

黑茶茶褐素的研究现状及进展

张云天¹, 姚晓玲¹, 鲁江¹, 陈小强^{1,*}, 袁海波^{2,*}, 李山¹, 江用文²

(1.湖北工业大学, 湖北武汉 430068;

2.中国农业科学院茶叶研究所, 浙江杭州 310000)

摘要:黑茶是中国特有茶类,独特的渥堆工艺使黑茶的物质成分区别于其它茶类。茶褐素是黑茶加工过程中由茶多酚氧化聚合而成的一类化学结构复杂的水溶性褐色色素,是参与形成黑茶茶汤品质的重要物质之一,对人体具有一定的生理调节作用。本文综述了茶褐素的形成途径、制备方法和结构特征等性质,以及茶褐素在降脂减肥、降血糖、抗氧化、抗炎抗肿瘤等方面的生理活性,并对其研究的关键问题进行了展望,以期对茶褐素的深入研究和产品开发提供参考。

关键词:茶褐素, 制备工艺, 结构特征, 生理活性

Current research status and progress of the theabrownine in dark tea

ZHANG Yun-tian¹, YAO Xiao-ling¹, LU Jiang¹, CHEN Xiao-qi^{1,*},

YUAN Hai-bo^{2,*}, LI Shan¹, JIANG Yong-wen²

(1.Hubei University of Technology, Wuhan 430068, China;

2.Tea Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310000, China)

Abstract: As one of unique Chinese tea, dark tea's material composition is different from other tea due to its pile fermentation. Theabrownine, a class of complicated water-soluble brown pigment by tea-polyphenol oxidative polymerization in dark tea process, which is a vital substance for dark tea quality, and possess a certain physiological regulation function to the human body. This paper mainly reviews the formation ways, preparation methods, and structural characteristics of theabrownin. In addition, the application in therapy hyperlipidemia and adiposity, hyperglycemic effect, antioxidant, anti-inflammatory, antitumor, and other physiological activities were also reviewed. In order to provide reference for further research and product development, the key problems of the research were prospected.

Key words: theabrownin; processing technic; structure characteristics; physiological activity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)11-0395-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.11.068

茶褐素(Theabrownins, TBs)是黑茶中一类分子量不均一、水溶性的复杂天然高聚物^[1],通常认为是由多酚、茶黄素(Theaflavins, TFs)、茶红素(Thearubigins, TRs)进一步的氧化聚合而成,颜色为棕褐色或褐红色^[2-3]。对黑茶茶汤的色泽和耐泡性等品质特征的形成都有一定作用^[4-5]。茶褐素含量是评价普洱茶品质的一个重要参数,被誉为普洱茶中的软黄金^[2]。有研究报道普洱茶中茶褐素的含量可达普洱茶干茶含量的12%^[6]。茶褐素的概念最早是由Ruan在红茶茶汤发现提出^[7]。我国对茶褐素的研究始于上世纪80年代初^[8-9]。基于茶褐素的结构和成分的复杂性,对其分离纯化和功效的深入研究尚处于探索中。本文主要从茶褐素的形成途径、制备工艺、化学结构、生物学活性等方面综述目前科

研工作者关于茶褐素的研究现状,以期对茶褐素的深入研究提供参考。

1 茶褐素的形成途径

有研究表明多酚氧化酶(Polyphenol oxidase, PPO)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)参与茶褐素的形成过程,但具体的生化反应过程尚不明晰^[4]。红茶茶褐素形成机制主要是内源酶促作用和偶联氧化聚合作用,普洱茶茶褐素的形成较红茶复杂,既包含微生物“呼吸热”和湿热作用下内源酶、微生物分泌酶的酶促反应机制,同时又包含非酶褐变机制及其反应物与成分间的偶联氧化、聚合。推测其形成途径为多酚氧化酶先将以儿茶素为代表的多酚类物质氧化为邻醌,邻醌类进一步氧化聚合形成茶黄素、茶红素,进而与其他物质通过氧化、聚合、耦合作用形成

