

乌牛早夏茶降脂因子及其调节肥胖小鼠肝脏和肠道菌群的作用

张一帆¹, 袁懿炜¹, 叶江成¹, 龚明秀², 赵进^{1,3,4*}, 汪旭明⁵

(¹中国计量大学生命科学学院食品营养与质量安全研究所 杭州 310018

²兰溪市人民医院 浙江金华 321000

³易晓食品(衢州)有限公司 浙江开化 324300

⁴浙江艺福堂茶业有限公司博士创新工作站 浙江桐庐 311500

⁵杭州市茗信茶业有限公司 杭州 310020)

摘要 目的:采摘乌牛早夏季鲜叶分别制备为绿茶和红茶,分析其主要功能成分的含量变化。探究这两种茶的水提物干预肥胖小鼠肝脏和肠道菌群的作用机理。方法:采用化学计量法检测乌牛早夏绿茶和夏红茶各加工工序茶样的主要功能成分动态变化。适应性饲养 50 只小鼠 1 周后,将它们随机分为正常组(NC)、高脂组(HFD)、阳性对照组(PC)、乌牛早夏绿茶组(WG)和乌牛早夏红茶组(WB)各 10 只,连续口服灌胃 8 周(NC 组和 HFD 组灌胃生理盐水,PC 组灌胃 10 mg/kg BW 的阿托伐他汀,WG 组和 WB 组分别灌胃 300 mg/kg BW 的乌牛早夏绿茶和夏红茶水提物),记录并分析小鼠体质量、Lee's 指数、血糖水平、血脂、肝脏组织病理切片、肝脏脂质代谢 SREBP1c 信号通路及肠道菌群的变化。结果:乌牛早夏绿茶和夏红茶加工工序中主要功能成分含量发生明显变化。与乌牛早夏绿茶鲜叶相比,成品中茶多酚和咖啡碱含量分别升高了 3.87%,0.61%,而游离氨基酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量分别下降了 0.56%,0.47%以及 4.26%。与乌牛早夏红茶鲜叶相比,成品中茶多酚、咖啡碱、游离氨基酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量分别下降了 6.15%,0.40%,1.08%,0.53%以及 4.11%;与高脂组相比,乌牛早夏绿茶组小鼠的体质量为 27.73 g, Lee's 指数为 3.18;乌牛早夏红茶组小鼠的体质量为 26.78 g, Lee's 指数为 3.15,均呈现显著差异($P<0.05$)。并且,两种茶的水提物能有效缓解肥胖小鼠血糖、血脂水平以及肝脏脂肪过度堆积症状,调控肝脏脂质代谢 SREBP1c 信号通路相应基因转录含量和蛋白表达水平。肠道菌群分析结果显示,乌牛早夏绿茶和夏红茶水提物可降低肥胖小鼠肠道菌群中厚壁菌门与拟杆菌门的比值,并特异性增加一些有益菌种的相对丰度(如拟普雷沃菌属和理研菌属)。结论:两种茶水提物均能有效改善肥胖小鼠肝脏代谢异常和肠道菌群紊乱,其中乌牛早夏绿茶水提物的作用效果更为显著。

关键词 乌牛早夏茶; 肥胖; 肝脏; 肠道菌群

文章编号 1009-7848(2024)12-0126-16 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.12.012

随着人们生活质量的提升,日常饮食中高脂肪食物的比例逐渐增加,导致肥胖症,一种由高脂饮食引发的疾病变得更加普遍^[1]。肥胖不仅是多种疾病的前兆,还能加剧这些疾病的致死风险^[2-5]。茶叶作为一种天然饮品,因含有多种天然活性成分而在全球范围广受青睐^[6-7]。乌牛早为中国名茶,因

其抗逆性强和产量高等优势,而在国内种植面积广泛,且已有 300 多年的栽培历史。目前,对于乌牛早茶品种和茶制品的相关研究主要集中于春茶(春季采摘的鲜叶)的香气和加工工艺^[8-9],而每年产生的大量乌牛早夏秋茶资源也需高效和高值化利用。其原因在于:为茶企和茶农增加新的创收;提高乌牛早茶资源利用率,减少茶资源浪费和支持乡村走向共同富裕。由于绿茶和红茶的鲜叶加工工艺不同,其产品的功能活性成分差异较大,而这些成分是茶制品产生降脂减肥效果差异性的内在原因,值得探究。本研究中采摘同一茶园乌牛早夏季鲜叶,分别按照相应加工工艺将其制成乌牛早夏绿茶和夏红茶,检测茶样中主要功能成分动态变化,并探究其水提物调节肥胖小鼠肝脏和肠道菌群的作用机理。

收稿日期: 2023-12-19

基金项目: 浙江省科技计划项目(SKT20241106);衢州市科技攻关竞争性项目(2023k098);建德市农业与社会发展项目(2024NS10);杭州市科技特派员项目(20231122i48, 20231122i59);浙江省团队科技特派员项目(开化茶产业提升);浙江省重点研发计划项目(2020C02045)

第一作者: 张一帆,男,硕士生

通信作者: 赵进 E-mail: zhaojin@cjlu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料和实验动物

采摘夏季乌牛早茶鲜叶,按照乌牛早绿茶加工工艺:1)鲜叶→萎凋→杀青→干燥(成品)。2)乌牛早红茶加工工艺:鲜叶→萎凋→揉捻→发酵→干燥(成品)。并分别按加工工艺依次采集茶样,分析其主要功能成分动态变化趋势。

8 周龄雄性 C57BL/6J(SPF 级)小鼠购于杭州子源实验动物科技有限公司(中国计量大学伦理委员会批准号 2023001)。

1.2 试剂和仪器

谷草转氨酶(AST)检测试剂盒、谷丙转氨酶(ALT)检测试剂盒、高密度脂蛋白(HDL-C)检测试剂盒、低密度脂蛋白(LDL-C)检测试剂盒、总胆固醇(TC)检测试剂盒和总甘油三酯(TG)检测试剂盒,南京建成生物工程研究所;RNA 提取、逆转录和 q-PCR 试剂盒,Takara 北京生物科技有限公司的试剂盒;RIPA Buffer,赛默飞有限公司。

血糖仪,罗氏血糖健康医护公司;MD 全波长酶标仪 Spectra Max190,北京嘉鹏同创科技发展有限公司;qTower³ 荧光定量 PCR 仪,德国耶拿分析仪器股份公司。

1.3 试验方法

1.3.1 乌牛早夏茶主要功能成分检测 可溶性糖、咖啡碱、可溶性蛋白、茶多酚、游离氨基酸的检测分别按相应的方法^[10-14]进行。

1.3.2 乌牛早夏茶水提物冻干粉制备 具体操作方法参照本团队实验室之前发表的论文^[15]。

1.3.3 实验小鼠分组与饲养方案 所有小鼠(共 50 只)均饲养于实验动物房。进行适应性喂养 1 周后,随机分为相同数量的 5 组,分别为正常组(NC)、乌牛早夏绿茶组(WG)、乌牛早夏红茶组

(WB)、高脂组(HFD)和阳性对照组(PC)。NC 组给予维持饲料(含 12.0%脂肪),其余 4 组给予高脂饲料(含 60%脂肪)。每日固定时间进行灌胃(持续 8 周),NC 组和 HFD 组每日灌胃生理盐水,PC 组每日灌胃阿托伐他汀钙片(10 mg/kg BW),WG 组和 WB 组灌胃对应冻干粉茶汤(300 mg/kg BW)^[16]。灌胃体积依据文献方法^[17],按照小鼠体质量的增减进行相应调整。

1.3.4 体质量测定 每周对小鼠进行一次体质量称量。在实验结束(末次灌胃)后,测量小鼠的体质量和体长,根据公式计算 Lee's 指数。

1.3.5 葡萄糖耐量测定 小鼠禁食 12 h 过夜,灌糖前先测定空腹血糖水平,随后灌胃葡萄糖(按照 2 g/kg·BW 剂量^[18])。小鼠尾静脉采第 2 滴血并立即用血糖仪检测 0 min 时血糖值(空腹),之后分别在灌糖后第 15,30,60 和 120 min 时依次检测血糖值。

1.3.6 生化指标(血液与肝脏组织)测定 小鼠眼球采血后离心获得血清样品,生化指标(TG、TC、HDL-C 和 LDL-C)按试剂盒说明书方法进行检测;处死小鼠后,取一小叶肝脏组织匀浆后离心,按试剂盒说明书要求对所得上清液样品进行生化指标(TG、TC、ALT 和 AST)检测。

1.3.7 肝脏组织切片观察 处死小鼠后,取一小叶肝脏组织放入离心管(含 10%福尔马林)中,按郑丽等^[19]的方法制备并观察肝脏组织切片。

1.3.8 RT-PCR 检测肝脏脂质代谢 SREBP1c 信号通路基因含量 引物序列如表 1 所示。RT-PCR 反应条件:95 ℃,1 min;40 个循环(95 ℃,15 s,63 ℃,25 s,收集荧光);55 to 95 ℃ 熔点曲线。以 GAPDH 基因作为内参分析其它基因 mRNA 相对量。

表 1 基因引物序列

Table 1 Gene primer sequences

基因名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
<i>GAPDH</i>	GAAGGTCGGTGTGAACGGATTTG	CATGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
<i>SCD1</i>	GCAAGCTCTACACCTGCCTCTTC	CAGCCGTGCCCTTGTAAAGTTCTG
<i>CD36</i>	CAGATGACGTGGCAAAGAACAG	CAGAGTTCGTTATCTAGCCAAGG
<i>ACCI</i>	CGTGCAATCCGATTTGTTGTCATG	GGAACATAGTGGTCTGCCATCT
<i>SREBP1c</i>	CCCGGCTATCCGTGAACAT	GCAGATATCCAAGGGCATCTGA
<i>FAS</i>	GCTTTGCTGCCGTGCTCTTCTA	CTGTCTTGGCACGCAGCAGT
<i>PPARγ</i>	CTCCAAGAATACCAAAGTGCGA	GCCTGATGCTTTATCCCCACA

