

## 云南红茶贮存中主要化学成分变化及 茶红素、茶褐素功效的探究\*

石若瑜<sup>1,2,3</sup>, 陈际名<sup>1,2,3</sup>, 黄业伟<sup>1,2,3</sup>, 魏楠<sup>1,2</sup>, 李彤<sup>1,2,3</sup>,  
朱强强<sup>1,2,3</sup>, 马啸<sup>1,2\*\*</sup>, 王宣军<sup>1,2\*\*</sup>, 盛军<sup>1,2</sup>

(1. 云南农业大学, 普洱茶学教育部重点实验室, 云南昆明 650201;

2. 云南农业大学, 云南省茶深加工工程技术研究中心, 云南昆明 650201;

3. 云南农业大学 食品科学技术学院, 云南昆明 650201)

**摘要:** 以具有代表性的云南优质红茶为试样, 通过高效液相色谱法 (HPLC)、光谱法检测, 分析红茶中的茶色素、咖啡因、茶多酚等主要生化成分在贮存过程中 (第0、1、3、5年) 的变化趋势, 结果表明: 云南红茶中的咖啡因、没食子酸 (GA)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 和表儿茶素没食子酸酯 (ECG) 含量随着红茶储存年份的增加而减少; 红茶中的茶黄素含量下降, 而茶红素和茶褐素含量增加。该研究结果揭示贮存时间对红茶主要化学成分的影响, 为今后红茶科学存放提供参考依据。同时探究茶红素、茶褐素对小鼠皮肤组织中表皮生长因子 (EGFR) 的影响, 探究红茶中的茶色素健康功效。

**关键词:** 云南红茶; 咖啡因; 茶红素; 茶褐素; 表皮生长因子受体

**中图分类号:** TS 201.4; TS 272.52   **文献标志码:** A   **文章编号:** 1004-390X (2016) 06-1097-06

## Study on the Changes of Main Biochemical Components and the Efficacy of Thearubigins and Theabrownins in the Storage Period of Yunnan Black Tea

SHI Ruoyu<sup>1,2,3</sup>, CHEN Jiming<sup>1,2,3</sup>, HUANG Yewei<sup>1,2,3</sup>, WEI Nan<sup>1,2</sup>, LI Tong<sup>1,2,3</sup>,  
ZHU Qiangqiang<sup>1,2,3</sup>, MA Xiao<sup>1,2</sup>, WANG Xuanjun<sup>1,2</sup>, SHENG Jun<sup>1,2</sup>

(1. Key Laboratory of Pu-erh Tea Science of Ministry of Education, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Yunnan Research Center for Advanced Tea Processing, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

3. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** We selected the representative Yunnan high quality black tea as our experiment sample to test the main biochemical components of our experiment sample, such as tea pigment, caffeine, tea polyphenol etc. We used HPLC and spectrometry to detect the variation trend in the storage period (0, 1, 3, 5 years) of Yunnan black tea. Results showed that the content of caffeine, gallic acid (GA),

收稿日期: 2016-03-07

修回日期: 2016-06-13

网络出版时间: 2016-11-11 10:36

\* 基金项目: 云南省建立农科教相结合新型农业社会化服务体系试点项目 (A30201405); 教育部留学回国人员科研启动基金 (K1500038); 云财农 189#生物产业发展专项 (A3008079); 普洱茶研究院科技项目 (KX140970)。

作者简介: 石若瑜 (1989—), 女, 白族, 云南昆明人, 硕士研究生, 主要从事茶功效研究。

E-mail: shiruoy@126.com

\*\* 通信作者 Corresponding authors: 马啸 (1980—), 男, 内蒙古赤峰人, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事药用植物功效研究。E-mail: maxiao.ynau@qq.com; 王宣军 (1974—), 男, 河南汝阳人, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事免疫生理学研究。E-mail: wangxuanjun@gmail.com

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20161111.1036.041.html>

epigallocatechin gallate (EGCG) and epicatechin gallate (ECG) reduced; the content of theaflavins reduced, but the content of thearubigins and theabrownins increased. The results revealed the influence of storage time on the main chemical composition of black tea and provided a reference basis for the future. At the same time, we explored the effect of epidermal growth factor (EGFR) by using the thearubigins and theabrownins in mice skin tissues to explore the health benefits of black tea's tea pigment.

