

普洱熟茶不同溶剂萃取层中儿茶素及黄酮醇类化合物差异的研究

刘娜¹, 徐亚文¹, 韩利艳¹, 黄燕兰¹, 王雪蕾¹, 罗美玲², 李家华^{1*}

(1. 云南农业大学茶学院, 昆明 650201; 2. 贵州省黔西南布依族苗族自治州, 兴义市农业农村局, 兴义 562400)

摘要: **目的** 探索普洱熟茶在不同溶剂(乙酸乙酯和正丁醇)萃取中儿茶素和黄酮醇类化合物的组成及含量的差异, 构建一种有效提取普洱熟茶中儿茶素及黄酮醇类物质的方法。**方法** 以普洱熟茶(2008年生产)的水提物为研究对象, 分别用乙酸乙酯和正丁醇溶剂萃取的萃取层为分析供试样, 采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)对供试茶样中5种主要儿茶素和4种黄酮醇类化合物的含量进行了测定。**结果** 儿茶素、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅素、槲皮素和山奈酚主要富集于乙酸乙酯萃取层中; 而芦丁与表没食子儿茶素分别富集于正丁醇层与萃取剩余层。**结论** 建立了一种简易、有效地分析检测普洱熟茶中儿茶素及黄酮醇类物质的提取方法, 为进一步解析普洱熟茶的化学成分提供一定的方法借鉴。

关键词: 普洱熟茶; 有机溶剂; 儿茶素; 黄酮醇

Study on catechins and flavonols materials differences in different solvent extracts of Pu-erh ripened tea

LIU Na¹, XU Ya-Wen¹, HAN Li-Yan¹, HUANG Yan-Lan¹, WANG Xue-Lei¹,
LUO Mei-Ling², LI Jia-Hua^{1*}

(1. Tea College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Xingyi Bureau of Agriculture and Rural Areas, Guizhou Province Qianxinan Buyei and Miao Autonomous Prefecture, Xingyi 562400, China)

ABSTRACT: Objective To explore the composition and content differences of catechins and flavonols in different solvents (ethyl acetate and n-butanol) of Pu-erh ripened tea, and establish an effective extraction method of catechins and flavonols in Pu-erh ripened tea. **Methods** The water extract of Pu-erh ripened tea (produced in 2008) was used as the research object, the extraction layer extracted with ethyl acetate and n-butanol solvent was used as the sample for analysis, respectively. The content of 5 kinds of catechins and 4 kinds of flavonols in test tea samples was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). **Results** Catechin, epicatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin gallate, myricetin, quercetin and kaempferol were mainly enriched in the ethyl acetate extract. Rutin and epigallocatechin were enriched in the n-butanol layer and the residual layer, respectively. **Conclusion** A simple and effective extraction method for the analysis and detection of catechins and flavonols in

基金项目: 国家自然科学基金项目(31160173)、财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系(CARS-19)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31160173), and the Ministry of Finance and Ministry of Agriculture and Rural Areas: National Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-19)

***通信作者:** 李家华, 教授, 主要研究方向为茶叶生物化学与品质化学。E-mail: 1136475074@qq.com

***Corresponding author:** LI Jia-Hua, Professor, Tea College, Yunnan Agricultural University, No.452, Fengyuan Road, Panlong District, Kunming 650201, China. E-mail: 1136475074@qq.com

Pu-erh ripened tea is established, which provides a reference for further analysis of the chemical constituents of Pu-erh ripened tea.

KEY WORDS: Pu-erh ripened tea; organic solvent; catechins; flavonols

0 引言

普洱茶是云南省特有的历史名茶,是以云南大叶种晒青茶为原料,采用特定加工工艺制成^[1]。根据加工工艺的不同又分为普洱生茶和普洱熟茶(GB/T 22111—2008《地理标志产品 普洱茶》)。普洱熟茶属于后发酵的黑茶类,具有外形色泽红润显毫、汤色红艳明亮、香气陈香浓郁、滋味浓醇甘爽的品质特点,深受消费者的喜爱。国内外研究发现,普洱熟茶具有较好的抗氧化^[2-4]、抗肿瘤^[5]、降血脂^[6]、减肥^[7-9]、抗衰老^[10]、抗高尿酸^[11]、保护心血管^[12]、治疗脂肪肝^[13]、调节糖脂代谢紊乱^[14]等保健功能。近年来,随着普洱熟茶的保健功能逐渐被揭示,引起人们对于普洱熟茶功效成分及品质的关注。

多酚类化合物是茶叶中主要的功效成分之一^[15]。儿茶素是多酚类物质的主体成分,约占多酚类物质总量的70%~80%。大量的研究表明儿茶素在医药^[16]、食品^[17-18]、化妆品行业^[19]发挥着重要作用。黄酮醇及其苷类物质约占茶叶干物质的3%~4%,对茶汤的苦涩味及光泽度、亮度具有重要作用,而且具有降低胆固醇、改善血液循环等生理功效^[20]。普洱熟茶在后发酵过程中,受微生物、热和酶的影响,多酚类化合物分子性质活泼,酚性羟基易发生氧化、水解、异构等复杂的化学变化^[21],其功效及机制研究透彻的儿茶素及黄酮醇类等低分子量的成分较难检测到,给从功能成分和构效关系角度解释普洱熟茶的诸多功效带来了一定的阻碍^[22]。前期有研究者^[23-24]利用酒石酸亚铁比色法、三氯化铝比色法等对普洱熟茶及茯砖有机溶剂萃取层中茶多酚及黄酮醇类物质总量进行了对比分析。由于普洱熟茶在微生物的参与下,多酚类物质会与多糖等物质结合形成褐色的混合物,给利用比色法原理测定其主要成分带来了一定的干扰^[25]且无法反映各组分的情况^[26]。因此,通过高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)对普洱熟茶中多酚类化合物的单体化合物的分析测定相对准确、稳定。