1.3.9 Western Blot 检测肝脏脂质代谢 SREBP1c 信号通路蛋白水平 具体操作方法参照本团队实验室之前发表的论文^[15]。

1.3.10 肠道菌群检测 超净工作台中收集小鼠结肠中的粪便样品,并及时通过液氮冷冻后送往北京擎科生物科技有限公司进行 16S rRNA 高通量测序。

1.4 统计分析

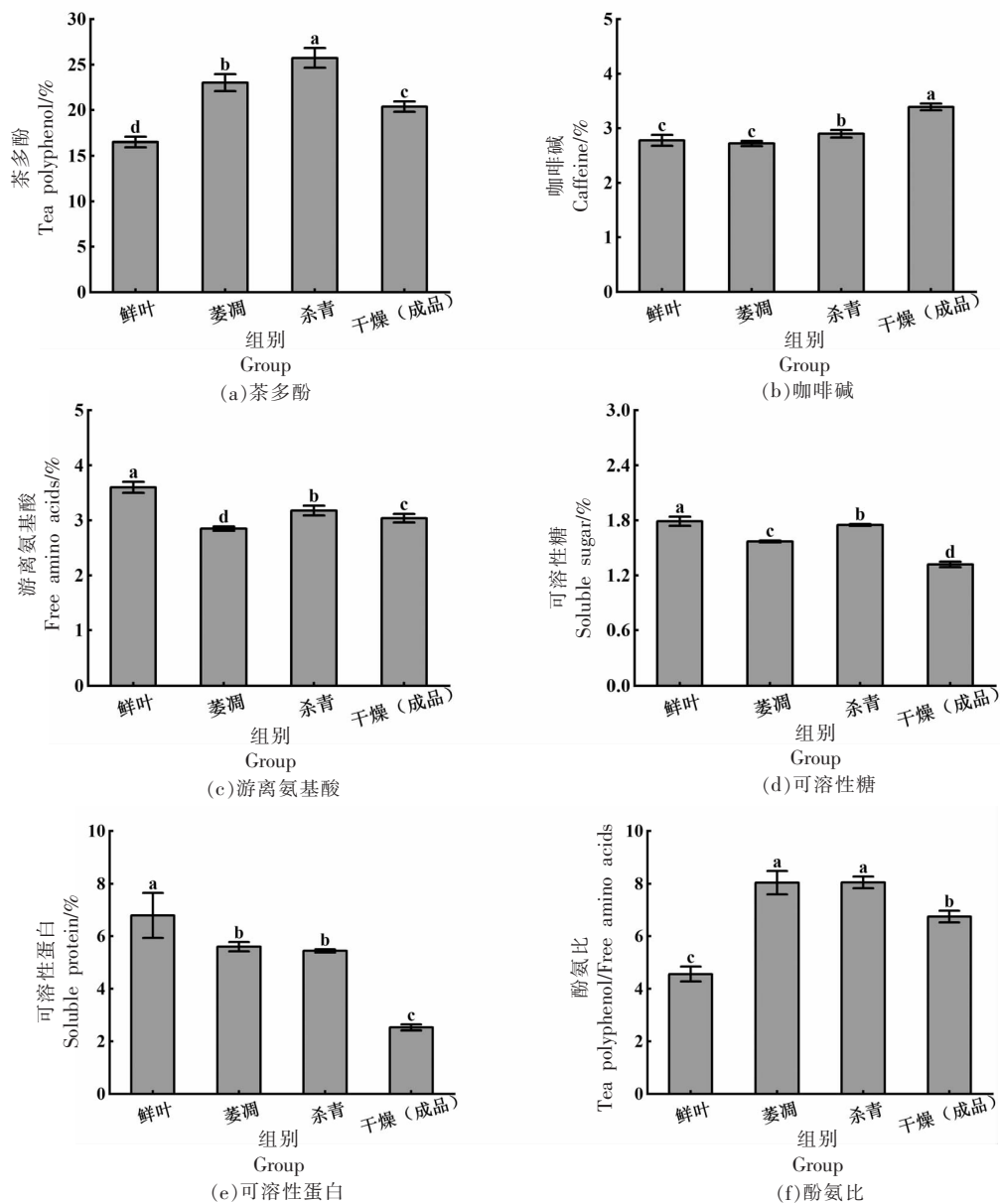
所有检测指标数据通过均数±标准差表示,使

用 SPSS 20.0 进行单因素方差分析和 Duncan 检验多重比较, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 茶样品主要功能成分检测

2.1.1 乌牛早夏绿茶 乌牛早夏绿茶加工过程中主要功能成分检测如图 1 所示。与鲜叶工序茶样相比,萎凋工序茶样中茶多酚含量和酚氨比显著升高($P<0.05$),游离氨基酸含量、可溶性糖含量和



注:图中相同指标字母不同表示差异显著($P<0.05$),下同。

图 1 乌牛早夏绿茶加工过程中主要功能成分检测

Fig.1 Detection of main functional components in Wuniuzao green tea during summer

可溶性蛋白含量显著降低 ($P<0.05$), 咖啡碱含量无明显变化 ($P>0.05$); 杀青工序茶样中茶多酚含量、咖啡碱含量和酚氨比显著升高 ($P<0.05$), 游离氨基酸含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量显著降低 ($P<0.05$); 成品工序茶样中茶多酚含量、咖啡碱含量和酚氨比显著升高 ($P<0.05$), 游离氨基酸含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量显著降低 ($P<0.05$).

2.1.2 乌牛早夏红茶 乌牛早夏红茶加工过程中主要功能成分检测如图 2 所示。与鲜叶工序茶样

相比, 萎凋工序茶样中咖啡碱含量和酚氨比显著升高 ($P<0.05$), 游离氨基酸含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量显著降低 ($P<0.05$), 茶多酚含量无明显变化 ($P>0.05$); 揉捻工序茶样中咖啡碱含量显著升高 ($P<0.05$), 茶多酚含量、游离氨基酸含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量显著降低 ($P<0.05$), 酚氨比无明显变化 ($P>0.05$); 发酵工序茶样中茶多酚含量、咖啡碱含量、游离氨基酸含量、可溶性糖含量和可溶性蛋白含量显著降低 ($P<0.05$), 酚氨比无明显变化 ($P>0.05$); 成品工序茶样中茶

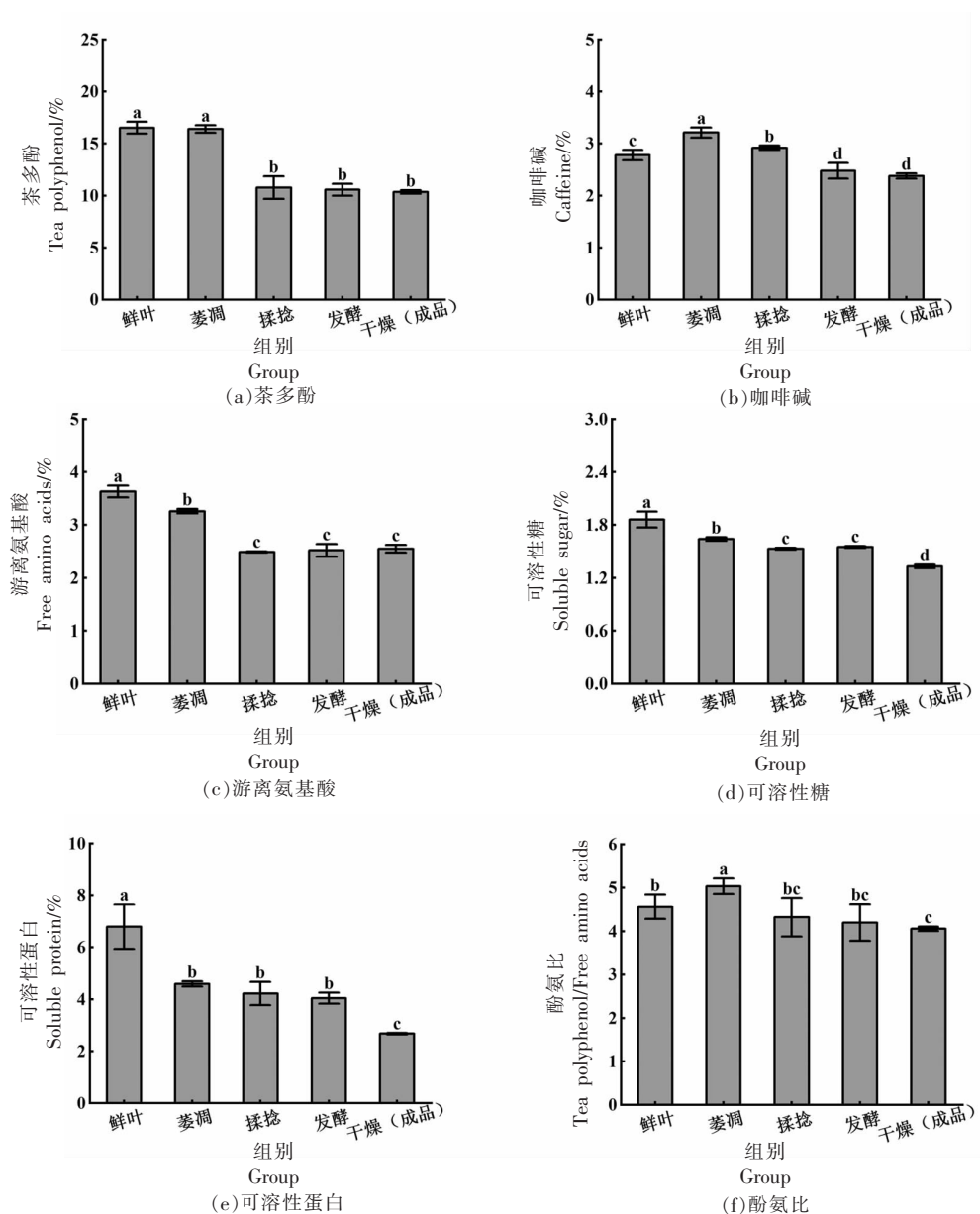


图 2 乌牛早夏红茶加工过程中主要功能成分检测

Fig.2 Detection of main functional components in Wuniuzao black tea during summer

