

文章编号:1673-1689(2006)02-0107-08

茶叶多糖的研究进展

谢明勇, 聂少平

(南昌大学食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 330047)

摘要: 茶叶多糖是一种复合杂多糖, 具有许多生物活性。作者系统地介绍了茶叶多糖的提取、分离、纯化、纯度鉴定及相对分子质量测定的方法, 以及其含量和组成、理化性质、化学结构及空间构象、生物活性等方面的研究进展, 并对上述方法及研究进展进行了分析和评述。

关键词: 茶叶多糖; 提取纯化; 含量; 组成; 结构; 生物活性

中图分类号: Q 53

文献标识码: A

A Review of the Research Progress on Tea Polysaccharide

XIE Ming-yong, NIE Shao-ping

(The Key Laboratory of Food Science of Ministry of Education, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: Tea polysaccharide is a kind of complex heteroglycan, which has various bioactivities. In this paper, different methods of extraction, separation, purification, identification of purity and determination of molecular weight of tea polysaccharide were reviewed. The research progress on the content, structure, conformation analysis and bioactivities of tea polysaccharide was also summarized.

Key words: tea polysaccharide; extraction and purification; content; component; structure; bioactivity

糖类是自然界最丰富的有机化合物,也是重要的生物高分子化合物。多糖及其复合物分布广泛,具有多种多样的生物学功能^[1,2]。茶叶多糖是从茶叶中提取出来的具有多种生物活性且结构复杂的杂多糖或其复合物。茶叶起源于中国,是在中国古代文献中被提及的最早的天然药物之一。茶叶可以作为一些有毒草药的解毒剂,在中国和日本民间也有常饮用粗老茶来治疗糖尿病的经验^[3]。近年来,文献报道了茶叶具有广泛的药理和营养价值^[4-6],其生物活性与茶叶中所含的活性成分密切相关。茶多酚、茶色素、咖啡碱等生理活性成分已研究较多,而茶叶多糖的研究则相对较少^[4,7-8]。随

着对多糖研究的日益深入,特别是发现茶叶中降血糖的有效成分是水溶性组分中的多糖复合物以来,茶叶多糖的研究就引起了人们的极大关注,国内外学者对其进行了较为广泛的研究^[9]。作者结合课题的研究,对国内外茶叶多糖研究进展进行较为全面系统地概述。

1 茶叶多糖的提取、分离与纯化

要想获得茶多糖纯品,一般都要经过以下步骤:(1)预处理,对茶叶预处理以利于提取并增加茶叶多糖的提取得率;(2)提取,通过不同方法将茶叶

收稿日期:2006-01-10; 修回日期:2006-02-25.

基金项目:国家自然科学基金项目(20462005)及江西省主要学科科学技术带头人培养计划项目.

作者简介:谢明勇(1957-),男,江西宜春人,教授,工学博士,博士研究生导师.

多糖从预处理后的茶叶中提取出来;(3)分离,采用不同处理手段将大量非多糖类物质除去;(4)纯化,采用各种不同方法将多糖均一性组分纯化出来。

1.1 预处理

1.1.1 粉碎 茶叶粉碎后与溶媒的接触面增大,提取率提高。一般用植物粉碎机将茶叶粉碎至40~50目,太细会使过滤困难^[10]。

1.1.2 脱脂 茶叶细胞外有脂质包围,最好除去表面脂肪以提高提取率。可使用的脱脂溶剂为甲醇^[11]、乙醇^[12]、乙醇-乙醚混合液(1:1)^[13],水浴加热搅拌1h或回流提取1~3h。

1.1.3 去除小分子杂质 单糖、双糖、低聚糖、甙类、生物碱、茶多酚、氨基酸及醇溶性蛋白等物质会干扰多糖的测定,在提取过程中必须除去,一般采用体积分数80%乙醇回流或室温浸泡除去^[14]。

1.2 提取

文献报道了大量的茶叶多糖的提取方法^[15~28],主要包括常冷水浸提法,温水浸提法,沸水浸提法,稀酸提取法,稀碱提取法等。

1.3 分离

提取出来的茶叶多糖经过滤、浓缩后要进行分离,常用方法有有机溶剂沉淀法、季铵盐沉淀法、树脂法、超滤法、透析法等。

1.3.1 有机溶剂沉淀法 茶叶多糖在有机溶剂中的溶解度小,可用乙醇、丙酮、乙醚等有机溶剂将其沉淀出来。同时可采用这些有机溶剂反复交替洗涤除去包夹在其中的酚类、酯类、色素及蛋白质等游离组分^[14,15,29]。

1.3.2 季铵盐沉淀法 一些季铵盐如溴代十六烷基三甲铵(CTAB)以及十六烷基盐酸吡啶(CPC)等能与茶叶多糖在酸性、中性或弱碱性条件下形成不溶于水的络合物,从而达到将其与其他组分分离的目的^[12,29-30]。

1.3.3 透析法 茶叶多糖是一类大分子物质,通常可以采用透析袋在流动的自来水中让小分子物质自动透析除去,从而达到分离小分子物质的目的^[14]。

1.3.4 树脂法 茶叶多糖中的其它杂质可以通过树脂除去,该方法容易放大,适用于工业化生产^[31]。

1.3.5 超滤法 茶叶多糖的相对分子质量范围在3万到十几万之间,可以选用相应的超滤膜对其进行截留而达到与其它相对分子质量差异明显的分子分离开来。采用超滤技术分离茶多糖与传统工艺相比还可以起到浓缩作用,且浓缩条件温和,生物活性不易降低,浓缩的同时兼有去除小分子杂质

和色素的透析作用,超滤还具有多糖损失小、超滤速度快、节约能源等优点,易于工业化生产^[26,29]。

1.4 纯化

通过提取分离等方法得到的茶叶多糖中可能还有与其分子质量相差不大的水溶性物质,或者存在未除净的色素、脂类、低聚糖等杂质,为了得到茶叶多糖的均一性组分,必须对其进行纯化。纯化的方法有很多,但是一种纯化方法往往只能除去其中的一种或几种杂质,不能一次性得到茶叶多糖均一性组分,而利用几种纯化方法结合可以达到较好的纯化效果。

