

# 黑茶茶褐素与茶多糖对脂肪酶的抑制作用

## Study of inhibition of black tea theabrownin and tea polysaccharides on lipase

李祥龙<sup>1</sup> 李晓梅<sup>1</sup> 杨煦<sup>1</sup> 唐磊<sup>1</sup> 许靖逸<sup>1,2,3</sup>

LI Xiang-long<sup>1</sup> LI Xiao-mei<sup>1</sup> YANG Xu<sup>1</sup> TANG Lei<sup>1</sup> XU Jing-yi<sup>1,2,3</sup>

(1. 四川农业大学园艺学院, 四川 成都 611830; 2. 四川省茶业科学与工程重点实验室, 四川 成都 611830;

3. 四川省藏茶茶业工程技术研究中心, 四川 雅安 625014)

(1. Horticulture College of Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611830, China;

2. Laboratory of Tea Science and Engineering, Chengdu, Sichuan 611130, China;

3. Research Center of Tibetan Tea Engineering Technology, Ya'an, Sichuan 625014, China)

**摘要:**为探讨黑茶茶褐素与茶多糖对脂肪酶的抑制作用,选择不同地区相同级别的黑茶为原料,提取茶褐素与茶多糖,采用对硝基苯酚法,分析茶褐素与茶多糖对脂肪酶活性的抑制率,并探讨各黑茶茶褐素与茶多糖对脂肪酶的抑制机理。结果表明:黑茶茶褐素与茶多糖对脂肪酶具有显著的抑制作用,普洱茶茶褐素与茶多糖  $IC_{50}$  最小,分别为 25.96, 47.57 mg/mL,抑制效果最好;其次为六堡茶;抑制效果最差的是茯砖茶褐素与茶多糖;康砖茶褐素与茶多糖抑制效果介于六堡茶与茯砖茶之间。各黑茶茶褐素的抑制类型均为可逆竞争性与非竞争性混合型,其中六堡茶接近于竞争性抑制类型;普洱茶、六堡茶与康砖茶多糖的抑制类型为可逆竞争性与非竞争性混合型,茯砖茶多糖抑制类型为可逆竞争性抑制。

**关键词:**黑茶;茶褐素;茶多糖;脂肪酶;抑制类型

**Abstract:** In order to investigate the inhibition of lipase by theabrownin and polysaccharide of black tea, the theabrownin and polysaccharides were extracted from the same black tea in different regions. The inhibition rate of lipase activity of theabrownin and polysaccharide was analyzed by p-nitrophenol method, and the inhibitory mechanism of theabrownin and polysaccharide on lipase was discussed. The results showed that the inhibition of lipase by theabrownin and polysaccharide of black tea was significant. The  $IC_{50}$  of Pu-er theabrownin and polysaccharide were 25.96 and 47.57 mg/mL, respectively, which were the minimum, and the inhibitory effect was the best, secondly for liupu tea. The worst inhibitory effect was that

the theabrownin and polysaccharide of fu-brick. The inhibition effects of theabrownin and polysaccharide of Kang brick were between those of the liupu tea and fu-brick. The inhibition types of theabrownin of each black tea were the complex of reversible competitive and non-competitive, while the liupu tea was closed to the competitive inhibition type. The inhibition types of polysaccharide of Pu-er tea, liupu tea and Kang brick were the complex of reversible competitive and noncompetitive, while the polysaccharide of fu-brick was reversible competitive inhibition.

**Keywords:** black tea; theabrownin; tea polysaccharide; lipase; inhibition type

脂肪酶,又称甘油酯水解酶,是水解脂肪的一类酶的总称,隶属于羧基酯水解酶类<sup>[1]</sup>。Chiesi等<sup>[2-3]</sup>的研究表明,脂肪酶与肥胖关系密切,利用脂肪酶抑制剂可有效抑制肠道中脂肪酶的活性,减少进入体内的脂肪代谢,影响体内脂肪的积累和合成,从而达到减肥的目的。

黑茶(Black Tea)属于后发酵茶,是六大茶类中唯一一类有微生物参与其加工过程及品质形成的特殊茶类,主产于湖南、湖北、云南、四川、广西等省(区)。黑茶是六大茶类中加工鲜叶原料最粗老的茶类,多采用四叶五叶、甚至修剪枝叶,其茶叶多糖的含量为六大茶类之首。研究发现,黑茶具有抗氧化<sup>[4]</sup>、抑菌和降脂减肥<sup>[5-6]</sup>等多种药理功效,特别是其良好的降脂减肥功效已从细胞、动物和人体等多个方面得到证明,但其降脂减肥的功效成分及作用机理尚不清楚。茶褐素是黑茶中主要的色素类物质,也是重要的功能成分,由茶黄素和茶红素进一步氧化而成,具有良好的降脂减肥功效<sup>[7-9]</sup>。茶多糖是从茶叶中提取的活性多糖的总称,研究<sup>[10]</sup>发现,茶多糖具有降低游离脂肪酸的作用。目前,茶褐素和茶多糖对脂肪酶的抑制作用还未见报道,因此本试验拟通过