普洱熟茶中多酚类化合物通常是使用水或甲醇溶液进行提取,但提取物较少^[22]。由于茶叶中多酚类化合物易溶于热水、醇类、乙酸乙酯等溶剂^[27],因此需要建立一种正确、新型的不同溶剂提取儿茶素及黄酮醇类物质的方法,为普洱熟茶中单体化合物的分析测定提供参考。基于此,本研究以普洱熟茶(2008年生产)的水提物为研究对象,选择乙酸乙酯和正丁醇为萃取溶剂,利用HPLC检测获得各萃取层中化合物的峰面积,利用外标法进行定量分析。比

较不同溶剂萃取层中儿茶素及黄酮醇类物质含量的差异,旨在为合理选择普洱熟茶有效成分的提取溶剂和此类化合物的分析测定提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料和试剂

1.1.1 供试茶样

云南双江勐库茶叶有限责任公司提供的普洱熟茶(2008年生产),规格:357 g。

1.1.2 试剂和标准品

甲醇、乙腈(色谱纯,美国TEDIA公司);磷酸、乙酸乙酯、正丁醇、硫酸亚铁、酒石酸钾钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司)。

儿茶素(+catechin, +C)、表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)、杨梅素(myricetin)、槲皮素(queracetin)、山奈酚(kaempferol)、芦丁(rutin)、咖啡碱(caffeine, CA)、没食子酸(gallic acid, GA)(纯度≥98%,上海晶纯生化科技有限公司)。

1.1.3 仪器

1200型高速液相色谱仪(美国Agilent公司);TSK gel ODS-80TM色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm, 日本Tosoh公司);HB10恒温水浴锅、RV8旋转蒸发器(德国IKA公司);JA10003电子精密天平(精度0.001 g, 上海宇恒科学仪器有限公司);Smart-Q30超纯水机(上海和泰仪器有限公司);0.45 μm孔径过滤膜(天津津腾实验设备有限公司);FD5真空冻干机(美国金西盟国际集团);HC-700高速多功能粉碎机(浙江永康市天祺盛世工贸有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 常规法制备普洱熟茶提取液

参照GB/T 8313—2018《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》进行制备:精确称取供试样粉末3.0 mg,加入70%甲醇充分溶解,定容至10 mL, 0.45 μm微孔滤膜过滤后备用。

1.2.2 普洱熟茶各有机溶剂萃取层的制备

参考文献[28]并加以改动,称取15 g供试样粉末,按照茶水比1:10 (m:V)的比例加入沸水,恒温水浴锅沸水浴浸提10 min,浸提完毕后立即趁热减压抽滤,滤渣重复浸提1次,抽滤、合并水浸提液于分液漏斗中以备萃取。分别用100 mL乙酸乙酯、正丁醇进行萃取,重复3

次,合并萃取液,旋转蒸发浓缩至干,再用蒸馏水溶解后真空冷冻干燥,按浸提顺序得到乙酸乙酯层、正丁醇层、剩余萃取层。

1.2.3 儿茶素混合标准溶液的制备

准确称取 5 种儿茶素、没食子酸和咖啡碱各 10 mg 于容量瓶,分别用 70% 甲醇溶液溶解,定容至 10 mL,配制质量浓度为 1 mg/mL 的溶液,取 1 mL 质量浓度为 1 mg/mL 各儿茶素标准品溶液于容量瓶,然后用 70% 甲醇溶液定容至 10 mL,配制质量浓度为 0.1 mg/mL 的混合标准溶液,存于 -80 °C 的超低温冰箱保存,备用。

1.2.4 黄酮醇类化合物混合标准溶液的制备

分别精密称取杨梅素、槲皮素、山奈酚和芦丁标品各 3 mg 于容量瓶,加入甲醇 10 mL,配制质量浓度为 0.3 mg/mL 的溶液,作为对照品溶液。然后,准确吸取 4 种标准品溶液 1 mL 置 10 mL 的容量瓶中,加甲醇至刻度,配制质量浓度为 0.03 mg/mL 的混合标准溶液,于 -80 °C 的超低温冰箱保存,备用。

1.2.5 色谱条件

应用课题组建立的 HPLC 检测普洱熟茶中的儿茶素及黄酮醇类物质进行检测。检测儿茶素的色谱条件为:流动相 A: 0.261% 磷酸-5% 乙腈,流动相 B: 0.261% 磷酸-80% 乙腈;流速 1 mL/min,检测波长 280 nm,柱温 40 °C,进样量 5 μ L,平衡时间 6 min^[29];检测黄酮醇类化合物的色谱条件为:流动相 A: 0.2% 磷酸,流动相 B: 80% 甲醇溶液;流速 0.8 mL/min,检测波长 360 nm,柱温 40 °C,进样量 5 μ L,平衡时间 7 min^[20]。

