

文章编号: 1673 1689(2011)01-0012-08

茶黄素的制备、分析、分离及功能活性研究进展

王洪新^{1,2}, 孙军涛^{1,2}, 吕文平^{1,2}, 马朝阳^{1,2}, 夏文水^{1,2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 茶黄素是一种重要的功能因子, 具有很好的应用价值和开发前景, 已成为国内外研究的热点。作者对茶黄素的分子结构、理化性质进行了介绍, 并对茶黄素的形成机理、制备、分析测定方法、分离纯化和功能活性的研究进行了综述, 为茶黄素的进一步研究提供一定的理论基础。

关键词: 茶黄素; 制备; 测定方法; 分离; 功能特性

中图分类号: TS 272.2

文献标识码: A

Research Progress on Preparation, Analysis, Separation and Function of Theaflavins

WANG Hong-xin^{1,2}, SUN Jur tao^{1,2}, LV Wen ping^{1,2}, MA Chao yang^{1,2}, XIA Wen shui^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: As an important food functional component, theaflavins has widely application area and has bright development future. The production method, physicochemical properties, potential application area is become research focus both at home and in abroad. In this review, the molecular structure, physical and chemical properties of theaflavins were outline, and its formation mechanism, preparation, analysis methods, separation and function were also discussed.

Key words: theaflavins, preparation, analysis methods, separation, function

茶黄素(Theaflavins, TFs)最早是由 Roberts E A H^[1]发现的,指红茶中溶于乙酸乙酯呈橙黄色的物质,由多酚类及其衍生物氧化缩合而来,红茶中茶黄素类的含量一般为 0.3%~1.5%,对红茶的色香味及品质起着决定性的作用。近年来,由于茶黄素具有多种与人体健康有关的潜在功能,如抗氧化、防治心血管疾病、降血脂、抗癌防癌等,因而受到国内外的广泛关注,成为茶叶品质化学与功能成

分的研究热点。作者对茶黄素的分子结构、理化性质、形成机理、制备、分析测定方法、分离纯化技术,以及功能特性等研究进展进行了综述,并对茶黄素的应用前景做了展望。

1 分子结构和理化性质

茶黄素是一类具有苯并卓酚酮结构化合物的

收稿日期: 2010-01-08

基金项目: 国家 863 计划项目(2007AA100401)。

作者简介: 王洪新(1964-),男,江苏徐州人,工学博士,教授,主要从事食品功能因子研究。Email: whx1964@126.com

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

总称, 其中茶黄素(theaflavin, TF₁)、茶黄素-3-没食子酸酯(theaflavin-3-gallate, TF_{2A})、茶黄素-3'-没食子酸酯(theaflavin-3'-gallate, TF_{2B})和茶黄素双没食子酸酯(theaflavin-3, 3'-digallate, TF₃)是 4 种主要的茶黄素, 其化学结构如图 1。茶黄素的红外光谱表明, 所有茶黄素的吸收都出现在 380 nm 和 460 nm^[2]。

茶黄素纯物呈橙黄色针状结晶, 熔点 237~240 °C, 易溶于水、甲醇、乙醇、丙酮、正丁醇和乙酸乙酯, 难溶于乙醚, 不溶于三氯甲烷和苯。茶黄素溶液呈鲜明的橙黄色, 水溶液呈弱酸性, pH 约 5.7, 颜色不受茶提取液 pH 影响, 但在碱性溶液中有自动氧化的倾向, 且随 pH 的增加而加强^[3]。

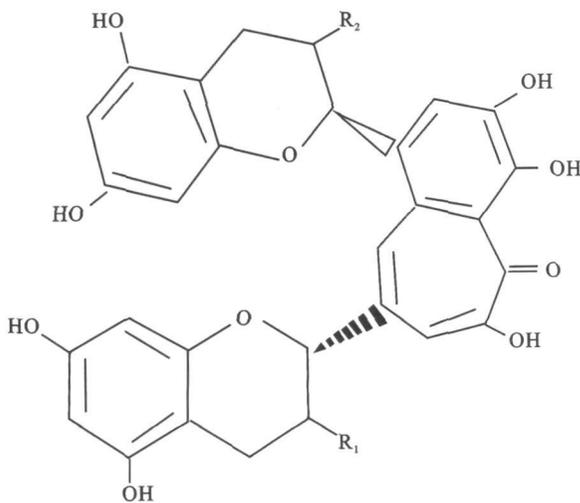


图 1 4 种主要茶黄素的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of four main theaflavins