**基金项目:**农发院雅安服务站项目(编号:063H2300)

**作者简介:**李祥龙,男,四川农业大学在读硕士研究生。

**通信作者:**许靖逸(1980—),女,四川农业大学副教授,博士。

E-mail: xujytea@126.com

**收稿日期:**2018-01-02

研究不同地区黑茶中茶褐素和茶多糖的降脂减肥功效,为黑茶的保健功效及其进一步开发利用提供科学依据,为寻找天然的降脂减肥材料提供新思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

普洱茶(熟茶):2014年,云南下关沱茶(集团)股份有限公司;

康砖:2014年,四川吉祥茶业有限公司;

茯砖:2014年,湖南省白沙溪茶厂股份有限公司;

六堡茶:2014年,广西壮族自治区梧州茶厂;

脂肪酶(猪胰中提取,PPL,typeII):酶活力 $\geq 30\ 000$  U/g,美国Sigma公司;

4-硝基苯基丁酸酯(*p*-NPB)、对硝基苯酚(*p*-NP)、二甲基亚砜(DMSO)、Tris、无水乙醇、95%乙醇、无水丙酮、无水乙醚、乙酸乙酯、三氯甲烷、正丁醇等:国产分析纯;

水浴恒温振荡器:SHY-2A型,常州国宇仪器制造有限公司;

生化培养箱:SPX-250型,上海申贤恒温设备厂;

高速冷冻离心机:2-16K型,美国Sigma公司;

紫外-可见分光光度计:UV-2300型,日本日立公司;

精密微量移液器:WKY III型,上海佳安分析仪器厂;

旋转蒸发器:RE52-86A型,上海亚荣生化仪器厂。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 溶液配制

(1) 脂肪酶液配制:精确称取0.500 0 g脂肪酶于研钵中,加少许Tris-HCl缓冲液(pH=8.0)研磨,定容至100 mL容量瓶中,静置,4℃下12 000 r/min冷冻离心1 min,保存于-20℃冰箱中备用,即浓度为5 mg/mL的酶储备液<sup>[11-12]</sup>。

(2) 底物配制:精确称取一定量的*p*-NPB,用DMSO配置成浓度为0.01 mol/L的储备液,置于-20℃冰箱中备用。

(3) 对硝基苯酚溶液配制:精确称取一定量的*p*-NP,用DMSO配制成为10 μmol/mL的溶液备用。

(4) 0.05 mol/L Tris-HCl缓冲液(pH=8.0)配制:精确称取6.057 5 g Tris溶于水,定容至250 mL;取25 mL Tris溶液加到含有25 mL 0.1 mol/L HCl的100 mL容量瓶中,加蒸馏水定容。

1.2.2 黑茶茶褐素的制备 分别称取黑茶茶样各40 g,按1:20(g/mL)茶水比加入沸蒸馏水,浸提30 min,重复3次,合并浸提液,4层纱布过滤,所得滤液再抽滤,于旋转蒸发器减压浓缩,得萃取液。萃取液用等体积正丁醇、氯仿、乙酸乙酯萃取3次,合并水相,减压浓缩,干燥<sup>[13]</sup>。

采用系统比色法<sup>[14]</sup>检测茶褐素含量。

1.2.3 黑茶茶多糖的制备 分别称取茶样20.0 g,粉碎,在茶水比1:20(g/mL),温度70℃的条件下,浸提30 min,趁热抽滤,重复浸提3次,合并滤液,于旋转蒸发器减压浓缩至原体积的20%。将浓缩后的茶汤与3倍体积95%的乙醇混合沉淀1 h,再于7 000 r/min离心5 min,得到沉淀物用无水

乙醇、丙酮、乙醚交替洗涤2次,并在70℃下真空干燥<sup>[15]</sup>。

采用蒽酮-硫酸比色法<sup>[16]</sup>测茶多糖含量。

1.2.4 脂肪酶活性测定 取6支试管,分别加入10 μmol/mL对硝基苯酚1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL,用DMSO补充到5 mL,以未加对硝基苯酚的空白溶液作对照,在405 nm波长处测吸光度,以吸光度值为纵坐标,对硝基苯酚浓度为横坐标,得到对硝基苯酚的标准曲线<sup>[17-18]</sup>。

将0.05 mol/L Tris-HCl缓冲液(pH=8.0)2 100 μL、酶液300 μL置于37℃恒温箱内预热15 min,然后将其注入100 μL底物溶液中,摇床15 min,立即加入无水乙醇5 mL终止反应,以未加脂肪酶的空白溶液为参照,在405 nm波长处测其吸光度值。对照对硝基苯酚标准曲线,即可求得对硝基苯酚的浓度。

脂肪酶活力单位定义为:在一定条件下,每分钟释放出1 μmol对硝基苯酚的酶量定义为一个酶活力单位(U)。计算公式:

$$X = \frac{cV}{tV'} \quad (1)$$

式中:

X——脂肪酶活力,U/mL;

c——对硝基苯酚的浓度,μmol/mL;

