

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.04.005  
文章编号: 1005-8982 (2018) 04-0022-04

## 普洱茶水浸液抑制牙釉质脱矿作用初探\*

王丽梅<sup>1</sup>, 梁迎东<sup>2</sup>, 杨晓珍<sup>2</sup>, 蓝海<sup>2</sup>

[1. 大理大学第三附属医院(云南省大理州人民医院)口腔科, 云南 大理 671000;  
2. 大理大学药学与化学学院, 云南 大理 671000]

**摘要: 目的** 探究普洱茶(生茶、熟茶)不同浓度水浸液抑制牙釉质脱矿的作用。**方法** 检测经普洱茶不同浓度水浸液处理离体牙前后乳酸盐缓冲溶液中磷离子浓度的变化, 计算出磷溶出率。设 20 mg/L 氟化钠组为阳性对照组, 去离子水组为阴性对照组, 评价普洱茶不同浓度水浸液抑制牙釉质脱矿的作用。**结果** 普洱茶不同浓度组、氟化钠阳性对照组与去离子水阴性对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。普洱茶不同浓度组之间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。同浓度条件下, 生茶组比熟茶组的作用强, 且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 普洱茶不同浓度水浸液均具有抑制牙釉质脱矿的作用, 且高浓度水浸液作用效果更强。

**关键词:** 普洱茶; 磷溶出率; 脱矿

**中图分类号:** R783.5

**文献标识码:** A

## Preliminary study of Pu'er tea on inhibition of enamel demineralization\*

Li-mei Wang<sup>1</sup>, Ying-dong Liang<sup>2</sup>, Xiao-zhen Yang<sup>2</sup>, Hai Lan<sup>2</sup>

[1. Department of Stomatology, the Third Affiliated Hospital of Dali University (Dali Bai Autonomous Prefecture People's Hospital), Dali, Yunan 671000, China; 2. College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China]

**Abstract: Objective** To explore the inhibitory effect of different solvent extracts of Pu'er tea (raw tea and ripe tea) on enamel demineralization. **Methods** Phosphorus ion concentration of lactate buffer was tested and phosphorus dissolution rate in free teeth was calculated before and after treatment with different solvent extracts of Pu'er tea (raw tea and ripe tea) and the effect of different solvent extracts of Pu'er tea in inhibiting enamel demineralization was evaluated by setting 20 mg/ml NaF group as the positive control group and deionized water group as the negative control group. **Results** Compared with the blank group of water, the phosphorus dissolution rates were significantly different in the different solvent extracts of Pu'er tea (raw tea and ripe tea), NaF group and deionized water group ( $P < 0.05$ ) and there were also significant differences among the different solvent extracts of Pu'er tea (raw tea and ripe tea) ( $P < 0.05$ ). At the same concentration, the raw tea had stronger effect than the ripe tea with significant difference ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Different solvent extracts of Pu'er tea (raw tea and ripe tea) can inhibit enamel demineralization. The higher the concentration of Pu'er tea extracts, the stronger the effect.

**Keywords:** Pu'er tea; phosphorus dissolution rate; demineralization

收稿日期: 2017-04-18

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 81260512)

[通信作者] 蓝海, E-mail: lanhai8696@126.com; Tel: 13769225179

龋病是高发的口腔疾病,严重危害人类的身心健康。世界卫生组织(WHO)已将龋齿列为人类重点防治的疾病之一<sup>[1]</sup>。龋病预防研究的核心是如何降低宿主对龋病的易感性,即增强牙齿硬组织的抗酸能力<sup>[2]</sup>。普洱茶是以云南特有的大叶茶的晒青毛茶为原料,经特殊发酵工艺生产而成的。普洱茶中含有糖、氨基酸、蛋白质、氟、维生素、儿茶素、茶多酚等。其中已证明氟和茶多酚具有防龋的作用。普洱茶中的水溶性氟含量为77 mg/kg,就氟含量而言,普洱茶是良好的防龋饮品。普洱茶分为熟茶和生茶2种,二者在品质特征上有明显的差异,内含物的化学成分也存在较大差异<sup>[3]</sup>。本文通过实验测定经普洱茶(生茶、熟茶)不同浓度水浸液处理离体牙前后乳酸盐缓冲溶液中磷离子浓度的变化,计算出磷溶出率,研究普洱茶(生茶、熟茶)水浸液对牙釉质脱矿作用的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