2 形成机理

Roberts E A H 对红茶发酵缩合形成的产物的组成进行了大量的研究, 发现了茶黄素、茶红素的存在, 并用纯化的儿茶素进行模拟实验, 结果表明: (-) 表没食子儿茶素(L-EGC)与(-)表没食子儿茶素没食子酸酯(L-EGCG)是红茶发酵时进行缩合的主要物质, 并提出了茶发酵过程中色素形成的模式; 还从红茶中分离出茶黄素和茶黄素没食子酸酯, 利用纸层析、光谱分析等方法, 确认茶黄素是 L-EGC 和 L-EGCG 的二聚合产物。潼野庆则等^[4]在 Roberts E A H 研究的基础上, 对茶叶中的儿茶素的氧化产物的形成进行了大量的研究, 证实了具有连苯三酚基的儿茶素(L-EGC 和 L-EGCG)氧化后发生聚合, 均比不具有连苯三酚基的儿茶素(L-EGC 和 L-EC)减少快, 经过分析确定了茶黄素形成途径。Sanderson G W^[5]经过实验证明了 Roberts 的研究, 并提出了红茶发酵中儿茶素的反应途径。

西岗五夫^[6]研究提出了多酚氧化聚合的 3 条途径, 进一步证实了 Roberts 和 Sanderson 关于红茶在酶促条件下儿茶素的变化途径, 并指出红茶发酵中不仅 L-EGC 和 L-EGCG 可以形成茶黄素, 其他儿茶素和没食子酸酯也可以形成茶黄素及其没食子酸酯。

综上所述, 茶黄素化合物是成对的儿茶素经过多酚氧化酶催化氧化成邻醌, B 环上具有三邻位羟基的儿茶素(如 L-EGC 和 L-EGCG)被氧化后的邻醌易缩合形成二苯基型二聚物, 不能形成茶黄素, 而 B 环上有两个邻位羟基(如 L-EC, L-ECG)与 B 环上有三个邻位羟基的儿茶素共同存在时, 它们氧化后的邻醌可以通过 B 环之间偶联形成茶黄素。

3 制备

3.1 直接提取制备

3.1.1 Collier 法 样品用热水浸提, 浸提液过滤、浓缩、冷冻干燥, 所得的水提取液用甲醇、水溶解, 再用三氯甲烷萃取, 除去咖啡碱等杂质。水相减压浓缩, 除去甲醇和三氯甲烷, 然后用乙酸乙酯反复萃取, 萃取液用硫酸镁脱水, 蒸馏至干, 得到茶黄素粗提物。该方法工艺技术比较简单, 但有机溶剂用量多^[2]。

3.1.2 Ullah 法 用适量的磷酸二氢钠与乙酸乙酯混合萃取, 茶红素能固定在水相中, 而茶黄素留在有机相中。样品用水浸提, 过滤, 滤液减压浓缩, 三氯甲烷萃取, 除去咖啡碱等杂质, 然后用磷酸二氢钠和乙酸乙酯混合萃取, 乙酸乙酯层经减压浓缩干燥, 得茶黄素粗物^[7]。

3.2 模拟氧化制备

从红茶中制备茶黄素产品, 存在着得率低, 纯度低以及分离纯化困难等缺点。近年来, 随着对茶黄素形成机理的认识越来越深入, 在制取茶黄素的方法研究已经取得了很大的进展, 儿茶素模拟氧化就是一种行之有效的方法, 模拟氧化按催化剂的不同分为酶促氧化和化学氧化两种。酶促氧化是利用茶叶本身的多酚氧化酶(PPO)或过氧化物酶(POD)的氧化特性生产茶黄素; 化学氧化主要是利用无机氧化剂氧化儿茶素制得茶黄素, 常用的化学氧化剂有 $K_3Fe(CN)_6$, $FeCl_3$, $CuSO_4$, Ag_2O , PbO_2 , MgO_2 等。

3.2.1 化学氧化制备 李立祥等^[8]利用酸性氧化剂在双液相下氧化茶多酚制备茶黄素; 张建勇等^[9]选取 $Fe_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, $Fe(NO_3)_3$ 3 种化合物为氧化剂, 酸性氧化茶多酚制备茶黄素, 当酸性氧化剂

质量浓度为 40 mg/mL 时, 茶黄素生成量最高。

Coxon D T 等^[10]、Collier D P 等^[2]采用化学氧化(均系 $K_3Fe(CN)_6/NaHCO_3$ 为氧化剂)先后发现了 TF、TFMD、TFDG、异茶黄素、表茶黄素、表茶黄素没食子酸酯等。

3.2.2 酶法制备 屠幼英^[11]等利用响应面分析法探讨了固定化多酚氧化酶膜催化儿茶素生产茶黄素的最好反应条件, 确定了酶膜法生产高纯度茶黄素的 5 个因素(反应时间、酶与底物之比、通气量、底物浓度和 pH 值)及其最佳组合。

