

茶树花提取物的抑菌和美白功效评价

许 兰,张 丹,仝团团,任 宁,屠幼英*

浙江大学茶学系,杭州 310058

摘要:茶树花作为茶树的生殖生长产物,含有丰富的多酚、皂素、多糖、氨基酸和蛋白等多种活性物质,有抑制微生物生长和减少黑色素沉积的护肤作用。本文分析了茶树花及其提取物(Tea flower extract, TFE)的主要活性成分,并研究了其抑菌和美白功效的机理,为相关功效日化产品提供理论依据。研究的主要结果如下:茶树花及茶树花提取物的主成分种类相同,含量有一定差异,提取工艺后,茶树花提取物可溶性糖含量增加 17.51%,多酚含量增加 25%,氨基酸含量减少 66%,皂素含量降低 90%;TFE 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均具有显著的抑菌作用,最小抑菌浓度(MIC)分别为 4.5 mg/mL 和 9.0 mg/mL;小鼠 B16 黑色素瘤细胞的体外美白实验结果表明,TFE 可以通过改变细胞形态、抑制细胞增殖、抑制酪氨酸酶活性、减少黑色素生成等途径达到美白效果。

关键词:茶树花提取物;生化成分;B16 色素瘤细胞;抑菌;美白

中图分类号:R285

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.8.001

Assessment on Antibacterial and Whitening Effect of Tea (*Camellia sinensis*) Flower Extraction

XU Lan, ZHANG Dan, TONG Tuan-tuan, REN Ning, TU You-ying*

Department of Tea Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Abstract: As the reproductive growth product of tea tree (*Camellia sinensis*), tea flower is quite rich in bioactive compounds like polyphenols, saponins, polysaccharides, amino acids and proteins, which have antibacterial and whitening functions in some former researches. This study analyzes the bioactive compounds of tea flower and its extracts and evaluates its antibacterial and whitening effect, supporting further development of functional personal care products. The main experimental results are as follows: the main composition of the tea flower extract (TFE) and tea flower is the same, but the content is a little different; soluble carbohydrates increased by 17.51%, polyphenols increased by 25%, amino acids decreased by 66% and saponins decreased by 90% after being extracted. TFE had obvious antibacterial effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of tea flower and its extract were 4.5 mg/mL and 9.0 mg/mL respectively. TFE had whitening effect through changing cell morphology and inhibiting cell proliferation, tyrosinase activity and the melanin synthesis in the model of mice B16 melanoma cells *in vitro*.

Key words: tea flower extract; biochemical composition; B16 melanoma cells; antibacterial effect; whitening effect

人体长期暴露在外界环境中,皮肤表面附着有大量的微生物,微生物的过度堆积、繁殖会影响皮肤的健康与美观^[1]。此外,过度暴露在紫外线下,人体表皮基底层的黑色素细胞会在胞内酪氨酸酶的催化下形成过多黑色素^[2],引起皮肤黑色素沉积不均、肤色变黑,甚至引发雀斑、黄褐斑和老年斑^[3]。国内外的美容、日化、洗涤用品行业都在探索具有抑菌、美白等功效的植物添加剂。

茶树花含有丰富的多酚、皂素、多糖、氨基酸和

维生素等多种生物活性物质,茶多酚对皮肤病病原菌金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌等具有明显的抑制作用^[4];茶多酚中的表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin gallate, EGCG)及其氧化产物对细菌有较强的抑菌活性^[5];茶皂素对金黄色葡萄球菌、枯草杆菌、四联球菌和酵母菌都有一定的抑制作用^[6,7]。同时 EGCG 和茶黄素(Theaflavins, TFs)均能显著抑制酪氨酸酶活性,抑制黑色素细胞增殖并使细胞的黑色素含量减少^[8]。本文将探究茶树花提取物的活性成分以及其抑菌和美白功效,为茶树花在日化用品中的应用提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 和金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*), 购于浙江省微生物研究所; 小鼠 B16 黑色素瘤细胞, 购于中国科学院上海细胞生物研究所。