**Keywords:** black tea; caffeine; theabrownins; thearubigins; growth factor receptor

云南红茶又称“滇红”，原料为大叶种茶，鲜叶含较丰富的多酚类物质，在加工过程中产生茶红素和茶黄素较多，咖啡因及其他浸出物较高，所以香味浓郁、汤色红艳<sup>[1]</sup>。经过发酵后，茶叶中的儿茶素及多酚类物质发生变化，绿叶变红形成了红茶、红叶、红汤的特性<sup>[2]</sup>。红茶贮存时间长短会影响红茶中咖啡因、儿茶素、没食子酸的含量，儿茶素是红茶中重要组成物质，其含量变化会影响到红茶的品质<sup>[3]</sup>。茶叶中多酚类物质经过发酵发生氧化聚合形成茶红素及部分茶褐素，其中茶红素与红茶品质有密切的联系<sup>[4]</sup>。茶红素是影响红茶品质的关键物质，还具有抗癌、抗氧化、抑制炎症等功效<sup>[5]</sup>。基于云南省建立农科教相结合新型农业社会化服务体系试点项目，对不同储存年份红茶中的咖啡因、儿茶素、没食子酸的含量进行检测，有助于分析红茶随储存时间延长而发生的成分变化，对红茶的科学生产、存放提供科学指导。同时，对红茶中茶色素健康功效进行探究，对红茶的保健产品开发和推广提供参考，延长红茶产业链。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

试验材料为产自云南省临沧市大叶种茶叶原料的玛格麦云南红茶，生产年限为2010、2012、2014、2015年，红茶生产工艺参数统一，成品于同一地点贮存，贮存环境5℃、湿度50%、避光。

试验动物：Balb/c小鼠，8~10周龄，体重(25±2)g，雄鼠，购自昆明医学院。

试验所用药品和试剂：咖啡因（阿拉丁，USP/BP级）、乙腈（美国，TEDIA，色谱纯）、三氟乙酸（德国，MERCK，色谱纯）、盐酸（分析纯）、氢氧化钠（分析纯）。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 红茶提取物 HPLC 样品制备

将茶样粉碎，称取0.15g茶粉置于50mL离心管中，加80%甲醇30mL，30℃超声提取20min，离心（3000r/min，5min）取上清，0.22μm有机系膜过滤，待HPLC检测。

#### 1.2.2 HPLC 检测条件

安捷伦紫外检测器（G1314F1260VWD）；Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub>色谱柱（5μm，4.6mm×250mm）；流动相：A相为0.03%三氟乙酸，B相为乙腈，梯度从10%B到60%B，流速1mL/min；柱温40℃；36min内完成，检测波长280nm，每次完成后，系统平衡15min后再次进样<sup>[6-7]</sup>。

#### 1.2.3 茶黄素、茶红素、茶褐素的含量测定

采用萃取比色法<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.4 茶红素、茶褐素对小鼠皮肤组织中表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）总量的影响

茶褐素的制备参照秦谊等<sup>[8]</sup>的方法，茶红素的制备参照李大祥等<sup>[9]</sup>的方法。

试验试剂制备：丙二醇乙醇作为对照组试剂，其体积比为7:3；茶红素试剂：称取0.5g茶红素，加入9.5mL丙二醇乙醇试剂，调配成5%的茶红素试剂；茶褐素试剂：称取0.5g茶褐素，加入9.5mL丙二醇乙醇试剂，调配成5%的EGCG试剂。

试验过程：Balb/c小鼠60只，实验室适应性饲养3d，雄鼠，用脱毛膏去除背部毛发约3.0cm×3.0cm，脱毛后恢复性饲养24h。恢复性饲养结束后，选取背部皮肤状态良好的小鼠，随机分为空白对照组（C）、茶红素组（TR）、茶褐素组（TB）3个大组。根据给药时间不同每个大组又分为3个小组：涂药15min组、涂药30min组、涂药60min组。不同试验组分别用棉签蘸取空白试剂、5%茶红素试剂、5%茶褐素试剂在小鼠背部脱毛处进行涂抹。观察茶褐素和茶红素对小鼠形态行

为学的影响。以丙二醇乙醇作为外用药物基质, 涂药处理小鼠背部皮肤组织, 观察茶褐素组和茶红素组小鼠进食量和体重是否正常, 涂药部位皮肤是否红润、光滑、充满弹性, 有无明显皱纹、是否出现过敏现象。待试验终止, 处死小鼠后取背部涂药部位皮肤 1 cm × 1 cm, 立即放入液氮中冻存, Western-Blotting 测定小鼠皮肤组织中 EGFR 总量, HE 染色法观察皮肤组织形态。

