

## 普洱生茶和普洱熟茶对小鼠减肥降脂作用的差异

阮瑶, 刘武康, 张新帅, 李群, 刘玲, 郭爱玲\*

(华中农业大学 武汉 420000)

**摘要** 普洱茶及其成分的减肥、降脂效果早已众所周知,然而对普洱茶不同品系的减肥、降脂效果研究较少。本实验采用两种差异比较明显的普洱茶,即普洱生茶和普洱熟茶,制备茶汤来饲喂高脂饮食的 C57BL6/J 小鼠,观察两种茶汤干预效果的差异。结果表明,两种茶叶不仅能够降低血液中的脂肪指标、脏器组织变化、以及肠道菌群方面表现出有效的抗肥胖作用,而且两种茶叶之间的干预功效也有较大差异。用普洱生茶饲喂小鼠 2 周后可以降低其血液中 TC 和 TG 水平,而用普洱熟茶饲喂小鼠 8 周后才出现该效果。普洱生茶能够降低血液中 LDL-C 的水平,而普洱熟茶能够提高 HDL-C 的水平。在肝脏脂质代谢中,普洱生茶与普洱熟茶都能有效减少小鼠肝脏中脂肪液滴的生成。饲喂小鼠 8 周后,普洱生茶显著上调了其肠道菌群中的阿克曼氏菌属、*norank\_f\_Muribaculaceae*、拟杆菌属的丰度,显著下调了罗伯布茨菌属的丰度;普洱熟茶能够显著上调了肠道菌群中的乳酸杆菌属、*norank\_f\_Muribaculaceae* 的丰度,显著下调了罗伯布茨菌属、*Erysipelatoclostridium* 的丰度。

**关键词** 普洱茶; 减肥; 小鼠; 生化指标; 肠道菌群

**文章编号** 1009-7848(2023)04-0116-11 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.04.012

目前肥胖仍是影响公共健康的元凶之一,在世界范围内,影响超过 6.5 亿人<sup>[1]</sup>,而导致肥胖的原因多是因不健康的饮食方式,且与能量的过量摄入有关<sup>[2]</sup>。早期研究已经证明通过饮食所导致的肥胖与肠道菌群密切相关<sup>[3]</sup>。虽然在肠道菌群属水平上的种类丰度的相关性趋势会受实验设计的影响<sup>[1]</sup>,但是从大体上看,*F/B* 的比率【即厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)丰度的比率】在动物实验中被证明与肥胖直接关联<sup>[4]</sup>。之后的研究还发现饮用多酚含量较高的茶饮料对肠道菌群代谢机制有显著影响<sup>[5]</sup>,具体体现在:90%以上的多酚在人体的肠腔中不会被吸收,积累在肠道中的多酚会经受肠道菌群的酶促代谢作用<sup>[6]</sup>。普洱茶的减肥降脂作用以及对人体的作用也有诸多报道<sup>[7-9]</sup>。近期的研究还发现通过饮用茶饮料会先对高脂膳食个体的肠道菌群起到调节作用,而后会反过来对机体起到减肥、降脂的作用<sup>[10-11]</sup>。

普洱茶在中国是一种畅销的茶叶消费品,拉丁文名为 *Camellia sinensis var. assamica (Mast.) Kitamura*。由于普洱茶本身特殊的渥堆发酵工艺,

造就了该茶中含有比同类发酵茶更加丰富的化学活性成分<sup>[12]</sup>,不仅造就了普洱茶本身独特的风味,也使其在茶叶界脱颖而出<sup>[13]</sup>。根据发酵程度的不同,普洱茶的茶叶产品细分为不同的品种,其中,普洱熟茶经过充分渥堆发酵,而普洱生茶未经发酵流程<sup>[14]</sup>。普洱茶的渥堆发酵流程是直接导致普洱发酵茶和未发酵茶之间感官品质显著差异的主要原因,而这种显著差异也体现在其发酵作用所导致的化学成分差异<sup>[15]</sup>。通过日常的热水浸泡茶叶的方法,普洱茶的茶汤能够对人体产生多种健康功效<sup>[8-9,16]</sup>,以及各种潜在的药理作用,例如:降血糖<sup>[17-18]</sup>、抗癌<sup>[19]</sup>、降血压<sup>[20-21]</sup>、减轻动脉粥样硬化<sup>[22]</sup>的作用。

虽然普洱茶对肥胖个体的减肥降脂作用已有诸多报道,然而其调控肥胖的作用在肠道菌群方面的报道并不多,并且不同品种普洱茶之间的成分差异也十分显著,其调节作用的差异性可能会很明显。本研究的目的是通过普洱生茶和普洱熟茶干预高脂膳食的小鼠,利用高通量测序技术分析其肠道菌群的种类及丰度的变化,为今后进一步研究普洱茶对肥胖个体基于肠道菌群的健康作用提供参考。

收稿日期: 2022-04-21

基金项目: 中央高校基础研究项目(2662019PY067)

第一作者: 阮瑶,男,硕士生

通信作者: 郭爱玲 E-mail: ailingguo234@163.com

## 1 材料和方法

### 1.1 茶汤的准备

普洱茶叶产自云南省勐海县的大益普洱饼茶,选取 2016 年生产的普洱生茶和 2016 年的普洱熟茶。通过本研究先前的浸提优化条件,普洱生茶和普洱熟茶均选取了茶水质量比 1:20,在 90 °C 水浴条件下,加热 50 min 后,过滤获取浸提茶汤。测得普洱生茶茶汤中总黄酮质量浓度为 (5 929.79±200.23) mg/L,总多酚质量浓度为 (5 544.72±350.56) mg/L,咖啡因质量浓度为 (40.10±1.43) mg/L,游离氨基酸质量浓度为 (498.00±41.45) mg/L;普洱熟茶茶汤中总黄酮质量浓度为 (1 247.47±242.86) mg/L,总多酚质量浓度为 (2 239.25±183.21) mg/L,咖啡因质量浓度为 (28.73±1.36) mg/L,游离氨基酸质量浓度为 (157.51±2.38) mg/L。通过以上条件制备得到的茶汤直接用于小鼠灌胃干预。

### 1.2 动物实验设计

实验动物选取 6 周龄的 C57BL/6 雌性小鼠 60 只,其中 C57BL/6 小鼠、无特定病原体生长环境 (SPF 生长环境) 均由华中农业大学动物实验中心提供,许可证号:SYXK(E)2019-0044。普通饲料和高脂饲料由北京科奥协力有限公司提供,具体配方见表 1。