茶树花提取物 (提取工艺: 30 min、80 °C 逆流提取, 双联过滤、超滤、反渗透膜浓缩 (4 ~ 8 英寸), 喷雾干燥 (进口温度 240 °C, 出口温度 110 °C); 产品标准参考杭州英仕利生物科技有限公司茶树花产品企业标准); 茶树花 (采摘茶树花鲜花后立即真空冷冻干燥 48 ~ 72 h, 干燥完毕后将样品存放于 -20 °C 冰箱待用); 维生素 C (V_C), 购于西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司。

1.2 试剂

蛋白胨、牛肉膏和琼脂 (国药集团化学试剂有限公司, 生化试剂 BR); RPMI-1640 培养基 (杭州吉诺生物医药技术有限公司); 胎牛血清 (Fetal bovine serum, FBS), 购于 HyClone (美国); MTT (四甲基偶氮唑蓝比色法) 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒, 购于南京凯基科技发展有限公司。

没食子酸 (Gallic acid, GA)、表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG)、表没食子儿茶素 (Epigallocatechin, EGC)、表儿茶素没食子酸酯 (Epicatechin gallate, ECG)、表儿茶素 (Epicatechin, EC)、没食子儿茶素没食子酸酯 (Gallocatechin gallate, GCG)、没食子儿茶素 (Gallocatechin, GC)、儿茶素没食子酸酯 (Catechin gallate, CG) 和儿茶素 (Catechin, C) 标准品, 左旋多巴 (L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl) alanine, DOPA)、Triton X-100, 购于西格玛奥德里奇 (上海) 贸易有限公司; 咖啡碱标准品, 购于日本三井农林有限公司。

茛三酮、85% 磷酸、浓硫酸、蒽酮、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、碳酸氢钠、三氯化铝、草酸、95% 乙醇、无水乙醇、乙酸乙酯、氯化钠、正丁醇、冰乙酸, 国产 A. R. 级, 购于国药集团化学试剂有限公司; 甲醇、乙腈, 均色谱纯, 购于天津四友有限公司。

1.3 仪器

HPS-250 生化培养箱 (太仓市华美生化仪器厂); Beckman coulter DU800 分光光度计 (Beckman 公司, 美国); 5 型 SpectraMax 多功能酶标仪 (加州分子仪器公司, 美国)。

2 方法

2.1 茶树花及其提取物主成分检测方法

茶多酚测定参考 GB/T 8313-2002, 黄酮类测定参考三氯化铝比色法^[9], 茶多糖测定参考乙醇回流法和蒽酮-硫酸比色法^[10], 茶皂素测定参考香草醛法^[11], 游离氨基酸的测定参考 GB/T 8314-2013, 可溶性蛋白参考考马斯亮蓝染色法^[9], 可溶性糖参考蒽酮-硫酸比色法^[9], 没食子酸、咖啡碱及儿茶素含量采用 HPLC 法^[12]。

2.2 抑菌活性测定方法

用牛肉膏蛋白胨培养基 (BPA) 培养大肠杆菌 and 金黄色葡萄球菌, 采用牛津杯法测定 TFE 的抑菌活性^[13]。用无菌镊子取经高压蒸汽灭菌的牛津杯 5 个轻轻放在已凝固的菌株平板上, 向牛津杯中分别注入 200 μL 质量浓度为 80、60、40、20、10 mg/mL 的 TFE 样品。接种大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的培养皿置于 37 °C 恒温箱内培养 24 h, 测定抑菌圈大小。

利用二倍稀释法将 TFE 稀释成质量浓度分别为 36、18、9、4.5、2.25 mg/mL。通过牛津杯法测定不同浓度 TFE 样品的抑菌性, 以牛津杯周围出现抑菌圈的最小浓度作为样品对所选菌株的最低抑制浓度 (MIC)。

2.3 茶树花提取物的美白功效机理测定方法

2.3.1 小鼠 B16 黑色素瘤细胞培养^[14]和药物处理

B16 黑色素瘤细胞培养在含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中, 置于 37 °C, 5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养。收集对数生长期的细胞, 调整细胞悬液密度为 1 × 10⁵ 个/mL, 将其接种于 96 孔板上, 每孔 100 μL, (黑色素合成量实验接种于 6 孔板, 每孔 2 mL), 培养 12 h。待细胞贴壁, 每孔加入含有不同药物浓度的培养液。TFE 和 VC 的终浓度设置为 0、10、50、100、200、300 μg/mL。每个浓度设置 4 个重复, 对照组加入新鲜培养液, 培养 48 h。

