

MC-Transaction on Biotechnology, 2020, Vol. 11, No. 1, e2

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 文獻回顧：

### 兒茶素光化學研究

李淑媛<sup>1</sup>、梁致遠<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>醒吾科技大學 觀光休閒系(中華民國 台灣 新北市)

<sup>2</sup>銘傳大學 健康科技學院 生物科技學系(中華民國 台灣 桃園市)

### 中文摘要

兒茶素是黃烷醇類化合物，含四個酚基，具一系列生理上的特性。本文回顧討論兒茶素在鹼性環境下，對不同光質的影響。尤其是兒茶素經光反應的過程中，產生自由基及聚合物的機制。兒茶素溶液呈現透明，在鹼性環境下，照藍光轉為黃色，經分離及鑑定是二聚體兒茶素化合物，屬原花青素類的物質。兒茶素光反應時，添加抗壞血酸或沒食子酸，能降低二聚體的形成，表示抗壞血酸或沒食子酸能抑制兒茶素的光敏氧化作用。兒茶素在鹼性環境下照藍光，經光敏氧化作用，產生超氧陰離子自由基，可造成鮑氏不動桿菌及其多重抗藥菌株的失活。

關鍵字：抗壞血酸、藍光、兒茶素、失活

通訊作者：梁致遠[liang121@mail.mcu.edu.tw]

收稿：2020-1-13 接受：2020-1-23

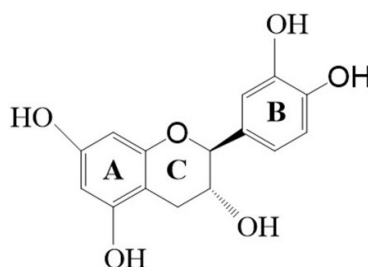
### 一、前言

酚類化合物是植物的二次代謝產物，屬多羥基化合物。多酚的結構是一個芳香環上，具有一個或多個羥基，包括複雜的酚類化合物<sup>[1]</sup>。兒茶素是植物多酚，在巧克力、葡萄、綠茶及葡萄酒中頗為常見。茶葉中的多酚含量豐富，佔茶葉乾物重的 10%至 30%。兒茶素是茶中多酚的主要成分，佔多酚的 80%，也蘊含許多特性，包括抗氧化、抗衰老和抗菌活性<sup>[2-4]</sup>。然而，兒茶素本身具不穩定性<sup>[5]</sup>。譬如在水溶液中，因為不穩定，兒茶素容易被氧化<sup>[5]</sup>。在氧化過程中，兒茶素可因劇烈的 pH 值改變，是讓含有兒茶素的飲料產生非酵素褐變的主要原因<sup>[6]</sup>，因此，避免在各種環境條件下讓兒茶素產生褐變，是製茶與茶飲料工業的一項重要議題。有鑑於此，本文即根據兒茶素的不穩定性為探討核心，討論兒茶素光敏化作用的機制。

## 二、兒茶素結構及性質

兒茶素是一種黃烷醇化合物，其主框架具有五個羥基，如圖一所示。兒茶類化合物，根據兒茶素 C<sub>3</sub> 位置及與沒食子酸(gallic acid)酯化的情形，可分為兩種兒茶素類化合物。其中一種是非酯型兒茶素，如表兒茶素(epicatechin, EC)和兒茶素(catechin, C);另一種是酯型兒茶素，例如表兒茶素沒食子酸酯(epigallocate catechi, ECG)及表沒食子兒茶素沒食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)[7]。