小鼠在 SPF 环境下生长,室内温度为 (22±1) °C,每日昼夜光照时间 12 h。购得 60 只小鼠后经过 1 周时间的环境适应,根据不同饲育时间(饲育 4 周和 8 周)、不同饲料(普通饲料、高脂饲料)、不同饮水(生理盐水、普洱生茶、普洱熟茶),将动物实验分为 12 组( $n=5$ )。以上小鼠每隔 5~7 d 称量 1 次体质量,其中普洱生茶浸提茶汤和普洱熟茶浸提茶汤均以灌胃方式饲喂高脂膳食的小鼠,参考 Wang 等<sup>[18]</sup>用普洱茶汤对动物的毒性剂量以及本研究的预实验,每只小鼠灌胃茶汤的量为 25 mL/(g·d),并以灌胃生理盐水作为空白对照。

在小鼠对应饲育 2,4,6,8 周时进行尾尖取血,收集血浆于 -20 °C 暂存,至次日直接用于试剂盒检测。在对应饲喂 4 周和 8 周后,将小鼠断脊椎处死,取其肝脏和肾脏部分放置于福尔马林溶液中保存;取其结肠部分,用液氮速冻后保存至 -80 °C 条件中,等待后续分析。

表 1 高脂饲料配方

组成成分	进料比/ g·kg <sup>-1</sup>	
	TP23522	TP23520
酪蛋白	190	258
玉米淀粉	480	0
麦芽糊精	118	162
蔗糖	65	89
豆油	24	32
猪油	19	317
纤维素	47	65
矿物质	43	58
维生素	9	13
L-苏氨酸	3	4
胆碱酒石酸氢盐	2	3
叔丁基对苯二酚	0.01	0.07
	Total: 1 000	Total: 1 000
饲料主要成分	热量占比/%	
	TP23522	TP23520
蛋白质	20	20
碳水化合物	70	20
油脂	10	60
饲料	TP23522	TP23520
热量/kcal·g <sup>-1</sup>	3.9	5.3

### 1.3 生化分析

收集的血浆分别测定其 TC、TG、HDL-C、LDL-C 的含量,通过南京建成生物科技公司售卖的试剂盒测定。

### 1.4 组织分析和形态计量学

将收集的肝脏和肾脏部分的所有样品送至武汉塞维尔生物科技有限公司作 H&E 染色。先将样品进行石蜡包埋后切成薄片,最后再通过苏木精-伊红染色法对切片进行染色。得到的染色切片在显微镜下进行观察并获得图片(随机选取 3 处),并通过 Image-Pro plus 软件对获得的图片进行处理并计算。

### 1.5 肠道菌群分析

将收集到的结肠部分中的内容物在无菌条件下用无菌生理盐水冲洗,将每个分组的结肠内容物合并到一起送至上海美吉生物医药科技有限公司做菌种多样性分析。采用 16S rRNA 基因引物

338F 和 806R 来扩增细菌的 V3-V4 区,这两种引物的序列分别是(5'-barcodeACTCCTACGGGAG-GCAGCA-3') 和 (5'-GGACTACHVGGGTWTC-TAAT -3'), 并利用 Illumina MiSeq PE250 测序仪进行 Miseq 扩增子测序, 并通过 FLASH、fastq 软件对测得序列数据进行拼接、质控、去接头之后, 获得有效序列数据, 再通过 Uparse 软件对测序结果中 97%相似度的非重复结果进行 OTU 聚类, 通过 RDP Classifier 比对 Sliva 细菌数据库, 获得每个 OTU 对应的物种在各个分类学水平上的分类信息, 并用 R 语言工具统计和作图, 获得图表结果。

### 1.6 数据分析

通过 IBM SPSS Statistics 25 和 Origin 2018 软件对数据的显著性差异进行处理分析、作图, 计算出平行和重复数据的均值和标准差, 并采用 ANOVA(方差分析)进行组间差异的显著性分析, 通过  $P$  值来判断其差异显著的统计学意义, 不同程度的显著性以不同的 \* 号在图表中标注: 其中 “\*” 代表  $P < 0.05$ , “\*\*” 代表  $P < 0.01$ , “\*\*\*” 代表  $P < 0.001$ 。

## 2 结果与分析

肥胖和超重被认为是一种对人体健康有害的恶性脂肪积累, 会导致 2 型糖尿病、高血压、心血管疾病、非酒精性脂肪肝等疾病<sup>[23]</sup>, 茶饮料对人体的健康调节作用早已众所周知, 并且饮茶通过预防肥胖、糖尿病等代谢综合征来控制体重<sup>[24]</sup>, 近期的一些实验也证明了普洱茶能够对一些代谢紊乱个体的肠道菌群起到显著调节作用<sup>[25-26]</sup>。与此同时, 普洱茶的减肥降脂作用也已经得到广泛认可, 而且普洱茶也能够对饮食肥胖个体的肠道菌群起到明显的改变作用<sup>[11]</sup>。

### 2.1 普洱生、熟茶对小鼠血浆中脂肪相关指标的影响

为了探究两种不同的普洱茶的抗肥胖功效, 分别用一定浓度的普洱生茶和普洱熟茶来干预高脂饮食的 C57BL/6 雌性小鼠。从图 1 可以看出, 经过 8 周的高脂饲喂后, 高脂空白组 (HFD) 小鼠的体质量显著高于正常空白组 (ND) 以及高脂生茶组 (HFD-RAPT) 和高脂熟茶组 (HFD-RIPT) 的小

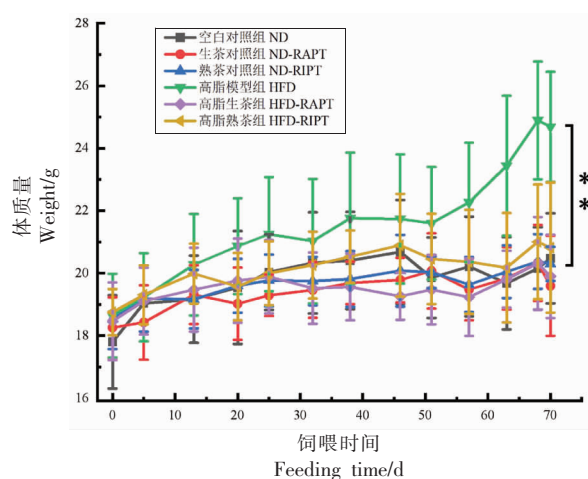


图 1 不同条件下的小鼠体质量变化

Fig.1 The change in the body weight of mice in different condition

鼠体质量 ( $P < 0.005$ )。

在各个分组小鼠的血浆中所检测到的 TC、TG、HDL-C、LDL-C 含量, 在饲喂的不同阶段也表现出显著差异, 如图 2 所示。其中, 在图 2a 与图 2b 中, TC、TG 指标在饲育 2 周, 仅表现出普洱生茶的显著干预作用 ( $P < 0.05$ ), 在饲育 8 周后, 才表现出两种茶的显著干预作用 ( $P < 0.005$ ); 而在图 2c 中, LDL-C 指标仅在长期饲育 8 周后才表现出普洱生茶的显著干预作用 ( $P < 0.001$ ), 在图 2d 中, HDL-C 含量从饲育开始到最后仅受到了普洱熟茶显著提高的作用 ( $P < 0.001$ )。以上结果不仅表明普洱生茶和普洱熟茶两种茶在这些指标上的显著影响, 而且这两种茶的影响之间也表现出显著差异。

