

遵义红茶品质特征及对高脂模型斑马鱼的降脂活性

李茂云¹, 肖月², 钟凯¹, 吴艳萍^{1*}, 高鸿¹

(¹ 四川大学轻工科学与工程学院 成都 610065

² 四川大学华西公共卫生学院(华西第四医院) 成都 610065)

摘要 遵义红茶是产自贵州省遵义市的名优工夫红茶,目前对其内含化学成分和生物活性的相关报道较少,影响其进一步发展。本文系统分析遵义红茶的特征化学成分和降脂活性,结果表明:遵义红茶中含量最丰富的矿物质元素是 K 元素(22 655.89 mg/kg),且有害重金属 As、Cd、Cr 和 Pb 等元素含量均低于相关食品标准限量;醇类挥发性成分相对丰度占比最高(56.49%),主要包括具有花果香的芳樟醇(36.58%)和香叶醇(10.91%);总氨基酸含量为 10 396.67 mg/kg,其中含量较高的茶氨酸(3 443.33 mg/kg)是遵义红茶鲜爽口感的主要来源,其它鲜味氨基酸如谷氨酸、天冬氨酸和天冬酰胺的含量也较高。电子舌结果显示遵义红茶不具有苦味和涩味;通过斑马鱼高脂喂养模型验证遵义红茶的降脂效果,采用 800 μg/mL 的遵义红茶水提取物处理的高脂斑马鱼的脂质水平降低 54.98%($P < 0.05$)。本研究为遵义红茶的理化品质特征和降脂活性研究提供数据支撑,为其开发和推广提供技术参考。

关键词 遵义红茶;特征化学成分;香气成分;滋味分析;降脂活性

文章编号 1009-7848(2023)07-0217-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.07.023

遵义红茶(Zunyi black tea),简称“遵义红”“黔红”,属于工夫红茶品类,主要产于贵州省最大的茶叶产区遵义市。遵义低纬度、高海拔、寡日照及多云雾的地理特点为茶树生长提供了绝佳的自然条件。遵义红具有“嫩甜香、鲜爽味”的品质特征,其加工工艺流程包括摊青、萎凋、做型、发酵、干燥和提香。我国不同产地的工夫红茶具有不同的品质特点,如祁门红茶的玫瑰花香、蜜糖香、甜香浓郁,英德红茶“浓、强、鲜”,湖红薯甜香明显,川红香气高锐、持久、带橘香,与上述工夫红茶相比,遵义红的香气特征是具有明显的花果香^[1]。红茶的香气和滋味等品质与其内含化学物质密切相关,如香气成分、氨基酸、茶多酚和嘌呤碱等。遵义红茶为贵州省对外重点推荐“三绿一红”名茶之一,然而,目前相关研究较少。

红茶受到全世界消费者的青睐,不仅是因为其醇厚鲜爽的独特滋味,还因其具有抗癌、抗炎、降脂、减肥等多种健康功效。对于降脂减肥功效,越来越多研究证明红茶从调节脂质的消化吸收和分解等多个途径发挥降脂减肥作用^[2]。斑马鱼与人

类基因相似性较高,是研究基因功能与代谢性疾病的优良模型,具有体积小,繁殖能力强,生命周期短,胚胎和发育初期全身透明便于观察等优点。斑马鱼被证实可用于脂质代谢研究,可在较短时间内对天然活性产物的降脂效果进行分析。有研究通过斑马鱼高脂模型验证了绿茶和黑茶的降脂效果^[3-4]。

本文对遵义红茶的特征化学成分包括矿物质元素、挥发性香气成分、游离氨基酸、儿茶素类物质和生物碱类物质进行系统分析,通过电子舌表征遵义红茶的滋味属性,采用高脂饮食诱导的斑马鱼高脂模型研究其降脂活性,以期深入探究遵义红茶的品质特点和健康效应,为提升其品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

遵义红茶(产地贵州省湄潭县),贵州耕田现代农业投资开发有限公司。矿物质元素混标和内标溶液,美国安捷伦公司;没食子酸、表没食子儿茶素(EGC)、儿茶素(C)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)、表儿茶素(EC)、表儿茶素没食子酸酯(ECCG)和正构烷烃(C7~C30)标准品,美国 Sigma-Aldrich;可可碱、茶碱和咖啡碱标准品,四川省

收稿日期: 2022-07-14

基金项目: 四川省科技计划资助项目(2020YFG0073)

第一作者: 李茂云,女,博士生

通信作者: 吴艳萍 E-mail: wyp9202@163.com

维克奇生物科技有限公司;辛伐他汀,上海梯希爱化成工业发展有限公司;0.5%油红 O 染液,北京索莱宝科技有限公司;蛋黄粉,上海源叶生物技术有限公司;其它化学试剂,成都市科隆化学有限公司。

1.2 仪器与设备

TS 5000Z 味觉分析系统,日本 INSENT 公司;QP2010 SE 气相色谱-质谱联用仪 GC-MS, RTX-5Sil MS 毛细管柱,日本岛津公司;Med-C 微波消解仪,上海屹尧仪器科技发展有限公司;7700X 电感耦合等离子体质谱仪 ICP-MS, 美国安捷伦公司;A300 全自动氨基酸分析仪,德国 MembraPure 公司;Ultimate 3000 高效液相色谱仪 HPLC, 美国 Thermo Fisher 公司;M205 FA 自动荧光体式显微镜,德国 Leica 公司。

1.3 方法

1.3.1 矿物质元素分析 称取 0.25 g 磨碎茶样品放入聚四氟乙烯消解罐中,加入 5 mL HNO_3 和 1 mL 30% H_2O_2 进行微波消解,分别在 120, 160, 180 $^\circ\text{C}$ 保持 10 min。消解完成后,冷却至室温并定容至 10 mL,待测。使用外标法对 27 种矿物质元素(Li、Be、Na、Mg、Al、K、Ca、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Rb、Sr、Ag、Cd、Cs、Ba、Tl、Pb 和 U) 进行定量,ICP-MS 仪器参数设定如下:RF 功率为 1 550 W;反射功率 <20 W;等离子气流速为 15 mL/min;载气流速为 1 mL/min;辅助气体流速为 1 mL/min;补偿/稀释气体流速为 1 mL/min;雾化器温度为 2 $^\circ\text{C}$;蠕动泵转速为 0.3 r/s;内标溶液为 0.5 mg/L In 和 Bi 的混合溶液。

