J. Soc. Cosmet. Sci. Korea
Vol. 48, No. 1, March 2022, 47-53

pISSN 1226-2587
eISSN 2288-9507
http://dx.doi.org/10.15230/SCSK.2022.48.1.47

미네랄 워터를 이용한 블랙티의 효율적 추출 방법 및 추출물의 항산화와 항염 효능

김 은 미[†] · 정 지 용 · 김 형 민 · 황 경 환 · 김 형 준 · 박 원 석[††]

아모레퍼시픽 R&I 센터

(2022년 3월 15일 접수, 2022년 3월 24일 수정, 2022년 3월 28일 채택)

Efficient Extraction Method of Black Tea using Mineral Water and Antioxidant and Anti-inflammatory Activity of Extract

Eun-Mi Kim[†], Jiyong Jung, Hyung-Min Kim, Kyeong Hwan Hwang, Hyoung-June Kim, and Won-Seok Park[††]

Basic Research and Innovation Division, AMOREPACIFIC Corporation, Research and Innovation Center, 1920, Yonggu-daero, Giheung-gu, Yongin-si, Gyeonggi-do 17074, Korea

(Received March 15, 2022; Revised March 24, 2022; Accepted March 28, 2022)

요 약: 본 연구에서는 블랙티에 함유된 고분자 카테킨 성분을 효율적으로 추출할 수 있는 조건을 최적화하였다. 발효도에 따른 고분자 카테킨 함량을 확인하기 위하여 세가지 발효도의 블랙티내 고분자 카테킨 함량을 비교하였다. 발효도가 증가할수록 고분자 카테킨 함량이 증가되며 그중 크기가 가장 큰 데아브론닌(theabrownin) 함량이 크게 증가함을 확인하였다. 또한, 경수인 미네랄 워터를 사용하여 추출시 다른 추출수를 사용했을 때 비해 약 150% 이상 데아브로닌의 추출 함량이 증가됨을 확인하였다. 최적 조건에서 추출된 블랙티 추출물과 그 추출물내 다량으로 함유된 데아브로닌의 항산화 효능을 ABTS assay를 이용하여 확인하였다. 그 결과, 두 추출물 모두 항산화 효능을 갖고 있으며, IC_{50} 값이 각각 10.60 ppm, 13.21 ppm으로 확인하였다. 또한, 주요 성분인 데아브로닌의 항염 효능을 확인한 결과 UVB 조사에 의해 증가된 IL-8의 mRNA 발현이 데아브로닌에 의해 농도 의존적으로 억제됨을 확인하였다. 또한, 데아브로닌 10 ppm을 처리하면 UVB 조사에 의해 저하된 미토콘드리아의 기능이 대조군 대비 86 ± 1.9%으로 회복되었다. 따라서, 데아브로닌은 UVB 조사에 의해 유발된 미토콘드리아의 손상을 방지할 수 있음을 확인되었다.

Abstract: In this study, the conditions for efficiently extracting polyphenols contained in black tea were optimized. In order to confirm the polyphenol content according to the degree of fermentation, the polyphenol content in black tea of the three fermentation degrees was compared. As the degree of fermentation increased, the polyphenol content increased, and it was confirmed that the theabrownin content, the largest in size, increased significantly. In addition, it was confirmed that the amount of theabrownin extraction increased by about 150% or more compared to other extraction water when extracting using mineral water, which was hard water. The antioxidant effects of black tea extract and the theabrownin was confirmed using ABTS assay. As a result, both extracts had antioxidant effects, and IC_{50} values were confirmed to be 10.60 ppm and 13.21 ppm, respectively. And also, the anti-inflammatory effect of the theabrownin was confirmed that the mRNA expression of IL-8 increased by UVB irradiation was inhibited in a concentration dependent manner by the theabrownin. In addition, when theabrownin was treated with 10 ppm, the mitochondrial function decreased by UVB irradiation was

† 주 저자 (e-mail: emkim@amorepacific.com)
call: 031-899-2875
†† 교신저자 (e-mail: wspark@amorepacific.com)
call: 031-280-5822

restored to 86 ± 1.9% compared to the control group. Therefore, we concluded that theabrownin could protect mitochondrial damage caused by UVB irradiation.