王坤波等^[12]利用梨果实多酚氧化酶, 研究了儿茶素组成以及温度、pH 值和底物浓度等因素对茶黄素酶催化合成的影响, 并对梨多酚氧化酶的同工酶组成进行了研究。谷记平等^[13]选用分别来自茶鲜叶、梨和苹果的多酚氧化酶, 在 pH 4.8 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液单相体系和由 pH 4.8 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲溶液单相体系与乙酸乙酯组成的双相体系中, 对茶多酚进行酶催化反应制备茶黄素。

李适等^[14]从毛栓菌中分离得到的多酚氧化酶(PPO)用于茶黄素的体外氧化制备, 将毛栓菌 PPO 加入到儿茶素反应液中进行双液相反应, 可得到 10.19% 的茶黄素, 与茶鲜叶来源的 PPO 相比, 毛栓菌 PPO 制备茶黄素的总含量偏低, 但其中茶黄素-3-没食子酸酯的比例较高, 达到总茶黄素的 68.10%, 占脂型茶黄素总量的 92%。

Bonnely S 等^[15]利用模拟氧化体系对红茶加工过程氧化产物进行研究。茶叶本身的内源性酶作为模拟体系的酶, 除去未加工的茶叶中多酚类物质和咖啡碱, 可以获得未被破坏的多酚氧化酶(PPO)和过氧化物酶(POD)。将固定化的酶作用于茶叶中的黄烷醇, 通过高效液相色谱检测发现, 有不同的茶黄素生成, 而黄烷醇未能检测到, 利用 ¹H-NMR 对模拟体系的生成物和红茶进行对比发现两者类似, 因此模拟氧化体系可以成功模拟茶叶加工过程化学成分的变化。

Itoh N 等^[16]用漆酶(EC 1.10.3.2)催化氧化绿茶提取物与没食子酸的混合物, 用来提高绿茶粗提物作为食品原料的功能性。采用溶剂提取和柱分离对反应产物进行分离纯化, 通过 HPLC, ¹H-NMR/¹³C-NMR, MALDI-TOF MS 和 UV 分析检测, 鉴定了 epitheafalgallin 和 epitheafalgallir-3-O-gallate 两种产物。

4 分析测定

茶黄素是一类具有苯并卓酚酮结构的化合物

的总称, 因其分子式、相对分子质量各不同, 因此很难测定茶黄素的各个组分, 同时, 茶黄素又很难与茶红素及其它物质完全分离。以下对茶黄素测定方法进行了概述。

4.1 Roberts 法

Roberts 法^[17]是根据茶黄素和一部分茶红素(TRs I 型)溶解于乙酸乙酯或 4-甲基-戊酮(IBMK), 这部分可利用其能溶于碳酸氢钠溶液而分离, 茶红素(TRs II 型)留在水层。

该方法存在重复性差、测定含量值偏低的特点, 但其方法简单、试剂价格便宜且同时测定茶红素的含量, 因此被广泛采用。

4.2 α -氨基乙基二苯酸酯(Flavognost)试剂分析法

Hiton 提出的一种快速测定方法^[17]。根据茶黄素分子中的苯并卓酚酮核可以与 Flavognost 试剂产生特异性反应, 产生绿色络合物, 测定其吸光值换算成茶黄素含量。

与 Roberts 法相比, 该方法具有较好的重现性, 已被 Ellis 推荐为国际红茶最低质量标准的检测方法。但该方法受到提取液、提取温度、水的 pH 值等因素的影响, Flavognost 试剂仅与茶黄素顺式上的两个羟基结合, 使测定结果偏低, 同时 Flavognost 试剂不易购得。

4.3 氯化铝比色法

Likolecher Nkhoma J W 等^[17]用 $AlCl_3$ 代替 Flavognost 试剂, 铝盐与茶黄素复合产生红色, 于波长 525 nm 具有最大吸收, 根据吸光值折算成茶黄素含量。

该方法的测定值与 Flavognost 方法测定结构没有显著差异, 且铝盐的价格较便宜, 但样品中加入过量的铝盐会产生浑浊。

4.4 Sephadex LH 20 柱层析(Column Chromatography, CC)法

此方法是竹尾忠一^[18]提出的。该方法能有效地分离茶黄素, 而且对茶黄素的主要组分能定量, 但操作复杂。

4.5 Whitehead 法

Whitehead D L 等^[19]利用色素极性大小差异, 提出的一种快速测定茶黄素总量的方法, 该方法适于实验室和工厂的常规检测, 但测量值偏高。

4.6 高效液相色谱法(High performance Liquid Chromatography, HPLC)

Bailey R G 等^[20]使用光电二级管阵列检测器的反相 HPLC 研究红茶溶出物的性质, 4 种茶黄素能够得到分离纯化, 提出了 HPLC 法测定茶黄素主要