从以上 4 个饲育时期的脂肪指标可以看出, 受高脂饮食的影响、普洱生熟茶的干预, 以及小鼠生长的不同时期, 都没有表现出明显的均一性。例如, TC 和 TG 指标在 2 周和 4 周就出现了显著差异, 而 HDL-C 和 LDL-C 指标在 8 周才表现出显著差异, 而且普洱生茶与普洱熟茶之间也表现出了一定的差异性, 这说明在高脂饮食条件下, 以上的这些脂肪指标并没有受到相似的影响, 说明对其影响的机理可能存在差异。由于普洱生茶和普洱熟茶两种茶之间成分差异显著, 经过后发酵阶段的普洱熟茶中的多酚和黄酮类物质都显著少于普洱生茶, 而普洱熟茶经过真菌作用分解又会生

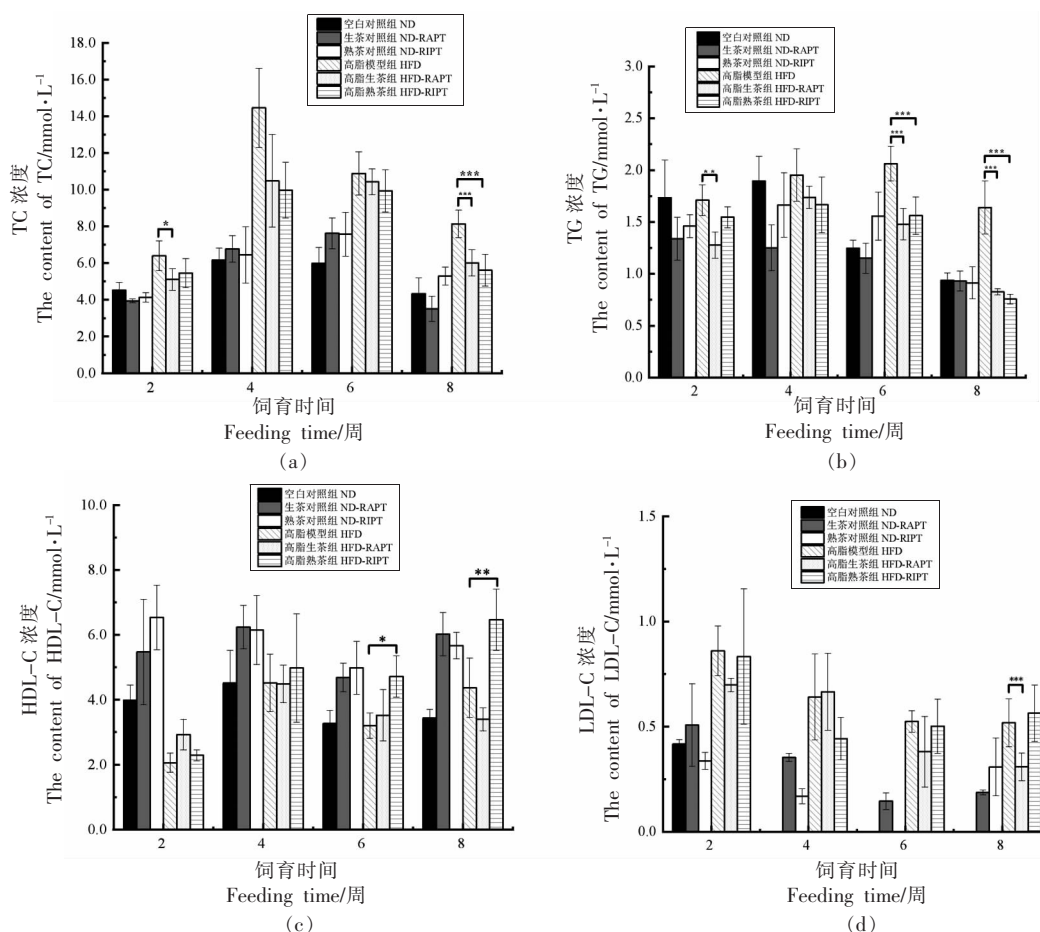


图 2 不同饲养周期的小鼠血清中 TC(a), TG(b), HDL-C(c), LDL-C(d) 的含量

Fig.2 TC(a), TG(b), HDL-C(c), LDL-C(d) content in serum of mice at different feeding time

成原本所没有的诸多代谢产物<sup>[12]</sup>。因此,可以假定普洱茶对肥胖的抑制作用与其中的某种成分物质呈正相关,虽说也已有众多实验从普洱茶中分离出了一些成分,并已经证明其减肥降脂的功效,例如:黄酮类物质<sup>[27]</sup>、没食子酸<sup>[28]</sup>、茶褐素<sup>[29]</sup>、strictinin<sup>[30]</sup>,然而以上也并未能反映减肥降脂的代谢机制差异。从本实验可以看出,普洱生茶和普洱熟茶两种茶汤之间不同的活性物质种类及含量差异,直接导致了对高脂饮食动物个体的减肥降脂的代谢机制出现明显不同,具体而言两种茶汤对血液中的 TC 和 TG 影响随着饲养时间的延长未表现出明显差别,然而对 HDL-C 和 LDL-C 的影响差别很明显。未来可以通过进一步分析茶水提取物的成分分布差异与小鼠的代谢差异进行比较分析,而不仅仅是其中的某一种物质,因此可对以上的 HDL-C 和 LDL-C 在肝脏中的代谢合成以及干预