1.4.1 脱色 茶叶富含茶多酚,而茶多酚极易氧化变色,干燥后颜色更深,故需脱色。茶叶复合多糖脱色主要是用 H_2O_2 氧化^[9,13,30]。虽然活性炭可脱色,但因其吸附多糖,一般不用,通常用弱碱性树脂DEAE纤维素吸附色素。王元凤等^[32]研究了7种离子交换树脂和吸附树脂对茶叶多糖溶液中色素脱除的影响,发现采用树脂D315在pH为4.5、温度为55℃的条件下,茶叶多糖溶液的脱色率可达到89.82%,多糖保留率为64.86%,蛋白质去除率为93.95%。

1.4.2 去除蛋白质 大多用Sevag法除茶叶多糖中的蛋白质^[12-13,30],该方法根据蛋白质在氯仿等有机溶剂中变性的特点,使蛋白质变性成胶状后离心除去。Sevag法条件温和,可避免多糖的降解,缺点是一次只能除去少量蛋白质,一般需4~5次方能除尽,且多糖常因多次除蛋白而有一定的损失。三氟三氯乙酸法效率较高,但因其易挥发,不宜大量应用^[30]。

1.4.3 分部沉淀 不同多糖在不同体积分数的低级醇或酮中具有不同溶解度,按比例由小到大加入这些醇或酮(常用甲醇、乙醇和丙酮)分部沉淀。黄桂宽等^[12]用体积分数40%和60%的乙醇分级沉淀,干燥后得到浅黄色与灰白色的茶叶多糖TP-1和TP-2,得率分别为2.8%和0.7%,总糖质量分数分别为48.2%和57.7%。TP-1为中性杂多糖,此方法适宜于分离各种溶解度相差较大的多糖。

1.4.4 季铵盐沉淀 长链季铵盐能与酸性多糖成盐形成水不溶性化合物,可分离酸性及中性多糖。常用的季铵盐是十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)及其碱(CTA-OH)和十六烷基吡啶(CPC)。必须严格控制多糖混合物的pH值小于8及无硼砂存在,否则中性多糖也会沉淀出来。一般酸性强或相对分子质量大的酸性多糖先沉淀出来。李布青等^[30]用CTAB沉淀茶叶水提液中的酸性多糖,然后将沉

淀溶于质量分数为20%的NaCl溶液中透析。杨其林等^[17]以信阳毛尖为研究对象,以水为溶剂,在一定的条件下提取茶叶多糖。提取液用CTAB进行沉淀,通过正交试验确定了CTAB沉淀法提取茶叶多糖的最佳工艺条件。

1.4.5 超滤 不同的超滤膜具有允许不同相对分子质量和形状的物质通过的性质,多糖溶液通过各种已知的超滤膜就能达到分离。利用超滤技术浓缩水浸提液,具有条件温和、生物活性成分不易失活、损失小、浓缩的同时兼有去除小分子杂质和色素、超滤速度快、工艺路径短、节约能源等优点。刘冬等^[26]采用MWCO 100 000的超滤膜在50℃、0.4 MPa条件下提取茶叶多糖。

1.4.6 纤维素阴离子交换剂柱层析 常用的交换剂为DEAE-纤维素。此法适合于分离各种酸性、中性多糖和粘多糖。吸附力一般随多糖分子中酸性基团的增加而增加。李布青等^[30]将脱蛋白后的茶多糖用DEAE-纤维素柱层析,0.1 mol/L的NaOH溶液洗脱,获得较纯的茶多糖。许新德等^[33]将粗老绿茶过DEAE-纤维素柱,得一中性多糖及3个酸性多糖。

1.4.7 凝胶柱层析 凝胶柱层析是根据多糖分子的大小和形状不同进行分离。常用的凝胶有葡聚糖凝胶Sephadex G-(50~200)及琼脂糖凝胶(Sepharose)。洗脱液为各种浓度的盐溶液及缓冲液,一般用0.1 mol/L的NaCl溶液。王丁刚等^[11]将20 mg茶叶多糖粗品用少量0.1 mol/L的NaCl溶液溶解,经Sephadex G-100柱层析(D 20 mm×430 mm),用0.1 mol/L的NaCl溶液洗脱,苯酚-硫酸法进行检测,收集糖反应阳性高峰部分,每管收集3 mL,醇沉,干燥,即得纯化的茶叶多糖。汪东风等^[34]将20 mg粗多糖溶于6.0 mL水,过Sephadex G-200柱(D18 mm×830 mm),上样量1.5 mL,体积流量10 mL/h,0.1 mol/L的NaCl溶液洗脱,分部收集,蒽酮-硫酸法跟踪检测,收集含糖部分。周鹏等^[35]用Sephadex G100凝胶柱层析纯化,0.1 mol/L的NaCl溶液洗脱,得到单一多糖组分。

2 茶叶多糖的纯度鉴定及相对分子质量测定

由于多糖类复合物等生物大分子的理化性质、生物活性与其相对分子质量有很大关系,因此,在多糖类复合物的研究及其产品质量控制中,相对分子质量是一个重要指标^[1,35]。要测定多糖类复合物

的相对分子质量,首先要求鉴定其纯度,但是茶叶多糖是高分子化合物,其纯度不能用小分子化合物的标准判断。茶叶多糖的纯品实质上是一定相对分子质量范围的相对均一组分,它的纯度只代表相似链长的平均分布。

目前,国内外多糖类复合物纯度的鉴定方法主要有:比旋度法,超离心法,电泳法和凝胶色谱法^[1,37-38]。比旋度法是利用糖的结构具有旋光性,比旋度的值不改变则为纯品,但比旋度法受溶液的温度、浓度特别是微量成分的改变而影响较大,一般结果具有较大偏差,只能作参考;超离心法是利用相同大小的分子具有相同的相对分子质量,在离心力场所受离心力相同的原理,分离均一的分子,但超离心法不能完全将溶液中相对分子质量不同的分子分开;电泳法是根据糖分子的大小所带电荷数和形状不同,在电场的作用下,在固体胶上迁移率不同,与纯标样的迁移率相比较而确定;凝胶色谱法又分为常压色谱和高压色谱两类,高压色谱法即高效液相凝胶渗透色谱法(HPGPC),它具有快速、高分辨和重现性好的优点,因此最为常用。在大多数文献^[39,40]中茶叶多糖的纯度鉴定一般都是采用高效凝胶液相色谱和示差检测器检测的方法。也有利用茶叶多糖蛋白在280 nm处有吸收,通过紫外检测器来检测茶叶多糖的纯度。