1.3.2 顶空固相微萃取/GC-MS 测定香气成分

顶空固相微萃取:称取 1 g 磨碎后样品放入 20 mL 顶空瓶中,加入 5 mL 沸水后压盖,于 60 $^\circ\text{C}$ 水浴中磁力搅拌 30 min,再使用 50/30 μm 萃取头(DVB/CAR/PDMS)于 60 $^\circ\text{C}$ 水浴下萃取 30 min。取出后立即于 GC-MS 进样口解吸 5 min。

GC 条件:RTX-5Sil MS 毛细管柱(0.25 μm , 30 m \times 0.25 mm);载气为氦气(>99.99%),流速 1 mL/min;进样口温度为 240 $^\circ\text{C}$;柱温箱升温程序:40 $^\circ\text{C}$ 保持 3 min 后,以 3 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 速率升至 85 $^\circ\text{C}$ 保持 3 min,再以 3 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 速率升至 160 $^\circ\text{C}$,最后以 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 速率升至 240 $^\circ\text{C}$ 保持 5 min。

MS 条件:电离能量为 70 eV;离子源温度为 230 $^\circ\text{C}$;接口温度为 280 $^\circ\text{C}$;质量扫描范围为 45~500 m/z 。

物质鉴定:采用 NIST 14 数据库以及 C7~C30 正构烷烃辅助定性,结果用相对丰度表示(%)。

1.3.3 电子舌味觉分析系统 根据 GB/T 23776-2018《茶叶感官审评方法》^[9]中红茶感官审评的茶汤制备方法,使用 5 种传感器(AAE、CTO、CAO、C00 和 AE1)实现茶汤鲜味、咸味、酸味、苦味、涩味的评价。参比溶液(参比唾液)为氯化钾(30 mmol/L)和酒石酸(0.3 mmol/L)的混合溶液。

1.3.4 氨基酸分析 称取 1 g 磨碎后的茶样品加入 20 mL 沸水,于沸水浴中搅拌提取 30 min,冷却后定容至 20 mL,取上清液与 10%磺基水杨酸以 4:1(体积比)混合后,静置过夜除蛋白,经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。使用全自动氨基酸分析仪对 20 种氨基酸进行定量分析。

1.3.5 没食子酸、儿茶素类物质和生物碱物质分析 使用 70%甲醇水溶液对磨碎后的茶样品进行 24 h 搅拌提取(料液比 1:20),经 0.22 μm 滤膜过滤后待测。采用外标法对没食子酸、EGC、C、EGCG、EC、ECG、可可碱、茶碱和咖啡碱进行定量分析,HPLC 检测条件设定如下:色谱柱为 ODS-4,规格为 4.6 mm \times 250 mm \times 5 μm ;柱温为 30 $^\circ\text{C}$;流动相 A 为 0.1%甲酸水溶液,流动相 B 为甲醇;流速为 0.8 mL/min;紫外检测波长为 280 nm;进样量为 20 μL ;流动相洗脱梯度为:0~5 min,5%~22%B;5~20 min,22%B;20~35 min,22%~24%B;35~45 min,24%~25%B;45~50 min,25%~40%B;50~60 min,40%~45%B。

1.3.6 总酚、总黄酮和总碳水化合物测定 样品提取方法与 1.3.5 节相同。采用福林酚法测定茶叶中的总酚含量,结果以 GA 含量(g/kg)计;采用三氯化铝比色法测定总黄酮含量,结果以芦丁含量(g/kg)计;采用苯酚硫酸法测定总碳水化合物含量,结果以葡萄糖(g/kg)计。

1.3.7 降脂活性分析 采用斑马鱼模型进行降脂活性试验。称取一定量粉碎茶样品,按 1:300 料液比加入沸水,于沸水浴中提取 30 min 后过滤。将滤液减压浓缩后,冷冻干燥得红茶水提物。

斑马鱼实验在四川大学生物治疗国家重点实

实验室完成,按照 1:2 的雌雄比例将 5~6 月龄的成年斑马鱼放入带隔板的交配缸,隔开过夜后抽出隔板使之交配产卵(第 0 天,0 d.p.f.)。收取鱼卵于 28 °C 孵化箱中孵育,前两日 9:00 和 21:00 分别挑除死卵并换水,接下来每天 9:00 换水 1 次至第 5 天,收集第 5 天幼鱼(5 d.p.f)构建高脂模型。使用 1 mg/mL 蛋黄粉溶液对 5 d.p.f 的幼鱼处理 48 h 后,分别以质量浓度为 100,200,400,600,800 $\mu\text{g/mL}$ 的红茶水提物溶液处理斑马鱼 48 h,以浓度为 0.06 $\mu\text{mol/L}$ 的辛伐他汀作为阳性对照,以新鲜养鱼水和体积分数 0.1% 的 DMSO 为空白对照和溶剂对照。

采用油红 O 对处理后的斑马鱼进行染色。收集不同处理组的斑马鱼幼鱼,PBS 清洗后使用 4% 多聚甲醛溶液于 4 °C 固定过夜,再次使用 PBS 清洗 3 次后,浸泡于 60% 异丙醇溶液脱水处理 30 min,再使用新鲜配制的体积分数 0.3% 的油红 O 溶液避光染色 3 h。染色结束后,依次使用 60% 异丙醇和 PBS 溶液清洗后,于体式显微镜下观察并拍照。使用 Image-Pro Plus 软件对染色斑马鱼进行光密度计算,以光密度值表示斑马鱼体内脂质水平,将高脂组斑马鱼体内的脂质水平表示为 100%,其它处理组斑马鱼的脂质水平通过光密度比值换算为相对于高脂组的相对脂质含量。

1.4 数据处理

数据均采用“平均值 \pm 标准差”($\bar{x} \pm s$)表示;采用 SPSS 22.0(美国 IBM)进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 遵义红茶中的矿物质元素含量分析

