游离氨基酸含量 (1.70%) 相对较高, 较低的酚氨比使得黄秋葵叶茶茶汤味淡而鲜爽; 进一步分析其多酚类物质组成, 发现黄酮类化合物种类较多, 且主要是以槲皮素和山奈酚为苷元的黄酮醇, 能够赋予茶汤丝滑口感; 分析其游离氨基酸组成, 发现 γ -氨基丁酸含量高达 250.34 mg/100 g, 且 γ -氨基丁酸和谷氨酸阈值相对较低, 故两者滋味占主导; 而维生素 C (24.17 mg/100 g) 虽对滋味影响较小, 但能进一步丰富茶汤滋味; 此外, 还检测到少量咖啡碱 (6.43 mg/100 g)。

(3) 黄秋葵叶茶干茶呈现鲜明的绿色, 其色泽成分叶绿素 (6.77 mg/g) 高于绿茶, 其中蓝绿色的叶绿素 a (5.37 mg/g) 高于黄绿色的叶绿素 b (1.40 mg/g); 黄色的类胡萝卜素 (153.42 mg/100 g) 中, 叶黄素含量 (97.44 mg/100 g) 是 β -胡萝卜素 (29.06 mg/100 g) 的 3 倍多。

(4) 从黄秋葵叶茶干茶中共分离鉴定出 28 种物质, 其中醛类化合物含量达到 47.53%, 对黄秋葵叶茶的香气贡献较大。二甲基硫醚 (17.02%)、反,反-2,4-庚二烯醛 (10.60%)、己醛 (7.35%)、D-柠檬烯 (6.93%)、壬醛 (5.27%)、 β -环柠檬醛 (1.81%)、2,6-二甲基吡嗪 (1.47%) 以及 β -紫罗酮 (1.01%) 等都属于黄秋葵叶茶特征香气物质, 它们相互作用, 共同赋予黄秋葵叶茶独特的香气。

第三章 黄秋葵叶茶冲泡条件优化

不同的冲泡条件会影响茶叶中营养成分的浸出及茶汤的品质,为了使茶叶实现营养价值的最大化,国内外学者分别以抗氧化活性、感官品质、功效成分等指标,对冲泡茶水比、温度、时间、水质及次数等条件进行优化,并针对不同茶叶各自的特征探索出了不同的冲泡条件^[3, 60, 63, 64]。因此,对于黄秋葵叶茶而言,确定合适的冲泡条件能够提高茶汤营养价值,有利于黄秋葵叶茶资源的充分利用。

本章利用感官评价和色差分析对黄秋葵叶茶的冲泡条件进行初步筛选,并在此基础上以茶汤中的主要功效成分多酚和 GABA 含量为指标,采用单因素和正交试验优化黄秋葵叶茶冲泡条件,并对最佳冲泡条件下的茶汤感官品质进行分析,旨在通过优化冲泡条件使黄秋葵叶茶茶汤具有较高的营养价值,为黄秋葵叶茶的开发利用提供理论参考。

3.1 材料与仪器

3.1.1 材料与试剂

材料:按 2.2.1 加工工艺制得的黄秋葵叶茶成品。

试剂:磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、谷氨酸、福林酚为生化试剂,甲醇、苯酚、十水四硼酸钠、氢氧化钠、抗坏血酸、无水碳酸钠、葡萄糖、氯化铝均为分析纯,浓硫酸为优级纯,购自国药集团化学试剂有限公司;芦丁,购自安耐吉化学有限公司;GABA (99%),交联聚乙烯吡咯烷酮、水合茚三酮均为分析纯, β -巯基乙醇为生物技术级,购自上海麦克林生化科技有限公司;邻苯二甲醛(98%),氯化亚锡、乙酸钾、没食子酸均为分析纯,甲酸为色谱纯,购自阿拉丁试剂有限公司;甲醇为色谱纯,购自 TEDIA 有限公司。

3.1.2 设备与仪器

磁力搅拌水浴锅	金坛市良友仪器有限公司
JA1003N 电子天平	上海菁海仪器有限公司
Waters e2695 高效液相色谱仪	美国 Waters 公司
UV-2550 紫外可见分光光度计	日本 SHIMADZU 公司
Vortex Mixers	杭州米欧仪器有限公司
Color Flex EZ 色差仪	美国 Hunter Lab

手动 SPME 进样器	美国 Supelco 公司
7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪	美国 Agilent 公司
50/30 μm DVB/CAR/PDMS 萃取头	美国 Supelco 公司
DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器	杭州杰尔实验仪器设备有限公司

3.2 试验方法

3.2.1 冲泡条件的筛选

采用 GB/T 23776—2009 茶叶感官审评方法中的评审专用杯碗作为黄秋葵叶茶冲泡用具, 利用感官评价和色差分析对冲泡茶水比 (g/mL)、冲泡温度 ($^{\circ}\text{C}$) 和冲泡时间 (min) 进行筛选。

冲泡茶水比的筛选: 准确称取黄秋葵叶茶, 在冲泡温度 95°C , 时间 5 min 条件下, 用纯净水分别以 1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70、1:80、1:90、1:100 (g/mL) 茶水比进行冲泡, 筛选出合适的茶水比范围。

冲泡温度的筛选: 准确称取黄秋葵叶茶, 在冲泡茶水比 1:50 (g/mL), 时间 5 min 条件下, 分别用温度为 55、65、75、85、 95°C 的纯净水进行冲泡, 筛选出合适的温度范围。

冲泡时间的筛选: 准确称取黄秋葵叶茶, 在冲泡温度 95°C , 茶水比 1:50 (g/mL) 条件下, 用纯净水分别冲泡 1、3、5、7、10、15、20 min, 筛选出合适的时间范围。

3.2.2 感官评价

根据 3.2.1 对黄秋葵叶茶进行冲泡, 参考 GB/T 23776—2009 茶叶感官审评方法中的审评标准对茶汤的汤色、香气和滋味进行评价, 评价地点为浙江大学生工食品学院二楼感官评定室, 感官审评小组为经过感官评价培训的食品专业学生 15 人, 具体评价品质评语与因子评分见表 3.1。

表 3.1 黄秋葵叶茶品质评语与因子评分表

Table 3.1 Okra leaf tea quality evaluation and factor assessment

因子	品质特征	给分	评分系数
汤色	黄绿、明亮	90-99	15%
	嫩黄、较明亮	80-89	
	深黄或浅黄、欠亮或浑浊	70-79	
香气	花香、甜香	90-99	40%
	清香、火工香	80-89	
	熟闷、青气	70-79	
滋味	醇厚、鲜美	90-99	45%
	较醇厚、清爽	80-89	
	寡淡、浓涩	70-79	

3.2.3 汤色测定

使用色差仪测量各样品茶汤颜色参数。颜色参数用三色参数表示，分别为 L*、a*和 b*，其中 L*为明度指数，a*和 b*为色品指数。

3.2.4 冲泡条件的优化

3.2.4.1 单因素试验

以多酚和 GABA 含量为指标，分别考察茶水比（g/mL）、冲泡温度（℃）和冲泡时间（min）对各个指标的影响。

冲泡茶水比的选择：准确称取黄秋葵叶茶，在冲泡温度 95℃，时间 5 min 条件下，用纯净水分别以 1:40、1:50、1:60、1:70、1:80（g/mL）茶水比进行冲泡，确定 3 个合适的冲泡茶水比。

冲泡温度的选择：准确称取黄秋葵叶茶，在茶水比 1:70（g/mL），冲泡时间 5 min 条件下，分别以温度为 75、80、85、90、95℃的纯净水进行冲泡，确定 3 个合适的冲泡温度。

冲泡时间的选择：准确称取黄秋葵叶茶，在冲泡温度 95℃，茶水比 1:70(g/mL) 条件下，用纯净水分别冲泡 3、5、7、10、15 min，确定 3 个合适的冲泡时间。

3.2.4.2 正交试验

在单因素试验的基础上，选取冲泡茶水比（A₁、A₂、A₃，g/mL）：1:60、1:70、

1:80; 冲泡时间 (B₁、B₂、B₃): 3、5、7 min; 冲泡温度 (C₁、C₂、C₃): 85、90、95 °C, 采用 L⁹ (3³) 正交表进行三因素三水平正交试验, 正交试验因素和水平见表 3.2。

表 3.2 黄秋葵叶茶冲泡条件优化正交试验因素水平表

Table 3.2 Coded levels of factors used in orthogonal array design for optimization of brewing conditions of okra leaf tea

因素	A 茶水比 (g/mL)	B 时间 (min)	C 温度 (°C)
水平 1	1:60	3	85
水平 2	1:70	5	90
水平 3	1:80	7	95

3.2.5 主要滋味成分的测定

多酚、水浸出物、黄酮、可溶性总糖、游离氨基酸含量的测定参见第二章 2.2.2。

3.2.6 GABA 含量的测定

3.2.6.1 样品制备

参照 Wu^[131] 等方法, 采用邻苯二甲醛柱前衍生法测定 GABA 含量。准确吸取 5 mL 冲泡好的茶汤, 加入 0.5 g 交联聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP), 室温下静置 30 min 后, 离心取上清液, 待测。

衍生试剂配制方法: 准确称取 150 mg 邻苯二甲醛 (OPA), 加入 3 mL 甲醇溶解, 再加入 27 mL 0.1 mol/L 四硼酸钠缓冲溶液 (pH 9.5), 最后加入 0.5 mL β-巯基乙醇, 混合均匀后, 加入 30 mg 维生素 C。将衍生试剂与处理好的样品溶液按照 1:1 的比例混合, 通过 0.22 μm 滤膜, 快速上机分析。

3.2.6.2 色谱条件

色谱柱: Spuril C18 (250×4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 10 mmol/L 磷酸缓冲溶液 (pH 4.5), B 为甲醇, 梯度洗脱: 0-17 min, 90-46% A; 17-23 min, 46-10% A; 23-30 min, 10-90% A, 流速为 1.0 mL/min, 柱温 30 °C, 进样体积 10 μL, 检测波长设置为 338 nm。

3.2.7 GC-MS 分析

3.2.7.1 HS-SPME

准确吸取 5 mL 黄秋葵叶茶茶汤，置于 20 mL 样品瓶中，加入饱和氯化钠溶液和磁子，在 60 °C 水浴条件下静置 10 min，顶空达到平衡后，插入装有 50/30 μm DVB/CAR/PDMS 型 SPME 装置，并推出萃取头吸附黄秋葵叶茶中的挥发性物质，保持时间为 30 min，然后快速取出，插入 GC-MS 进样口，250 °C 解吸附 3 min。

3.2.7.2 GC-MS 条件

色谱柱：DB-5 毛细管色谱柱（30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm ），柱温 40 °C；载气为 He 气，流速 1.5 mL/min。色谱条件：进样口温度 250 °C，不分流；升温程序：起始温度 40 °C，保持 3 min，以 5 °C/min 升温至 150 °C，再以 10 °C/min 升温至 250 °C，保持 3 min。

质谱条件：电离方式为 EI；电子能量 70 eV；离子源温度 230 °C，接口温度 250 °C；灯丝电流 150 μA ；扫描质量范围为 30-500 amu。

3.2.7.3 定性定量方法

各组分质谱通过计算机在 NIST 11 谱库匹配及相关文献分析，确定化合物种类，采用面积归一化法得到各组分的相对含量。

3.3 数据分析

每个实验重复 3 次，结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 Microsoft Excel 软件对数据进行整理，Origin 9 软件作图以及 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。

3.4 结果分析

3.4.1 冲泡条件的筛选

3.4.1.1 冲泡茶水比的筛选

在冲泡温度 95 °C，时间 5 min，不同茶水比条件下对黄秋葵叶茶进行冲泡，冲泡好的茶汤见图 3.1，对茶汤进行感官审评并利用色差仪对茶汤颜色进行分析，结果见表 3.3。



图 3.1 不同冲泡茶水比下黄秋葵叶茶茶汤

Fig.3.1 Okra leaf tea infusions under different ratio of tea to water

表 3.3 不同冲泡茶水比下黄秋葵叶茶茶汤颜色参数及感官评分

Table 3.3 Color parameters and sensory evaluation of okra leaf tea under different ratio of tea to

water				
茶水比 (g/mL)	L*	a*	b*	感官评分
1:20	38.97±0.07g	17.76±0.03a	59.19±0.11a	75.73±2.29d
1:30	45.72±0.25f	10.86±0.13b	55.01±0.06b	77.67±0.29cd
1:40	47.68±0.33e	8.00±0.06c	50.61±0.23c	80.60±1.87abc
1:50	52.02±0.13d	4.14±0.06d	47.87±0.12d	81.93±2.20ab
1:60	53.06±0.10c	3.33±0.08e	45.82±0.08e	82.85±1.61a
1:70	53.33±0.18b	2.99±0.06f	42.76±0.14f	83.46±1.58a
1:80	53.48±0.14b	3.01±0.06f	42.86±0.03f	82.14±1.26ab
1:90	55.04±0.16a	2.21±0.08g	41.05±0.03g	80.24±1.00abc
1:100	55.45±0.13a	0.36±0.03h	38.20±0.02h	79.33±2.25bc

注：同列中不同字母表示差异达到显著性水平 ($p<0.05$)。

L*为明度指数，a*、b*为色品指数，其中 a*表示红色至绿色，正值为红色，负值为绿色；b*表示蓝色至黄色，正值为黄色，负值为蓝色。由图 3.1 和表 3.3

可知， L^* 值为正， a^* 值为正，茶汤呈红色， b^* 值为正，茶汤呈黄色。随着茶水比的减小， L^* 值由 38.97 升至 55.45，茶汤明度变大， a^* 值和 b^* 值在茶水比 1:70 和 1:80 处出现微小波动，但整体呈现下降趋势， a^* 值由 17.76 降至 0.36， b^* 值由 59.19 降至 38.20，茶汤红色和黄色由深变浅，这是由于茶水比的减少导致水浸出物浓度的减少，因此茶汤颜色变浅。结合感官评分可知，当茶水比为 1:20 和 1:30 时，茶汤明度较低，颜色较深，且感官评分较低，滋味苦涩；当茶水比为 1:90 和 1:100 时，茶汤明度较高，但颜色较浅，且感官评分较低，滋味寡淡，这说明茶水比过大或过小都难以被消费者接受，因此，最终确定的茶水比范围是 1:40-1:80 (g/mL)。

3.4.1.2 冲泡温度的筛选

在冲泡茶水比 1:50 (g/mL)，时间 5 min，不同温度下对黄秋葵叶茶进行冲泡，冲泡好的茶汤见图 3.2，对茶汤进行感官审评并利用色差仪对茶汤颜色进行分析，结果见表 3.4。

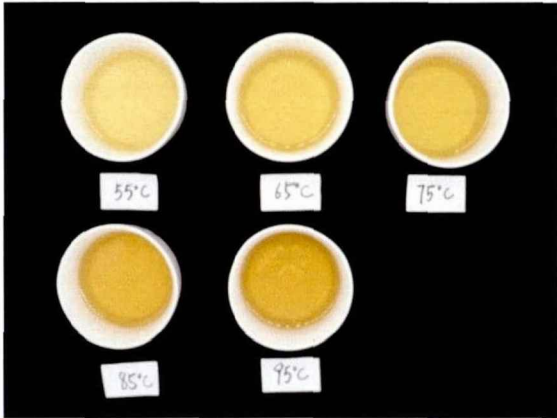


图 3.2 不同冲泡温度下黄秋葵叶茶茶汤

Fig.3.2 Okra leaf tea infusions under different temperatures

由图 3.2 和表 3.4 可知， L^* 值为正， a^* 值由负变正，茶汤由绿色变为红色， b^* 值为正，茶汤呈黄色。随着温度的升高， L^* 值由 60.34 降至 52.02，茶汤明度减小， a^* 值由 -2.41 升至 4.14，且在温度较低阶段为负值，茶汤绿色由深变浅，此时，汤色可能以叶绿素等物质的颜色为主^[132]，其以微细的胶质状或油状悬浮于茶汤中进而影响茶汤颜色^[100]， a^* 值在温度较高阶段为正值，茶汤红色由浅变深， b^* 值由 28.89 升至 47.87，茶汤黄色由浅变深，这是由于升高温度能够让茶叶中水浸出物更多地溶出，因此茶汤颜色加深。结合感官评分可知，温度在 55 °C 和

65℃时，茶汤明度较高，颜色较浅，且感官评分较低，这是由于较低的温度使得茶叶中的水浸出物溶出量减少，因此滋味寡淡；而温度在 75℃、85℃和 95℃时，茶汤明度虽略有下降，但颜色加深，且感官评分较高，这是由于较高的温度使得茶叶中的水浸出物溶出量增加，茶汤滋味更加醇厚，更易被消费者接受，因此，最终确定的冲泡温度是 75-95℃。

表 3.4 不同冲泡温度下黄秋葵叶茶茶汤颜色参数及感官评分

Table 3.4 Color parameters and sensory evaluation of okra leaf tea under different temperatures