情况进行进一步分析。

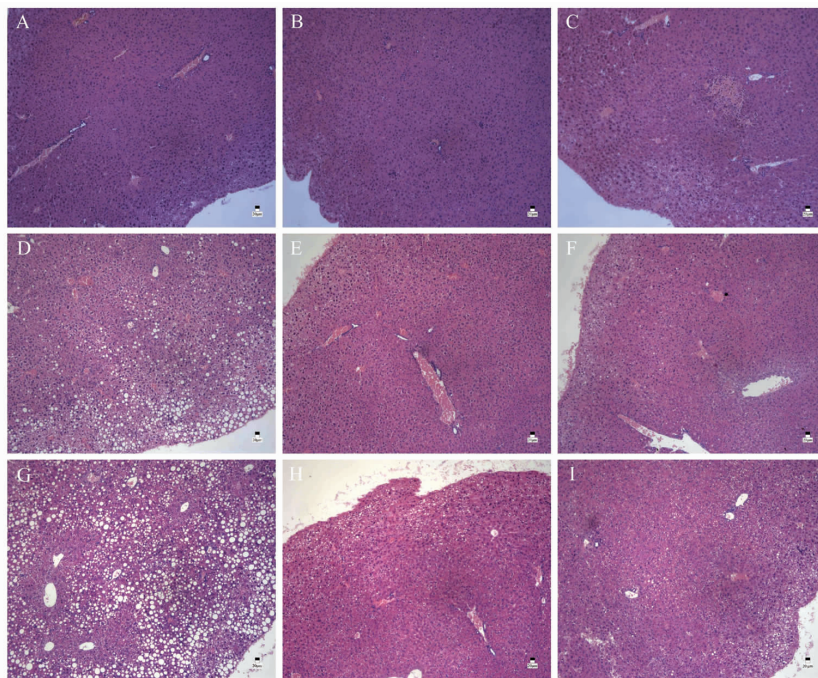
## 2.2 普洱生熟茶对小鼠脏器组织形态的影响

在各个分组的脏器染色切片结果中,通过图 3A 的肝脏切片可以看出,相比于一般饮食(ND-4w),高脂饮食(HFD-4w 和 HFD-8w)使得脂肪对肝脏有着很明显的浸润作用,并且高脂饮食干预时间越长这种浸润作用也越明显、越深入(HFD-4w 和 HFD-8w)。与此同时,通过普洱生茶和普洱熟茶对高脂饮食小鼠进行干预(HFD-RAPT 和 HFD-RIPT),可以观察到仅有少部分的脂肪液滴在肝脏表面部分出现,在肝脏的内部几乎没有发现,并且普洱生茶比普洱熟茶的干预效果更加明显。使用 Image-Pro Plus 6.0 软件对每个分组的所有肝脏切片的显微镜观察图片进行处理和分析,通过徕卡显微镜观测获取图片,在经过适度锐化处理并排除白色结缔组织部分之后,计算其中

脂肪液滴总面积。从图4A可以看出,无论是4周组还是8周组,高脂对照组(HFD-4w和HFD-8w)的脂肪渗入水平均极显著( $P<0.001$ )多于高脂生茶组(HFD-RAPT-4w和HFD-RAPT-8w)和高脂熟茶组(HFD-RIPT-4w和HFD-RIPT-8w)。这充分说明在高脂饮食条件下,普洱生茶和普洱熟茶能够通过抑制肝脏中脂肪液滴的生成,进而对肝脏起到有效的保护作用。肝脏在脂质代谢中起到关键作用。肝脏的脂肪液滴内容物由三酰基甘油和固醇酯组成,其形成的主要原因是由肝脏细胞中的内质网脂质双分子层中不断增长的脂肪晶体所形成的独立细胞器,后通过跨膜蛋白和 seipin 运送至细胞外<sup>[31]</sup>。出现肝脏中的脂肪滴渗透现象,与机体的脂肪摄入过量有关,导致肝脏细胞代谢平衡失调而引起脂肪的侵入和堆积<sup>[32]</sup>。

通过以下肾脏切片可以看出,影响较为明显的是其肾周脂肪的变化,图3B中随着高脂饲养时间的延长,可以看出与一般饮食(ND)相比,脂肪细胞会变得较为松散和肥大(HFD-4w和HFD-8w),与此同时,通过普洱生茶和普洱熟茶对高脂

饮食小鼠进行干预(HFD-RAPT和HFD-RIPT),可以观察到肾周脂肪转变明显相对攒聚而且紧缩。可以更直观地观察到,普洱生茶和普洱熟茶均能够有效抑制肾周脂肪的增长。使用Image-Pro Plus 6.0软件对肾脏切片的显微镜观察图片进行处理和分析,选取每组重复带有肾周脂肪的图片,然后对图片进行适度锐化处理,再尽可能多的点选其中细胞膜比较完整的脂肪细胞,对选中的部分计算其平均面积。从图4B可以看出,无论是4周组还是8周组,高脂对照组(HFD-4w和HFD-8w)的脂肪细胞渗入水平均极显著( $P<0.001$ )多于高脂生茶组(HFD-RAPT-4w和HFD-RAPT-8w)和高脂熟茶组(HFD-RIPT-4w和HFD-RIPT-8w)。以上的结果同样说明,普洱生茶和普洱熟茶均能够在高脂饮食条件下,有效抑制肾周脂肪细胞的生长,进而起到了减脂的作用。由实验结果可以看出,肝脏脂肪液滴的形成和高脂组显著高于空白组的TG和TC成分含量有关。肾脏组织周围的脂肪细胞中的内容物主要是脂肪滴,比例约占95%以上,脂肪滴中的主要成分为甘



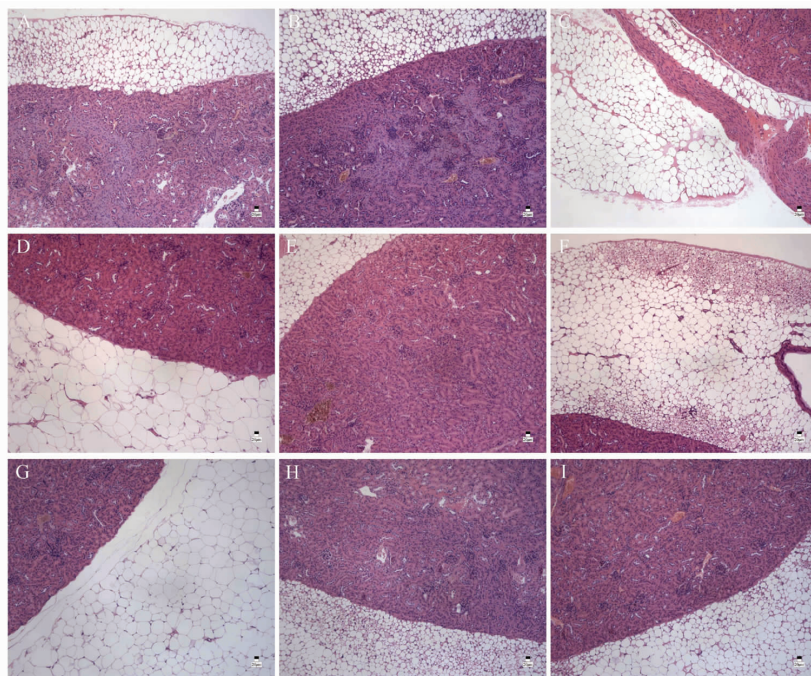
注:A:4周空白对照组(ND-4w);B:4周生茶对照组(ND-RAPT-4w);C:4周熟茶对照组(ND-RIPT-4w);D:4周高脂模型组(HFD-4w);E:4周高脂生茶组(HFD-RAPT-4w);F:4周高脂熟茶组(HFD-RIPT-4w);G:8周高脂模型组(HFD-8w);H:8周高脂生茶组(HFD-RAPT-8w);I:8周高脂熟茶组(HFD-RIPT-8w)。