多糖的相对分子质量只代表相似链长的平均分布,同一多糖,其量均相对分子质量(M_w)和数均相对分子质量(M_n)也不同,通常文献报道的相对分子质量是量均相对分子质量^[38]。目前测定多糖相对分子质量的方法也很多^[38],主要有:渗透压法^[42]、蒸汽压法^[42]、端基法^[43]、光散射法^[37]、粘度法^[37]、超过滤法^[44]、聚丙烯酰胺凝胶电泳法^[1]、凝胶过滤法^[38]、高效液相凝胶渗透色谱法^[45-46]等。由于多糖的微观不均一性,采用不同的方法测定同一多糖样品的相对分子质量,其结果往往存在一定的差异。用渗透压法、蒸汽压渗透计法和端基法测得的相对分子质量属于数均摩尔质量(M_n),用光散射法测得的为重均摩尔质量(M_w)。而用粘度法测得的相对分子质量为粘均摩尔质量(M_v)。高效凝胶渗透色谱法测定多糖类复合物的相对分子质量具有快速、高分辨和重现性好的优点,在国内外已得到广泛应用。在茶叶多糖相对分子质量的测定中,汪东风等^[34,40]采用凝胶过滤法(Sephadex G-200)测定从粗老茶中提取出的茶叶多糖的相对分子质量为10 700,而用高效凝胶渗透色谱法测得则为11 000;陈海霞等^[47,48]利用高效凝胶渗透色谱法

测定富硒茶中提取出的茶叶多糖的重均相对分子质量(M_w)为117 000。周鹏等^[41]采用高效液相色谱-电喷雾质谱法(HPLC-ESI-MS)测定了从江西分宜粗老绿茶中分离纯化出的茶叶多糖的相对分子质量为51 500^[39]。

3 茶叶多糖的质量分数

准确测定茶多糖质量分数对选择原料和评价提取、纯化工艺非常重要。目前国内外快速测定多糖含量主要有蒽酮-硫酸法和苯酚-硫酸法,均以葡萄糖为标准。罗一鸣等^[49]采用苯酚-硫酸法测定13种从湖南、广西、云南等不同茶厂获得的茶叶中多糖质量分数在2.75%~4.22%之间;陈建国等^[50]采用苯酚-硫酸法测定杭州近郊的粗老茶中茶叶多糖质量分数在1.29%~4.52%之间;汪东风等^[51]采用蒽酮-硫酸法测定同一品种的红茶、绿茶和乌龙茶的多糖质量分数分别为0.85%±0.01%,1.41%±0.06%和2.63%±0.27%。傅博强等^[14]认为由于茶叶多糖为杂多糖,而不同的单糖与蒽酮-硫酸试剂显色情况不同,不同单糖标准曲线的斜率不同,因而仅采用葡萄糖做标准的测定结果,会存在一定的误差,结果比实际含量偏低,从而提出以校正因子修正测定茶叶多糖质量分数。由于苯酚-硫酸法受颜色的影响较大,而茶叶多糖在提取和初步纯化过程中伴有大量的茶色素生成,因此多采用蒽酮-硫酸法。实际上,这些方法测定茶叶多糖含量都是测定总的多糖类复合物的含量,并未能对某个具有确定功效的多糖组分进行测定,聂少平等^[39]使用经Sephadex G100凝胶柱分离、纯化并用高效液相凝胶渗透色谱法鉴定其纯度的茶叶多糖提取物作为标准品,采用高效液相凝胶渗透色谱法测定了江西分宜、婺源、上犹等地的绿茶和红茶中该多糖组分的含量,发现其质量分数在0.61%~1.27%之间。一般而言,茶叶多糖含量受到产地、品种、级别影响,不论是红茶还是绿茶,等级越低,原料越粗老,茶叶多糖的含量越高。

4 茶叶多糖的理化性质及组成

茶叶多糖中除了有单糖外,还结合有糖醛酸,缀合有蛋白质、无机元素等配体。李布青等^[30,52]发现粗茶多糖虽经多种方法反复脱蛋白,仍可检测到蛋白质,且含量基本不变。对茶多糖凝胶电泳,染色后蛋白和多糖谱带在同一位置。说明茶多糖是一种糖蛋白质。降血糖实验表明,经蛋白变性剂TCA、乙醇处理后的茶多糖,其降血糖作用有不同

程度降低。上述种种结果表明,残留蛋白与多糖呈化学结合,即茶多糖可能为酸性糖蛋白,这与其在高温下易失活是相吻合的。周鹏等^[36]利用Sevag法脱离蛋白、乙醇沉淀、二次透析等手段得到了初步纯化的茶叶粗多糖。该粗多糖经Sephadex G100凝胶柱层析纯化,0.1 mol/L的NaCl溶液洗脱,获得一较大茶叶多糖组分,实验证明该组分能溶于水,更易溶于热水,不溶于乙醇、丙酮、氯仿等有机溶剂,硫酸咔唑反应呈阳性,表明其为酸性多糖,含有糖醛酸。陈海霞等^[53]采用高效液相色谱法测定了从绿茶中提取出的不同茶叶多糖组分的糖醛酸质量分数分别为30.0%、47.6%、51.8%。汪东风等^[54]还证实茶叶中存在稀土多糖复合物,在可溶于热水的稀土元素中,约8%以稀土多糖状态存在。稀土茶叶多糖中约有1 μg/g的稀土元素,其中以La、Ce、Nd、Pr、Y为主,这5种元素约占其总质量的90%。