兒茶素在酸性條件下趨於穩定狀態，但在熱處理條件下，在鹼性或中性時，呈現不穩定[8]。Chen 等人指出，在鹼性溶液條件下隨著反應溫度增加，兒茶素可與二羧酸產生酯化反應，生成兒茶素與二羧酸的複合物[9]。Chobot 等人以 pH 的不同，比較酸鹼程度對兒茶素的影響，兒茶素在 pH 7.4 的水溶液孵育 96 小時，兒茶素的顏色發生變化，但兒茶素在 pH 3.6 的環境經 240 小時後仍保持穩定[10]。在水溶液中，兒茶素發生氧化並失去氫原子，從而導致生成半醌自由基的中間體，隨後形成醌氧化產物[11,12]。此外，兒茶素隨著加熱處理，非酵素的寡聚合反應可能發生[13]。Chen 等人以層析及質譜分析，兒茶素經鹼化及熱處理，兒茶素含量降低，兒茶素 C<sub>3</sub> 位置上的醚鍵因氧化而裂解，產生中間產物的同分異構物[8]。



圖一、(+)-兒茶素的結構

## 三、光質對兒茶素光反應的影響

綠茶屬不發酵茶，於製茶過程中，兒茶素幾乎不產生變化。圖二是吾人以沖泡的綠茶，放置客廳及暗處 72 小時後的茶湯顏色比較。放置在明亮處的綠茶顏色明顯加深，暗處則影響小，說明“光”可能對綠茶有所影響。原花青素是由兒茶素組成，Hayashi 等人指出新鮮紫米中的原花青素對光敏感，經光照，米的顏色變深，認為顏色的改變是因原花青素經氧化使得分子內鍵結而產生[14]。同樣的，兒茶素對紫外光敏感，經紫外光照射能改構其結構。Wilhelm-Mouton 等人指出，兒茶素及表兒茶素在甲醇溶液中，以紫外線 C 照射 20 小時，能打開黃烷醇的 C 環[15]。Shi 等人指出，兒茶素和表兒茶素對紫外線 B 敏感，紫外線 B 照射兒茶素或表兒茶素可產生黃色的產物[3]。兒茶素和表兒茶素的經紫外光的照射，可導致其結構的開環，紫外光照射可使兒茶素之間的異構化產生[15,16]。



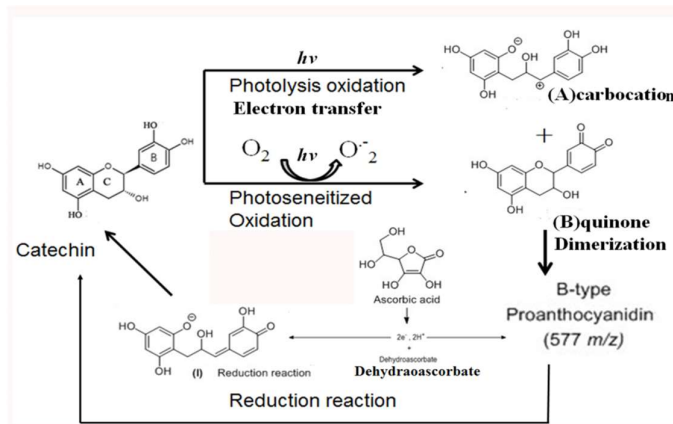
Dark

Light

圖二、綠茶放置客廳及暗處經 72 小時後顏色變化比較

兒茶素類化合物具自由基清除能力，是茶飲料中主要的活性成分。但罐裝茶在製造過程中不穩定，主要是基於兒茶素本身的不穩定緣故[17]。綠茶多酚經氧化的褐變，是茶飲料工業的一項重要議題，畢竟發生褐變勢必影響到茶湯的品質[6]。罐裝茶通常添加抗壞血酸以避免多酚的氧化及褐變，加入酸，口感須調整，因此添加碳酸鈉調整 pH，以維持風味。

