

杜金杰, 吴新惠, 代雨晴, 等. 渥堆过程六堡茶品质成分分析及茶褐素抗氧化功能研究 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 50–55. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070198

DU Jinjie, WU Xinhui, DAI Yuqing, et al. Quality Component Analysis and Antioxidant Function of Theabrownins from Liupao Tea during Fermentation Process[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 50–55. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070198

· 研究与探讨 ·

渥堆过程六堡茶品质成分分析及茶褐素 抗氧化功能研究

杜金杰, 吴新惠, 代雨晴, 刘晓纯, 廖楷滨, 覃玉娜, 钟丽华, 张灵枝*
(华南农业大学园艺学院, 广东广州 510642)

摘要: 试验以广西梧州市苍梧县群体种毛茶为原料, 利用现代化冷水渥堆工艺制作的、不同发酵阶段的茶样为研究对象, 对其外形、汤色、香气、滋味、叶底等感官品质与茶多酚、茶色素、游离氨基酸、可溶性糖、咖啡碱、黄酮类物质等化学成分变化规律及茶褐素理化成分和抗氧化活性进行比较研究。结果表明: 渥堆过程中, 水浸出物的百分比、茶多酚、茶红素、游离氨基酸、总黄酮等含量, 均显著下降 ($P<0.05$), 茶褐素含量显著增加 ($P<0.05$)。茶汤滋味由浓强、刺激逐渐转变为醇和、顺滑。随着渥堆时间增加, 茶褐素提取物中的总糖、总蛋白、总酚含量均呈现增加的趋势。抗氧化试验中: V_C 组、20、40、60 d 组的自由基半数抑制浓度 (IC_{50}) 值分别为: 10.09、69.33、49.95、51.85 $\mu\text{g/mL}$ 。在各茶褐素提取物浓度为 IC_{50} 时, 其清除 DPPH 自由基的能力为: V_C 组 $>40\text{ d}>60\text{ d}>20\text{ d}$, 研究结果可为六堡茶生产加工提供一定的理论依据。

关键词: 六堡茶, 感官品质, 化学成分, 茶褐素, 抗氧化活性

中图分类号: TS272.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)06-0050-06

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070198

本文网刊:



Quality Component Analysis and Antioxidant Function of Theabrownins from Liupao Tea during Fermentation Process

DU Jinjie, WU Xinhui, DAI Yuqing, LIU Xiaochun, LIAO Kaibing, QIN Yuna,
ZHONG Lihua, ZHANG Lingzhi*

(College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This study investigated the changes of the sensory qualities of appearance, color, aroma, taste, leaf bottom and the chemical components of tea polyphenols, free amino acids, soluble sugar, caffeine, flavonoids, theabrownin (TB), theaflavin (TF) and thearubigin (TR) using the Liupao tea during processing and was produced by group species Zhongcha Tea Factory in Cangwu County, Wuzhou City, Guangxi, China. In addition, the chemical composition, and the antioxidant of the theabrownin (TB) that extracted from the Liupao tea were investigated. The results showed that the contents of water extract, tea polyphenols, thearubigin (TR), free amino acids and flavonoids were significantly decreased during the fermentation process ($P<0.05$), while the content of TB was significantly increased ($P<0.05$). The taste of tea had changed from strong and irritant to mellow and smooth. With the increasing of fermentation days, the contents of total sugar, total protein and total phenol in theabrownins all showed an increasing trend. *In vitro* antioxidant assays showed that the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of each group were 10.09 $\mu\text{g/mL}$ (V_C), 69.33 $\mu\text{g/mL}$ (20 d), 49.95 $\mu\text{g/mL}$ (40 d) and 51.85 $\mu\text{g/mL}$ (60 d). The scavenging activity of DPPH free radical was as follows: $V_C>40\text{ d}>60\text{ d}>20\text{ d}$. The results of this study would provide a theoretical basis for the production and processing of Liupao tea.