多酚含量、咖啡碱含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、游离氨基酸含量和酚氨比均显著降低($P < 0.05$)。

2.1.3 乌牛早夏茶水提取物冻干粉 乌牛早夏绿茶水提取物冻干粉中游离氨基酸、可溶性蛋白、可溶性糖、茶多酚和咖啡碱含量(%)分别为: 7.57 ± 0.07 , 5.34 ± 0.22 , 3.94 ± 0.07 , 56.29 ± 2.15 , 9.23 ± 0.16 。乌牛早夏红茶水提取物冻干粉中游离氨基酸、可溶性蛋白、可溶性糖、茶多酚和咖啡碱含量(%)分别为: 6.35 ± 0.08 , 5.02 ± 0.10 , 3.40 ± 0.11 , 33.85 ± 1.05 , $7.79 \pm$

0.27。

2.2 乌牛早夏茶水提取物对高脂饮食小鼠生理指标的影响

2.2.1 乌牛早夏茶水提取物对小鼠体质量和 Lee's 指数的影响 由图 3a 可知, 相比 NC 组, HFD 组小鼠体质量显著增加($P < 0.05$), 佐证了小鼠肥胖模型构建成功。由图 3b 可知, 与 NC 组相比, HFD 组小鼠 Lee's 指数显著升高($P < 0.05$); 与 HFD 组相比, WG 和 WB 组小鼠 Lee's 指数均显著降低($P < 0.05$)。

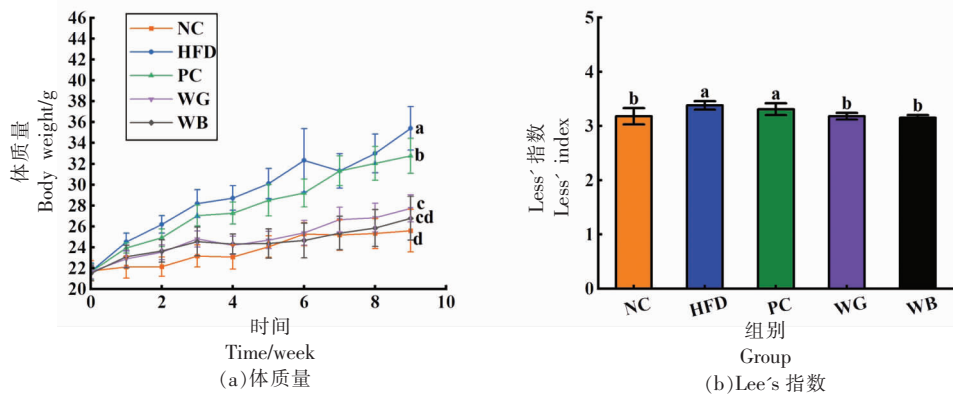


图 3 乌牛早夏茶水提取物对小鼠体质量(a)及 Lee's 指数(b)的影响

Fig.3 Effects of Wuniuzao tea (in summer) water extract on body weight(a) and Lee's index(b)

2.2.2 乌牛早夏茶水提取物对小鼠血糖代谢水平的影响 由图 4a 可知, HFD 组小鼠空腹血糖值明显增加($P < 0.05$), 相比于 NC 组; PC 组、WG 组和 WB 组小鼠空腹血糖值明显下降 ($P < 0.05$), 相比于 HFD 组。由图 4b 可知, 口服葡萄糖溶液后, 所有

组别小鼠血糖值在 30 min 时达到峰值后开始逐渐下降。其中, NC 组、PC 组、WG 组和 WB 组小鼠血糖值在 120 min 时基本恢复到正常水平, 而此时 HFD 组小鼠血糖值仍处于较高水平。

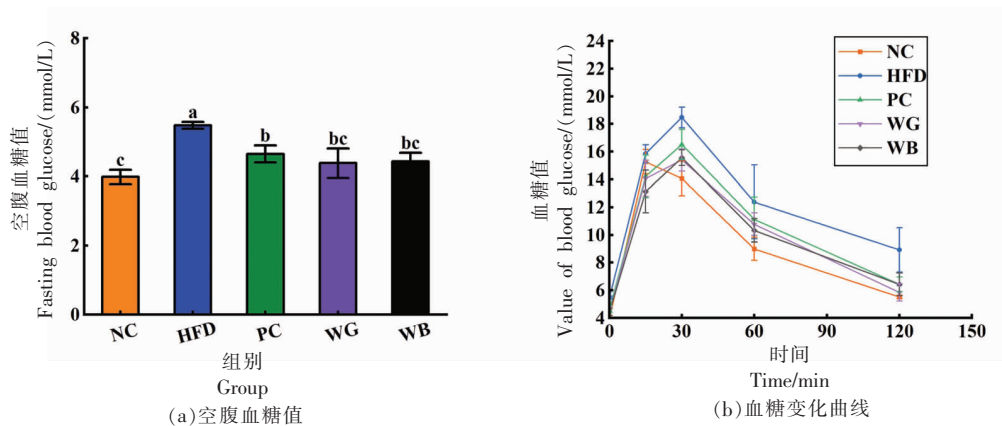


图 4 乌牛早夏茶水提取物对小鼠糖代谢的影响

Fig.4 Effect of Wuniuzao tea (in summer) water extract on glucose metabolism

2.2.3 乌牛早夏茶水提物对小鼠血脂的影响 各组小鼠的血清指标(TC、TG、LDL-C 和 HDL-C)如图 5 所示。与 NC 组相比,HFD 组血脂明显异常,TC、TG 和 LDL-C 含量显著升高($P<0.05$),HDL-C 含量明显降低 ($P<0.05$); 与 HFD 组相比,PC 组、

WG 组和 WB 组小鼠血脂异常情况明显缓解,TC、TG 和 LDL-C 含量显著降低 ($P<0.05$),HDL-C 含量明显升高($P<0.05$)。与 PC 组相比,WG 组和 WB 组的 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 含量均无明显差异($P>0.05$)。

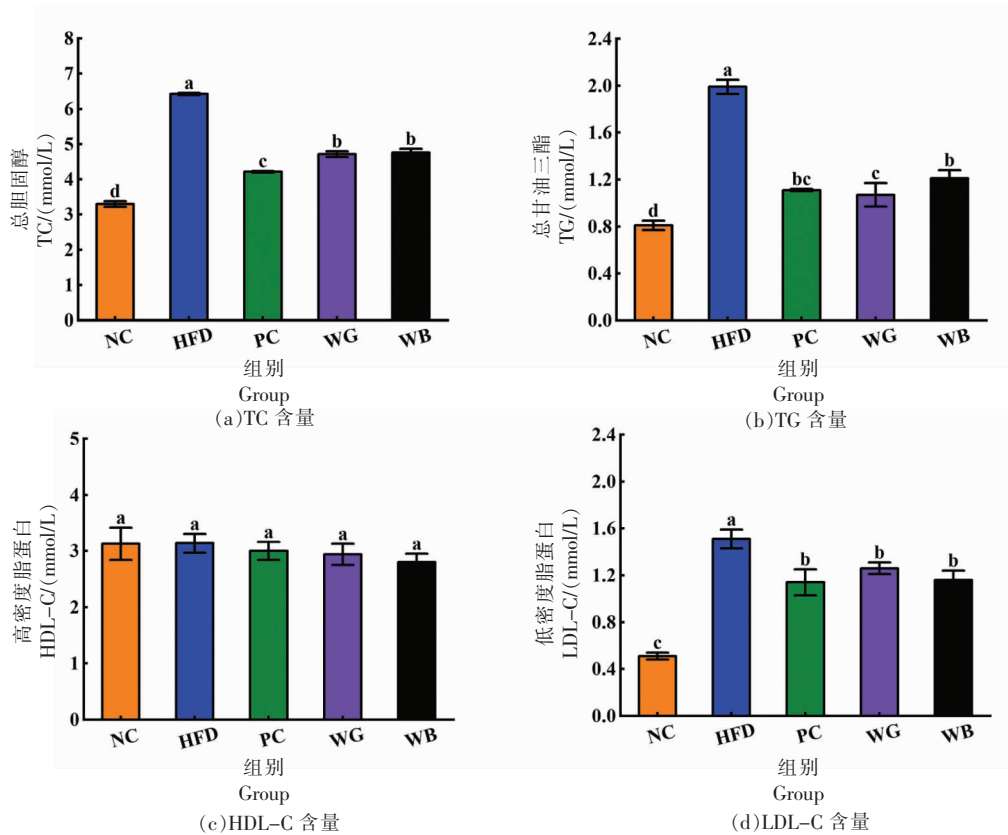


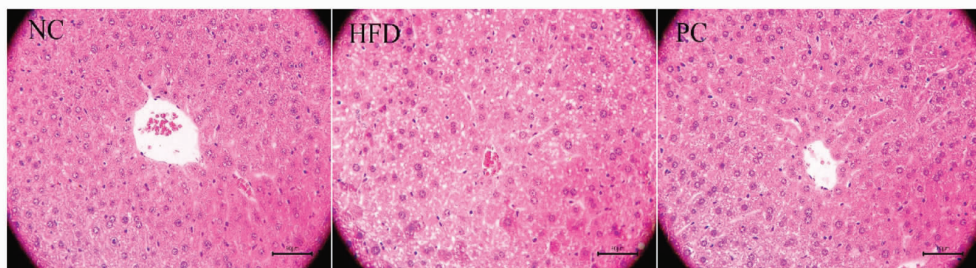
图 5 乌牛早夏茶水提物对血脂的影响

Fig.5 Effect of Wuniuzao tea (in summer) water extract on serum lipids

2.3 乌牛早夏茶水提物对高脂饮食小鼠肝脏脂质代谢过程的影响

2.3.1 乌牛早夏茶水提物对小鼠肝脏组织形态的影响 HE 染色结果显示 (图 6),NC 组小鼠肝脏组织中未见明显的脂肪空泡,细胞表现形态完整,

外观排列整齐;HFD 组肝脏细胞排列紊乱,细胞间存在大量脂肪空泡,肝脏细胞明显扩张且胞浆内有颗粒感;PC 组、WG 组和 WB 组肝脏细胞排列较为整齐,细胞间存在少量脂肪空泡。