V——反应液终体积,mL;

t——反应时间,min;

V'——酶液用量,mL。

脂肪酶抑制率的测定按照上述脂肪酶活力的测定方法,先加入一定量的Tris-HCl缓冲液(pH=8.0)、茶褐素(茶多糖)和脂肪酶液,预热,再加入底物溶液,终止反应,测定剩余酶活性,按式(2)计算抑制率。

$$I = \frac{X - X'}{X} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

I——抑制率,%;

X——脂肪酶活力,U/mL;

X'——抑制后酶活力,U/mL。

1.2.5 半抑制浓度的测定 测定各黑茶茶褐素(茶多糖)浓度在0.00,1.25,2.50,5.00,10.00,20.00,40.00,80.00 mg/mL时对脂肪酶的抑制率,以各黑茶茶褐素(茶多糖)浓度为横坐标,脂肪酶抑制率为纵坐标,作回归曲线,得出半抑制浓度IC<sub>50</sub>。半抑制浓度越小,抑制能力越强。

1.2.6 脂肪酶抑制动力学的测定 在无抑制剂和适宜浓度的各黑茶茶褐素(茶多糖)条件下,加入一定量质量浓度为0,2,3,4,5 mg/mL酶溶液,按照上述酶活测定方法测定吸光度,计算反应速率。按Dixon作图法,以反应速率对脂肪酶浓度作图,确定抑制类型<sup>[19-20]</sup>。

将各黑茶茶褐素(茶多糖)稀释至一定的浓度,分别取300 μL加入至300 μL酶液中,然后将其加入至底物浓度分别为0.001,0.002,0.003,0.004 mmol/L反应体系中,测定酶反应速度。采用Lineweaver-Burk双倒数法,将1/V对1/[S]作图,测定各黑茶茶褐素(茶多糖)对脂肪酶的可逆抑制作用类型。

1.3 数据记录与处理

试验数据采用 Excel 和 SPSS 17.0 软件对数据进行统计处理,所有数据均以均数±标准差 (SE)表示,不同组间的比较采用 LSD 法进行方差分析,检验水平  $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 受试茶样主要理化成分含量及分析

由表 1 可知,经过渥堆发酵的 4 种黑茶中,茯砖茶的多酚类含量最高,为 13.96%,其次为康砖,六堡茶和普洱茶的多酚类含量相对较低。通过对茶色素含量的对比分析,表明茯砖茶的茶黄素和茶红素含量分别为 0.29%和 1.02%,显著高于其他 3 种;但茶褐素仅为 3.17%,显著低于普洱茶

(8.17%)和六堡茶(5.91%)。根据这 3 个主要指标的测定结果,可得出茯砖茶渥堆发酵程度最轻,而普洱茶和六堡茶渥堆发酵程度最重。

2.2 各黑茶茶褐素与茶多糖对脂肪酶活性的影响

在不同浓度的对硝基苯酚溶液下,以不加对硝基苯酚的空白溶液作为对照,得到对硝基苯酚标准曲线为  $y = 0.0637x - 0.0185, R^2 = 0.9995$ 。

按照 1.2.5 所示的脂肪酶的半抑制浓度的测定方法,分别测定普洱茶(熟茶)、六堡茶、茯砖和康砖的茶褐素与茶多糖在浓度梯度为 0.00, 1.25, 2.50, 5.00, 10.00, 20.00, 40.00, 60.00, 80.00 mg/mL 条件下对脂肪酶抑制效果,结果见图 2。

表 1 受试茶样主要理化成分含量结果<sup>†</sup>

Table 1 Results of main physical and chemical components in tea samples ( $n=4$ )

茶样	水分	游离氨基酸	茶多酚	咖啡碱	茶多糖	茶黄素	茶红素	茶褐素
普洱茶(熟茶)	11.31±0.15 <sup>c</sup>	0.99±0.00 <sup>b</sup>	9.15±0.06 <sup>c</sup>	4.43±0.04 <sup>a</sup>	2.83±0.00 <sup>a</sup>	0.14±0.00 <sup>b</sup>	0.22±0.04 <sup>c</sup>	8.17±0.09 <sup>a</sup>
六堡茶	11.88±0.00 <sup>a</sup>	0.82±0.02 <sup>c</sup>	10.54±0.15 <sup>b</sup>	3.90±0.00 <sup>b</sup>	2.32±0.01 <sup>b</sup>	0.11±0.04 <sup>bc</sup>	0.42±0.11 <sup>c</sup>	5.91±0.07 <sup>b</sup>
茯砖	10.86±0.11 <sup>d</sup>	1.18±0.01 <sup>a</sup>	13.96±0.00 <sup>a</sup>	3.43±0.02 <sup>c</sup>	1.46±0.01 <sup>c</sup>	0.29±0.07 <sup>a</sup>	1.02±0.28 <sup>a</sup>	3.17±0.00 <sup>c</sup>
康砖	11.61±0.00 <sup>b</sup>	1.05±0.02 <sup>b</sup>	9.40±0.16 <sup>c</sup>	3.13±0.01 <sup>d</sup>	2.19±0.01 <sup>b</sup>	0.05±0.00 <sup>c</sup>	0.67±0.02 <sup>b</sup>	3.18±0.11 <sup>c</sup>