兒茶素對可見光敏感。梁等人指出兒茶素經不同光質照射，會有不同的反應。以藍、紅及綠光在同一條件下照射兒茶素，發現兒茶素對藍光敏感，可形成光敏化反應；兒茶素對綠光及紅光不敏感，兒茶素照射紅光或綠光反應不明顯[18]。兒茶素在中性或鹼性條件下照射藍光後，透明的兒茶素溶液變成黃色，經光反應後其總多酚量及清除超氧陰離子自由基的能力不變，以層析及質譜分析其光反應的產物，單體的兒茶素經藍光反應後，產生二聚體兒茶素，屬原花青素類化合物[18]。Yang (2018)及 Huang (2019)等人指出，兒茶素或表兒茶素在鹼性條件下，經藍光照射可以產生兒茶素二聚體化合物；在光照過中，添加抗壞血酸或沒食子酸可以抑制其光化學反應，表明抗壞血酸或沒食子酸可以阻礙由光反應引起的電子轉移[4, 19]。圖三是兒茶素經藍光照射後，產生二聚體及添加抗壞血酸抑制其光反應的機制圖。兒茶素在鹼性環境下，以藍光照射，經光氧化電子轉移及光敏的氧化作用，分別在兒茶素的 C 環產生開環及產生醌類化合物，之後經聚合化，產生原花青素類化合物，添加抗壞血酸，供給氫原子及電子，可產生還原反應，還原成兒茶素。



圖三、兒茶素添加抗壞血酸在藍光照射下的反應機制

#### 四、兒茶素光反應與微生物失活

由圖三，兒茶素在鹼性環境下，經電子轉移易氧化。兒茶素在光氧化過程中，形成氧化的醌類化合物等中間產物，進行過程中，可形成超氧陰離子自由基(super oxide anion radical,  $O_2\bullet^-$ )。 $O_2\bullet^-$ 主要是氧獲得一個電子形成。使用 NBT(Nitro blue tetrazolium)還原法可間接偵測  $O_2\bullet^-$ ，光化學作用產生的  $O_2\bullet^-$ 能與 NBT 反應形成藍色甲臍(formazan)，可在 560nm 偵測<sup>[20]</sup>。楊等(2018)以 catechin/NBT 系統偵測  $O_2\bullet^-$ ，指出兒茶素在 pH 7.8 的環境，隨著藍光照射的時間增加，反應愈強，產生  $O_2\bullet^-$ 愈多<sup>[4, 19]</sup>。

活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)通常包括過氧化氫( $H_2O_2$ )、羥基自由基( $\bullet OH$ )、 $O_2\bullet^-$ ，以及過氧自由基( $ROO\bullet$ )等<sup>[21]</sup>。 $O_2\bullet^-$ 是氧化或環原的中間產物，能導致老細胞組織損傷、發炎及動脈粥樣硬化<sup>[22, 23]</sup>。核黃素對藍光敏感，經藍光照射，核黃素光解反應產生電子轉移，能產生  $O_2\bullet^-$ <sup>[24]</sup>。梁等人指出核黃素或黃素單核苷酸(riboflavin-5'-phosphate, FMN)經藍光照產生  $O_2\bullet^-$ ，能夠降解結晶紫染料<sup>[25]</sup>、並使大腸桿菌、金黃色葡萄球菌及多重抗藥金黃色葡萄球菌(MRSA)失活<sup>[26-28]</sup>。

鮑氏不動桿菌(*A. baumannii*)是一種革蘭式陰性菌，常分佈在土壤、水及人類的皮膚上。鮑氏不動桿菌對人類的威脅愈來愈嚴重，已成為全球重症監護中心(ICU)常見的病原體<sup>[29]</sup>。鮑氏不動桿菌可在乾燥表面的環境下存活一個月，也凸顯了鮑氏不動桿菌在醫院內控制的難度<sup>[30]</sup>。鮑氏不動桿菌是人類病原體，能產生許多毒素且伴隨各種病症，是導致嚴重疾病、傷口感染的病原體，可產生菌血症、腦膜炎、肺炎和尿道感染等等<sup>[31]</sup>。楊等(2018)以兒茶素在鹼性環境下照藍光，經光敏氧化作用，產生  $O_2\bullet^-$ 能加強鮑氏不動桿菌及多重抗藥性菌株的失活，在常溫下，添加 290  $\mu g/mL$  兒茶素，且以 2.0  $mW/cm^2$  藍光照射 120 分鐘的處理，經連續稀釋，可有效抑制鮑氏不動桿菌 4 log 以上。此外，對多重抗藥菌株的失活也具相同的能力。進而認為兒茶素的光氧化作用，可提供對環境微生物失活的安全方法<sup>[4]</sup>。