组分及其它物质的方法。HPLC法更精确,并能使各茶黄素单体得到较理想的分离。但该方法需要高纯度的茶黄素标样。

4.7 毛细管电泳法(Capillary Electrophoresis, CE)

Bee B L等^[21]首次采用毛细管电泳测定儿茶素类化合物和茶黄素类化合物。Wright L P等^[22]用非水相毛细管电泳测定红茶中的4种主要茶黄素,并对有机溶剂的组成和电解质浓度对分离效果的影响进行了研究,确定了最佳的分离溶剂组成为 V (乙腈): V (甲醇): V (乙酸)=71:25:4和90 mmol/L的醋酸铵,10 min内实现了茶黄素的基线分离,与常规毛细管电泳相比具有显著的优势。

4.8 高速逆流色谱法(High Speed Countercurrent Chromatography, HSCCC)

高速逆流色谱法可避免样品与固体载体的化学反应和死吸附等缺点,每次分离样品结束后,管道中的残留溶剂均可以冲出,不会对后续分离产生任何影响,因此高速逆流色谱法分离样品具有高的回收率^[23]。

总之,茶黄素的分析测定方法各有利弊,可以根据具体情况选择一种切实可行的分析方法。

5 分离纯化

5.1 柱层析法

Roberts E A H首先应用双向纸层析发现茶黄素,已经进行了许多茶黄素的提取和分离纯化的研究。Crispin D J等^[24]用Sephadex LH-20柱层析,采用丙酮梯度洗脱分离红茶中的茶黄素,分离出3个峰,达到分离纯化的效果。竹尾忠一^[18]应用Sephadex LH-20将红茶水浸出物进行柱层析分离,以体积分数30%、40%、50%的丙酮顺序梯度洗脱,茶黄素和其他色素达到有效分离。Collier P. D^[2]等应用两种方法,即Sephadex LH-20柱色谱+硅胶柱色谱和Sephadex LH-20柱色谱,均分离出5种茶黄素组分。

丁阳平等^[25]利用聚酰胺分离茶黄素,最佳分离条件为:上样质量分数为500 mg/50 dL聚酰胺,上样质量分数为20%,洗脱剂为甲醇:氯仿:丙酮:冰醋酸(体积比为3:5:8:0.5),采用等度洗脱,流速为0.6 BV/h,分离得到茶黄素和茶黄素-3'-没食子酸酯两组分,含量分别为93%和85%。

Wang K B等^[26]用聚酰胺薄板采用不同的展开剂实现了儿茶素(DL-C),表儿茶素(EC),表没食子儿茶素(EGC),表儿茶素没食子酸酯(EGCG),表

没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG),茶黄素(TF₁),茶黄素-3'-没食子酸酯(TF₂A),茶黄素-3'-没食子酸酯(TF₂B)和茶黄素双没食子酸酯(TF₃)9种成分的有效分离。

5.2 高速逆流色谱法

Yanagida A等^[27]用高速逆流色谱(HSCCC)对茶叶中的儿茶素和食品相关的多酚进行了分离分析,溶剂体系为叔丁醇-乙酸乙酯-乙腈和三氯乙酸,以上相有机溶剂为流动相,下相为固定相,流速为2 mL/min。结果表明单聚合儿茶素,以及它们的没食子酸酯和咖啡碱为半发酵绿茶中的主要成分,此外,疏水性的茶黄素和极性的茶红素也被检测分离出。

Wang K等^[28]用高速逆流色谱分离纯化茶黄素和儿茶素,采用 V (正己烷): V (乙酸乙酯): V (甲醇): V (水): V (乙酸)=1:5:1:5:0.25溶剂体系,下相为流动相,流量为2 mL/min,转速为700 r/min,可以从红茶或茶黄素粗提取物中成功分离4种主要的茶黄素单体,用相同的溶剂体系也可以将表没食子儿茶素没食子酸酯,没食子儿茶素没食子酸酯,表儿茶素没食子酸酯和表没食子儿茶素从绿茶中成功分离。

Yang C等^[29]用高速逆流色谱和Sephadex LH-20相结合对红茶中的主要茶黄素进行分离纯化,采用: V (正己烷): V (乙酸乙酯): V (甲醇): V (水)=1:3:1:6溶剂体系,利用高速逆流色谱可以成功分离出茶黄素(theaflavin, TF₁),茶黄素-3'-没食子酸酯(theaflavin-3-gallate, TF₂A),茶黄素-3'-没食子酸酯(theaflavin-3'-gallate, TF₂B)和茶黄素双没食子酸酯(theaflavin-3,3'-digallate, TF₃),但是TF₁中包含表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG);同样地,单独使用Sephadex LH-20能够有效的分离TF₂A,TF₂B和TF₃,但EGCG中也混有TF₁。将高速逆流色谱和Sephadex LH-20相结合能够很好分离红茶中的4种主要茶黄素。