1.2.6 数据计算

供试茶样中 4 种黄酮醇类化合物含量的计算公式如 (1)、(2)^[20]:

$$\omega_{a,b,c,d} = \frac{C_{1,2,3,4} \times V}{m} \quad (1)$$

式中 $\omega_{a,b,c,d}$ 表示供试样中芦丁(a)、杨梅素(b)、槲皮素(c)及山奈酚(d)的含量,mg/g; $C_{1,2,3,4}$ 为标准曲线上芦丁、杨梅素、槲皮素及山奈酚的质量浓度,mg/mL; V 为样品定容体积, mL; m 表示供试样品质量, g。

$$\omega = (\omega_a + \omega_b + \omega_c + \omega_d) \times 2.51 \quad (2)$$

式中 ω 表示供试样品中黄酮醇苷的总量, mg/g; 2.51 为苷元折算为黄酮苷元的系数; 儿茶素总量 = +C 含量 + EC 含量 + EGC 含量 + ECG 含量 + EGCG 含量。

1.3 数据处理

每个处理重复 3 次,利用 Microsoft Excel 2010 对所测数据进行整理。利用 IBM SPSS Statistics 26 软件,用 Duncan's 新复极差测验 SSR 法对数据进行分析,结果以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 5 种儿茶素和 4 种黄酮醇类化合物的 HPLC 分离效果

根据 1.2.5 所述的方法,5 种儿茶素和 4 种黄酮醇类标准品的 HPLC 分离结果如图 1 和图 2 所示,儿茶素化合物出峰顺序依次为 EGC、+C、EC、EGCG、ECG,保留时间分别为: 9.680、10.919、13.142、13.784 和 18.163 min。黄酮醇类化合物的出峰顺序依次为芦丁、杨梅素、槲皮素、山奈酚,保留时间分别是: 16.924、19.491、24.431 和 28.863 min。5 种主要儿茶素类和 4 种黄酮醇类化合物的分离较好,可以开展定量分析。

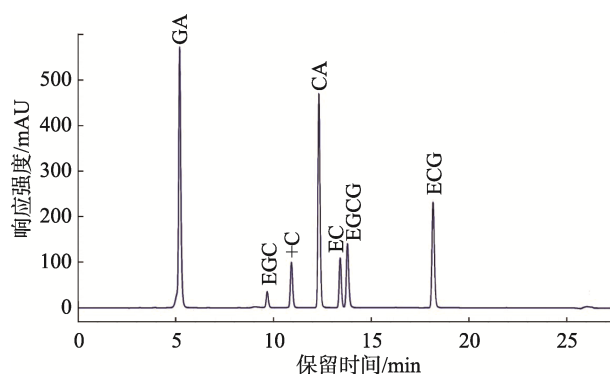


图 1 儿茶素、咖啡碱(CA)和没食子酸(GA)标准品的 HPLC 色谱图
Fig.1 HPLC chromatogram of catechin, caffeine (CA) and gallic acid (GA) standards

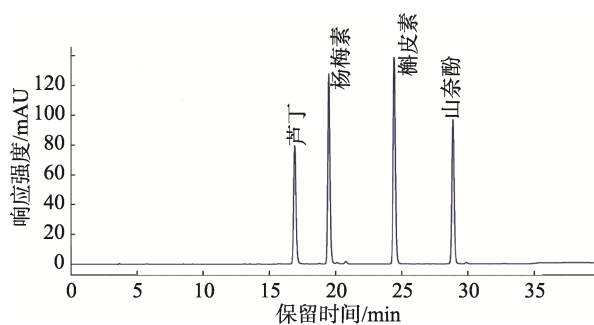


图 2 黄酮醇类化合物标准品的 HPLC 色谱图
Fig.2 HPLC chromatogram of flavonols standards

2.2 普洱熟茶中儿茶素的检测结果

儿茶素属于黄烷酮类化合物,约占多酚类总量的 70%~80%,具有抗氧化、抗肿瘤、抗辐射等生理功能^[30]。儿茶素亲水性强,易溶于水乙酸乙酯、甲醇等溶剂的性质。用 1.2.1 所述常规法制备普洱熟茶提取液,利用 HPLC 对提取液中儿茶素类物质的组成进行测定。测定结果如图 3 所示,供试样中检测到没食子酸与咖啡碱的色谱峰,未检测到儿茶素类化合物的色谱峰。陈然等^[31]研究发现,普洱熟

茶的儿茶素的含量占茶多酚的比例显著低于其他茶类,且没食子酸的含量较高,与本研究的结果基本一致。可能是普洱熟茶在其潮水渥堆阶段,受微生物、热和酶的影响,含有没食子酰基的酯型儿茶素 ECG 和 EGCG 水解产生没食子酸,没食子酸作为多羟基化合物,化学性质活泼,在前体物质水解生成的同时又与其他酚类成分发生氧化聚合反应,导致溶出量减少。

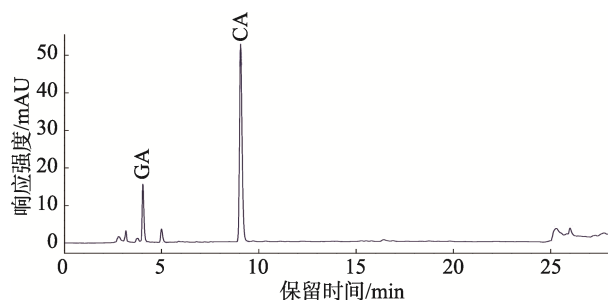


图3 普洱熟茶中儿茶素类和咖啡碱(CA)、没食子酸(GA)的 HPLC 色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of catechins and caffeine (CA) and gallic acid (GA) in pu-erh ripened tea

