

茶褐素理化性质及生物学活性研究进展

Research progress on physicochemical properties and biological activity of theabrownin

代丽凤^{1,2}蒋洁琳^{2,3}官兴丽^{1,2}邹小林^{1,2}DAI Li-feng^{1,2}JIANG Jie-lin^{2,3}GUAN Xing-li^{1,2}ZOU Xiao-lin^{1,2}符宗林^{1,2}罗 赛^{1,2}杨 智^{1,2}FU Zong-lin^{1,2}LUO Sai^{1,2}YANG Zhi^{1,2}

(1. 云南大益微生物技术有限公司, 云南 昆明 650217; 2. 云南省普洱茶发酵工程研究中心, 云南 昆明 650217; 3. 勐海茶业有限责任公司, 云南 勐海 666200)

(1. Yunnan TAETEA Microbial Technology Co., Ltd., Kunming, Yunnan 650217, China;

2. Fermentation Engineering Research Center for Yunnan Pu-erh Tea, Kunming, Yunnan 650217, China;

3. Menghai Tea Industry Co., Ltd., Menghai, Yunnan 666200, China)

摘要:茶褐素是一类水溶性非透析性高聚合的褐色物质, 主要组分为多酚类、多糖、蛋白质和核酸等, 与发酵茶的色泽、功能活性密切相关。由于形成机制的复杂性, 其化学结构尚不明确。文章就茶褐素结构特性、形成机制、提取及检测方法、功能活性等进行了阐述, 并展望了其未来研究方向。

关键词:茶褐素; 功能活性; 形成机制

Abstract: Theabrownin, a kind of water-soluble, non-dialysable, highly polymerised brown substance, mainly composed of polyphenol, polysaccharide, protein and nucleic acid, which is closely related to the color and functional activity of fermented tea. Due to the complexity of the formation mechanism, its chemical structure is still unclear. In this review, the structural characteristics, formation mechanism, extraction and detection methods, and functional activity of theophyllin were discussed, and the future research direction was also prospected.

Keywords: theabrownin; functional activity; formation mechanism

茶褐素(theabrownin, TB), 非透析性高聚合物, 质量范围为 5~100 kDa^[1], 通常被认为是一类能溶于水而不

溶于乙醇、乙酸乙酯和正丁醇的褐色色素。茶褐素作为水溶性色素, 最早被发现于红茶^[2], 一般占干物质总量的 4%~9%, 是红茶茶汤“暗”的主因^[3-4]。而茶褐素作为黑茶, 尤其是普洱茶的品质成分, 含量一般占干物质总量的 7%~12%^[5], 对茶叶的色泽及茶汤品质的形成有着重要作用, 与黑茶的苦味和后苦味呈正相关, 与涩味呈负相关^[6]。研究表明, 茶褐素具有抗氧化^[7-9]、抗肥胖^[10-13]、调节糖脂^[14-18]、抗肿瘤^[19-26]等功效。研究拟就茶褐素结构特性、形成机制、提取及检测方法、功能活性等进行阐述, 以期茶褐素的开发利用提供依据。

1 茶褐素的结构特征

1.1 基团及组分

茶褐素为多羟基物质, 含有烷基、苯环、羧基、多糖残基、蛋白残基等基团, 其中酚羟基含量为 2.58~5.83 mmol/g, 羧基含量为 0.15~0.68 mmol/g^[16,27], 是茶褐素的活性基团; 且随着发酵时间的延长, 羧基含量增加, 羟基含量减少^[28]。

杨新河等^[29]研究表明, 普洱茶茶褐素的化学组成以儿茶素以外的多酚、蛋白质及多糖为主。贺国文等^[16]研究发现茯砖茶茶褐素主要由酚和羧酸类物质构成, 推测其与糖类、蛋白质等共同构成半椅状或椅状构型。Peng 等^[30]采用居里点热裂解仪分析茶褐素热解产物, 从而推测出普洱茶茶褐素的前体包括各种多酚、茶色素、生物碱、多糖、蛋白质和脂类。Xiao 等^[17]使用冠突散囊菌发酵制备提取的茶褐素, 包含 (5.62±0.61)% 蛋白质, (20.74±0.33)% 酚类, (24.62±1.08)% 黄酮, (16.10±

基金项目: 云南省科学技术厅重大科技专项 (编号: 202002AE320001)

作者简介: 代丽凤, 女, 云南大益微生物技术有限公司助理工程师, 硕士。

通信作者: 官兴丽 (1986—), 女, 云南大益微生物技术有限公司高级工程师, 硕士。E-mail: guanxingli1986@126.com

收稿日期: 2022-10-13 **改回日期:** 2023-03-09

1.07)% 碳水化合物,但其热解产物中未发现咖啡碱。王天禄^[31]研究表明,茶褐素各分离组分中主要的单糖为甘露糖、鼠李糖、半乳糖和阿拉伯糖,个别组分半乳糖醛酸或葡萄糖含量较高。推测茶褐素中的多糖成分可能是甘露聚糖、半乳甘露聚糖、阿拉伯半乳聚糖或阿拉伯聚糖结构。

1.2 理化性质

茶褐素 X 射线衍射(XRD)图谱呈宽的“圆包”状,表明茶褐素是一种非晶态聚合物^[17]。其吸收波长为 205~380 nm^[28-29,32],最大吸收波长与样品中各基团数量相关。茶褐素及其凝胶分离组分均呈酸性,pH 为 5.03~6.06^[29],不同级分 pH 大小有所差异,可能与样品中酸性基团的种类和数量的不同有关。此外,茶褐素容易受到外界条件影响。酸性条件下(pH 2.2~5.0),茶褐素溶液颜色无明显变化,色差值与蒸馏水接近;中性条件下(pH 7),茶褐素溶液颜色变深,亮度大幅降低,总色度值大幅增大;碱性条件下(pH 8.00~13.56),茶褐素溶液颜色明显加深,由褐红色变为深褐色^[29,32],说明茶褐素及其级分在酸性条件下稳定,在中性或碱性条件下不稳定。茶褐素溶液随着温度的升高($\geq 60\text{ }^{\circ}\text{C}$),颜色逐渐加深,吸