对于茶多糖的单糖组成,各种报道不尽一致。清水岑夫^[9]对番茶研究发现,多糖由葡萄糖、阿拉伯糖、核糖组成,相对分子质量约为40 000。Mori M.等^[55]得到的具有降血糖效果的茶叶复合多糖的组成为L-阿拉伯糖、D-核糖、D-葡萄糖,摩尔比为5.1:4.7:1.7,平均相对分子质量为40 000。Takeo C.等^[56]报道,从绿茶中提取的具有降糖作用的多糖为半乳糖聚糖。王丁刚等^[11]从屯溪绿茶中提取的茶多糖由L-岩藻糖、D-甘露糖、D-葡萄糖、D-半乳糖和阿拉伯糖组成,摩尔比为0.23:1.04:0.62:2.43:1.00,相对分子质量为91 000。汪东风等^[34,40,57]对经SephadexG-200柱纯化的茶多糖的多糖部分进行了分析,证明其是由阿拉伯糖、木糖、岩藻糖、葡萄糖、半乳糖组成的杂多糖,其单糖摩尔比为5.52:2.21:6.08:44.20:41.99,相对分子质量为107 000,除此之外,还发现有鼠李糖存在。陈海霞等^[47]对湖北绿茶研究发现,单糖组成主要为阿拉伯糖、核糖、木糖、葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸,其摩尔比为1.00:0.77:2.65:0.88:0.42:2.13。周鹏等^[58-59]研究江西婺源绿茶发现其单糖组成是鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖。不但单糖的组成不同,对于其中氨基酸的组成也报道不一致^[42,52,57]。茶叶原料不同,构成茶叶多糖的单糖、氨基酸等单位的种类及组成比例均存在较大差别。

5 茶叶多糖的结构

茶叶多糖是一种杂多糖复合物,由于组成茶叶

多糖的糖链中单糖,甚至还有糖醛酸的种类、连接位置、糖苷键构型和糖环类型的不同以及聚糖链与配体蛋白之间以N-糖肽键或O-糖肽键相连,使得茶叶多糖的结构十分复杂,现有研究并不深入。周鹏等^[58]通过高碘酸氧化、Smith降解反应和部分酸水解反应结合GC-MS检测,并根据通常 α 型糖苷C1质子的 δ 会超过 5×10^6 ,而 β 型则小于 5×10^6 的特性,利用¹H-NMR探讨多糖结构中糖苷键构型。研究发现,由江西婺源粗老绿茶中提取得到的茶叶多糖的一级结构为:主链中由鼠李糖、葡萄糖、半乳糖构成的单元应为其骨架结构(基本结构),这3种单糖都有可能连接支链,不接支链时它们的连接方式为 $\beta 1 \rightarrow 3$ 。支链主要由阿拉伯糖构成,连接方式可能有 $\beta 1 \rightarrow 2$, $\beta 1 \rightarrow 3$, $\beta 2 \rightarrow 3$ 等3种。木糖以 $\beta 1 \rightarrow$ 的连接方式存在于主链和支链的末端;同时与圆二色谱、紫外光谱等其他分析方法相结合,对茶叶多糖在溶液中的构象进行探讨,发现茶叶多糖在水溶液中以有序的螺旋构象存在。陈海霞等^[60]通过圆二色谱与紫外光谱相结合研究了茶叶多糖溶液构象及其在不同条件下的转换,发现天然茶叶多糖是部分有序的,圆二色谱值与紫外吸收随着pH值、温度、离子条件的改变而改变,也伴随着其有序和无序的转换。特别是高温、高pH值或低pH值对其构象有极大影响,结果显示外部因素对茶叶多糖在溶液中构象的稳定性有重大影响。倪德江等^[61]采用圆二色谱、红外光谱和紫外光谱相结合研究了乌龙茶叶多糖的光谱特性,采用原子力显微镜、激光扫描共聚焦显微镜、粒度分布仪及扫描电镜等方法观察了其形貌特征,利用综合热分析仪研究了其热特性,发现乌龙茶叶多糖在溶液中呈直径 $0.2 \sim 0.5 \mu\text{m}$ 、高度 $0.3 \sim 0.6 \mu\text{m}$ 的短棒形不均一聚集体,并具有强烈的荧光,溶液的pH值显著影响其聚集行为。pH值、离子强度和络合物等环境因素的改变,均导致多糖立体构象和非对称性的变化,在SEM低倍镜下呈折叠卷曲形貌,在高倍镜下呈现平整的图像;在加热过程中,多糖有3次大的质量损失过程,出现3次吸热峰和放热峰,提示茶叶经过半发酵处理后,多糖组成、相对分子质量分布以及分子间相互作用可引起微观形貌、链构象和聚集行为的变化。

6 茶叶多糖的生物活性

6.1 降血糖作用

在中国及日本民间就有常用粗老茶治疗糖尿病的案例,由于茶叶与糖尿病治疗的关系,其降血

糖作用研究较为深入。蔡鸿恩^[3]用粗老茶治糖尿病,临床观察其有效率达70%。李布青等^[30]通过比较发现用丙酮沉淀获得的茶叶多糖降血糖作用最佳,试验证明茶叶多糖在降低四氧嘧啶高血糖模型小鼠的血糖浓度的同时肝糖原大量增加,说明茶叶多糖对糖代谢的影响与胰岛素类似。汪东风等^[51]给小白鼠ip茶叶多糖,发现12h后血糖含量比对照组降低12%,24h后血糖含量下降6.82%。周杰等^[62]也报道茶叶多糖有明显降低血糖的作用。江和源等^[63]以小鼠为实验动物,针对茶叶多糖的急性毒理,对正常小鼠和四氧嘧啶致糖尿病小鼠血糖值的影响进行研究,发现茶叶多糖的半数致死剂量为4.19g/kg,能抑制小鼠口服淀粉和葡萄糖后1.5h内血糖的升高,能抑制四氧嘧啶糖尿病小鼠血糖的升高,能改善小鼠的糖耐量,具有降血糖功能。倪德江等将湖北福鼎大白茶、福建水仙以及云南大叶种鲜叶,分别制成绿茶、乌龙茶和红茶研究发现在所设定的低、中、高剂量下,各种茶叶多糖对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠都有显著的降血糖效果,其中在低、中等剂量下,乌龙茶、红茶多糖的降低血糖作用明显优于绿茶多糖,但在高剂量下差异不明显;不同产地、品种和茶类的茶叶多糖对四氧嘧啶诱导的糖尿病小鼠降血糖效果均不相同,其中以湖北产茶叶多糖降血糖效果最好,其次是福建茶叶,再次是云南茶叶。由此可见不同产地、品种、加工工艺对茶叶多糖降血糖效果都有显著性影响^[64~66]。