2.3 不同萃取层中儿茶素和黄酮醇类物质的检测结果

2.3.1 不同萃取层中儿茶素检测结果

乙酸乙酯萃取层中儿茶素色谱图如图 4A 所示,检测到 5 种儿茶素类化合物、没食子酸和咖啡碱的色谱峰外,还检测到了许多未知的色谱峰。正丁醇萃取层中只检测到 ECG 色谱峰、没食子酸和咖啡碱的色谱峰(图 4B)。萃取剩余层中检测到了未知的色谱峰较多,并且为呈山峰状的不可分离的曲线(图 4C)。

应用 HPLC 测定不同萃取层中各儿茶素化合物含量(表 1),各儿茶素含量变化在 0.13%~2.43%之间。在乙酸乙酯层中共检测到 5 种儿茶素,含量较高的包括 EC (2.43 ± 0.07)%、ECG (1.64 ± 0.18)%和 EGC (1.02 ± 0.04)%。正丁醇层检测到的 4 种儿茶素含量变幅较小,且未检测出 ECG。萃取剩余层中 EGC 显著高于正丁醇层。乙酸乙酯层中儿茶素总量最高 (6.92 ± 0.28)%,其次是萃取剩余水层 (2.30 ± 0.28)%,最后是正丁醇层 (1.71 ± 0.26)%。除了 EGC,不同萃取层中儿茶素化合物含量存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

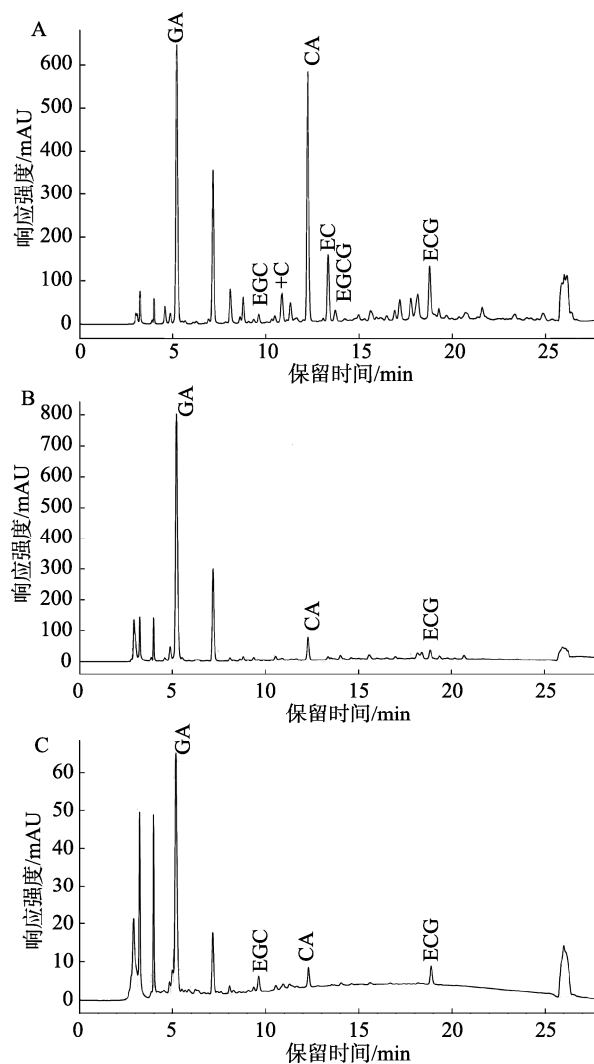
2.3.2 不同萃取层中黄酮醇类物质的检测结果

从图 5A、B 可知,乙酸乙酯和正丁醇中除芦丁、杨梅素、槲皮素和山奈酚的色谱峰外,在保留时间 9~16 min 之间也检测到了 5 个响应值较大的色谱峰。

在萃取剩余层(图 5C)出现了一大块呈山峰状且不可分离的曲线,推测这可能是普洱熟茶在发酵过程中通过氧化、聚合等形成的特有的高分子量的多酚类化合物的多聚体,同时也可能是被氧化成茶色素等酚类显色物质的主要

成分。对于此部分的化学组成、结构还有待进一步研究。

不同萃取层中黄酮醇类物质含量见表 2,在乙酸乙酯层中,含量较高的黄酮醇类化合物包括杨梅素 (28.80 ± 0.59) mg/g、槲皮素 (8.45 ± 0.13) mg/g、山奈酚 (8.15 ± 0.09) mg/g。在正丁醇萃取层中,芦丁含量达 (4.05 ± 0.17) mg/g,是乙酸乙酯萃取层中的 3.24 倍。可能是芦丁在正丁醇中的溶解性优于乙酸乙酯中的溶解性,在以后普洱熟茶黄酮醇类物质的相关研究中,可以合理地进行多种溶剂的配合使用。乙酸乙酯层、正丁醇层及萃取剩余层中,黄酮醇类物质的含量变化趋势一致。乙酸乙酯层中黄酮苷总量最高 (117.09 ± 1.77) mg/g,其次是正丁醇层 (71.62 ± 2.46) mg/g,最后是萃取剩余层 (7.84 ± 1.00) mg/g。不同萃取层中黄酮醇类物质含量存在显著差异 ($P < 0.05$)。



注: A. 乙酸乙酯层的色谱图; B. 正丁醇层的色谱图; C. 萃取剩余层的色谱图, 图 5 同。

图 4 不同萃取层中儿茶素的 HPLC 检测结果

Fig.4 HPLC determination results of catechins in different extraction layers

3 结论与讨论

多酚类物质是茶叶中一类主要的化学物质, 占茶叶鲜重的 18%~36%, 是形成茶叶品质的重要活性物质^[32]。普洱熟茶中多酚类化合物通常是利用水或甲醇溶液进行提取,