#### 五、研究與展望

茶樹是少數可以累積鋁(Al)的植物，可列為鋁累積植物<sup>[32]</sup>。其中，老茶葉可以積累大量的鋁，高達 30,000  $mg\ kg^{-1}$ <sup>[33]</sup>。茶的浸泡過程中，約有三分之一的鋁會被泡出<sup>[34, 35]</sup>，茶湯中的鋁濃度約為 1-6  $mg\ L^{-1}$ <sup>[36]</sup>，一杯茶中可能含有約 0.2-1.0  $mg$  鋁<sup>[37]</sup>。茶是世界上流行的飲料，但對於某些人來說，可能也是飲食中鋁的重要來源<sup>[38]</sup>。鋁在生物學上的毒性已有廣泛的記載，茶可能會提供大量的鋁，進而達到全身<sup>[39]</sup>。同時，茶樹是具高量多酚的植物，多酚佔茶葉乾物重 10%-30%，兒茶素佔多酚的 80%。多酚在鹼性條件下常帶負電。鋁離子( $Al^{3+}$ )具有三個正電荷，半徑小，具高電荷密度，有很強的生物活性。攝入綠茶後，從胃到小腸的 pH 值不同，鋁物種可能發生顯著變化。未來可以模擬在腸道鹼性環境下，以兒茶素照藍光模

式，檢測添加鋁對此模式的影響，進一步探討茶中兒茶素和鋁之間的關連性，是一項有趣的議題。

## 六、結 論

兒茶素對藍光敏感，經藍光照射後的光反應，可造成病原微生物失活。藍光是兒茶素光敏氧化作用的新型光源。兒茶素經藍光照射，兒茶素光氧化誘導電子移轉，產生具顏色的二聚體兒茶素。添加抗壞血酸或沒食子酸，可抑制兒茶素光敏氧化作用及自由基的生成。兒茶素經藍光照射產生的光敏氧化作用產生  $O_2^{\bullet-}$ ，可使鮑氏不動桿菌及其多重抗藥菌株失活。兒茶素光化學處理可能是一項具潛力、簡單且安全的衛生技術。

## 參考文獻

- [1] Balasundram N, Sundram K, Samman S: Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chem* 2006, 99:191-203.
- [2] Grzesik M, Naparło K, Bartosz G, Sadowska-Bartosz I: Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. *Food chem* 2018, 241:480-92.
- [3] Shi M, Nie Y, Zheng XQ, Lu JL, Liang YR, Ye JH: Ultraviolet B (UVB) Photosensitivities of tea catechins and the Relevant Chemical Conversions. *Molecules* 2016, 21:1345.
- [4] Yang MJ, Hung YA, Wong TW, Lee NY, Yuann JP, Huang ST, Wu CY, Chen IZ, Liang JY: Effects of blue-light-induced free radical formation from catechin hydrate on the inactivation of *Acinetobacter baumannii*, including a carbapenem-resistant strain. *Molecules* 2018, 23:1631.
- [5] Dube A, Ng K, Nicolazzo JA, Larson I: Effective use of reducing agents and nanoparticle encapsulation in stabilizing catechins in alkaline solution. *Food Chem* 2010, 122:662-667.
- [6] Ye Q, Chen H, Zhang LB, Ye JH, Lu JL, Liang YR: Effects of temperature, illumination, and sodium ascorbate on browning of green tea infusion. *Food Sci Biotechnol* 2009, 18:932-938.
- [7] Chen GH, Yang CY, Lee SJ, Wu CC, Tzen JT: Catechin content and the degree of its galloylation in oolong tea are inversely correlated with cultivation altitude. *J Food Drug Anal* 2014, 22:303-309.