Key words: Liupao tea; sensory quality; chemical component; theabrownins; antioxidant activity

收稿日期: 2021-07-19

基金项目: 梧州市农业科学研究所 (h2020476)。

作者简介: 杜金杰 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 茶叶生物化学与茶叶保健功效, E-mail: dujinjie_scau@163.com。

* 通信作者: 张灵枝 (1972-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 茶叶生物化学与茶叶深加工综合利用, E-mail: lingzhi@scau.edu.cn。

六堡茶作为广西历史名茶,国家地理标志农产品,素有“红、浓、陈、醇”之称^[1]。其品质形成与渥堆过程微生物作用密切相关^[2]。目前,与普洱茶、茯砖茶等其他黑茶相比,六堡茶的研究还相对薄弱。前人对于六堡茶渥堆过程的化学成分分析的研究已经有报道^[3],但针对渥堆过程六堡茶感官品质与化学成分相关联的研究分析报道仍较少。

近年来,随着六堡茶产业的飞速发展,六堡茶对人体健康功效的研究报道不断,加深了人们对六堡茶保健功效的进一步认知。如降脂减肥^[4]、祛湿^[5]、改善肠道菌群^[6]、提高免疫力^[7]等。茶褐素是黑茶中含量最高的一种色素类物质,其具有降血糖、降血脂^[8-9]、促进胆固醇降解^[10]、抑菌^[11]、改善肠道菌群^[12]、抗氧化^[13]、抗癌^[14]等一系列特殊功效。采用黄意欢的系统分析法测定数据时,六堡茶茶褐素含量为 19.31%~38.61%^[15-16],普洱茶为 7.32%~12.76%^[17],雅安藏茶为 3.20%~14.86%^[18]。与其他黑茶相比,六堡茶茶褐素相对含量最高。目前国内外对茶褐素的研究主要聚集在三个方面:一是发酵过程茶褐素的形成机理研究;二是茶褐素的提取分离与纯化工艺研究;三是茶褐素的生理活性功能研究^[19]。成品六堡茶茶褐素提取工艺和抗氧化活性已有研究报道^[13],但针对不同渥堆时间六堡茶茶褐素的化学组分分析和清除 DPPH 自由基能力的研究仍未有报道。

本试验以广西梧州市苍梧县群体种毛茶为原料,利用现代化冷水渥堆工艺制作的、不同发酵阶段的茶样为研究对象,进行感官品质和化学成分分析。对不同发酵阶段六堡茶茶褐素提取物进行理化成分分析和抗氧化活性比较,旨在探究渥堆过程六堡茶品质特征与化学成分变化规律,以及茶褐素的形成规律和功能活性变化规律,为改进六堡茶加工工艺提供一定参考价值。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

茶样 为广西梧州中茶茶厂 2020 年冷水渥堆现代化生产工艺生产,选取了四个发酵阶段进行取样,分别为:第一阶段(0 d 毛茶)、第二阶段(20 d 茶样)、第三阶段(40 d 茶样)、第四阶段(60 d 茶样);蒽酮、苯骈戊三酮 天津市科密欧化学试剂有限公司;色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μ m) 美国旭目公司;氯化亚锡 天津化学试剂有限公司;无水乙醇、正丁醇、乙酸乙酯 天津市富宇精细化工有限公司;浓硫酸、无水葡萄糖、盐酸、结晶氯化铝、十二水合磷酸氢二钠 均为国产分析纯,广州化学试剂厂;L-谷氨酸、咖啡碱、牛血清蛋白、没食子酸(>99%) 上海绿源生物科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(>97%) 日本 TCI 化成工业发展有限公司;福林酚食品纯;甲醇 色谱纯。

WFJ7200 型可见分光光度计 尤尼柯上海仪器有限公司;FC-14C 型差速离心机 广州方统生物科

技有限公司;ALANCEE295 高效液相色谱仪 美国 WATERS;WD850B 型微波炉 格兰仕中央空调有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 取样 每个阶段取样均采用五点取样法,从茶堆的表面和中间分别取等量茶样,充分混匀。固样方式参考曾贞等^[20]微波固样方式并稍作修改。微波炉额定输出功率 850 W,额定微波频率 2450 MHz。先 100% 火力固样 3 min,摊晾降温至室温再 20% 火力微波固样 8 min。取出放置烘箱 100 $^{\circ}$ C 烘干 2 h 至全干,然后用植物粉碎机粉碎成茶粉,过 40 目筛后用于检测理化指标和提取茶褐素。

1.2.2 感官审评 按照 GB/T 23776-2018《茶叶感官审评方法》中的黑茶(散茶)的审评方法,由 2 男 3 女,具有中(4 人)、高级(1 人)评茶员职业资格证书的审评老师进行审评,用专业的茶叶审评术语得出审评结果。

1.2.3 茶叶理化成分测定 水浸出物测定参照 GB/T 8305-2013;游离氨基酸含量测定参照 GB/T 8314-2013;茶多酚含量测定参照 GB/T 8313-2018;黄酮类化合物含量测定采用三氯化铝比色法;可溶性糖含量测定采用蒽酮-硫酸比色法;茶色素含量测定采用系统分析法^[21];咖啡碱含量测定参照 GB/T 8312-2013,色谱柱:250 mm×4.6 mm, 5 μ m;流动相 A:30% 甲醇水溶液;流动相 B:超纯水;柱温:40 $^{\circ}$ C;流速:1 mL/min;进样量:10 μ L。