图3 小鼠肝脏组织变化(100×)

Fig.3 The change in mice liver (100×)

油三酯，脂肪细胞的正常代谢也体现在甘油三酯和游离脂肪酸的循环水平上<sup>[33]</sup>，而脂肪细胞的大小和脂肪细胞的数量之比，也就是脂肪细胞的平均面积大小也决定了脂肪的质量<sup>[32]</sup>。在本实验中，

普洱生茶和普洱熟茶干预组相对于高脂组来说均表现出在 TC 和 TG 水平上的抑制作用，由此可以初步推断出普洱茶是通过调节 TC 和 TG 的变化进而改善体内肾周脂肪细胞。



注:A:4周空白对照组(ND-4w);B:4周生茶对照组(ND-RAPT-4w);C:4周熟茶对照组(ND-RIPT-4w);D:4周高脂模型组(HFD-4w);E:4周高脂生茶组(HFD-RAPT-4w);F:4周高脂熟茶组(HFD-RIPT-4w);G:8周高脂模型组(HFD-8w);H:8周高脂生茶组(HFD-RAPT-8w);I:8周高脂熟茶组(HFD-RIPT-8w)。

图 4 小鼠肾周细胞组织变化(100×)

Fig.4 The change in mice perirenal fat cells (100×)

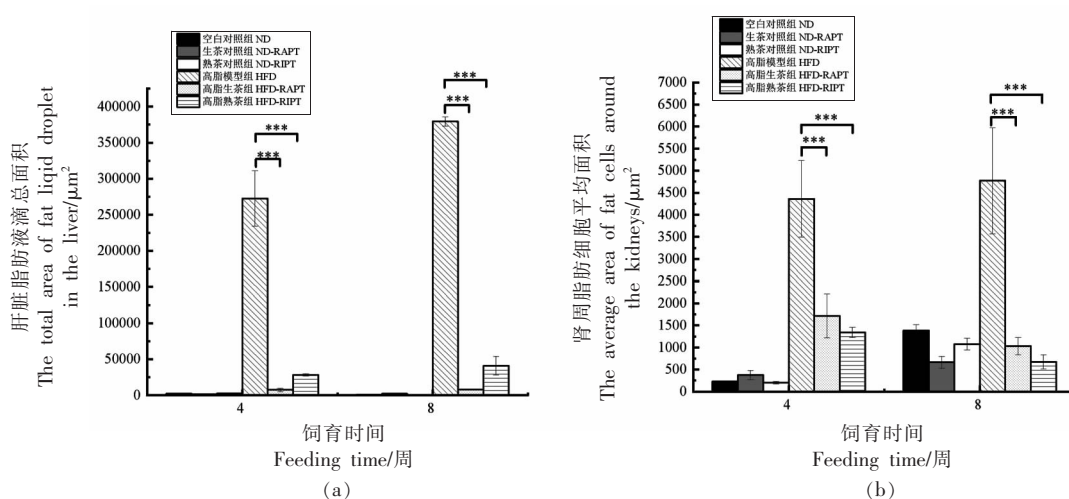


图 5 小鼠肝脏切片脂肪总面积(a)和肾周脂肪细胞平均面积(b)

Fig.5 The total area of fat liquid droplet in the mice liver (a) and the average area of perirenal fat cells (b) of mice

### 2.3 普洱生熟茶对小鼠结肠内肠道菌群的影响

本实验通过对 12 组小鼠结肠内容物进行 16S rDNA 高通量测序并进行拼接处理后,共得到 858 797 个序列。经过 97%相似度的聚类处理,结果出现 342 个 OTUs。将这些 OTUs 进行物种注释分类,这些肠道菌群样品的细菌主要分布于 10 个门,114 个属。其中有 5 个门水平分类的丰度总和占比在每个样品中均超过了 98%,分别是厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)。

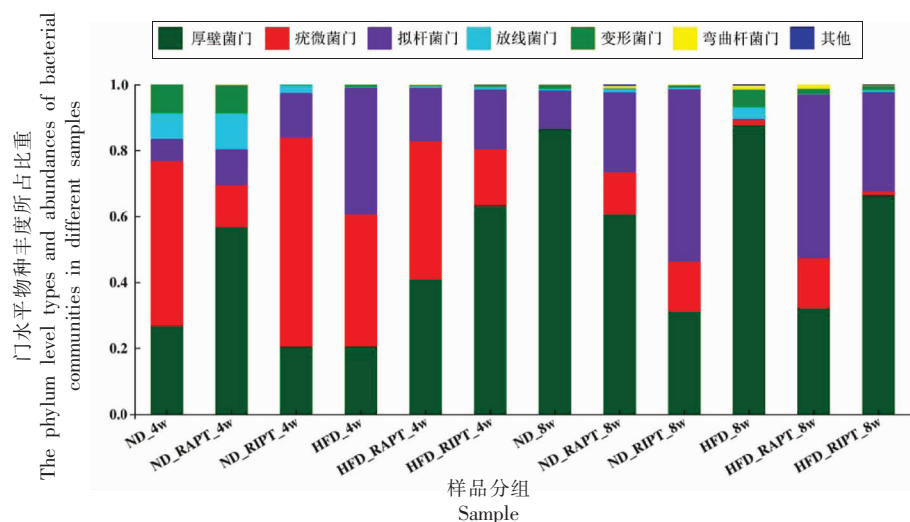
由于普洱茶中的多酚类物质在通常情况下不易被人体所吸收,会一直到达肠道部分受到部分肠道微生物代谢作用的影响,进而会影响到其它肠道微生物的生长及存活<sup>[34]</sup>。并且早已得知普洱熟茶在发酵后,其中的总黄酮和总多酚的含量相对于普洱生茶显著降低<sup>[35]</sup>。从肠道菌种多样性的结果发现,图 6 中在短期生长中的厚壁菌门(Firmicutes)与拟杆菌门(Bacteroidota)受普洱茶的影响分别是增多和降低,而在长期生长中的厚壁菌门(Firmicutes)与拟杆菌门(Bacteroidota)受普洱茶的影响分别是降低和增多,而一般来说,肥胖个体相比于正常个体以及瘦弱个体来说,出现厚壁菌门(Firmicutes)的增加和拟杆菌门(Bacteroidota)的减少<sup>[36]</sup>,然而这两种门出现相反的变化也与个体