† 同列小写字母表示 0.05 显著水平。

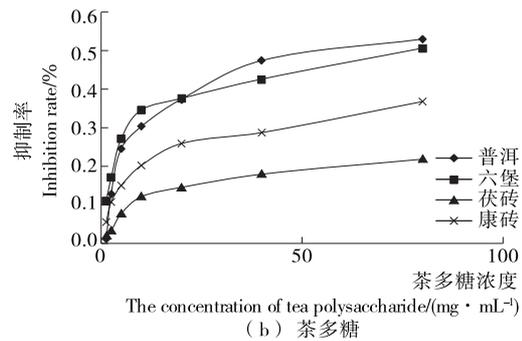
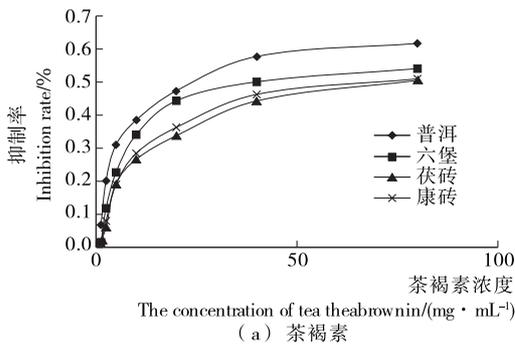


图 1 各黑茶不同浓度的茶褐素与茶多糖对脂肪酶活性的影响

Figure 1 Effects of different concentrations of tea theabrownin and tea polysaccharide on lipase activity in different black tea

由图 1、表 2 可知,不同黑茶的茶褐素与茶多糖对脂肪酶活性均存在一定抑制作用,且随茶褐素与茶多糖浓度的增加,在一定浓度范围内对脂肪酶的抑制作用呈上升趋势。各黑茶茶褐素抑制脂肪酶活性以普洱茶褐素  $IC_{50}$  最小,为 25.96 mg/mL,抑制作用最强;茯砖的茶褐素  $IC_{50}$  最大,为 57.08 mg/mL,抑制作用最小。各黑茶茶多糖对脂肪酶活性抑制作用表现为:普洱茶茶多糖  $IC_{50}$  最小,为 47.57 mg/mL,抑制效果最好;茯砖茶多糖  $IC_{50}$  最大,为 662.44 mg/mL,抑制效果最差。

表 2 各黑茶茶褐素与茶多糖对抑制脂肪酶活性的  $IC_{50}$ <sup>†</sup>

Table 2 Inhibition of lipase activity by tea theabrownin and tea polysaccharide on  $IC_{50}$  mg/mL

茶样	茶褐素	茶多糖
普洱茶	25.96 <sup>a</sup>	47.57 <sup>a</sup>
六堡茶	39.42 <sup>b</sup>	64.10 <sup>bb</sup>
茯砖	57.08 <sup>c</sup>	662.44 <sup>cc</sup>
康砖	52.25 <sup>d</sup>	224.58 <sup>d</sup>

† 同列小写字母表示 0.05 显著水平。

2.3 不同黑茶茶褐素与茶多糖对脂肪酶的抑制作用

由图 2 可知,普洱茶、六堡茶、茯砖茶、康砖茶中存在的茶褐素对脂肪酶均有抑制作用,且抑制类型均为可逆抑制。刘睿等<sup>[21]</sup>通过在酶活测定体系中加入定量的抑制剂,以不同酶浓度测定酶活力,以酶浓度为横坐标,反应速率为纵坐标作图发现,体系中无抑制剂,该直线通过原点;当体系中存在一定量可逆抑制剂时,亦可得一条斜率相对较低且过原点的直线。各黑茶茶多糖对脂肪酶的抑制类型如图 3 所示,结果表明普洱茶(熟茶)、六堡茶、茯砖茶与康砖茶中的茶多糖均对脂肪酶有抑制作用,且这种抑制作用类型均为可逆抑制。

2.4 黑茶茶褐素与茶多糖对脂肪酶的可逆性抑制类型

图 4 为各黑茶茶褐素对脂肪酶的可逆抑制双倒数 Lineweaver-Burk 作图结果。在 Lineweaver-Burk 图中,直线交于横轴为非竞争性抑制,交于纵轴为竞争性抑制,交于第二象限为竞争性与非竞争性混合抑制<sup>[22]</sup>。普洱茶、六堡茶、茯砖、康砖的茶褐素浓度为 2.5, 5.0 mg/mL 时,直线均交于第

二象限,通过对比,可以看出图4(b)、(c)的直线交点比其他2个更靠近纵轴,说明其抑制类型为竞争性与非竞争性混合抑制,接近于竞争性抑制作用;而图4(a)、(d)直线的交点稍远于纵轴,说明抑制类型为典型的竞争性与非竞争性混合抑制。