普洱茶,购于大理市下关镇沃尔玛超市,品名:圣邦普洱茶礼盒,厂址:普洱市思茅区振兴路柏枝寺,生产日期:2011年5月28日。

### 1.2 仪器

SB25-12D超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司),HWS24型电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司),电子天平(波特乐-托利多仪器有限公司),T6紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),烧杯,容量瓶,移液管。

### 1.3 试剂

氢氧化钠(上海强顺化学试剂有限公司),抗坏血酸(国药集团化学试剂有限公司),磷酸二氢钾(天津市化学试剂研究所),钼酸铵(天津市化学试剂四厂凯达化工厂),乳酸(天津市风船化学试剂科技有限公司)。以上均为分析纯。

### 1.4 方法

**1.4.1 普洱茶(生茶、熟茶)水浸液的制备** 称取普洱茶生茶9.6 g,加入到150 ml蒸馏水中,煮沸1 min,得到100 ml普洱茶水浸液,冷却至室温,倍比稀释依次得到50 ml的96、48、24、12和6 mg/ml的普洱茶生茶水浸液,备用。熟茶水浸液依此法制得。

**1.4.2 牙齿标本的制备** 去市场购买新鲜牛牙齿100颗,切去压根,去除牙髓和软组织,超声清洗,从中选出无裂痕、无龋损的牙齿72颗,分为12组,每组6颗,

在阴凉处晾干备用。

**1.4.3 乳酸盐缓冲溶液的制备** 2 ml的乳酸稀释至400 ml,84 g氢氧化钠溶于600 ml蒸馏水中,将稀释好的乳酸盐缓冲溶液与氢氧化钠溶液混合,并稀释至2 L,搅拌均匀,备用。

**1.4.4 脱保护处理** 将选出的牙齿浸入100 ml乳酸盐缓冲溶液中2 h,充分除去牙齿表面的抗溶解保护,每次缓冲液的用量为100 ml,1 h更换1次缓冲液,2 h后取出牙齿,备用。

**1.4.5 抑制牙釉质脱矿实验** 第1次酸蚀:将装有牙齿(每组6颗)的12个烧杯,分别浸入37℃恒温水浴30 min,取出烧杯,在每个烧杯中加入40 ml乳酸盐缓冲溶液,15 min后分别将各只烧杯里的乳酸盐缓冲溶液收集到12只50 ml的容量瓶中密封保存,备用。用蒸馏水将各组牙齿反复冲洗3~5次。牙齿处理:分别取普洱茶(生茶、熟茶)不同浓度(96、48、24、12和6 mg/ml)水浸液、去离子水、20 mg/ml氟化钠溶液各40 ml,加入所对应的牙齿样品中,5 min后倾倒处理液。用蒸馏水将各组牙齿反复冲洗3次。第2次酸蚀:将普洱茶(生茶、熟茶)不同浓度(96、48、24、12和6 mg/ml)水浸液、去离子水、20 mg/L氟化钠溶液处理过的牙齿再次分别放入40 ml乳酸盐缓冲溶液中,方法同第1次酸蚀。将第2次酸蚀后的乳酸盐缓冲溶液收集到另外12只50 ml容量瓶中密封保存,备用。

### 1.5 牙釉质磷浓度降低率的测定

**1.5.1 磷标准溶液的配制** 准确称取磷酸二氢钾0.439 g溶于蒸馏水并定容至100 ml(含磷1 mg/ml),使用时稀释500倍(含磷2  $\mu$ g/ml)。

**1.5.2 25 g/L钼酸铵溶液的配制** 称取2.5 g钼酸铵,加蒸馏水20 ml,15 ml浓硫酸溶解,用水稀释至100 ml。

**1.5.3 抗坏血酸的制备** 称取10 g抗坏血酸溶于适量蒸馏水中,稀释至100 ml。

**1.5.4 标准曲线的绘制<sup>[4]</sup>** 分别吸取磷标准溶液0.00、0.50、1.00、3.00、5.00、7.00、10.00和15.00 ml,置于8只50 ml刻度管中,加水至25 ml,摇匀,加2 ml 25 g/L钼酸铵溶液,摇匀,放置30 s,加1 ml抗坏血酸,加水至50 ml,于室温下显色15 min,在波长325 nm,1 cm比色杯条件下,以蒸馏水作为参比,测定吸光度。以标准溶液的浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得到标准曲线方程 $y=1.4869x-0.0026$ , $r=0.9996$ 。