茶叶中的矿物质元素含量与土壤和环境状态息息相关,相关重金属风险也是食品安全的主要关注点之一。如表 1 所示,通过 ICP-MS 共检测出 27 种矿物质元素。其中含量最丰富的是 K 元素,高达 22 655.89 mg/kg。植物生长需要大量 K 元素,K 元素缺乏可导致多种代谢紊乱。K 元素含量与原产地有显著相关性,此外,茶叶特殊配体的结合、茶叶修剪以及钾肥的使用均可导致茶叶中 K 元素含量升高^[3]。红茶所具有的高 K 低 Na 特性使其对人体健康产生积极的作用^[6]。遵义红茶中含量较高的矿物质元素还有 Mg、Mn、Ca 和 Al 元素。红茶中高含量 Mg 元素对预防心血管疾病具有积极作用;微量元素 Mn 是超氧化物歧化酶的关键成分,使红茶具有良好的抗氧化活性,且茶汤中 Mn 元素的生物利用率较高^[7]。《食品安全国家标准 食品中污染物限量》(GB 2762-2017)^[8]中规定茶叶中 Pb \leq 5 mg/kg,《茶叶中铬、镉、汞、砷及氟化物限量》(NY 659-2003)^[9]中规定茶叶中 Cr \leq 5 mg/kg, Cd \leq 1 mg/kg, As \leq 2 mg/kg,遵义红茶中检出的 As、Cd、Cr 和 Pb 含量分别为 0.004,0.06,0.71,0.38 mg/kg,均低于以上食品安全标准限量。此外,遵义红茶的 Cu 含量为 19.07 mg/kg,符合《绿色食品茶叶》(NY/T 288-2018)^[10]中规定绿色食品茶叶中 Cu \leq 30 mg/kg 的标准。表明遵义红茶在重金属含量方面具有安全性,且符合绿色食品的规定。

表 1 遵义红茶的矿物质元素含量

Table 1 Contents of 27 elements in Zunyi black tea

元素	含量/mg·kg ⁻¹	元素	含量/mg·kg ⁻¹
Li	0.17 \pm 0.01	Zn	54.35 \pm 1.40
Be	0.03 \pm 0.00	Ga	1.19 \pm 0.04
Na	253.24 \pm 4.07	As	0.004 \pm 0.00
Mg	1 911.58 \pm 45.20	Se	0.11 \pm 0.01
Al	326.62 \pm 9.15	Rb	58.09 \pm 1.37
K	22 655.89 \pm 443.31	Sr	2.05 \pm 0.18
Ca	406.14 \pm 10.19	Ag	0.001 \pm 0.00
V	0.12 \pm 0.00	Cd	0.06 \pm 0.00
Cr	0.71 \pm 0.03	Cs	0.21 \pm 0.01
Mn	666.87 \pm 13.66	Ba	4.80 \pm 0.17
Fe	118.72 \pm 5.44	Tl	0.01 \pm 0.00
Co	0.63 \pm 0.02	Pb	0.38 \pm 0.01
Ni	11.18 \pm 0.28	U	0.01 \pm 0.00
Cu	19.07 \pm 0.52		

2.2 挥发性香气成分分析

挥发性香气成分是茶叶品质的重要影响因素之一。如表2所示,采用顶空固相微萃取/GC-MS联用检测方法,在遵义红茶中共检出79种香气成分,其中包括17种醛类物质、17种醇类物质、19种酯类物质、8种烃类物质、8种酮类物质、3种酸类物质以及7种其它类物质。相对丰度占比较高的为醇类物质(56.49%)、酯类物质(22.04%)和醛类物质(12.02%)。

醇类物质中,萜烯醇是遵义红茶中含量最丰富的挥发性物质,如芳樟醇、香叶醇、6,7-环氧芳樟醇、苯乙醇和(*E*)-芳樟醇氧化物(呋喃),其相对丰度占比分别为36.58%,10.91%,2.67%,2.19%,1.16%,均是具有甜香和花香的物质,且阈值很低^[1]。萜烯指数TI【TI=(芳樟醇+芳樟醇氧化物)/(芳樟醇+芳樟醇氧化物+香叶醇)】可反应香气特征,TI值高,则香气馥郁怡人,TI值低,则香气高锐,遵义红茶的TI值为0.78,其香气属于馥郁怡人型,偏甜香、糖香^[2]。芳樟醇和香叶醇可能来源于相关生物合成途径和糖苷水解,在红茶加工过

程中,糖苷水解酶基因上调,活性增强,且随着加工过程加深,细胞破裂,糖苷水解酶与基质糖苷接触,进一步产生相关萜烯醇物质^[3]。同时,检出的苯乙醇(2.19%)同样可为遵义红茶提供玫瑰花香。酯类物质中,相对丰度占比较高的香气成分为水杨酸甲酯、异硫氰酸烯丙酯和丁酸丁酯,分别为10.46%,6.24%,2.26%。水杨酸甲酯具有花香和较强的冬青油香气,是半发酵茶乌龙茶和全发酵茶红茶的关键差异香气成分^[4]。研究显示^[11,15],花香型红茶成品茶中,有杏仁香、焦糖香的苯甲醛和糠醛、有蜂蜜甜香的苯乙醛、有强烈弥散性水果清香气味的(*Z*)-己酸-3-己烯酯相对含量明显增加,这些物质在遵义红茶中均有检出,相对占比分别为1.02%,1.50%,0.98%,0.36%。此外,在遵义红茶中还检出了较高浓度的具有麦芽香气的2-甲基丁醛(3.03%),具有青草气的2-己烯醛(1.30%)和具有花香、柑橘香和油脂香气的壬醛(1.20%)^[11,16]。以上结果表明,遵义红茶属于偏甜香的花果香型红茶。

表2 遵义红茶的香气成分组成

Table 2 Composition of volatile aroma in Zunyi black tea

序号	保留时间/min	物质名称	CAS	保留指数	相对丰度/%
醛类物质(17种)					
1	2.74	2-甲基丁醛	96-17-3	706	3.03 ± 1.25
2	4.65	2-甲基戊醛	123-15-9	772	0.03 ± 0.01
3	5.82	己醛	66-25-1	809	0.93 ± 0.14
4	6.89	糠醛	98-01-1	834	1.50 ± 0.27
5	7.78	2-己烯醛	505-57-7	855	1.30 ± 0.67
6	12.71	苯甲醛	100-52-7	961	1.02 ± 0.11
7	15.01	辛醛	124-13-0	1 008	0.15 ± 0.02
8	16.96	苯乙醛	122-78-1	1 045	0.98 ± 0.31
9	20.68	壬醛	124-19-6	1 113	1.20 ± 0.05
10	24.23	(<i>E</i>)-壬烯醛	18829-56-6	1 170	0.12 ± 0.02
11	27.15	癸醛	112-31-2	1 218	0.83 ± 0.21
12	27.69	β -环柠檬醛	432-25-7	1 228	0.23 ± 0.01
13	30.45	2-苯基巴豆醛	4411-89-6	1 279	0.16 ± 0.05
14	30.57	柠檬醛	5392-40-5	1 281	0.16 ± 0.05
15	35.59	4-甲基-2-苯基-2-戊烯醛	26643-91-4	1 383	0.18 ± 0.04
16	37.85	月桂醛	112-54-9	1 433	0.04 ± 0.00
17	41.13	可卡醛	21834-92-4	1 509	0.16 ± 0.07
醇类物质(17种)					
18	8.51	己醇	111-27-3	873	0.26 ± 0.05
19	9.96	2-庚醇	543-49-7	906	0.29 ± 0.04
20	13.85	1-辛烯-3-醇	3391-86-4	985	0.21 ± 0.03