### 1.2.5 数据分析

采用 SPSS 统计软件进行显著性分析。

## 2 结果与分析

表 1 不同贮存年份的红茶中咖啡因、没食子酸、EGCG、ECG 的含量

Tab. 1 The content of black tea caffeine (CAF), gallic acid (GA), EGCG and ECG in the storage period

贮存时间/a storage period	CAF 含量/% caffeine	GA 含量/% gallic acid	EGCG 含量/% epigallocatechin gallate	ECG 含量/% electrocardiogram
0	5.84 a	1.35 a	1.09 a	0.99 a
1	5.61 b	1.37 b	0.68 b	0.68 b
3	4.92 b	1.06 b	0.70 b	0.59 b
5	4.61 b	0.95 b	0.51 b	0.28 b

注: 同列中不同字母表示与 0 年 (对照组) 相比差异显著 ( $P < 0.05$ ); 下同。

Note: Different lowercase letters in same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ); the same as below.

### 2.2 不同贮存年份的红茶中茶黄素、茶红素、茶褐素的含量

由光谱法检测结果 (表 2) 可知: 随着贮存时间的延长, 茶黄素含量不断下降, 贮存 5 年比贮存 0 年的茶黄素含量减少 58.82%, 含量仅占 0.07%; 茶红素含量从 0.57% 增加到 1.45%; 茶褐素含量从 2.97% 增加到 4.07% 增加。

表 2 不同储存年份的红茶中茶黄素、茶红素、茶褐素的含量

Tab. 2 The content of theaflavins, thearubigins, theabrownins in the storage period

贮存时间/a storage period	茶黄素 (TF) 含量/% theaflavins	茶红素 (TR) 含量/% thearubigins	茶褐素 (TB) 含量/% theabrownins
0	0.17 a	0.57 a	2.97 a
1	0.10 b	0.90 b	2.99 b
3	0.10 b	1.50 b	3.16 b
5	0.07 b	1.45 b	4.07 b

### 2.1 不同贮存年份的红茶中咖啡因、没食子酸、表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)、表儿茶素没食子酸酯 (ECG) 的含量

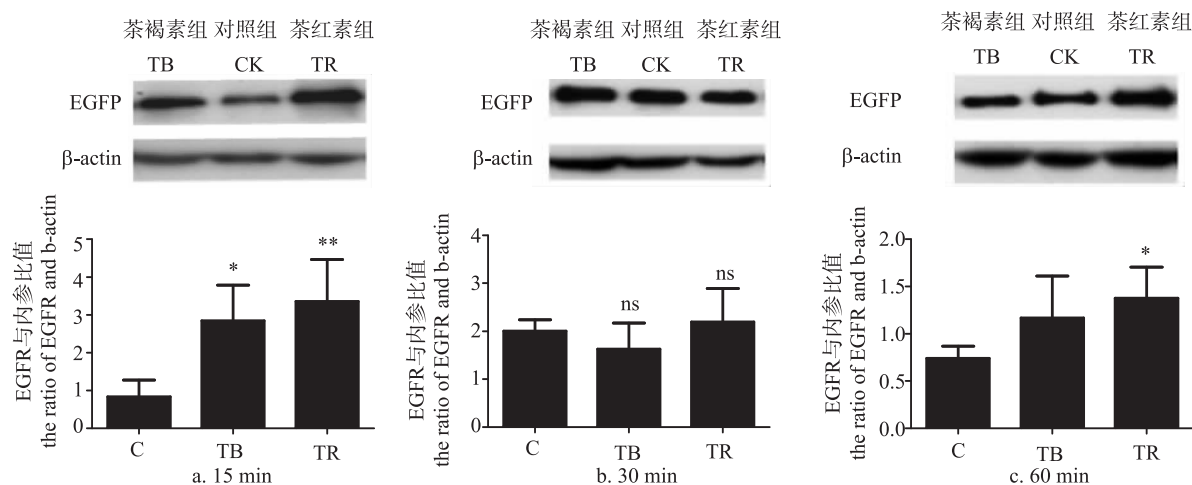
HPLC 检测结果 (表 1) 显示: 随着贮存时间延长, 红茶中的咖啡因含量减少, 贮存时间从 0 ~ 5 年时, 咖啡因含量减少了 21.05%; 贮存时间从 0 ~ 1 年, 没食子酸含量变化不明显, 贮存时间从 1 ~ 5 年, 其含量减少了 21.62%; EGCG 含量随着贮存时间延长而减少, 贮存 1 年与 0 年相比其含量减少 37.74%, 到 5 年后含量减少 53.69%; ECG 含量减少显著, 贮存 5 年 ECG 含量近 0.27%, 相比贮存 0 年的减少 71.87%。