6.2 降血脂及抗动脉粥样硬化作用

王丁刚等^[11]报道,腹腔注射25mg/kg和50mg/kg茶叶多糖,可使正常小鼠血清总胆固醇分别下降18%和24%;口服50mg/kg和100mg/kg,可明显对抗小鼠实验性高胆固醇血症的形成,血清总胆固醇分别下降34%和43%,高脂血症大鼠口服茶多糖(22.5mg/kg)10d和(45mg/kg)10d,可使高脂血症大鼠血清总胆固醇分别下降12%和17%,甘油三酯降低15%和23%,低密度脂蛋白胆固醇分别下降6%和29%,高密度脂蛋白胆固醇均增加26%,这说明茶叶多糖能降低血浆总胆固醇,对抗实验性高胆固醇血症的形成,可使高血脂症的血浆总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白及中性脂下降,高密度脂蛋白上升。周杰等^[62]报道ip50mg/kg剂量的茶多糖后,正常小鼠的血清胆固醇和血清甘油三酯只是略有下降,但有升高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的效果,12h后上升7.1%,24h后上升15%,而高密度脂蛋白胆固醇的升高可减少动脉粥样硬化的发生。朱力军等^[67]利用亲合层析法分

离提纯了牛奶中的脂蛋白酶(LPL),研究了茶叶多糖对该酶活力的影响。实验结果表明,1 mL反应体系中,160 μg 的茶叶多糖能使LPL活力提高7%,并能降低该酶对抑制剂如NaCl的敏感性,与肝素有相似的作用,能同LPL结合,促进动脉壁的LPL入血而起到抗动脉粥样硬化的作用。

6.3 抗凝血及抗血栓作用

王淑如等^[68]报道,茶叶多糖在体内、体外均可显著延长凝血时间。灌胃给药50 mg/kg,小鼠凝血时间可延长319%;灌胃给药37 mg/kg,家兔凝血酶元时间延长40%。在混合人血浆中加入不同量的茶叶多糖,作复钙时间测定,结果表明0.05 mg茶叶多糖即可延长复钙时间,0.4 mg可完全抑制血浆凝固。用Chandler法形成的血栓,灌胃给药37 mg/kg,可抑制家兔实验性血栓形成,血栓形成时间明显延长,血栓长度缩短,血小板数减少20%,血小板粘附率降低43%,全血粘度及血浆粘度分别降低16%和11%,红细胞压积降低20%,血沉增加75%。灌胃给药40 mg/kg,豚鼠纤维蛋白溶解酶活力增加77%。实验表明,茶叶多糖明显延长血栓形成时间,缩短血栓长度,从而起到抗血栓的药理作用。

6.4 降血压、耐缺氧及增加冠状动脉血流量作用

王丁刚^[69]等报道,茶叶多糖22.5 mg/kg,十二指肠给药后可使麻醉SD大鼠血压下降9.60 kPa,心率减慢,显示其具有降血压及减慢心率作用。腹腔注射50 mg/kg和100 mg/kg茶叶多糖,正常小鼠在常压下存活时间分别比对照组延长59%和66%($P < 0.01$),显示了其耐缺氧作用。对离体豚鼠心脏插管侧支注入1.0 mg/kg茶叶多糖后其心脏冠脉流量增加37%($P < 0.01$),表明其有增加冠状动脉血流量的作用。

6.5 增强机体免疫功能作用

汪东风等^[52,70]研究发现对小鼠皮下注射茶叶多糖,然后腹腔注射羊红细胞免疫,6 d后静脉取血,结果表明,茶叶多糖质量浓度在3.0~10.0 mg/mL范围内具有以血清凝集素为指标的体液免疫增强作用,其中以质量浓度3.0 mg/mL效果最佳,与对照相比差异达 $P < 0.001$ 水平;同时发现茶叶多糖还具有促进单核巨噬细胞系统吞噬功能、增强机体自我保护能力,也发现用不同方法制备的茶叶多糖对佐剂性关节炎(AA)大鼠引起的脾淋巴细胞转化低下和白细胞介素-2分泌过低均有恢复作用,而对白细胞介素-1分泌过高则有抑制作用,对正常小鼠机体免疫有增强作用。周杰等^[62]研究发现,连续

口服茶叶多糖14 d后,处理组小鼠的脾脏指数、胸腺指数分别增加5.0%和5.2%。江秀丽等^[71]研究几种不同途径提取的茶叶多糖对佐剂性关节炎大鼠免疫指标的影响发现,几种茶叶多糖都有提高佐剂性关节炎大鼠过低的脾淋巴细胞增殖反应和IL-2的趋势,其中 P_2 途径提取的茶叶多糖对脾淋巴细胞增殖反应和IL-2具有明显的促进作用($P < 0.05$);而对佐剂性关节炎大鼠腹腔巨噬细胞产生过高的IL-1,几种不同途径提取的茶叶多糖均有降低趋势,以 P_2 茶叶多糖的作用最显著($P < 0.05$)。杨敏等^[72]研究粗老茶中茶叶多糖对小鼠免疫的影响时发现,茶叶多糖质量浓度在3.0~10.0 g/L范围内具有以血清碳粒廓清、凝集素为指标免疫增强作用;DTH为检测T淋巴细胞功能的有效方法,不同茶叶多糖质量浓度的(1.5~10.0 g/L)均有显著性差异,证明茶叶多糖能够提高机体的细胞免疫功能。杨光等^[73]分别用羊红细胞和卵清蛋白为抗原给小鼠注射后,灌服茶叶多糖并设对照组,检测相应抗体生成水平和血清中IL-2,IFN- γ 生成水平时发现给药组SRBC抗体生成水平和卵清抗体生成水平,IL-2,IFN- γ 激发水平均显著高于对照组($P < 0.05$),这提示茶叶多糖对正常小鼠机体免疫有增强作用。