温度（℃）	L*	a*	b*	感官评分
55	60.34±1.90a	-2.41±0.05e	28.89±0.31e	76.15±1.83b
65	59.71±0.21ab	-1.61±0.08d	33.08±0.06d	76.77±1.02b
75	58.39±0.06b	-0.72±0.03c	35.80±0.06c	79.94±1.37a
85	55.13±0.06c	2.20±0.06b	43.28±0.10b	80.84±1.67a
95	52.02±0.13d	4.14±0.06a	47.87±0.12a	81.93±2.20a

注：同列中不同字母表示差异达到显著性水平（ $p<0.05$ ）。

3.4.1.3 冲泡时间的筛选

在冲泡温度 95℃，茶水比 1:50（g/mL），不同时间条件下对黄秋葵叶茶进行冲泡，冲泡好的茶汤见图 3.3，对茶汤进行感官审评并利用色差仪对茶汤颜色进行分析，结果见表 3.5。

由图 3.3 和表 3.5 可知，L*值为正，a*值由负变正，茶汤由绿色变为红色，b*值为正，茶汤呈黄色。随着时间的增加，L*值由 59.87 降至 47.45，茶汤明度减小，a*值由-2.15 升至 9.34，且仅在时间为 1 min 时为负值，茶汤呈绿色，而后随冲泡时间延长，a*值变为正值，茶汤红色由浅变深，b*值由 31.69 升至 54.31，茶汤黄色由浅变深，这是由于延长冲泡时间能够让茶叶中的水浸出物充分地溶出，因此茶汤颜色加深。结合感官评分可知，当冲泡时间为 1 min 时，茶汤明度较高，颜色较浅，感官评分较低，此时茶叶中水浸出物并没有充分溶出，茶汤滋味寡淡；当冲泡时间为 20 min 时，茶汤明度较低，颜色较深，感官评分较低，此时，茶叶中水浸出物溶出过多，茶汤滋味苦涩；这说明冲泡时间过短或过长都难以被消费者接受，因此，最终确定的冲泡时间是 3-15 min。

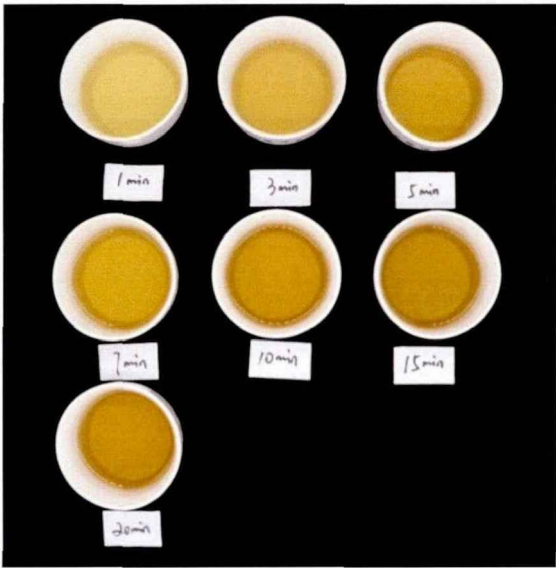


图 3.3 不同冲泡时间下黄秋葵叶茶茶汤

Fig.3.3 Okra leaf tea infusions under different time

表 3.5 不同冲泡时间下黄秋葵叶茶茶汤颜色参数及感官评分

Table 3.5 Color parameters and sensory evaluation of okra leaf tea under different time

时间（min）	L*	a*	b*	感官评分
1	59.87±0.12a	-2.15±0.04f	31.69±0.09g	77.65±1.08b
3	56.45±0.16b	0.76±0.05e	40.75±0.06f	80.93±1.70a
5	52.02±0.13c	4.14±0.06d	47.87±0.12e	81.93±2.20a
7	51.02±0.16d	4.31±0.04d	49.74±0.28d	82.22±1.01a
10	50.26±0.27e	6.68±0.14c	51.00±0.12c	80.46±2.31ab
15	48.68±0.28f	8.02±0.23b	52.35±0.02b	80.18±1.64ab
20	47.45±0.12g	9.34±0.06a	54.31±0.02a	79.42±2.16ab

注：同列中不同字母表示差异达到显著性水平（ $p<0.05$ ）。

3.4.2 冲泡条件的优化

3.4.2.1 单因素试验

（1）冲泡茶水比对黄秋葵叶茶茶汤中的多酚和 GABA 含量的影响

选取 1:40、1:50、1:60、1:70、1:80（g/mL）茶水比对黄秋葵叶茶进行冲泡，茶汤中的多酚和 GABA 含量见图 3.4。

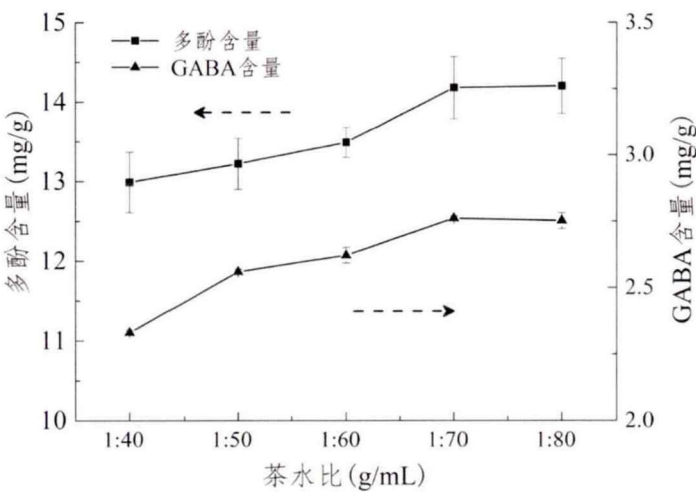


图 3.4 冲泡茶水比对黄秋葵叶茶茶汤中的多酚和 GABA 含量的影响

Fig.3.4 Effect of ratio of tea to water on the contents of polyphenols and γ -aminobutyric acid in infusions

由图 3.4 可知，在冲泡温度 95 ℃，时间 5 min 条件下，随着茶水比的减小，茶汤中的多酚和 GABA 含量呈现先逐渐增加后趋于平稳的趋势，两者含量均从 1:70 (g/mL) 开始基本趋于平稳，虽有微小波动，但未达到显著性差异 ($p>0.05$)。冲泡用水量影响茶叶与水的接触面积，进而影响茶叶中营养物质的溶出，在 1:40-1:70 (g/mL) 之间，随着冲泡用水量的增加，茶叶与水的接触面积增大，多酚和 GABA 的溶出量随之增加，当茶水比达到 1:70 (g/mL) 时，黄秋葵叶茶中的多酚和 GABA 已大部分溶出，继续增加冲泡水量并不能增加营养物质的含量，反而会使茶汤颜色变浅，滋味寡淡。因此，黄秋葵叶茶的冲泡茶水比选择 1:60、1:70、1:80 (g/mL) 为宜。

(2) 冲泡温度对黄秋葵叶茶茶汤中的多酚和 GABA 含量的影响

选取温度为 75、80、85、90、95 ℃的水对黄秋葵叶茶进行冲泡，茶汤中的多酚和 GABA 含量见图 3.5。

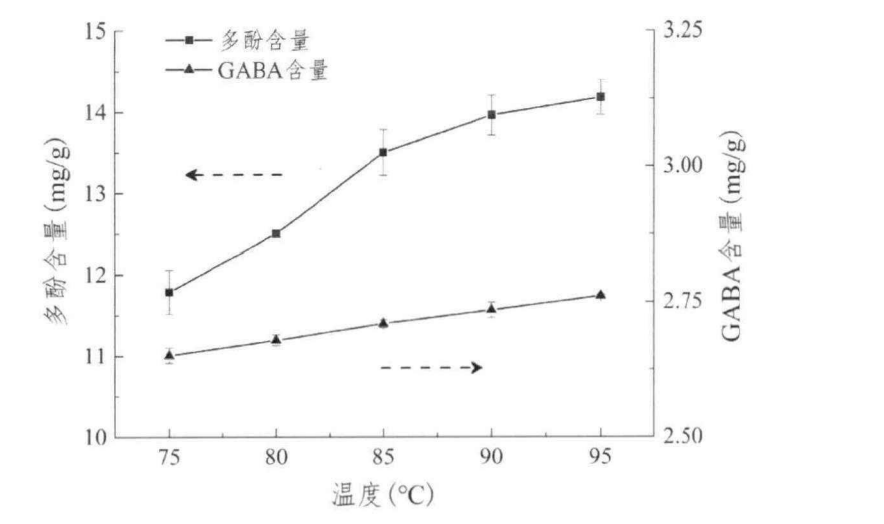


图 3.5 冲泡温度对黄秋葵叶茶茶汤中的多酚和 GABA 含量的影响

Fig.3.5 Effect of temperature on the contents of polyphenols and γ -aminobutyric acid in infusions

由图 3.5 可知，在茶水比 1:70 (g/mL)，时间 5 min 条件下，随着温度的升高，茶汤中的多酚和 GABA 含量均呈增长趋势，且多酚含量的增长趋势较 GABA 而言更为明显。这可能是由于温度升高，茶叶中化合物的溶解度和扩散系数增加，同时细胞壁受热膨胀会使内部物质更易溶出^[60]，因此含量呈增长趋势；而多酚主要分布在叶肉组织深层，稳定性较好，需要较高温度才能溶出^[133, 134]，所以随温度升高的增长趋势较明显；而 GABA 分子量低，只需较低的能量就能从茶叶细胞中溶出^[135]，因此它随温度的增长趋势较多酚小，这与 Xu 等^[135]和王星天等^[134]的研究结果一致。因此，黄秋葵叶茶的冲泡温度选择 85、90、95 °C 为宜。

(3) 冲泡时间对黄秋葵叶茶茶汤中的多酚和 GABA 含量的影响

选取冲泡时间 3、5、7、10、15 min 对黄秋葵叶茶进行冲泡，茶汤中的多酚和 GABA 含量见图 3.6。

由图 3.6 可知，在冲泡温度 95 °C，茶水比 1:70 (g/mL) 条件下，随着时间增加，茶汤中多酚和 GABA 含量呈现先逐渐增加后趋于平稳的趋势，且多酚的增长速率逐渐减小，并从 7 min 开始基本趋于稳定，从 7-15 min 多酚含量虽略有增加，但未达到显著性差异 ($p>0.05$)，而 GABA 在 5 min 时几乎溶出完全，且含量不再随时间延长而增加。在冲泡初期，黄秋葵叶茶与水充分接触，茶叶中的化合物能够快速溶于茶汤中，随着时间增加，茶叶中化合物的溶出速率由它们从茶叶细胞基质中扩散到外部的速率决定，而完整的细胞对于化合物溶出会产生阻

力^[136]，因此多酚的增长速率会逐渐减小，由于多酚分布在叶肉组织深层，且稳定性较好，所以需要 7 min 才能将大部分溶出，而亲水性的 GABA 分子量低^[137]，5 min 时几乎溶出完全。结合人们日常的饮茶习惯，冲泡时间不宜过长，因此，黄秋葵叶茶的冲泡时间选择 3、5、7 min 为宜。

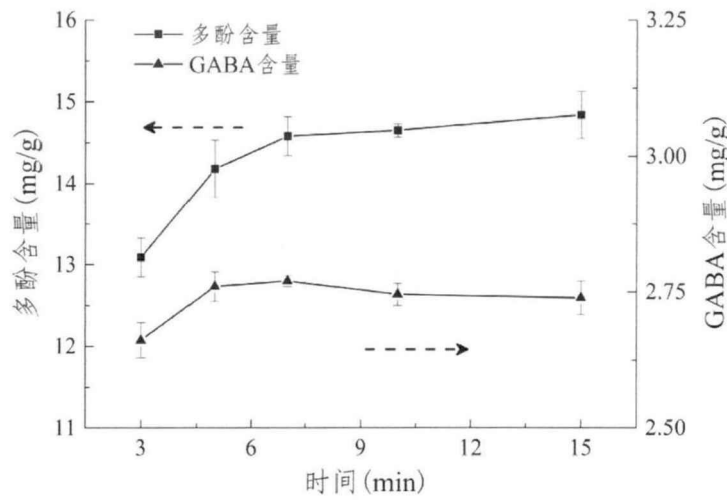


图 3.6 冲泡时间对黄秋葵叶茶茶汤中的多酚和 GABA 含量的影响

Fig.3.6 Effect of time on the contents of polyphenols and γ -aminobutyric acid in infusions

3.4.2.2 黄秋葵叶茶最佳冲泡条件的正交试验

根据单因素试验结果，采用 $L_9(3^3)$ 正交表进行三因素三水平正交试验，正交试验设计及结果见表 3.6，方差分析见表 3.7。

由表 3.6 和表 3.7 可知，各因素对茶汤中多酚含量的影响为冲泡时间>冲泡茶水比>冲泡温度，茶水比和时间对多酚含量影响达到显著水平 ($p<0.05$)，而温度影响不显著 ($p>0.05$)，最优组合是 $A_2B_3C_3$ ；各因素对茶汤中 GABA 含量的影响为冲泡茶水比>冲泡时间>冲泡温度，茶水比对于 GABA 含量影响达到显著水平 ($p<0.05$)，而时间和温度影响均不显著 ($p>0.05$)，最优组合是 $A_2B_3C_3$ ，两者最优组合一致，因此，根据茶汤中多酚和 GABA 含量确定的最佳冲泡条件为冲泡茶水比 1:70 (g/mL)，冲泡时间 7 min，冲泡温度 95 °C。

表 3.6 黄秋葵叶茶冲泡条件优化正交试验设计及结果

Table 3.6 Orthogonal array design with experimental results for the optimization of brewing conditions of okra leaf tea

试验号	A 茶水比	B 时间	C 温度	多酚含量	GABA 含量
	(g/mL)	(min)	(℃)	(mg/g)	(mg/g)
1	1:60	3	85	11.46±0.28	2.40±0.04
2	1:60	5	90	12.97±0.12	2.51±0.08
3	1:60	7	95	13.55±0.29	2.56±0.05
4	1:70	3	90	12.53±0.33	2.59±0.01
5	1:70	5	95	14.23±0.29	2.76±0.04
6	1:70	7	85	14.11±0.28	2.67±0.01
7	1:80	3	95	12.85±0.34	2.58±0.01
8	1:80	5	85	13.45±0.30	2.65±0.06
9	1:80	7	90	14.50±0.31	2.72±0.02
多酚 含量	k ₁	12.660	12.280	13.007	
	k ₂	13.623	13.550	13.333	
	k ₃	13.600	14.053	13.543	
GABA 含量	k ₁ '	2.490	2.523	2.573	
	k ₂ '	2.673	2.640	2.607	
	k ₃ '	2.650	2.650	2.633	

表 3.7 多酚和 GABA 正交试验结果方差分析

Table 3.7 Analysis of variance by polyphenols and γ-aminobutyric acid

因素	偏差平方和		自由度		均方		F 值		P 值	
	多酚	GABA	多酚	GABA	多酚	GABA	多酚	GABA	多酚	GABA
A 茶水比	1.812	0.060	2	2	0.906	0.030	24.592	24.009	0.039*	0.040*
B 时间	5.011	0.030	2	2	2.505	0.015	68.002	11.955	0.014*	0.077
C 温度	0.439	0.005	2	2	0.219	0.003	5.955	2.179	0.144	0.315
误差	0.074	0.002	2	2	0.037	0.001				

注：*差异显著 (p<0.05)。

3.4.2.3 验证试验

按照最佳冲泡条件进行 3 次验证试验，结果表明，黄秋葵叶茶茶汤中多酚和 GABA 含量分别为 14.58 mg/g 和 2.77 mg/g，高于正交试验中各组的含量，说明在此条件下冲泡出的茶汤营养价值最高。

3.4.3 黄秋葵叶茶茶汤感官品质分析

由表 3.8 可知，在最佳冲泡条件下，黄秋葵叶茶茶汤中的水浸出物含量达到 241.11 mg/g，其中不仅含有多酚和 GABA，还含有多种营养成分，如可溶性总糖含量高达 81.49 mg/g，它能够为茶汤提供甜醇味，增加茶汤浓度，使茶汤口感更加醇厚^[100, 101]；游离氨基酸含量为 15.73 mg/g，与多酚含量较接近，能够赋予茶汤鲜爽滋味^[111]；而黄酮含量为 9.48 mg/g，能够进一步丰富茶汤滋味。

表 3.8 黄秋葵叶茶茶汤滋味成分分析

Table 3.8 Analysis of taste components in tea infusion of okra leaf tea			
营养成分	含量 (mg/g)	营养成分	含量 (mg/g)
水浸出物	241.11±5.39	可溶性总糖	81.49±2.61
多酚	14.58±0.24	黄酮	9.48±0.28
游离氨基酸	15.73±0.23	GABA	2.77±0.01