2.3.2 MTT 法测 B16 小鼠色素瘤细胞增殖率

药物处理 48 h 后, 每孔中加入 MTT 试剂 50 μL, 培养箱中孵育 4 h, 吸弃上清液, 每孔中加入 150 μL 的 DMSO, 摇床震荡混匀后用酶标仪测定各孔在 570 nm 下的吸光值。细胞增值率按公式(1)进行计算:

$$\text{细胞增殖率}(\%) = \frac{\text{实验孔 OD 值} - \text{空白孔 OD 值}}{\text{对照空 OD 值} - \text{空白孔 OD 值}} \times 100\% \quad (1)$$

2.3.3 酪氨酸酶活力的测定^[15]

药物处理 48 h 后,吸弃上清液,每孔加入含 1% TritonX-100 的 PBS 缓冲液 90 μ L 和 1.0 mg/mL 的 L-DOPA 10 μ L,超声 30 秒后,置于 30 $^{\circ}$ C 恒温水浴中 30 min,测定 475 nm 处的吸光值。酪氨酸酶活力计算公式为公式(2),如下:

$$\text{酪氨酸酶活力}(\%) = \frac{\text{实验组 OD 值}}{\text{对照组 OD 值}} \times 100\% \quad (2)$$

2.3.4 黑色素合成量的测定^[16]

药物处理 48 h 后,吸弃上清液,用 PBS 溶液清洗 2 次,收集细胞于离心管中,1 500 rpm 离心 10 min,弃去上清液。加入 2 mL 的 PBS 重新悬浮,然后加入 500 μ L 体积比为 1:1 的乙醇、乙醚,室温下放置 30 min,3000 rpm 离心 5 min,弃去上清液,加入 1 mL 含有 10% DMSO 的 1.0 mol/L 的 NaOH 溶液,80 $^{\circ}$ C 水浴 45 min,测定其 405 nm 处的吸光值。

黑色素合成量计算公式见公式 3。

$$\text{黑色素合成量}(\%) = \frac{\text{实验组 OD 值}}{\text{对照组 OD 值}} \times 100\% \quad (3)$$

2.4 数据处理

实验数据采用 SPSS 20.0 进行统计分析,用 Tukey's 法进行方差分析及组间多重比较检验,结果用平均值 \pm 标准差(mean \pm SD)表示,并且认为 $P < 0.05$ 时,差异具有统计学意义。

3 结果与分析

3.1 茶树花及其提取物组成成分

3.1.1 茶树花及其提取物主成分检测

茶树花及茶树花提取物组成及含量分析结果见图 1(a)和图 1(b)。茶树花及茶树花提取物的主成分含量具有一定的差异,茶树花中各物质的含量依次为:可溶性糖 41.43%,可溶性多糖 2.12%,多酚 8.13%,氨基酸 2.42%,可溶性蛋白 5.37%,黄酮为 2.01%,皂素 2.01%,可溶性糖 > 多酚 > 可溶性蛋白 > 氨基酸 > 可溶性多糖 > 黄酮 = 皂素;而茶树花提取物中各物质的含量依次为:可溶性糖 58.9%,可溶性多糖 8.85%,多酚为 10.2%,氨基酸 7.2%,可溶性蛋白 6.1%,黄酮为 1.8%,皂素 0.2%,可溶性糖 > 多酚 > 可溶性多糖 > 氨基酸 > 可溶性蛋白 > 黄酮 > 皂素。

通过提取工艺的茶树花,大部分活性成分保留较好,总活性成分含量增加,总糖含量增加 17.51%,主要由于茶树花提取物工艺中因高温作用果胶等不溶性多糖物质水解造成;多酚含量增加约 25%,是由于复杂的多酚降解成简单的多酚,如比较复杂的儿茶素组分 EGCG、GCG、ECG、EGC 降解成为简单的 EC、GA;氨基酸含量降低 66%,在高温中有所损耗;皂素含量明显降低,仅为干花的 1/10 左右,这是由于皂素作为一种起泡性物质在溶解、过滤和干燥的过程中极容易损失;黄酮和可溶性蛋白含量变化不明显。