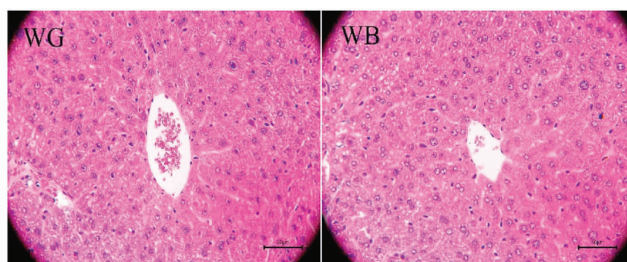


图6 各组小鼠样品肝脏组织 HE 染色 (400×)

Fig.6 HE staining results of liver tissue of mice in each group (400×)

2.3.2 乌牛早夏茶水提取物对小鼠肝脏组织生化指标的影响 乌牛早夏茶水提取物对小鼠肝脏组织生化指标的影响如图7所示。与NC组相比,HFD组小鼠肝脏TC和TG含量明显升高 ($P<0.05$),AST

和ALT酶活性明显提高 ($P<0.05$);与HFD组相比,WG组和WB组的TC和TG含量明显降低 ($P<0.05$),AST酶活性明显降低 ($P<0.05$),ALT酶活性无明显变化。

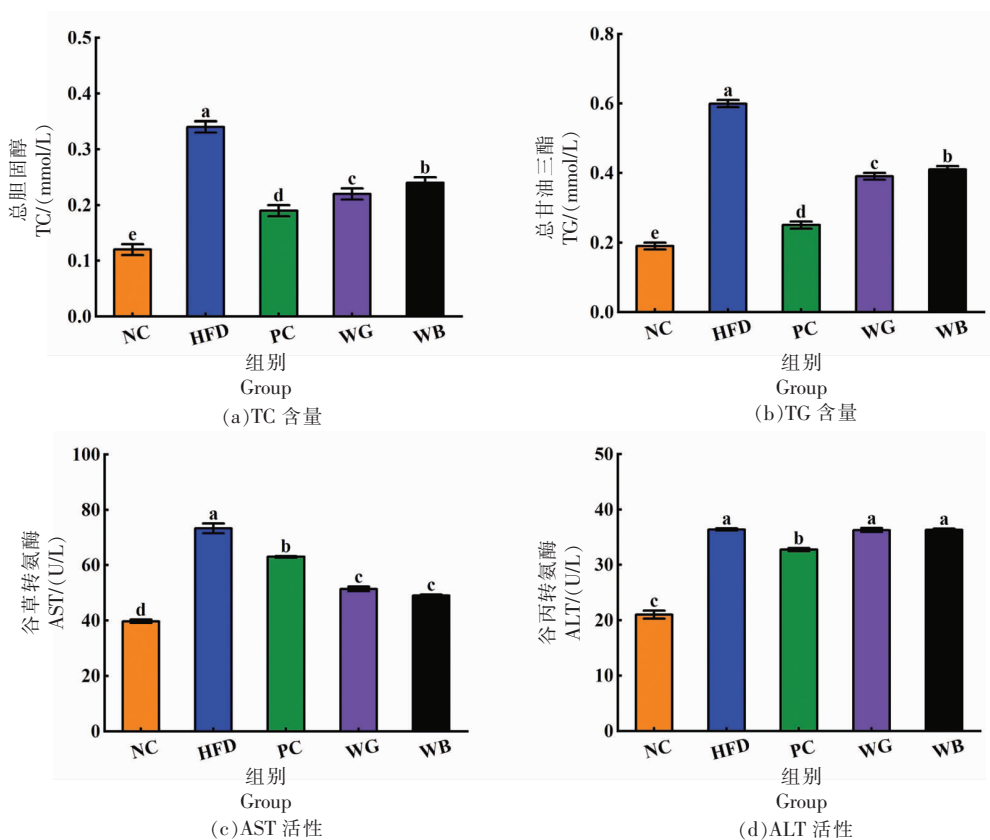


图7 乌牛早夏茶水提取物对肝脏生化指标的影响

Fig.7 Effect of Wuniuzao tea (in summer) water extract on liver biochemical indexes

2.3.3 乌牛早夏茶水提取物对小鼠肝脏脂质代谢 SREBP1c 信号通路基因转录水平的影响 为探究乌牛早夏茶水提取物干预高脂饮食肥胖小鼠肝脏组织脂质代谢的机制,本研究定量分析小鼠肝脏组织脂肪从头合成基因 SREBP1c 及其上、下游靶标

基因 (*CD36*、*FAS*、*PPAR γ* 、*SCD1* 和 *ACCI*) 的 mRNA 表达水平,结果如图 8a~8f 所示。

对 SREBP1c 及其下游靶标基因 (*FAS*、*ACCI* 和 *SCD1*) 进行实时荧光定量分析,结果表明:与 NC 组相比,HFD 组 SREBP1c 及下游靶标基因

(*FAS*, *ACCI* 和 *SCD1*) mRNA 表达量显著增加 ($P < 0.05$),但在阳性药物和乌牛早夏茶水提物的干预下,这种趋势得到有效缓解 ($P < 0.05$)。对 SREBP1c 上游靶标基因 (*PPAR γ* 和 *CD36*) 进行实时荧光定量分析,结果发现:与 NC 组相比,HFD 组 *PPAR γ* 基因和 *CD36* 基因 mRNA 表达量显著升高 ($P <$

0.05); 与 HFD 组相比,PC 组 *PPAR γ* 基因和 *CD36* 基因 mRNA 表达量均显著降低 ($P < 0.05$),而 WG 组和 WB 组 *PPAR γ* 基因 mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.05$),*CD36* 基因 mRNA 表达量无明显变化 ($P > 0.05$)。