- [8] Chen LY, Wu JY, Liang JY: Using chromatography and mass spectrometry to monitor isomerization of catechin in alkaline aqueous with thermal processing. *J Food Process Preserv* 2018, 42:e13365.
- [9] Chen LY, Cheng CW, Liang JY: Effect of esterification condensation on the folin-ciocalteu method for the quantitative measurement of total phenols. *Food Chem* 2015, 170:10-15.
- [10] Chobot V, Huber C, Trettenhahn G, Hadacek F: (+/-)-catechin: chemical weapon, antioxidant, or stress regulator? *J Chem Ecol* 2009, 35:980-996.
- [11] Janeiro P, A.M. OB: Catechin electrochemical oxidation mechanisms. *Anal Chim Acta* 2004, 518:109-115.
- [12] Mochizuki M, Yamazaki S, Kano K, Ikeda T: Kinetic analysis and mechanistic aspects of autoxidation of catechins. *Biochim Biophys Acta* 2002, 1569:35-44.
- [13] Fan FY, Shi M, Nie Y, Zhao Y, Ye JH, Liang YR: Differential behaviors of tea catechins under thermal processing: Formation of non-enzymatic oligomers. *Food Chem* 2016, 196:347-354.
- [14] Hayashi S, Nakano K, Yanase E. Investigation of color-deepening phenomenon in catechin-(4-->8)-dimer as a proanthocyanidin model and structural determination of its derivatives by oxidation. *Food Chem* 2018, 239:1126-1133.
- [15] Wilhelm-Mouton A, Bonnet SL, Ding Y, Li XC, Ferreira D, van der Westhuizen JH: Photochemistry synthesis. Part 2: Enantiomerically pure polyhydroxy-1, 1, 3-triarylpropan-2-ols. *J Photochem Photobiol A Chem* 2012, 227:18-24.
- [16] Forest K, Wan P, Preston CM. Catechin and hydroxybenzhydrols as models for the environmental photochemistry of tannins and lignins. *Photochem Photobiol Sci* 2004, 3:463-472.
- [17] Komatsu Y, Suematsu S, Hisanobu Y, Saigo H, Matsuda R, Hara K: Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. *Biosci Biotechnol Biochem* 1993, 57:907-910.
- [18] Liang JY, Wu JY, Yang MY, Hu A, Chen LY: Photo-catalytic polymerization of catechin molecules in alkaline aqueous. *J Photochem Photobiol B* 2016, 165:115-120.
- [19] Huang ST, Hung YA, Yang MJ, Chen IZ, Yuann JP, Liang JY: Effects of epigallocatechin gallate on the stability of epicatechin in a photolytic process. *Molecules* 2019, 24:787.

- [20] Cheng CW, Chen LY, Chou CW, Liang JY: Investigations of riboflavin photolysis via coloured light in the nitro blue tetrazolium assay for superoxide dismutase activity. *J Photochem Photobiol B* 2015, 148:262-267.
- [21] Yuann J-MP, Wang J-S, Jian H-L, Lin C-C, Liang JY: Effects of *Clinacanthus nutans* (Burm. f) Lindau leaf extracts on protection of plasmid DNA from riboflavin photoreaction. *MC-Trans Biotechnol* 2012, 4:45-59.
- [22] Halliwell B, Gutteridge JM: Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 1990, 186:1-85.
- [23] Juen JW, Jian HL, Liang JY: The effect of illuminance on light induced reduction of nitro blue tetrazolium. *MC-Trans Biotechnol* 2010(e2):1-11.
- [24] Lin Y, Eitenmiller RR, Landen WO: Chapter 7 Riboflavin, In: *Eitenmiller RR, W. O. Landen Jr WO., Lin Ye*, editors. *Vitamin analysis for the health and food sciences*. 2 ed: CRC Press; 2008. p. 329-60.
- [25] Liang JY, Yuann JP, Hsie ZJ, Huang ST, Chen CC: Blue light induced free radicals from riboflavin in degradation of crystal violet by microbial viability evaluation. *J Photochem Photobiol B* 2017, 174:355-363.
- [26] Liang JY, Yuann JM, Cheng CW, Jian HL, Lin CC, Chen LY: Blue light induced free radicals from riboflavin on *E. coli* DNA damage. *J Photochem Photobiol B* 2013, 119:60-64.
- [27] Liang JY, Cheng CW, Yu CH, Chen LY: Investigations of blue light-induced reactive oxygen species from flavin mononucleotide on inactivation of *E. coli*. *J Photochem Photobiol B* 2015, 143:82-88.
- [28] Wong TW, Cheng CW, Hsieh ZJ, Liang JY: Effects of blue or violet light on the inactivation of *Staphylococcus aureus* by riboflavin-5'-phosphate photolysis. *J Photochem Photobiol B* 2017, 173:672-680.
- [29] Osterburg A, Gardner J, Hyon SH, Neely A, Babcock G: Highly antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates are killed by the green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Clin Microbiol Infect* 2009, 15:341-346.
- [30] Jawad A, Seifert H, Snelling AM, Heritage J, Hawkey PM: Survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces: comparison of outbreak and sporadic isolates. *J Clin Microbiol* 1998, 36:1938-1941.
- [31] Lin MF, Lan CY: Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World J Clin Cases* 2014, 2:787-814.