通过对比可以看出图5(b)、(d)的直线均交于第二象限,表明其抑制类型为竞争性与非竞争性混合型抑制作用;图5(a)的直线交于第二象限且直线交点靠近纵轴,说明其抑制

类型为竞争性与非竞争性混合型抑制,接近于竞争性抑制类型;图5(c)中,该组直线相交于纵轴,表明其为竞争性抑制类型。

### 3 结论

(1) 4种黑茶中普洱茶、六堡茶的渥堆发酵程度最重,茯砖茶的渥堆发酵程度最轻,康砖茶居中。通过各黑茶  $IC_{50}$  的比较分析可知,普洱茶(熟茶)减肥降脂效果最好,六堡茶次之,茯砖最差,康砖介于六堡茶和茯砖之间。

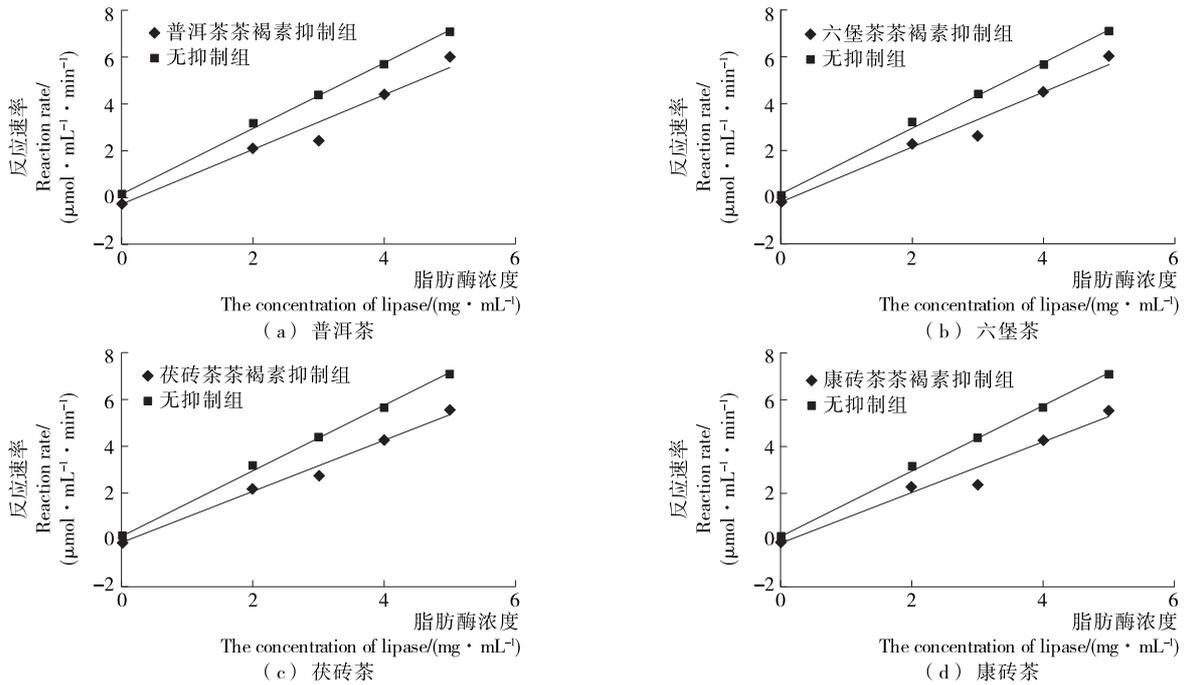


图2 黑茶茶褐素对脂肪酶的抑制作用