光值呈上升趋势,且具有显著性差异($P<0.05$)^[32],说明茶褐素在高温作用下不稳定,极有可能发生转化。茶褐素溶液随光照时间的延长,颜色略微变深,但总体变化较小,说明光照对茶褐素稳定性影响较小^[29]。

2 茶褐素的形成机制

红茶全发酵和乌龙茶半发酵均以多酚氧化酶的酶促作用为主。儿茶素物质在胞内酶多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)的催化下氧化缩合、聚合形成茶黄素与茶红素^[33]。儿茶素为多羟基苯并吡喃结构,其中 B 环上的 C3'与 C4'上的邻二羟基易发生氧化缩合,形成二聚体茶黄素;此外,B 环 C2'、C 环 C4 以及 A 环 C6、C8 位上的氢均较活泼,易发生聚合反应,形成二聚体双黄烷醇类或茶红素。双黄烷醇和茶黄素类仍可进一步发生氧化缩聚反应生成茶红素(见图 1)。

普洱茶渥堆发酵过程中,茶红素、茶黄素与蛋白质、多糖、咖啡碱及脂类物质,通过氧化聚合、偶联聚合等方式形成茶褐素。其中,微生物所分泌胞外酶的酶促作用,是茶褐素形成的主要原因^[34]。此外,微生物呼吸作用以及高温高湿的发酵环境,对茶褐素的形成也起到不可或缺的作用^[5]。

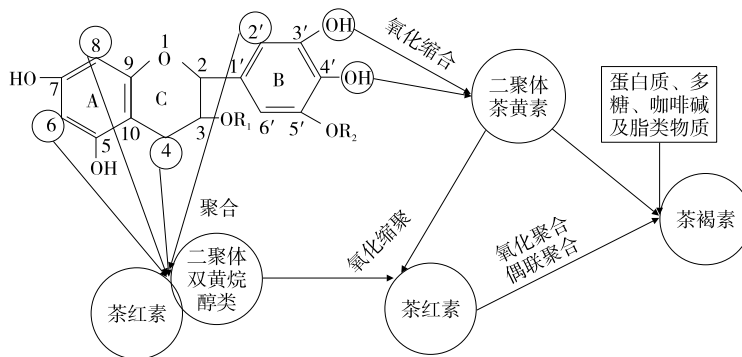


图 1 茶褐素形成机制^[33-34]

Figure 1 The mechanism of theabrownin formation

普洱茶发酵过程中,各物质间发生转化,其中儿茶素类含量大幅度降低,至发酵结束时,基本不能检出。茶多糖含量呈先增加后减少趋势,至二翻结束时,其含量增至最大值,随后逐渐降低,成品中茶多糖含量降至最低,与发酵原料晒青毛茶相比,茶多糖含量下降了 24.56%。茶黄素先增加后减小,茶红素逐渐减少,茶褐素逐渐增高^[35]。

通过在发酵过程中添加外源物质,可探究影响茶褐素生成的因素。有快速生长的微生物存在时,PPO 可明显促进发酵过程中茶褐素的形成;在抑制微生物生长的条件下,添加外源纤维素酶、果胶酶和 PPO 可促进茶褐素的形成,然而其含量低于微生物参与发酵的水平^[34]。此外,添加葡萄糖、没食子酸、焦性没食子酸、邻苯二酚、甘氨酸等,可促进茶褐素的形成;而添加山梨酸钾时,

PPO 与外源物质的促进作用较微弱^[36]。

3 茶褐素的制备、提取与检测

根据茶褐素的溶解性特征,目前茶褐素的制备工艺主要以浸提和萃取为主,以微波、超声波和酶为辅助手段^[37]。针对绿茶等未发酵茶或低茶褐素发酵茶,可采取酶法^[38]、微生物法^[39]、膨化^[40-41]等技术进行制备,使茶多酚发生热力和非热力氧化聚合反应,转化为茶褐素,以增加其含量。

3.1 制备技术

3.1.1 酶法 将多酚氧化酶喷洒于茶叶表面,使茶叶发生酶促氧化反应,随后经高温烘焙处理,迅速提升茶叶中茶褐素含量,经 1%多酚氧化酶处理 2 h 结合 160 $^{\circ}\text{C}$ 烘焙处理 3 h 后,茶叶中茶褐素含量从 4.52%增至 15.22%^[38]。

酶法处理使得茶褐素提取原料可不局限于黑茶、红茶等发酵茶。

3.1.2 微生物法 可选用单一菌株对低茶褐素原料茶进行发酵,经霉菌 fvk-01 固体发酵后的普洱生茶,茶褐素含量从 2.94% 提升至 24.20%^[39],使得未发酵茶也可用于制备茶褐素。

3.1.3 膨化技术 应用于茶褐素制备的膨化技术包括变温压差膨化与螺杆挤压膨化,二者均利用高温高压作用,加速茶褐素的转化。此外,膨化技术还能使茶叶组织和细胞结构有效破碎,从而提高后续提取过程中茶褐素的溶出率。经双螺杆挤压膨化处理后的绿茶,茶褐素得率可达 9.5%~14.5%^[40],经变温压差膨化处理后的黑茶,可同时保证茶褐素与茶多糖得率,其中茶褐素得率为 8.16%~9.80%^[41]。

3.2 提取技术

3.2.1 试剂提取 通常用乙醇脱脂,三氯甲烷或二氯甲烷除去咖啡因,乙酸乙酯与正丁醇除去茶黄素与茶红素,最后得到茶褐素^[41]。其流程为茶叶→粉碎→无水乙醇浸泡→过滤→茶渣→热水浸提→过滤(合并滤液)→减压浓缩→二氯甲烷萃取 2~3 次→乙酸乙酯萃取 3 次→正丁醇萃取 3~4 次→水相减压浓缩→茶褐素粗品→无水乙醇洗涤→离心→收集沉淀→干燥→茶褐素。