- [32] Webb L: Aluminium accumulation in the Australian–New Guinea flora. *Aust J Bot* 1954, 2:176-196.
- [33] Matsumoto H, Hirasawa E, Morimura S, Takahashi E: Localization of aluminium in tea leaves. *Plant Cell Physiol* 1976, 17:627-631.
- [34] Natesan S, Ranganathan V: Content of various elements in different parts of the tea plant and in infusions of black tea from southern India. *J Sci Food Agric* 1990, 51:125-139.
- [35] ØDEGÅRD KE, Lund W: Multi-element speciation of tea infusion using cation-exchange separation and size-exclusion chromatography in combination with inductively coupled plasma mass spectrometry. *J Anal At Spectrom* 1997, 12:403-408.
- [36] Liang JY, Chung RS, Lin HC: Speciation of aluminum and fluorine in a blend of green tea infusion and human gastric juice by ion chromatography and  $^{19}\text{F}$ -NMR. *Food Sci. Agric. Chem* 1999, 1:215-222.
- [37] Sherlock J: Aluminum in food and the diet. In: Massey R, Taylor D, editors. *Aluminum in food and the environment*: Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK; 1989. p. 68-76.
- [38] Powell JJ, Greenfield SM, Parkes HG, Nicholson JK, Thompson RP: Gastro-intestinal availability of aluminium from tea. *Food Chem Toxicol* 1993, 31:449-454.
- [39] Yokel RA, Florence RL: Aluminum bioavailability from tea infusion. *Food Chem Toxicol* 2008, 46:3659-3663.



## Mini Review:

# The Photochemistry of Catechin

Shwu-Yuan Lee<sup>1</sup> and Ji-Yuan Liang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Tourism and Leisure, Hsing-Wu University, (New Taipei city, Taiwan, R.O.C.)

<sup>2</sup>Department Biotechnology, School of Health Technology, Ming-Chuan University, (Taoyuan, Taiwan, R.O.C.)

### Abstract

The influences of blue light on the inactivation of pathogenic microorganisms with catechin photoreaction were discussed in this study. Blue light could be thought a new light origin for catechin photolysis. Chromatographic assay showed that the yellowish catechin dimer was produced from the electron transfer of catechin photolysis in an alkaline solution condition. Catechin upon addition of ascorbic acid or gallic acid can suppress the photolysis for ROS formation and inhibit the catechin photolysis. The catechin photolysis with blue light was able to inactivate *Acinetobacter baumannii*, including a carbapenem-resistant strain by ROS formation. Catechin photochemistry might be a safe and simple technique for hygienic decontamination.

Keyword: ascorbic acid, blue light, catechin, inactivation

Corresponding author: Ji-Yuan Liang [liang121@mail.mcu.edu.tw]

Received 13 Jan 2020/Accepted 23 Jan 2020

---

MC-Transaction on Biotechnology, 2020, Vol. 11, No. 1, e2

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/2.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.