1.2.4 茶褐素提取 茶褐素提取参照周婷等^[22]的实验方法。按照茶水比 1:37,称量 20 g 干茶粉,加入 740 mL 蒸馏水,室温,100 KHz,超声 30 min 后 96 $^{\circ}$ C 水浴浸提 86 min,趁热抽滤后将滤液减压浓缩至 1/5~1/10。依次用等体积氯仿、乙酸乙酯、正丁醇各萃取 2 次,最后收集水层,按照 1:4 比例加入无水乙醇,低温静置 12 h 后,9000 r/min 离心 10 min 收集沉淀,再利用真空冷冻干燥机干燥成粉末即为茶褐素,4 $^{\circ}$ C 下保存。

1.2.5 茶褐素理化成分测定 茶褐素理化成分测定参考田燕华实验方法^[23];茶褐素总糖含量测定采用蒽酮-硫酸法;总蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法;总酚含量测定采用福林酚法;茶褐素溶液 pH 测定采用 pH 计直接测定。

1.2.6 茶褐素清除 DPPH 自由基能力 实验方法参考田燕华^[23]实验方法。阳性对照组:配制浓度为 0.1 mg/mL 的 V_C 母液。将母液稀释成浓度分别为 5、7.5、10、12.5、15、20 μ g/mL 的稀释液。试管中加入不同浓度 V_C 稀释液和 1 mmol/L DPPH 溶液各 2 mL,空白对照组加入等量超纯水,摇匀,避光反应 30 min,517 nm 波长下测量吸光值。茶褐素组:配制浓度为 0.2 mg/mL 的茶褐素母液,将母液稀释成浓度分别为 10、20、30、40、50、60 μ g/mL 的稀释液。试

管中加入不同浓度茶褐素稀释液和 1 mmol/L DPPH 溶液各 2 mL, 空白对照组加入等量超纯水, 摇匀, 避光反应 30 min, 517 nm 波长下测量吸光值。

DPPH 自由基清除率(%)=[(对照组吸光值-样品组吸光值)/对照组吸光值]×100

以样品浓度为横坐标, 清除率为纵坐标, 绘制清除曲线。以清除曲线计算清除率为 50% 时的样品浓度为评价指标(即自由基半数抑制浓度 IC_{50})。

1.3 数据处理

测定结果取 3 次重复试验的平均值。采用 Excel 2016 进行数据处理, 采用 SPSS 24 进行方差分析和显著性分析, 采用 GraphPadPrism8 进行作图。采用 Photoshop 进行图片拼接。

2 结果与分析

2.1 渥堆过程六堡茶感官品质特征

实验对渥堆过程六堡茶的外形、香气、滋味、汤色、叶底进行审评。其干茶外形, 汤色底的外观图如图 1 所示, 品质评价结果如表 1 所示。在外观方面: 随着发酵时间的延长, 干茶的色泽、茶汤汤色、叶底的色泽都由浅至深发生显著的变化。发酵 60 d 的茶汤汤色, 已经初步具备了六堡茶“红、浓”的要点。在品质评价方面: 0 d 的毛茶, 其香气高扬, 持久, 具有日晒气, 滋味醇厚, 有刺激性, 回甘。而发酵了 20 d 的六堡茶, 汤色滋味变化仍不显著。发酵了 40 d 的六