3.2.2 辅助提取 选用微波、超声技术辅助提取茶褐素,可加快提取速率,缩短提取时间,将水浸提时间由 40~120 min 缩至 10~20 min。与单试剂提取技术相比,微波辅助提取将热水浸提步骤改为冷水浸提与微波加热^[42],而超声辅助在热水浸提同时辅助超声波^[43],其余步骤均相同。选用生物酶辅助提取,如果胶酶^[44]、纤维素酶^[45],可加快提取速率,并提高茶褐素溶出含量。六堡茶在纤维素酶添加量 20 mg、酶解温度 30 ℃、酶解时间 20 min、pH 4 的条件下,茶褐素得率最高可达 24.503%^[45]。

3.2.3 亚临界水提取 在一定提取压力范围内,亚临界水在 100~374 ℃ 时依然能保持液体状态,亚临界水提取过程绿色环保、效率高,且操作方便。当料液比为 1:50 (g/mL),提取温度为 138.1 ℃,提取时间为 9.87 min 时,从红茶中提取得到的茶褐素含量为 13.34%,高于相同条件下用普通沸水提取的^[46]。

3.3 检测方法

目前茶褐素检测仍以 Roberts 法为主^[6]。红茶茶汤色差的主要贡献物质为黄酮醇苷、茶黄素、茶红素和茶褐素,其贡献吸收带位于波长 380~520 nm 处^[47]。通常选用 380 nm 为红茶茶褐素测定波长。分别用正丁醇、乙酸乙酯和碳酸氢钠溶液对沸水提取后的红茶进行液液萃取,测定 380 nm 处测试液吸光值,并根据 Roberts 经验系数计算茶褐素含量,其中茶褐素定量限为 0.6%^[48],此法操作简单,但仅适用于茶褐素含量较低的样品。

鉴于 Roberts 法在黑茶、尤其是速溶黑茶中检测的缺陷,即测定含量会高于 100%,杨妍等^[5]在此基础上进行改善,选用 270 nm 波长进行测定,并添加茶褐素对照品,以提高其准确性及适用范围。Chen 等^[49]通过人工控制因素制备得到的茶褐素,可根据反应过程推算其含量。经多酚氧化酶氧化茶多酚而制备的茶褐素,可通过测定酶反应后残留儿茶素和咖啡因含量以及可能产生的茶黄素含量,间接计算出茶褐素含量。

4 茶褐素功能活性

茶褐素具有抗氧化、抗肥胖、调节糖脂、抗肿瘤等功效,其功能活性及作用机制如图 2 所示。

4.1 抗氧化与抗衰老

在健康细胞中,活性氧自由基(ROS)的产生与被抗氧化系统消除之间保持平衡^[51]。当氧化剂与抗氧化系统失衡时,过量 ROS 对生物膜和 DNA 的过氧化作用会导

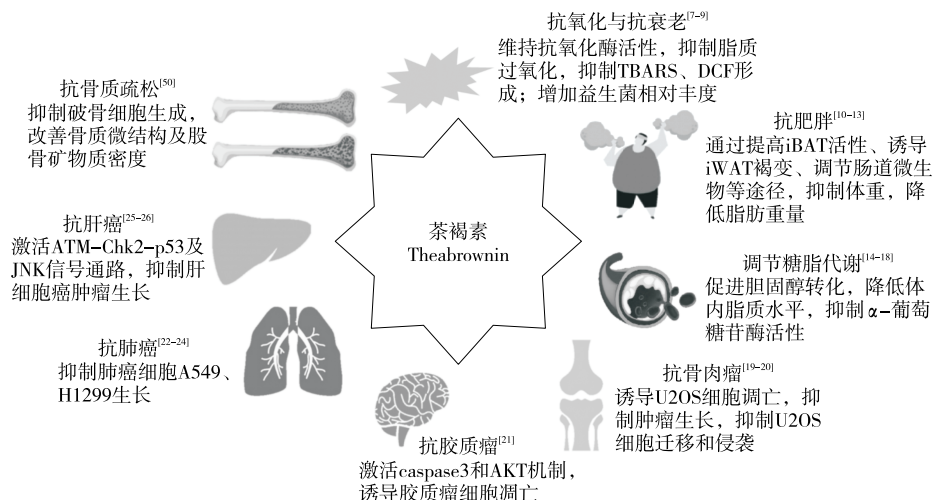


图 2 茶褐素功能活性及其作用机制

Figure 2 Functional activity and mechanism theabrownin

致组织损伤,从而引起神经退行性疾病、癌症、炎症等一系列疾病与衰老的发生^[52]。

茶褐素对辐射损伤小鼠的抗氧化系统和造血系统有较好的防护作用。许靖逸等^[7]研究发现,雅安藏茶茶褐素能防止辐射损伤小鼠血液中白细胞、血小板、淋巴细胞数量下降,增加小鼠骨髓 DNA 含量,维持辐射损伤小鼠血清中过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和肝脏总抗氧化能力(T-AOC)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性,降低肝脏丙二醛(MDA)含量,从而防护辐射损伤小鼠的胸脾器官,改善机体免疫功能,且以高剂量[200 mg/(kg·d)]的茶褐素效果最佳。Liu 等^[8]研究发现在红茶提取物中,多酚及其氧化产物是抗氧化活性的主要来源,其中以茶红素和茶褐素效果最为显著。其在生物系统中的抗氧化作用包括:通过保持抗氧化酶,如超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和过氧化氢酶(CAT)的活性,以及抑制脂质过氧化物(TBARS)的形成来抑制 2,2'-偶氮二异丁基脒二盐酸盐(AAPH)引起的红细胞损伤;抑制铜引起的低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)的脂质过氧化,明显提高人体血浆抗氧化能力;通过防止二氯荧光素(DCFH)和膜脂质的氧化来抑制 AAPH 产生的过氧自由基,并减少 2',7'-二氯荧光素(DCF)的形成。Lei 等^[9]研究表明茶褐素可以改善衰老小鼠的学习和记忆能力、肝脏氧化应激(SOD、GPx 和 MDA)、炎症(IL-2、IL-6 和 TNF- α)以及小肠的退化。通过增加乳酸菌、酸化杆菌和嗜黏蛋白-艾克曼菌的相对丰度,起到预防和延缓衰老的作用。