Keywords: *black tea, mineral water, theabrownin, antioxidant, anti-inflammation*

1. 서 론

전 세계적으로 스킨케어 제품의 인기가 높아짐에 따라 식물 추출물의 화장품 용도에 대한 연구가 과학 문헌에 점점 더 많이 등장하고 있다. 특히, 유해물질이나 독성 방부제 등을 사용하지 않는 자연 치료 및 스킨케어 제품에 관한 관심이 높아지고 있다[1,2]. 현재 차 추출물은 풍부한 유효성분을 함유하고 있고, 다양한 생물학적 작용으로 인해 건강 보조 식품 및 화장품에서 중요한 원료로 사용되고 있다. 차는 그 자체 혹은 추출물로써 모두 전세계적으로 화장품 시장에서 매우 중요한 역할을 해왔다. 일반적으로, 차의 효능 성분인 폴리페놀을 함유한 차 추출물은UV 노출에 의해 손상된 피부톤이나 피부 손상의 개선 등에 긍정적인 효과를 가지고 있다[3]. 블랙티는 전세계 차 소비량의 75% 이상을 차지하고 있는, 가장 흔하게 많이 마시는 차 중에 하나이다. 블랙티를 많이 마시는 이유는 그 맛과 향이 좋기 때문에 즐기는 사람도 많지만, 건강에 이로운 다양한 효능을 갖는 성분을 함유하고 있기 때문이기도 하다. 특히, 블랙티에는 발효되면서 차 내의 산화 효소에 의해 카테킨이 중합[4]되면서 생성되는 고분자 카테킨이 다량으로 함유되어 있고, 그 중 가장 크기가 큰 물질이면서 다양한 효능을 갖는 성분이 데아브로닌(theabrownin, TB)이다. 최근 연구에 따르면 데아브로닌은 anti-tumor[5], anti-adipogenic[6], anti-hypercholesterolemia[7], and anti-osteoporotic effects등 여러 가지 건강 증진 효과를 나타낸다는 보고가 있다.

또한, 일반적으로 차의 질을 생각할 때 대부분의 사람들은 그 자체나 생산방식 차를 수확하는 시기 혹은 차의 품종 등을 고려한다. 그러나 차를 마시는 수요자 입장에서 차를 우릴 때 사용하는 물 또한 매우 중요한 요소중의 하나이다. 차를 우릴 때 사용하는 물, 특히 수질이 블랙티와 녹차의 감각 및 화학적 품질에 미치는 영향을 미치기도 한다 [8]. 또한, 수돗물은 정제수로 녹차를 끓이는 것과 비교하여 녹차에서 추출되는 차의 폴리페놀의 양에 영향을 미칠 수 있다는 보고도 있다[8].

따라서, 본 연구에서는, 화장품 산업에 유용하게 활용할 수 있는 블랙티의 추출법을 최적화하고, 추출물의 항산화 효능 및 함유된 유효 성분인 데아브로닌의 항산화 항염, 미토콘드리아 손상 억제 효능을 확인함으로써 블랙티 추출물 화장품 소재로 활용될 가능성에 대해 확인하고자 하였다.

2. 실험 방법

2.1. 시약

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS)와 L-ascorbic acid는 Sigma-Aldrich (USA)에서, Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM)는 Lonza (Switzerland)에서, fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin, SuperScript^{TM} III First-Strand Synthesis System, TaqMan^{TM} Universal PCR Master Mix, human RPLP0 (Hs99999902_m1), human CXCL8 (Hs00174103_m1) TaqMan^{TM} gene expression assay probe는 Thermo Fisher scientific (USA)에서, cell counting kit-8 (CCK-8)은 Dojindo molecular technologies (USA)에서, RNeasy mini kit은 QIAGEN (Germany)에서, JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit은 Abcam (UK)에서 구입하였다. 기타 유기 용매는 Sigma-Aldrich (USA)에서 구매하였다. 사용한 블랙티는 오설록 연구소(Korea)에서 본 연구 목적에 맞게 발효된 것을 제공받아 사용하였다.