但提取效率不高。因此, 本研究选取不同的溶剂(乙酸乙酯、正丁醇)对普洱熟茶进行萃取, 丰富度明显高于常规法的提取。最后利用 HPLC 测定不同溶剂萃取层中儿茶素及黄酮醇类物质差异, 从而建立一种简易、有效地检测分析普洱熟茶中儿茶素及黄酮醇类物质的提取方法。

表 1 不同萃取层中儿茶素化合物含量(% , n=3)
Table 1 Content of catechins in different extraction layers (% , n=3)

不同萃取层	C	EC	EGC	ECG	EGCG	儿茶素总量
乙酸乙酯	1.00±0.03 ^a	2.43±0.07 ^a	1.02±0.04 ^a	1.64±0.18 ^a	0.83±0.05 ^b	6.92±0.28 ^a
正丁醇	0.38±0.06 ^b	0.46±0.08 ^b	0.47±0.07 ^b	-	0.40±0.06 ^c	1.71±0.26 ^c
萃取剩余层	0.27±0.03 ^c	0.29±0.15 ^c	1.47±0.13 ^a	0.13±0.06 ^b	0.14±0.03 ^a	2.30±0.28 ^b

注: 同一列不同小写字母代表差异显著($P<0.05$), 下表 2 同; -表示未检测到。

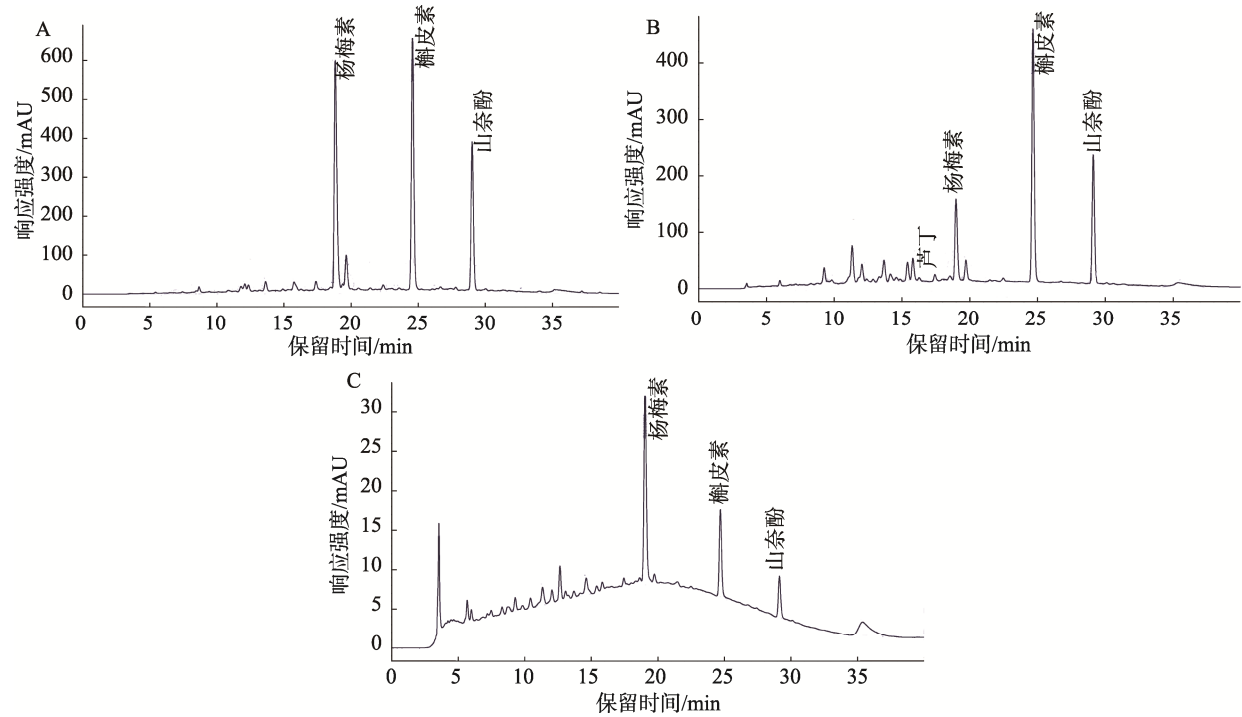


图 5 不同萃取层中黄酮醇类物质的 HPLC 检测结果
Fig.5 HPLC determination results of flavonols in different extraction layers

表 2 不同萃取层中黄酮醇类化合物含量(mg/g , n=3)
Table 2 Content of flavonols in different extraction layers (mg/g , n=3)

不同萃取层	芦丁	杨梅素	槲皮素	山奈酚	黄酮苷总量
乙酸乙酯	1.25±0.00 ^b	28.80±0.59 ^a	8.45±0.13 ^a	8.15±0.09 ^a	117.09±1.77 ^a
正丁醇	4.05±0.17 ^a	9.03±0.29 ^b	8.02±0.23 ^b	7.43±0.33 ^b	71.62±2.46 ^b
萃取剩余层	0.50±1.63 ^c	1.23±0.18 ^c	0.82±0.64 ^c	0.57±0.29 ^c	7.84±1.00 ^c