4.2 抗肥胖

蒋慧颖等^[10]发现对高脂饮食大鼠灌胃茶褐素,能在一定程度上抑制大鼠体重($P<0.05$)与 Lee's 指数($P<0.01$)的增长,降低脂肪重量($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。其作用机制为茶褐素通过提高肩胛棕色脂肪组织(iBAT)活性和诱导腹股白色脂肪组织(iWAT)褐变来抑制脂肪堆积。此外,Wang 等^[11]研究表明茶褐素还通过 SCFAs 和 AMPK-PGC1 α 通路调控产热和炎症基因,从而改善肥胖诱导的脂糖紊乱。

肠道菌群被认为是一个不可或缺的代谢“器官”,促进食物到营养物质的转化,并产生无数的代谢物,以维持平衡的宿主代谢。肠道菌群失调通常表现为微生物菌群结构组成的改变,在肥胖、2 型糖尿病和脂肪肝病中,可观察到厚壁菌门/拟杆菌门比例增加^[12]。茶褐素对高脂饮食大鼠肠道菌群具有正向的调节作用,主要表现为厚壁菌门、瘤胃球菌的相对丰度降低,拟杆菌门、乳杆菌、阿克曼氏菌和毛螺菌的相对丰度增加,厚壁菌门/拟杆菌门比例显著降低^[10,13]。Kuang 等^[12]发现在高脂饮食诱导的肥胖状态下,茶褐素通过改变肠道微生物菌群,提高富含 7 α -去甲基化的微生物的丰度,包括梭状芽孢杆菌、副芽孢杆菌类,促进胃肠道内初级胆汁酸(BA)到次级 BA

的代谢,导致肝脏 BA 合成途径的转变和脂肪组织的能量消耗增加,从而改善高脂肪饮食(HFD)引起的肥胖。Yue 等^[13]研究表明在高糖饮食模式下,茶褐素主要通过调节肠道微生物如产酸拟杆菌属、葡萄球菌亚种、腐生葡萄球菌亚种、鼠乳杆菌等的繁殖来降低大鼠体重和甘油三酯并改善胰岛素抵抗。

4.3 调节糖脂代谢

高血脂症是一种全身性疾病,是指血中胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)过高或高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)过低。高血脂症是引发脑卒中、冠心病、心肌梗死、猝死的危险因素。此外,高血脂症也是诱发高血压、糖耐量异常、糖尿病的一个重要危险因素^[53]。

Peng 等^[14]研究发现茶褐素提取物可抑制胆固醇的吸收,促进肝细胞内胆固醇向胆汁酸的转化,抑制胆汁酸在小肠内的重吸收,促进肠蠕动,增加高脂饮食大鼠的粪便中胆固醇和胆汁酸的排泄。Gong 等^[15]研究表明茶褐素能有效防止高脂饮食引起的血清 TC、TG 和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平的增加和 HDL-C 水平的下降,并增强激素敏感性脂肪酶(HSL)活性和脂肪组织中的 mRNA 表达,同时增强血清肝脂肪酶(HL)活性。贺国文等^[16]的体外试验表明,茯砖茶褐素具有降糖功效,其中 25~50 kDa 透出部分对 α -葡萄糖苷酶活性的抑制作用最强,半抑制浓度为 240 μ g/mL,降糖效果优于阿卡波糖的 454 μ g/mL。Xiao 等^[17]的体内试验表明,茶褐素在高脂斑马鱼中表现出低血糖活性,其中分子量为 10~30 kDa 的茶褐素在 1 000 μ g/mL 时将高脂斑马鱼的脂质水平降低至 51.57%,效果最好。Yue 等^[18]研究发现茶褐素通过参与核心特征肠道菌群的靶向调控,包括多形拟杆菌(BT)、鼠乳杆菌(LM)、二歧副孢杆菌(PD)、产酸拟杆菌(BA),通过 AMP 激活蛋白激酶信号通路、胰岛素信号通路、胆汁分泌和甘油磷脂代谢改善糖尿病大鼠糖脂代谢。

4.4 抗肿瘤及抗癌作用

4.4.1 抗骨肉瘤 骨肉瘤是第 3 种最常见的恶性肿瘤,也是儿童和青少年癌症相关死亡的第二大原因^[19]。Jin 等^[19-20]研究发现茶褐素(纯度>90%)对肿瘤生长有明显的抑制作用,其效果比化疗更强,且对体内正常组织无毒性,甚至可以增加 p53-wt 正常细胞的生存能力。此外,茶褐素可以通过 p53 依赖性机制引发 DNA 损伤并通过调节 Mki67、PARP、caspase 3 和 H2AX 诱导 U2OS 细胞凋亡。鉴于骨肉瘤的高转移潜能,在抗骨肉瘤治疗中,抗转移与抗侵袭也是非常重要的。茶褐素(纯度>90%)可通过调控与 NF- κ B 通路相关的上皮-间质转化的关键分子(EMT),介导抗骨肉瘤的抗迁移和抗侵袭作用。对异种移植斑马鱼的试验结果显示,茶褐素可显著下调 U2OS 细胞微管束形成相关基因的表达,显著抑制 U2OS 细胞的迁移和侵袭,阻断 U2OS 细胞周期进程,对 U2OS 细胞

微丝和微管形成有明显的细胞骨架抑制作用。

4.4.2 抗胶质瘤 Fu 等^[21]研究发现茶褐素通过激活 caspase3 和 AKT 机制,抑制细胞增殖并诱导胶质瘤细胞凋亡,并以剂量依赖的方式显著抑制胶质瘤细胞活力。茶褐素通过调节 c-myc 或 p53 诱导细胞周期阻滞,并分别通过 CDK 抑制剂 P21 和 P27 影响 HOG 和 U251 的下游基因,将 HOG 细胞周期阻滞在 G0/G1 期,将 U571 细胞周期阻滞在 G2/M 期。