2.2. 블랙티의 고분자 카테킨 성분(TF, TR, TB) 측정방법

블랙티 추출물 내의 고분자 카테킨은 ISO14052 standard method에 따라 흡광도를 측정하여 그 농도를 측정하였다. 차의 색소는 그 구조가 매우 복잡하기 때문에 각각의 물질을 개별적으로 측정하기 매우 어렵다. 따라서, 블랙티에 주요 색소이며 효능 성분인 데아플라빈(theaflavin, TF), 데아루비긴(thearubigin, TR), 데아브로닌(theabrownin, TB)을 위주로 함량 측정을 하였다. 구체적인 방법은 다음과 같다 [9]. 3 g의 블랙티잎에 125 mL 증류수를 넣고 100 ℃에서 10 min 간 추출 후 filter paper 로 여과하여 추출물을 회수한다. 추출물 50 mL에 동량의 에틸아세테이트를 넣고 5

min 간 혼합 후 정치하여 층 분리시킨 후 4 mL의 에틸아세테이트 층 용액을 회수 후 21 mL 95% 에탄올로 희석한다. Solution A 25 mL 에틸아세테이트 층 용액에 25 mL $NaHCO_3$ (2.5%)용액을 혼합 후 30 s 간 혼합 후, 4 mL 에틸아세테이트 층 용액을 회수하여 95% 에탄올 용액 21 mL을 넣어 희석한다. Solution C 처음 추출했던 용액의 수용액 층에서 2 mL을 회수한 후 6 mL의 증류수와 2 mL 포화된 oxalic acid 용액과 95% 에탄올 15 mL로 희석한다. Solution D 블랙티 추출물 25 mL에 동량의 n-butanol을 넣고 3 min간 혼합 후 층 분리시킨 후 수용액 층 2 mL을 회수 후 6 mL의 증류수와 2 mL 포화된 oxalic acid 용액과 95% 에탄올 15 mL로 희석한다. Solution B 4 개의 준비된 용액을 380 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 수식을 이용하여 TF, TR, TB 함량을 측정한다(각 흡광도는 Ea, Eb, Ec, Ed 로 표기).

$$TF = \frac{Ec \times 2.25}{\text{dried weight }(\%)} \times 100\%$$

$$TR = \frac{7.06 \times (2Ea + 2Ed - Ec - 2Eb)}{\text{dried weight }(\%)} \times 100\%$$

$$TB = \frac{2Eb \times 7.06}{\text{dried weight }(\%)} \times 100\%$$

2.3. 추출 조건 최적화(Optimization of Extraction Condition)

블랙티 내의 고분자 카테킨 성분 추출을 극대화하기 위하여, 발효 정도, 추출수, 추출 시간을 최적화하였다. 사용한 발효차는 일반적인 발효차 제조방법(채엽, 위조, 유념, 산화(발효), 건조)에 따라 제조된 발효차이고, 발효정도의 조절은 발효 시간에 따라 구분하였다. 20% 미만 발효는 1 h, 40% 미만은 2 h, 80% 이상 발효는 5 h 이상 발효하였다. 발효정도의 비교는 세가지 조건(10 ~ 20%, 30 ~ 40%, 80% 이상)의 발효차를 비교하였다. 추출수의 경도 (D. I. water < 연수 (미네랄 함량 17 mg/L) < 경수 (미네랄 함량 130 mg/L)에 따라 고분자 카테킨 추출 효율을 비교하여 추출에 적합한 추출수를 선별하였다. 추출 효율이 극대화되는 시점을 확인하기 위하여 추출 시간에 따라 추출물의 함유된 데아브로닌 성분의 농도를 확인하였다.