表 3.9 黄秋葵叶茶茶汤香气成分分析

Table 3.9 Analysis of aroma components in tea infusion of okra leaf tea

类别	序号	保留时间 (min)	中文名称	英文名称	相对含量 (%)	香气描述
醇类	1	5.032	二甲基硅烷二醇	Silanediol, dimethyl-	1.42±0.03	
	2	28.773	雪松醇	Cedrol	1.44±0.15	柏木香气
	3	6.521	己醛	Hexanal	1.19±0.06	青草味
	4	8.120	青叶醛	2-Hexenal, (E)-	5.08±0.28	绿叶清香、果香
	5	11.454	反-2-庚烯醛	2-Heptenal, (E)-	0.32±0.06	杏仁味
	6	11.611	苯甲醛	Benzaldehyde	0.85±0.08	苦杏仁、坚果香
	7	12.754	反,反-2,4-庚二烯醛	2,4-Heptadienal, (E,E)-	5.09±0.04	青草、水果香
	8	12.979	辛醛	Octanal	0.71±0.11	水果香
	9	14.258	苯乙醛	Benzeneacetaldehyde	2.36±0.04	风信子、水果香
醛类	10	16.177	壬醛	Nonanal	2.45±0.28	清新、玫瑰香
	11	19.196	癸醛	Decanal	2.03±0.18	甜橙、橘子香
	12	19.600	β -环柠檬醛	1-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	2.27±0.16	具凉香、果香和清 香
	13	20.632	2,6,6-三甲基-1-环己烯基乙醛	1-Cyclohexene-1-acetaldehyde, 2,6,6-trimethyl-	0.42±0.01	木香、玫瑰香
	14	30.713	3,5-二叔丁基-4-羟基苯 甲醛	3,5-di-tert-Butyl-4-hydroxybenzaldehyde	0.63±0.05	
酮类	15	31.588	金合欢基乙醛	4,8,12-Tetradecatrienal, 5,9,13-trimethyl-	0.37±0.08	清香、花香
	16	15.040	3,5-辛二烯-2-酮	3,5-Octadien-2-one	1.36±0.01	水果、蘑菇清香
	17	25.046	α -紫罗酮	.alpha.-Ionone	0.40±0.03	紫罗兰香、果香
	18	25.623	香叶基丙酮	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)-	2.33±0.24	甜香、玫瑰香
	19	26.341	β -紫罗酮	trans-.beta.-Ionone	5.26±0.14	木香、紫罗兰香
酯类	20	31.897	邻苯二甲酸二异丁酯	1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	3.97±0.06	微具芳香气味
	21	32.920	邻苯二甲酸二丁酯	Dibutyl phthalate	3.53±0.93	
	22	34.933	对甲氧基肉桂酸辛酯	2-Propenoic acid, 3-(4-methoxyphenyl)-, 2-ethylhexyl ester	0.26±0.01	
酚类	23	25.885	2,6-二叔丁基对甲酚	Butylated Hydroxytoluene	2.16±0.21	
	24	26.860	2,4-二叔丁基苯酚	2,4-Di-tert-butylphenol	14.00±1.48	
烷烃类	25	26.215	环十二烷	Cyclododecane	0.40±0.07	
其他	26	25.958	2,6-二叔丁基-1,4-苯醌	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	0.74±0.10	

由表 3.9 可知,从黄秋葵叶茶茶汤中共分离鉴定出 26 种香气物质,主要包括醇类 2 种,醛类 13 种,酮类 4 种,酯类 3 种,酚类 2 种,烷烃类 1 种,其他 1 种。醇类化合物占香气物质总含量的 2.86%,其中雪松醇(1.44%)是一种倍半萜醇,能够为茶汤提供木质清香^[138, 139]。醛类化合物是黄秋葵叶茶茶汤香气物质的主要成分之一,占香气物质总含量的 23.77%,对茶汤香气贡献较大,其中青叶醛(5.08%)、己醛(1.19%)等能够赋予茶汤清新香气;反,反-2,4-庚二烯醛(5.09%)能够赋予茶汤脂肪香气^[140];苯乙醛(2.36%)、壬醛(2.45%)、癸醛(2.03%)、 β -环柠檬醛(2.27%)、金合欢基乙醛(0.37%)等都属于茶汤特征香气,能够赋予茶汤水果香及花香^[140]。酮类化合物占香气物质总含量的 9.35%,其对于茶汤香气贡献较大, α -紫罗酮(0.40%)和 β -紫罗酮(5.26%)均能够为茶汤提供紫罗兰香,且 β -紫罗酮是最具气味活性的化合物,其具有最高的气味活度值(95.9-142.0)和最低的气味阈值(0.007 ppb)^[141],对茶汤的贡献较大;香叶基丙酮(2.33%)是普洱茶特征香气之一^[142],具有玫瑰香,能够使香气更加圆润^[55, 142]。酯类化合物占香气物质总含量的 7.76%,其存在能够进一步丰富茶汤香气。酚类化合物占香气物质总含量的 16.16%,其中 2,6-二叔丁基对甲酚(2.16%)是黑砖茶和青砖茶的主要香气成分之一^[139];2,4-二叔丁基苯酚(14.00%)相对含量较高,而朱荫等^[143]对西湖龙井的香气成分进行分析,发现在酚类化合物中,2,4-二叔丁基苯酚的含量也最高。烷烃类仅检测到环十二烷(0.40%),其对茶汤香气贡献较小^[144]。总体而言,黄秋葵叶茶茶汤具有多种特征香气成分,使茶汤整体呈现出香甜花香。

3.5 本章小结

(1) 利用感官评分和色差分析对黄秋葵叶茶的冲泡条件进行初步筛选,最终选择冲泡茶水比 1:40-1:80 (g/mL),冲泡温度 75-95 °C,冲泡时间 3-15 min 进行冲泡条件的优化。

(2) 以黄秋葵叶茶茶汤中的主要功效成分多酚和 GABA 含量为测定指标,在单因素试验的基础上,利用正交试验优化黄秋葵叶茶冲泡条件,确定最佳冲泡条件为茶水比 1:70 (g/mL),冲泡时间 7 min,冲泡温度 95 °C,此时,茶汤中的主要功效成分多酚和 GABA 含量最高,分别为 14.58 mg/g 和 2.77 mg/g。

(3) 对最佳冲泡条件下茶汤的感官品质进行分析,结果发现其中水浸出物含量达到 241.11 mg/g,包含甜醇的可溶性总糖 81.49 mg/g、鲜爽的游离氨基酸

15.73 mg/g 以及苦涩的黄酮 9.48 mg/g, 雪松醇 (1.44%)、青叶醛 (5.08%)、反, 反-2,4-庚二烯醛 (5.09%)、苯乙醛 (2.36%)、壬醛 (2.45%)、癸醛 (2.03%)、 β -环柠檬醛 (2.27%)、金合欢基乙醛 (0.37%)、 β -紫罗酮 (5.26%) 和香叶基丙酮 (2.33%) 等均为茶汤特征香气成分, 使茶汤整体呈现出香甜花香。

第四章 黄秋葵叶茶水提物提取动力学研究

茶叶中的生物活性成分不仅可以通过冲泡饮用的方式获取,还可以利用溶剂对其进行提取并加以研究和应用。目前,大部分研究学者基于茶叶中的生物活性成分具有水溶性的特点,选择用水作为溶剂来进行提取^[135, 136, 145, 146]。水不仅能够有效地将茶叶中的生物活性成分,尤其是游离氨基酸等提取出来,同时对环境友好且相对安全^[147, 148],因此研究黄秋葵叶茶的水提过程更具意义。

不同的提取方式(常规静态提取、磁力搅拌提取、超声辅助提取和超高压提取等^[66, 67])和提取条件(温度和时间等)都会使水提过程中生物活性成分的浓度发生变化。为了更好地描述上述变化过程,需要利用一些提取动力学方程对茶叶中生物活性成分在水提过程中的提取动力学进行研究^[135, 136],并建立提取动力学模型,该模型不仅能够预测不同提取条件下水提物中生物活性成分的浓度,而且对工业上的规模化生产具有指导意义^[136]。因此,有必要对黄秋葵叶茶中生物活性成分在水提过程中的提取动力学进行研究。

本章采用常规静态和磁力搅拌两种提取方式对黄秋葵叶茶中生物活性成分进行提取,研究不同提取温度下水提物中可溶性固体、游离氨基酸和多酚随时间的变化情况,并采用伪二级和一级提取动力学方程对水提过程进行拟合,建立提取动力学模型,并加以验证,旨在通过建立合适的提取动力学模型对生物活性成分在水提过程中的浓度进行预测,同时为后续研究黄秋葵叶茶水提物的生物活性奠定基础。

4.1 材料与仪器

4.1.1 材料与试剂

材料:按 2.2.1 样品处理方式得到的黄秋葵叶茶茶粉。

试剂:磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、谷氨酸、福林酚为生化试剂,无水碳酸钠为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;水合茚三酮均为分析纯,购自上海麦克林生化科技有限公司;氯化亚锡、没食子酸均为分析纯,购自阿拉丁试剂有限公司。

4.1.2 设备与仪器

磁力搅拌水浴锅

金坛市良友仪器有限公司

JA1003N 电子天平

上海菁海仪器有限公司

UV-2550 紫外可见分光光度计

日本 SHIMADZU 公司

DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱

杭州蓝天化验仪器厂

4.2 试验方法

4.2.1 常规静态提取

参照 Xu 等^[135]的静态提取方法,并略作改动。准确称取黄秋葵叶茶粉 1 g(精确至 0.001 g)于 250 mL 锥形瓶中,向其中加入 70 mL 65、80、95 °C 的纯净水,并用锡纸封口,将锥形瓶置于相应温度的水浴锅内,静态提取 1、2、3、5、10、20、30、40 min 后,通过脱脂棉过滤并迅速冷却至室温,经离心后取上清液,用作后续分析。

4.2.2 磁力搅拌提取

参照 Rani 等^[66]的搅拌提取方法,并略作改动。准确称取黄秋葵叶茶粉 1 g(精确至 0.001 g)于 250 mL 锥形瓶中,分别向其中加入 70 mL 65、80、95 °C 的纯净水,并用锡纸封口,将锥形瓶置于相应温度的磁力搅拌水浴锅内,以 300 rpm 转速进行磁力搅拌,提取 1、2、3、5、10、20、30、40 min 后,通过脱脂棉过滤并迅速冷却至室温,经离心后取上清液,用作后续分析。

4.2.3 生物活性成分的测定

多酚和游离氨基酸总量的测定参见第二章 2.2.2。参照 Xu 等^[135]的方法测定黄秋葵叶茶水提物中可溶性固体含量,并略作改动。用移液管准确量取 25 mL 水提物置于称重过的蒸发皿中,将上述蒸发皿在 100 °C 鼓风干燥箱中烘 3 h,取出放入干燥器中冷却,称量(精确至 0.001 g),直至含有提取物的蒸发皿重量恒定。

4.2.4 水提物中生物活性成分在不同提取方式下的提取动力学方程

常规静态提取方式下可溶性固体、游离氨基酸和多酚以及磁力搅拌提取方式下可溶性固体和游离氨基酸的提取动力学可以用伪二级提取动力学方程来描述^[135, 149],该方程为:

$$\frac{dc}{dt} = k_1(c - c_\infty)^2 \quad (4.1)$$

(4.1) 式中, k_1 表示伪二级提取速率常数 (100 mL/mg·min); c_∞ 表示水提物中生物活性成分的饱和浓度 (mg/100 mL); c 表示任意时刻水提物中生物活性成

分的浓度 (mg/100 mL)。

将伪二级提取动力学方程变形为：

$$\frac{t}{c} = \frac{1}{k_1 c_\infty^2} + \frac{t}{c_\infty} \quad (4.2)$$

(4.2) 式中, 对不同提取时间下的 $\frac{t}{c}$ 对 t 进行线性回归分析, 根据得到直线的斜率和截距确定提取速率常数 k_1 和饱和浓度 c_∞ 。

磁力搅拌提取方式下多酚的提取动力学在 1-10 min 符合伪二级提取动力学方程, 10-40 min 可以用一级提取动力学方程来描述, 该方程为：

$$c = c_0 e^{-k_2 t} \quad (4.3)$$

(4.3) 式中, k_2 表示一级提取速率常数 (min^{-1}); c_0 表示该阶段水提物中生物活性成分的初始浓度 (mg/100 mL); c 表示任意时刻水提物中生物活性成分的浓度 (mg/100 mL); t 表示提取时间 (min)。

将一级提取动力学方程变形为：

$$\ln c = \ln c_0 - k_2 t \quad (4.4)$$

(4.4) 式中, 对不同提取时间下的 $\ln c$ 对 t 进行线性回归分析, 根据得到直线的斜率和截距确定提取速率常数 k_2 和该阶段的初始浓度 c_0 。

运用 Arrhenius 方程计算黄秋葵叶茶水提物中生物活性成分的提取活化能和指前因子^[150], Arrhenius 方程为：

$$k = A e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (4.5)$$

(4.5) 式中, k 表示提取速率常数 (100 mL/mg·min 或 min^{-1}); A 表示指前因子 (100 mL/mg·min 或 min^{-1}); E_a 表示活化能 (J/mol); R 表示气体常数 (8.314 J/mol·K); T 表示提取温度 (K)。

对 Arrhenius 方程进行线性变换得：

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (4.6)$$

(4.6) 式中, 对不同提取温度下的 $\ln k$ 对 $\frac{1}{T}$ 进行线性回归分析, 根据得到直线的斜率和截距确定 Arrhenius 方程中的活化能 E_a 和指前因子 A 。

4.2.5 验证提取动力学模型

为了验证不同提取方式下水提物中生物活性成分的提取动力学模型, 选取两

个提取条件,即采用两种提取方式分别在 65 °C 时提取 7 min, 95 °C 时提取 15 min, 并测定水提物中可溶性固体、游离氨基酸和多酚的浓度,将实测值与运用提取动力学模型计算出的预测值进行比较,并计算相对误差。

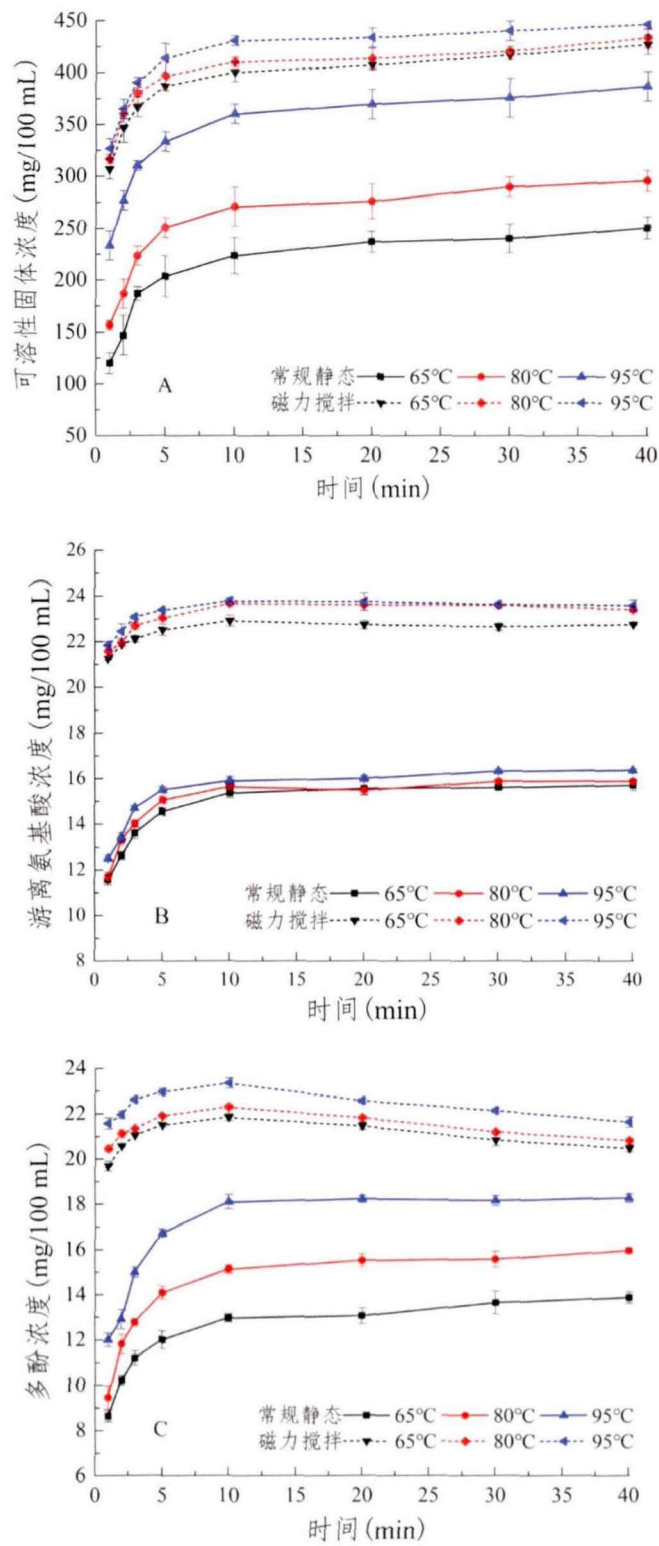
4.3 数据分析

每个实验重复 3 次,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Microsoft Excel 软件对数据进行整理,Origin 9 软件作图以及 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。