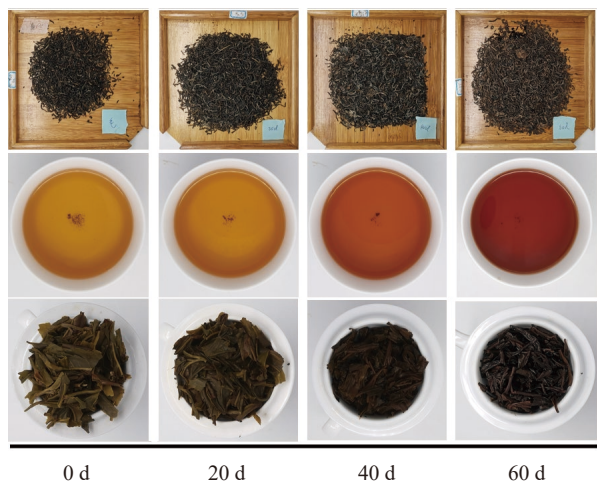


图 1 渥堆过程六堡茶品质外观图

Fig.1 Quality appearance of Liupao tea during fermentation process

堡茶, 其汤色由深黄转变为橙黄, 叶底明显更柔软, 推测微生物一些胞外酶, 如纤维素酶, 果胶酶将茶叶细胞分解, 导致叶底变得柔软^[24]。其次, 发酵 40 d 的六堡茶, 其滋味发酸, 而且香气粗杂, 带有酸馊味。推测应该是发酵过程香气物质发生转化, 形成了一些不好闻的过渡型香气物质^[25], 至于为何会呈现酸馊味, 以及 40~60 d 的发酵过程中, 40 d 时的酸馊味是如何转化成为 60 d 时浓郁的花果香, 仍待进一步分析。发酵 60 d 的六堡茶, 已经具备一个商品茶“红、浓、陈、醇”的品质特征。其汤色红棕, 滋味由苦涩, 有刺激性转变为了醇厚、顺滑, 且汤中带有一丝糯香。香气纯正, 果香浓郁。

综上分析, 在使用优质六堡茶原料的前提基础上, 冷水渥堆现代工艺发酵初期物质转换速度不明显, 但到发酵第四阶段(60 d), 其茶样汤色、香气、滋味均基本达到六堡茶“红、浓、陈、醇”的品质特征。

2.2 渥堆过程六堡茶主要成分变化

渥堆过程六堡茶主要内含成分变化见表 2。由表 2 可知, 随着渥堆时间的延长, 茶叶中的水浸出物、茶多酚、茶红素、游离氨基酸, 黄酮类物质含量都呈现显著下降趋势($P<0.05$), 其结论与张芬等^[26]的研究结果一致。与 0 d(毛茶)相比, 发酵 60 d 的六堡茶的水浸出物、茶多酚、茶红素、游离氨基酸、黄酮含量分别减少了 34.11%($P<0.05$)、65.22%($P<0.05$)、77.56%($P<0.05$)、87.67%($P<0.05$)、16.49%($P<0.05$)。茶黄素和可溶性糖含量没有明显变化规律, 前者含量在 0.16%~0.28% 之间波动, 后者含量在 1.11%~1.16% 之间波动变化。茶褐素含量明显增加, 与 0 d(毛茶)相比, 发酵 60 d 的六堡茶茶褐素含量增加了 2.28 倍。咖啡碱含量总体呈现增加趋势, 但不显著($P>0.05$), 其含量从 0 d 的 3.28% 增加到了 60 d 时的 3.98%。检测结果中, 六堡毛茶的游离氨基酸含量非常高, 达到了 6.96%, 目前已知的高氨基酸茶树品种有凌云 11 号、凌云 6 号、短节白毫等, 其游离氨基酸含量为 8% 左右^[27], 游离氨基酸是使茶叶呈现鲜爽感官品质的主要内含物。单从茶叶深加工的方向考虑, 此种质资源有专项开发的潜质。

2.3 不同渥堆时期六堡茶茶褐素理化成分分析

不同渥堆阶段六堡茶茶褐素溶液 pH 结果如表 3 所示。由表 3 可知, 茶褐素溶液浓度为 0.2 $\mu\text{g/mL}$

表 1 渥堆过程六堡茶感官品质审评结果

Table 1 Sensory quality evaluation of Liupao tea during fermentation process

审评项	外形	汤色	香气	滋味	叶底
0 d	色泽深棕褐, 较乌润, 条索紧结, 净度好, 匀整度较好	金黄明亮	日晒味, 略有荷香, 香气高扬, 持久	浓强, 回甘	深黄绿, 较整, 尚柔软
20 d	色泽灰褐, 条索紧结, 挺直较粗, 净度好, 匀整度较好	深黄明亮	木质香, 香气低沉	浓厚	褐绿尚润, 尚匀整, 较柔软
40 d	色泽花杂, 灰白深褐, 条索粗松, 净度好, 断碎多, 团块较多	橙黄欠亮, 清澈	酸馊味, 香气粗杂	浓厚带酸	深褐, 较匀整, 柔软
60 d	色泽棕褐发灰, 条索较紧结, 挺直, 净度好, 匀整度较好, 带团块	深红棕, 略浑浊	香气纯正 果香浓郁, 带木香	醇厚、甘滑、稍酸带糯香	深棕褐, 尚润 柔软, 尚匀整

表 2 渥堆过程六堡茶理化成分变化

Table 2 Variation of main physical and chemical components of Liupao tea during fermentation process