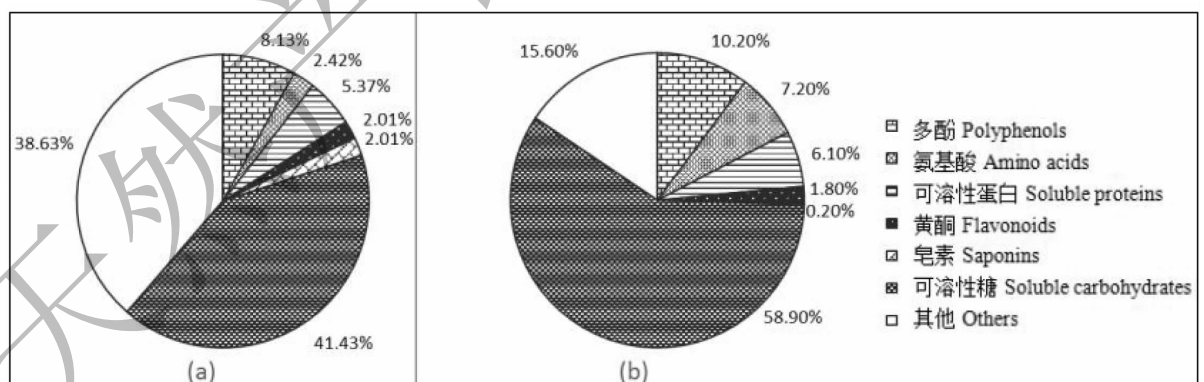


图 1 茶树花(a)及茶树花提取物(b)的主成分分析

Fig. 1 Chemical constituents of tea flower (a) and tea flower extract (b)

3.1.2 茶树花及其提取物中多酚类化合物和咖啡碱的检测结果

液相色谱仪检测茶树花和茶树花提取物各儿茶素、没食子酸和咖啡碱含量见表 1。两者儿茶素组

分均以 EGCG 为主,其次是 ECG,CG 的含量最低,酯型儿茶素含量高于非酯型儿茶素,这一结果与侯玲的报道相一致^[17]。除 EC 外其他儿茶素含量均有所下降,GA 有所上升,咖啡碱含量略有下降。

表1 茶树花及茶树花提取物儿茶素、没食子酸和咖啡碱含量(%)

Table 1 Content of catechins, gallic acid and caffeine in tea flower and tea flower extract(%)

含量 Content	成分 Ingredient				
	GC	EGC	C	EC	EGCG
茶树花 Tea flower	0.60 ± 0.02	0.68 ± 0.02	0.23 ± 0.06	0.21 ± 0.06	1.31 ± 0.04
茶树花提取物 Tea flower extract	0.21 ± 0.01	0.56 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.23 ± 0.03	0.85 ± 0.02

含量 Content	成分 Ingredient				
	GCG	ECG	CG	GA	CAFF
茶树花 Tea flower	0.26 ± 0.01	1.30 ± 0.03	0.06 ± 0.00	0.05 ± 0.00	0.07 ± 0.02
茶树花提取物 Tea flower extract	0.17 ± 0.01	0.61 ± 0.05	0.02 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.06 ± 0.05

3.2 茶树花提取物的抑菌活性

花提取物进行抑菌效果分析(见表2)。

本文选取大肠杆菌和金黄色葡萄球菌,对茶树

表2 茶树花提取物的抑菌效果

Table 2 Antibacterial effect of tea flower extract

药物浓度 Drug concentration (mg/mL)	抑菌圈直径 Antibacterial circle diameter (mm)	
	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
10	7.33 ± 0.58 +	8.20 ± 0.72 +
20	9.80 ± 0.44 +	10.00 ± 0.00 ++
40	12.70 ± 0.52 ++	11.80 ± 0.26 ++
60	15.63 ± 0.64 +++	18.23 ± 0.40 +++
80	17.23 ± 0.40 +++	20.67 ± 0.58 +++