4.4 结果分析

4.4.1 不同提取方式对水提物中生物活性成分浓度的影响

以水为溶剂,在温度为 65、80、95 °C 时,采用常规静态和磁力搅拌两种提取方式对黄秋葵叶茶中的生物活性成分进行提取,并对其中的可溶性固体,游离氨基酸和多酚的动态变化进行描述。由图 4.1 可知,在磁力搅拌提取方式下,水提物中生物活性成分的浓度高于常规静态提取,这与 Rani 等^[66]的研究结果一致。这可能是由于在常规静态提取方式下会出现茶粉周围溶液浓度较大,体系浓度不均一的情况,进而导致茶粉内外浓度差较小,茶粉与溶剂之间的扩散传输减弱,因此,水提物中生物活性成分的浓度较小;而在磁力搅拌提取方式下,一方面通过磁力搅拌可以降低茶粉周围溶液浓度,使整个体系浓度均一,进而增大茶粉内外的浓度差,有利于茶粉与溶剂之间的扩散传输,另一方面,通过搅拌效应能够破坏茶粉细胞壁,进而导致茶粉粒径减小,并增大其与溶剂水的接触面积^[66],有利于生物活性成分的溶出。



A.可溶性固体；B.游离氨基酸；C.多酚

图 4.1 不同提取方式下黄秋葵叶茶水提物中生物活性成分相对提取时间的浓度曲线

Fig.4.1 Concentration curves of the bioactive components relative to extraction time in aqueous extracts from okra leaf tea prepared by different extraction methods

由图 4.1A 可知, 在两种提取方式下, 黄秋葵叶茶水提物中可溶性固体的浓度均在 1-10 min 呈现快速增长, 10-40 min 呈现缓慢增长, 且浓度均随温度升高而增加, 这可能是由于温度升高, 茶粉中活性成分的溶解度和扩散系数增加^[151], 同时细胞壁受热膨胀使其更易溶出^[60]。常规静态提取方式下可溶性固体的浓度在 65、80、95 °C 时达到显著性差异 ($p < 0.05$), 这可能是由于该提取方式导致可溶性固体未能充分溶出, 部分保留在茶粉内部, 升高温度会使其进一步溶出, 因此表现出各温度下差异较大; 而磁力搅拌提取方式下可溶性固体的浓度在不同温度下的差异不显著 ($p > 0.05$), 这可能是由于该提取方式使得茶粉中大部分可溶性固体溶出完全, 升高温度不会使其有明显增加, 因此表现出受温度影响较小。

由图 4.1B 可知, 在两种提取方式下, 黄秋葵叶茶水提物中游离氨基酸的浓度均在 1-10 min 呈现增长趋势, 10-40 min 趋于平缓, 且浓度随温度升高略有增加, 但在常规静态提取方式下, 采用不同温度进行提取时, 游离氨基酸的浓度非常接近, 未达到显著性差异 ($p > 0.05$), 而在磁力搅拌提取方式下, 除 65 °C 外, 在 80 °C 和 95 °C 时, 游离氨基酸的浓度也未达到显著性差异 ($p > 0.05$), 这说明游离氨基酸的溶出受温度影响较小, 这与 Xu 等^[135]在研究绿茶水提过程时, 得出游离氨基酸的溶出不受温度影响的结论相似, 而吴晔等^[152]在对荷叶茶进行提取时也得到了一致的结论。这可能是由于游离氨基酸的分子量比较小, 容易通过细胞膜, 因此受温度影响较小^[153]。

由图 4.1C 可知, 在两种提取方式下, 黄秋葵叶茶水提物中多酚的浓度均在 1-10 min 呈现增长趋势, 但在 10-40 min 时, 常规静态提取方式下多酚的浓度趋于平缓, 几乎不再增加, 而磁力搅拌提取方式下多酚的浓度出现较明显的下降, 这与王星天等^[153]在研究桑叶茶水提过程时, 发现多酚浓度在 85 °C 提取 40 min 后出现下降, 以及 Maciel 等^[154]在研究绿茶水提过程时, 发现多酚在 90 °C 提取 40 min 时也发生下降的情况一致。这可能是由于在磁力搅拌提取方式下, 多酚几乎溶出完全, 而由于多酚是热敏性物质^[155], 因此提取时间继续延长会导致其降解、转化或络合^[153]; 而不同茶叶在提取过程中多酚的降解温度和时间不一致, 可能是茶叶品种不同, 多酚的含量和种类不同所致。两种提取方式下的水提物中多酚浓度随温度升高而增加, 且增加的趋势与可溶性固体相似, 常规静态提取方式下多酚的浓度在 65、80、95 °C 时达到显著性差异 ($p < 0.05$), 这可能是由于多

酚分布在叶肉组织深层,且稳定性较好,因此常规静态提取不能使多酚溶出完全,而升高温度会使其进一步溶出,因此表现出受温度影响较大;而磁力搅拌提取方式下多酚的浓度差异虽然相对较小,但达到了显著性差异($p<0.05$),这说明磁力搅拌提取虽然能将大部分多酚溶出,但是分布在叶肉组织深层的多酚还需要进一步升高温度才能溶出。

4.4.2 常规静态提取方式下水提物中生物活性成分的提取动力学

在常规静态提取方式下,根据水提物中生物活性成分在不同温度 and 不同时间下的浓度,采用伪二级提取动力学方程对其水提过程进行拟合。一般认为固液萃取过程是吸附行为的逆过程,因此可以将吸附动力学方程的基本理论应用到固液萃取过程中^[156],而伪二级提取动力学方程能很好地描述该过程的提取动力学^[157]。Xu 等^[135]采用该方程描述绿茶中生物活性成分在静态提取方式下的提取动力学,Qu 等^[155]采用该方程研究从石榴果渣中提取抗氧化成分的动力学,而 Su 等^[157]采用该方程研究从螺旋藻中提取藻蓝蛋白的动力学,前人的研究均得到了较好的拟合结果。因此,利用伪二级提取动力学方程对黄秋葵叶茶中生物活性成分的水提过程进行拟合,得到的提取动力学模型见表 4.1。

由表 4.1 可知,在常规静态提取方式下,提取温度分别为 65、80、95 °C 时,可溶性固体、游离氨基酸和多酚的提取动力学模型的相关系数 R_1^2 均高于 0.9,这说明在该提取方式下水提物中生物活性成分的变化过程符合伪二级提取动力学方程。利用得到的提取动力学模型的斜率和截距计算出动力学参数 k_1 和 c_{∞} ,具体结果见表 4.2。

表 4.1 常规静态提取方式下水提物中生物活性成分的提取动力学模型

Table 4.1 Extraction kinetics models of the bioactive components in aqueous extracts prepared by conventional static extraction

活性成分	提取温度 (°C)	拟合方程	R ₁ ²
可溶性固体	65	$\frac{t}{c} = 0.0039 t + 0.0052$	0.9995
	80	$\frac{t}{c} = 0.0033 t + 0.0034$	0.9964
	95	$\frac{t}{c} = 0.0026 t + 0.0018$	0.9973
游离氨基酸	65	$\frac{t}{c} = 0.0630 t + 0.0275$	0.9966
	80	$\frac{t}{c} = 0.0624 t + 0.0251$	0.9979
	95	$\frac{t}{c} = 0.0612 t + 0.0223$	0.9998
多酚	65	$\frac{t}{c} = 0.0712 t + 0.0595$	0.9996
	80	$\frac{t}{c} = 0.0624 t + 0.0441$	0.9989
	95	$\frac{t}{c} = 0.0538 t + 0.0318$	0.9968

由表 4.2 可知，水提物中可溶性固体、游离氨基酸和多酚的提取速率常数 k_1 随提取温度升高而增加，而各生物活性成分在不同温度下达到饱和状态的浓度 c_∞ 与提取速率常数 k_1 的变化一致，也随提取温度升高而增加，这说明升高温度能够通过增加各生物活性成分的溶解度和扩散系数，进而增加提取速率和提取量。Guo 等^[158]从花果山云雾茶中提取有效成分，研究发现当提取温度从 60 °C 升高到 100 °C 时，多酚含量显著增加；Pérez-Burillo 等^[159]研究发现当提取温度高于 80 °C 时，从白茶中提取出的多酚类物质含量也显著增加，本试验的研究结果与前人的结论一致。而不同温度下的饱和浓度 c_∞ 也表明温度对可溶性固体和多酚的提取量影响较大，对游离氨基酸的影响较小，这与 4.4.1 中的结论一致，同时也从另一个角度说明伪二级提取动力学方程能够很好地描述上述生物活性成分的水提过程。

表 4.2 常规静态提取方式下水提物中生物活性成分的动力学参数

Table 4.2 Kinetic parameters for the extraction of the bioactive components in aqueous extracts prepared by conventional static extraction

活性成分	提取温度 (℃)	k_1 (100 mL/mg·min)	c_∞ (mg/100 mL)
可溶性固体	65	0.00294	255
	80	0.00320	303
	95	0.00370	385
游离氨基酸	65	0.146	15.9
	80	0.155	16.1
	95	0.168	16.3
多酚	65	0.0852	14.0
	80	0.0883	16.0
	95	0.0910	18.6

4.4.3 磁力搅拌提取方式下水提物中生物活性成分的提取动力学

在磁力搅拌提取方式下,根据水提物中生物活性成分在不同温度 and 不同时间下的浓度,采用伪二级提取动力学方程对可溶性固体和游离氨基酸在不同温度下的水提过程进行拟合,而由于水提物中多酚的浓度在 10-40 min 出现了下降的趋势,无法采用伪二级动力学提取方程对其整个提取过程进行拟合,因此,采用分段的方式建立模型,在 1-10 min 和 10-40 min 分别选取伪二级和一级提取动力学方程对多酚在不同温度下的水提过程进行拟合。Upasna 等^[160]研究发现一级提取动力学方程能很好地描述从印度黑莓种子中提取多酚的过程,Xu 等^[135]采用该方程描述绿茶中生物活性成分在动态提取方式下的提取过程,并取得了较好的拟合结果。因此,利用伪二级结合一级提取动力学方程对黄秋葵叶茶中生物活性成分的水提过程进行拟合,得到的提取动力学模型见表 4.3。

表 4.3 磁力搅拌提取方式下水提物中生物活性成分的提取动力学模型

Table 4.3 Extraction kinetics models of the bioactive components in aqueous extracts prepared by magnetic agitation extraction

活性成分	提取温度 (°C)	拟合方程	R ₂ ²
可溶性固体	65	$\frac{t}{c} = 0.00234 t + 0.0014$	0.9963
	80	$\frac{t}{c} = 0.00231 t + 0.0012$	0.9995
	95	$\frac{t}{c} = 0.00224 t + 0.0010$	0.9975
游离氨基酸	65	$\frac{t}{c} = 0.0439 t + 0.0024$	0.9966
	80	$\frac{t}{c} = 0.0425 t + 0.0022$	0.9991
	95	$\frac{t}{c} = 0.0423 t + 0.0021$	0.9983
多酚 (1-10 min)	65	$\frac{t}{c} = 0.0452 t + 0.0065$	0.9967
	80	$\frac{t}{c} = 0.0443 t + 0.0061$	0.9991
	95	$\frac{t}{c} = 0.0423 t + 0.0054$	0.9984
多酚 (10-40 min)	65	$\ln c = -0.00223 t + 3.1072$	0.9895
	80	$\ln c = -0.00234 t + 3.1278$	0.9934
	95	$\ln c = -0.00246 t + 3.1712$	0.9851

由表 4.3 可知，在磁力搅拌提取方式下，提取温度分别为 65、80、95 °C 时，可溶性固体和游离氨基酸的提取动力学模型的相关系数 R₂² 均高于 0.9，这说明在该提取方式下水提物中可溶性固体和游离氨基酸的变化过程符合伪二级提取动力学方程；而多酚在两个阶段的提取动力学模型的相关系数 R₂² 也均高于 0.9，这说明采用伪二级结合一级提取动力学方程来描述多酚的水提过程是可行的。利用得到的提取动力学模型的斜率和截距分别计算出动力学参数 k_2, c_∞ 和 k_3, c_0 ，具体结果见表 4.4 和表 4.5。

表 4.4 磁力搅拌提取方式下水提取物中生物活性成分的动力学参数

Table 4.4 Kinetic parameters for the extraction of the bioactive components in aqueous extracts prepared by magnetic agitation extraction

活性成分	提取温度 (°C)	k_2 (100 mL/mg·min)	c_∞ (mg/100 mL)
可溶性固体	65	0.00402	428
	80	0.00432	433
	95	0.00498	447
游离氨基酸	65	0.803	22.8
	80	0.829	23.5
	95	0.841	23.7
多酚 (1-10 min)	65	0.313	22.1
	80	0.321	22.6
	95	0.330	23.6

由表 4.4 可知，水提取物中可溶性固体、游离氨基酸和多酚（1-10 min）的提取速率常数 k_2 和饱和浓度 c_∞ 均随提取温度升高而增加，这说明升高温度能够增加提取速率和提取量。磁力搅拌提取方式下各生物活性成分的提取速率常数 k_2 和饱和浓度 c_∞ 显著高于常规静态提取方式下的提取速率常数 k_1 和饱和浓度 c_∞ ($p<0.05$)，这也说明磁力搅拌方式能够通过破坏茶粉的细胞壁，进而增加提取速率和提取量；而不同温度下的饱和浓度 c_∞ 也表明在磁力搅拌提取方式下温度对各成分的提取量影响较小，上述结论均与 4.4.1 中的结论一致，同时也从另一个角度说明伪二级提取动力学方程能很好地描述上述生物活性成分的水提过程。

用一级提取动力学方程描述水提取物中多酚在 10-40 min 的下降趋势，因此，模型中的提取速率常数 k_3 可以理解成降解速率常数，由表 4.5 可知， k_3 随提取温度的升高而增加，说明升高温度会加快多酚的降解或转化，但影响较小；模型中的初始浓度 c_0 表示多酚在该阶段起始点的浓度，与多酚在 1-10 min 时采用的伪二级提取动力学方程的饱和浓度 c_∞ 表示的含义相同，初始浓度 c_0 随提取温度升高而增加，与饱和浓度 c_∞ 随温度的变化情况一致，同时初始浓度 c_0 与饱和浓度

c_{∞} 在数值上十分接近,因此说明伪二级和一级提取动力学方程能够很好地结合起来,共同描述多酚在磁力搅拌方式下的水提过程。

表 4.5 磁力搅拌提取方式下水提物中多酚的动力学参数

Table 4.5 Kinetic parameters for the extraction of polyphenols in aqueous extracts prepared by magnetic agitation extraction

活性成分	提取温度 (°C)	k_3 (min ⁻¹)	c_0 (mg/100 mL)
多酚 (10-40 min)	65	0.00223	22.4
	80	0.00234	22.9
	95	0.00246	23.8

4.4.4 不同提取方式对水提物中生物活性成分提取活化能的影响

Arrhenius 方程能够用来描述提取速率常数 k 和温度之间的关系,其中 E_a 表示提取活化能 (J/mol), A 表示与温度无关的指前因子 (100 mL/mg·min) [161],根据该方程利用不同温度下的提取速率常数 k 计算出水提物中生物活性成分的提取活化能 E_a 和指前因子 A ,具体结果见表 4.6。

表 4.6 不同提取方式下水提物中生物活性成分的提取活化能和指前因子

Table 4.6 Extraction activation energies and pre-exponential factors of the bioactive components in aqueous extracts prepared by different extraction methods

活性成分	常规静态提取		磁力搅拌提取	
	E_{a1}	A_1	E_{a2}	A_2
	(J/mol)	(100 mL/mg·min)	(J/mol)	(100 mL/mg·min)
可溶性固体	7.90×10 ³	0.0483	7.35×10 ³	0.0542
游离氨基酸	4.83×10 ³	0.810	1.60×10 ³	1.42
多酚 (1-10 min)	2.27×10 ³	0.191	1.82×10 ³	0.598
多酚 (10-40 min)			3.38×10 ³	0.00742 (min ⁻¹)

由表 4.6 可知,常规静态提取方式下水提物中生物活性成分的提取活化能 E_a 高于磁力搅拌提取(由于多酚在 10-40 min 出现下降趋势,因此该阶段的活化能 E_a 不列入比较范围),说明在磁力搅拌提取方式下各生物活性成分更易溶出,因此,具有更大的提取速率和提取量。这可能是由于磁力搅拌作用一方面能够降低茶粉周围的溶液浓度,增大扩散传输,另一方面能够通过破坏茶粉细胞壁,减小生物活

性成分的溶出阻力而使其更易溶出。

4.4.5 不同提取方式下水提取物中生物活性成分提取动力学模型的验证

为验证不同提取方式下水提取物中生物活性成分的提取动力学模型,选取两组提取条件进行试验,分别为 65℃时提取 7 min 和 95℃时提取 15 min,试验所得的生物活性成分浓度的实测值和运用提取动力学模型计算出的预测值见表 4.7。

表 4.7 不同提取方式下水提取物中生物活性成分提取动力学模型的预测与验证

Table 4.7 Prediction and verification for kinetic models of the bioactive components in aqueous extracts prepared by different extraction methods