成分	0 d	20 d	40 d	60 d
水浸出物(%)	48.37±1.02 ^a	42.00±1.48 ^b	40.38±0.80 ^b	31.87±0.77 ^c
茶多酚(%)	40.91±1.67 ^a	37.00±1.77 ^b	29.70±1.28 ^c	14.23±0.80 ^d
茶红素(%)	11.90±2.65 ^a	10.46±2.54 ^a	7.35±0.46 ^b	2.67±0.48 ^c
茶黄素(%)	0.17±0.00 ^b	0.16±0.00 ^c	0.28±0.05 ^a	0.17±0.18 ^c
茶褐素(%)	5.05±0.19 ^c	5.71±0.04 ^c	8.39±0.40 ^b	16.49±1.33 ^a
游离氨基酸(%)	6.96±0.04 ^a	5.68±0.44 ^b	2.70±0.13 ^c	0.90±0.07 ^d
可溶性糖(%)	1.16±0.00 ^a	1.11±0.00 ^a	1.15±0.00 ^a	1.11±0.00 ^a
黄酮(mg/g)	6.49±0.16 ^a	6.49±0.21 ^a	5.46±0.16 ^b	5.42±0.18 ^b
咖啡碱(%)	3.28±0.00 ^a	3.48±0.00 ^a	3.66±0.00 ^a	3.98±0.00 ^a

注: 同一行不同小写字母代表组间差异显著($P<0.05$); 表3、表4同。

时,其 pH 为 6.60~6.74 之间,说明茶褐素为一种弱酸性的物质。不同渥堆阶段的茶褐素溶液 pH 之间没有显著性差异($P>0.05$),其结论与吴恩凯等^[16]、田燕华^[21]的研究结果一致。不同渥堆阶段六堡茶茶褐素提取物的主要化学组分结果如表 4 所示。由表 4 可知,不同渥堆阶段六堡茶茶褐素蛋白质含量整体呈现增加的趋势。20 与 40 d 的茶褐素相比,茶褐素的蛋白质含量有所增加,但不显著($P>0.05$)。40 与 60 d 的茶褐素相比,茶褐素的蛋白质含量显著增加($P<0.05$),由 40 d 时的 11.39% 增加至 60 d 时的 14.97%;不同渥堆阶段六堡茶茶褐素的总酚含量呈现显著增加趋势($P<0.05$),由 20 d 时候的 9.01% 增加至 60 d 的 17.07%,增加了 1.89 倍。总糖含量也从 20 d 的 11.78% 显著增加($P<0.05$)至 60 d 的 17.25%。茶褐素含量的增加,在于渥堆过程中微生物通过分泌胞外酶,促进多酚类物质氧化、聚缩合,形成大分子物质^[28]。同时,这些生物活性酶通过分解茶叶细胞和组织,从而增加了与茶褐素络合的蛋白质、游离多糖、黄酮等酚类物质^[29]。推测是导致茶褐素提取物的总糖、总蛋白、总酚含量显著增加的主要原因。

表 3 渥堆过程不同六堡茶茶褐素溶液的 pH

Table 3 pH of different theabrownins solution that extracted from Liupao tea during fermentation process

指标	20 d	40 d	60 d
pH	6.74±0.04 ^a	6.60±0.21 ^a	6.72±0.08 ^a

表 4 渥堆过程不同六堡茶茶褐素主要化学成分

Table 4 Main components of different theabrownins that extracted from Liupao tea during fermentation process

成分	20 d	40 d	60 d
总蛋白含量(%)	10.15±0.40 ^b	11.39±0.65 ^b	14.97±0.80 ^a
总酚含量(%)	9.01±0.23 ^c	13.93±0.71 ^b	17.07±0.33 ^a
总糖含量(%)	11.78±0.60 ^b	12.52±2.55 ^b	17.25±0.66 ^a

2.4 不同渥堆阶段六堡茶茶褐素清除 DPPH 自由基能力比较

DPPH 是目前体外模型测定样品清除自由基能

力最常用的方法之一^[30]。为评价不同抗氧剂之间清除自由基的能力,以自由基半数抑制浓度 IC_{50} 作为评价指标, IC_{50} 值越小,代表其抗氧化能力越强。