注:“++++”表示抑菌圈直径 > 20 mm,极敏;“+++”表示抑菌圈直径为 15 ~ 20 mm,高敏;“++”表示抑菌圈直径为 10 ~ 14 mm,中敏;“+”表示抑菌圈直径为 7 ~ 9 mm,低敏;“-”表示抑菌圈直径 < 7 mm,不敏感。

Note:“++++”means bigger than 20 mm,extremely sensitive;“+++”means 15 ~ 20 mm,highly sensitive;“++”means 10 ~ 14 mm,moderately sensitive;“+”means 7 ~ 9 mm,slightly sensitive;“-”means antibacterial circle diameter < 7 mm,not sensitive.

由表2可知,质量浓度为 10 mg/mL 的茶树花提取物即可对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌产生抑菌效果。质量浓度为 40 mg/mL 时,茶树花提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制敏感度达到中敏,质量浓度为 60 mg/mL 时,达到高敏程度。对于金黄色葡萄球菌,当浓度达到 80 mg/mL,即可达到

极敏以上。而对于大肠杆菌,所有试验浓度均未对其产生极敏抑制,仅达到高敏水平。

本文通过二倍稀释法,设置茶树花提取物浓度分别为 36、18、9、4.5、2.25 mg/mL,测定茶树花提取物对 2 种常见菌的最低抑菌浓度,实验结果见表 3。

表3 茶树花提取物对不同菌的最低抑菌浓度(MIC)

Table 3 MIC of tea flowers extract on different microorganisms

菌种 Strains	茶树花提取物浓度 Tea tree flower extract concentration (mg/mL)				
	36	18	9	4.5	2.25
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	+	+	+	-	-
金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	-

注:“+”表示无菌生长,“-”表示有菌生长。

Note:“+” means nomicroorganism growing;“-” means microorganism growing.

当茶树花提取物质量浓度大于 4.5 mg/mL 时,牛津杯附近培养基呈现出无色的抑菌圈,证明茶树花提取物浓度为 4.5 mg/mL 时可抑制牛津杯附近金黄色葡萄球菌的生长。而在大肠杆菌中茶树花提取物质量浓度大于 9 mg/mL 时,牛津杯附近培养基呈现出无色的抑菌圈。因而茶树花提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度(MIC)分别为 9 mg/mL 和 4.5 mg/mL。

3.3 茶树花提取物的美白功效评价

3.3.1 小鼠 B16 黑色素瘤细胞形态学及增殖率的影响

小鼠 B16 黑色素瘤细胞主要为两极,偶见三极贴壁生长的上皮型细胞。经过药物处理的 B16 细

胞形态观察结果如图 3。由结果发现,对照组(A)细胞形态正常,生长状况良好,小鼠 B16 细胞贴壁均匀、大多呈网状结构、细胞间连接紧密、边缘清晰、生长旺盛、细胞密度较高;当分别添加不同浓度(10、40、80、120、200 $\mu\text{g/mL}$)的茶树花提取物,并在 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 饱和湿度培养箱内培养 48 h 后,细胞形态均出现了不同程度的变化。随着 TFE 浓度的提高,细胞形态逐渐发生变化,显微镜下 B16 细胞分布开始稀疏、表现出细胞皱缩、变圆、细胞贴壁性降低、细胞间的间隙增大、部分细胞开始脱落并悬浮于培养液中、细胞树突减少或消失,逐渐不能相互融合形成网状结构。当茶树花提取物终浓度达到 120 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞数目和形态开始显著减少。