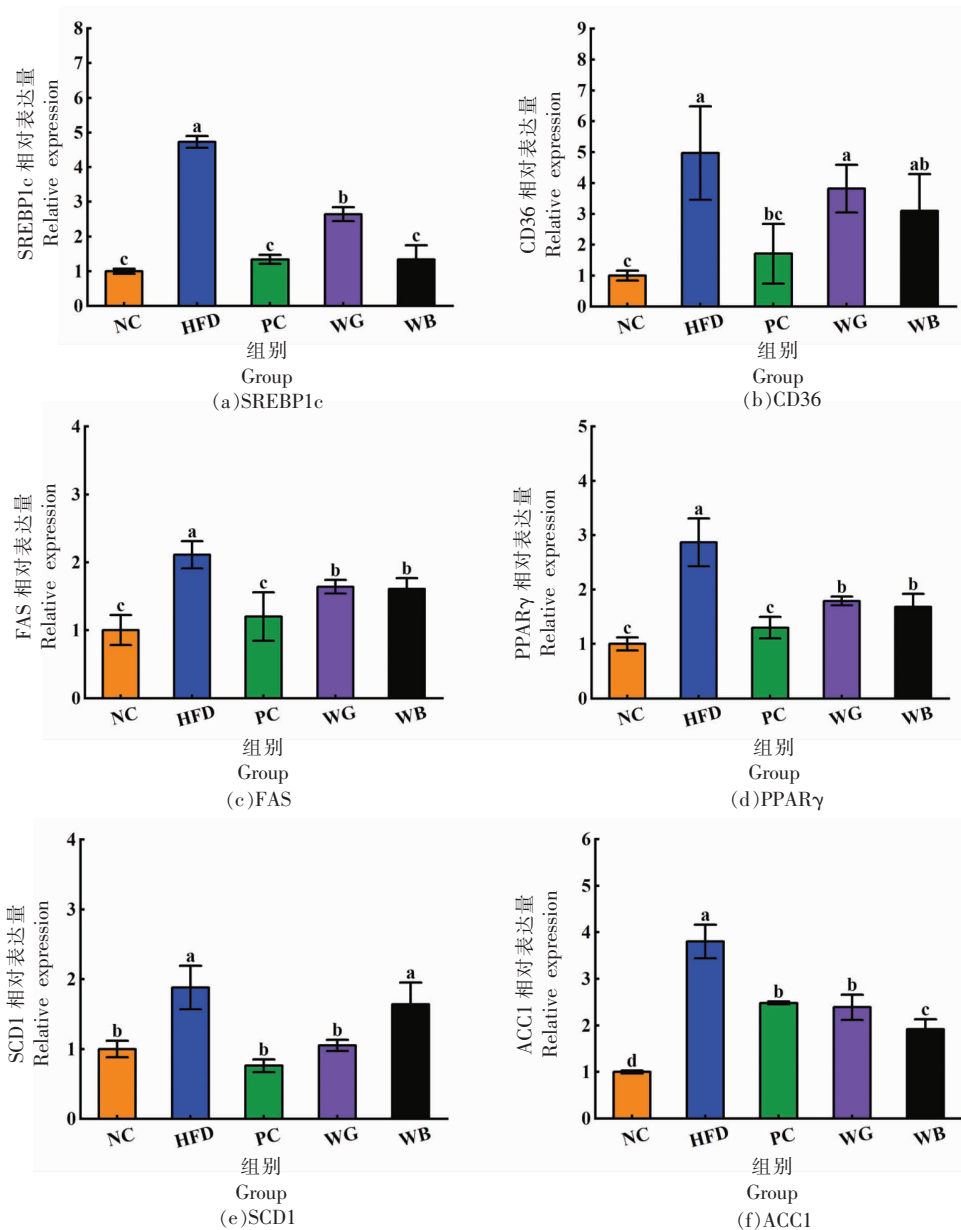


图 8 乌牛早夏茶水提物对小鼠肝组织脂质代谢 SREBP1c 信号通路基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig.8 Effect of Wuniuzao tea (in summer) on the relative mRNA level of SREBP1c signaling pathway genes of lipid metabolism in mouse liver

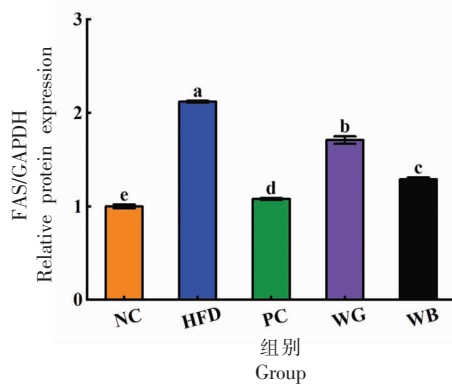
2.3.4 乌牛早夏茶水提物对小鼠肝脏脂质代谢 SREBP1c 信号通路蛋白表达水平的影响 由图

9a~9e 可知,与 NC 组相比,HFD 组小鼠肝脏组织脂质代谢 SREBP1c 信号通路中 *FAS*、*SCD1*、

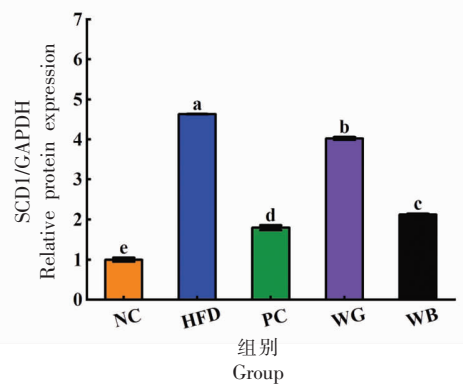
SREBP1c、PPAR γ 和 ACC1 的蛋白表达水平显著升高 ($P<0.05$); 与 HFD 组相比, PC 组、WG 组和 WB 组 FAS、SCD1、SREBP1c、PPAR γ 和 ACC1 的蛋白表达水平显著降低 ($P<0.05$)。由图 9f 可知, 与 NC 组相比, HFD 组 p-ACC1 (ACC1) 的蛋白磷酸化水平显著降低 ($P<0.05$); 与 HFD 组相比, PC 组、WG 组和 WB 组 p-ACC1 (ACC1) 的蛋白磷酸化水平显著升高 ($P<0.05$)。

2.4 乌牛早夏茶水提取物对高脂饮食小鼠肠道菌群的影响

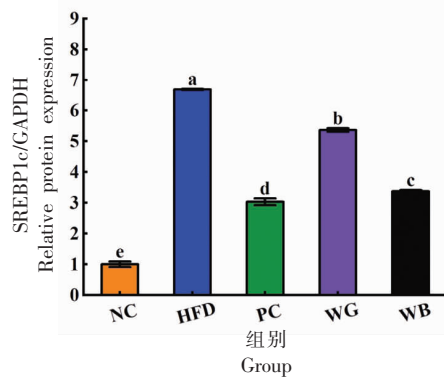
2.4.1 α 多样性分析 由图 10 可知, HFD 组小鼠肠道菌群中 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均显著降低 ($P<0.05$), 与 NC 组相比; 与 HFD 组相比, PC 组小鼠肠道菌群中 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数无明显变化 ($P>0.05$), 而 WG 组和 WB 组小鼠肠道菌群中 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均明显上升 ($P<0.05$), 表明乌牛早夏茶水提取物具有调节肥胖小鼠肠道菌群作用, 并且与阳性药物作用机制不一样。



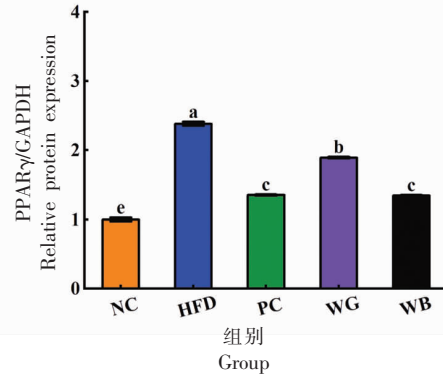
(a) FAS/GAPDH



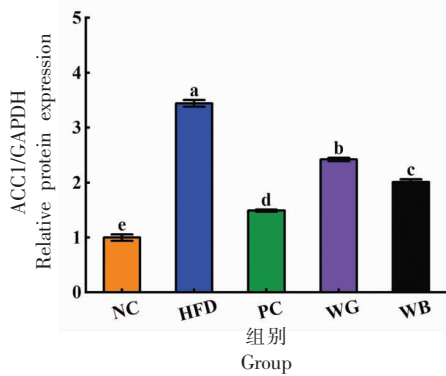
(b) SCD1/GAPDH



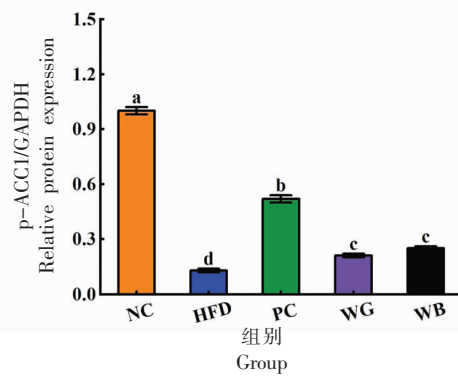
(c) SREBP1c/GAPDH



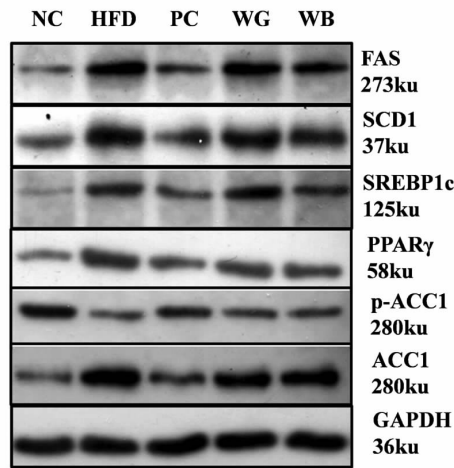
(d) PPAR γ /GAPDH



(e) ACC1/GAPDH



(f) p-ACC1/ACC1



(g) 蛋白电泳图

图 9 乌牛早夏茶提取物对小鼠肝组织脂质代谢 SREBP1c 信号通路蛋白表达水平的影响

Fig.9 Effect of Wuniuzao tea (in summer) tea on the expression level of SREBP1c signaling pathway protein of lipid metabolism in mouse liver

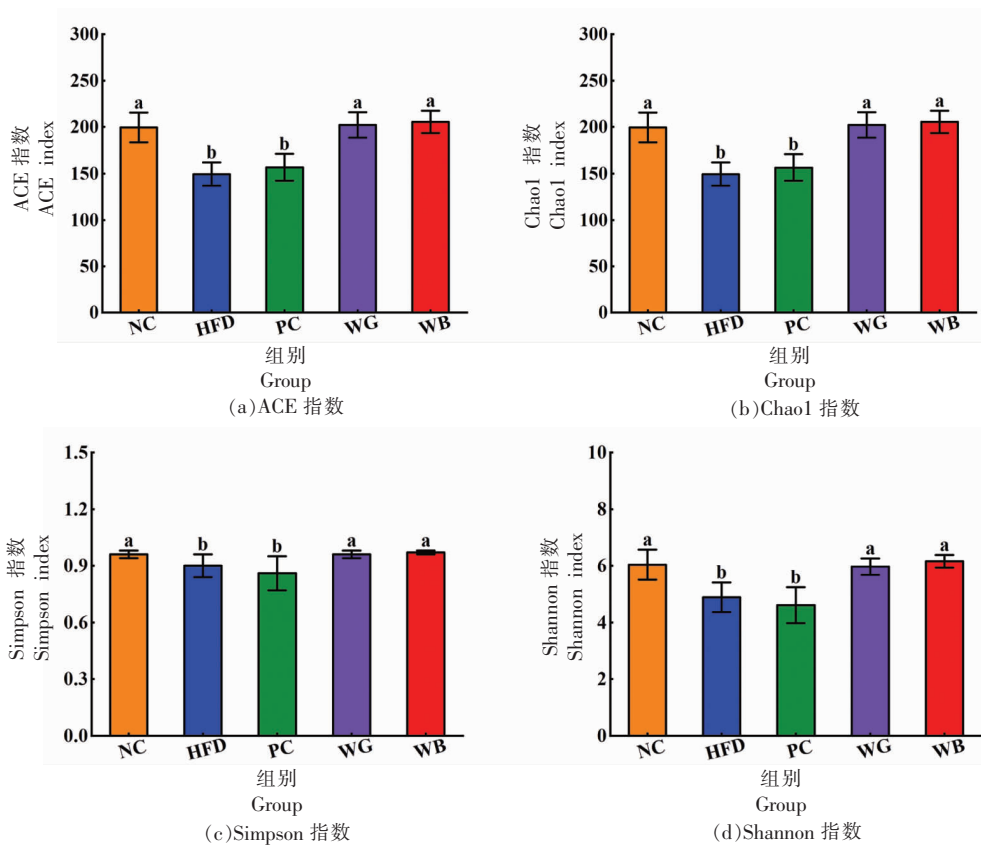


图 10 各组小鼠肠道菌群 α 多样性指数分析结果 (n=6)