收稿日期: 2016-11-11

作者简介: 张云天(1992-),男,研究生在读,研究方向:茶叶精深加工及天然产物, E-mail: 763824013@qq.com。

* 通讯作者: 陈小强(1978-),男,博士,教授,研究方向:茶叶精深加工及天然产物, E-mail: biomed528@163.com。

袁海波(1978-),男,硕士,副研究员,研究方向:茶叶精深加工及天然产物, E-mail: 192168092@tricaas.com。

基金项目: 博士启动项目(BSQD13007)。

茶褐素,在此过程中茶叶中的一些物质成分可作为茶褐素形成的促进剂和诱导物,如:葡萄糖、没食子酸、邻苯二酚、焦性没食子酸和甘氨酸等^[10]。研究发现,通过对普洱茶发酵过程中 TFs、TRs、TBs 含量的测定,随着发酵的进行,茶褐素的含量逐渐增加,而茶红素、茶黄素的含量逐渐降低,但茶褐素的增加量大于茶红素和茶黄素的减少量,这种量的差异进一步说明了茶褐素的形成过程常伴有多糖蛋白的络合物与茶褐素络合形成复杂的高聚混合物^[4,11-13,35]。

2 茶褐素的制备工艺

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导方法,以微波、超声波和酶为辅助手段。有研究通过对茶褐素提取过程中的料液比、提取温度、时间、次数等因素进行研究,结果表明提取次数对提取率影响较大,优化工艺条件后的产率可达 16.86%^[14]。在此基础上通过采用高温、长时、高料液比、多次提取的方式,优化后提取率可达 22.92%^[15-16]。由此可见茶褐素的提取率随着固液比和提取温度的增加而增加,但也有研究表明高温会使茶褐素失活^[17]。为此有研究提出了一种低温有机溶剂萃取法提取茶褐素,该法的水提温度为 65.69~77.88 °C,最佳有机溶剂萃取温度为 13.65~17.48 °C,远低于普通的提取温度(100 °C)^[18]。为了提高茶褐素提取率产率,传统的提取方法是通过延长提取时间,提高提取次数,但降低了效率,有研究在传统的提取工艺基础上以微波、超声波和纤维素酶等方法为辅助手段,缩短了提取时间,减少了提取次数,提高了提取效率^[19-21],通过优化提取条件,使得茶褐素的提取率可达 24.50%^[21]。在提取茶褐素的过程中,茶黄素、茶红素、皂苷和蛋白也会随茶褐素提取出来,通过依次结合使用乙酸乙酯和正丁醇各萃取三次分别除去里面的茶黄素、茶红素和皂苷,最后采用 SEVAGE 法除蛋白得到纯度较高的茶褐素,茶褐素含量为 7.48%^[22]。

除了以黑茶为原料提取茶褐素外,目前已有科研人员采用化学或生物反应的方法制取茶褐素。有研究通过从固态发酵的普洱茶中提取真菌,加入到绿茶汤中进行深层发酵制得茶褐素,分离的十株真菌中九株可发酵绿茶汤制得茶褐素,其中以 *A. tubingensis* TISTR 3647 和 *A. marvanovae* TISTR 3648 菌株的转化活力最强,将茶汤转化为茶褐素的能力分别为 0.102、0.090 g/L^[13,23]。还有以茶多酚与小苏打溶液超声共热的方法制得茶褐素干粉,茶多酚转

化为茶褐素的转化率可达 91.5%^[24],这些制备方法为制备茶褐素提供了一个新的思路。

3 茶褐素的化学结构

茶褐素是一类复杂的高聚复合物,常伴有多糖蛋白复合物的络合,具有酚类物质的特性,主要功能性基团为羧基、甲基、羟基、氨基等基团^[25-28]。是黑茶加工过程中多酚类物质、TFs 和 TRs 等的进一步氧化聚合物,由此可推测 TB 的分子量较 TR 的分子量(700~40000 Da)大^[29]。