4.4.3 抗肺癌 Zhou 等^[22]研究表明茶褐素(纯度>90%)可以剂量与时间依赖性方式抑制 A549 细胞活力,并在 G0/G1 期阻断 A549 细胞周期。推测茶褐素可通过下调 c-myc 基因表达,转录调控其下游区域的所有其他基因,阻断细胞周期 G1/S 过渡和癌细胞增殖。同时, Lewis 肺癌小鼠试验数据可验证细胞试验结果,即茶褐素能显著抑制小鼠肺癌细胞生长,并诱导肿瘤细胞凋亡,且呈剂量依赖关系。茶褐素(纯度>90%)具有抗非小细胞肺癌(NSCLC)活性。Wu 等^[23]发现针对野生型 NSCLC 细胞(A549),茶褐素可作为 DNA 损伤诱导因子和拓扑异构酶(Topo I 和 Topo II)抑制剂,通过上调 p53 的表达进而调控下游基因的表达,诱导 A549 细胞增殖抑制和凋亡;而 Xiao 等^[24]发现针对 p53 缺失型 NSCLC 细胞(H1299),茶褐素通过磷酸化激活上调 MAPK/JNK 通路相关蛋白(ASK-1、JNK 和 c JUN),同时下调上皮-间质转化(EMT)相关基因(N-CADHERIN、SLUG、FIBROBLAST 和 ZEB1)和抗凋亡分子(BCL-2),诱导 H1299 细胞凋亡,从而抑制 H1299 细胞生长。而且相较于化疗药物,茶褐素具有更高的疗效和更好的安全性。

4.4.4 抗肝癌 Xu 等^[25-26]研究发现茶褐素(纯度>90%)通过激活 JNK 信号通路对 Huh7 细胞具有抗增殖、促凋亡和抑瘤作用,且呈剂量依赖性。Huh7 肝癌细胞分子数据显示,茶褐素上调了 NOXA、PUMA、P21、Bax、Bim 的基因表达,上调了 ASK-1、Bax、磷酸化 JNK、磷酸化 c-Jun 的蛋白表达,下调了 Bcl-2。异种移植斑马鱼体内试验结果表明,茶褐素具有明显的抑瘤作用,其抑瘤作用甚至强于顺铂。此外,JNK 抑制剂在体内和体外均显著削弱了茶褐素的作用,并阻断了相关的分子通路。针对具有不同 p53 基因型的肝癌(HCC),茶褐素(纯度>90%)通过 ATM-Chk2-p53 信号轴以及 JNK 旁路调节对 SK-Hep-1 细胞发挥肿瘤抑制、促衰老和促凋亡作用。

4.5 抗骨质疏松

骨质疏松症是一种以骨密度降低和骨微结构恶化为特征的代谢性骨病^[54]。雌激素缺乏会直接导致钙和磷的流失,最终导致骨质疏松症。Liu 等^[50]研究表明,茶褐素可以抑制破骨细胞分化因子(RANKL)诱导的体外破骨细胞生成,防止卵巢切除大鼠的骨质流失。茶褐素治疗可明显改善 OVX 大鼠的骨质微结构及股骨矿物质密度(BMD),主要表现为股骨的皮质骨厚度和骨小梁面积

增加。

5 展望

茶作为健康的饮品深受大众欢迎。茶中的功能性成分已成为研究热点之一,而茶褐素作为黑茶,尤其是普洱茶的重要品质成分之一,具有较好的保健功效,可作为一种有潜力的生物资源,具有重要开发意义。目前,由于茶褐素形成机制复杂,定义不明确,结构、组成、性质等研究尚不系统深入,制约着茶褐素的发展。未来可从以下方面进行探索研究:① 加强对茶褐素结构的研究,明确影响其化学性质的主要物质,深入探究其结构与生物活性的构效关系,为茶褐素在食品及医药领域的应用提供支持。② 通过模拟发酵中不同类型反应、添加不同类型物质,有针对性地对茶褐素的形成进行调控,并对成品中各物质的存在形式进行探究,逐步明确其形成机制。③ 茶褐素的提取目前仍以溶剂法为主,相对单一,存在提取率低、溶剂残留等问题,应加强探索高效且环保的提取及分离纯化技术,进一步探明其组成结构、生物活性等。④ 比色法仍是茶褐素检测的优选方法,可根据不同茶类的茶褐素结构及含量特性进行调试,分别找到各茶类适用的检测条件与计算公式。⑤ 针对茶褐素生理活性的研究,多集中于功能活性验证及作用机制探索,且多采用细胞试验和动物试验,缺乏人体参与的临床试验研究,其药理学功效与人体安全性有待进一步研究。

参考文献

- [1] 陈智雄, 谭礼强, 张钰玉, 等. 藏茶茶褐素组分特征及其清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基活性的比较[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2020, 46(5): 582-590.
- [2] CHEN Z X, TAN L Q, ZHANG Y Y, et al. Comparison on characteristics and 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl scavenging activity of theabrownine fractions from Tibetan tea[J]. Journal of Zhejiang University(Agriculture & Life Sciences), 2020, 46(5): 582-590.
- [3] ROBERTS E A H, SMITH R F. The phenolic substances of manufactured tea IX: The spectrophotometric evaluation of tea liquors[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1963, 14(10): 689-700.
- [4] 杨娟, 袁林颖, 钟应富, 等. 工夫红茶色泽与品质相关性研究[J]. 西南农业学报, 2014, 27(6): 2 605-2 610.
- [5] YANG J, YUAN L Y, ZHONG Y F, et al. Study on correlations between color and quality of congou made of different varieties of tea[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2014, 27(6): 2 605-2 610.
- [6] 崔宏春, 张建勇, 赵芸, 等. 发酵条件对红茶茶色素形成的影响研究进展[J]. 食品与机械, 2022, 38(8): 227-233.
- [7] CUI H C, ZHANG J Y, ZHAO Y, et al. Research progress on the influence of black tea fermentation conditions on the tea pigment formation[J]. Food & Machinery, 2022, 38(8): 227-233.