Fig.10 Analysis results of α diversity index of in gut microbiota in each group (n=6)

2.4.2 β 多样性分析 由图 11a 可知,NC 组与 HFD 组、PC 组、WG 组和 WB 组小鼠肠道菌群的组成结构存在明显差异;HFD 组与 PC 组、WG 组

与 WB 组小鼠肠道菌群的组成结构两两之间分别存在一定的相似性。由图 11b 可知,各组肠道菌群整体分布差异较大,但是 WG 组和 WB 组与 NC 组

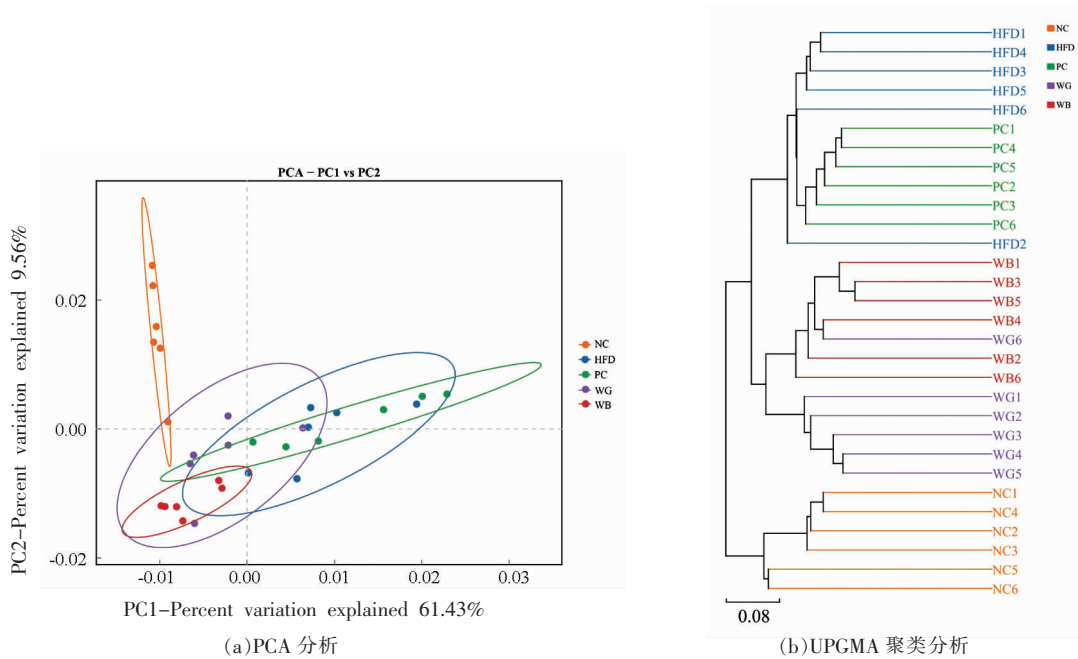


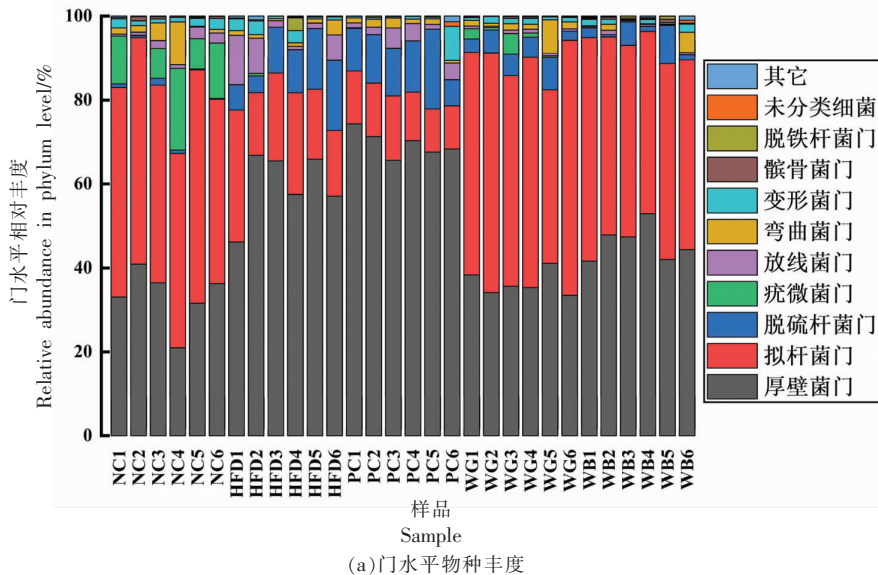
图 11 各组小鼠肠道菌群 β 多样性指数分析结果 (n=6)

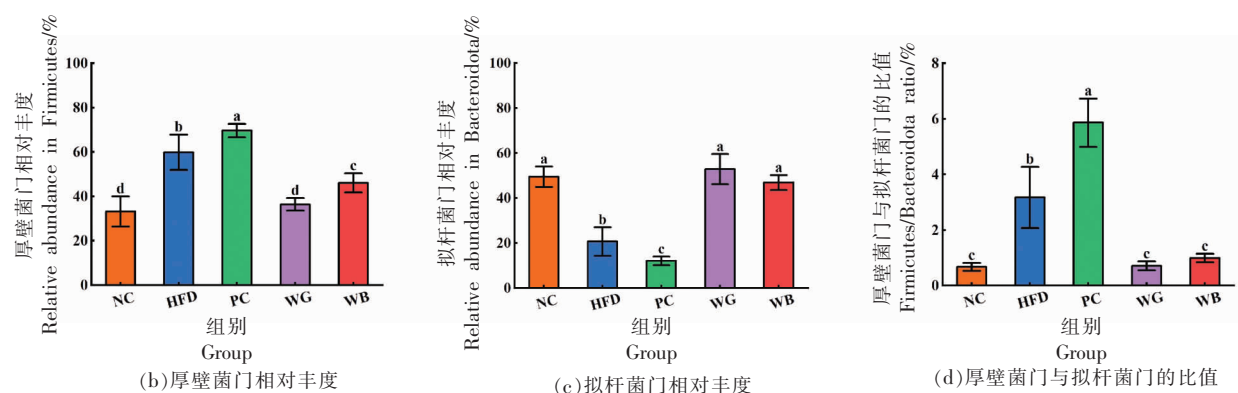
Fig.11 Analysis results of β diversity index of in gut microbiota in each group (n=6)

更为接近,说明在乌牛早夏茶水提物的干预下,高脂饮食小鼠的肠道菌群有正常化的趋势。

2.4.3 门水平物种丰度分析 由图 12a~c 可知,各组小鼠肠道菌群中相对丰度最高且平均占比超过 80% 的门类为厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)。并且,HFD 组肠道菌群中厚壁菌门的相对丰度显著提高 (P<0.05),拟杆菌门的相对丰度显著降低 (P<0.05),厚壁菌门与拟杆菌

门的比值明显升高 (P<0.05),相比于 NC 组;WG 组和 WB 组肠道菌群中厚壁菌门的相对丰度明显降低 (P<0.05),拟杆菌门的相对丰度明显升高 (P<0.05),相较于 HFD 组。由图 12d 可知,与 NC 组相比,HFD 组厚壁菌门与拟杆菌门的比值显著升高 (P<0.05);与 HFD 组相比,WG 组和 WB 组厚壁菌门与拟杆菌门的比值明显降低 (P<0.05)。



图 12 各组小鼠肠道菌群门水平物种丰度分析结果 ($n=6$)Fig.12 Analysis results of phylum level in gut microbiota in each group ($n=6$)

2.4.4 LEfSe 分析 图 13 的结果显示,NC 组小鼠肠道菌群中含有的标志性菌群为鼠杆菌属 (*Muribaculaceae*)、丹丝毒菌属 (*Erysipelotrichaceae*)、瓦伦斯回肠杆菌属 (*Lleibacterium*)、疣微菌纲 (*Verrucomicrobiae*) 和普氏菌科 (*Prevotellaceae*)。HFD 组小鼠肠道菌群中含有的标志性菌群为杜氏杆菌属 (*Dubosiella*)、红螯菌纲 (*Coriobacteriia*)、放线菌门 (*Actinobacteriota*) 和结肠杆菌属 (*Colidextribacter*)。PC 组小鼠肠道菌群中含有的标志性菌群为梭菌纲 (*Clostridia*)、毛螺菌属 (*Lachnospirales*)、毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*)、厚壁菌门和脱硫弧菌科 (*Desulfovibrionaceae*)。WG 组小鼠肠道菌群中含有的标志性菌群为拟杆菌目 (*Bacteroidales*)、拟杆菌门、拟杆菌纲 (*Bacteroidia*) 和拟普雷沃菌属 (*Alloprevotella*)。WB 组小鼠肠道菌群中含有的标志性菌群为理研菌属 (*Rikenellaceae*)、另枝菌属 (*Alistipes*)、颤螺旋菌目 (*Oscillospirales*)、颤螺旋菌科 (*Oscillospiraceae*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*)、嗜胆菌属 (*Bilophila*)、产醋菌属 (*Acetatifactor*) 和丁酸弧菌属 (*Butyricimonas*)。

