

# 铁观音茶末多糖的 分离纯化和抗氧化活性

吴金松,张 岩,陈晓培,耿广威,丁德刚,徐 军,王保营\*

(河南牧业经济学院,河南郑州 450046)

**摘要:**为实现废弃茶叶资源的再利用以及探究铁观音茶叶末活性多糖的抗氧化活性,以水提醇沉法提取铁观音茶末粗多糖,然后通过 DEAE-52 纤维素和 Sephadex-100 葡聚糖凝胶分级两次纯化,并进行纯度鉴定、红外光谱分析、分子量的测定以及体外抗氧化活性的测定等。结果表明,90% 的乙醇浓度得率最高,为 1.97%;两次分级纯化后得到 TPS-1A 和 TPS-4C,纯度分别为 96.2%、95.1%;红外光谱图谱表明两种多糖均为  $\beta$ -型糖苷键多糖;分子量分别为 15792、21722 Da;两种多糖组分抗氧化活性均随着组分浓度的增加而逐渐增强,当质量浓度为 1.2 mg/mL 时 TPS-1A 和 TPS-4C,对 DPPH 自由基的清除率分别为 95.41%、97.71%,羟自由基清除率分别为 93.39%、94.21%,总还原力测得吸光度值为 0.699、0.712。由此说明铁观音茶末多糖具有较强的抗氧化活性,且 TPS-4C 强于 TPS-1A。

**关键词:**铁观音茶末多糖,分离纯化,红外光谱扫描,分子量测定,抗氧化活性

## Isolation, Purification and Antioxidant Activity of Polysaccharide from Tieguanyin Tea Dust

WU Jin-song, ZHANG Yan, CHEN Xiao-pei, GENG Guang-wei, DING De-gang, XU Jun, WANG Bao-ying\*

(Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450046, China)

**Abstract:** To achieve the reuse of the waste tea resources, and to explore the antioxidant activity of Tieguanyin tea at the end of the activity of polysaccharide, the extraction of crude polysaccharide from Tieguanyin tea was optimized by water extraction and alcohol precipitation and then by DEAE cellulose and Sephadex-G100-glucan gel grade two purification, and the purity identification, infrared spectroscopy, the determination of molecular weight as well as the determination of antioxidant activity *in vitro* were determined. The results showed that the yield of 90% ethanol was 1.97%. TPS-1A and TPS-4C were obtained after two times of fractional purification and the purity was 96.2% and 95.1%, respectively. Infrared spectrum showed that both polysaccharides were beta glycoside bond polysaccharides. The molecular weights were 15792 and 21722 Da, respectively. The antioxidant activity of TPS-1A and TPS-4C increased gradually with the increase of component concentration. When the mass concentration was 1.2 mg/mL, the scavenging rate of DPPH radical was 95.41% and 97.71%, and the hydroxyl radical scavenging rate was 93.39% and 94.21%, respectively. The absorbance value of the total reducing force was 0.699 and 0.712. This indicated that Tieguanyin tea powder polysaccharide had strong antioxidant activity, and TPS-4C was stronger than TPS-1A.

**Key words:** Tieguanyin tea dust polysaccharide; separation and isolation; infrared scanning; molecular weight determination; antioxidant activity

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)11-0066-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.11.010

引文格式: 吴金松,张岩,陈晓培,等.铁观音茶末多糖的分离纯化和抗氧化活性[J].食品工业科技,2020,41(11): 66-71.

铁观音是乌龙茶中的主要优良品种之一,素有“绿叶红镶边,七泡有余香”的美称<sup>[1-2]</sup>。铁观音茶叶由于其含有丰富的茶多酚、氨基酸、活性多糖、生物碱、矿物质等营养成分越来越受到人们的青睐<sup>[3]</sup>,其

中茶多糖(TPS)是一类与蛋白质紧密结合的复合活性多糖类物质<sup>[4]</sup>,具有降血糖、降血脂、降血压、增强免疫力、减慢心率、抗凝血和耐缺氧等功效<sup>[5]</sup>。