采用钼酸铵分光光度法测定磷酸盐缓冲液中的磷含量<sup>[5]</sup>。在波长为 325 nm 处测定非还原性磷钼酸铵化合物的吸光度 A, 得磷含量的计算公式,  $C = (A + 0.0026) / 1.4869$ 。

### 1.6 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析, 所有数据采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 各组总体均数之间比较采用单因素方差分析; 两两比较采用 Dunnett T3 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

用绘制标准曲线的方法测定 2 次酸蚀乳酸盐缓冲溶液中的磷含量, 计算磷浓度降低率 (ESR),  $ESR = (C_1 - C_2) / C_1$ , 经单因素方差分析, 各浓度组总体均数不全相等 ( $F = 105.695.866, P = 0.000$ )。普洱茶 (生茶、熟茶) 不同浓度组的 ESR 与氟化钠

组和去离子水组的 ESR 比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 同一浓度组的普洱茶生茶组和熟茶组比较, 除 6 mg/ml 生茶和 12 mg/mL 熟茶组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) 外, 其余各组差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。说明普洱茶熟茶组的再矿化效果整体上要比生茶组的好。生茶 6 mg/ml 组与熟茶 12 mg/ml 组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 说明这两组抑制牙釉质脱矿作用相差不大。普洱茶 (生茶、熟茶) 96 和 48 mg/ml 这 2 个浓度组的作用均  $> 20$  mg/L 氟化钠组, 其余 3 个相对较低浓度组的作用均  $< 20$  mg/mL 氟化钠组。总体表明: 普洱茶 (生茶、熟茶) 不同浓度水浸液都有抑制牙釉质脱矿的作用, 且随着普洱茶水浸液的茶浓度增大抑制作用越强。生茶与熟茶的抑制牙釉质脱矿的作用效果不同, 总体来说, 熟茶抑制牙釉质脱矿的作用效果优于生茶。见附表。

附表 牙釉质磷浓度降低率 (ESR) ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	$C_1$	$C_2$	ESR
生茶 96 mg/ml 组	0.186 7 $\pm$ 0.548	0.101 1 $\pm$ 0.837	0.458 7 $\pm$ 4.970 <sup>1)2)3)</sup>
生茶 48 mg/ml 组	0.188 3 $\pm$ 0.837	0.127 5 $\pm$ 1.000	0.322 8 $\pm$ 5.930 <sup>1)2)3)</sup>
生茶 24 mg/ml 组	0.186 3 $\pm$ 0.245	0.163 3 $\pm$ 0.894	0.123 7 $\pm$ 8.080 <sup>1)2)</sup>
生茶 12 mg/ml 组	0.189 9 $\pm$ 0.894	0.174 5 $\pm$ 0.894	0.079 8 $\pm$ 2.310 <sup>1)2)3)</sup>
生茶 6 mg/ml 组	0.188 3 $\pm$ 0.474	0.175 5 $\pm$ 0.894	0.068 1 $\pm$ 4.550 <sup>1)2)3)</sup>
20 mg/L 氟化钠组	0.188 2 $\pm$ 0.837	0.151 3 $\pm$ 0.474	0.196 3 $\pm$ 2.050
去离子水组	0.187 3 $\pm$ 0.164	0.180 4 $\pm$ 0.474	0.037 0 $\pm$ 8.850
熟茶 96 mg/ml 组	0.189 8 $\pm$ 0.000	0.112 6 $\pm$ 0.474	0.406 8 $\pm$ 2.680 <sup>1)2)3)</sup>
熟茶 48 mg/ml 组	0.186 3 $\pm$ 0.837	0.124 2 $\pm$ 0.894	0.333 0 $\pm$ 2.880 <sup>1)2)3)</sup>
熟茶 24 mg/ml 组	0.189 4 $\pm$ 1.095	0.166 7 $\pm$ 0.474	0.120 1 $\pm$ 7.160 <sup>1)2)3)</sup>
熟茶 12 mg/ml 组	0.188 6 $\pm$ 0.548	0.175 6 $\pm$ 0.837	0.068 6 $\pm$ 3.290 <sup>1)2)</sup>
熟茶 6 mg/ml 组	0.188 5 $\pm$ 1.643	0.178 3 $\pm$ 0.707	0.055 0 $\pm$ 21.210 <sup>1)2)3)</sup>