6.6 抗癌作用

刘立军等^[74]应用一组短期细胞学检测试验,即V79细胞胞质阻滞法微核试验;V79细胞代谢协作试验;Hela细胞软琼脂生长试验筛选茶叶中的防癌有效成份:茶色素、咖啡碱、茶多糖、茶多酚及配比、混合茶等时发现,以上6种茶叶有效成份对肿瘤发生的启动、促癌和增值阶段均有不同程度地抑制作用。祁禄等^[75]通过体外检测方法,对茶叶中多组分及单体诱导代谢解毒酶活性进行了比较,茶多糖剂量为2 mg/L和10 mg/L时,可提高Hep G₂细胞QR活性18.0%、26.5%;进一步研究表明,有茶叶多糖存在的混合成分质量浓度在2 mg/L、10 mg/L时,其酶活性提高率分别达74.6%和60.6%,均高于任何单体成分。由此可见,茶叶多糖在防癌作用方面有一定的效果。

6.7 抗氧化作用

邓俊林等^[76]研究了茶叶多糖对小白鼠红细胞内超氧化物歧化酶SOD活性的影响发现,茶叶多糖对小白鼠红细胞内SOD的活性有明显增强作用。陈海霞等^[48]研究了茶叶多糖对活性氧自由基的清除作用,发现在D-脱氧核糖-铁体系中,茶叶多糖剂量为8.5~170 mg/L时,对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率为

5.5%~74.7%,证明富硒茶叶中茶多糖对羟自由基有清除作用。倪德江等^[77]研究乌龙茶多糖对糖尿病大鼠肝肾抗氧化功能和组织形态变化的影响时,发现糖尿病大鼠灌胃乌龙茶多糖 4 周后,其肝肾 SOD 和 GSH-PX 活性明显提高,MDA 含量显著下降,抗氧化能力增强。聂少平等^[78]从婺源粗老绿茶中提取纯化出了茶叶多糖,研究了它对超氧自由基、DPPH 自由基的清除作用,以及对 β -胡萝卜素-亚油酸氧化体系的抑制作用发现茶叶多糖对超氧自由基、DPPH 自由基有较好的清除作用,而对 β -胡萝卜素-亚油酸氧化体系也有较明显的抑制作用。

6.8 防辐射作用

早在 20 世纪 70 年代,中国农业科学院茶叶研究所和天津卫生防疫站用茶多糖粗制品做了小白鼠急性放射病防治实验,小白鼠皮下注射给药后照

射⁶⁰Co,照射剂量为 766~840 伦(R),结果表明,茶多糖的防辐射效果显著,小白鼠存活率提高 30%^[79]。

7 展 望

茶多糖作为茶叶中茶多酚后极具开发利用价值的又一种生物活性物质,其生产工艺已有大量研究,但是分析鉴定还有待进一步完善,目前虽然有一些一级结构的研究,但还不够全面和深入,同时关于多糖的高级结构以及高级结构是如何影响生物活性的研究还不清楚。随着生化分离技术和现代分析仪器的完善,茶多糖的一级结构和空间构象与生物活性关系的详细研究将是今后茶叶多糖研究领域的热点。

参考文献:

- [1] Ajit Varki, Richard Cummings, Jeffrey Esko. Essentials of Glycobiology[M]. 北京:清华大学出版社, 2002.
- [2] 周鹏,谢明勇,傅博强. 多糖的结构研究[J]. 南昌大学学报(理科版), 2001, 25(2): 197-204.
- [3] 蔡鸿恩. 中西医结合茶治疗糖尿病初步疗效观察报告[J]. 茶叶通报, 1979, 11(2): 58-59.
- [4] 严鸿德,汪东风,王泽农,等. 茶叶深加工技术[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1998.
- [5] Richard Béliveau, Denis Gingras. Green tea: prevention and treatment of cancer by nutraceuticals[J]. The Lancet, 2004, 364: 1021-1022.
- [6] Marcel W L, Koo Chi H. Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system[J]. European Journal of Pharmacology, 2004, 500: 177-185.
- [7] Laura Bravo. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutrition significance[J]. Nutr Rev. 1998, 56(11): 317-333.
- [8] Isabella Dell'Aica, Massimo Don, Fiorella Tonello. Potent inhibitors of anthrax lethal factor from green tea[J]. EMBO Reports, 2004, 5(4): 418-422.
- [9] 清水岑夫. 探讨茶叶降血糖作用以从茶叶中制取糖尿病的药物[J]. 国外农学-茶叶, 1990, 3: 38-40.
- [10] 傅博强,谢明勇,周鹏. 茶叶多糖的提取纯化、组成及药理作用研究进展[J]. 南昌大学学报:理科版, 2001, 25(4): 358-364.
- [11] 王丁刚,王淑如. 茶叶多糖的分离、纯化、分析及降血脂作用[J]. 中国药科大学学报, 1991, 22(4): 225-228.
- [12] 黄桂宽,李毅. 广西绿茶多糖的分离与分析[J]. 中国茶叶, 1995, 3: 18-19.
- [13] 肖慧,王勇. 茶多糖的提取与纯化研究[J]. 茶叶通报, 1993, 71(4): 5-6.
- [14] 傅博强,谢明勇,聂少平等. 茶叶中多糖含量的测定[J]. 食品科学, 2001, 22(11): 69-73.
- [15] 邓国栋,郁建平. 茶叶多糖提取分离研究[J]. 西南农业大学学报, 2002, 24(6): 546-547, 550.
- [16] 高林瑞,周斌星. 茶多糖的研究与开发[J]. 世界农业, 2005, 315(7): 46-48.
- [17] 杨其林,刘钟栋,任健,等. 采用 CTAB 沉淀法提取茶多糖[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(10): 139-142.
- [18] 肖慧,王勇,黄美红. 茶多糖的提取与纯化研究[J]. 茶叶通报, 1993(4): 5-6.
- [19] 田光辉,孟春铃,刘存芳. 茶树中茶多糖含量测定及提取研究[J]. 汉中师范学院学报,自然科学, 2002, 20(2): 69-72.
- [20] 倪德江,谢笔钧,宋春和等. 茶多糖提取条件的研究[J]. 农业工程学报, 2003, 19(2): 176-179.
- [21] 库尔班·吾斯曼,陈爱香,王晓丹. 红茶、绿茶、茯茶的茶末中多糖的提取及含量测定[J]. 喀什师范学院学报, 2005, 26(3): 57-58.
- [22] 汪东风,卢福娣. 茶叶生物化学基础实验与研究技术[M]. 北京:科学技术文献出版社, 1997.
- [23] 周志,汪兴平,张家年. 茶多糖分离提取技术研究[J]. 食品与发酵工业, 2002, 28(3): 83-84.