(续表 2)

序号	保留时间/min	物质名称	CAS	保留指数	相对丰度/%
21	16.53	苯甲醇	100-51-6	1 037	0.34 ± 0.02
22	18.50	(<i>E</i>)-芳樟醇氧化物(呋喃)	34995-77-2	1 074	1.16 ± 0.25
23	18.61	1-辛醇	111-87-5	1 077	0.05 ± 0.01
24	19.44	6,7-环氧芳樟醇	15249-35-1	1 092	2.67 ± 0.62
25	20.48	芳樟醇	78-70-6	1 109	36.58 ± 1.84
26	20.60	二氢芳樟醇	29957-43-5	1 112	0.11 ± 0.03
27	20.97	苯乙醇	60-12-8	1 118	2.19 ± 0.13
28	22.26	(<i>E</i>)-(-)-松香芹醇	547-61-5	1 138	0.12 ± 0.02
29	23.86	(<i>Z</i>)-3-壬烯醇	10340-23-5	1 164	0.04 ± 0.00
30	23.99	3,6-亚壬基-1-醇	56805-23-3	1 166	0.06 ± 0.02
31	26.35	萜品醇	8000-41-7	1 204	0.90 ± 0.17
32	28.16	橙花醇	106-25-2	1 237	0.32 ± 0.08
33	29.74	香叶醇	106-24-1	1 266	10.91 ± 3.18
34	44.58	(<i>E</i>)-(+)-橙花叔醇	1119-38-6	1 593	0.28 ± 0.12
酯类物质(19种)					
35	8.42	异硫氰酸环丙酯	56601-42-4	870	0.75 ± 0.22
36	8.92	异硫氰酸烯丙酯	57-06-7	882	6.24 ± 2.08
37	10.54	苯乙酸戊酯	5137-52-0	918	0.13 ± 0.03
38	11.03	己酸甲酯	106-70-7	928	0.09 ± 0.00
39	11.34	3-己烯酸甲酯	13894-62-7	934	0.13 ± 0.02
40	13.05	2-己烯酸甲酯	2396-77-2	968	0.08 ± 0.01
41	14.69	丁酸丁酯	109-21-7	1 002	2.26 ± 0.61
42	24.30	乙酸苯甲酯	140-11-4	1 171	0.06 ± 0.01
43	26.06	水杨酸甲酯	119-36-8	1 197	10.46 ± 0.44
44	33.47	香叶酸甲酯	1189-09-9	1 339	0.15 ± 0.03
45	28.60	2-甲基丁酸-3-己烯醇酯	10094-41-4	1 245	0.30 ± 0.14
46	36.34	乙酸香叶酯	105-87-3	1 399	0.18 ± 0.04
47	36.46	(<i>Z</i>)-己酸-3-己烯酯	31501-11-8	1 401	0.36 ± 0.08
48	36.75	己酸己酯	6378-65-0	1 408	0.16 ± 0.05
49	37.21	癸酸乙酯	110-38-3	1 418	0.28 ± 0.10
50	44.92	苯甲酸叶醇酯	25152-85-6	1 602	0.03 ± 0.01
51	45.68	2,2,4-三甲基-1,3-戊二醇二异丁酸酯	6846-50-0	1 625	0.03 ± 0.01
52	51.54	肉豆蔻酸异丙酯	110-27-0	1 891	0.04 ± 0.01
53	53.05	十七酸甲酯	1731-92-6	2 008	0.31 ± 0.09
烃类物质(8种)					
54	4.76	环庚三烯	544-25-2	776	0.13 ± 0.07
55	14.32	月桂烯	123-35-3	994	1.27 ± 0.62
56	15.65	萜品烯	99-85-4	1 020	0.16 ± 0.07
57	16.29	右旋萜二烯	5989-27-5	1 032	1.52 ± 0.57
58	16.75	(<i>E</i>)- β -罗勒烯	3779-61-1	1 041	0.44 ± 0.14
59	17.28	罗勒烯	13877-91-3	1 051	0.43 ± 0.13
60	19.32	萜品油烯	586-62-9	1 090	0.16 ± 0.07
61	46.32	十六烷	544-76-3	1 645	0.03 ± 0.01
酮类物质(8种)					
62	11.89	2-甲基-3-辛酮	923-28-4	945	0.02 ± 0.01
63	12.35	2,5-己二酮	110-13-4	954	0.06 ± 0.01
64	14.04	甲基庚烯酮	110-93-0	988	0.46 ± 0.03
65	32.01	2-十二烷酮	6175-49-1	1 309	0.03 ± 0.01

(续表 2)

序号	保留时间/min	物质名称	CAS	保留指数	相对丰度/%
66	36.25	大马士酮	23726-93-4	1 397	0.04 ± 0.01
67	38.31	α -紫罗兰酮	127-41-3	1 444	0.07 ± 0.02
68	39.57	橙化基丙酮	3879-26-3	1 472	0.44 ± 0.11
69	40.89	β -紫罗酮	79-77-6	1 503	0.23 ± 0.07
酸类物质(3种)					
70	19.03	庚酸	111-14-8	1 085	0.03 ± 0.03
71	34.92	香叶酸	459-80-3	1 368	0.63 ± 0.14
72	55.34	亚麻酸	463-40-1	2 207	0.05 ± 0.01
其它(7种)					
73	6.62	2-甲基吡嗪	109-08-0	828	0.10 ± 0.02
74	10.15	2-乙酰基呋喃	1192-62-7	910	0.25 ± 0.05
75	10.31	2,5-二甲基吡嗪	123-32-0	913	0.17 ± 0.03
76	10.46	2-乙基吡嗪	13925-00-3	916	0.05 ± 0.02
77	17.14	茶吡咯	2167-14-8	1 048	1.56 ± 0.28
78	18.09	2-乙酰基吡咯	1072-83-9	1 066	1.06 ± 0.38
79	18.72	3-乙基-2,5-甲基吡嗪	13360-65-1	1 079	0.08 ± 0.03