由图 2 可知,茶褐素浓度在 10~60 $\mu\text{g/mL}$ 时,对 DPPH 自由基清除率呈现剂量依赖性,随着浓度增加,清除率增加,但是低于阳药组(V_C)。由表 5 可知,40 和 60 d 的茶褐素溶液清除 DPPH 自由基能力要强于 20 d 的茶褐素溶液,但 40 与 60 d 的茶褐素溶液之间的 IC_{50} 差异不明显,两者清除自由基能力相当。总的来说,各茶褐素提取物浓度为 IC_{50} 时,其抗氧化能力为: $V_C>40\text{ d}>60\text{ d}>20\text{ d}$ 。众所周知,多酚类物质具有显著的抗氧化功能^[31-32],不同六堡茶茶褐素的化学组分分析结果也表明,随着渥堆天数的增加,总酚的含量显著增加($P<0.05$),这与其对应的抗氧化能力有一定相关性。40 与 60 d 的茶褐素相比,其总酚含量显著增加($P<0.05$),但是清除自由基能力却差异不大,推测茶褐素分子结构中的结合酚清除自由基的原理与游离酚有所不同^[32]。同时,茶褐素清除 DPPH 自由基的能力与该茶褐素的空间构象,电

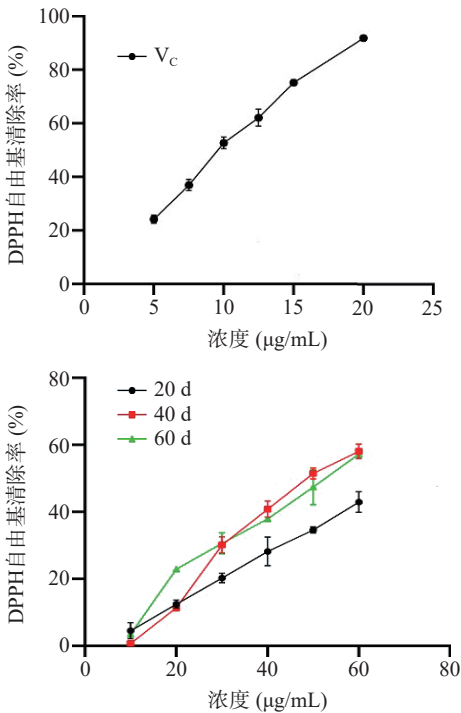


图 2 渥堆过程六堡茶茶褐素清除 DPPH 自由基能力

Fig.2 DPPH free radical scavenging activity of theabrownins of Liupao tea during fermentation process

表 5 渥堆过程六堡茶茶褐素 IC_{50} 值比较

Table 5 Comparison of IC_{50} values of theabrownins of Liupao tea during fermentation process

样品	回归方程	决定系数	$IC_{50}(\mu\text{g/mL})$
V_C	$y=4.5541x+4.046$	$R^2=0.9872$	10.09
20 d	$y=0.7615x-2.796$	$R^2=0.9991$	69.33
40 d	$y=1.1955x-9.7207$	$R^2=0.9800$	49.95
60 d	$y=1.0486x-4.369$	$R^2=0.9889$	51.85

子转移能力也有一定关系^[33]。在本实验中,浓度为0.2 μg/mL时,40 d的茶褐素溶液的pH比60 d同样浓度的茶褐素溶液浓度略低,推测40 d的茶褐素溶液的电子转移能力比60 d的茶褐素溶液相对更强,所以其IC₅₀值相对更小,抗氧化能力更强。

3 结论与讨论

试验结果表明,发酵60 d的茶样从干茶、汤色、滋味、叶底来看,已经基本具备商品茶“红、浓、陈、醇”的品质特征。渥堆过程水浸出物、茶多酚、茶红素、游离氨基酸、黄酮类物质等含量都显著下降($P < 0.05$),茶褐素含量显著增加($P < 0.05$)。茶汤滋味由浓强、刺激转变为醇和、顺滑。后发酵黑茶化学成分的变化受多因素影响,微生物生化作用和湿热作用是主要影响原因。随着人们对多元化的追求,风味化、功能化的定向发酵是六堡茶乃至整个黑茶产业未来发展的重要方向,因此进一步深入研究微生物生化作用和湿热作用对六堡茶渥堆过程化学成分的影响机理,具有重要意义。

茶褐素的理化结果分析和清除自由基能力表明,随着渥堆天数增加,茶褐素中的总糖、总蛋白、总酚含量都是增加的趋势。在各茶褐素提取物自由基半数抑制浓度(IC₅₀)时,其清除DPPH自由基的能力为:V_C组>40 d>60 d>20 d。发酵40与60 d的茶褐素清除DPPH自由基的能力差异不明显,但相对20 d的茶褐素均明显增强,证明渥堆发酵能够提升六堡茶茶褐素提取物清除DPPH自由基的能力,是六堡茶加工工艺的重要工艺。