年龄增长至青壮年阶段有关<sup>[37-38]</sup>,因此可以认为是普洱生茶与普洱熟茶在门水平上对肠道菌群起到正向调节的作用。

根据以上所获得的属水平结果,选取了结果中丰度大于 5%的 11 个菌属,有阿克曼氏菌属(*Akkermansia* spp.)、乳酸杆菌属(*Lactobacillus* spp.)、*norank\_f\_Muribaculaceae* spp.、葡萄球菌属(*Staphylococcus* spp.)、罗姆布茨菌属(*Romboutsia* spp.)、丹毒梭菌属(*Erysipelatoclostridium* spp.)、拟杆菌属(*Bacteroides* spp.)、苏黎士杆菌属(*Turicibacter* spp.)、棒杆菌属(*Corynebacterium* spp.)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter* spp.)、*Dubosiella* spp. 具体结果及分布如图 7 所示。

从结果可以看出,在 4 周饲养组中,普洱生茶显著上调乳酸杆菌属、拟杆菌属的丰度,下调 *norank\_f\_Muribaculaceae* 丰度,普洱熟茶显著上调乳酸杆菌属、拟杆菌属的丰度,下调阿克曼氏菌属、*norank\_f\_Muribaculaceae* 的丰度;在 8 周饲养组中,普洱生茶显著上调阿克曼氏菌属、*norank\_f\_Muribaculaceae*、拟杆菌属的丰度,显著下调罗姆布茨菌属的丰度,普洱熟茶能够显著上调乳酸杆菌属、*norank\_f\_Muribaculaceae* 的丰度,显著下调罗姆布茨菌属、丹毒梭菌属的丰度。

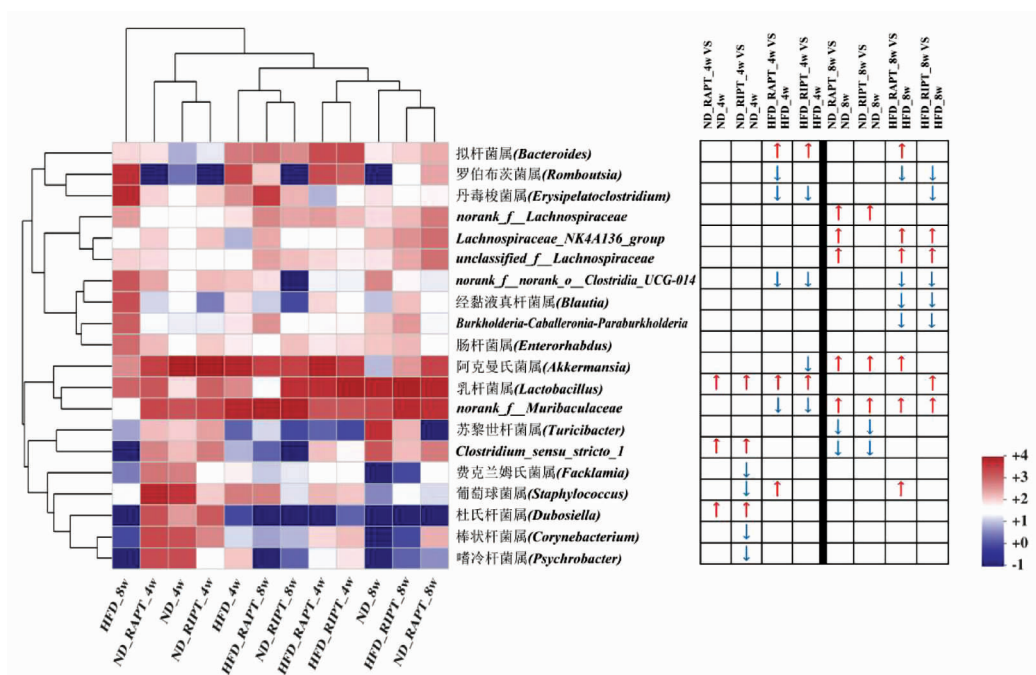
乳酸杆菌属是无芽胞的革兰氏阳性菌,早期实验已证明可以在较低含量下对大肠杆菌产生杀



注: 横轴上的 ND/HFD 分别代指普通饲料和高脂饲料饲喂, RAPT/RIPT 分别代指普洱生茶和普洱熟茶茶汤饲喂, 4w/8w 分别代指饲养时间 4 周和 8 周。

图 6 不同样本中肠道菌群的门水平种类及其丰度

Fig.6 The phylum level types and abundances of bacterial communities in different samples



注：图中 ND/HFD 分别代指普通饲料和高脂饲料饲喂，RAPT/RIPT 分别代指普洱生茶和普洱熟茶茶汤饲喂，4w/8w 分别代指饲养时间 4 周和 8 周。

图 7 不同样本肠道菌群的属水平热图分布

Fig.7 Genus level heatmap of different sample intestinal flora

菌活性<sup>[39]</sup>,此菌属中的罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)能够通过分泌有机酸来抑制肠道中病原微生物的定植,以及对肠道中共生微生物的群落组成进行重塑,还能够通过抑制促炎因子的生成以及抑制减少肠道微生物向腹腔中的移位,来预防人类炎症疾病的产生<sup>[40]</sup>并与防止骨质的流失有直接关系<sup>[41]</sup>。而在阿克曼氏菌属中,嗜粘蛋白阿克曼氏菌(*Akkermansia muciniphila*)属于研究比较多的菌种。很多实验已经证明,在肠道中,此菌属的嗜粘蛋白阿克曼氏菌(*A. muciniphila*)能够在超重或肥胖个体中,对肠道菌群起到改善作用<sup>[42-44]</sup>。并且近期 Xu 等<sup>[45]</sup>通过较为系统的综述说明了肠道中的嗜粘蛋白阿克曼氏菌(*A. muciniphila*)在体内的作用,在肥胖变化层面能够减少脂肪含量,提高胰岛素抵抗,改变脂质代谢,改善肝脏肥胖诱导的紊乱,在调节肠道菌群方面,能够提高菌群丰度,降低肠道菌群的组织渗透作用,在炎症作用方面与降低内毒素以及其它促炎因子的表达呈正相关。有人发现较低水平的拟杆菌属和肠炎相关连<sup>[46]</sup>,同时该菌属也表现出与冠心病患者的肠道

脂多糖含量呈负相关,通过进一步的荟萃分析发现肠道菌群中的普通拟杆菌(*Bacteroides vulgatus*)和多氏拟杆菌(*Bacteroides dorei*)具备潜在的预防冠心病的作用<sup>[47]</sup>。此外,种水平的多形拟杆菌(*Bacteroides thetaiotaomicron*)在调节肠神经元和肠内分泌细胞群以及神经源性结肠活动中,起到至关重要的作用<sup>[48]</sup>。近期也有实验结果显示 *norank\_f\_\_Muribaculaceae* 在菌群中,与肥胖诱导呈很强的负相关<sup>[49]</sup>。而人类肠道菌群中的 *Erysipelatoclostridium ramosum* 种也被证明在较高丰度情况下与免疫系统降低或者受损有关<sup>[50]</sup>。