3 讨论

在整个加工过程中,乌牛早夏茶制品所含的功能成分,如茶多酚、可溶性糖、可溶性蛋白、咖啡碱和游离氨基酸,均发生明显变化。早期的研究表明,茶中主要功能成分与其所具有的健康功效密切相关,如茶多酚可以有效降低肥胖大鼠的血清中 TC 和 TG 的含量并改变其肠道菌群的结构组成^[20];咖啡碱可以通过调节下丘脑中与食欲

相关基因的表达,有效抑制小鼠体质量的增加^[21]。本研究的结果表明,乌牛早夏茶制品同样具有一定的健康功效,其能够明显延缓肥胖小鼠体质量和 Lee's 指数的增加,改善糖耐受异常情况,降低血清中 TC、TG、LDL-C 的含量。因此,通过研究乌牛早夏茶制品加工过程中主要功能成分的变化趋势,可以进一步指导优化乌牛早夏茶制品的加工工艺,并通过调整相关工艺参数如时间和温度等方式,提升夏茶制品中特定功能成分的含量,从而最大程度发挥乌牛早夏茶制品的健康功效。

肝脏是参与脂质代谢的主要场所,一旦肝脏发生病变,将大大影响机体内能量代谢的进程。本研究发现,乌牛早夏绿茶和夏红茶水提物能显著降低肝脏中 TC、TG 的含量和 AST、ALT 酶活性,减轻肝脏组织中脂质的过度堆积。

SREBP1c 属于 SREBP 转录因子家族^[22],在肝脏和脂肪中有着较高的表达水平,能影响 ACC1、FAS 和 SCD1 的相对表达量,在机体的肝脏从头脂肪合成中起了重要作用;ACC1 作为脂肪生成限速酶,主要存在于脂肪合成反应活跃的部位,如肝脏、脂肪组织等^[23];FAS 和 SCD1 都是脂肪酸从头合成过程中的关键酶,也是糖类代谢中间产物转化成脂肪酸过程中的重要酶^[24-25]。PPAR γ 能促进机体内脂肪的形成,在脂肪细胞分化和成熟中起关键作用^[26-27]。本研究发现,乌牛早夏绿茶和夏红茶水提物能够有效调控肥胖小鼠肝脏组织脂质代谢 SREBP1c 信号通路中相关基因和蛋白的表达水平,这与前人的研究报道结果相类似^[28-33]。

肠道菌群在机体健康中起着许多重要作用^[34]。

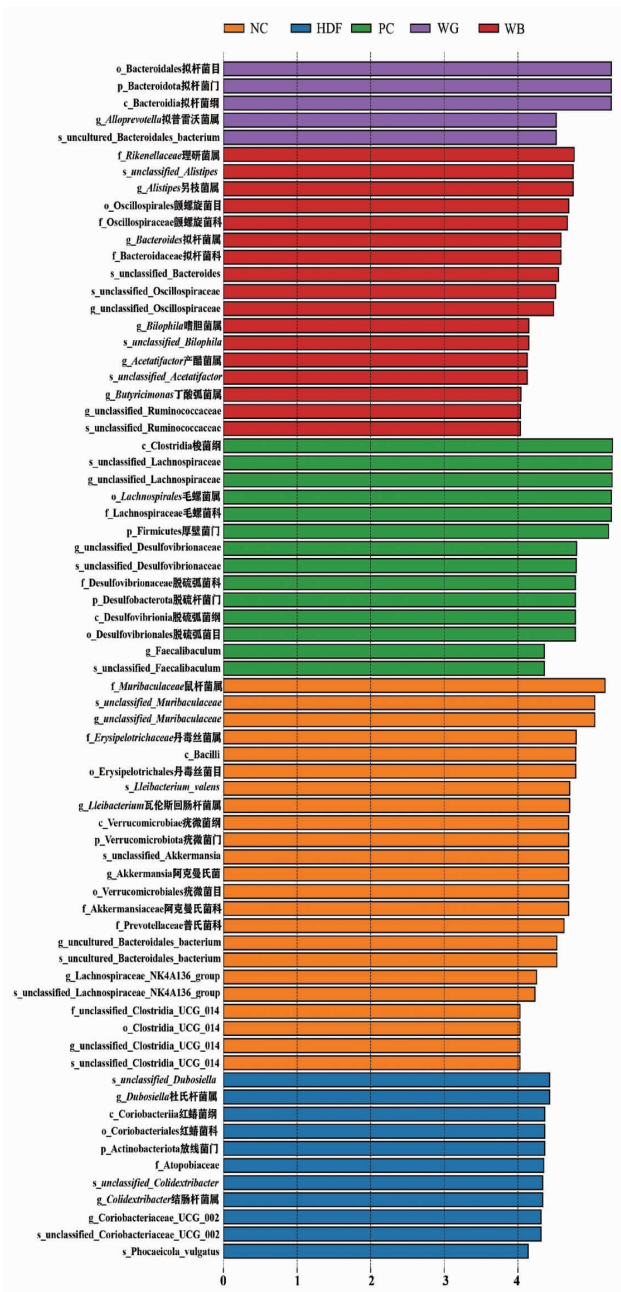


图 13 LefSe 多级物种差异性判别分析

Fig.13 Linear discriminant analysis of LefSe multilevel species differences

通过研究乌牛早夏绿茶和夏红茶水提物调节高脂饮食肥胖小鼠肠道菌群作用,发现长期摄入乌牛早夏绿茶和红茶水提物可以增加肠道菌群的物种数,降低其中门水平厚壁菌门与拟杆菌门的比值,特异性增加理研菌属、拟普雷沃菌属和另枝菌属等有益菌^[35-37]的相对丰度。

4 总结

本研究结果表明,长期饮用乌牛早夏茶制品,无论是绿茶还是红茶,均能有效降低高脂饮食诱导的肥胖小鼠血脂水平,明显影响肝脏组织中脂质代谢 SREBP1c 信号通路的表达水平,并通过增加肠道菌群中有益菌的相对丰度,改善肥胖小鼠肠道菌群代谢紊乱的症状,其中乌牛早夏绿茶的调节和干预效果更好。

参 考 文 献

[1] LEE C J, SEARS C L, MARUTHUR N. Gut microbiome and its role in obesity and insulin resistance[J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2020, 1461(1): 37-52.

[2] BRUNNER K T, HENNEBERG C J, WILECHANSKY R M, et al. Nonalcoholic fatty liver disease and obesity treatment[J]. Current Obesity Reports, 2019, 8 (3): 220-228.

[3] FERNANDEZ C J, GEORGE A S, SUBRAMANYAN N A, et al. Epidemiological link between obesity, type 2 diabetes mellitus and cancer [J]. World Journal of Methodology, 2021, 11(3): 23-45.

[4] CHRYSANT S G. Pathophysiology and treatment of obesity - related hypertension[J]. The Journal of Clinical Hypertension, 2019, 21(5): 555-559.

[5] 崔丽梅,吕纳强. 肥胖的疾病特征[J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(10): 22-25.

CUI L M, LÜ N Q. The clinical characteristics of obesity[J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(10): 22-25.

[6] LIN F J, WEI X L, LIU H Y, 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.

[7] SHANG A, LI J, ZHOU D D, et al. Molecular mechanisms underlying health benefits of tea compounds[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2021, 172: 181-200.

[8] 郭建华, 张兰兰, 边金霖, 等. 3 个品种早春绿茶主要香气成分的比较[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2011, 40(6): 590-594.

GUO J H, ZHANG L L, BIAN J L, et al. Analysis of the aromatic components in three cultivars of