Figure 2 Inhibitory effect of different black tea theabrownin on lipase

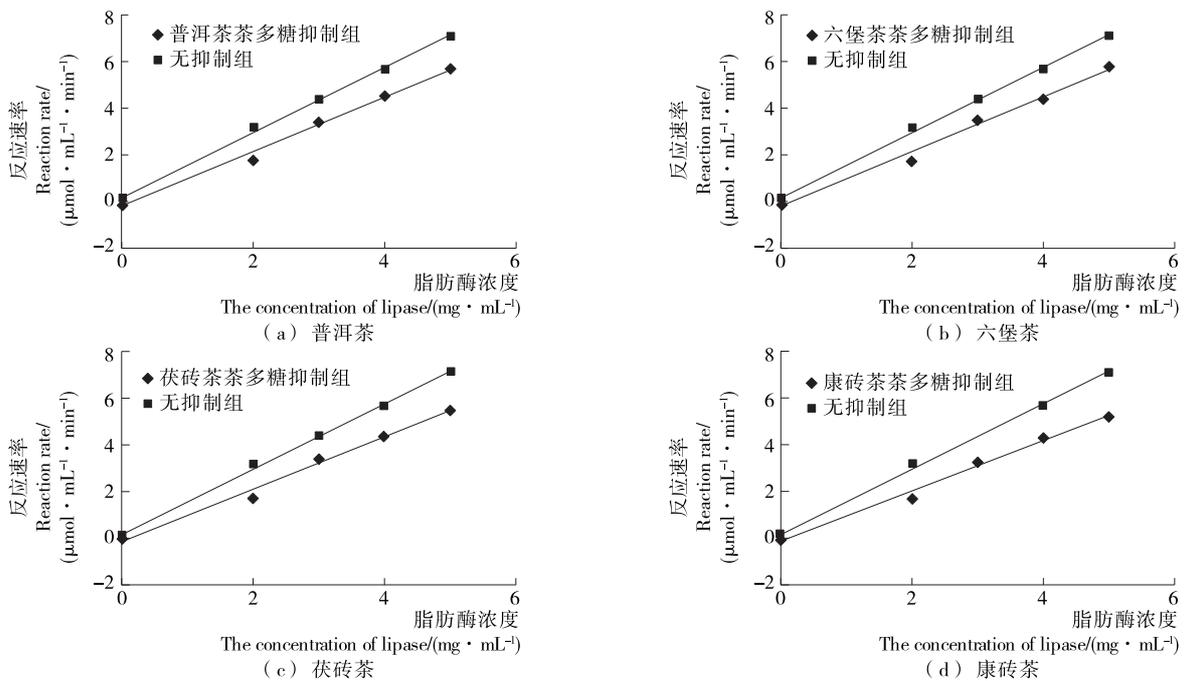


图3 黑茶茶多糖对脂肪酶的抑制作用

Figure 3 Inhibitory effect of different black tea polysaccharide on lipase

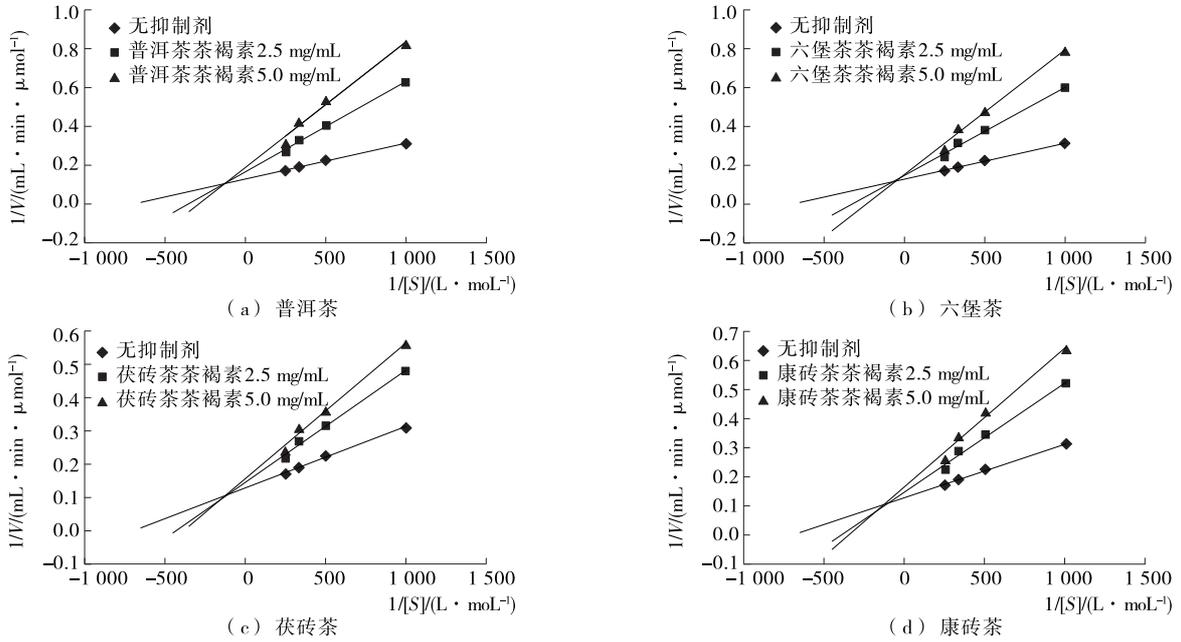


图 4 黑茶茶褐素对脂肪酶的可逆抑制类型

Figure 4 The reversible inhibition type of the different black tea theabrownin on lipase