5 种儿茶素和 3 种黄酮醇类化合物主要富集在乙酸乙酯层, 含量较高的包括 EC (2.43 ± 0.07)%、ECG (1.64 ± 0.18)% 和 EGC (1.02 ± 0.04)%, 杨梅素、槲皮素、山奈酚含量分别为 (28.80 ± 0.59)、(8.45 ± 0.13)和(8.15 ± 0.09) mg/g; 芦丁在正丁醇中最丰富, 含量为(4.05 ± 0.17) mg/g, 是乙酸乙酯萃取层中的 3.24 倍。

刘通讯等^[23]研究发现, 普洱熟茶在乙酸乙酯层中有较好的茶多酚的萃取效果, 黄酮醇类则主要富集在正丁醇层; 姚亚丽等^[24]对茯砖茶在不同极性溶剂萃取物中主要成分含量进行测定, 乙酸乙酯萃取部分主要是多酚类物质。相较于两位研究者测定萃取层中总儿茶素和黄酮醇类物质的方法, 本研究分析测定单一化合物在不同萃取层中的含量, 发现儿茶素、表儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯、杨梅素、槲皮素和山奈酚主要富集于乙酸乙酯萃取层中; 而芦丁与表没食子儿茶素分别富集于正丁醇层与萃取剩余层。

王丽等^[33]利用甲醇-水溶液提取, 测定普洱茶中黄酮醇类化合物含量, 其中芦丁含量最高(756.63 ± 8.27) mg/kg, 其次是槲皮素(356.17 ± 11.77) mg/kg; 汪汇等^[34]利用盐酸-甲醇水解, 再结合乙酸乙酯萃取的方法进行测定, 杨梅素含量为(173.6 ± 0.0) μ g/g。均显著低于本研究测定的乙酸乙酯层中黄酮醇类的含量。

最后, 参考文献[35]中的方法, 测定普洱熟茶(2008 年生产)多酚类化合物总量结果为(16.19 ± 0.11)%。本研究利用 HPLC 测定萃取层中儿茶素及黄酮醇类化合物的总量为 18.76%, 显著高于常规方法所测多酚类化合物的总量。因此, 本研究所使用的提取方法对普洱熟茶的儿茶素及黄酮醇类化合物有较好的提取效果。

一直以来, 化学成分分析和分离是普洱熟茶研究的热点, 这关系着茶叶生产质量及保健功效机制的阐明^[36]。本研究阐明普洱熟茶在乙酸乙酯、正丁醇和萃取剩余层中儿茶素及黄酮醇类化合物在含量存在的差异。综上, 建立了一种简易、有效地检测分析普洱熟茶中儿茶素及黄酮醇类物质的提取方法, 为进一步解析普洱熟茶中化学成分提供了一定的方法借鉴。

参考文献

- [1] ZHOU B, MA B, MA C, *et al.* Classification of Pu-erh ripened teas and their differences in chemical constituents and antioxidant capacity [J]. LWT Food Sci Technol, 2021, 153: 112370.
- [2] RODA G, MARINELLO C, GRASSI A, *et al.* Ripe and raw Pu-erh tea: LC-MS profiling, antioxidant capacity and enzyme inhibition activities of aqueous and hydro-alcoholic extracts [J]. Molecules, 2019, 24(3): 473.
- [3] 王绍梅. 基于外物提取的普洱茶抗氧化活性成分分析[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2019, 50(2): 319–322.
- WANG SM. The analysis of antioxidant active ingredients extracted from