由于茶褐素的结构复杂性,导致目前对其结构组成尚不明晰。有研究通过使用原子力显微技术(atomic force microscope, AFM),交叉极化魔角旋转固体核磁共振技术(cross polarization - magic angle spinning NMR, CP-MAS NMR)和居里点热裂解气质联用(curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectroscopy-PY, CP-GC/MS)来阐明茶褐素主要组分分子形貌、结构特征,从 AFM 图像看,茶褐素是一类离子形貌不均一,单分子呈岛屿状或颗粒与颗粒之间相互聚集的结构;当粒子聚集较多时,呈现出具有较多分支结构的线状连接;当粒子大量聚集时,呈现出网状结构。从 NMR 和 CP-MAS NMR 分析看茶褐素是一个含有多苯环的苯多酚类物质,以苯环为主体,络合有多糖和蛋白质,富含羧基、羟基、甲基等基团的高聚物,具有酚类物质的特性。进一步对水解除去多糖蛋白络合物后的黑色沉淀物质进行 CP-GC/MS 分析,推断其结构有以下几种(见图 1)^[30]。使用 CP-PY-GC/MS 分析分子量在大于 100 kDa 和分子量小于 3.5 kDa 的茶褐素组分特征,发现分子量大于 100 kDa 的组分主要络合有脂类、蛋白质和多糖,分子量小于 3.5 kDa 的不含这些络合物,结构特征和谭超的研究相似^[28]。对比腐植酸的形成及化学性质、结构特征(见图 2),发现普洱茶茶色素(特别是茶褐素)与腐植酸(特别是黄腐酸)的化学结构和官能团存在着某些相似之处,即其基本母核均为芳基,都含有大量的酚性基团和羧基、醌基。茶褐素和腐植酸、黄腐酸官能团的连接方式虽有所不同,但存在着构效关系,在药理上均是酚性基团、羧基、醌基等起作用^[31]。根据 α -葡萄糖苷酶对底物或抑制剂的结构要求较为严格这一特点进一步推测茶褐素的构型,推测茶褐素具有半椅状或椅状构型^[32-33]。

4 茶褐素的生理活性

茶褐素作为普洱茶、安化黑茶、湖北青砖茶及六堡茶等黑茶中的一类重要品质功能成分,不仅对茶

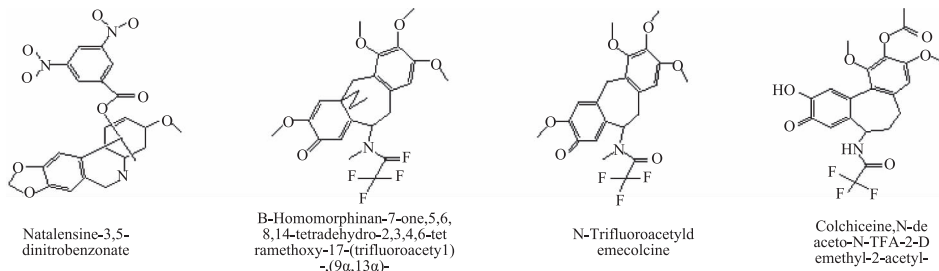


图1 使用 CP-GC/MS 分析得到的不溶性黑色沉淀物的化学组成

Fig.1 Complex candidate compounds from the insoluble black precipitate identified from the pyrolysis products using CP-GC/MS

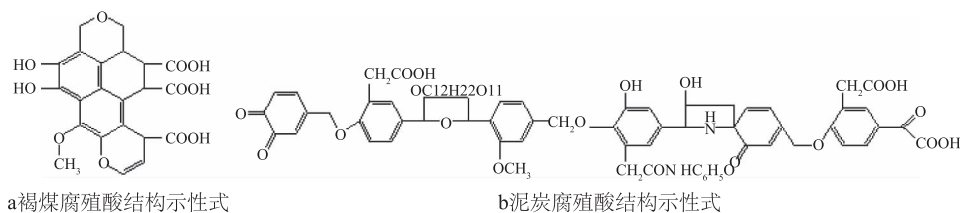


图2 泥炭和褐煤腐殖酸模型

Fig.2 The models of humic acids of peat and brown coal

叶色泽、茶汤品质的形成有着重要的作用,其表现出的生物活性成分也越来越受到关注。研究表明黑茶在降血脂、降血糖、抗氧化、抗癌抗肿瘤方面有着良好的功效,而作为黑茶特征功能性成分的茶褐素在这些功效作用中起着重要作用^[34-43]。