目前,铁观音茶末多糖的提取方法主要有水提

收稿日期:2019-08-05

作者简介:吴金松(1988-),男,硕士,助教,研究方向:食品加工技术,食品化学与营养学,E-mail:413756821@qq.com。

\*通讯作者:王保营(1985-),男,博士,讲师,研究方向:食品包装功能复合材料,E-mail:baoying416@163.com。

基金项目:省级院级重点学科建设校企合作项目(功能复合包装材料503/14020813)。

醇沉法、酶提取法、酸碱提取法、超声提取法、微波辅助萃取法以及多种辅助提取相结合法<sup>[6-9]</sup>。陈义勇等<sup>[9]</sup>通过响应面优化超声-微波协同辅助优化茶多糖提取工艺,与传统的水浴浸提法相比,超声-微波协同辅助提取法在较短的超声提取时间下,茶多糖的得率从 2.95% 提高到 4.19%,纯度从 70.15% 提高到 86.08%;郑霖华等<sup>[10]</sup>通过响应面优化铁观音茶末多糖提取工艺,在茶多糖质量浓度为 0.5 mg/mL 时清除率达 89.67%。活性多糖的分级过程主要包括乙醇沉淀分级、季铵盐沉淀分级、金属盐沉淀法分级和 DEAE-纤维素凝胶色谱分离等方法<sup>[11-14]</sup>,通常一次分级纯化很难达到理想的分离效果,国内外鲜有关于茶末多糖分离纯化工艺方面的报道。目前在工业生产中对废弃铁观音碎茶末的再利用仅限于初加工层面,而从铁观音碎茶叶末中分离纯化出活性物质(比如活性多糖等)并进行生物活性研究,不仅使废弃茶叶末资源实现了再利用<sup>[15]</sup>,而且具有重要的科研意义。

本研究通过乙醇沉淀分级粗提和 DEAE-52 纤维素、Sephadex-100 葡聚糖凝胶色谱分离相结合的方法纯化出主要洗脱组分,结合纯度鉴定、分子量的测定、红外光谱扫描等进行分析,最后进行 DPPH 自由基、羟自由基以及还原力的测定等抗氧化活性探究,以期对铁观音茶叶末废弃材料的再利用以及功能食品添加剂的研究开发提供数据参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

铁观音茶叶末(产地为福建泉州安溪) 购于郑州姚桥农贸市场;苯酚、硫酸、盐酸、氢氧化钠、氯化钠 分析纯,洛阳市化学试剂厂;葡萄糖、抗坏血酸 分析纯,南京森贝伽生物科技有限公司;无水乙醇、甲醇、水杨酸、硫酸亚铁、双氧水、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、铁氰化钾、三氯乙酸、三氯化铁 分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司;1,1-二苯基-2-苦味基肼(DPPH 自由基) 分析纯,成都化夏化学试剂有限公司;DEAE-52 纤维素、Sephadex-100、Sephadex-150 葡聚糖凝胶、各种标准葡聚糖和蓝色葡聚糖(Dextran T-2000) 北京索莱宝科技有限公司。

玻璃层析柱(Φ2.6 cm × 40 cm, Φ2.6 cm × 60 cm) 郑州赛克斯玻璃仪器公司;Kd723 可见分光光度计 上海美析仪器有限公司;FA2204B 分析天平 上海佑科仪器仪表有限公司;101-1 恒温鼓风干燥箱 天津市泰斯特仪器有限公司;RE-52C 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器有限公司;SHZ-III 循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;UV1902 双光束紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限公司;Nicolet iS10 傅立叶变换红外光谱仪 美国尼高力公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 铁观音茶末多糖提取工艺 首先取铁观音茶叶样品进行干燥(55 °C 恒温干燥),研碎后过 100 目筛,然后进行索氏提取器连续抽提脱脂处理,再进行烘干;精确称取 5.0 g 以料液比 1:30 于 85 °C 水浴