综上所述,随着色谱技术的发展,高速逆流色谱有望成为茶黄素分离纯化的有效途径,与传统的柱色谱相结合将达到更好的分离效果。

6 功能活性

茶黄素具有很强的生理活性,有抗氧化、防癌抗癌、降血脂、预防心血管疾病、抗菌抗病毒等生理功能,甚至在某些方面的药效比儿茶素还要强。

6.1 抗氧化

茶叶抗氧化作用早已被人们认识和研究,多集

中于绿茶、绿茶提取物和茶多酚,但对茶黄素及红茶提取物的抗氧化研究较晚。

茶黄素中的酚羟基团具有很强的抗氧化活性,可以作为自由基清除剂和金属螯合剂^[30];茶黄素中没食子酸部分对它的抗氧化性贡献也很大^[31]。此外,随着茶黄素与没食子酸酯化度的提高,其抗氧化性得到明显增强。茶黄素能够有效抑制脂质过氧化,阻断脂质氧化链反应。除了能够清除自由基和螯合金属离子外,还能够明显激活一些降低脂质过氧化反应的酶活性,如谷胱甘肽-S-转移酶(GST),过氧化物酶(GPX),超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)^[32]。

Yoshino K 等^[33]应用纯化的茶黄素和茶红素对叔丁基过氧化氢(tert-butyl hydroperoxide)诱导鼠肝匀浆脂质过氧化进行抗氧化活性研究。结果显示 TF₁、TF-3-G 和 TR_s 抑制脂质氧化达 50% (IC₅₀) 的质量分数分别为 $4.88 \times 10^{-4}\%$ 、 $4.09 \times 10^{-4}\%$ 和 $4.95 \times 10^{-4}\%$,其抗氧化活性比谷胱甘肽、抗坏血酸、生育酚、二丁基羟基甲苯(BHT)、丁基茴香醚(BHA)强,但比 ECG、EGC 和 EGCG 弱。

Yishida H 等^[34]用茶类黄酮化合物处理巨噬细胞或人内表皮细胞研究细胞低密度脂蛋白氧化能力,结果显示:抑制细胞低密度脂蛋白氧化能力的顺序是 TF-3, 3'-DG > TF₁ > EGCG > EGC > GA (没食子酸), TF-3, 3'-DG 抑制巨噬细胞低密度脂蛋白氧化的机理是降低了巨噬细胞过氧化物的产生,并显著的络合铁离子的缘故。

Miller N J^[35]采用 ABTS⁺ 方法研究了茶黄素和它的没食子酸酯抗氧化能力,结果显示:抑制低密度脂蛋白氧化能力的顺序是 TF-3, 3'-DG > TF₁ = TF₂ > TF。

有人等研究了茶黄素及其没食子酸酯在由过氧化氢诱导氧化损坏的 HPF-1 细胞中的清除自由基能力和抗氧化性^[36]。结果表明:对羟基自由基的清除能力依次为 TF₃ > TF₂ > TF₁ > EGCG,而对 DPPH 自由基的清除能力依次为 TF₃ > TF₂ > EGCG > TF₁,在由过氧化氢诱导氧化损坏的 HPF-1 细胞中 TF₃、TF₂ 和 TF₁ 比 EGCG 显示更好的抗氧化性。

6.2 防癌抗癌

Hibassmi H^[37]等发现茶黄素可以抑制胃癌细胞 KATO 的生长,并诱导凋亡。通过形态学变化观察可以看到细胞凋亡体。Lu JB^[38]等在比较 4 种主要茶黄素对正常细胞和癌细胞的生长、凋亡、基因表达的作用时发现:茶黄素单没食子酸酯能抑制

突变体细胞 W138VA(W138 突变体)和 Caco-2 结肠癌细胞的生长,但对相应的正常细胞没有影响。

茶黄素的抗癌防癌作用是通过作用于特定的细胞信号通路来控制转录因子,如激活蛋白(AP-1)和核因子(NF- κ B),从而可以调控细胞的增殖,凋亡^[39]。

6.3 降血脂、抗心血管疾病

茶黄素可以通过改善红细胞变形性,调节红细胞聚集性及血小板的粘附聚集性,降低血糖黏度,从而降低血液的黏度,改善微循环,保障组织血液和氧的供应,提高机体整体的免疫力和组织代谢水平,达到预防心脑血管疾病的目的。

吴中松等^[40]证实了茶黄素能显著降低高酯动物血清中的三酸甘油酯、低密度脂蛋白,提高高密度脂蛋白。Maron D J 等^[41]研究指出,茶叶中提取的茶黄素具有降血脂的效果。