- [5] 杨妍, 彭春秀, 刘华戎, 等. 普洱茶中茶褐素含量的紫外光谱法测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(7): 1 850-1 856.
YANG Y, PENG C X, LIU H R, et al. Study on the UV-quantitative analysis of theabrownins in Pu-erh tea[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2013, 33(7): 1 850-1 856.
- [6] CHENG L Z, WANG Y F, ZHANG J R, et al. Integration of non-targeted metabolomics and E-tongue evaluation reveals the chemical variation and taste characteristics of five typical dark teas[J]. LWT-Food Science & Technology, 2021, 150: 111875.
- [7] 许靖逸, 李祥龙, 李解, 等. 雅安藏茶茶褐素对⁶⁰Co γ 辐射损伤的防护作用[J]. 核技术, 2017, 40(4): 7-14.
XU J Y, LI X L, LI J, et al. Protective effect of extracted theabrownins from Ya'an Tibetan tea on radiation damage in mice caused by ⁶⁰Co γ -ray[J]. Nuclear Techniques, 2017, 40(4): 7-14.
- [8] LIU S M, HUANG H H. Assessments of antioxidant effect of black tea extract and its rationals by erythrocyte haemolysis assay, plasma oxidation assay and cellular antioxidant activity (CAA) assay[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 18: 1 095-1 105.
- [9] LEI S W, ZHANG Z F, XIE G H, et al. Theabrownin modulates the gut microbiome and serum metabolome in aging mice induced by D-galactose[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 89: 104941.
- [10] 蒋慧颖, 马玉仙, 曾文治, 等. 茶黄素、茶红素与茶褐素对高脂饮食大鼠肠道菌群的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(20): 274-279, 351.
JIANG H Y, MA Y X, ZENG W Z, et al. Effects of theaflavins, thearubigins and theabrownine on intestinal flora in rats fed with high-fat diet[J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(20): 274-279, 351.
- [11] WANG Y, ZHAO A Q, DU H P, et al. Theabrownin from fu brick tea exhibits the thermogenic function of adipocytes in high-fat-diet-induced obesity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(40): 11 900-11 911.
- [12] KUANG J L, ZHENG X J, HUANG F J, et al. Anti-adipogenic effect of theabrownin is mediated by bile acid alternative synthesis via gut microbiota remodeling[J]. Metabolites, 2020, 10(11): 475.
- [13] YUE S J, ZHAO D, PENG C X, et al. Effects of theabrownin on serum metabolite and gut microbiome in rats with high-sugar diet [J]. Food & Function, 2019, 10(11): 7 063-7 080.
- [14] PENG C X, WANG Q P, LIU H R, et al. Effects of Zijuan Pu-erh tea theabrownin on metabolites in hyperlipidemic rat feces by Py-GC/MS[J]. Journal of Analytical & Applied Pyrolysis, 2013, 104: 226-233.
- [15] GONG J S, PENG C X, CHEN T, et al. Effects of theabrownin from Pu-erh tea on the metabolism of serum lipids in rats: Mechanism of action[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(6): H182-H189.
- [16] 贺国文, 钟桐生, 彭晓赞, 等. 茯砖茶褐素组分特征及对 α -葡萄糖苷酶活性抑制研究[J]. 茶叶科学, 2016(1): 102-110.
HE G W, ZHONG T S, PENG X Y, et al. comparative study on component characteristics and inhibitory activities on α -glucosidase of theabrownin from Fuzhuan brick tea[J]. Journal of Tea Science, 2016(1): 102-110.
- [17] XIAO Y, LI M Y, WU Y P, et al. Structural characteristics and hypolipidemic activity of theabrownins from dark tea fermented by single species eurotium cristatum PW-1[J]. Biomolecules, 2020, 10(2): 204.
- [18] YUE S J, SHAN B, PENG C X, et al. Theabrownin-targeted regulation of intestinal microorganisms to improve glucose and lipid metabolism in Goto-Kakizaki rats[J]. Food & Function, 2022, 13(4): 1 921-1 940.
- [19] JIN W D, ZHOU L, YAN B, et al. Theabrownin triggers DNA damage to suppress human osteosarcoma U2OS cells by activating p53 signalling pathway [J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2018, 22: 4 423-4 436.
- [20] JIN W D, GU C Q, ZHOU L, et al. Theabrownin inhibits the cytoskeleton-dependent cell cycle, migration and invasion of human osteosarcoma cells through NF κ B pathwayrelated mechanisms[J]. Oncology Reports, 2020, 44(6): 2 621-2 633.
- [21] FU J Y, JIANG C X, WU M Y, et al. Theabrownin induces cell apoptosis and cell cycle arrest of oligodendroglioma and astrocytoma in different pathways[J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12: 664003.
- [22] ZHOU L, WU F F, JIN W D, et al. Theabrownin inhibits cell cycle progression and tumor growth of lung carcinoma through c-myc-related mechanism[J]. Frontiers in Pharmacology, 2017, 8: 75.
- [23] WU F F, ZHAO L, JIN W D, et al. Anti-proliferative and apoptosis-inducing effect of theabrownin against non-small cell lung adenocarcinoma A549 cells [J]. Frontiers in Pharmacology, 2016, 7: 465.
- [24] XIAO X J, GUO L, DAI W Y, et al. Green tea-derived theabrownin suppresses human non-small cell lung carcinoma in xenograft model through activation of not only p53 signaling but also MAPK/JNK signaling pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2022, 291: 115167.
- [25] XU J A, YAN B, ZHANG L, et al. Theabrownin induces apoptosis and tumor inhibition of hepatocellular carcinoma Huh7 cells through ASK1-JNK-c-Jun pathway [J]. OncoTargets and Therapy, 2020, 13: 8 977-8 987.
- [26] XU J A, XIAO X J, YAN B, et al. Green tea-derived theabrownin induces cellular senescence and apoptosis of hepatocellular carcinoma through p53 signaling activation and bypassed JNK signaling suppression[J]. Cancer Cell International, 2022, 22(1): 1-12.
- [27] 秦谊, 龚加顺, 张惠芬, 等. 普洱茶茶褐素提取工艺及理化性质的初步研究[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(5): 95-98.
QIN Y, GONG J S, ZHANG H F, et al. Extraction technology of theabrownine from Pu-erh tea and its physico-chemical properties [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2009, 29(5): 95-98.
- [28] 董文明, 谭超, 李凌飞, 等. 普洱茶发酵过程中茶褐素主要分子结构及其变化研究[J]. 食品科技, 2013, 38(4): 53-57.
DONG W M, TAN C, LI L F, et al. The main molecular structure of theabrownin and changes during the fermentation of Pu-erh tea