### 3 结论

总的来说,两种不同品类的普洱茶对高脂饮食的小鼠进行干预,不仅在血液脂肪指标、脏器组织上表现出不同程度的减肥降脂效果,并且在肠道菌群方面也表现出对一些益生菌属丰度的上调,即乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)和拟杆菌属(*Bacteroides*),以及有害菌属丰度下调的作用,即罗姆布茨菌属(*Rom-*



*boutsia* spp.)、*Erysipelatoclostridium* 和 *norank\_f\_Muribaculaceae*, 而且两种茶的干预效果及程度也不尽相同。在此初步认定, 两种茶叶所表现干预效果差异的原因源自于两种茶叶的成分含量的成分分布不同, 并通过干预肠道菌群的菌种及代谢产物, 进而对机体的代谢产生显著影响, 而这或许是一个相当复杂的反应过程。未来, 将通过获取不同种类茶汤的成分分布, 肠道菌群菌种和代谢产物分布, 以及机体代谢分布, 并作进一步的相关性和差异性分析, 从而探明更加系统而科学的反应机制。

### 参 考 文 献

- [1] CROVESY L, MASTERSON D, ROSADO E L. Profile of the gut microbiota of adults with obesity: A systematic review[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2020, 74(9): 1251–1262.
- [2] CHANG C J, LIN C S, LU C C, et al. *Ganoderma lucidum* reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota[J]. *Nat Commun*, 2015, 6(6): 7489.
- [3] BACKHED F, DING H, WANG T, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101(44): 15718–15723.
- [4] MURPHY E F, COTTER P D, HEALY S, et al. Composition and energy harvesting capacity of the gut microbiota: Relationship to diet, obesity and time in mouse models[J]. *Gut*, 2010, 59(12): 1635–1642.
- [5] AMIOT M J, RIVA C, VINET A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: A systematic review[J]. *Obes Rev*, 2016, 17(7): 573–586.
- [6] EDMANDS W M, FERRARI P, ROTHWELL J A, et al. Polyphenol metabolome in human urine and its association with intake of polyphenol-rich foods across European countries[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2015, 102(4): 905–913.
- [7] SANO M, TAKENAKA Y, KOJIMA R, et al. Effects of Pu-erh tea on lipid-metabolism in rats[J]. *Chem Pharm Bull*, 1986, 34(1): 221–228.
- [8] YANG T Y, CHOU J I, UENG K C, et al. Weight reduction effect of Puerh tea in male patients with metabolic syndrome[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(7): 1096–1101.
- [9] JENSEN G S, BEAMAN J L, HE Y, et al. Reduction of body fat and improved lipid profile associated with daily consumption of a Puer tea extract in a hyperlipidemic population: A randomized placebo-controlled trial[J]. *Clin Interv Aging*, 2016, 11: 367–376.
- [10] LIU D M, HUANG J A, LUO Y, et al. Fuzhuan brick tea attenuates high-fat diet-induced obesity and associated metabolic disorders by shaping gut microbiota[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(49): 13589–13604.
- [11] LU X J, LIU J X, ZHANG N S, et al. Ripened Pu-erh tea extract protects mice from obesity by modulating gut microbiota composition[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(25): 6978–6994.
- [12] LV H P, ZHANG Y J, LIN Z, et al. Processing and chemical constituents of Pu-erh tea: A review[J]. *Food Res Int*, 2013, 53(2): 608–618.
- [13] ZHANG L, ZHANG Z Z, ZHOU Y B, et al. Chinese dark teas: Postfermentation, chemistry and biological activities[J]. *Food Res Int*, 2013, 53(2): 600–607.
- [14] CHEN L, ZHOU Z X, YANG Y J. Genetic improvement and breeding of tea plant (*Camellia sinensis*) in China: From individual selection to hybridization and molecular breeding[J]. *Euphytica*, 2006, 154(1/2): 239–248.
- [15] XU S, WANG J J, WEI Y, et al. Metabolomics Based on UHPLC-Orbitrap-MS and global natural product social molecular networking reveals effects of time scale and environment of storage on the metabolites and taste quality of raw Pu-erh tea[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(43): 12084–12093.
- [16] XIE G, YE M, WANG Y, et al. Characterization of Pu-erh tea using chemical and metabolic profiling approaches[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(8): 3046–3054.
- [17] LIN H C, LEE C T, YEN Y Y, et al. Systematic review and meta-analysis of anti-hyperglycaemic effects of Pu-erh tea[J]. *Int J Food Sci Technol*, 2019, 54(2): 516–525.
- [18] WANG D, MENG J, GAO H, et al. Evaluation of reproductive and developmental toxicities of Pu-erh