提取方式	活性成分	提取温度 (℃)	提取时间 (min)	预测值 (mg/100 mL)	实测值 (mg/100 mL)	相对误差 (%)
常规 静态	可溶性固体	65	7	215	207	3.72
		95	15	368	360	2.17
	游离氨基酸	65	7	14.9	14.7	1.34
		95	15	16.0	15.6	2.50
	多酚	65	7	12.5	12.7	-1.60
		95	15	17.9	18.2	-1.68
磁力 搅拌	可溶性固体	65	7	394	393	0.25
		95	15	434	421	3.00
	游离氨基酸	65	7	22.6	22.8	-0.88
		95	15	23.6	23.9	-1.27
	多酚	65	7	21.7	21.4	1.38
		95	15	23.0	22.5	2.17

由表 4.7 可知,各生物活性成分的相对误差在-1.68-3.72%的范围内,说明各提取动力学模型具有较好的拟合结果,能够快速、准确地对不同提取方式下黄秋葵叶茶中水提取物中生物活性成分的浓度进行预测。

4.5 本章小结

(1)磁力搅拌提取方式下水提取物中生物活性成分的浓度高于常规静态提取,且两种提取方式下,各生物活性成分的浓度均随温度升高而增加,但磁力搅拌方式受温度影响较小;不同提取温度下,各生物活性成分浓度随时间延长先快速增

长，后缓慢增长或趋于平缓，仅多酚在磁力搅拌方式下提取 10 min 后出现下降趋势。

(2) 利用伪二级和一级提取动力学方程对黄秋葵叶茶中生物活性成分的水提过程进行拟合，得到提取动力学模型，且模型的 R^2 值均大于 0.9，拟合效果较好；通过比较动力学参数 k 、 c_{∞} 以及提取活化能 E_a 可知，磁力搅拌提取方式下各生物活性成分更易溶出，浓度更大，且提取速率和提取量均随温度升高而增加。

(3) 在不同提取方式下选取两种提取条件对建立的模型进行验证，结果表明模型精度良好，能够快速、准确地对不同提取方式下黄秋葵叶茶水提物中生物活性成分的浓度进行预测。

第五章 黄秋葵叶茶水提物的生物活性研究

茶提取物因具有复杂的化学组成和多样的生物活性而受到广泛关注,它可作为营养保健品和膳食补充剂^[68, 147],目前对其生物活性的研究主要包括抗氧化活性^[162]、降血糖^[163]、降血压^[164]、降血脂^[165]以及调节免疫功能^[166]等,同时研究发现浸提温度对绿茶提取物的抗氧化活性和降血糖能力均有影响^[167]。而目前对黄秋葵叶提取物生物活性的研究大部分集中在抗氧化活性方面^[16, 18, 19],鲜有对其他生物活性的研究报道。因此,有必要对黄秋葵叶茶水提物的生物活性进行更全面的探索并考察温度对生物活性的影响。

本章以黄秋葵叶茶为原料,在不同温度下,以第四章所述的磁力搅拌方式进行提取,经冻干后获得黄秋葵叶茶水提物,然后研究不同提取温度水提物的抗氧化活性、清除亚硝酸盐能力、降血糖和降血压能力,并对其主要活性成分进行测定,考察温度对生物活性和主要活性成分的影响,同时对两者之间的相关性进行分析,旨在更全面地了解黄秋葵叶茶水提物的生物活性,并对发挥作用的活性成分进行初步判定,为水提物的开发与利用提供理论支撑。

5.1 材料与仪器

5.1.1 材料与试剂

材料:按 2.2.1 样品处理方式得到的黄秋葵叶茶粉。

试剂:甲醇、苯酚、十水四硼酸钠、无水碳酸钠、氯化铝、亚硝酸钠、硫酸亚铁、抗坏血酸、过氧化氢(30%)、乙醇均为分析纯,福林酚为生化试剂,硼酸、浓盐酸、浓硫酸为优级纯,购自国药集团化学试剂有限公司;交联聚乙烯吡咯烷酮、水合茚三酮、水杨酸钠均为分析纯, GABA (99%), 马尿酸 (98%), 三氟乙酸 (99.5%) 为色谱级, β -巯基乙醇为生物技术级,购自上海麦克林生化科技有限公司;盐酸萘乙二胺、对氨基苯磺酸均为分析纯,邻苯二甲醛 (98%), 阿卡波糖水合物 (98%), 对硝基苯- α -D-葡萄糖吡喃苷 (99%), 甲酸为色谱级,购自阿拉丁试剂有限公司;邻苯三酚 (99%) 购自上海安耐吉化学有限公司;甲醇、乙腈均为色谱级,购自 TEDIA 有限公司; DPPH、 α -葡萄糖苷酶 (58 U/mg)、马尿酸组氨酰亮氨酸 (Hip-His-Leu, HHL)、血管紧张素转换酶 (Angiotensin Converting Enzyme, ACE), 购自 sigma 公司。

5.1.2 设备与仪器

Vortex Mixers	杭州米欧仪器有限公司
Thermo-Shaker	北京佳源兴业科技有限公司
PHS-550 pH 计	杭州陆恒生物生物科技有限公司
磁力搅拌水浴锅	金坛市良友仪器有限公司
JA1003N 电子天平	上海菁海仪器有限公司
旋转蒸发器 RE-52AA	上海亚荣生化仪器厂
全波长酶标仪 Multiskan GO	美国 Thermo Fisher Scientific 公司
DKZ 系列电热恒温振荡水槽	上海一恒科技有限公司
Waters e2695 高效液相色谱仪	美国 Waters 公司
UV-2550 紫外可见分光光度计	日本 SHIMADZU 公司
Alpha 1-4 LD plus 冷冻干燥机	德国 Christ 公司
Centrifuge 5418R 型高速离心机	德国 eppendorf 公司
HC-3018R 型高速冷冻离心机	安徽中科中佳科学仪器有限公司

5.2 试验方法

5.2.1 黄秋葵叶茶水提物的制备

参照第四章 4.2.2 和 Liu 等^[167]的方法,并略作改动。准确称取黄秋葵叶茶粉 20 g 于 2 L 烧杯中,分别向其中加入 1.4 L 65、80、95 °C 的纯净水,并用锡纸封口,将烧杯置于相应温度的磁力搅拌水浴锅内,以 300 rpm 的转速进行磁力搅拌,提取 10 min 后,过滤并迅速冷却至室温,经离心后取上清液,使用旋转蒸发器在 45 °C 减压浓缩,再经冷冻干燥得到不同温度的黄秋葵叶茶水提物。

5.2.2 DPPH 自由基清除试验

参照 Liu 等^[167]的方法,并略作改动。取 100 μ L 一定浓度的样品与 100 μ L 溶解于无水乙醇中的 DPPH 溶液 (0.2 mmol/L) 混合,在 37 °C 下孵育 30 min,并使用酶标仪在 517 nm 处测定其吸光值,以维生素 C 作为阳性对照。根据 (5.1) 式计算样品的 DPPH 自由基清除率,以 EC₅₀ 值表示 DPPH 自由基清除活性。

$$\text{清除率 (\%)} = \left(1 - \frac{A_1 - A_{01}}{A_0}\right) \times 100\% \quad (5.1)$$

其中, A₁ 是加入样品测得的吸光值, A₀₁ 是以无水乙醇代替 DPPH 溶液测得

的吸光值, A_0 是以蒸馏水代替样品测得的吸光值。

5.2.3 羟基自由基清除试验

参照 Guo 等^[168]的方法, 并略作改动。取 40 μL 水杨酸溶液 (9 mmol/L), 40 μL FeSO_4 溶液 (9 mmol/L) 和 120 μL 一定浓度的样品充分混合, 然后加入 40 μL H_2O_2 溶液 (8.8 mmol/L) 启动反应, 在 37 $^\circ\text{C}$ 下孵育 30 min, 并使用酶标仪在 510 nm 处测定其吸光值, 以维生素 C 作为阳性对照。根据 (5.2) 式计算样品的羟基自由基清除率, 以 EC_{50} 值表示羟基自由基清除活性。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_{01}}{A_0}\right) \times 100\% \quad (5.2)$$

其中, A_1 是加入样品测得的吸光值, A_{01} 是以蒸馏水代替 H_2O_2 测得的吸光值, A_0 是以蒸馏水代替样品测得的吸光值。

5.2.4 超氧阴离子清除试验

参照 Guo 等^[168]的方法, 并略作改动。在 25 $^\circ\text{C}$ 下使用酶标仪监测样品对邻苯三酚自氧化的抑制来测定超氧阴离子清除活性, 取 100 μL Tris-HCl 缓冲液 (0.1 mol/L, pH 7.3) 和 100 μL 一定浓度的样品充分混合, 然后加入 50 μL 邻苯三酚 (3 mmol/L) 启动反应。使用酶标仪在 319 nm 处每 50 s 测定一次吸光值, 持续 5 min, 以维生素 C 作为阳性对照。根据 (5.3) 式计算样品的超氧自由基清除率, 以 EC_{50} 值表示超氧阴离子清除活性。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{\Delta A_1}{\Delta A_0}\right) \times 100\% \quad (5.3)$$

其中, ΔA_1 是加入样品的邻苯三酚自氧化速率, ΔA_0 是以缓冲液代替样品的邻苯三酚自氧化速率。

5.2.5 亚硝酸盐清除试验

参照朱艳芳等^[169]的方法, 并略作改动。取 25 mL 比色管, 向其中加入 10 mL 模拟胃液, 在 37 $^\circ\text{C}$ 下水浴 10 min 后, 加入 1 mL 一定浓度的样品, 再加入 2 mL 浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 的 NaNO_2 溶液, 混匀后置于 37 $^\circ\text{C}$ 下水浴 30 min, 再迅速加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液 (0.4%), 混匀, 静置 5 min 后, 加入 1 mL 盐酸萘乙二胺溶液 (0.2%), 再静置 15 min, 加水至刻度混匀。在 538 nm 处测定其吸光值, 以维生素 C 作为阳性对照。根据 (5.4) 式计算样品的亚硝酸盐清除率, 以 EC_{50} 值表示亚硝酸盐清除活性。

$$\text{清除率 (\%)} = \left(\frac{A_{02} + A_{01} - A_1}{A_{02}} \right) \times 100\% \quad (5.4)$$

其中, A_1 是加入样品测得的吸光值, A_{01} 是以蒸馏水代替 NaNO_2 测得的吸光值, A_{02} 是以蒸馏水代替样品测得的吸光值。

5.2.6 α -葡萄糖苷酶抑制试验

参照 Sabitha 等^[170]的方法, 并略作改动。取 50 μL 一定浓度的样品与 50 μL α -葡萄糖苷酶溶液 (0.1 U/mL) 充分混合, 在 37 $^\circ\text{C}$ 下保温 10 min 后, 加入 50 μL $p\text{NPG}$ 溶液 (2.5 mmol/L) 和 200 μL 磷酸缓冲液 (0.1 mol/L, pH 6.8), 在 37 $^\circ\text{C}$ 下孵育 30 min, 最后加入 500 μL Na_2CO_3 溶液 (1 mol/L) 终止反应。使用酶标仪在 405 nm 处测定其吸光值, 以阿卡波糖作为阳性对照。根据 (5.5) 式计算样品的 α -葡萄糖苷酶抑制率, 以 IC_{50} 值表示 α -葡萄糖苷酶抑制活性。

$$\text{抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{A_1 - A_{01}}{A_0} \right) \times 100\% \quad (5.5)$$

其中, A_1 表示加入样品测得的吸光值, A_{01} 是以缓冲液代替 α -葡萄糖苷酶溶液测得的吸光值, A_0 是以缓冲液代替样品测得的吸光值。

5.2.7 血管紧张素转换酶抑制试验

5.2.7.1 样品制备

参照 Chen 等^[171]的方法, 并略作改动。取 10 μL 一定浓度的样品与 30 μL 溶于硼酸缓冲液的马尿酸组氨酸亮氨酸 (5 mmol/L HHL, 0.1 mol/L 硼酸盐, 0.3 mol/L NaCl , pH 8.3) 充分混合, 在 37 $^\circ\text{C}$ 下保温 10 min 后, 加入 30 μL ACE 溶液 (0.1 U/mL), 在 37 $^\circ\text{C}$ 下反应 60 min 后, 加入 60 μL HCl (100 mmol/L) 终止反应, 酶解反应液中的反应产物马尿酸的含量采用 HPLC 法测定。

5.2.7.2 色谱条件

试验中使用色谱柱: Agilent ZORBAX SB C18 (250 $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相 A 为 0.05% 三氟乙酸水溶液, B 相为 100% 乙腈, 等度洗脱: 75% A, 25% B, 流速为 0.6 mL/min, 柱温为 25 $^\circ\text{C}$, 进样体积 10 μL , 检测波长设置为 228 nm。根据 (5.6) 式计算样品的 ACE 抑制率, 以 IC_{50} 值表示 ACE 抑制活性。

$$\text{抑制率 (\%)} = \left(1 - \frac{A_1}{A_0} \right) \times 100\% \quad (5.6)$$

其中, A_1 表示加入样品测得的马尿酸峰面积, A_0 表示以缓冲液代替样品测得的马尿酸峰面积。

5.2.8 主要活性成分的测定

多酚、水浸出物、黄酮、多糖、游离氨基酸含量的测定参见第二章 2.2.2; GABA 含量的测定参见第三章 3.2.6。

5.3 数据分析

每个实验重复 3 次, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Microsoft Excel 软件对数据进行整理, Origin 9 软件作图以及 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。

5.4 结果分析

5.4.1 黄秋葵叶茶水提物的抗氧化活性及清除亚硝酸盐能力

评价物质的抗氧化活性有多种测试体系可以选择, 靳银杰^[17]选择 DPPH 和 FRAP 两种体系测定黄秋葵不同部位的抗氧化活性, 刘剑波^[32]选择 DPPH、FRAP 和总还原能力测定三种体系研究黄秋葵不同部位的挥发油的抗氧化活性。实际上, DPPH $\cdot$ 是少数稳定的自由基来源之一, 被广泛用于测试抗氧化剂的电子给予和自由基清除能力^[172]; 此外, $\cdot\text{OH}$ 更容易在体内产生, 被认为是生物体中反应性和毒性最强的自由基^[173], 它可以非特异性地氧化几乎所有类型的生物大分子, 导致人体衰老和疾病的发生^[174], 因此被广泛用来评价抗氧化剂的有效性。而 $\text{O}_2\cdot^-$ 是由线粒体电子传递系统产生的初始自由基^[175], 它是高活性自由基($\cdot\text{OH}$ 和 H_2O_2)的潜在前体, 在体内具有高毒性^[176], 因此研究清除 $\text{O}_2\cdot^-$ 的活性很有必要。本试验选择上述三种体系评价黄秋葵叶茶水提物的抗氧化活性, 并用 EC_{50} 值进行表示, 具体结果见表 5.1。

由表 5.1 可知, 黄秋葵叶茶水提物清除 DPPH $\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2\cdot^-$ 的 EC_{50} 值随温度升高而降低, 说明其抗氧化活性随温度升高而增强, 且达到了显著性差异 ($p < 0.05$), 而 Komes 等^[177]在研究中发现绿茶提取物的抗氧化活性随温度升高而增强, 这与本试验的结果一致, 推测可能是由于较高的温度能够将更多的活性成分浸提出来, 因此抗氧化效果更好。95 $^{\circ}\text{C}$ 的水提物对 DPPH $\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2\cdot^-$ 的清除效果最好, 其 EC_{50} 值分别达到 148.47 $\mu\text{g/mL}$ 、3.21 mg/mL 和 4.77 mg/mL , 而维生素 C 清除 DPPH $\cdot$ 、 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2\cdot^-$ 的 EC_{50} 值分别为 8.58 $\mu\text{g/mL}$ 、0.25 mg/mL 和 0.05 mg/mL , 说明黄秋葵叶茶水提物具有一定的抗氧化活性, 但与维生素 C 相比仍有差距。

表 5.1 不同提取温度黄秋葵叶茶水提物的抗氧化活性及清除亚硝酸盐能力比较

Table 5.1 Comparison of antioxidative activity and nitrite scavenging capacity of aqueous extracts from okra leaf tea under different extraction temperatures

提取温度 (°C)	EC ₅₀	EC ₅₀	EC ₅₀	EC ₅₀
	(μg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)	(mg/mL)
	DPPH•	•OH	O ₂ ⁻	NO ₂ ⁻
65	188.59±3.08a	3.78±0.13a	5.51±0.10a	5.84±0.12a
80	173.18±3.11b	3.56±0.07b	5.36±0.13b	5.18±0.15b
95	148.47±2.47c	3.21±0.09c	4.77±0.16c	2.99±0.02c
维生素 C	8.58±0.17d	0.25±0.008d	0.05±0.002d	0.03±0.001d

注：同列中不同字母表示差异达到显著性水平 ($p<0.05$)。

亚硝酸盐具有毒性，它会在胃中与次级胺反应合成具有强致癌性的 N-亚硝胺^[169]，还会使血红蛋白氧化导致高铁血红蛋白症^[178, 179]，严重危害人体健康。朱艳芳等^[169]研究发现黄秋葵能够有效清除亚硝酸盐并阻断亚硝胺的合成，因此本试验研究了黄秋葵叶茶水提物对亚硝酸盐的清除能力，并用 EC₅₀ 值表示。由表 5.1 可知，水提物清除亚硝酸盐的 EC₅₀ 值随温度升高而降低，说明其对亚硝酸盐的清除能力随温度升高而增强，并达到了显著性差异 ($p<0.05$)，这与抗氧化活性随温度的变化趋势一致。95 °C 的水提物对亚硝酸盐的清除能力明显增强，其 EC₅₀ 值为 2.99 mg/mL，而维生素 C 清除亚硝酸盐的 EC₅₀ 值为 0.03 mg/mL，说明黄秋葵叶茶水提物对亚硝酸盐具有一定的清除能力，但不如维生素 C。