茶黄素是从茶叶中找到具有确切药理作用的化合物。经过临床试验,验证了茶黄素具有调节血脂、预防心脑血管疾病的功效,而且无毒副作用。

6.4 抗菌

Toda M 等^[42]证实了茶黄素对金黄色葡萄球菌有抑制作用。Yam T S 等^[43]也证实了红茶中的茶黄素有很好的抑菌性能。

Taguri T 等^[44]研究了 10 种植物多酚[epigallocatechin(1), epigallocatechin 3-O-gallate(2), punicalagin(3), tannic acid(4), castalagin(5), prodelphinidin(6), geraniin(7), procyanidins(8), 茶黄素(9)和用枇杷多酚氧化酶处理的茶多酚(10)]对食物中致病细菌(金黄色葡萄球菌,沙门氏菌,大肠杆菌和弧菌)的抑制作用。结果表明 1, 2, 5 和 6 种多酚具有相对低的最小抑菌浓度。

Friedman M 等^[45]对 7 种儿茶素单体, 4 种主要茶黄素和各种茶的水粗提物对蜡样芽孢杆菌的抑菌效果进行了研究,结果表明:茶的抑菌效果主要取决于茶叶中的儿茶素和茶黄素,且抑菌效果超过了药用抗生素如四环素和万古霉素。

6.5 抗病毒

Nakayama M 等^[46]发现茶黄素双没食子酸酯对流感病毒有一定的抑制作用,其机理是抑制病毒吸附在细胞上,而不是抑制病毒在细胞中的复制。

Liu S W^[47]等研究表明茶黄素抑止 HIV-I 病毒的能力优于儿茶素,并且指出茶黄素衍生物有望开发成为 HIV-I 病毒的抑止剂。Chen C N^[48]等研究表明茶黄素双没食子酸酯可抑止 SARS 病毒。

7 结 语

中国是最早发现茶树,最早采制茶叶和饮用茶汤的国家,茶的利用具有悠久的历史,同时也是茶叶生成大国,茶叶资源丰富。近年来,随着对茶叶中茶黄素的研究不断深入,人们对其功能性质和生理活性有了更多的了解,茶黄素在药品、食品和化

妆品等领域的应用越来越广泛,具有很好的市场前景。茶黄素作为茶叶中的一种重要成分,如何在低成本上提高茶黄素的产率和纯度仍是茶黄素研究中的主要问题。随着多酚氧化酶催化反应的研究,酶催化合成茶黄素将是未来研究的热点。在茶黄素药理学活性研究的基础上,用茶黄素或其衍生物生产天然高效的药品也将是今后研究的重点。

参考文献(References):

- [1] Roberts E A H. The phenolic substances of manufactured tea(I) [J] . **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 1957, 8: 72- 80.
- [2] Collier P D, M allows R, Korver O, et al. The theaflavins of black tea[J] . **Tetrahedron**, 1973, 29: 125- 142.
- [3] 石碧,狄莹. 植物多酚[M] . 北京: 科学出版社, 2000.
- [4] 潼野庆则,今川. 茶叶儿茶酚氧化机制的研究[J] . 日本农艺学会志, 1963, 37: 417.
Tong Ye Qing Ze, Jin Chuan. Study on the oxidation mechanism of tea catechins[J] . **The Japan Society of Agronomy**, 1963, 37: 417. (in Chinese)
- [5] Sanderson G W. The chemistry of tea and tea manufacturing [M] . New York: Academic Press, 1972, 247- 316.
- [6] 施兆鹏主编. 茶叶加工学[M] . 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [7] 严鸿德,汪东风,王泽农,等. 茶叶深加工技术[M] . 北京: 中国轻工业出版社, 1998.
- [8] 李立祥, 萧伟祥. 茶多酚双液相氧化制备茶色素工艺研究[J] . 南京农业大学学报, 2004, 27(2): 99- 104.
Li Li xiang, Xiao Wei xiang. Study on technology of preparation and extraction of tea pigments from tea polyphenols oxidized in two liquid phase system[J] . **Journal of Nanjing Agricultural University**, 2004, 27(2): 99- 104. (in Chinese)
- [9] 张建勇, 江和源, 江用文. 茶黄素的酸性氧化形成研究[J] . 食品科学, 2008, 29(1): 50- 54.
ZHANG Jian yong, JIANG He yuan, JIANG Yong wen. Study on formation of theaflavins with acidic oxidation[J] . **Food Science**, 2008, 29(1): 50- 54. (in Chinese)
- [10] Coxon D T. The constitution and configuration of theaflavins pigments of black tea[J] . **Tetrahedron lett**, 1970: 5237- 5240.
- [11] 屠幼英,方青,梁惠玲,等. 固定化酶膜催化茶多酚形成茶黄素反应条件优选[J] . 茶叶科学, 2004, 24(2): 129- 134.
TU You ying, FANG qing, LANG Hui ling, et al. Selection of optimum conditions for theaflavin transformation from tea polyphenol through immobilized enzyme membrane[J] . **Journal of Tea Science**, 2004, 24(2): 129- 134. (in Chinese)
- [12] 王坤波, 刘仲华, 赵淑娟, 等. 梨多酚氧化酶同工酶组成及其对茶黄素合成的影响[J] . 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2007, 33(4): 459- 462.
WANG Kun bo, LIU Zhong hua, ZHAO Shu juan, et al. The effect of PPO isoenzyme on the formation of theaflavin during in vitro oxidation[J] . **Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences**, 2007, 33(4): 459- 462. (in Chinese)
- [13] 谷记平, 刘仲华, 黄建安, 等. 单双液相下不同多酚氧化酶源对酶性合成茶黄素的影响[J] . 茶叶科学, 2007, 27(1): 76- 82.
GU Ji ping, LIU Zhong hua, HUANG Jian an, et al. Influence of different enzyme origin on the enzyme catalysing synthesizing of theaflavins in single and two liquid phases systems [J] . **Journal of Tea Science**, 2007, 27(1): 76- 82. (in Chinese)
- [14] 李适, 刘仲华, 黄建安, 等. 毛茛菌多酚氧化酶酶学性质及茶黄素的酶促合成研究[J] . 茶叶科学, 2008, 28(5): 326- 330.
LI Shi, LIU Zhong hua, HUANG Jian an, et al. Research on enzymatic nature of polyphenol oxidase from *Trametes Troglit* and the enzymatic synthesis of theaflavins[J] . **Journal of Tea Science**, 2008, 28(5): 326- 330. (in Chinese)
- [15] Bonnely S, Davis A L, Lewis J R, et al. A model oxidation system to study oxidised phenolic compounds present in black tea[J] . **Food Chemistry**, 2003, 83(4): 485- 492.