- black tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) extract in Sprague Dawley rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2013, 148(1): 190–198.
- [19] XIE J, YU H, SONG S, et al. Pu-erh tea water extract mediates cell cycle arrest and apoptosis in MDA-MB-231 human breast cancer cells[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8(8): 190.
- [20] ZHAO R, CHEN D, WU H. Effects of Pu-erh ripened tea on hyperuricemic mice studied by serum metabolomics[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017, 1068–1069(10): 149–156.
- [21] ZHAO R, CHEN D, WU H. Pu-erh ripened tea resists to hyperuricemia through xanthine oxidase and renal urate transporters in hyperuricemic mice[J]. *J Funct Foods*, 2017, 29(12): 201–207.
- [22] XIAO Y, HE M, LIANG X, et al. Pu-erh tea ameliorates atherosclerosis associated with promoting macrophage apoptosis by reducing NF- $\kappa$ B activation in ApoE knockout mice[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018(2): 3197829.
- [23] SCHEITZ M, DE JONG A, DEANE A M, et al. Obesity in the critically ill: A narrative review[J]. *Intensive Care Med*, 2019, 45(6): 757–769.
- [24] YANG C S, HONG J. Prevention of chronic diseases by tea: Possible mechanisms and human relevance[J]. *Annu Rev Nutr*, 2013, 33(1): 161–181.
- [25] LIU Y, LUO Y, WANG X, et al. Gut microbiome and metabolome response of Pu-erh tea on metabolism disorder induced by chronic alcohol consumption[J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(24): 6615–6627.
- [26] ZHENG Y, ZENG X, CHEN T, et al. Chemical profile, antioxidative, and gut microbiota modulatory properties of Ganpu tea: A derivative of Pu-erh tea[J]. *Nutrients*, 2020, 12(1): 1–20.
- [27] LV H P, ZHU Y, TAN J F, et al. Bioactive compounds from Pu-erh tea with therapy for hyperlipidaemia[J]. *J Funct Foods*, 2015, 19(10): 194–203.
- [28] OI Y, HOU I C, FUJITA H, et al. Antiobesity effects of Chinese black tea (Pu-erh tea) extract and gallic acid[J]. *Phytother Res*, 2012, 26(4): 475–481.
- [29] LIU J, PENG C X, GAO B, et al. Serum metabolomics analysis of rat after intragastric infusion of Pu-erh theabrownin[J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(11): 3708–3716.
- [30] CHEN T Y, WANG M M C, HSIEH S K, et al. Pancreatic lipase inhibition of strictinin isolated from Pu'er tea (*Camellia sinensis*) and its anti-obesity effects in C57BL6 mice[J]. *J Funct Foods*, 2018, 48(6): 1–8.
- [31] TAN J, SEOW C, GOH V J, et al. Recent advances in understanding proteins involved in lipid droplet formation, growth and fusion[J]. *Journal of Genetics & Genomics*, 2014, 41(5): 251–259.
- [32] NGUYEN P, LERAY V, DIEZ M, et al. Liver lipid metabolism[J]. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 2008, 92(3): 272–283.
- [33] FOREST C, TORDJMAN J, GLORIAN M, et al. Fatty acid recycling in adipocytes: A role for glycerooneogenesis and phosphoenolpyruvate carboxykinase[J]. *Biochem Soc Trans*, 2003, 31(6): 1125–1129.
- [34] CHEN H, SANG S. Biotransformation of tea polyphenols by gut microbiota[J]. *J Funct Foods*, 2014, 7(1): 26–42.
- [35] LIANG Z, ZHANG Z Z, ZHOU Y B, et al. Chinese dark teas: Postfermentation, chemistry and biological activities[J]. *Food Research International*, 2013, 53(2): 600–607.
- [36] LEY R E, BACKHED F, TURNBAUGH P, et al. Obesity alters gut microbial ecology[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(31): 11070–11075.
- [37] MARIAT D, FIRMESE O, LEVENEZ F, et al. The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age[J]. *BMC Microbiol*, 2009, 9(6): 123.
- [38] CHENHONG, ZHANG, SHOUFENG, et al. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice[J]. *Nat Commun*, 2013, 4(1): 2163.
- [39] SILVA M, JACOBUS N V, DENEKE C, et al. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 1987, 31(8): 1231–1233.
- [40] MU Q, TAVELLA V J, LUO X M. Role of *Lactobacillus reuteri* in human health and diseases[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9(1): 757.
- [41] SCHEPPER J D, COLLINS F L, RIOS-ARCE N D, et al. Probiotic *Lactobacillus reuteri* prevents postantibiotic bone loss by reducing intestinal dysbiosis and preventing barrier disruption[J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(4): 681–698.

- [42] ANHE F F, ROY D, PILON G, et al. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice[J]. Gut, 2015, 64(6): 872-883.
- [43] DAO M C, EVERARD A, ARON-WISNEWSKY J, et al. *Akkermansia muciniphila* and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: Relationship with gut microbiome richness and ecology[J]. Gut, 2016, 65(3): 426-436.
- [44] DE LA CUESTA-ZULUAGA J, MUELLER N T, CORRALES-AGUDELO V, et al. Metformin is associated with higher relative abundance of mucin-degrading *Akkermansia muciniphila* and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut[J]. Diabetes Care, 2017, 40(1): 54-62.
- [45] XU Y, WANG N, TAN H Y, et al. Function of *Akkermansia muciniphila* in obesity: Interactions with lipid metabolism, immune response and gut systems[J]. Front Microbiol, 2020, 11(2): 219.
- [46] ZHOU Y, ZHI F. Lower level of bacteroides in the gut microbiota is associated with inflammatory bowel disease: A meta-analysis[J]. Biomed Research International, 2016, 2016(2): 1-9.
- [47] YOSHIDA N, EMOTO T, YAMASHITA T, et al. *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* reduce gut microbial lipopolysaccharide production and inhibit atherosclerosis[J]. Circulation, 2018, 138(22): 2486-2498.
- [48] AKTAR R, PARKAR N, STENTZ R, et al. Human resident gut microbe *Bacteroides thetaiotaomicron* regulates colonic neuronal innervation and neurogenic function[J]. Gut Microbes, 2020, 11(6): 1745-1757.
- [49] HOU D, ZHAO Q, YOUSAF L, et al. Whole mung bean (*Vigna radiata* L.) supplementation prevents high-fat diet-induced obesity and disorders in a lipid profile and modulates gut microbiota in mice [J]. Eur J Nutr, 2020, 59(2): 3617-3634
- [50] MILOSAVLJEVIC M N, KOSTIC M, MILOVANOVIC J, et al. Antimicrobial treatment of *Erysipelatoclostridium ramosum* invasive infections: A systematic review[J]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2021, 63(4): 33852713.

## Effects of Two Types of Pu-erh Tea on Weight Loss and Lipid Reduction in Mice

Ruan Yao, Liu Wukang, Zhang Xinshuai, Li Qun, Liu Ling, Guo Ailing\*  
(Huazhong Agricultural University, Wuhan 420000)

**Abstract** The anti-obesity effect of Pu-erh tea and its ingredients has long been known, but few studies on this effect among different Pu-erh tea has been taken into account. In this experiment, two kinds of Pu-erh tea with obvious differences, namely RAPT (Pu-erh raw tea) and RIPT (Pu-erh ripe tea), were used to prepare tea soup to feed C57BL/6J mice on a HFD (high-fat diet) to observe the differences in the intervention effects. The results shown that RAPT and RIPT not only had anti-obesity effects in terms of blood fat indicators, organ tissue changes, and intestinal flora, but also have significant differences in the intervention effects shown. RAPT can reduce blood TC and TG levels after 2 weeks of feeding, while Pu-erh ripe tea does not have this effect until 8 weeks; RAPT could reduce the level of LDL-C in the blood while RIPT could increase HDL-C. In liver lipid metabolism, both RAPT and RIPT could remarkably reduce the formation of fat droplets in the liver. After 8 weeks of feeding, RAPT significantly increased the abundance of *Akkermansia*, *norank\_f\_Muribaculaceae*, and *Bacteroides* in the intestinal flora and decreased the abundance of *Romboutsia*. RIPT could increase the abundance of *Lactobacillus*, *norank\_f\_Muribaculaceae*, and *Bacteroides* in the intestinal flora, and down-regulate the abundance of *Romboutsia* and *Erysipelatoclostridium*.

**Keyword** Pu-erh tea; anti-obesity; mice; biochemical indicators; gut microbes