- [24] 聂少平, 谢明勇, 罗珍. 微波技术提取茶多糖的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 103-107.
- [25] 傅博强, 谢明勇, 周鹏, 等. 纤维素酶法提取茶多糖[J]. 无锡轻工大学学报, 2002, 21(4): 362-366.
- [26] 刘冬, 李世敏. 茶多糖提取新工艺[J]. 深圳职业技术学院学报, 2004, 3(4): 19-22.
- [27] 王元凤, 金征宇. 酶法提取茶多糖工艺的研究[J]. 江苏农业科学, 2005, 3: 122-124.
- [28] 王黎明, 夏文水. 水法提取茶多糖工艺条件优化[J]. 食品科学, 2005, 26(5): 171-174.
- [29] 陈海霞, 谢笔钧. 茶多糖不同提取工艺的比较研究[J]. 食品工业科技, 2001, 22(2): 18-19.
- [30] 李布青, 张慧玲. 中低档绿茶中茶多糖的提取及降血糖作用[J]. 茶叶科学, 1996, (1): 67-72.
- [31] 陈海霞, 谢笔钧. 树脂法从茶叶中综合提取有效成分的研究[J]. 精细化工, 2000, 17(8): 493-495.
- [32] 王元凤, 金征宇. 茶多糖脱色的研究[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(1): 60-65.
- [33] 许新德, 高荫榆, 陈才水, 等. 茶叶多糖的纯化及组分研究[J]. 食品科学, 2000, 21(8): 13-15.
- [34] 汪东风, 谢晓凤, 王世林, 等. 茶多糖的组分及理化性质[J]. 茶叶科学, 1996, 16(1): 1-8.
- [35] 周鹏, 谢明勇, 傅博强, 等. 茶叶粗多糖的提取及纯化研究[J]. 食品科学, 2001, 22(11): 46-47.
- [36] 陈惠黎, 王克夷. 糖复合物的结构与功能[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1997.
- [37] 张惟杰. 糖复合物生化研究技术[M]. 杭州: 浙江大学出版社, 1999.
- [38] 方积年. 多糖的分离纯化及其纯度鉴别及相对分子质量测定[J]. 药学报, 1984, 19(10): 46-49.
- [39] Nie Shao-ping, Xie Ming-yong, Wang Yuan-xing. Preparation of tea glycoprotein and its application as a calibration standard for the quantification and molecular weight determination of tea glycoprotein in different tea samples by high-performance gel-permeation chromatography[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 383(4): 680-686.
- [40] Wang Dong-feng, Wang Cheng-hong, Li Jun. Components and activity of polysaccharide from coarse tea[J]. *J Agri and Food Chem*, 2001, 49(1): 507-510.
- [41] 周鹏, 谢明勇, 王远兴. 高效液相色谱-电喷雾质谱法用于茶多糖蛋白的纯度和相对相对分子质量的测定[J]. 色谱, 2004, 22(1): 27-29.
- [42] 虞志光. 高聚物相对分子质量及其分布的研究[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1984.
- [43] F. Smith, R. Montgometry. Methods of biochemical analysis[M]. New York: Interscience Pub Inc, 1981.
- [44] 刘国良. 超滤及其实践[J]. 医药工业, 1982, 23(8): 23-29.
- [45] 魏远安, 方积年. 用 HPLC 测定多糖的纯度及相对分子质量的研究[J]. 药学报, 1989, 24(7): 532-536.
- [46] Alsop RM, Vlachogiannis GJ. Determination of the molecular weight of clinical dextran by gel permeation chromatography on TSK PW type columns[J]. *Journal of Chromatography*, 1982, 246: 227-240.
- [47] Chen Hai-xia, Zhang Min, Xie Bi-jun. Components and antioxidant activity of polysaccharide conjugate from green tea[J]. *Food Chemistry*, 2005, 90(1-2): 17-21.
- [48] 陈海霞, 谢笔钧. 富硒茶叶中茶多糖的某些化学性质及对羟自由基的清除作用[J]. 卫生研究, 2001, 30(1): 58-59.
- [49] 罗一鸣, 周芝芹. 13 种茶叶中多糖的含量分析[J]. 湖南医科大学学报, 1996, 21(4): 298-300.
- [50] 陈建国, 胡欣, 梅松. 茶叶中茶多糖的提取和测定方法[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(4): 432-433.
- [51] 汪东风, 谢晓凤, 杨敏等. 粗老茶治糖尿病的药理成分分析[J]. 中草药, 1995, 26(5): 255-257.
- [52] 汪东风, 李俊, 王常红等. 茶叶多糖的组成及免疫活性研究[J]. 茶叶科学, 2000, 20(1): 45-50.
- [53] Chen Hai-xia, Zhang Min, Xie Bi-jun. Quantification of uronic acids in tea polysaccharide conjugates and their antioxidant properties[J]. *J Agric Food Chem*, 2004, 52(11): 3333-3336.
- [54] 汪东风, 赵贵文, 叶盛. 茶叶中稀土元素的组成及存在状态[J]. 茶叶科学, 1999, 19(1): 41-46.
- [55] Mori Masao, Morita Naomasa. Polysaccharides from tea for manufacture of hypoglycemics and health foods[P]. 日本专利: JP 63 308 001.
- [56] Takeo Chuichi, Kinugasa Hitoshi. Extraction of Hypoglycemics from tea[P]. 日本专利: JP 04 124 139, 1992-04-24.
- [57] Wang Dong-feng, Wang Chang-hong. Composition, characteristic and activity of rare earth element-bound polysaccharide from Tea[J]. *bioscience biotechnology and biochemistry*, 2001, 65(9): 1987-1992.
- [58] Zhou Peng, Xie Ming-yong, Nie Shao-ping, et al. Primary structure and configuration of tea polysaccharide[J]. *Science in China. Ser. C Life Sciences*, 2004, 47(5): 416-424.
- [59] 周鹏, 沈金灿, 谢明勇. GC-MS 法分析茶叶中提取物 TGP 的单糖组成及机理探讨[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2003, 42(2): 213-217.
- [60] Chen Hai-xia, Zhang Min, Xie Bi-jun. Spectroscopy Investigation on Conformational Transition of Tea Glycoconjugate from Green Tea[J]. *Chinese Journal of Chemistry*. 2004, 22(11): 1387-1390.