5.4.2 黄秋葵叶茶水提物的降血糖及降血压能力

Ⅱ型糖尿病逐渐成为一种流行性疾病，而治疗Ⅱ型糖尿病的有效策略是抑制肠中 α-葡萄糖苷酶和胰腺中 α-淀粉酶的活性^[1, 180]。本试验选取 α-葡萄糖苷酶研究黄秋葵叶茶水提物的降血糖能力，结果用 IC₅₀ 值表示。由表 5.2 可知，水提物抑制 α-葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 值随温度升高略显下降，说明其降血糖能力随温度升高而增强，但差异较小，且 65 °C 和 80 °C 的水提物的降血糖能力未达到显著性差异 ($p>0.05$)。95 °C 的水提物抑制 α-葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 值为 16.47 mg/mL，而阿卡波糖抑制 α-葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 值为 2.82 mg/mL，说明黄秋葵叶茶水提物的降血糖效果一般，与阿卡波糖相比仍有差距。此外，无论是 Sabitha 等^[170]研究的黄

秋葵果皮和种子的水提物，还是 Lu 等^[1]研究的来自黄秋葵的低聚原花青素均对 α -葡萄糖苷酶和 α -淀粉酶具有较好的抑制效果，因此可能需要进一步对黄秋葵叶茶水提物进行分离纯化，以提高其降血糖能力。

表 5.2 不同提取温度黄秋葵叶茶水提物的降血糖及降血压能力比较

Table 5.2 Comparison of Antihyperglycemic and antihypertensive capacity of aqueous extracts from okra leaf tea under different extraction temperatures

提取温度	IC ₅₀ (mg/mL)	提取温度	IC ₅₀ (mg/mL)
(°C)	α -葡萄糖苷酶	(°C)	ACE
65	17.40±0.42a	65	11.01±0.12a
80	17.25±0.29a	80	9.35±0.17b
95	16.47±0.38b	95	8.67±0.25c
阿卡波糖	2.82±0.07c		

注：同列中不同字母表示差异达到显著性水平 ($p<0.05$)。

高血压是糖尿病的长期并发症之一，两者是相关联的代谢紊乱，控制高血压最重要的中间因素之一是ACE,抑制其活性被认为是治疗高血压的重要手段^[180]。研究发现 GABA 茶具有很好的降血压效果^[181]，由于在第二章 2.4.2.3 中检测到黄秋葵叶茶中含有 GABA，因此本试验研究了黄秋葵叶茶水提物对 ACE 的抑制效果，考察其降血压能力，结果用 IC₅₀ 值表示。由表 5.2 可知，水提物抑制 ACE 的 IC₅₀ 值随温度升高而降低，说明其降血压能力随温度升高而增强，且达到了显著性差异 ($p<0.05$)，推测可能是由于 GABA 及其他活性物质在温度较高时含量相对更高，因此降血压效果更好。95 °C 的水提物抑制 ACE 的 IC₅₀ 值为 8.67 mg/mL，说明其具有一定的降血压能力。

5.4.3 黄秋葵叶茶水提物中主要活性成分的含量

采用国家标准，行业标准等对黄秋葵叶茶水提物中主要活性成分的含量进行测定，具体结果见表 5.3。水提物中除黄酮外，其他活性成分的含量与温度相关 ($p<0.05$)，且多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 均随温度升高而增加。其中，多酚含量随温度升高增加的趋势较小，但达到了显著性差异 ($p<0.05$)，这说明黄秋葵叶茶中的多酚在 65 °C 时就能被充分浸提出来，因此随温度升高虽略有增加，但差异较小；多糖含量在 65 °C 和 80 °C 时虽略有增加，但并未达到显著性差异

($p>0.05$), 而在 95 °C 时增加得较为明显, 这与 Samavati 等^[182]的研究结果一致, 这可能是由于较高温度下多糖的扩散系数和溶解度增加^[182], 因此含量增加; 游离氨基酸和 GABA 含量随温度升高增加的幅度也较小, 但游离氨基酸达到了显著性差异 ($p<0.05$), GABA 在 80 °C 和 95 °C 时并未达到显著性差异 ($p>0.05$), 这与 Lin 等^[183]研究发现 GABA 在 50-95 °C 差异很小的结论一致, 这可能是由于氨基酸的分子量较小^[134], 温度较低时就能够溶出, 因此受温度影响较小; 黄酮含量随温度升高略呈下降的趋势, 但并未达到显著性差异 ($p>0.05$), 这可能是由于高温会导致黄酮类物质发生轻微热降解^[184], 因此含量略下降。

表 5.3 不同提取温度黄秋葵叶茶水提物中主要活性成分的含量

Table 5.3 The contents of the bioactive components of aqueous extracts from okra leaf tea under different extraction temperatures

提取温度 (°C)	多酚 (%)	黄酮 (%)	多糖 (%)	游离氨基酸 (%)	GABA (%)
65	4.67±0.02c	3.43±0.04a	8.39±0.23b	4.92±0.09c	1.20±0.03b
80	4.74±0.04b	3.42±0.03a	8.52±0.23b	5.09±0.05b	1.34±0.05a
95	4.88±0.01a	3.38±0.03a	9.02±0.13a	5.19±0.06a	1.40±0.01a

注：同列中不同字母表示差异达到显著性水平 ($p<0.05$)。

5.4.4 水提物中主要活性成分与生物活性之间的相关性分析

黄秋葵叶茶水提物中主要活性成分与表示生物活性的 EC₅₀ 值和 IC₅₀ 值之间的相关性分析见表 5.4。仅当 *Pearson* 相关系数为负值时, 说明该活性成分可能对该生物活性具有积极作用, 从表中可以看出, 水提物除了对•OH 的清除能力仅与多酚和多糖具有相关性 (r 分别为-0.749 和-0.774) 外, 对 DPPH•、O₂^{•-}和亚硝酸盐的清除能力均与多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 具有极显著的相关性 ($p<0.01$), 说明抗氧化活性与清除亚硝酸盐能力与上述活性成分密切相关; 而水提物对 α -葡萄糖苷酶的抑制与多糖具有极显著的相关性 ($p<0.01$), 这与一些研究发现植物多糖具有降血糖功能的结论一致^[185, 186]; 而水提物对 ACE 的抑制与多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 也具有极显著的相关性 ($p<0.01$), 尤其是与游离氨基酸和 GABA 的相关系数更高 (r 分别为 0.992 和 0.949), 说明降血压能力与氨基酸类物质关系密切, 这与一些研究发现 GABA 具有很好的降血压效

果的结论一致^[187, 188]。

表 5.4 黄秋葵叶茶水提物中主要活性成分与生物活性之间的 *Pearson* 相关系数

Table 5.4 The *Pearson* correlation coefficient between the bioactive components of aqueous extracts from okra leaf tea and the biological activities

	DPPH•	•OH	O ₂ ⁻	NO ₂ ⁻	α-葡萄糖苷酶	ACE
多酚	-0.994**	-0.749*	-0.980**	-0.988**	-0.782*	-0.889**
黄酮	0.830**	0.652	0.800**	0.888**	0.396	0.636
多糖	-0.930**	-0.774*	-0.959**	-0.925**	-0.864**	-0.833**
游离氨基酸	-0.935**	-0.449	-0.875**	-0.860**	-0.777*	-0.992**
GABA	-0.901**	-0.413	-0.810**	-0.822**	-0.671*	-0.949**

注：**表示极显著相关 ($p<0.01$)，*表示显著相关 ($p<0.05$)。

5.5 本章小结

(1) 本章对黄秋葵叶茶水提物的抗氧化活性、清除亚硝酸盐、降血糖和降血压能力进行了分析，结果表明黄秋葵叶茶水提物能够有效清除 DPPH•、•OH、O₂⁻和亚硝酸盐，并且能够抑制 ACE 的活性，说明其具有良好的抗氧化、清除亚硝酸盐和降血压能力，但抑制 α-葡萄糖苷酶的活性需要较大浓度，说明其降血糖效果一般；同时，表示水提物生物活性的 EC₅₀ 值和 IC₅₀ 值随温度升高而下降表明生物活性随温度升高而增强，且 95 °C 的水提物生物活性最强。

(2) 黄秋葵叶茶水提物中除黄酮外，其他活性成分含量均与温度相关，且多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 含量均随温度升高而增加，黄酮含量随温度升高略呈下降趋势，但未达到显著性差异 ($p>0.05$)。

(3) 水提物除了对•OH 的清除能力仅与多酚和多糖呈显著相关 ($p<0.05$) 外，对 DPPH•、O₂⁻和亚硝酸盐的清除能力均与多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 具有极显著的相关性 ($p<0.01$)，而对 α-葡萄糖苷酶的抑制与多糖呈极显著相关 ($p<0.01$)，对 ACE 的抑制与游离氨基酸和 GABA 的相关性更高。

第六章 结论与展望

6.1 结论

本文以黄秋葵鲜叶为原料,按绿茶加工工艺将其加工成黄秋葵叶茶,对其品质成分进行测定分析其品质特征,并对其冲泡条件进行优化,同时研究常规静态和磁力搅拌两种提取方式下黄秋葵叶茶水提物的提取动力学,并分析其不同温度水提物的抗氧化活性、清除亚硝酸盐能力、降血糖和降血压能力。

(1) 分析黄秋葵叶茶基本成分,滋味成分,色泽成分和香气成分,结果表明其各成分含量基本满足国家标准,总灰分含量(14.77%)因品种原因高于国家标准,粗蛋白含量(25.92%)最高,且具有较高的 K/Na;水浸出物含量(46.12%)符合国家标准,且滋味成分中含有多酚(1.47%),游离氨基酸(1.70%),咖啡碱(6.43 mg/100 g)等,且酚氨比较低,茶汤味淡而鲜爽,多酚类物质主要是以槲皮素和山奈酚为苷元的黄酮醇,能够赋予茶汤丝滑口感,GABA(250.34 mg/100 g)和 Glu(155.38 mg/100 g)含量较高,阈值较低,两者滋味占主导;干茶呈现绿色,其色泽成分包括叶绿素(6.77 mg/g)和类胡萝卜素(1.53 mg/g),其中叶黄素含量(97.44 mg/100 g)较高;干茶中共鉴定出 28 种香气成分,其中醛类化合物含量达到 47.53%,二甲基硫醚、D-柠檬烯、 β -环柠檬醛、2,6-二甲基吡嗪及 β -紫罗酮等都属于其特征香气物质。

(2) 利用感官评分和色差分析对黄秋葵叶茶冲泡条件进行初筛,选择冲泡茶水比 1:40-1:80(g/mL),冲泡温度 75-95 °C,冲泡时间 3-15 min 进行后续优化;以茶汤中多酚和 GABA 含量为指标,利用单因素和正交试验对黄秋葵叶茶冲泡条件进行优化,确定最佳冲泡条件为茶水比 1:70(g/mL),冲泡时间 7 min,冲泡温度 95 °C;在最佳冲泡条件下,多酚(14.58 mg/g)和 GABA(2.77 mg/g)含量均高于正交试验各组,茶汤中的可溶性总糖(81.49 mg/g)和游离氨基酸(15.73 mg/g)等滋味成分以及雪松醇、 β -环柠檬醛、 β -紫罗酮和香叶基丙酮等特征香气成分,使茶汤口感醇厚并具香甜花香。

(3) 采用常规静态和磁力搅拌两种方式提取黄秋葵叶茶中的生物活性成分,结果表明磁力搅拌提取方式下水提物中生物活性成分的浓度高于常规静态提取,且两种提取方式下,各生物活性成分的浓度均随温度升高而增加,但磁力搅拌方

式受温度影响较小,不同提取温度下,各生物活性成分浓度随时间延长先快速增长,后缓慢增长或趋于平缓,仅多酚在磁力搅拌方式下提取 10 min 后下降;利用伪二级和一级提取动力学方程对黄秋葵叶茶中生物活性成分的水提过程进行拟合并建立提取动力学模型,通过比较动力学参数可知,磁力搅拌提取方式下各活性成分更易溶出,浓度更大,且提取速率和提取量均随温度升高而增加;选取两种提取条件对建立的模型进行验证,结果表明模型精度良好,具有预测能力。

(4) 分析黄秋葵叶茶水提物的抗氧化活性,清除亚硝酸盐,降血糖和降血压能力,结果表明其能够有效清除 DPPH $\cdot$ 、 $\cdot$ OH、 $O_2^{\cdot-}$ 和亚硝酸盐,并且能够抑制 ACE 的活性,但抑制 α -葡萄糖苷酶的效果一般,且表示水提物生物活性的 EC_{50} 值和 IC_{50} 值随温度升高而下降,表明水提物生物活性随温度升高而增强,95 $^{\circ}C$ 的水提物生物活性最强;水提物中的多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 含量均随温度升高而增加,黄酮含量随温度升高而降低,但未达到显著性差异($p>0.05$);除了对 $\cdot$ OH 的清除能力仅与多酚和多糖呈显著相关($p<0.05$)外,对 DPPH $\cdot$ 、 $O_2^{\cdot-}$ 和亚硝酸盐的清除能力均与多酚、多糖、游离氨基酸和 GABA 呈极显著相关($p<0.01$),而对 α -葡萄糖苷酶的抑制与多糖呈极显著相关($p<0.01$),对 ACE 的抑制与游离氨基酸和 GABA 的相关性更高。

6.2 展望

本研究对黄秋葵叶茶的品质特征,冲泡条件,提取动力学和水提物的生物活性进行了研究和分析,明确了黄秋葵叶茶的研究价值,但由于实验条件和时间的制约,很多方面的研究还不够完善,需要从以下方面进行改进:

(1) 本文在筛选黄秋葵叶茶冲泡条件时利用了感官评价,但其可能受到主观因素的影响,因此可以考虑结合电子鼻和电子舌等仪器进行更准确统一的分析。

(2) 本文研究了常规静态和磁力搅拌两种提取方式下黄秋葵叶茶水提物的提取动力学,还可以研究其他提取方式(如超声辅助提取、酶提取和超高压提取等)的提取效果并建立相应的提取动力学模型。

(3) 在生物活性研究方面,还可以考察黄秋葵叶茶水提物的细胞抗氧化,抗肿瘤作用,以及利用动物或人体试验来进一步考察其降血压效果。

(4) 本文对黄秋葵叶茶水提物的生物活性进行了初步研究,但对于发挥作用的活性成分和可能的机理还需要进一步探索。

参考文献

- [1] Lu Y, Demleitner M F, Song L, et al. Oligomeric proanthocyanidins are the active compounds in *Abelmoschus esculentus* Moench for its α -amylase and α -glucosidase inhibition activity[J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 20:463-471.
- [2] Khomsug P, Thongjaroenbuangam W, Pakdeenarong N, et al. Antioxidative activities and phenolic content of extracts from okra (*Abelmoschus esculentus* L.)[J]. *Research Journal of Biological Sciences*, 2012, 5(4):310-313.
- [3] Liu J, Zhao Y, Wu Q, et al. Structure characterisation of polysaccharides in vegetable “okra” and evaluation of hypoglycemic activity[J]. *Food Chemistry*, 2018, 242:211-216.
- [4] Schafleitner R, Kumar S, Lin C, et al. The okra (*Abelmoschus esculentus*) transcriptome as a source for gene sequence information and molecular markers for diversity analysis[J]. *Gene*, 2013, 517(1):27-36.
- [5] Huricha C, Hanwei J, Ying C, et al. In vitro and in vivo immunomodulatory activity of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) polysaccharides[J]. *Journal of Medicinal Food*, 2016, 19(3):253-265.
- [6] Sabitha V, Ramachandran S, Naveen K R, et al. Antidiabetic and antihyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Journal of pharmacy and bioallied sciences*, 2011, 3(3):397-402.
- [7] 李孟秋.黄秋葵种子抗抑郁活性及机制研究[D]. 天津科技大学, 2016.
- [8] 蔡志林, 常庆涛, 王书勤, 等. 黄秋葵综合利用价值及高产栽培技术[J]. *上海农业科技*, 2002(06):70-71.
- [9] 薛志忠, 刘思雨, 杨雅华. 黄秋葵的应用价值与开发利用研究进展[J]. *保鲜与加工*, 2013(02):58-60.
- [10] Bawa S E H, Badrie N. Chapter 18 - Nutrient profile, bioactive components, and functional properties of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench)[M]. *Fruits, Vegetables, and Herbs*. Academic Press, 2016:365-409.
- [11] 高振茂, 高冠亚, 杜丽红. 天然佳蔬黄秋葵的营养与食用方法[J]. *上海蔬菜*, 2005(02):76-77.
- [12] Camciuc M, Deplagne M, Vilarem G, et al. Okra--*Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) a crop with economic potential for set aside acreage in France[J]. *Industrial Crops & Products*, 1998, 7(2-3):257-264.
- [13] 陈方娟.秋葵和飞扬草的化学成分研究[D]. 浙江工商大学, 2013.
- [14] 吴佳静.黄秋葵叶粉对蛋鸡生产性能及免疫功能的影响[D]. 海南大学, 2012.
- [15] 吴佳静, 周汉林, 荣光, 等. 黄秋葵叶粉对海兰褐蛋鸡部分生产性能及蛋品质的影响[J]. *热带作物学报*, 2012(04):755-758.
- [16] 周兆祥, 白石琦, 邹烨, 等. 黄秋葵茶叶的成分分析及其水提物的抗氧化活性测定[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2015(03):260-262.
- [17] 靳银杰.黄秋葵化学成分与抗氧化活性研究[D]. 郑州大学, 2012.
- [18] 程旺开, 许月明, 张冬冬. 响应面优化黄秋葵叶多糖的提取工艺及其抗氧化活性考察[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2017(04):38-42.
- [19] 白石琦.黄秋葵叶多糖的分离纯化、初步表征及其抗氧化活性研究[D]. 江苏大学, 2013.
- [20] 叶花兰, 刘东祥, 刘国道. 黄秋葵作为禽用着色剂的品种比较试验[J]. *中国农学通报*, 2007(05):428-431.