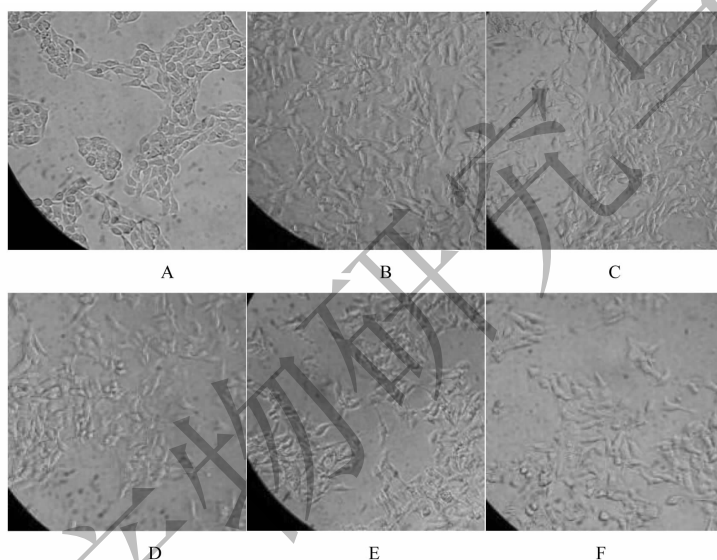


图 2 不同浓度茶树花提取物对 B16 细胞形态的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of tea flower extraction on the morphology of B16 cells

注:A 为对照组,B,C,D,E,F 表示茶树花提取物终浓度分别为 10、40、80、120、200 $\mu\text{g/mL}$ 。

Note:A was control. B,C,D,E and F were treated with 10,40,80,120,200 $\mu\text{g/mL}$ tea flower extract respectively.

MTT 法检测小鼠 B16 黑色素细胞增殖率的结果如表 4 所示,细胞生长抑制作用随药物浓度的增大而增大,呈一定的剂量效应。TFE 浓度增加至 50

$\mu\text{g/mL}$,细胞增殖率开始显著性降低,在 200 $\mu\text{g/mL}$ 以下浓度水平,TFE 对小鼠 B16 黑色素细胞增殖率的抑制作用略优于 V_c 。

表 4 两种化合物对 B16 细胞增殖率的影响

Table 4 Effects of different components on proliferation rate of B16 cells

药物浓度 Drug concentration ($\mu\text{g/mL}$)	细胞增殖率 Proliferation rate of B16 cells (%)					
	0	10	50	100	200	300
V_c	100 ^a	101.17 \pm 2.83 ^{ab}	93.34 \pm 6.93 ^b	85.29 \pm 3.52 ^c	64.54 \pm 4.82 ^d	49.11 \pm 1.66 ^e
TFE	100 ^a	100.04 \pm 1.11 ^a	84.12 \pm 3.87 ^b	68.43 \pm 1.44 ^c	63.58 \pm 4.07 ^{df}	47.99 \pm 1.44 ^e

注:a,b,c 等表示同一药物处理不同浓度组之间的差异性,不同字母表示存在显著性差异。

Note:a,b,c,d,e, and f represents the differences among different concentrations on the same line.

由表4可知,这两种药物均能抑制黑色素细胞的生长,而 TFE 在低浓度范围内的效果明显优于 V_C 。综合细胞形态学实验及增值率结果,后续 TFE 和 V_C 的添加量控制在 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 以内。

3.3.2 小鼠 B16 黑色素瘤细胞酪氨酸酶活性及黑色素合成量测定

V_C 、TFE 对小鼠 B16 黑色素瘤细胞中酪氨酸酶活性的影响研究结果,见表5所示。结果表明,两种

药物对细胞中酪氨酸酶活性均有抑制作用,并具有一定的线性剂量效应。当 TFE 浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,细胞内酪氨酸酶活性在数值上低于对照组和同浓度下的 V_C ,但未达到显著性水平;当继续提高浓度至 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,酪氨酸酶活性开始显著降低,且显著低于同浓度 V_C 处理组;当 TFE 浓度增加至 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,酪氨酸酶活性降低至 68.98% ,处理组之间具有显著性差异。

表5 TFE 及 V_C 对 B16 细胞中酪氨酸酶活性的影响
Table 5 Effects of TFE and V_C on tyrosinase activity of B16 cells

药物浓度 Drug concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	酪氨酸酶活性 Tyrosinase activity (%)			
	0	10	50	100
V_C	100 ^{ab}	101.20 \pm 5.19 ^b	92.17 \pm 5.47 ^{ac}	84.54 \pm 2.60 ^c
TFE	100 ^a	97.79 \pm 3.80 ^a	76.51 \pm 8.50 ^b	68.98 \pm 4.30 ^c

注:a,b,c等表示同一药物处理不同浓度之间的差异性,不同字母表示存在显著性差异。

Note:a,b,c et al represent the differences among different concentrations of a kind of compound.