### 2.3 茶褐素和茶红素对小鼠形态行为学观察

以丙二醇乙醇作为外用药物基质, 涂药处理小鼠背部皮肤组织, 通过观察发现, 茶褐素组和茶红素组小鼠进食量和体重都正常, 且涂药部位皮肤红润、光滑、充满弹性, 无明显皱纹、未出现过敏现象。

### 2.4 短时间外用茶褐素和茶红素对小鼠皮肤组织中 EGFR 影响

如图 1 所示: 与对照组相比, 涂抹茶褐素 15 min 后小鼠皮肤组织中 EGFR 表达量增加, 统计学分析差异显著 ( $P < 0.05$ ); 涂抹茶红素 15 min 的小鼠皮肤组织中 EGFR 总量表达增加, 统计学分析差异极显著 ( $P < 0.01$ )。但分别涂抹茶褐素、茶红素 30 min 后, 小鼠皮肤组织中 EGFR 表达量与对照组相比均无显著影响。外用茶褐素 60 min, 对小鼠皮肤组织中 EGFR 表达量无显著影响, 但外用茶红素 60 min 可显著增加小鼠皮肤组织中 EGFR 的表达量 ( $P < 0.05$ )。



注: ns表示与对照组相比差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), “\*”表示与对照组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), “\*\*”表示与对照组相比差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。  
Note: ns  $P > 0.05$ , \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs. the control.

图 1 外用茶褐素和茶红素 15、30、60 min 对小鼠皮肤组织中 EGFR 影响  
Fig. 1 The effects of EGFR by externally using theabrownins and thearubigins in the mice skin tissues of mice after 15, 30 and 60 min

## 2.5 茶褐素、茶红素对皮肤组织的形态的影响

如图 2 所示: 与对照组相比, 试验组在药物处

理后, 组织形态不会发生明显变化, 说明外用茶褐素和茶红素不会对皮肤组织正常形态产生影响。

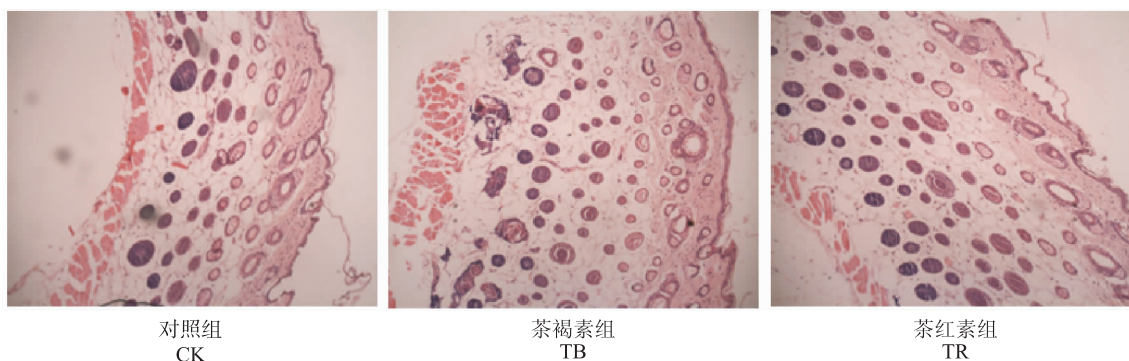


图 2 小鼠皮肤组织 HE 染色结果  
Fig. 2 The results of mice skin tissues by HE staining

## 3 讨论

国内外研究表明: 饮茶有利于健康, 其中红茶和绿茶具有相同的健康功效。绿茶中重要的活性物质是儿茶素, 而红茶的重要活性物质是茶红素。与绿茶中的儿茶素相比较, 红茶中具有抗氧化、降血脂等功效的茶黄素含量仅占 2% ~ 6%, 且多酚类物质多为茶红素, 由此推测: 茶红素是发挥功效的活性成分之一。茶多酚和茶色素都能

起到抗衰老、预防癌、保护心血管、降血压、降血脂、抑菌、抗过敏等功效<sup>[10-12]</sup>。

云南红茶香味较浓, 其重要滋味成分是茶黄素和茶红素, 为儿茶素类酶促氧化或非酶促氧化产物<sup>[13]</sup>。由于红茶在贮存过程中会发生氧化, 在多酚氧化酶和过氧化物酶作用下, 生成茶黄素类和茶红素类物质, 这些物质进一步氧化形成茶褐素类物质, 故随着储存时间的增加, 红茶中的茶黄素含量下降, 而茶红素和茶褐素含量增加<sup>[14]</sup>。