2.4. 데아브로닌(TB) 정제 방법

30 g 블랙티를 분쇄 후 1,500 mL 정제수를 혼합 후 95 ℃에서 20 h 교반한다. 추출 후 찻잎을 제거하고 추출액을 회수하기 위하여 whatman 페이퍼 필터 (pore size 2.5 μm)를 이용하여 여과하였다. 여과된 추출액을 동량의 n-butanol과 혼합한 후 3 min 동안 교반한다. 혼합액을 원심분리기를 이용하여 층 분리한 후 하부의 수용액 층을 회수하고 rotary evaporator를 이용하여 액을 휘발시킨 후 갈색으로 건조된 데아브로닌을 회수하였다

2.5. Free Radical Scavenging Activity (ABTS Assay)

ABTS scavenging assay는 기존에 알려진 실험법에서 변형하여 실시하였다[10]. 간략하게, 2.4 mM의 ABTS solution과 2.45 mM의 potassium persulfate을 1 : 1의 비율로 섞어 24 h 동안 빛이 닿지 않게 상온에서 반응시켜서 ABTS radical cation을 생성시켰다. 표시된 농도의 데아브로닌과 L-ascorbic acid 용액을 준비된 ABTS 용액과 1 : 16의 비율로 섞은 후, 37 ℃의 암소에서 10 min 간 배양하였다. 이후, 반응 혼합액의 흡광도는 734 nm 파장에서 측정하였다. 데아브로닌과 L-ascorbic acid의 ABTS radical 제거 활성은 다음의 공식으로 계산하였다:

$$\text{ABTS radical scavenging activity} = \frac{\text{Abs of control} - \text{Abs of sample}}{\text{Abs of control}} \times 100\%$$

2.6. HaCaT Cell의 세포 생존률

Cytotoxicity assay를 CCK-8 용액을 사용하여 제조사의 사용법에 따라 진행하였다. 간략하게, HaCaT cell (DKFZ, Germany)을 표기된 데아브로닌 농도대로 기본 DMEM에 희석하여 세포에 처리하였다. 24 h 후, 배지를 제거하고 DMEM에 희석한 CCK-8 용액을 넣고 30 min 간 배양하였다. 540 nm에서의 흡광도를 측정하여 cell viabilitiy를 측정하였는데, 80% 이상의 cell viabilitiy를 보이는 농도를 무독성 조건으로 간주하였다.

2.7. Quantitative Real-time Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR)

총 RNA를 RNeasy mini kit을 사용하여, 제조사 설명서대로 분리하였다. RNA의 농도는 SynergyTM2 multi-mode micro plate reader (Biotek, USA)를 사용하여 측정하였고, 1 μg의 RNA를 SuperScript™ III First-Strand Synthesis System으로 역전사 반응을 시켜 cDNA를 합성하였다. CXCL8/IL-8 유전자의 발현량을 7500 Fast Real-Time PCR Instrument System (Thermo Fisher scientific, USA)으로 확인하였으며,

이 때 RPLP0 유전자를 사용하여 보정하였다.

2.8. Mitochondrial Membrane Potential 측정 방법

미토콘드리아 막전위차를 JC-10 Mitochondrial Membrane Potential Assay Kit를 활용하여 측정하였으며, 520 nm와 590 nm의 형광값을 SynergyTM2 multi-mode micro plate reader로 측정하였다.

2.9. 통계처리

각 군간의 통계적 유의성을 one-way analysis of variance (ANOVA)로 결정하였으며, Tukey's post hoc test에 의해 $p < 0.05$인 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 결과값은 최소 3 회 이상의 독립 실험의 평균값 ± SD으로 표시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 발효도에 따른 고분자 카테킨 함량 변화

차에 함유된 카테킨은 발효가 진행됨에 따라 그 분자들이 중합되어 고분자 형태의 고분자 카테킨을 형성한다. 본 연구에서는 발효도에 따라 생성되는 고분자 카테킨의 함량을 비교함으로써 화장품 원료로 적합하게 이용할 수 있는 발효차를 선별하고자 하였다. 그 결과 Figure 1에서와 같이 발효도가 증가함에 따라, 크기가 큰 고분자 형태의 데아브로닌(TB) 함량이 증가되는 것을 확인 할 수 있다. 또한, 전체 고분자 카테킨 함량이 최대임을 확인하였다. 따라서, 본 연구에서는 발효도가 80%인 블랙티를 사용하여 추후 실험을 진행하였다.