- [21] Wilczynska A, Modrzewski A F. Chapter 15 - Fatty Acids in Human Diet and Their Impact on Cognitive and Emotional Functioning[M]. The Role of Functional Food Security in Global Health. Academic Press, 2019:261-270.
- [22] 宋思圆.黄秋葵多糖的超声提取及其结构和抗氧化活性研究[D]. 浙江大学, 2017.
- [23] Boukari I, Shier N W, Fernandez R X E, et al. Calcium analysis of selected Western African foods[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2001, 14(1):37-42.
- [24] Obahiagbon F I, Oboh H, Uwumarongie-ilori G E, et al. Selenium contents of some commonly consumed Nigerian vegetables and physiological implications[J]. Journal of Chemical Society of Nigeria, 2011, 36(2).
- [25] Nwachukwu E C, Nulit R, Go R. Nutritional and biochemical properties of Malaysian okra variety[J]. Advancement in Medicinal Plant Research, 2014, 2(1):16-19.
- [26] Eggersdorfer M, Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2018, 652:18-26.
- [27] 衣珊珊, 沈昌, 韩永斌, 等. 红曲色素形成机理及提高其色价的途径[J]. 食品科学, 2005,26(7):256-261.
- [28] Bernstein P S, Li B, Vachali P P, et al. Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: The basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease[J]. Progress in Retinal and Eye Research, 2016, 50:34-66.
- [29] 李永平, 陈敏敏, 朱海生, 等. 黄秋葵番茄红素 β -环化酶LCYB基因的克隆与分析[J]. 植物遗传资源学报, 2018(01):167-176.
- [30] 罗燕春, 韦吉, 黎军平, 等. 黄秋葵叶粉中叶黄素和 β -胡萝卜素的稳定性研究[J]. 中国农学通报, 2008(07):85-88.
- [31] 李孟秋, 翟俊乐, 田欢, 等. 黄秋葵提取物体外抗氧化活性的研究[J]. 中国食品添加剂, 2015(10):65-69.
- [32] 刘剑波.黄秋葵的化学成分及抗氧化活性分析[D]. 浙江农林大学, 2012.
- [33] Jeon D B, Hong Y S, Lee G H, et al. Determination of volatile organic compounds, catechins, caffeine and theanine in Jukro tea at three growth stages by chromatographic and spectrometric methods[J]. Food Chemistry, 2017, 219:443-452.
- [34] Wang L, Lee J, Chung J, et al. Discrimination of teas with different degrees of fermentation by SPME-GC analysis of the characteristic volatile flavour compounds[J]. Food Chemistry, 2008, 109(1):196-206.
- [35] Yang Z, Baldermann S, Watanabe N. Recent studies of the volatile compounds in tea[J]. Food Research International, 2013, 53(2):585-599.
- [36] Xu L, Xia G, Luo Z, et al. UHPLC analysis of major functional components in six types of Chinese teas: Constituent profile and origin consideration[J]. LWT, 2019, 102:52-57.
- [37] Novita R, Kasim A, Anggraini T, et al. Kahwa daun: traditional knowledge of a coffee leaf herbal tea from West Sumatera, Indonesia[J]. Journal of Ethnic Foods, 2018, 5(4):286-291.
- [38] Katherine Martinko. Coffee leaf tea is the hottest new beverage[EB/OL]. <https://www.tree-hugger.com/green-food/coffee-leaf-tea-hottest-new-beverage.html>, 2015-02-20.
- [39] Ma X, Moilanen J, Laaksonen O, et al. Phenolic compounds and antioxidant activities of tea-type infusions processed from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) leaves[J]. Food Chemistry, 2019, 272:1-11.
- [40] Adam A Z, Lee S Y, Mohamed R. Pharmacological properties of agarwood tea derived from *Aquilaria* (Thymelaeaceae) leaves: An emerging contemporary herbal drink[J]. Journal of

- Herbal Medicine, 2017, 10:37-44.
- [41] Nasution P A, Batubara R, Surjanto S. Level of antioxidants power and society interest of aloes tea (*Aquilaria malaccensis* Lamk) based of induction tree and non-induction treatment[J]. *Peronema For. Sci. J.*, 2015, 4:1-12.
- [42] 潘军辉, 王维亚, 谢雨婷, 等. 响应面法优化沉香叶茶多酚提取工艺[J]. *南昌大学学报(理科版)*, 2016(02):161-165.
- [43] 郑立红, 郭建业, 杜彬, 等. 不同干燥方法对枸杞叶茶品质影响的研究[J]. *中国食品学报*, 2012,12(10):149-154.
- [44] 刘静.枸杞叶茶加工工艺的研究[D]. 河北农业大学, 2008.
- [45] 林娇芬.富含多种功效成分的柿叶保健茶的研究[D]. 福建农林大学, 2005.
- [46] 徐文秀, 郭玉平. 柿叶茶营养成分分析[J]. *食品工业*, 2013(01):189-192.
- [47] 王丹丹, 方建国, 施春阳, 等. 加工及干燥对藤茶品质成分的影响[J]. *时珍国医国药*, 2016(12):2899-2902.
- [48] Gao Q, Ma R, Chen L, et al. Antioxidant profiling of vine tea (*Ampelopsis grossedentata*): Off-line coupling heart-cutting HSCCC with HPLC-DAD-QTOF-MS/MS[J]. *Food Chemistry*, 2017, 225:55-61.
- [49] Xu M, Wang J, Gu S. Rapid identification of tea quality by E-nose and computer vision combining with a synergetic data fusion strategy[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 241:10-17.
- [50] Yu P, Yeo A S, Low M, et al. Identifying key non-volatile compounds in ready-to-drink green tea and their impact on taste profile[J]. *Food Chemistry*, 2014, 155:9-16.
- [51] 周国兰, 刘红梅, 郑文莉, 等. 茶树品种化学成分分析研究[J]. *茶叶通讯*, 2007(03):33-38.
- [52] Li X, Jin J, Sun C, et al. Simultaneous determination of six main types of lipid-soluble pigments in green tea by visible and near-infrared spectroscopy[J]. *Food Chemistry*, 2019, 270:236-242.
- [53] Guo X, Ho C, Schwab W, et al. Aroma compositions of Large-leaf yellow tea and potential effect of theanine on volatile formation in tea[J]. *Food Chemistry*, 2019, 280:73-82.
- [54] 王富河, 赵师成, 阎腾飞, 等. 信阳大茶沟翅岭古茶茶叶品质评价[J]. *河南农业科学*, 2016(07):44-48.
- [55] 弓威, 顾丰颖, 贺凡, 等. 山楂茶特征成分分析[J]. *食品科学*, 2015(20):115-119.
- [56] 章宏慧.水芹茶加工工艺及其生物活性研究[D]. 浙江大学, 2014.
- [57] 唐源江, 武晓燕, 曹雯静. 酸茶营养成分及微量元素分析[J]. *食品与发酵工业*, 2012(01):165-168.
- [58] 周继荣, 郑凯英, 狄英杰, 等. 蜡梅花茶加工过程中品质的变化[J]. *茶叶科学*, 2010(05):393-398.
- [59] Haihua Z, Yulan J, Yangjun L, et al. Effect of water quality on the main components in Fuding white tea infusions[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 54(5):1206-1211.
- [60] Haihua Z, Yulin L, Yangjun L, et al. Influence of brewing conditions on taste components in Fuding white tea infusions[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(9):2826-2833.
- [61] 张涛, 张育松, 袁弟顺. 正交设计优化绞股蓝珠茶冲泡参数的研究[J]. *金陵科技学院学报*, 2009(01):45-48.
- [62] 秦振华, 兰奎, 刘梁, 等. 发酵型藤茶冲泡工艺及其抗氧化性能研究[J]. *食品研究与开*

- 发, 2018(21):120-125.
- [63] 姜慧, 王美萍, 田彤, 等. 菊花茶冲泡工艺优化[J]. 食品科学, 2011(22):152-155.
- [64] İlyasoğlu H, Arpa T E. Effect of brewing conditions on antioxidant properties of rosehip tea beverage: study by response surface methodology[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54(5):1-7.
- [65] Irakli M, Tsifodimou K, Sarrou E, et al. Optimization infusions conditions for improving phenolic content and antioxidant activity in *Sideritis scardica* tea using response surface methodology[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2018, 8:67-74.
- [66] Rani Das P, Jong-Bang E. A comparative study of ultra-sonication and agitation extraction techniques on bioactive metabolites of green tea extract[J]. Food Chemistry, 2018, 253:22-29.
- [67] Jun X, Shuo Z, Bingbing L, et al. Separation of major catechins from green tea by ultrahigh pressure extraction[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2010, 386(1-2):229-231.
- [68] Namal Senanayake S P J. Green tea extract: Chemistry, antioxidant properties and food applications - A review[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(4):1529-1541.
- [69] Figueira M E. Chapter 3.41 - Tea Extracts[M]. Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements. Academic Press, 2019:433-436.
- [70] Sakanaka S, Tachibana Y, Okada Y. Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha)[J]. Food Chemistry, 2005, 89(4):569-575.
- [71] Jie S, Yi-Fang C, Xianzhong W, et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(23):7449-7454.
- [72] 周志阳, 曹有龙, 王艺涵, 等. 枸杞芽茶与叶茶的化学成分和抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2017(10):129-134.
- [73] Sugahara S, Chiyo A, Fukuoka K, et al. Unique antioxidant effects of herbal leaf tea and stem tea from *Moringa oleifera* L. especially on superoxide anion radical generation systems[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2018, 82(11):1973-1984.
- [74] Zemestani M, Rafrat M, Asghari-Jafarabadi M. Chamomile tea improves glycemic indices and antioxidants status in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Nutrition, 2016, 32(1):66-72.
- [75] Banu S, Jabir N R, Manjunath N C, et al. Reduction of post-prandial hyperglycemia by mulberry tea in type-2 diabetes patients[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2015, 22(1):32-36.
- [76] Wang H, Du Y, Song H. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of guava leaves[J]. Food Chemistry, 2010, 123(1):6-13.
- [77] Adisakwattana S. In vitro inhibitory effects of plant-based foods and their combinations on intestinal α -glucosidase and pancreatic α -amylase[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012, 12(1):110.
- [78] Tsuneyuki O, Mai Y, Mariko N, et al. Inhibitory effects of extractives from leaves of *Morus alba* on human and rat small intestinal disaccharidase activity[J]. British Journal of Nutrition, 2006, 95(5):933-938.
- [79] Kato A, Minoshima Y, Yamamoto J, et al. Protective effects of dietary chamomile tea on diabetic complications[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(17):8206-8211.

- [80] Yang N, Zhou K, Tseng C. Antihypertensive effect of mulberry leaf aqueous extract containing γ -aminobutyric acid in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2012, 132(4): 1796-1801.
- [81] Shaw H, Wu J, Wang M. Antihypertensive effects of *Ocimum gratissimum* extract: Angiotensin-converting enzyme inhibitor in vitro and in vivo investigation[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 35:68-73.
- [82] Balasuriya N, Rupasinghe H P V. Antihypertensive properties of flavonoid-rich apple peel extract[J]. Food Chemistry, 2012, 135(4):2320-2325.
- [83] 杨利, 韩诗雯, 车会莲, 等. 罗布麻茶水提物对自发性高血压大鼠血压的调节作用[J]. 中国食品学报, 2017(07):55-60.
- [84] Lau Y S, Kwan C Y, Ku T C, et al. Apocynum venetum leaf extract, an antihypertensive herb, inhibits rat aortic contraction induced by angiotensin II: A nitric oxide and superoxide connection[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2012, 143(2):565-571.
- [85] Onyenekwe P C, Ajani E O, Ameh D A, et al. Antihypertensive effect of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) calyx infusion in spontaneously hypertensive rats and a comparison of its toxicity with that in Wistar rats[J]. Cell Biochemistry and Function, 2015, 17(3):199-206.
- [86] McKay D L, Chen C O, Saltzman E, et al. *Hibiscus Sabdariffa* L. Tea (Tisane) Lowers Blood Pressure in Prehypertensive and Mildly Hypertensive Adults[J]. Journal of Nutrition, 2010, 140(2):298-303.
- [87] 侯改霞. 连翘叶提取物的降血脂和抗疲劳作用研究[D]. 陕西师范大学, 2004.
- [88] Chen X, Ma Z, Kitts D D. Effects of processing method and age of leaves on phytochemical profiles and bioactivity of coffee leaves[J]. Food Chemistry, 2018, 249:143-153.
- [89] Leiro J M, Álvarez E, Arranz J A, et al. In vitro effects of mangiferin on superoxide concentrations and expression of the inducible nitric oxide synthase, tumour necrosis factor- α and transforming growth factor- β genes[J]. Biochemical Pharmacology, 2003, 65(8):1361-1371.
- [90] Hwang S J, Kim Y, Park Y, et al. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells[J]. Inflammation Research, 2014, 63(1):81-90.
- [91] Ferdousi F, Araki R, Hashimoto K, et al. Olive leaf tea may have hematological health benefit over green tea[J]. Clinical Nutrition, 2018.
- [92] 仰榴青, 郑伟, 吴向阳, 等. 一种利用黄秋葵叶制备茶叶的方法及用途[P]. CN201210524521.8. 2013-03-27.
- [93] 车振明, 邢亚阁, 龚丽, 等. 一种黄秋葵养生保健茶及其制备方法[P]. CN201210433955.7. 2013-03-27.
- [94] 王学奎, 黄见良. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 高等教育出版社, 2015.
- [95] 李文德, 张礼星, 徐柔, 等. 纤维素酶提取甜菜果胶的工艺条件[J]. 无锡轻工大学学报, 1999(04):42-45.
- [96] Official Methods of Analysis: 15th Edition[J]. Trac Trends in Analytical Chemistry, 1990, 9(4):VI.
- [97] Jabeen S, Alam S, Saleem M, et al. Withering timings affect the total free amino acids and mineral contents of tea leaves during black tea manufacturing[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2015.
- [98] GB/T 14456.1-2017 绿茶[S].