2.3 滋味属性结果和滋味相关化学成分分析

电子舌味觉分析系统可以通过检测各种风味物质和人工脂膜之间的静电作用或疏水性相互作用产生的膜电势的变化,实现对5种味(酸、苦、咸、鲜和涩味)的评价。参比溶液的输出值表示无味点,如图1所示,可知遵义红茶的酸味和涩味值均在无味点以下,苦味值与无味点基本重合,即遵义红茶没有酸味、涩味和苦味,具有较弱的苦味回味、涩味回味,而具有较强的咸味、鲜味,同时具有较高的鲜味持久度(丰富度)。茶叶中影响滋味的物质主要包括氨基酸、茶多酚类物质、生物碱类物质和可溶性糖等。

氨基酸是影响茶汤鲜爽滋味的重要因素。遵义红茶中的游离氨基酸含量如表3所示,在遵义红茶中氨基酸总含量为10 396.67 mg/kg,包括7种必需氨基酸、11种非必需氨基酸和2种其它氨基酸。研究显示茶氨酸、 γ -氨基丁酸、谷氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺在红茶中含量较高^[17],其含量范围分别为223~2 186,26.5~317.9,227~1 086,223~2 186,70~1 603 mg/kg。在遵义红茶中,上述氨基酸含量分别为3 443.33,1 520.00,290.00,566.67,690.00 mg/kg。与其它红茶相比,遵义红茶中茶氨酸和 γ -氨基丁酸含量均处于较高水平。茶氨酸是红茶鲜爽度的主要影响因素,与茶叶品质呈显著正相关^[18],可由谷氨酸经茶氨酸合成酶转化。遵义

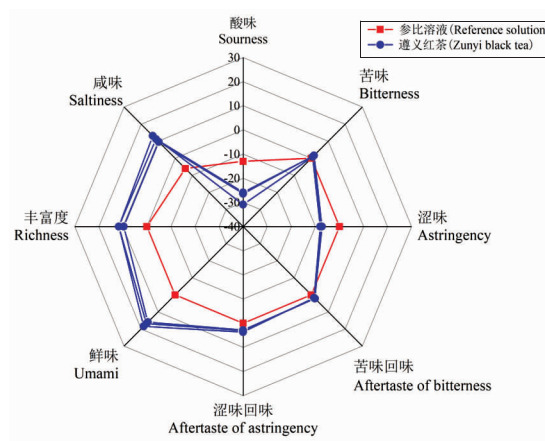


图1 遵义红茶的滋味特征

Fig.1 Taste characteristics of Zunyi black tea

红茶中 γ -氨基丁酸含量接近富 γ -氨基丁酸红茶(1 620 mg/kg), γ -氨基丁酸具有降血压,改善失眠,增强记忆等多种功能,可在低氧胁迫条件下由谷氨酸脱羧转化而来,此外天冬氨酸和天冬酰胺都是合成谷氨酸的前体物质。因而,茶氨酸和 γ -氨基丁酸的高含量可能导致谷氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺通过氨途径转化含量降低^[19]。此外谷氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺均具有显著鲜味,也为遵义红茶贡献了一定的鲜爽度; γ -氨基丁酸被认为口感干爽,有醇和的涩味^[20]。遵义红茶中还检测到了部分甜味氨基酸,包括苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸和脯氨酸,其它氨基酸(除瓜氨酸)均是带苦味

的氨基酸^[20]。回甘、回甜是红茶的滋味特征之一，除甜味氨基酸外，茶叶中的水溶性碳水化合物也是其甜味来源。研究显示，不同级别和产地的祁门红茶中可溶性糖含量为 30.1~43.3 g/kg^[21]，遵义

红中可溶性碳水化合物含量为 57.53 g/kg (表 4)，高于祁门红特茗茶，这可能使得遵义红茶茶汤甜醇度增加。

表 3 遵义红茶中的游离氨基酸含量

Table 3 Contents of free amino acids in Zunyi black tea

序号	名称	缩写	含量/mg·kg ⁻¹
必需氨基酸(7种)			
1	苏氨酸	Thr	160.00 ± 0.00
2	缬氨酸	Val	483.33 ± 15.28
3	异亮氨酸	Ile	190.00 ± 0.00
4	亮氨酸	Leu	220.00 ± 0.00
5	苯丙氨酸	Phe	683.33 ± 11.55
6	色氨酸	Trp	136.67 ± 5.77
7	赖氨酸	Lys	163.33 ± 23.09
必需氨基酸含量总计			2 036.67 ± 55.69
非必需氨基酸(11种)			
8	天冬氨酸	Asp	566.67 ± 5.77
9	丝氨酸	Ser	226.67 ± 5.77
10	天冬酰胺	Asn	690.00 ± 26.46
11	谷氨酸	Glu	290.00 ± 10.00
12	甘氨酸	Gly	20.00 ± 0.00
13	丙氨酸	Ala	40.00 ± 0.00
14	瓜氨酸	Cit	413.33 ± 5.77
15	酪氨酸	Tyr	443.33 ± 15.28
16	组氨酸	His	73.33 ± 5.77
17	精氨酸	Arg	263.33 ± 5.77
18	脯氨酸	Pro	370.00 ± 62.45
非必需氨基酸含量总计			3 396.67 ± 143.05
其它氨基酸(2种)			
19	茶氨酸	Thea	3 443.33 ± 50.33
20	γ-氨基丁酸	GABA	1 520.00 ± 117.98
氨基酸含量总计			10 396.67 ± 767.05

通过 HPLC 检测了遵义红茶中没食子酸、5 种儿茶素类物质(EC、C、ECG、EGC、EGCG)以及 3 种生物碱物质(咖啡碱、可可碱、茶碱)的含量,其结果如表 4 所示,其中没食子酸含量为 3.80 g/kg; 儿茶素类物质中含量最高的为 ECG(17.50 g/kg), 其次为 EGCG、EGC、EC 和 C, 含量分别为 4.56, 2.13, 0.78, 0.15 g/kg。生物碱物质中含量最高的是咖啡碱(7.21 g/kg), 其次为可可碱(5.06 g/kg)和茶碱(0.51 g/kg)。遵义红茶中总酚、总黄酮含量分别为 184.46 g/kg 和 170.64 g/kg。与前人报道的结果相比较,遵义红茶中茶多酚类物质和黄酮类物质含量略高,咖啡碱含量较低^[12],儿茶素单体含量趋