4.1 降血脂

高血脂症是一类脂肪代谢或运转异常,使血浆中一种或多种脂质高于正常水平的全身性疾病,会引发动脉粥样硬化、冠心病、胰腺炎等疾病。近年来国内外对开发具有降血脂作用的天然药物研究进展迅速,而水溶性色素具有调节脂类代谢、抗动脉粥样硬化等生理功能,是天然的降血脂类药物^[44]。动物实验研究表明,普洱茶茶褐素可使实验大鼠血清中的总胆固醇(Total cholesterol, TC)、甘油三酯(Triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(Low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)含量明显下降,高密度脂蛋白胆固醇(High-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)含量显著提高,促进肠道内脂质的排泄,从而达到降血脂的功效,并对高脂饮食大鼠引起的脂肪肝有辅助治疗作用^[1,45-47]。也有研究表明茶褐素可通过提高大鼠肝脏和附睾组织中的甘油三酯脂肪酶(HSL)的活性和HSLmRNA的表达,来促进体内的脂质分解代谢,还可防止肌体对外源性胆固醇的吸收,降低血脂水平^[1]。脂肪酸合成酶(Fatty acid synthase, FAS)是参与生物体内合成长链脂肪酸的关键酶,研究认为茶褐素可能通过抑制脂FAS的活性,进而抑制脂肪的合成和吸收^[29,48-49]。茶褐素也可通过下调PPAR γ 2基因表达和蛋白表达来维持脂质代谢平衡^[50]。

4.2 降血糖

我国的糖尿病患病率呈迅速增加趋势。最新的流行病学调查显示,2010年中国成年人糖尿病患者达到11.6%,其中男性占到12.1%,女性占到11.0%,前驱糖尿病患者则高达50.1%^[51]。目前用于治疗糖尿病的药物大多是化学合成,且副作用较大,因此寻找天然的治疗糖尿病药物成为当今的研究热点^[52-53]。普洱茶茶褐素可能通过改善胰岛素抵抗(IR),增强胰岛素受体数目和敏感性达到调节机体血糖代谢,改善血糖水平,缓解血糖代谢紊乱对胰腺造成的负担^[54]。也有研究表明茶褐素是一种很好的 α -葡萄糖苷酶活性抑制剂,能与 α -葡萄糖苷酶活性中心结合,降低小肠对麦芽糖、淀粉、蔗糖的分解和吸收,减少血糖对胰腺的刺激,维持餐后血糖平稳^[33]。

4.3 抗氧化

随着活性氧和自由基与人类健康的关系越来越

密切,使得抗氧化剂的研究与开发成为当今的热点。与合成抗氧化剂相比,天然抗氧化剂在食品安全性方面更具优势^[55]。茶褐素在生物系统中的抗氧化性主要是通过保护抗氧化酶(超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPX)和过氧化氢酶(catalase, CAT))的活性,抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)和硫巴比妥酸反应物(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)的形成,抑制铜诱导的低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)和高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)脂质过氧化,减少DCF(2', 7'-dichlorofluorescein)的形成以及DCFH(dichlorofluorescein)和脂膜的氧化来抑制AAPH自由基的产生等途径来实现^[56]。从六堡茶提制的茶褐素对羟基自由基、亚硝基自由基、超氧阴离子自由基均有显著清除效果,对羟基自由基的清除率达74%,在同条件下清除效果明显高于V_C;对亚硝基的清除作用最高可达73%,与V_C的清除效果无显著差异;但对超氧阴离子自由基的清除率不及V_C,最高为60%^[16]。普洱茶茶褐素对羟自由基、超氧阴离子自由基、DPPH自由基同样具有显著清除效果,在相同浓度下茶褐素对DPPH自由基的清除效果强于V_C,并呈现剂量效应^[57-58]。

4.4 抗炎抗肿瘤

癌变是一个多步骤的过程,可被外界多种致瘤物(如:烟、工业废气、汽油等)、肿瘤启动子、炎症因子等激活。细胞凋亡是一种自主有序的保护机制,能避免不必要的细胞损伤,是消除肿瘤细胞的一个重要方法。茶褐素可预防恶唑酮诱导雄性小鼠IV型过敏反应,防止促炎细胞因子白细胞介素水平升高^[59]。显著改善抗生素的脱污染作用,调整肠道菌群失调,促进肠道双歧杆菌和乳酸杆菌增值,抑制大肠杆菌、肠球菌生长,时间愈长效果愈明显^[60]。通过诱导细胞凋亡和细胞周期阻滞抑制胃癌细胞SGC-7901的生长,并呈现剂量依赖性,对正常细胞无副作用,在48h时茶褐素对胃癌细胞SGC-7901的半抑制浓度为522.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[61]。