- [99] Ho C, Zheng X, Li S. Tea aroma formation[J]. Food Science and Human Wellness, 2015, 4(1):9-27.
- [100] 陆松侯, 施兆鹏. 茶叶审评与检验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [101] Chen G, Yuan Q, Saeeduddin M, et al. Recent advances in tea polysaccharides: Extraction, purification, physicochemical characterization and bioactivities[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 153:663-678.
- [102] Śmiechowska M, Dmowski P. Crude fibre as a parameter in the quality evaluation of tea[J]. Food Chemistry, 2006, 94(3):366-368.
- [103] Karak T, Bhagat R M. Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review[J]. Food Research International, 2010, 43(9):2234-2252.
- [104] 李旭玫. 茶叶中的矿质元素对人体健康的作用[J]. 中国茶叶, 2002(02):30-31.
- [105] 罗婷, 赵镭, 胡小松, 等. 绿茶矿质元素特征分析及产地判别研究[J]. 食品科学, 2008(11):494-497.
- [106] Savica V, Bellinghieri G, Kopple J D. The Effect of Nutrition on Blood Pressure[J]. Annual Review of Nutrition, 2010, 30(1):365-401.
- [107] 杜贤明, 黎小萍, 俞燕芳, 等. 蒸青桑叶茶加工过程中主要品质成分变化的研究[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2015(05):1-3.
- [108] 张敏. 薄荷叶茶加工工艺研究[D]. 河北农业大学, 2009.
- [109] 刘慧娟, 郑云展, 陈燕霞, 等. 微波真空干制加工对荷叶茶酚类物质含量及其抗氧化活性的影响[J]. 食品科学技术学报, 2016(03):40-45.
- [110] Ye Y, Yan J, Cui J, et al. Dynamic changes in amino acids, catechins, caffeine and gallic acid in green tea during withering[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2018, 66:98-108.
- [111] Zhang Q, Ruan J. Tea: Analysis and Tasting[M]. Encyclopedia of Food and Health. Oxford: Academic Press, 2016:256-267.
- [112] 王萍, 肖文君, 胡帅, 等. 黄秋葵不同品系和不同组织部位的果胶和咖啡因含量比较研究[J]. 激光生物学报, 2015(02):175-179.
- [113] 黄阿根, 陈学好, 高云中, 等. 黄秋葵的成分测定与分析[J]. 食品科学, 2007(10):451-455.
- [114] Arapitsas P. Identification and quantification of polyphenolic compounds from okra seeds and skins[J]. Food Chemistry, 2008, 110(4):1041-1045.
- [115] Khomsug P, Thongjaroenbuangam W, Pakdeenarong N, et al. Antioxidative activities and phenolic content of extracts from okra (*Abelmoschus esculentus* L.).[J]. Research Journal of Biological Sciences, 2012, 5(4):310-313.
- [116] Fan S, Zhang Y, Sun Q, et al. Extract of okra lowers blood glucose and serum lipids in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2014, 25(7):702-709.
- [117] Engels C, Gräter D, Esquivel P, et al. Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry[J]. Food Research International, 2012, 46(2):557-562.
- [118] Spínola V, Pinto J, Castilho P C. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-DAD-ESI-MSn and screening for their antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2015, 173:14-30.
- [119] Kai-Xia Z, Yue-Sheng W, Wen-Guang J, et al. Improved quality control method for prescriptions of *Polygonum capitatum* through simultaneous determination of nine major

- constituents by HPLC coupled with triple quadruple mass spectrometry[J]. *Molecules*, 2013, 18(10):11824-11835.
- [120] Ismail B B, Pu Y, Guo M, et al. LC-MS/QTOF identification of phytochemicals and the effects of solvents on phenolic constituents and antioxidant activity of baobab (*Adansonia digitata*) fruit pulp[J]. *Food Chemistry*, 2019, 277:279-288.
- [121] Qiao X, He W N, Xiang C, et al. Qualitative and quantitative analyses of flavonoids in *Spirodela polyrrhiza* by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry[J]. *Phytochemical Analysis*, 2011, 22(6):475-483.
- [122] Vallverdu-Queralt A, Boix N, Pique E, et al. Identification of phenolic compounds in red wine extract samples and zebrafish embryos by HPLC-ESI-LTQ-Orbitrap-MS[J]. *Food Chemistry*, 2015, 181:146-151.
- [123] Wu C, Xu H, Héritier J, et al. Determination of catechins and flavonol glycosides in Chinese tea varieties[J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(1):144-149.
- [124] Diana M, Quílez J, Rafecas M. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review[J]. *Journal of Functional Foods*, 2014, 10:407-420.
- [125] Kirimura J, Shimizu A, Kimizuka A, et al. Contribution of peptides and amino acids to the taste of foods[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1969, 17(4):689-695.
- [126] Scharbert S, Hofmann T. Molecular definition of black tea taste by means of quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(13):5377-5384.
- [127] Liu Y, Luo L, Liao C, et al. Effects of brewing conditions on the phytochemical composition, sensory qualities and antioxidant activity of green tea infusion: A study using response surface methodology[J]. *Food Chemistry*, 2018, 269:24-34.
- [128] Zhu Y, Lv H, Shao C, et al. Identification of key odorants responsible for chestnut-like aroma quality of green teas[J]. *Food Research International*, 2018, 108:74-82.
- [129] 梁贵秋, 李全, 陆飞, 等. 桑叶茶挥发性成分的GC-MS分析[J]. *现代食品科技*, 2013(05):1157-1159.
- [130] 侯鹏娟, 郭鹏, 茹琦, 等. 黄葵籽中挥发性成分的GC-MS分析研究[J]. *食品科技*, 2017(02):281-285.
- [131] Wu Q Y, Ma S Z, Zhang W W, et al. Accumulating pathways of γ -aminobutyric acid during anaerobic and aerobic sequential incubations in fresh tea leaves[J]. *Food Chemistry*, 2018, 240:1081-1086.
- [132] Lin S D, Yang J H, Hsieh Y J, et al. Effect of Different Brewing Methods on Quality of Green Tea[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2014, 38(3):1234-1243.
- [133] 黄椿鉴, 傅虬声, 李志达, 等. 乌龙茶在浸提中温度和时间的最佳决策研究[J]. *农业工程学报*, 1995(04):180-184.
- [134] 王星天, 李桂水, 程丽君, 等. 响应面试验优化桑叶茶中游离氨基酸与多酚的提取工艺[J]. *食品科学*, 2015(24):83-88.
- [135] Xu Y, Ji W, Yu P, et al. Effect of extraction methods on the chemical components and taste quality of green tea extract[J]. *Food Chemistry*, 2018, 248:146-154.
- [136] Muruges C S, Rastogi N K, Subramanian R. Athermal extraction of green tea: Optimisation and kinetics of extraction of polyphenolic compounds[J]. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2018, 50:207-216.
- [137] Kocadağlı T, Özdemir K S, Gökmen V. Effects of infusion conditions and decaffeination on

- free amino acid profiles of green and black tea[J]. Food Research International, 2013, 53(2):720-725.
- [138] Lv H, Zhong Q, Lin Z, et al. Aroma characterisation of Pu-erh tea using headspace-solid phase microextraction combined with GC/MS and GC-olfactometry[J]. Food Chemistry, 2012, 130(4):1074-1081.
- [139] 袁思思, 柏珍, 黄亚辉, 等. 3种黑茶的香气分析[J]. 食品科学, 2014(02):252-256.
- [140] Chao W, Chenxia Z, Yawen K, et al. A comparative study of volatile components in Dianhong teas from fresh leaves of four tea cultivars by using chromatography-mass spectrometry, multivariate data analysis, and descriptive sensory analysis[J]. Food Research International, 2017, 100(Part 1):267-275.
- [141] Zhuo-Xiao H, Mohammad M R, Guo-Feng L, et al. Green tea flavour determinants and their changes over manufacturing processes[J]. Food Chemistry, 2016, 212:739-748.
- [142] Yong-Quan X, Chao W, Chang-Wen L, et al. Characterization of aroma-active compounds of pu-erh tea by headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) and simultaneous distillation-extraction (SDE) coupled with GC-olfactometry and GC-MS[J]. Food Analytical Methods, 2016, 9(5):1188-1198.
- [143] 朱荫, 杨停, 施江, 等. 西湖龙井茶香气成分的全二维气相色谱-飞行时间质谱分析[J]. 中国农业科学, 2015(20):4120-4146.
- [144] Chen W, Shidong L, Yuanshuang W, et al. Study of aroma formation and transformation during the manufacturing process of Biluochun green tea in Yunnan Province by HS-SPME and GC-MS[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(13):4492-4498.
- [145] Vuong Q V, Golding J B, Stathopoulos C E, et al. Optimizing conditions for the extraction of catechins from green tea using hot water[J]. Journal of Separation Science, 2011, 34(21): 3099-3106.
- [146] Lantano C, Rinaldi M, Cavazza A, et al. Effects of alternative steeping methods on composition, antioxidant property and colour of green, black and oolong tea infusions[J]. Journal of Food Science and Technology-mysore, 2015, 52(12):8276-8283.
- [147] Coppock R W, Dziwenka M. Chapter 46 - Green Tea Extract[J]. Nutraceuticals, 2016:633-652.
- [148] Hartonen K, Riekkola M. Chapter 2 - Water as the First Choice Green Solvent[M]. The Application of Green Solvents in Separation Processes. Elsevier, 2017:19-55.
- [149] Fernando C D, Soysa P. Extraction Kinetics of phytochemicals and antioxidant activity during black tea (*Camellia sinensis* L.) brewing[J]. Nutrition Journal, 2015, 14(1):74.
- [150] Yu-Chiao Y, Ming-Chi W. Development and characterization of a green procedure for apigenin extraction from *Scutellaria barbata* D. Don.[J]. Food Chemistry, 2018, 252:381-389.
- [151] Spigno G, De Faveri D M. Antioxidants from grape stalks and marc: Influence of extraction procedure on yield, purity and antioxidant power of the extracts[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(3):793-801.
- [152] 吴晔, 程楚江. 不同浸提条件对荷叶茶水理化品质的影响[J]. 安徽农业科学, 2012(14):8235-8237.
- [153] 王星天. 新型复合桑叶茶饮料的研制工艺[D]. 天津科技大学, 2016.
- [154] Maciel Bindes M M, Cardoso V L, Miranda Reis M H, et al. Maximisation of the polyphenols extraction yield from green tea leaves and sequential clarification[J]. Journal of Food Engineering, 2019, 241:97-104.

- [155] Qu W, Pan Z, Ma H. Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc[J]. Journal of Food Engineering, 2010, 99(1):16-23.
- [156] Pujun X, Lixin H, Caihong Z, et al. Enhanced extraction of hydroxytyrosol, maslinic acid and oleanolic acid from olive pomace: process parameters, kinetics and thermodynamics, and greenness assessment[J]. Food Chemistry, 2019, 276:662-674.
- [157] Su C, Liu C, Yang P, et al. Solid-liquid extraction of phycocyanin from *Spirulina platensis*: Kinetic modeling of influential factors[J]. Separation and Purification Technology, 2014, 123:64-68.
- [158] Guo L, Guo J, Zhu W, et al. Optimized synchronous extraction process of tea polyphenols and polysaccharides from Huaguoshan Yunwu tea and their antioxidant activities[J]. Food and Bioproducts Processing, 2016, 100:303-310.
- [159] Perez-Burillo S, Gimenez R, Rufian-Henares J A, et al. Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: Relationship with sensory properties[J]. Food Chemistry, 2018, 248:111-118.
- [160] Upasna B, Biswajit S. Aqueous extraction kinetics of phenolic compounds from jamun (*Syzygium cumini* L.) seeds[J]. International Journal of Food Properties, 2017, 20(2):372-389.
- [161] Wei M, Yang Y. Kinetic studies for ultrasound-assisted supercritical carbon dioxide extraction of triterpenic acids from healthy tea ingredient *Hedyotis diffusa* and *Hedyotis corymbosa*[J]. Separation and Purification Technology, 2015, 142:316-325.
- [162] Braicu C, Lodomery M R, Chedea V S, et al. The relationship between the structure and biological actions of green tea catechins[J]. Food Chemistry, 2013, 141(3):3282-3289.
- [163] Haihua Z, Yulan J, Junxian P, et al. Effect of tea products on the *in vitro* enzymatic digestibility of starch[J]. Food Chemistry, 2018, 243:345-350.
- [164] Hodgson J M, Woodman R J, Puddey I B, et al. Short-term effects of polyphenol-rich black tea on blood pressure in men and women[J]. Food and Function, 2013, 4(1):111-115.
- [165] 林薇, 郑良朴, 叶蕪芝, 等. 乌龙药茶对高脂血症大鼠血脂代谢、尿酸代谢的影响[J]. 茶叶科学, 2009, 29(3):196-199.
- [166] Kuo C, Chen T, Liou S, et al. Immunomodulatory effects of EGCG fraction of green tea extract in innate and adaptive immunity via T regulatory cells in murine model[J]. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2014, 36(5):364-370.
- [167] Liu S, Ai Z, Qu F, et al. Effect of steeping temperature on antioxidant and inhibitory activities of green tea extracts against α -amylase, α -glucosidase and intestinal glucose uptake[J]. Food Chemistry, 2017, 234:168-173.
- [168] Guo L, Zhu W, Xu F, et al. Optimized ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from *Cyclina sinensis* and evaluation of antioxidant activities *in vitro*[J]. CyTA - Journal of Food, 2014, 12(1):32-39.
- [169] 朱艳芳, 杨杰, 刘东华, 等. 黄秋葵花体外清除亚硝酸盐及阻断亚硝胺合成的研究[J]. 食品与发酵工业, 2014(11):100-103.
- [170] Sabitha V, Panneerselvam K, Ramachandran S. *In vitro* α -glucosidase and α -amylase enzyme inhibitory effects in aqueous extracts of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench[J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2012, 2(1):S162-S164.
- [171] Chen J, Wang Y, Ye R, et al. Comparison of analytical methods to assay inhibitors of angiotensin I-converting enzyme[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4):3329-3334.

- [172] Xiong S L, Li A, Huang N, et al. Antioxidant and immunoregulatory activity of different polysaccharide fractions from tuber of *Ophiopogon japonicus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(3):1273-1280.
- [173] Özyürek M, Bektaşoğlu B, Güçlü K, et al. Hydroxyl radical scavenging assay of phenolics and flavonoids with a modified cupric reducing antioxidant capacity (CUPRAC) method using catalase for hydrogen peroxide degradation[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 616(2):196-206.
- [174] Perumal S, Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) seed extracts[J]. Food Chemistry, 2007, 101(1):10-19.
- [175] Biao-Shi W, Bian-Sheng L, Qing-Xiao Z, et al. Antioxidant and free radical scavenging activities of pigments extracted from molasses alcohol wastewater[J]. Food Chemistry, 2008, 107(3):1198-1204.
- [176] Kanatt S R, Chander R, Sharma A. Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata* L.) in radiation-processed lamb meat[J]. Food Chemistry, 2007, 100(2):451-458.
- [177] Komes D, Horzic D, Belscak A, et al. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds[J]. Food Research International, 2010, 43(1):167-176.
- [178] Choi D, Cho K, Na M, et al. Effect of bamboo oil on antioxidative activity and nitrite scavenging activity[J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2008, 14(6):765-770.
- [179] Liu J, Lin S, Wang Z, et al. Supercritical fluid extraction of flavonoids from *Maydis stigma* and its nitrite-scavenging ability[J]. Food and Bioproducts Processing, 2011, 89(C4):333-339.
- [180] Apostolidis E, Kwon Y I, Shetty K. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2007, 8(1):46-54.
- [181] Zhao M, Ma Y, Wei Z Z. Determination and Comparison of γ -Aminobutyric Acid (GABA) Content in Pu-erh and Other Types of Chinese Tea[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(8):3641-3648.
- [182] Samavati V, Manoochehrizade A. Polysaccharide extraction from *Malva sylvestris* and its anti-oxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 60:427-436.
- [183] Lin S, Mau J, Hsu C. Bioactive components and antioxidant properties of γ -aminobutyric acid (GABA) tea leaves[J]. LWT - Food Science and Technology, 2012, 46(1):64-70.
- [184] Magdalena B. Influence of extraction methods on stability of flavonoids[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(18):2505-2512.
- [185] Shilun C, Hongmei S, Junyan Y, et al. Effects of different extraction techniques on physicochemical properties and activities of polysaccharides from comfrey (*Symphytum officinale* L.) root[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 121:18-25.
- [186] Luo Y, Peng B, Liu Y, et al. Ultrasound extraction of polysaccharides from guava leaves and their antioxidant and antiglycation activity[J]. Process Biochemistry, 2018, 73:228-234.
- [187] Chin F L, Yi T T, Cheng L W, et al. Antihypertensive effects of *Lactobacillus*-fermented milk orally administered to spontaneously hypertensive rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(9):4537-4543.
- [188] Ines Torino M, Limon R I, Martinez-Villaluenga C, et al. Antioxidant and antihypertensive properties of liquid and solid state fermented lentils[J]. Food Chemistry, 2013, 136(2):1030-1037.

附 录

1、黄秋葵鲜叶



2、黄秋葵叶茶成品



3、英文缩写对照表

ACE	血管紧张素转换酶
ABTS ⁺	2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐
DPPH	1,1-二苯基-2-三硝基苯肼
FRAP	铁离子还原抗氧化力
DW	干重
HHL	马尿酰组氨酰亮氨酸
GABA	γ -氨基丁酸
MTBE	甲基叔丁基醚
NO	内皮舒张因子一氧化氮
OPA	邻苯二甲醛
•OH	羟基自由基
O ₂ ⁻	超氧阴离子
PVPP	交联聚乙烯吡咯烷酮
Trolox	6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸
QE	槲皮素当量
TNE	单宁酸当量
RPS-11	黄秋葵叶多糖组分
RPS-22	黄秋葵叶多糖组分
STZ	链脲佐菌素
TC	总胆固醇
TG	甘油三酯
LDL-C	低密度脂蛋白
HDL-C	高密度脂蛋白
SHR	自发性高血压大鼠

作者简介

魏丹，女，汉族，1992年8月出生，黑龙江绥化人。2011年考入东北农业大学食品科学与工程专业学习，2015年6月获得工学学士学位。2016年9月考入浙江大学生物系统工程与食品科学学院食品工程专业，攻读硕士学位。

在校期间已发表或录用的论文

1、魏丹，苏平*，蒲云峰，梁文康. 黄秋葵叶茶营养及挥发性成分分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(04):238-244.

2、孙昕，苏平*，魏丹. 姜辣素的酶法提取及其对亚硝酸盐清除的研究[J]. 食品研究与开发, 2018(2):90-96.

3、苏平，孙昕，宋思圆*，魏丹. 提取方法对黄秋葵多糖的结构组成及抗氧化活性的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(15):93-100.