表 4 遵义红茶中的其它化学物质含量

Table 4 Other chemical components in Zunyi black tea

物质名称	含量/g·kg ⁻¹
没食子酸	3.80 ± 0.01
EGC	2.13 ± 0.01
C	0.15 ± 0.04
EGCG	4.56 ± 0.08
EC	0.78 ± 0.03
ECCG	17.50 ± 0.30
可可碱	5.06 ± 0.07
茶碱	0.51 ± 0.01
咖啡碱	7.21 ± 0.07
总酚(以没食子酸计)	184.46 ± 8.29
总黄酮(以芦丁计)	170.64 ± 7.40
总碳水化合物(以葡萄糖计)	57.53 ± 1.29

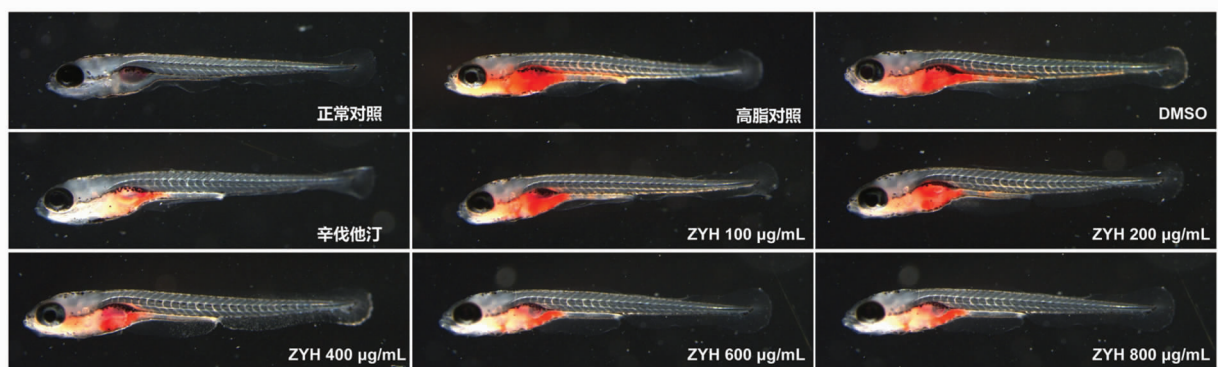
势与前人报道一致^[21]。茶多酚等物质会在萎凋、揉捻、发酵等制作过程中因植物细胞破损而释放,也与茶叶原料品种、采摘时间等具有一定相关性。儿茶素类等酚类物质以及黄酮类物质均具有明显的涩味和苦味,而咖啡碱具有明显的苦味,是红茶苦涩味的重要来源^[20]。电子舌结果显示遵义红茶不具有苦味及涩味,茶多酚类物质及咖啡碱可能仅为遵义红茶提供较弱的苦味回味和涩味回味。

2.4 降脂分析

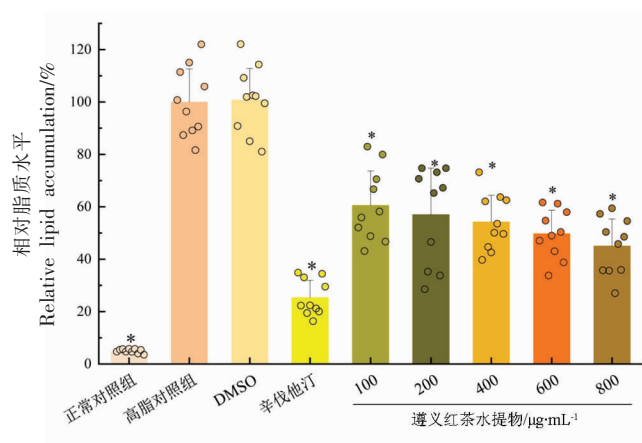
采用斑马鱼高脂模型探究遵义红茶的降脂活性,如图 2a 所示,通过油红 O 对斑马鱼体内的中性脂质进行染色,可直观观察斑马鱼体内的脂质水平。蛋黄粉喂养后的斑马鱼体内油红 O 染色面积增大且染色强度增加,经辛伐他汀或不同浓度遵义红茶水提物处理 48 h 后,染色面积和强度明显减少。如图 2b 所示,以高脂组斑马鱼体内脂质水平为 100%,与高脂组相比,未经高脂处理的正

常对照组相对脂质含量为 4.95%,阳性对照辛伐他汀组相对脂质含量为 25.33%,均显著低于高脂组($P < 0.05$),溶剂对照组与高脂斑马鱼相对脂质含量无显著差异($P > 0.05$)。以上结果说明斑马鱼高脂模型造模成功,且辛伐他汀药物能降低高脂斑马鱼脂质水平,溶剂 DMSO 对高脂斑马鱼体内脂质水平无显著影响。不同浓度的遵义红茶水提物均能够降低高脂斑马鱼体内的脂质水平,高脂斑马鱼分别经质量浓度为 100,200,400,600,800 g/mL 的遵义红茶水提物处理 48 h 后,相对脂质含量分别降至 60.48%,56.97%,54.16%,49.74%,45.02%($P < 0.05$),其降脂效果具有一定剂量依赖性。

高脂高糖饮食导致的肥胖、胰岛素抵抗、脂肪肝、高血脂等症状已成为 21 世纪公众所面临的巨大挑战,然而,使用药物干预往往有血压升高、精神失常、头痛和失眠等副作用,因而通过饮食干预



(a) 斑马鱼油红 O 染色示意图



(b) 不同处理组斑马鱼体内相对脂质水平

注: * $P < 0.05$ 。

图 2 遵义红茶水提物的降脂活性

Fig.2 Hypolipidemic activity of water extract of Zunyi black tea

达到降脂减肥效果具有更好的前景。越来越多证据表示红茶对于预防肥胖有积极影响,且其主要功能物质为茶黄素等红茶多酚。对于高脂饮食喂养的小鼠,红茶可以减少内脏脂肪,其效果优于乌龙茶、普洱茶,且动物实验结果显示茶黄素饮食干预对于胆固醇、LDL、HDL 含量的调节效果优于茶红素^[23],人群研究结果显示茶黄素干预后,受试人群的体重、体脂率和皮下脂肪数据明显低于儿茶素组及安慰剂组^[24]。