- Pu-erh tea by foreign objects [J]. J Shandong Agric Univ (Nat Sci Ed), 2019, 50(2): 319–322.
- [4] 王昱筱, 周才琼. 红茶、绿茶和普洱熟茶体外抗氧化作用比较研究[J]. 食品工业, 2016, 37(4): 64–68.
 - WANG YX, ZHOU CQ. Comparative study on antioxidant activity of black tea, green tea and Pu-erh ripe tea *in vitro* [J]. Food Ind, 2016, 37(4): 64–68.
 - [5] 宋爽. 普洱熟茶水提物通过调控 HSPA1A 的表达诱导免疫细胞抗肿瘤的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2021.
 - SONG S. Study on the induction of anti-tumor in immune cells by aqueous extract of Pu-erh ripe tea through modulating the expression of HSPA1A [D]. Changchun: Jilin University, 2021.
 - [6] ZENG L, YAN J, LUO L, *et al.* Effects of Pu-erh tea aqueous extract (PTAE) on blood lipid metabolism enzymes [J]. Food Funct, 2015, 6(6): 2008–2016.
 - [7] XIA Y, TAN D, AKBARY R, *et al.* Aqueous raw and ripe Pu-erh tea extracts alleviate obesity and alter cecal microbiota composition and function in diet-induced obese rats [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2019, 103(4): 1823–1835.
 - [8] 熊昌云, 杨彬, 彭远菊, 等. 普洱茶抑脂降脂作用比较研究[J]. 西南农业学报, 2018, 31(5): 1058–1062.
 - XIONG CY, YANG B, PEN YJ, *et al.* Anti-obesity and lipid-decreasing effects of Pu-erh tea [J]. Southwest Chin J Agric Sci, 2018, 31(5): 1058–1062.
 - [9] 温亮华, 曹藩荣. 普洱茶调控肥胖作用研究进展[J]. 广东茶业, 2021, (5): 2–7.
 - WEN GH, CAO PR. Research progress of Pu-erh tea in regulating obesity [J]. Guangdong Tea Ind, 2021, (5): 2–7.
 - [10] 雷舒雯, 陈德洪, 侯艳, 等. 普洱熟茶对 D-半乳糖衰老模型小鼠肠道菌群的影响 [J/OL]. 食品科学, 2021. <https://kns.cnki.net/KXReader/Detail?invoice=k6WqdOu8t6QpFviRxUBW2pOzrhFAXNgp7OmDJ0rbCN8sqM%2BI%2BeE25uqg7C3KV4Al5yNhdgzEzKdZsfzY534bOaEwIw5UFj7QqIKJglk8qrto04VrQF%2BoLyrOYvbZmlPV%2F%2BJTMFVh6wvhdCxsisd97UV5oVKgGzI5Q314Z%2FMbGs%3D&DBCODE=CAPJ&FileName=SPKX2021031900Y&TABLEName=capjlast&nonce=7CBBF22FB6884B1888FC80B3B0633DD1&uid=&TIMESTAMP=1646018329109>
 - LEI SW, CHEN DH, HOU Y, *et al.* Effect of Pu-erh ripe tea on intestinal microorganisms in D-galactose-induced aging mouse model [J/OL]. Food Sci, 2021. <https://kns.cnki.net/KXReader/Detail?invoice=k6WqdOu8t6QpFviRxUBW2pOzrhFAXNgp7OmDJ0rbCN8sqM%2BI%2BeE25uqg7C3KV4Al5yNhdgzEzKdZsfzY534bOaEwIw5UFj7QqIKJglk8qrto04VrQF%2BoLyrOYvbZmlPV%2F%2BJTMFVh6wvhdCxsisd97UV5oVKgGzI5Q314Z%2FMbGs%3D&DBCODE=CAPJ&FileName=SPKX2021031900Y&TABLEName=capjlast&nonce=7CBBF22FB6884B1888FC80B3B0633DD1&uid=&TIMESTAMP=1646018329109>
 - [11] ZHAO R, CHEN D, WU H. Effects of Pu-erh ripened tea on hyperuricemic mice studied by serum metabolomics [J]. J Chromatogr B, 2017, 1068-1069: 149-156.
 - [12] 徐湘婷, 王鹏, 罗绍忠, 等. 普洱茶调节 SD 大鼠血脂及保护血管内皮的研究[J]. 茶叶科学, 2010, 30(6): 470–474.