目前,学术界对于茶褐素的定义有两种,一部分学者认为,那些与茶褐素本身络合在一起的游离多糖、蛋白质、核酸等小分子物质并不是“茶褐素”本身,因此茶褐素的功能仍不能直接断定为是其茶褐素自身的功能基团起的作用。因此他们一直致力于运用各种分离纯化的方法去进一步纯化茶褐素,目的就是为得到高纯度的茶褐素组分,但是目前为止,仍未有文章报道分离纯化到茶褐素单体。另外一部分学者则认为,既然各种方法都不能完全分离干净茶褐素中的蛋白质、多糖、游离氨基酸等小分子物质,因此未来可以考虑,在验证其生物活性时,可以把茶褐素与各小分子物质看成一个整体。在各组分含量达到一定区间范围时,归类为同一类茶褐素。此外,茶褐素作为六堡茶的特征性成分,其各种保健功效虽已有大量文献报道,但其作用机理仍有待进一步探究。

参考文献

[1] 石荣强,温立香,曾玉凤,等. 六堡茶品质研究进展[J]. 中国茶叶加工, 2020(2): 43-47. [SHI R Q, WEN L X, ZENG Y F, et al. Research progress on quality of Liupao tea[J]. China Tea Processing, 2020(2): 43-47.]

[2] 马婉君,马士成,刘春梅,等. 六堡茶的化学成分及生物活性研究进展[J]. 茶叶科学, 2020, 40(3): 289-304. [MA W J, MA S C, LIU C M, et al. Research progress on chemical composition and

biological activity of Liupao tea[J]. Journal of Tea Science, 2020, 40(3): 289-304.]

[3] 曹中环,邱瑞瑾,王登良,等. 六堡茶加工过程中主要生化成分的变化[J]. 广东茶业, 2016(3): 26-28. [CAO Z H, QIU R J, WANG D N, et al. Changes of main biochemical components in Liubao tea during processing[J]. Guangdong Tea Industry, 2016(3): 26-28.]

[4] 刘家奇,邵宛芳,赵宝权,等. 普洱茶(熟茶)茶粉、黑茶茶粉、六堡茶减肥作用的研究[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(1): 108-112. [LIU J Q, SHAO W F, ZHAO B Q, et al. Study of fermented pu-erh tea powder, dark tea powder and liupu tea on losing weight in hyperlipidemia model rats[J]. China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, 2014, 29(1): 108-112.]

[5] 侯梁,肖杰,王黎明,等. 六堡茶改善痰湿质功效评价及基于肠道菌群调节的祛湿机制研究[J]. 食品工业科技, 2021: 1-14.

[HOU C, XIAO J, WANG L M, et al. Effect of Liupao tea in regulating phlegm-dampness constitution and mechanism on intestinal microbiota[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021: 1-14.]

[6] ZHU J, WU M, ZHOU H, et al. Liubao brick tea activates the PI3K-Akt signaling pathway to lower blood glucose, metabolic disorders and insulin resistance via altering the intestinal flora[J]. Food Research International, 2021, 148: 110594.

[7] GONG Z P, OUYANG J, WU X L, et al. Dark tea extracts: Chemical constituents and modulatory effect on gastrointestinal function[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 130: 110514.

[8] 范艺凡,彭春秀,冯励,等. 不同分子质量茶褐素对高脂饮食大鼠脂质代谢关键酶的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(11): 9-19. [FAN Y F, PENG C X, FENG L, et al. Effect of different TB fractions on the key-enzyme of lipid metabolite in high-lipid diet rats[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(11): 9-19.]

[9] 龚受基,滕翠琴,梁东斌,等. 六堡茶茶褐素体外降脂功效研究[J]. 茶叶科学, 2020, 40(4): 536-543. [GONG S J, TENG C Q, LIANG D Y, et al. In vitro study on hypolipidemic effects of theabrownins in Liupao tea[J]. Journal of Tea Science, 2020, 40(4): 536-543.]

[10] HUANG F, ZHENG X, MA X, et al. Theabrownin from Pu-erh tea attenuates hypercholesterolemia via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 4971.

[11] 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. [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.]

[12] SHOUJI G. The influence of Liupao tea theabrownins on the profile of gut microbiota in mice[J]. Hans Journal of Food and Nutrition Science, 2020, 9(1): 101-107.