- [J]. Food Science and Technology, 2013, 38(4): 53-57.
- [29] 杨新河, 王丽丽, 黄建安, 等. 普洱茶茶褐素的分级及相关性质初步研究[J]. 茶叶科学, 2011, 31(3): 187-194.
YANG X H, WANG L L, HUANG J A, et al. Preliminary study on fractions and correlative properties of theabrownin from Pu-erh tea [J]. Journal of Tea Science, 2011, 31(3): 187-194.
- [30] PENG C X, LIU J, LIU H R, et al. Influence of different fermentation raw materials on pyrolyzates of Pu-erh tea theabrownin by curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectroscopy [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 54(1): 197-203.
- [31] 王天禄. 普洱茶茶褐素的分离、抗氧化与体外抑菌研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2016: 46-47.
WANG T L. Study on isolation, antioxidant activity and antimicrobial activity of theabrownins from Pu-erh tea[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2016: 46-47.
- [32] 谭超, 郭刚军, 李宝才, 等. 普洱茶茶褐素理化性质与光谱学性质研究[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(4): 53-58.
TAN C, GUO G J, LI B C, et al. Physico-chemical and spectral properties of theabrownin from Pu-erh tea [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2010, 30(4): 53-58.
- [33] 李大祥, 王华, 白蕊, 等. 茶红素化学及生物学活性研究进展[J]. 茶叶科学, 2013, 33(4): 327-335.
LI D X, WANG H, BAI R, et al. The chemistry and bioactivity of thearubigins[J]. Journal of Tea Science, 2013, 33(4): 327-335.
- [34] WANG Q P, PENG C X, GONG J S. Effects of enzymatic action on the formation of theabrownin during solid state fermentation of Pu-erh tea [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(13): 2 412-2 418.
- [35] 唐平. 普洱茶主要滋味物质分析及发酵过程变化研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2018: 43-64.
TANG P. Analysis of main taste substances in Pu'eh tea and changes in fermentation process[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2018: 43-64.
- [36] 龚加顺, 陈一江, 彭春秀, 等. 普洱茶发酵过程中不同添加物对茶褐素及其形成机制的影响[J]. 茶叶科学, 2010, 30(2): 101-108.
GONG J S, CHEN Y J, PENG C X, et al. Effect of different additives on the theabrownin and its formation mechanism during Pu-erh tea fermentation[J]. Journal of Tea Science, 2010, 30(2): 101-108.
- [37] 张云天, 姚晓玲, 鲁江, 等. 黑茶茶褐素的研究现状及进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(11): 395-399.
ZHANG Y T, YAO X L, LU J, et al. Current research status and progress of the theabrownine in dark tea [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(11): 395-399.
- [38] 杭州艺福堂茶业有限公司. 一种茶褐素的粗提方法和精提方法: CN201410314177.9[P]. 2014-10-08.
Hangzhou Efuton Tea Co., Ltd. A crude extraction method and a refined extraction method of theabrownine: CN201410314177.9[P]. 2014-10-08.
- [39] 房贤坤, 陈杰, 姜吉, 等. 普洱生茶快速发酵法制备茶褐素[J]. 大连工业大学学报, 2012, 31(2): 103-106.
FANG X K, CHEN J, JIANG J, et al. Preparation of theabrowmins by fast fermentation [J]. Journal of Dalian Dalian Polytechnic University, 2012, 31(2): 103-106.
- [40] 陈小强. 以绿茶为原料制备茶褐素的方法: CN201210325200.5 [P]. 2013-12-18.
CHEN X Q. Method of preparing tea browning from green tea: CN201210325200.5[P]. 2013-12-18.
- [41] 陈小强. 以黑茶为原料综合提制茶褐素和茶多糖的方法: CN201210343809.5[P]. 2013-12-18.
CHEN X Q. Integrated extraction of theabrownine and polysaccharides from dark tea: CN201210343809.5[P]. 2013-12-18.
- [42] 张水花, 钱磊, 赵红艳, 等. 微波辅助提取普洱茶中茶褐素的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(22): 11 421-11 422.
ZHANG S H, QIAN L, ZHAO H Y, et al. Study on the microwave-assisted extraction method of theabrownine from pu-erh tea [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(22): 11 421-11 422.
- [43] 陈丽如, 张娜, 杨更亮, 等. 茶色素的超声辅助提取及其稳定性研究[J]. 江西农业大学学报, 2010, 32(3): 608-612.
CHEN L R, ZHANG N, YANG G L, et al. A study on the ultrasound-associated extraction of tea pigment and its stability[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis (Natural Sciences Edition), 2010, 32(3): 608-612.
- [44] 董孝胜. 一种用速溶茶粉为原料制备茶褐素的方法: CN202010608132.8[P]. 2020-09-22.
DONG X S. A method of preparing theabrownine using instant tea powder as raw material: CN202010608132.8[P]. 2020-09-22.
- [45] HE Y Z, WANG X, ZHANG X H. Study on extracting TB from Liubao tea with cellulase auxiliary method [C]// The 3rd International Conference on Advanced Engineering Materials and Technology (AEMT 2013). Zhangjiajie: Trans Tech Publications, 2013: 1 870-1 874.
- [46] 刘丽辰, 黄秀红, 阮怿航, 等. 响应面优化亚临界水提取茶色素工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(14): 71-79.
LIU L C, HUANG X H, RUAN Y H, et al. Study on response surface optimization for extraction of tea pigment from subcritical water[J]. Food Research and Development, 2021, 42(14): 71-79.
- [47] CUI Y Q, LAI G P, WEN M C, et al. Identification of low-molecular-weight color contributors of black tea infusion by metabolomics analysis based on UV-visible spectroscopy and mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2022, 386: 132788.
- [48] 中华人民共和国农业农村部. 红茶中茶红素和茶褐素含量的测定分光光度法: NY/T 3675—2020[S]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 1-3.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs of the People's Republic of China. Determination of thearubigin and theabrownine in black tea-spectrophotometry: NY/T 3675—2020 [S]. Beijing: China Agriculture Press, 2020: 1-3.