目前,对红茶的研究多集中在加工工艺、品质化学方面<sup>[15-19]</sup>,对红茶贮存过程中成分变化的研究较少,对储存时间也没有统一的标准与规范。长期储存的红茶只是通过人为经验及感官鉴定,采用仪器定性定量分析较少,突出了制定红茶的贮存年限标准的迫切性和重要性。

本研究通过 HPLC 检测了不同储存年份的红茶中咖啡因、没食子酸、儿茶素、EGCG 和 ECG 类的含量,通过试验得知:随着红茶储存年份的增加,红茶中的咖啡因、没食子酸、EGCG 和 ECG 含量均降低<sup>[20-21]</sup>。在其他茶类研究中有类似的发现<sup>[22-24]</sup>,白茶在储存过程中茶多酚、咖啡因、游离氨基酸、可溶性糖含量变化不大,但储藏时间较长时,均呈下降趋势,其中白茶中儿茶素组分均以表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)和表儿茶素没食子酸酯(ECG)为主,茶叶陈放两年后,儿茶素总量下降的速度显著<sup>[25]</sup>。还有研究发现:不同储存时间的普洱茶中儿茶素含量明显下降<sup>[26]</sup>。

本试验发现:随着储存时间增加,茶红素和茶褐素在红茶贮存期间含量增加。为探究茶红素、茶褐素对皮肤组织中 EGFR 总量的影响,选取小鼠皮肤组织中 EGFR 总量作为研究对象。皮肤是人体的最外层组织,表皮细胞只能通过细胞间的通透性获得营养物质。表皮生长因子(EGF)不仅能刺激表皮细胞增殖、分化、生长,同时为皮肤细胞的生长发育提供充足的物质基础,让皮肤细胞的保持年轻状态成为现实<sup>[27-28]</sup>。EGF 与细胞膜上的表皮生长因子受体(EGFR)相结合,进而激活受体,起到加速皮肤新生细胞替代衰老细胞的作用,可使皮肤细胞保持年轻状态<sup>[29-30]</sup>。通过试验发现外用茶红素不会影响小鼠皮肤组织正常形态,同时能增加小鼠皮肤组织中表皮生长因子受体(EGFR)总量,因此,茶红素可应用于护肤。

#### 4 结论

对不同贮存年份的红茶进行检测发现:儿茶素中没食子酸、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)的含量会随储存时间的增加而减少,茶红素和茶褐素随时间的增加而增加。因此,在保持原料、加工工艺一致的前提下,一定贮存时间的差异所具有的

一系列变化,可以为红茶科学贮存时间对红茶品质影响的提供参考依据。同时探究茶红素和茶褐素对皮肤中 EGFR 总量的影响,进而为红茶的贮存以及在产品开发和推广提供新的思路,为拓宽茶产业链打下基础。

#### [参考文献]

- [1] 吕才有,李明玺. 云南红茶品质特点的比较分析研究[J]. 广西农业科学, 2009, 40(6): 749. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1191.2009.06.033.
- [2] 康孟利,凌建刚,林旭东,等. 红茶加工工艺探讨[J]. 农产品加工, 2015(3): 41. DOI: 10.3969/j.issn.1671-9646(X).2015.03.045.
- [3] 熊昌云,彭远菊. 红茶色素与红茶品质关系及其生物学活性研究进展[J]. 茶业通报, 2006, 28(4): 155. DOI: 10.16015/j.cnki.jteabusin.2006.04.006.
- [4] 杨盛美,李晓霞,夏丽飞,等. 红茶品质化学的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(3): 1213. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2013.03.120.
- [5] 穆显良. 红茶中茶色素功效研究进展[J]. 中国园艺文摘, 2010(2): 163. DOI: 10.3969/j.issn.1672-0873.2010.02.095.
- [6] 陈玲,熊智,孙浩,等. 四种不同年份普洱茶中茶多酚与咖啡因成分的分析[J]. 食品工业科技, 2011, 32(10): 133. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2011.10.059.
- [7] 王增明,郭庆东,谢芳,等. HPLC 测定茶多酚中儿茶素类及咖啡因含量[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(21): 1674.
- [8] 吕虎,孔庆友,冷和平,等. 茶色素制取及其化学组成[J]. 林产化学与工业, 2000, 20(4): 64. DOI: 10.3321/j.issn:0253-2417.2000.04.014.
- [9] 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): 96. DOI: 10.3321/j.issn:0253-2417.2009.05.018.
- [10] 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. DOI: 10.13305/j.cnki.jts.2013.04.006.
- [11] SHARMA V, RAO L J M. A thought on the biological activities of black tea[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2009, 49(5): 379. DOI: 10.1080/10408390802068066.
- [12] 宛晓春,李大祥,夏涛. 茶色素及其药理学功能[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(4): 65. DOI: 10.16333/j.1001-6880.2001.04.020.
- [13] YOSHINO K, SUZUKI M, SASAKI K, et al. Formation