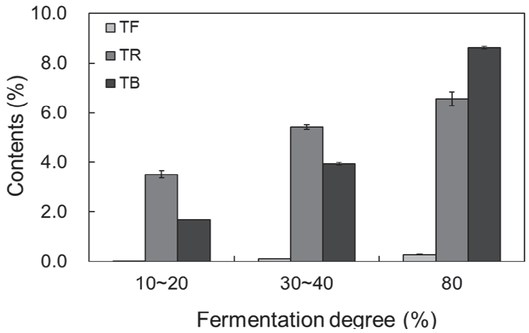

Figure 1. Contents of tea polyphenolic compound (TF: Theaflavin, TR: Thearubigin, TB: Theabrownin) of fermented tea by fermented degree. Values shown represent the mean ± SD of three independent experiments.

3.2. 추출수 및 추출시간에 따른 고분자 카테킨 추출 효율

천연물을 추출할 때 사용하는 용액은 알코올성 유기용매를 많이 사용하나, 유기용매 사용시 잔류되는 용매로 인해 독성을 유발할 수 있는 단점이 있기 때문에 화장품 원료로 사용하기에 단점이 있다. 본 연구에서는 수용액을 이용하여 추출액을 제조하였고, 수용액을 사용함에 있어 그 용액의 미네랄 함량에 따른 추출 효율이 다름을 확인하였다(Figure 2). 특히, 중합된 고분자 카테킨의 크기가 커질수록 수용액에 더 잘 녹기 때문에 수용액을 이용한 블랙티의 추출액 제조가 유기용매를 활용한 것에 비해 그 장점이 있을 수 있다. 본 연구에서는 세가지 추출수를 비교하였다. 일반적으로 실험실에서 사용하는 증류수와 시중에 판매되는 연수(bottle water) 그리고 경수(미네랄 워터)를 비교하였다. 그 결과, Figure 2와 같이 경수 사용시 크기가 가장 큰 고분자 카테킨인 데아브로닌 추출량이 극대화됨을 확인할

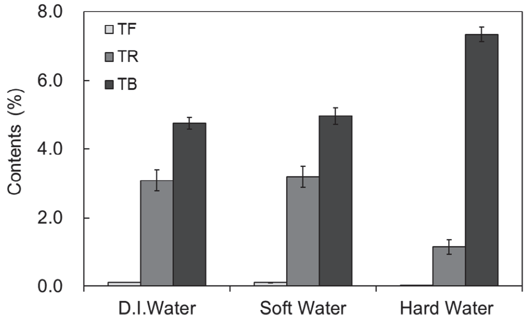

Figure 2. Contents of polyphenolic compound (TF: Theaflavin, TR: Thearubigin, TB: Theabrownin) of black tea extract by extraction water. Values shown represent the mean ± SD of three independent experiments.

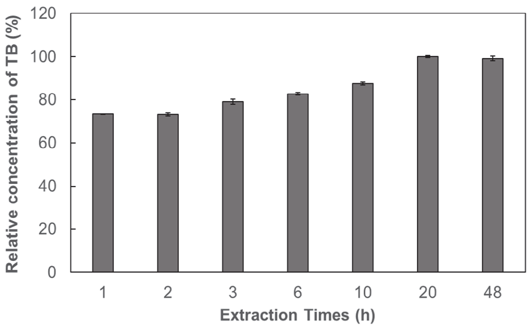

Figure 3. Relative concentration of theabrownin (TB) (%) by extraction times (h). Values shown represent the mean ± SD of three independent experiments.