V_C 和 TFE 两者对 B16 细胞黑色素合成的影响较为相似,当浓度为 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 时,TFE 处理组与对照组的黑色素合成量之间的差异未达到显著性水平,而 V_C 处理组与对照组之间具有显著性差异。随着 TFE 和 V_C 浓度继续提高至 50 、 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$,处理组对应的黑色素合成量呈显著性降低趋势。在

10 、 $50 \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度,TFE 抑制黑色素合成的效果要强于 V_C ,在 $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度, V_C 抑制黑色素合成的效果要强于 TFE,这与表4和表5中结果相悖,这是由于高浓度的 V_C 除了抑制酪氨酸酶活性外还具有还原性,能够将形成黑色素颗粒的多巴醌还原成多巴,从而使最终黑色素合成量大大减少。

表6 不同化合物对 B16 细胞中黑色素合成量的影响
Table 6 Effects of different compounds on melanin quantity of B16 cells

药物浓度 Drug concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	黑色素合成量 Melanin quantity (%)			
	0	10	50	100
V_C	100 ^a	94.98 \pm 4.50 ^b	81.33 \pm 2.68 ^c	67.59 \pm 2.90 ^d
TFE	100 ^a	92.89 \pm 3.91 ^a	79.11 \pm 6.19 ^b	76.11 \pm 1.71 ^b

注:a,b,c等表示同一药物处理不同浓度之间的差异性,不同字母表示存在显著性差异。

Note:a,b,c et al represent the differences among different concentrations of a kind of compound.

4 讨论

茶树花作为茶园生产的副产物,利用率极低,然而茶树花含有丰富的活性成分,其中皂素和多糖含量,远远高于茶叶中的含量^[7,18]。在 QB/T 2738-2012《日化产品抗菌抑菌效果评价方法》中,日化产品抗菌、抑菌试验中的微生物选择包括:金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌等。本文分别选取金黄色葡萄球菌和大肠杆菌为试验菌,发现茶树花提取物对细胞壁结构不同的金黄色葡萄球菌(代表革兰氏阳性菌)和大肠杆菌(代表革兰氏阴性菌)均具

有较强的抑菌效果。茶树花提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度(MIC)分别为 $9 \text{ mg}/\text{mL}$ 和 $4.5 \text{ mg}/\text{mL}$ 。随着茶树花提取物浓度的增加,抑菌圈直径增大,其抑菌效果增强。

人体皮肤产生色素主要由黑色素沉积造成,黑色素的合成在黑色素细胞中完成,是一个多步骤的酶促反应,其中其主要作用的是酪氨酸酶^[19]。此外,黑色素细胞是一种具有树状突起的腺细胞,树状突起是黑色素细胞输送黑色素颗粒的通道,同时也是角质形成细胞联系的桥梁,因此黑色素细胞形态正常与否,对黑色素细胞功能的发挥具有重要作用,

即黑色素的转移沉积还受黑色素细胞形态的影响^[20]。由于人体皮肤黑色素细胞的原代培养较为复杂,小鼠 B16 黑色素瘤细胞是由正常黑色素细胞突变所致,其生化代谢与人体正常黑色素细胞相似,小鼠 B16 黑色素瘤细胞成为医药部门进行色素病变研究广泛使用的细胞模型。国内外在对美白功效评价试验中均采用该细胞。根据上述形成机理,美白祛斑类产品通过阻断上述黑色素形成的每一个合成途径均可达到抑制以及减少黑色素形成的目的。目前,化妆品及洗护行业应用最为广泛的一款美白剂为 V_C,其主要作用是阻碍酪氨酸的氧化反应,抑制黑色素的生成,还是胶原脯氨酸羟化酶和胶原赖氨酸羟化酶维持活性所必需的辅助因子。实验结果表明,V_C、茶树花提取物控制在安全浓度范围内,可以抑制黑色素细胞的增殖,降低酪氨酸酶活性,使得细胞的黑色素含量减少,能达到多重调控肌肤美白的目的。结果显示,从抑制酪氨酸酶活性、黑色素合成量来看,在较低浓度下,TFE 的效果要优于 V_C,这使得 TFE 作为原料在日化洗护用品上的应用大有潜力,值得进一步研究探讨。