- [16] Itoh N, Katsube Y, Yamamoto K, et al. Laccase catalyzed conversion of green tea catechins in the presence of gallic acid to epigallocatechin gallate and epigallocatechin gallate 3-O-gallate[J]. **Tetrahedron**, 2007, 63(38): 9488–9492.
- [17] 钟萝. 茶叶品质理化分析[M]. 上海: 上海科技出版社, 1989: 293–321.
- [18] 竹尾忠一. 茶黄素的分离与定量[J]. 茶叶技术研究, 1973, 45: 46–47.
Zhu wei zhong yi. Separation of theaflavins and quantitative[J]. **Tea technology research**, 1973, 45: 46–47. (in Chinese)
- [19] Whitehead D L, Catherine M T. Rapid method for measuring thearubigins and theaflavins in black tea using C18 sorbent cartridges[J]. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 1992, 53: 411–414.
- [20] Bailey R G, Nursten H E, McDowell I. Comparative study of the reversed phase high performance liquid chromatography of black tea liquors with special reference to the thearubigins[J]. **Journal of chromatography**, 1991, 542: 115–128.
- [21] Bee B L, Ong C N. Comparative analysis of tea catechins and theaflavins by high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis[J]. **Journal of Chromatography A**, 2000, 881(1-2): 439–447.
- [22] Wright L P, Aucamp J P, Apostolides Z. Analysis of black tea theaflavins by non-aqueous capillary electrophoresis[J]. **Journal of Chromatography A**, 2001, 919(1): 205–213.
- [23] 曲文娟, 马海乐. 茶黄素形成机理、制备与分析方法的研究进展[J]. 食品工业科技, 2006, 27(6): 197–201.
QU Wenjuan, MA Hailue. Research progresses in theaflavin forming mechanism, its preparation and analysis[J]. **Science and Technology of Food industry**, 2006, 27(6): 197–201. (in Chinese)
- [24] Crispin D J. The separation of theaflavins on sephadex LH 20[J]. **Journal of Chromatography**, 1971, 54: 133–135.
- [25] 丁阳平, 刘仲华, 黄建安. 聚酰胺分离纯化茶黄素类物质研究[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 55–57.
DING Yangping, LIU Zhonghua, HUANG Jianan. Study on separation and purification of theaflavins by polyamide[J]. **Food Science**, 2007, 28(12): 55–57. (in Chinese)
- [26] Wang K B, Liu Z H, Huang J A, et al. TLC Separation of Catechins and Theaflavins on Polyamide Plates[J]. **JPC Journal of Planar Chromatography Modern TLC**, 2009, 22(2): 97–100.
- [27] Yanagida A, Shoji A, Shibusawa Y, et al. Analytical separation of tea catechins and food related polyphenols by high speed counter current chromatography[J]. **Journal of Chromatography A**, 2006, 1112(1-2): 195–201.
- [28] Wang K, Liu Z, Huang JA, et al. Preparative isolation and purification of theaflavins and catechins by high speed counter current chromatography[J]. **Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 2008, 867(2): 282–286.
- [29] Yang C, Li D, Wan X. Combination of HSCCC and Sephadex LH 20 methods - An approach to isolation and purification of the main individual theaflavins from black tea[J]. **Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, 2008, 861(1): 140–144.
- [30] 尤新. 食品抗氧化剂与人体健康[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(2): 1673–1689.
YOU Xin. Food antioxidants and their influence to human health[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(2): 1673–1689. (in Chinese)
- [31] Shiraki M, Hara Y, Osawa T, Kumon H, et al. Antioxidative and antimutagenic effects of theaflavins from black tea[J]. **Mutation Research**, 1994(2), 323: 29–34.
- [32] Saha P, Das S. Regulation of hazardous exposure by protective exposure: modulation of phase II detoxification and lipid peroxidation by camellia sinensis and swertia chirata[J]. **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis Supplement**, 2003, 1: 313–322.
- [33] Yoshino K, Hara Y, Sano M, et al. Antioxidative effects of black tea theaflavins and thearubigin on lipid of rat liver homogenates induced by tert-butyl hydroperoxide[J]. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 1994, 17(1): 146–149.
- [34] Yoshida H, Ishikawa T, Hosoi H, et al. Inhibitory effect of tea theaflavins on the ability of cells to oxidize low density lipoprotein[J]. **Biochemical Pharmacology**, 1999, 58(11): 1695–1703.
- [35] Miller N J, Castelluccio C, Tijburg L, et al. The antioxidant properties of theaflavins and their gallate esters radical scavengers or metal chelators[J]. **FEBS letters**, 1996, 392(1): 40–44.
- [36] Yang Z, Jie G, Dong F, et al. Radical scavenging abilities and antioxidant properties of theaflavins and their gallate esters in H₂O₂ mediated oxidative damage system in the HPF 1 cells[J]. **Toxicology in Vitro**, 2008, 22(5): 1250–1256.
- [37] Hibasami H, Komiya T, Achiwa Y, et al. Black tea theaflavins induce programmed cell death in cultured human stomach