수 있었다. 또한, 추출물 제조시 추출 시간에 따른 추출 효율을 비교하였고, 그 결과 Figure 3에서와 같이 20 h까지 추출물내 데아브로닌 함량이 증가하는 것을 확인하였다. 따라서, 발효도 80%의 블랙티를 경수를 이용하여 20 h 이상 추출하였을 때, 추출물 내 데아브로닌의 함량이 극대화 됨을 확인하였다.

3.3. 블랙티 추출물 및 데아브로닌 추출물의 항산화 효능

블랙티 추출물과 데아브로닌이 항산화 효능을 가지고 있는지 확인하기 위해 ABTS radical scavenging assay를 진행하였다. 그 결과, 블랙티 추출물과 데아브로닌은 ABTS radical을 농도의존적으로 제거하였다(Figure 4). 측정된 결과를 바탕으로 IC_{50} 값은 각각 10.60, 13.21 ppm으로 계산되었다. 양성대조군으로 사용된 L-ascorbic acid의 IC_{50} 값은 4.90 ppm으로 측정되었다. 따라서, 블랙티 추출물 및 데아브로닌은 항산화 효능이 있다고 결론을 내릴 수 있었다.

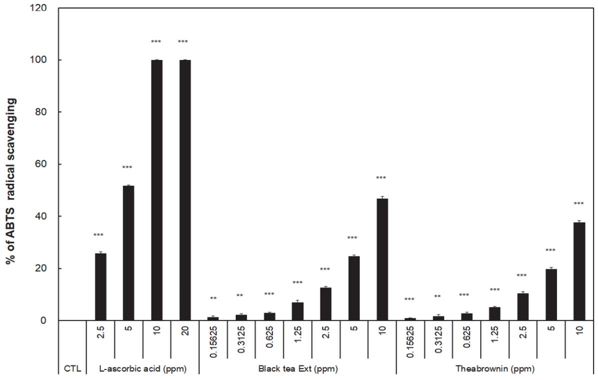

Figure 4. Black tea extract and theabrownin (TB) showed antioxidant activity *in vitro*. Free radical scavenging activity of black tea extract and theabrownin was assessd by ABTS radical scavenging assay. L-ascorbic acid was used as a positive control of free radical scavenger. CTL; control. Values shown represent the mean ± SD of three independent experiments. $^{***}p < 0.001$ versus control.

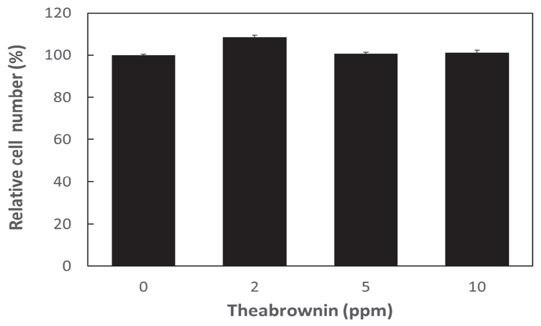

Figure 5. Theabrownin (TB) showed no cytotoxic effect. HaCaT cells were treated with indicated concentration of theabrownin for 24 h and cell viabilities were measured. Values shown represent the mean ± SD of three independent experiments.

3.4. 데아브로닌의 항염 효능

인간 피부 조직에 UVB가 조사되면 IL-8의 발현이 증가하며[11], 증가된 IL-8은 염증 부위로 호중구(neutrophil)의 이동 및 활성화를 유발할 수 있다[12]. 따라서, 본 실험에서는 블랙티 추출물내 주요 효능 성분인 데아브로닌이 HaCaT cell에서 UVB에 의한 IL-8 발현 증가를 조절할 수 있는지 확인하였다. 최대 10 ppm의 데아브로닌을 HaCaT cell에 처리하였을 때, 세포 독성을 보이지 않았다(Figure 5). 또한, UVB 조사에 의해 증가된 IL-8의 mRNA 발현을 농도 의존적으로 억제하였다(Figure 6). 따라서, 데아브로닌은 인간 피부에서의 염증반응을 조절한다고 볼 수 있다.