(下转第 240 页)

- [39] 程燕. 乳制品中双酚类物质及其环氧衍生物的检测方法研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2017: 14-25.
- CHENG Y. The study on the detection methods of bisphenols, bisphenols diglycidyl ethers and their derivatives in dairy products [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2017: 14-25.
- [40] 周松华, 林勤保, 李波, 等. 气相色谱—质谱联用检测聚丙烯食品包装材料中的 18 种有毒有害物质[J]. 包装与食品机械, 2015, 33(1): 56-62.
- ZHOU S H, LIN Q B, LI B, et al. Determination of 18 substances in polypropylene food packaging materials by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Packaging and Food Machinery, 2015, 33(1): 56-62.
- [41] 张慧艳, 刘诗文, 齐诗哲, 等. 食品组学技术在食品真伪鉴别和溯源方面应用进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(3): 948-955.
- ZHANG H Y, LIU S W, QI S Z, et al. Application progress of food omics technology in food authenticity identification and traceability[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(3): 948-955.
- [42] LIU F, GRAUWET T, KEBEDE B T, et al. Comparing the effects of high hydrostatic pressure and thermal processing on blanched and unblanched mango (*Mangifera indica* L.) nectar: Using headspace fingerprinting as an untargeted approach[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7(10): 3 000-3 011.
- [43] BELEGGIA R, MENGA V, PLATANI C, et al. Metabolomic analysis can detect the composition of pasta enriched with fibre after cooking[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(9): 3 032-3 041.
- [44] LEE A P, BARBANO D M, DRAKE M A. The influence of ultra-pasteurization by indirect heating versus direct steam injection on skim and 2% fat milks[J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(3): 1 688-1 701.
- [45] GIANNETTI V, BOCCACCI MARIANI M, MANNINO P, et al. Volatile fraction analysis by HS-SPME/GC-MS and chemometric modeling for traceability of apples cultivated in the Northeast Italy [J]. Food Control, 2017, 78: 215-221.
- [46] CAJKA T, RIDDELLOVA K, KLIMANKOVA E, et al. Traceability of olive oil based on volatiles pattern and multivariate analysis[J]. Food Chemistry, 2010, 121(1): 282-289.
- [47] CASTRO-PUYANA M, PÉREZ-MÍGUEZ R, MONTERO L, et al. Reprint of: Application of mass spectrometry-based metabolomics approaches for food safety, quality and traceability [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2017, 96: 62-78.
-
- (上接第 200 页)
- [20] MESFIN H, WON H K. The role of microbes in coffee fermentation and their impact on coffee quality[J]. Journal of Food Quality, 2019(12): 1-6.
- [21] BERTRAND B, BOULANGER R, DUSSERT S, et al. Climatic factors directly impact the volatile organic compound fingerprint in green Arabica coffee bean as well as coffee beverage quality[J]. Food Chemistry, 2012, 135(4): 2 575-2 583.
- [22] WENNY B S, DAVID J W, HEATHER E S, et al. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective[J]. Food Research International, 2014, 62: 315-325.
- [23] OSCAR G R, MIRNA L S Q, RENAUD B, et al. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I Green coffee[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20(3/4): 289-296.
- [24] POYRAZ, I E, ÖZTÜRK, N, KIYAN, H T, et al. Volatile compounds of *Coffea arabica* L. green and roasted beans [J]. Anadolu University Journal of Science and Technology, 2016, 5: 31-35.
- [25] WANG X Y, WANG Y B, HU G L, et al. Review on factors affecting coffee volatiles: From seed to cup[J]. Journal Science Food Agricultural, 2022, 102: 1 341-1 352.
- [26] 陈云兰, 李学玲, 蒋快乐, 等. 咖啡湿法发酵中使用果胶酶对脱胶时间与杯品质量的影响[J]. 热带作物学报, 2020, 41(2): 371-377.
- CHEN Y L, CHEN Z H, JIANG K L, et al. Effects of pectinase on pectin removing time and cup quality in wet fermentation of coffee [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(2): 371-377.
-
- (上接第 233 页)
- [49] CHEN X Q, HU Y X, WANG B J, et al. Characterization of theabrownins prepared from tea polyphenols by enzymatic and chemical oxidation and their inhibitory effect on colon cancer cells [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 849728.
- [50] LIU T T, XIANG Z M, CHEN F, et al. Theabrownin suppresses in vitro osteoclastogenesis and prevents bone loss in ovariectomized rats[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 106: 1 339-1 347.
- [51] GIRARD-LALANCETTE K, PICHETTE A, LEGAULT J. Sensitive cell-based assay using DCFH oxidation for the determination of pro- and antioxidant properties of compounds and mixtures: Analysis of fruit and vegetable juices [J]. Food Chemistry, 2009, 115(2): 720-726.
- [52] DRÖGE W. Free radicals in the physiological control of cell function[J]. Physiological Reviews, 2002, 82(1): 47-95.
- [53] 徐甜. 四川边茶茶褐素优化提取及降血脂活性研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010: 7-8.
- XU T. Study on the hypoglycemic activity and optimum extraction of theabrownine from Sichuan brick tea [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2010: 7-8.
- [54] HE Y X, CHEN Y X. The potential mechanism of the microbiota-gut-bone axis in osteoporosis: A review [J]. Osteoporosis International, 2022, 33(12): 2 495-2 506.