- cancer cells[J]. **International Journal of Molecular Medicine**, 1998, 1(4): 725– 727.
- [38] Lu J B, Ho C T, Ghai G, et al. Differential effects of theaflavin monogallates on cell growth, apoptosis, and Cox 2 gene expression in cancerous versus normal cells[J]. **Cancer Research**, 2000, 60(22): 6455– 6471.
- [39] Park A M, Dong Z. Signal transduction pathways: targets for green and black tea polyphenols [J]. **Journal of biochemistry and molecular biology**, 2003, 36(1): 66– 77.
- [40] 吴中松, 张祥溢. 茶色素对血液流变性影响的临床观察[J]. 中国血液流变学, 1998, 8(1): 48– 50.
WU Zhong-song, ZHANG Xiang-yi. A clinical observation on the effect of tea pigment on hemorheology [J]. **Chinese Journal of Hemorheology**, 1998, 8(1): 48– 50. (in Chinese)
- [41] Maron D J, Lu G P, Cai N S, et al. Cholesterol lowering Effect of a Theaflavin enriched green tea extract a randomized controlled trial [J]. **Archives of Internal Medicine**, 2003, 163(23): 1448– 1453.
- [42] Toda M, Okubo S, Hara Y, et al. Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* [J]. **Nippon Saikingaku Zasshi**, 1991, 46(5): 839– 845.
- [43] Yam T S, Shah S, Hamilton M. Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*) and of tea components [J]. **FEMS Microbiology Letters**, 1997, 152(1): 169– 174.
- [44] Taguri T, Tanaka T, Kouno I. Antimicrobial activity of 10 different plant polyphenols against bacteria causing food borne disease [J]. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, 2004, 27(12): 1965– 1969.
- [45] Friedman M, Henika P R, Levin C E, et al. Antimicrobial activities of tea catechins and theaflavins and tea extracts against *Bacillus cereus* [J]. **Journal of Food Protection**, 2006, 69(2): 354– 361.
- [46] Miki N, Kenji S, Masako T, et al. Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols [J]. **Antiviral Research**, 1993, 21(4): 289– 299.
- [47] Liu S W, Lu H, Zhao Q, et al. Theaflavin derivatives in black tea and catechin derivatives in green tea inhibit HIV-1 entry by targeting gp41 (vol 1723, pg270, 2005) [J]. **Biochimica Et Biophysica Acta General Subjects**, 2007, 1770(2): 312– 312.
- [48] Chen C N, Lin P C, Huang K K, et al. Inhibition of SARS CoV 3C-like protease activity by theaflavin 3, 3'-digallate (TF3) [J]. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, 2005, 2(2): 209– 215.