红茶及其功能物质的降脂活性主要通过影响脂质的吸收、代谢和累积实现。红茶可以通过影响胆固醇胶束体形成、胰脂酶活性来抑制小肠脂质吸收。红茶多酚可以降低体外胆固醇胶束体溶解度,抑制胆固醇胶束体的形成,形成得具有洋葱结构的不溶性多层大囊泡,这种多层囊泡主要由茶黄素单体茶黄素-3-没食子酸酯作用形成^[25];且对于不溶性多层大囊泡的形成,部分茶黄素单体效果优于 ECG、EGCG^[26]。红茶多酚及茶黄素单体对体外胰脂酶的活性有明显抑制作用,且抑制效果优于茶红素、EGCG 及 ECG;有没食子酸酯基存在的茶黄素单体对胰脂酶有更强的抑制效果,计算机模拟研究显示其机制可能是上述茶黄素单体的没食子酸酯基的羟基与胰脂酶的 Asn263 和 Asp206 位点结合,以及干扰 His264 位点的质子化,以抑制胰脂酶活性位点^[23,27-28]。此外,红茶提取物及茶黄素可以通过下调 PI3K/Akt/Sp-1 信号转导通路,抑制脂肪氧合酶 FAS 的过表达,以及激活 SIRT6/AMPK/SREBP-1/FASN 信号通路,抑制肝脏脂质的合成与累积,降低高脂饮食小鼠的 TC、TG 和 LDL 水平,抑制 ALT 和 AST 的活性,改善高脂饮食诱导的肝损伤^[29-30]。红茶提取物可以降低高脂饮食大鼠体脂比和肝脏脂质液滴的数量,显著缓解脂肪沉积和高脂饮食引发的非酒精性脂肪肝病,茶黄素单体茶黄素-3,3'-双没食子酸酯可以抑制脂肪细胞中的甘油三酯累积,其机制均可能与能量消耗、脂质分解及 β -氧化相关的基因表达上调有关,包括激活 AMPK 并导致脂肪分解基因的反式激活因子 PPAR α 的上调,从而抑制脂肪细胞中的脂质累积^[31-32]。

3 结论

本研究对遵义红茶的特征理化成分和降脂活性进行了系统的探究,结果显示,遵义红茶中的 K、Mg、Mn、Ca 和 Al 元素含量丰富,有害重金属元素如 As、Cd、Cr 和 Pb 等含量均符合相关食品标准限量规定;遵义红茶中醇类、酯类和醛类挥发性成分丰度占比较高,甜香、花香型物质如芳樟醇、香叶醇、芳樟醇氧化物、苯乙醇等含量丰富,属于偏甜香的花果香型红茶;遵义红茶中鲜味氨基酸如茶氨酸、谷氨酸、天冬酰胺和天冬氨酸含量较高,且电子舌结果表明遵义红茶具有较强的鲜味,不具有涩味和苦味。此外,遵义红茶水提物对高脂模型斑马鱼具有显著的降脂活性,在 100~800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈剂量依赖地降低高脂斑马鱼体内脂质水平。

参 考 文 献

- [1] 范捷,王秋霜,秦丹丹,等. 红茶品质及其相关生化因子研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(3): 246-253.
FAN J, WANG Q S, QIN D D, et al. Recent progress in black tea quality and related biochemical factors[J]. Food Science, 2020, 41(3): 246-253
- [2] 陈琦,郭静科,许明明,等. 正山小种红茶、茶多酚、茶多糖的抗氧化活性和对人体经络电压的作用初探[J]. 中国食品学报, 2020, 20(10): 43-49.
CHEN Q, GUO J K, XU M M, et al. Anti-oxidative analysis of Lapsang tea infusion, tea polyphenols, tea polysaccharides and its electrophysiological acupuncture meridian signals[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2020, 20(10): 43-49.
- [3] XIAO Y, WU Y P, ZHONG K, et al. Comprehensive evaluation of the composition of Mingshan Laochuancha green tea and demonstration of hypolipidemic activity in a zebrafish obesity model[J]. Rsc Advances, 2019, 9(70): 41269-41279.
- [4] XIAO Y, ZHONG K, BAI J, et al. The biochemical characteristics of a novel fermented loose tea by *Eurotium cristatum* (MF800948) and its hypolipidemic activity in a zebrafish model[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 117: 108629.

- [5] 国家食品药品监督管理总局. 茶叶感官审评方法: GB/T 23776-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016: 1-5.
China Food and Drug Administration. Methodology for sensory evaluation of tea: GB/T 23776-2018[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 1-5.
- [6] 高天芳, 许元青. 低钠高钾饮食干预对高血压患者 NO、ET-1 水平及动脉僵硬度的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1220-1224.
GAO T F, XU Y Q. Effect of low-sodium and high-potassium diet intervention on NO, ET-1 levels and arterial stiffness in patients with hypertension[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2019, 10(5): 1220-1224.
- [7] KOCH W, KUKULA-KOCH W, CZOP M, et al. Analytical assessment of bioelements in various types of black teas from different geographical origins in view of chemometric approach[J]. Molecules (Basel, Switzerland), 2021, 26(19): 6017.
- [8] 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准食品中污染物限量: GB 2762-2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1-9.
China Food and Drug Administration. National food safety standard Contaminant limit in foods: GB 2762-2017[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017: 1-9
- [9] 农业农村部. 茶叶中铬、镉、汞、砷及氟化物限量: NY 659-2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003: 1.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Residue limits for chromium, cadmium, mercury, arsenic and fluoride in tea: NY 659-2003 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2003: 1.
- [10] 农业农村部. 绿色食品 茶叶: NY 288-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 1-3.
Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Green food -Tea: NY 288-2018 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2018: 1-3
- [11] DU L, LI J, LI W, et al. Characterization of volatile compounds of pu-erh tea using solid-phase microextraction and simultaneous distillation-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Research International, 2014, 57: 61-70.
- [12] 刘盼盼, 郑鹏程, 龚自明, 等. 工夫红茶品质分析与综合评价[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 195-205.
LIU P P, ZHENG P C, GONG Z M, et al. Quality analysis and comprehensive evaluation of Chinese congou black tea[J]. Food Science, 2021, 42(12): 195-205.
- [13] ZHOU J, YU X, HE C, et al. Withering degree affects flavor and biological activity of black tea: A non-targeted metabolomics approach[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 130: 109535.
- [14] 王秋霜, 陈栋, 许勇泉, 等. 中国名优红茶香气成分的比较研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(1): 195-200.
WANG Q S, CHEN D, XU Y Q, et al. Study on the aroma components in chinese famous black tea [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2013, 13(1): 195-205.
- [15] 石渝凤, 邸太妹, 杨绍兰, 等. 花香型红茶加工过程中香气成分变化分析[J]. 食品科学, 2018, 39(8): 167-175.
SHI Y F, DI T M, YANG S L, et al. Changes in aroma components in the processing of flowery black tea[J]. Food Science, 2018, 39(8): 167-175.
- [16] QIN Z, PANG X, CHEN D, et al. Evaluation of Chinese tea by the electronic nose and gas chromatography-mass spectrometry: Correlation with sensory properties and classification according to grade level[J]. Food Research International, 2013, 53(2): 864-874.
- [17] YILMAZ C, OZDEMIR F, GOKMEN V. Investigation of free amino acids, bioactive and neuroactive compounds in different types of tea and effect of black tea processing [J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 117: 108655.
- [18] ZHANG L, CAO Q Q, GRANATO D, et al. Association between chemistry and taste of tea: A review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 101: 139-149.
- [19] 吴琴燕, 陈露, 张文文, 等. γ -氨基丁酸红茶品质成分分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(22): 202-204.
WU Q Y, CHE L, ZHANG W W, et al. Analysis of quality and chemical composition of γ -aminobutyric acid black tea[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(22): 202-204.
- [20] YANG C, HU Z Y, LU M L, et al. Application of metabolomics profiling in the analysis of metabolites and taste quality in different subtypes of white tea [J]. Food Research International, 2018, 106: 909-