3.5. 데아브로닌의 Mitochondrial Potential Effect

UVB 조사에 의해 ROS 생성이나 미토콘드리아 강직성 저하 등 미토콘드리아의 손상이 유발될 수 있으며, 이는 결국 세포 사멸 신호전달 체계의 활성화를 유발한다[13]. 따라서, 데아브로닌이 UVB 조사에 의해 저하된 미토콘드리아의 기능을 회복시킬 수 있는 지 조사하였다. 18 mJ/cm^{2}의 UVB를 조사하였을 때, HaCaT cell의 미토콘드리아 막 전위차가 대조군 대비 73 ± 2.6%로 감소하였고, 여기에 데아브로닌 10 ppm을 처리하면 대조군 대비 86 ± 1.9%으로

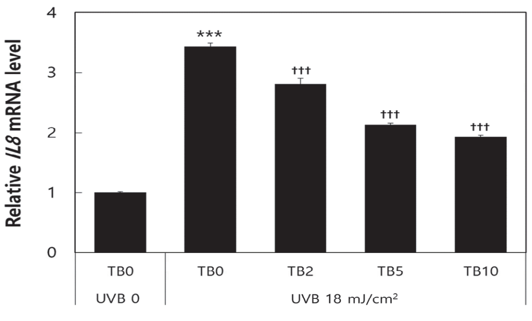

Figure 6. Theabrownin (TB) supressed UVB-induced IL-8 expression. HaCaT cells were irradiated with 18 mJ/cm^2 of UVB followed by treatment of theabrownin up to 10 ppm for 24 h. The mRNA of IL8 was analyzed by real-time qPCR. Values shown represent the mean ± SD of three independent experiments. TB; theabrownin. $^{***}p < 0.001$ versus UVB 0 mJ/cm^2 / TB0. $^{†††}p < 0.001$ versus UVB 18 mJ/cm^2 / TB0.

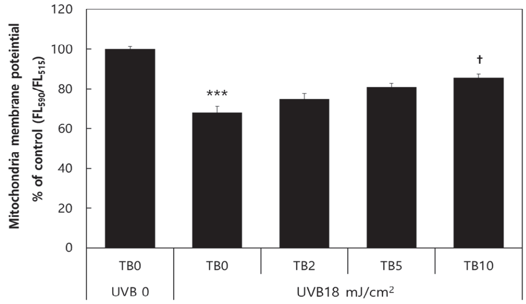

Figure 7. Theabrownin (TB) restored mitochondrial membrane potential disruption caused by UVB-irradiation. HaCaT cells were irradiated with 18 mJ/cm^{2}of UVB, and then treated with theabrownin up to 10 ppm. After 6 h, cells were stained with JC-10 dye to determine mitochondrial membrane potential. Values shown represent the mean ± SD of five independent experiments. TB; theabrownin. $^{***}p < 0.001$ versus UVB 0mJ/cm^2 / TB0. $^{†}p < 0.05$ versus UVB 18mJ/cm^2 / TB0.

회복하였다(Figure 7). 따라서 데아브로닌은 UVB 조사에 의해 유발된 미토콘드리아의 손상을 방지할 수 있다.

4. 결 론

본 연구에서는 미네랄 워터를 이용하여 블랙티 내 효능 성분인 고분자 카테킨 특히, 데아브로닌 성분을 효율적으로 추출할 수 있었다. 미네랄 워터를 이용하여 추출한 블랙티 추출물내 데아브로닌 성분을 추가적으로 추출하여 항산화, 항염, 그리고 미토콘드리아 손상 회복 효능을 확인하였다. 블랙티 추출물 및 데아브로닌의 IC_{50} 값은 각각 10.60, 13.21 ppm이며, 양성대조군으로 사용된 L-ascorbic acid의 IC_{50} 값은 4.90 ppm 으로 블랙티 추출물과 데아브로닌이 매우 강력한 L-ascorbic acid 와 의 비교를 통해 충분한 항산화력을 갖고 있음이 확인되었다. UVB 조사에 의해 증가된 IL-8의 mRNA 발현이 효율적으로 억제되는 것으로 우수한 항염효능을 갖는 것을 확인하였다. 또한, 데아브로닌 10 ppm 이상 처리시 미토콘드리아 손상이 회복되는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 종합하였을때, 블랙티 추출물 및 그 효능 성분인 데아브로닌이 화장품 원료로 유용 가능성이 높은 것으로 판단된다.