- of antioxidants from ( - ) -epigallocatechin gallate in mild alkaline fluids, such as authentic intestinal juice and mouse plasma [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 1999, 10 (4): 223. DOI: 10.1016/S0955-2863(98)00103-X.
- [14] 胡善国, 苏有键, 罗毅, 等. 茶红素研究进展 [J]. *中国农学通报*, 2014, 30 (18): 283.
- [15] 杨盛美, 李晓霞, 夏丽飞, 等. 红茶品质化学的研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2013, 41 (3): 1213. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2013.03.120.
- [16] 杨文领, 曾繁亮. 普洱生茶、熟茶与红茶主要化学成分的比较研究 [J]. *昆明学院学报*, 2012, 34 (3): 43. DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2012.03.013.
- [17] 丁立孝, 邹佳佳, 梁青, 等. 日照红茶初制过程主要生化成分变化的研究 [J]. *中国茶叶加工*, 2013, (1): 35. DOI: 10.15905/j.cnki.33-1157/ts.2013.01.011.
- [18] 王贵芳, 陈荣冰. 加工工艺对红茶主要生化品质的影响研究进展 [J]. *福建茶叶*, 2008, 30 (1): 6. DOI: 10.3969/j.issn.1005-2291.2008.01.002.
- [19] 刘建, 龚加顺. 不同发酵工艺对红茶抗氧化活性的影响 [J]. *食品工业*, 2013, 34 (12): 40.
- [20] 付静, 江海, 张玥. 红茶制作过程中儿茶素及其组分的变化规律研究 [J]. *食品科技*, 2013, 38 (10): 74. DOI: 10.13684/j.cnki.spkj.2013.10.033.
- [21] 李永菊. 不同工艺对红茶品质的影响 [J]. *茶叶科学技术*, 2009 (3): 15. DOI: 10.3969/j.issn.1007-4872.2009.03.006.
- [22] 龚淑英, 周树红. 普洱茶贮藏过程中主要化学成分含量及感官品质变化的研究 [J]. *茶叶科学*, 2002, 22 (1): 51. DOI: 10.13305/j.cnki.jts.2002.01.011.
- [23] 杨晓莉, 王聪慧, 李菊华, 等. HPLC 法测定不同年份下关沱茶咖啡因的含量 [J]. *安徽农业科学*, 2010, 38 (31): 17463. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2010.31.132.
- [24] 鲍晓华, 董玄, 潘思轶. 野生古树茶贮藏中的化学成分变化研究 [J]. *食品研究与开发*, 2013, 34 (7): 123. DOI: 10.3969/j.issn.1005-6521.2013.07.033.
- [25] 周琼琼, 孙威江, 叶艳, 等. 不同年份白茶的主要生化成分分析 [J]. *食品工业科技*, 2014, 35 (9): 359. DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.09.068.
- [26] 高力, 刘通讯. 不同年份普洱茶儿茶素等组成及含量变化研究 [J]. *食品工业*, 2013, 34 (8): 178.
- [27] 陈秋东, 许永兴, 徐志南. 人表皮生长因子及其在化妆品中的应用 [J]. *日用化学工业*, 2002, 32 (5): 38. DOI: 10.13218/j.cnki.csdc.2002.05.013.
- [28] 王丽明. EGF 在化妆品中的应用 [J]. *山东科学*, 2006, 19 (4): 73.
- [29] JOHAMES B, PHILIO R, BRUNO H, et al. The epidermal growth factor [J]. *Cell Biology International*, 1995, 19 (5): 413. DOI: 10.1006/cbir.1995.1086.
- [30] GRAHAM C, STANLEY C. Epidermal growth factor [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1990, 265 (14): 7709.