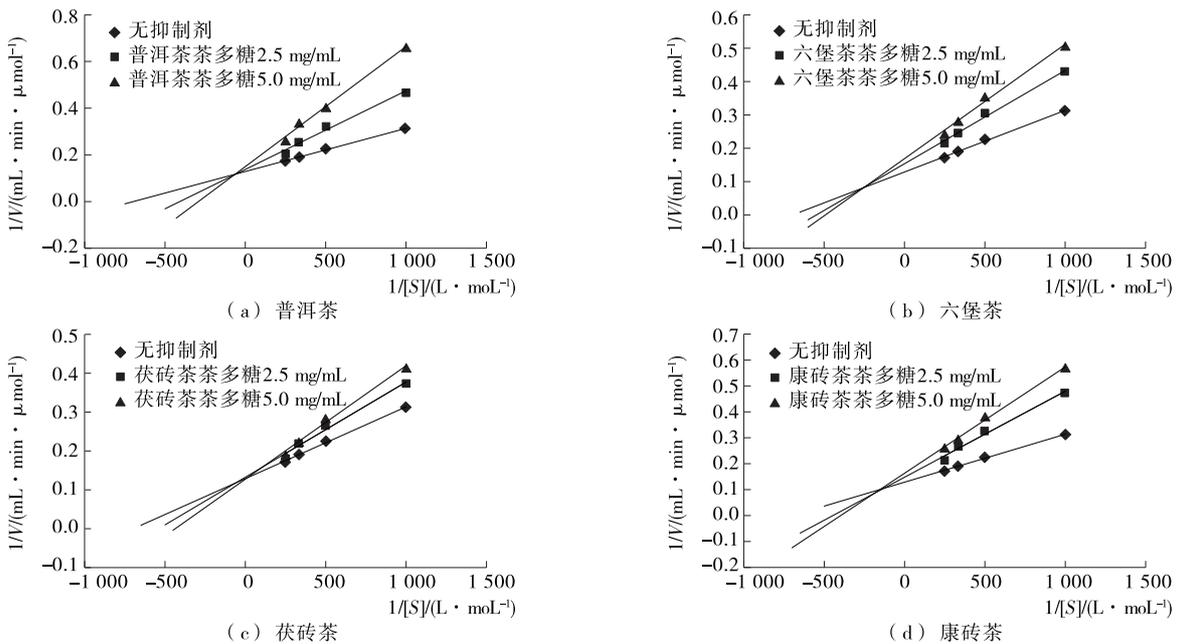


图 5 黑茶茶多糖对脂肪酶的可逆抑制类型

Figure 5 The reversible inhibition type of the different black tea polysaccharide on lipase

(2) 4 种黑茶茶褐素作用于脂肪酶的抑制类型为竞争性与非竞争性混合型,其中六堡茶接近于竞争性抑制类型。普洱茶、六堡茶与康砖茶多糖的抑制类型为竞争性与非竞争性混合型,其中普洱茶接近于竞争性抑制类型,而茯砖茶为竞争性抑制类型。

参考文献

[1] 王自社, 张继, 马君义, 等. 脂肪酶的研究及应用进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7): 3 798-3 800.  
 [2] SÁNCHEZ J, PRIEGO T, PALOU M, et al. Oral supplementation with physiological doses of leptin during lactation in rats im-

proves insulin sensitivity and affects food preferences later in life[J]. Endocrinol, 2008, 149(2): 733-740.  
 [3] GARZA A L, MILAGRO F I, BOQUE N N, et al. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment[J]. Planta Medica, 2011, 77(8): 773-785.  
 [4] 袁华芳. 黑茶化学成分及其抗氧化性的研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2008: 4.  
 [5] 王丽丽. 黑茶调节脂质代谢的作用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012: 16-17.  
 [6] 宋鲁彬. 中国黑茶药理功能评价及活性物质研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2008: 9-10.

(下转第 58 页)