- XU XT, WANG P, LUO SZ, *et al.* Effects of Pu-erh tea on hyperlipidemia, antioxidation and vascular endothelium protection in SD rats [J]. *Tea Sci*, 2010, 30(6): 470–474.
- [13] 路晓杰, 刘久茜, 曹永国, 等. 普洱熟茶提取物对实验性非酒精性脂肪肝鼠脂代谢指标及肠道菌群的调节作用[J]. *中国兽医学报*, 2018, 38(4): 751–758.
- LU XJ, JIU JQ, CAO YG, *et al.* Effects of Pu-erh tea extracts on lipid metabolism and intestinal microflora in experimental non-alcoholic fatty liver rats [J]. *Chin J Vet Sci*, 2018, 38(4): 751–758.
- [14] 李惠, 陈曦, 刘畅, 等. 普洱茶提取物及其复合配方改善糖尿病大鼠的糖脂代谢紊乱[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(7): 14–20.
- LI H, CHEN X, LIU C, *et al.* Improvement of the disorder of glucose and lipid metabolism by Pu-erh tea extract and the compound formula in diabetic rats [J]. *Mod Food Sci*, 2018, 34(7): 14–20.
- [15] 刘仲华, 黄建安, 龚雨顺, 等. 茶叶功能成分的健康作用研究新进展[J]. *中国茶叶*, 2021, 43(9): 1–11.
- LIU ZH, HUANG JAN, GONG YS, *et al.* New progress in health benefits of functional components of tea [J]. *Chin Tea Ind*, 2021, 43(9): 1–11.
- [16] 乔小燕, 陈栋, 刘仲华. 茶叶儿茶素的癌症化学预防增效机制研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2021, 40(2): 1–9.
- QIAO XY, CHEN D, LIU ZH. Advances in synergistic mechanism of tea catechins on cancer chemoprevention [J]. *J Food Sci Biotechnol*, 2021, 40(2): 1–9.
- [17] 刘光宪, 王丽, 李雪, 等. 3 种天然抗氧化剂对腊肉理化性质的影响[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(15): 6177–6184.
- LIU GX, WANG L, LI X, *et al.* Effects of 3 kinds of natural antioxidants on physicochemical properties of Chinese cured meat [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(15): 6177–6184.
- [18] 石长波, 姚恒喆, 袁惠萍, 等. 儿茶素/大豆分离蛋白复合物对猪肉肠品质的影响[J]. *中国调味品*, 2021, 46(5): 60–65.
- WANG CB, YAO HJ, YUAN HP, *et al.* Effect of catechin soybean protein isolate compound on the quantity of pork sausage [J]. *Chin Cond*, 2021, 46(5): 60–65.
- [19] 宋欣. 儿茶素对酪氨酸酶的抑制作用及机制研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
- SONG X. Study on the inhibitory effect and mechanism of catechin on tyrosinase [D]. Nanchang: Nanchang University, 2021.
- [20] 张纪伟, 沈雪梅, 赵一帆, 等. 不同贮存年份普洱茶中 3 种主要黄酮醇类化合物含量的变化[J]. *西南农业学报*, 2021, 34(9): 1853–1857.
- ZHANG JW, SHEN XM, ZHAO YF, *et al.* Changes in content of three of main flavonoids in raw Pu-erh tea with different storage years [J]. *Southwest China J Agric Sci*, 2021, 34(9): 1853–1857.
- [21] 孟宪钰. 普洱熟茶加成儿茶素及茶褐素化学研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2019.
- MENG XY. Chemical research on addition catechins and theabrownins of Pu-erh tea [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2019.
- [22] LIU J, HE D, XING Y, *et al.* Effects of bioactive components of Pu-erh tea on gut microbiomes and health: A review [J]. *Food Chem*, 2021, 353: 129439.
- [23] 刘通讯, 谭梦珠. 不同储存时间对普洱茶有机溶剂萃取物清除自由基活性的影响[J]. *现代食品科技*, 2013, 29(10): 2372–2377.
- LIU TX, TAN MZ. Impact of different storage time on antioxidant activity of organic solvent extracts of Pu-erh teas [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2013, 29(10): 2372–2377.
- [24] 姚亚丽, 薛志慧, 曾婷玉, 等. 茯砖茶汤不同极性溶剂萃取物对常见致泻菌的抑制效果[J]. *湖南农业科学*, 2012, (11): 90–92, 115.
- YAO YL, XUE ZH, ZENG TY, *et al.* Inhibitory effects of Fuzhuan tea extractions on common diarrheal bacteria [J]. *J Hunan Agric Sci*, 2012, (11): 90–92, 115.
- [25] 李连喜. 不同制法普洱茶茶褐素及其在贮存中变化的研究[D]. 重庆: 西南大学, 2005.
- LI LX. Tea fuscins of Pu-erh tea prepared by different methods and its application [D]. Chongqing: Southwest University, 2005.
- [26] 王杰. 普洱茶提取茶多酚及其脱咖啡碱的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- WANG J. Study on extraction of polyphenols and decaffeinated from Pu-erh tea [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012.
- [27] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.
- WAN XC. Biochemistry of tea [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2003.
- [28] 揭国良. 普洱茶抗氧化作用及减肥作用的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- JIE GL. The Study on antioxidant and anti-obesity of Pu-erh tea [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008.
- [29] 张纪伟, 沈雪梅, 张钊, 等. 不同产地和贮存年份普洱茶香气和呈味物质变化的比较研究[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(9): 11–18.
- ZHANG JW, SHEN XM, ZHANG Q, *et al.* Comparative study on changes of aroma and flavor components of raw Pu-erh tea produced in different producing areas and storage years [J]. *Food Res Dev*, 2021, 42(9): 11–18.
- [30] 赵磊, 高民, 马燕芬. 茶多酚的抗氧化作用及其机制[J]. *动物营养学报*, 2017, 29(6): 1861–1865.
- ZHAO L, GAO M, MA YF. Antioxidant activity and mechanism of tea polyphenols [J]. *Chin J Anim Nutr*, 2017, 29(6): 1861–1865.
- [31] 陈然, 孟庆佳, 刘海新, 等. 不同种类茶叶多酚及生物碱含量特点分析[J]. *食品科技*, 2018, 43(5): 72–76.
- CHEN R, MENG QJ, LIU HX, *et al.* Analysis on the content characteristics of polyphenols and alkaloids in different kinds of tea [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 43(5): 72–76.
- [32] 朱娜, 冯萃敏, 李莹, 等. 茶多酚的抑菌特性及其作为饮用水消毒剂的研究进展[J]. *应用化工*, 2021. DOI: 10.16581/j.cnki.issn1671-3206.20211129.009
- ZHU N, FENG CM, LI Y, *et al.* Antibacterial properties of tea polyphenols and its research progress as drinking water disinfectant [J]. *Appl Chem Ind*, 2021. DOI: 10.16581/j.cnki.issn1671-3206.20211129.009
- [33] 王丽, 邵金良, 魏茂琼, 等. 普洱茶中黄酮醇类化合物含量的测定方法[J]. *江苏农业学报*, 2016, 32(6): 1410–1415.
- WANG L, SHAO JL, WEI MQ, *et al.* Method for the determination of flavonoids in Pu-erh tea by HPLC [J]. *J Jiangsu Agric Sci*, 2016, 32(6): 1410–1415.
- [34] 汪汇, 温明椿, 姜宗德, 等. 不同茶类中黄酮醇苷酸水解条件的优化及酸水解前后 3 种黄酮醇含量的测定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021,

12(21): 8390–8396.

WANG H, WEN MC, JIANG ZD, *et al.* Optimization of the acid hydrolysis conditions of flavonol glycosides in different teas and determination for the 3 kinds of flavonol before and after acid hydrolysis [J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(21): 8390–8396.

- [35] 张正竹. 茶叶生物化学实验教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2009.

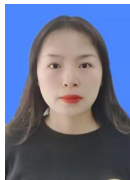
ZHANG ZZ. Experimental course of tea biochemistry [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2009.

- [36] 黄业伟, 朱强强, 向泽敏, 等. 普洱熟茶主要成分检测和分离的研究进展与展望[J]. *中国茶叶加工*, 2019, (1): 59–63.

HUANG YW, ZHU QQ, XINAG ZM, *et al.* Research progress and prospect of the determination and separation of main components in fermented Pu-erh tea [J]. *China Tea Proc*, 2019, (1): 59–63.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



刘 娜, 硕士研究生, 主要研究方向为茶叶生物化学。

E-mail: 1058616411@qq.com



李家华, 教授, 主要研究方向为茶叶生物化学与品质化学。

E-mail: 1136475074@qq.com