5 展望

随着茶与人类健康的关系研究日益深入,寻找茶中的功能成分已成为研究焦点之一,作为黑茶品质功能成分之一的茶褐素正逐渐成为研究热点。茶褐素在抗氧化、降血脂、降血糖、抗炎抗肿瘤等方面有良好的预防功效,但作用机制还有待深入研究。其次,茶褐素的结构和化学组成复杂,目前对其分离纯化制备和结构解析研究尚处于探索中,结合现

有的纯化、结构鉴定技术,获得茶褐素均一性化合物并对其进行结构解析是今后研究的重点。针对活性最强的茶褐素组分从构效关系等方面来进一步阐明其生物活性的作用机制是未来研究的关键问题。

参考文献

- [1] Gong J S, Peng C X, Chen T, et al. Effects of theabrownine 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.
- [2] Xie G X, Ye M, Wang Y G, et al. Characterization of Pu-erh tea using chemical and metabolic profiling approaches [J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 3046-3054.
- [3] Wang K B, Chen Q C, Lin Y, et al. Comparison of Phenolic Compounds and Taste of Chinese Black Tea[J]. *Food Science and Technology Research*, 2014, 20(3): 639-646.
- [4] 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 Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(13): 2412-2418.
- [5] 陈应娟, 齐桂年, 陈盛相. 四川黑茶加工过程中感官品质和化学成分的变化[J]. *食品科学*, 2012, 33(23): 55-59.
- [6] Lv H P, Zhang Y J, Lin Z, et al. Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: a review [J]. *Food Research International*, 2013, 53: 608-18.
- [7] Ruan Y C, Cheng Q K. Report on Tea Research [R]. Tea Research Institute of Chinese Agricultural Academy, Hangzhou, 1983(Chapter3).
- [8] 萧伟祥, 张丽平. 红茶中的茶红素和茶褐素[J]. *中国茶叶*, 1983(6): 5-5.
- [9] 萧伟祥, 张丽平, 萧瑶珍. 红茶汤中茶褐素的研究[J]. *茶叶*, 1985(1): 28-31.
- [10] Gong J S, Tang C, Peng C X. Characterization of the chemical differences between solvent extracts from Pu-erh tea and Dian Hong black tea by CP-Py-GC/MS[J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2012, 95: 189-97.
- [11] 杨大鹏. 云南普洱茶茶褐素主要化学成分分离及结构鉴定[D]. 昆明: 云南农业大学, 2009.
- [12] 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.
- [13] Wang Q P, Gong J S, Chisti Y, et al. Fungal Isolates from a Pu-Erh Type Tea Fermentation and Their Ability to Convert Tea Polyphenols to Theabrownins. [J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(4): M809-M817.
- [14] 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.
- [15] 易恋, 杨新河, 杨决, 等. 普洱茶中多酚与茶褐素的提取工艺研究[J]. *食品工业科技*, 2010(7): 220-222.
- [16] 何英姿, 逯钊琦, 陈艳芳, 等. 六堡茶茶褐素的提取工艺及其抗氧化活性研究[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(35): 17301-17303.
- [17] Wang Q P, Gong J S, Chisti Y, et al. Bioconversion of tea polyphenols to bioactive theabrownins by *Aspergillus fumigatus*[J]. *Biotechnology Letters*, 2014, 36(12): 2515-2522.
- [18] Zou Y, Qi G N, Xu T, et al. Optimal extraction parameters of Theabrownin from Sichuan Dark Tea [J]. *African Journal of Traditional Complementary & Alternative Medicines*, 2016, 13(3).
- [19] 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): 11421-11422.
- [20] 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.
- [21] He Y Z, Wang X, Zhang X H. Study on Extracting TB from Liubao Tea with Cellulase Auxiliary Method [J]. *Advanced Materials Research*, 2013, 781-784: 1870-1874.
- [22] 贺国文, 雷晓斌, 彭晓赞, 等. 茯砖茶中茶褐素的提取纯化研究[J]. *生物技术世界*, 2014(9): 68-69.
- [23] Lu H Q, Yue P X, Wang Y W, et al. Study of Bioactive Components and Color Properties of Dark Tea Infusion Manufactured by *Eurotium cristatum* Using Submerged Fermentation [J]. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 2016, 10(8): 591-596.
- [24] 陈小强. 以茶多酚为原料制备茶褐素的方法: 中国, 200910153237.2[P]. 2009-10-29.
- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] 杨大鹏, 史文斌, 陈一江, 等. 不同微生物发酵的云南普洱茶样中茶褐素提取物的化学成分分析[J]. *林产化学与工业*, 2010, 30(1): 49-52.
- [28] Gong J S, Zhang Q, Peng C X, et al. Curie-point pyrolysis-gas chromatography-mass spectroscopic analysis of theabrownins from fermented Zijuan tea [J]. *Journal of Analytical & Applied Pyrolysis*, 2012, 97(5): 171-180.
- [29] 陈智雄, 齐桂年, 邹瑶, 等. 黑茶调节脂质代谢的物质基础及机理研究进展[J]. *茶叶科学*, 2013(3): 242-252.
- [30] 谭超, 彭春秀, 高斌, 等. 普洱茶茶褐素类主要组分特征及光谱学性质研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2012, 32(4): 1051-1056.
- [31] 李宝才, 龚加顺, 张惠芬, 等. 腐植酸与普洱茶茶色素[J]. *中国学术期刊*, 2007(1): 19-26.
- [32] 陈海敏, 严小军, 林伟. α -葡萄糖苷酶抑制剂的构效关系[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2003, 19(6): 780-784.
- [33] 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): 102-102.
- [34] Huang Q, Chen S, Chen H, et al. Studies on the bioactivity of aqueous extract of pu-er tea and its fractions: *In vitro* antioxidant activity and α -glycosidase inhibitory property, and their effect on postprandial hyperglycemia in diabetic mice [J]. *Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 2013, 53: 75-83.
- [35] Zhang H M, Wang C F, Shen S M, et al. Antioxidant phenolic compounds from Pu-er tea. [J]. *Molecules*, 2012, 17(12): 14037-14045.
- [36] Braud L, Sousa G D, Peyre L, et al. Antioxidant and protective effects of a Pu-er tea extract (*Camelliasinensis*) on