## 参考文献

- [1] 曹茜, 冯凤琴. 微生物脂肪酶的研究进展及其在食品中的应用[J]. 中国食品学报, 2013, 13(10): 137-141.
- [2] ZHANG Tong, WU Zhen-fang, CHEN Hui, et al. Progress in strategies for sequence diversity library creation for directed evolution[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 9(54): 9 277-9 285.
- [3] 张晶晶, 刘金峰, 牟伯中, 等. 产脂肪酶菌株筛选及柠檬酸杆菌产酶条件优化[J]. 微生物学杂志, 2015, 35(2): 85-89.
- [4] 赵春雷, 闫丽娟, 谢振荣, 等. 一株耐热脂肪酶产生菌的筛选及酶学性质研究[J]. 生物技术通报, 2010(2): 184-188.
- [5] MO Qiu-run, LIU Ai-li, GUO Hai-lun, et al. A novel thermostable and organic solvent-tolerant lipase from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* YB103: screening, purification and characterization[J]. Extremophiles, 2016, 20(2): 157-165.
- [6] GUPTA N, SAHAI V, GUPTA R. Alkaline lipase from a novel strain *Burkholderia multivorans*: Statistical medium optimization and production in a bioreactor[J]. Process Biochemistry, 2007, 42(4): 518-526.
- [7] 施巧琴, 陈若莹, 许晴怡, 等. 醋酸钙不动杆菌产生的耐热碱性脂肪酶的研究[J]. 微生物学报, 1992, 32(6): 425-431.
- [8] 黄建忠, 施巧琴, 郑毅, 等. 中温碱性脂肪酶的研究 I: 高产菌扩展青霉 PE868 的选育[J]. 工业微生物, 1995, 25(3): 1-5.
- [9] 吴松刚, 谢新东, 黄建忠, 等. 类产碱假单胞菌耐热碱性脂肪酶的研究[J]. 微生物学报, 1997, 37(1): 32-39.
- [10] 吴厚军, 喻晓蔚, 沙冲, 等. D190V 点突变提高华根霉 *Rhizopus chinensis* CCTCCM201021 脂肪酶的最适温度和热稳定性[J]. 微生物学通报, 2013, 40(11): 1 955-1 961.
- [11] FANG Zhong-gang, XU Li, PAN Du-jie, et al. Enhanced production of *Thermomyces lanuginosus* lipase in *Pichia pastoris* via genetic and fermentation strategies [J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2014, 41(10): 1 541-1 551.
- [12] 孙宏丹, 孟秀香, 贾莉, 等. 微生物脂肪酶及其相关研究进展[J]. 大连医科大学学报, 2001, 23(4): 292-295.
- [13] 董娟. 冰川低温酯酶产生菌的选育、基因克隆表达及在奶味香基制备中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2016: 10-15.
- [14] KIM E K, JANG W H, KO J H, et al. Lipase and its modulator from *Pseudomonas* sp. strain KFCC10818: proline-to-glutamine substitution at position 112 induces formation of enzymatically active lipase in the absence of the modulator[J]. Journal of Bacteriology, 2001, 183(20): 5 937-5 941.
- [15] OGINO H, HIROSHIMA S, HIROSE S, et al. Cloning, expression and characterization of a lipase gene (*lip3*) from *Pseudomonas aeruginosa* LST-03 [J]. Mol Gen Genomics, 2004, 271: 189-196.
- [16] LARBIDAOUADI K, BENATTOUCHE Z, ABBOUNI B. Screening selection identification production and optimization of bacterial lipase isolated from industrial rejection of gas station[J]. Research Journal of Biotechnology, 2015, 10(4): 21-25.
- [17] 苏二正, 吴向萍, 高蓓, 等. 短小芽孢杆菌脂肪酶基因的克隆、表达及酶学性质研究[J]. 生物技术报, 2014(4): 132-138.
- [18] ZENG Cheng, ZHAO Rong-bin, WEN Xue-fang, et al. Screening and identification of a *Bacillus amyloliquefaciens* strain for aqueous enzymatic extraction of medium-chain triglycerides[J]. Food Control, 2017, 78: 24-32.
- [19] 胡珺, 杜新凯, 王常高. 产脂肪酶菌株的筛选鉴定及产酶条件优化[J]. 中国酿造, 2016, 35(11): 39-43.
- [20] 黎小军, 谢莲萍, 刘建宏. 产脂肪酶菌株的筛选、鉴定与产酶条件优化[J]. 江西师范大学学报, 2014, 38(1): 14-17.
- [7] 王伟伟, 江和源, 张建勇, 等. 茶褐素的提取纯化与生理功效研究进展[J]. 食品安全质量学报, 2015, 6(4): 1 187-1 192.
- [8] 陈婷, 彭春秀, 龚加顺, 等. 普洱茶茶褐素对高脂血症大鼠血脂代谢的影响[J]. 中国食品学报, 2011, 11(1): 20-27.
- [9] 郭韦韦. 普洱茶减肥功效评价与研究[D]. 昆明: 昆明医学院, 2011: 36.
- [10] 陈刚. 茶多糖对代谢综合征大鼠糖脂代谢的干预作用及机理研究[D]. 上海: 复旦大学, 2011: 56.
- [11] 纪建业. 脂肪酶活力测定方法的改进[J]. 通化师范学院学报, 2005, 26(6): 51-53.
- [12] 郑成栋. 中药中脂肪酶抑制剂的筛选[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2010: 29.
- [13] 徐甜. 四川边茶茶褐素优化提取及降血脂活性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2010: 13.
- [14] 张正竹. 茶叶生物化学实验教程[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 52.
- [15] 巩发永, 齐桂年, 李静. 四川边茶中茶多糖提取条件的优化研究[J]. 四川农业大学茶叶科学, 2005, 25(3): 229-236.
- [16] 王黎明. 萘酚硫酸法测定茶多糖含量的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(7): 185-188.
- [17] 杨龙佳. 贵州产红茶对胰脂肪酶抑制作用的研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2015: 13.
- [18] 江慧芳, 王雅琴, 刘春国. 三种脂肪酶活力测定方法的比较及改进[J]. 化学与生物工程, 2007, 24(8): 72-75.
- [19] 刘天因, 徐梦佳, 胡冰, 等. 茯砖茶多酚类物质对胰脂肪酶活性的抑制作用[J]. 食品科学, 2015(21): 46-49.
- [20] 王燕飞, 张晖, 郭贯新. 米胚芽中胰脂肪酶抑制剂的抑制机理研究[J]. 食品科技, 2004(6): 94-96.
- [21] 刘睿, 潘思秩, 刘亮, 等. 高粱原花青素对  $\alpha$ -淀粉酶活力抑制动力学的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 189-192.
- [22] LI Shu-bai, NIE Hua-li, ZHANG Hai-tao, et al. Inhibitory activity kinetics of a trifluoromethyl-containing 1,2,3-triazole derivative on mushroom tyrosinase[J]. Acta Physico-Chimica Sinica, 2010, 26(1): 215-220.