注: ( $s: \times 10^{-3}$ );  $C_1$  为处理液处理前磷溶出量;  $C_2$  为处理液处理后磷溶出量; 1) 表示与阴性对照组相比,  $P < 0.05$ ; 2) 表示与阳性对照组相比,  $P < 0.05$ ; 3) 表示同一浓度的不同实验组相比,  $P < 0.05$

## 3 讨论

致龋菌的生长和产酸会使牙釉质中的主要成分羟基磷灰石与氢离子反应, 从而使羟基磷灰石晶体解体, 使牙釉质脱矿, 发生龋齿。研究证实普洱茶中含有氟、茶多酚等成分, 氟离子, 能在牙釉质表面形成氟化钙沉淀, 同时氟离子进入釉质中生成晶格更

小、稳定性更强的氟磷灰石, 促进牙质的再矿化, 增强了牙釉质对酸的抵抗力, 从而抑制牙釉质脱矿, 达到防龋的作用<sup>[6]</sup>。另外, 茶多酚能改变胶原的性质, 从而抑制多种致龋菌在牙本质和牙骨质上的生长和产酸<sup>[7]</sup>, 从而抑制牙釉质的脱矿。

通过测定经普洱茶 (生茶、熟茶) 不同浓度水

浸液处理离体牙前后乳酸盐缓冲溶液中磷离子浓度的变化,计算磷溶出率可知,相同条件下,普洱茶(生茶、熟茶)不同浓度水浸液均具有抑制牙釉质脱矿的作用,随着普洱茶水浸液的茶浓度增大抑制作用越强,且有4个浓度生茶组的作用强度大于熟茶组,1个浓度熟茶组的作用强于生茶组。普洱茶中含有抑制牙釉质脱矿的活性物质茶多酚和氟,邹艳丽等<sup>[8]</sup>报道生茶的茶多酚含量普遍高于熟茶,而熟茶的氟含量又高于生茶,最高可达32.7倍<sup>[9]</sup>,所以,普洱茶的抗酸脱矿作用是茶多酚的作用还是氟的作用或者是二者的协同作用有待于进一步的研究。另外,普洱茶叶片的成熟程度也会影响氟的含量,一般偏老叶片的氟含量高于嫩叶。

本实验在环境控制中存在一些局限,如果能更好地模拟出人喝茶时茶液在口腔里的环境,结果将更为可靠。

#### 参 考 文 献:

- [1] 刘晓静,郑宝山,王滨滨,等.茶防龋研究进展[J].地球与环境,2005,33(2):91-96.
- [2] 张安生.天然药物五倍子及釉质有机质抑制釉质脱矿机理的实验研究[D].西安:第四军医大学,2009,1-78.
- [3] 吕海鹏,谷记平,林智,等.普洱茶的化学成分及生物活性研究进展[J].茶业科学,2007,27(1):8-18.
- [4] 王丽梅,周学灵,布正兴,等.紫地榆牙膏对牙釉质脱矿和再矿化作用的研究[J].昆明医科大学学报,2014,35(10):15-18.
- [5] 彭刚华,康长安,钟鸿雁,等.钼酸铵分光光度法测定水中总磷质量控制指标研究[J].三峡环境与生态,2011,33(2):31-34.
- [6] 李志华.不同成膜基质的氟化物涂膜对牛牙釉质抗脱矿性能影响的研究[D].广州:南方医科大学,2011,1-62.
- [7] 刘晓丹,石四箴.茶多酚防龋研究进展[J].上海医学,2005,28(9):813-814.
- [8] 邹艳丽,陈靖,李聪.普洱生茶和熟茶茶多酚的提取及抗氧化活性研究[J].安徽农业科学,2012,40(8):4850-4851.
- [9] 王白娟,赵艳,戴富强,等.云南普洱茶氟含量研究[J].广东农业科学,2010,37(5):45-46.

(张西倩 编辑)