primary cultured rat cells[J]. Archives of Cardiovascular Diseases Supplements, 2015, 7(2): 141-143.

[37] Lee L K, Foo K Y. Recent advances on the beneficial use and health implications of Pu-erh tea [J]. Food Research International, 2013, 53(2): 619-628.

[38] Zhao X, Song J L, Kim J D, et al. Fermented Pu-er tea increases *in vitro* anticancer activities in HT-29 cells and has antiangiogenic effects on HUVECs. [J]. Journal of Environmental Pathology Toxicology & Oncology Official Organ of the International Society for Environmental Toxicology & Cancer, 2013, 32(4): 275-288.

[39] Zhao X, Qian Y, Zhou Y L, et al. Pu-er tea has *in vitro* anticancer activity in TCA8113 cells and preventive effects on buccal mucosa cancer in U14 cells injected mice *in vivo* [J]. Nutrition & Cancer, 2014, 66(6): 1-11.

[40] Cao Z, Gu D, Lin Q Y, et al. Effect of Pu-er tea on body fat and lipid profiles in rats with diet-induced obesity [J]. Phytotherapy Research, 2011, 25(2): 234-238.

[41] 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, 2013, 54: 197-203.

[42] Ding Y H, Zou X J, Jiang X, et al. Pu-er Tea Down-Regulates Sterol Regulatory Element-Binding Protein and Stearyl-CoA Desaturase to Reduce Fat Storage in *Caenorhabditis elegans* [J]. Plos One, 2015, 10(2): 251-256.

[43] Cai X, Fang C, Hayashi S, et al. Pu-er tea extract ameliorates high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis and insulin resistance by modulating hepatic IL-6/STAT3 signaling in mice [J]. Journal of Gastroenterology, 2016, 51(8): 819-829.

[44] 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.

[45] 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(10): 226-233.

[46] 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.

[47] 王秋萍, 龚加顺. “紫娟”普洱茶茶褐素对高脂饮食大鼠生长发育的影响[J]. 茶叶科学, 2012, 32(1): 87-94.