- green tea harvested in early spring[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2011, 40(6): 590-594.
- [9] 李金婷, 冯红钰, 梁光志, 等. 不同加工工艺对乌牛早红茶品质的影响[J]. 中国热带农业, 2017, 1: 43-45.
- LI J T, FENG H Y, LIANG G Z, et al. Effect of different processing techniques on the quality of Wuniuzao black tea[J]. China Tropical Agriculture, 2017, 1: 43-45.
- [10] 杨勤, 谷文超, 周浓, 等. 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定地参多糖的比较研究[J]. 食品科技, 2020, 45(1): 343-350.
- YANG Q, GU W C, ZHOU N, et al. Comparison of phenol-sulfuric acid and anthrone-sulfuric methods for determination of polysaccharide in *Lycopus lucidus* *tilrcz. var. hirtus regel*[J]. Food Science and Technology, 2020, 45(1): 343-350.
- [11] 涂云飞. 茶叶儿茶素及咖啡碱检测方法中提取条件研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(22): 73-78.
- TU Y F. Studies on extraction method for quantification of catechins and caffeine in green tea[J]. Food Research and Development, 2018, 39(22): 73-78.
- [12] 宋亚赛, 宁井铭, 张正竹, 等. 考马斯亮蓝法定量评估绿茶涩味强度[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(6): 141-146.
- SONG Y S, NING J M, ZHANG Z Z, et al. Study on the quantitative evaluation of green tea astringency intensity using Bradford method[J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(6): 141-146.
- [13] 中国国家标准化管理委员会. 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法: GB/T 8313-2018[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- Standardization Administration of the People's Republic of China. Detection of Total polyphenols and catechins in tea: GB/T 8313-2018 [S]. Beijing: Standards Press of China, 2018.
- [14] 谭建宁, 杜成智, 梁臣艳, 等. 龙俐叶总游离氨基酸含量测定[J]. 南方农业学报, 2016, 47(4): 645-649.
- TAN J N, DU C Z, LIANG C Y, et al. Determination of total free amino acid content in *Sauropus spatulifolius* Beille[J]. Journal of Southern Agriculture, 2016, 47(4): 645-649.
- [15] 张一帆, 袁懿炜, 徐倩倩, 等. 开化龙顶绿茶对高脂小鼠肝脂肪变性 AMPK 信号通路和肠道菌群的影响[J]. 中国食品学报, 2024, 24(7): 157-171.
- ZHANG Y F, YUAN Y W, XU Q Q, et al. Effect of Kaihua Longding Green Tea on AMPK signaling pathway of hepatic steatosis and gut microbiota dysbiosis in high-fat diet mice[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(7): 157-171.
- [16] 王蝶. 茶叶对肥胖大鼠的减肥作用及机制研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012.
- WANG D. Studies on anti-obesity effects of tea extracts on high fat diet induced obese rats and their potential mechanisms[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2012.
- [17] 吴文亮, 刘仲华, 林勇, 等. 陈年六堡茶对高脂血症小鼠的调脂护肝作用研究[J]. 茶叶科学, 2018, 38(4): 430-438.
- WU W L, LIU Z H, LIN Y, et al. Alleviative effects of aged Liupao tea on lipid metabolism and liver injury in hyperlipidemic mice[J]. Journal of Tea Science, 2018, 38(4): 430-438.
- [18] 李金磊. 黄芪散改善二型糖尿病胰岛素抵抗模型小鼠糖脂代谢及其机制研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- LI J L. Research on Huang Qi San improving glucose and lipid metabolism in C57BL/6j T2DM-IR mice and its mechanism[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Chinese Medicine, 2014.
- [19] 郑丽, 侯彩云, 任发政. 几种茶叶提取物对高脂饮食小鼠肥胖的预防作用[J]. 食品科学, 2018, 39(17): 192-199.
- ZHENG L, HOU C Y, REN F Z. Anti-obesity efficacy of extracts from several kinds of tea in high-fat diet-induced obese mice[J]. Food Science, 2018, 39(17): 192-199.
- [20] MA H, HU Y Z, ZHANG B W, et al. Tea polyphenol-gut microbiota interactions: Hints on improving the metabolic syndrome in a multi-element and multi-target manner[J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(1): 11-21.
- [21] LIU L T, SAYAMA K. The combined administration of EGCG and caffeine induces not only suppression of fat accumulation but also anorexigenic action in mice[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 47: 156-162.
- [22] FERRÉ P, PHAN F, FOUFELLE F. SREBP-1c

- and lipogenesis in the liver; An update[J]. *Biochemical Journal*, 2021, 478(20): 3723–3739.
- [23] VEPRIK A, DENWOOD G, LIU D, et al. Acetyl-CoA-carboxylase 1 (ACC1) plays a critical role in glucagon secretion[J]. *Communications Biology*, 2022, 5(1): 1–13.
- [24] 李忠伟. 丁香中抑制脂肪酸合成酶表达及肥胖活性成分的鉴定与表征[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- LI Z W. Identification and characteristics of the active inhibitory component of fatty acid synthase expression and obesity in clove[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [25] ZHU X P, YAN H M, XIA M F, et al. Metformin attenuates triglyceride accumulation in HepG2 cells through decreasing stearyl-coenzyme A desaturase 1 expression[J]. *Lipids in Health and Disease*, 2018, 17(1): 1–9.
- [26] SKAT - RØRDAM J, HØJLAND IPSEN D, LYKKE-SFELDT J, et al. A role of peroxisome proliferator-activated receptor γ in non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2019, 124(5): 528–537.
- [27] ZHANG Y, JIA X B, LIU Y C, et al. Fenofibrate enhances lipid deposition via modulating PPAR γ , SREBP-1c, and gut microbiota in ob/ob mice fed a high-fat diet[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 971581.
- [28] LAN Y, SUN Q Y, MA Z Y, et al. Seabuckthorn polysaccharide ameliorates high-fat diet-induced obesity by gut microbiota-SCFAs-liver axis[J]. *Food & Function*, 2022, 13(5): 2925–2937.
- [29] DING Q Z, ZHANG B W, ZHENG W, et al. Liupao tea extract alleviates diabetes mellitus and modulates gut microbiota in rats induced by streptozotocin and high-fat, high-sugar diet[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 118: 109262.
- [30] FENG L, ZHOU J, ZHANG L, et al. Gut microbiota-mediated improvement of metabolic disorders by Qingzhuan tea in high fat diet-fed mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2021, 78: 104366.
- [31] TAO W, CAO W G, YU B, et al. Hawk tea prevents high-fat diet-induced obesity in mice by activating the AMPK/ACC/SREBP1c signaling pathways and regulating the gut microbiota[J]. *Food & Function*, 2022, 13(11): 6056–6071.
- [32] YE J, ZHAO Y, CHEN X M, et al. Pu-erh tea ameliorates obesity and modulates gut microbiota in high fat diet fed mice[J]. *Food Research International*, 2021, 144: 110360.
- [33] FANG W W, WANG K F, ZHOU F, et al. Oolong tea of different years protects high-fat diet-fed mice against obesity by regulating lipid metabolism and modulating the gut microbiota[J]. *Food & Function*, 2023, 14(6): 2668–2683.
- [34] WU G J, ZHAO N S, ZHANG C H, et al. Guild-based analysis for understanding gut microbiome in human health and diseases[J]. *Genome Medicine*, 2021, 13(1): 1–12.
- [35] TAVELLA T, RAMPELLI S, GUIDARELLI G, et al. Elevated gut microbiome abundance of Christensenellaceae, Porphyromonadaceae and Rikenellaceae is associated with reduced visceral adipose tissue and healthier metabolic profile in Italian elderly[J]. *Gut Microbes*, 2021, 13(1): 1880221.
- [36] SHANG Q S, SONG G R, ZHANG M F, et al. Dietary fucoidan improves metabolic syndrome in association with increased Akkermansia population in the gut microbiota of high-fat diet-fed mice[J]. *Journal of Functional Foods*, 2017, 28: 138–146.
- [37] XU Z L, JIANG W, HUANG W L, et al. Gut microbiota in patients with obesity and metabolic disorders—A systematic review[J]. *Genes & Nutrition*, 2022, 17(1): 1–18.

Lipid Lowering Factors in Wuniuzao Tea (in Summer) and Its Effect on Regulating Liver and Gut Microbiota in Obese Mice

Zhang Yifan¹, Yuan Yiwei¹, Ye Jiangcheng¹, Gong Mingxiu², Zhao Jin^{1,3,4*}, Wang Xuming⁵

¹Institute of Food Nutrition and Quality Safety, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018

²Lanxi City People's Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang

³Eastsign Food (Quzhou) Co., Ltd., Kaihua 324300, Zhejiang

⁴Doctor Innovation Workstation of Zhejiang Yifutang Tea Industry Co., Ltd., Tonglu 311500, Zhejiang

⁵Hangzhou Mingxin Tea Industry Co., Ltd., Hangzhou 310020)

Abstract Objective: Analyze the dynamic changes trend of main functional components in Wuniuzao green tea and black tea which are prepared from fresh leaves in summer and explore the intervention effects of Wuniuzao green tea and black tea (in summer) water extract on liver and gut microbiota in obese mice. Methods: Detect the dynamic changes trend of main functional components of samples from each processing procedures in Wuniuzao green tea and black tea (in summer). After acclimation feeding for 1 week, 50 mice were randomly divided into the following groups, such as normal control (NC) group, Wuniuzao green tea (WG) group, Wuniuzao black tea (WB) group, high-fat diet (HFD) group and positive control (PC) group, which were continuously administrated (NC and HFD group were given normal saline, PC group was given atorvastatin (10 mg/kg BW), WG and WB group were given tea water extract (300 mg/kg BW) for 8 weeks. The changes of body weight, Lee's index, blood glucose levels, serum lipid, pathobiology in liver tissues, SREBP1c signaling pathway in liver lipid metabolism and gut microbiota were measured. Results: During processing procedures, the contents of main functional components of Wuniuzao green tea and black tea (in summer) changed obviously. Compared to the 'Fresh leaves' sample of Wuniuzao green tea (in summer), the contents of tea polyphenol and caffeine in the 'Drying' sample were respectively increased by 3.87% and 0.61%, while the contents of free amino acids, soluble sugar, and soluble protein were respectively reduced by 0.56%, 0.47%, and 4.26%. Compared to the 'Fresh leaves' sample of Wuniuzao black tea (in summer), the contents of tea polyphenol, caffeine, free amino acids, soluble sugar, and soluble protein were respectively reduced by 6.15%, 0.40%, 1.08%, 0.53%, and 4.11%. Compared to the HFD group, the WG group and WB group exhibited a significant difference ($P < 0.05$) in body weight (27.73 g, 26.78 g) and Lee's index (3.18, 3.15). Besides, tea water extract could also significantly improve blood glucose tolerance levels, serum levels and lipid deposition in liver, and regulate the level of SREBP1c signaling pathway related genes and proteins of liver lipid metabolism in mice. The results of gut microbiota analysis showed that tea water extract decreased the ratio of Firmicutes/Bacteroidetesd (F/B), and increased the growth of beneficial bacteria, including *Rikenellaceae* and *Alloprevotella*. Conclusion: Wuniuzao green tea and black tea (in summer) water extract have obvious effects on intervening abnormal liver metabolism and gut microbiota dysbiosis in obese mice, and the Wuniuzao green tea water extract has a better effect.

Keywords Wuniuzao tea (in summer); obesity; liver; gut microbiota