参考文献

- 1 Alban M, Delmont T O, Vogel T M, *et al.* Life on human surfaces: skin metagenomics [J]. *PLoS One*, 2013, 8: 65288.
- 2 Parvez S, Kang M, Chung HS, *et al.* Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents [J]. *Phytother Res*, 2006, 20: 921.
- 3 Kim YJ, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62: 1707.
- 4 Tu YY (屠幼英), Qiao DJ (乔德京). Ten health effects of tea polyphenols (茶多酚十大养生功效) [M]. Hangzhou: Zhejiang University Press, 2014: 115-116.
- 5 WANG J (王静), QI XY (戚向阳), ZHU XL (朱学良), *et al.* Study on the antimicrobial activities of epigallocatechin-3-gallate and its different oxidation fractions [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2008, 20: 111-114.
- 6 BAO NN (鲍妮娜), DING FC (丁富成), HU QY (胡巧缘). Extraction and bacteriostasis effect of tea saponin in oil-tea camellia seed cake [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2018, 30: 127-133.
- 7 Lu WJ (卢雯静). The extraction and purification of tea sapo-

- 8 Chen ZC (陈贞纯), Jia LY (贾玲燕), Mao ZF (毛祖法), *et al.* Bio-efficacy of tea extract on mouse B16 melanoma cell in vitro and its mechanism [J]. *J Tea Sci* (茶叶科学), 2014, 5: 465-472.
- 9 Zhang ZZ (张正竹). Tea biochemistry experiment (茶叶生物化学实验教程) [M]. Beijing: China Agricultural Press, 2009: 33-53.
- 10 Huang Y H (黄意欢). Tea science experiment (茶学实验技术) [M]. Beijing: China Agricultural Press, 1997.
- 11 Dini I, Tenore GC, Dini A. Saponins in *Ipomoea batatas*, tubers: isolation, characterization, quantification and antioxidant properties [J]. *Food Chem*, 2009, 113: 411-419.
- 12 Tu YY (屠幼英), Liang HL (梁慧玲), Chen X (陈暄), *et al.* Analysis of catechins and organic acids in compressed teas [J]. *Tea* (茶叶), 2002, 28(1): 22-24.
- 13 Kim EH (金恩惠), Wu YY (吴媛媛), Tu YY (屠幼英). Research on the antibacterial effects of theaflavins [J]. *J Chin Inst Food Sci Tech* (中国食品学报), 2011, 11: 108-112.
- 14 Chang T S, Lin C H. Melanogenesis inhibitory activity of two generic drugs: cinnarizine and trazodone in mouse B16 melanoma cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12: 8787.
- 15 Maeda K, Fukuda M. Arbutin: mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, 276: 765-769.
- 16 Kang YY (康琰琰), Zhang MY (张美英), Xing SJ (邢少璟), *et al.* Melanin cell toxicity and whitening effect comparison of several natural actives [J]. *Chin Surf Det Cos* (日用化学工业), 2005, 35: 361-363.
- 17 Hou L (侯玲). Studies on the changes of flavonoids and related synthetase of tea flowers in different flowering stages and varieties [D]. Zhejiang: Zhejiang University (浙江大学), 2016.
- 18 Xu RJ (徐人杰). Extraction, purification, bioactivity and structure of polysaccharides from the flower of tea [D]. Jiangsu: Nanjing Agricultural University (南京农业大学), 2010.
- 19 Yamaguchi Y, Brenner M, Hearing V J. The regulation of skin pigmentation. [J]. *J Bio Chem*, 2007, 282: 27557-27561.
- 20 Song QR (宋琦如), Jin XP (金锡鹏). The mechanism of melanin metabolism and the assessment of lighteners [J]. *Det Cos* (日用化学品科学), 2000, 23(5): 13-15.