[48] 吴朝比, 黄建安, 刘仲华, 等. 黑茶调节高脂血症作用及机理研究进展[J]. 食品科学, 2011(19): 307-311.

[49] 姜波, 田维熙, 齐桂年. 四川边茶提取物对脂肪酰合酶的抑制作用[J]. 中国科学院大学学报, 2007, 24(3): 291-299.

[50] Yang X H, Liu Z H, Qin C Q, et al. The Effect of Fraction 5 of Theabrownin from Pu-erh Tea on 3T3-L1 Preadipocyte Proliferation and Differentiation [J]. Journal of Food and Nutrition Research, 2014, 2(12): 1000-1006.

[51] Xu Y, Wang L M, He J, et al. Prevalence and Control of Diabetes in Chinese Adults [J]. Jama the Journal of the American Medical Association, 2013, 310(9): 948-959.

[52] 郑素玲, 陈超, 武炜, 等. 链脲佐菌素诱导小鼠Ⅱ型糖尿病模型的研究[J]. 动物医学进展, 2010, 31(7): 60-63.

[53] Tahrani A A, Piya M K, Kennedy A, et al. Glycaemic control in type 2 diabetes: targets and new therapies [J]. Pharmacol Ther, 2010, 125(2): 328-361.

[54] 徐湘婷, 王鹏, 罗绍忠, 等. 普洱熟茶茶褐素对2型糖尿病小鼠降糖作用研究[J]. 中国民族民间医药, 2015(20): 9-10.

[55] Monika C, Anna K K, Marek N. A comparison of antioxidant activities of oleuropein and its dialdehydic derivative from olive oil, oleacein [J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 940-947.

[56] 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: 1095-1105.

[57] 倪德江, 樊蓉, 陈玉琼, 等. 普洱茶主要氧化产物提取条件的优化及其抗氧化活性分析[J]. 中国茶叶, 2010, 32(2): 22-24.

[58] 董文明, 谭超, 龚加顺. 影响普洱茶茶褐素清除 DPPH 自由基效果的因素[J]. 农业科学与技术: 英文版, 2013, 14(2): 317-323.

[59] Yamazaki K, Yoshino K, Yagi C, et al. Inhibitory Effects of Pu-erh Tea Leaves on Mouse Type IV Allergy [J]. Food & Nutrition Sciences, 2012, 2012: 394-400.

[60] 岳随娟, 刘建, 龚加顺. 普洱茶茶褐素对大鼠肠道菌群的影响[J]. 茶叶科学, 2016(3): 261-267.

[61] Zhao H, Zhang M, Zhao L, et al. Changes of Constituents and Activity to Apoptosis and Cell Cycle During Fermentation of Tea [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(3): 1862-1875.

(上接第 394 页)

immunoassay for E. coli O157: H7 detection with signal dual-amplification using glucose oxidase and laccase. [J]. Analytical Chemistry, 2014, 86(2): 1115-1122.

[40] Tao X, Zhou S, Yuan X, et al. Determination of chloramphenicol in milk by ten chemiluminescent immunoassays: influence of assay format applied [J]. Analytical Methods, 2016, 8(22): 4445-4451.

[41] Liu Z J, Wei X, Xu H, et al. Sensitive detection of thiacloprid in environmental and food samples by enhanced chemiluminescent enzyme immunoassay [J]. Rsc Advances, 2016, 6(35): 29460-29465.

[42] 张燕, 杨金易, 曾道平, 等. 化学发光免疫分析技术及其在食品安全检测中的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2013(5): 1421-1427.

[43] 于秀霞. 化学发光功能化纳米材料在新型生物传感器中的应用[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2014.

[44] 王权. 海产品中中大田软海绵酸和水产品中药物残留快速检测新技术的研究及应用[D]. 南京: 南京农业大学, 2011.

[45] 刘威, 孟繁霞, 黄海燕, 等. 腹泻性贝类毒素细胞 F-肌动蛋白荧光检测法条件优化[J]. 卫生研究, 2015, 44(5): 857-859.

[46] 代润泽, 邓建成. 化学发光免疫分析方法与应用进展[J]. 化工设计通讯, 2016, 42(1): 106-106.