(下转第 119 页)

361—366.

- [7] Mongpraneet S, Abe T, Tsurusaki T. Accelerated drying of welsh onion by far infrared radiation under vacuum conditions[J]. *Journal of Food Engineering*, 2002,55:147—156.
- [8] Rosana G, Moreira. Impingement dring of foods using hot air and superheated steam[J]. *Journal of Food Engineering*, 2001,49:291—295.
- [9] Louise M Braud, Rosana G Moreira, M Elena Castell-Perez. Mathematical modeling of impingement drying of corn torillas[J]. *Jorunal of Food Engineering*, 2001,50: 121—128.
- [10] Shyam S Sablani, M Shafiur Rahman, Dawood S Al-Sadeiri. Equilibrium distribution data for osmotic drying of apple cubes in sugar-water solution[J]. *Journal of Food Engineering* 2002,52:193—199.
- [11] Ade-Omowaye B I O, Rastogi N K, Angersbach A, et al. Combined e. ects of pulsed electric. eld pre-treatment and partial osmotic dehydration on air drying[J]. *Journal of Food Engineering*,2003,60:89—98.
- [12] Petra Heinze, Heinz-Dirter Isengard. Determination of the water content in different sugar syrups by halogen drying[J]. *Food Control*, 2001(12):483—486.
- [13] Gulum Sumnu, Elif Turabi, Mecit Oztop. Drying of carrots in microwave and halogen lamp-microwave combination ovens [J]. *LWT*, 2005,38: 549—553.
- [14] Xianlin(Charlie) Tang, Michael J Pikal. Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals; practical advice[J]. *Pharmaceutical Research*, 2004,21(2).
- [15] Litvin S, Mannheim C H, Miltz J. Dehydration of carrots by a combination of freeze drying, microwave heating and air or vacuum drying[J]. *Journal of Food Engineering* 1998,36: 103—111.

(责任编辑:杨 萌)

(上接第 114 页)

- [61] 倪德江,陈玉琼,谢笔钧,等. 乌龙茶多糖 OTPS2-1 的光谱特性、形貌特征及热特性研究[J]. *高等学校化学学报*, 2004, 25(12):2263—2268.
- [62] 周杰,丁建平,王泽农,等. 茶多糖对小鼠血糖、血脂和免疫功能的影响[J]. *茶叶科学*, 1997,17(1):75—79.
- [63] 江和源,郑高利. 茶多糖降小鼠血糖功能的实验研究[J]. *食品科学*, 2004,25(6):166—169.
- [64] 倪德江,陈玉琼,谢笔钧,等. 绿茶、乌龙茶、红茶的茶多糖组成、抗氧化及降血糖作用研究[J]. *营养学报*, 2004,26(1): 57—60.
- [65] 陈建国,王茵,梅松等. 茶多糖降血糖、改善糖尿病症状作用的研究[J]. *营养学报*, 2003,25(3):253—255.
- [66] 王元凤,金征宇. 茶叶中多糖的分离及降血糖活性的研究[J]. *中草药*. 2005,36(10):1453—1457.
- [67] 朱力军,王淑如. 脂蛋白脂酶的制备及茶叶多糖对该酶的影响[J]. *中国药科大学学报*, 1992,23(5):287—289.
- [68] 王淑如,王丁刚. 茶叶多糖的抗凝血及抗血栓作用[J]. *中草药*, 1992,23(5):254—256.
- [69] 王丁刚,王淑如. 茶叶多糖心血管系统的部分药理作用[J]. *中草药*, 1991,2:4—5.
- [70] 汪东风,谢晓凤. 粗老茶中的多糖含量及其保健作用[J]. *茶叶科学*, 1994,14(2):73—74.
- [71] 江秀丽,金涌,李俊,等. 几种茶叶多糖对佐剂性关节炎大鼠免疫指标的影响[J]. *安徽医药*, 1998,2(2):15—17.
- [72] 杨敏,赵文华,王书奉,等. 粗老茶中的茶多糖对免疫功能的影响[J]. *时珍国医国药*, 1997,8(4):310—311.
- [73] 杨光,李发胜,罗红,等. 茶叶多糖对小鼠激发态免疫功能影响的研究[J]. *中医药学刊*, 2004,22(12):2294—2295.
- [74] 刘立军,韩驰,陈碧石. 茶叶防癌有效成份的短期细胞生物学筛选[J]. *卫生研究*, 1998,27(1):53—56.
- [75] 祁禄,韩驰. 茶叶防癌有效组分对 NAD(P)H-醌还原酶的诱导作用[J]. *卫生研究*, 1998,27(5):323—326.
- [76] 邓俊林,许平. 茶叶多糖对小白鼠红细胞内 SOD 活性的影响[J]. *渝州大学学报:自然科学版*, 1998,15(4):30—32.
- [77] 倪德江,陈玉琼,宋春和,等. 乌龙茶多糖对糖尿病大鼠肝肾抗氧化功能及组织形态的影响[J]. *茶叶科学*, 2003,23 (1):11—15.
- [78] 聂少平,谢明勇,罗珍. 茶叶多糖的抗氧化活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2005,17(5):549—552.
- [79] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.

(责任编辑:朱 明)