- 919.
- [21] 雷攀登, 黄建琴, 丁勇, 等. 不同区域祁门红茶品质特点分析[J]. 食品科学, 2015, 36(10): 144–149. LEI P D, HUANG J Q, DING Y, et al. Quality characteristics of keemun black tea from various regions[J]. Food Science, 2015, 36(10): 144–149.
- [22] QU F, ZENG W, TONG X, et al. The new insight into the influence of fermentation temperature on quality and bioactivities of black tea[J]. LWT—Food Science and Technology, 2020, 117: 108646.
- [23] IMRAN A, BUTT M S, ARSHAD M S, et al. Exploring the potential of black tea based flavonoids against hyperlipidemia related disorders[J]. Lipids in Health and Disease, 2018, 17: 57.
- [24] AIZAWA T, YAMAMOTO A, UENO T. Effect of oral theaflavin administration on body weight, fat, and muscle in healthy subjects: A randomized pilot study[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2017, 81(2): 311–315.
- [25] VERMEER M A, MULDER T P J, MOLHUIZEN H O F. Theaflavins from black tea, especially theaflavin-3-gallate, reduce the incorporation of cholesterol into mixed micelles[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(24): 12031–12036.
- [26] NARAI-KANAYAMA A, SARUWATARI K, MORI N, et al. Theaflavin-3-gallate specifically interacts with phosphatidylcholine, forming a precipitate resistant against the detergent action of bile salt[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2018, 82(3): 466–475.
- [27] GLISAN S L, GROVE K A, YENNAWAR N H, et al. Inhibition of pancreatic lipase by black tea theaflavins: Comparative enzymology and in silico modeling studies[J]. Food Chemistry, 2017, 216: 296–300.
- [28] KOBAYASHI M, ICHITANI M, SUZUKI Y, et al. Black-tea polyphenols suppress postprandial hypertriglycerolemia by suppressing lymphatic transport of dietary fat in rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(15): 7131–7136.
- [29] CAI X, LIU Z, DONG X, et al. Hypoglycemic and lipid lowering effects of theaflavins in high-fat diet-induced obese mice[J]. Food & Function, 2021, 12(20): 9922–9931.
- [30] YEH C W, CHEN W J, CHIANG C T, et al. Suppression of fatty acid synthase in MCF-7 breast cancer cells by tea and tea polyphenols: A possible mechanism for their hypolipidemic effects[J]. Pharmacogenomics Journal, 2003, 3(5): 267–276.
- [31] KO H J, LO C Y, WANG B J, et al. Theaflavin-3,3'-digallate, a black tea polyphenol, stimulates lipolysis associated with the induction of mitochondrial uncoupling proteins and AMPK-FoxO3A-Mn-SOD pathway in 3T3-L1 adipocytes[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 17: 271–282.
- [32] SHEN Y, XIAO X, WU K, et al. Effects and molecular mechanisms of Ninghong black tea extract in nonalcoholic fatty liver disease of rats[J]. Journal of Food Science, 2020, 85(3): 800–807.

Evaluation of the Quality Characteristics of Zunyi Black Tea and Its Hypolipidemic Activity in a High-Fat Zebrafish Model

Li Maoyun¹, Xiao Yue², Zhong Kai¹, Wu Yanping^{1*}, Gao Hong¹

¹College of Biomass Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065

²West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610065

Abstract Zunyi black tea (ZBT) is a kind of Congou black tea originating from Zunyi city of Guizhou province in China. Currently, there are few reports about the chemical compositions and bioactivity of ZBT. Herein, the characteristic chemical compositions and hypolipidemic activity of ZBT are explored for clarifying its quality characteristics. As a result, it was observed that the content of K (22 655.89 mg/kg) was the most abundant element in ZBT, and the contents of toxic elements including As, Cd, Cr and Pb were all below the limits. Alcohols were the main volatiles accounted for 56.49%, and volatiles with floral and fruity aroma were detected, such as linalool (36.58%) and geraniol (10.91%). The content of total amino acid in ZBT was 10 396.67 mg/kg. High levels of theanine, glutamate, aspartate, asparagine con-

tributed to the umami taste were existed in ZBT. It was showed that no astringent and bitter tastes was detected in ZBT through using electronic tongue system. In addition, the hypolipidemic activity of ZBT was investigated by high-fat zebrafish model, and water extract of ZBT at 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ significantly reduced lipid level by 54.98% of high-fat zebrafish ($P < 0.05$). Hence, the above results revealed the quality characteristics of ZBT and provided further insights into bioactivity of ZBT.

Keywords Zunyi black tea; characteristic chemical components; volatile aroma; taste; hypolipidemic activity