References

1. W. Koch, J. Zagorska, Z. Marzec, and W. Kukula-Koch, Applications of tea (*Camellia sinensis*) and its active constituents in cosmetics, *Molecules*, **24**(23), 4277 (2019).
2. I. B. Allemann and L. Baumann, Botanicals in skin care products, *Int J Dermatol,* **48**(9), 923 (2009).
3. H. Ikehata and M. Yamamoto, Roles of the KEAP1-NRF2 system in mammalian skin exposed to UV radiation, *Toxicol Appl Pharmacol.,* **360**, 69 (2018).
4. N. Subramanian, P. Venkatesh, S. Ganguli, and V. P. Sinkar, Role of polyphenol oxidase and peroxidase in the generation of black tea theaflavins, *J Agric Food Chem.,* **47**(7), 2571 (1999).
5. J. Xu, B. Yan, L. Zhang, L. Zhou, J. Zhang, W. Yu, X. Dong, L. Yao, and L. Shan, Theabrownin induces apoptosis and tumor inhibition of hepatocellular carcinoma Huh7 cells through ASK1-JNK-c-Jun pathway, *Onco Targets Ther.,* **13**, 8977 (2020).
6. J. Kuang, X. Zheng, F. Huang, S. Wang, M. Li, M. Zhao, C. Sang, K. Ge, Y. Li, J. Li, C. Rajani, X. Ma, S. Zhou, A. Zhao, and W. Jia, Anti-adipogenic effect of theabrownin is mediated by bile acid alternative synthesis via gut microbiota remodeling, *Metabolites*, **10**(11), 475 (2020).
7. F. Huang, X. Zheng, X. Ma, R. Jiang, W. Zhou, S. Zhou, Y. Zhang, S. Lei, S. Wang, J. Kuang, X. Han, M. Wei, Y. You, M. Li, Y. Li, D. Liang, J. Liu, T. Chen, C. Yan, R. Wei, C. Rajani, C. Shen, G. Xie, Z. Bian, H. Li, A. Zhao, and W. Jia, Theabrownin from Pu-erh tea attenuates hypercholesterolemia via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism, *Nat. Commun.*, **10**(1), 4971 (2019).
8. M. Franks, P. Lawrence, A. Abbaspourrad, and R. Dando, The influence of water composition on flavor and nutrient extraction in green and black tea, *Nutrients*, **11**(1) 80 (2019).
9. Q. Wang, C. Peng, and J. Gong, Effects of enzymatic action on the formation of theabrownin during solid state fermentation of Pu-erh tea, *J Sci Food Agric.,* **91**(13), 2412 (2011).
10. I. Gulcin, Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview, *Arch Toxicol.,* **94**(3), 651 (2020).
11. M. Kennedy Crispin, J. Fuentes-Duculan, N. Gulati, L. M. Johnson-Huang, T. Lentini, M. Sullivan-Whalen, P. Gilleaudeau, I. Cueto, M. Suarez-Farinas, M. A. Lowes,

and J. G. Krueger, Gene profiling of narrowband UVB-induced skin injury defines cellular and molecular innate immune responses, *J Invest Dermatol*., **133**(3), 692 (2013).
12. M. Bickel, The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation, *J Periodontol*., **64**(5), 456 (1993).
13. M. L. Paz, D. H. G. Maglio, F. S. Weill, J. Bustamante, and J. Leoni, Mitochondrial dysfunction and cellular stress progression after ultraviolet B irradiation in human keratinocytes, *Photodermatol Photoimmunol Photomed*., **24**(3), 115 (2008).