[13] 何英姿,逮钊琦,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. [HE Y Z, LU Z Q, CHEN Y F, et al. Extraction technology of theabrownine from Liubao tea and its antioxidant activity re-

- search[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(35): 17301-17303.]
- [14] JIN W, 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(9): 4423-4436.
- [15] 刘泽森, 温立香, 何梅珍, 等. 不同外形、年份六堡茶品质变化分析[J]. *热带农业科学*, 2016, 36(11): 81-86. [LIU Z S, WEN L X, HE M Z, et al. Quality change comparison of different shapes and years of Liupao tea[J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2016, 36(11): 81-86.]
- [16] 刘泽森, 温立香, 何梅珍, 等. 不同发酵方式对六堡茶品质的影响研究[J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(18): 91-92. [LIU Z S, WEN L X, HE M Z, et al. Effects of different fermentation modes on quality of Liupao tea[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2016, 44(18): 91-92.]
- [17] JIASHUN GONG C P T C. Effects of theabrownin from Pu-erh tea on the metabolism of serum lipids in rats: Mechanism of action[J]. *Journal of Food Science*, 2010, 6(75): 182.
- [18] 甘甜, 邓岳, 聂远洋, 等. 雅安藏茶贮藏过程中滋味和风味成分的变化[J]. *中国测试*, 2017, 43(1): 50-54. [GAN T, DENG Y, NIE Y Y, et al. Changes of taste and flavor compounds in Ya'an Tibetan tea during storage[J]. *China Measurement & Test*, 2017, 43(1): 50-54.]
- [19] 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.]
- [20] 曾贞, 罗军武, 杨阳, 等. 微波固样方法研究与应用[J]. *茶叶通讯*, 2007(1): 4-6. [ZHEN C, LUO J W, YANG Y, et al. Study and application of the microwave technique to tea sample[J]. *Journal of Tea Communication*, 2007(1): 4-6.]
- [21] 黄意欢. 茶学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995. [HUANG Y H. Experimental techniques of tea science[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995.]
- [22] 周婷, 黄文权, 谢加仕, 等. 六堡茶茶褐素的提取工艺优化及其理化性质[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(18): 143-148. [ZHOU T, HUANG W Q, XIE J S, et al. Optimization of the extraction technology and the physiochemical properties of theabrownin from Liupao tea[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(18): 143-148.]
- [23] 田燕华. 液态发酵生产茶褐素及其生物活性研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019. [TIAN Y H. Study on the production of theabrownins by submerged fermentation and its biological activity[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2019.]
- [24] LIN F, WEI X, LIU H, et al. State-of-the-art review of dark tea: From chemistry to health benefits[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 109: 126-138.
- [25] 郑淑娟, 盛耀, 欧小群, 等. 渥堆黑茶香气和主要功效研究进展[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(20): 366-370. [ZHEN S J, SHENG Y, OU X Q, et al. Research progress in aroma and main effects of pile fermentation Chinese dark tea[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(20): 366-370.]
- [26] 张芬, 温立香, 彭靖茹, 等. 六堡茶渥堆过程中主要生化成分和茶汤色泽变化及其相关性研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(2): 83-87. [ZHANG F, WEN L X, PENG J R, et al. The changes and correlations of main chemical components and color of tea infusion during pile-fermentation of Liupao tea[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(2): 83-87.]
- [27] 方开星, 姜晓辉, 秦丹丹, 等. 高氨基酸和高茶氨酸茶树资源筛选[J]. *核农学报*, 2019, 33(9): 1724-1733. [FANG K X, JIANG X H, QIN D D, et al. Selection of tea germplasm with high contents of amino acid and theanine[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(9): 1724-1733.]
- [28] ZHU M, LIN N, ZHOU F, et al. Microbial bioconversion of the chemical components in dark tea[J]. *Food Chemistry*, 2020, 312: 126043.
- [29] ZHAO M, SU X Q, NIAN B, et al. Integrated meta-omics approaches to understand the microbiome of spontaneous fermentation of traditional chinese Pu-erh tea[J]. *mSystems*, 2019, 4(6): e00680-19.
- [30] LIU S, HUANG 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.
- [31] 孙海燕. 贺兰山东麓干红葡萄酒多酚组分与其抗氧化、抗癌活性的关联性研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2019. [SUN H Y. Study on antioxidant and anticancer activity of polyphenols in dry red wines from eastern foot of helan mountain in Ningxia[D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2019.]
- [32] 陈荣义. 茶多酚的提取纯化及其改性的研究[D]. 成都: 四川大学, 2005. [CHE R Y. Preparation and modification research of tea polyphenols[D]. Chengdu: Sichuan University, 2005.]
- [33] SANDIP P D G C S. Total polyphenol content, antioxidant activity and lipid peroxidation inhibition efficacy of branded tea (*Camellia sinensis*) available in India[J]. *International Journal of Tea Science*, 2012, 3(8): 13-20.