锅中浸提,滤液抽滤后浓缩,再低温静置(4 °C, 12 h)醇沉(同体积提取液加入不同比例的无水乙醇使之产生不同的乙醇终浓度),再进行减压过滤、同浓度乙醇抽洗于 55 °C 烘箱中干燥至恒重,即得到铁观音茶末粗多糖<sup>[13]</sup>。

1.2.2 铁观音茶末多糖得率的计算 采用苯酚-硫酸法,称取葡萄糖标准品 0.1000 g,溶解定容后得到浓度为 0.1 mg/mL 的葡萄糖标准溶液。量取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 的 0.1 mg/mL 葡萄糖标准品溶液,用蒸馏水补至 1.0 mL。依次加入 1.0 mL 5% 的苯酚溶液,5.0 mL 浓硫酸,混匀后,静置 0.5 h,于 490 nm 波长处测定其吸光度<sup>[16-17]</sup>,依据所测得的吸光度值得到其线性回归方程式为  $y = 0.0094x + 0.006$ ,  $R^2 = 0.9995$ 。

将不同乙醇终浓度提取到的粗多糖样品研碎后分别称取 20.0 mg 用蒸馏水定容至 250 mL 容量瓶中,分别用吸量管量取 1.0 mL 样液于试管中,蒸馏水做空白样,测得吸光值代入葡萄糖标准曲线中的线性回归方程,根据下列公式从而计算出不同乙醇终浓度下的铁观音茶末多糖得率。

$$\text{铁观音茶末粗多糖得率}(\%) = \frac{C \times V \times D \times 10^{-6}}{M(\text{g})} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中:C:为样品葡萄糖浓度(μg/mL);V:为铁观音茶末多糖溶液总体积(mL);D:为稀释倍数;M:为铁观音茶末粉质量(g)。

测定出最佳得率下的乙醇浓度后,用该浓度的乙醇对铁观音茶末多糖进行大量提取备用。

1.2.3 铁观音茶末多糖的分离纯化 取乙醇最佳提取终浓度提取到的粗多糖样品 200 mg,用少量蒸馏水溶解后上 DEAE-52 纤维素层析柱(Φ2.6 cm × 40 cm)分级,依次使用蒸馏水、0.05、0.10、0.20、0.50 mol/L 的 NaCl 溶液进行梯度洗脱,控制流速 0.5 mL/min,将每种洗脱液洗脱下来的组分依次命名为 TPS-1、TPS-2、TPS-3、TPS-4、TPS-5。用试管收集洗脱液时 4 mL/管,然后从每支试管中用吸量管吸取 1.0 mL,采用苯酚-硫酸法于 490 nm 处测定其吸光度值,记录数据并绘制洗脱曲线图;对各吸收峰洗脱液分别进行收集,旋转蒸发浓缩后冷冻干燥,得到的各个组分质量除以进样质量即为纯化后各组分得率;对得率较高的洗脱组分进行 Sephadex-100 葡聚糖凝胶二次分级纯化并进行得率大小的测定<sup>[12]</sup>。

### 1.2.4 铁观音茶末多糖组分的纯度鉴定

1.2.4.1 凝胶过滤法 分别取 Sephadex-150 葡聚糖凝胶分级纯化后的主要组分 TPS-1A 和 TPS-4C,溶解后上 Sephadex-150 葡聚糖凝胶层析柱,以蒸馏水为洗脱液,收集洗脱液 4 mL/管,通过苯酚硫酸法跟踪检测,每管洗脱液以 490 nm 波长处吸光度对洗脱液管数,做洗脱曲线图<sup>[12]</sup>。

1.2.4.2 紫外光谱扫描法 将分离纯化到的铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 配制成 1.0 mg/mL 的溶液,在紫外可见分光光度计进行全波段扫描(190~400 nm),根据紫外扫描图谱在 260~280 nm 波长段是否出现吸收峰,进而确定分离纯化出的茶叶末

多糖组分中是否含有蛋白质、核酸等大分子物质<sup>[18-19]</sup>。

**1.2.5 铁观音茶末多糖分子量 Mr 的测定** 采用葡聚糖凝胶过滤法(GPC)<sup>[12,20]</sup>, SephadexG-100 湿法装柱,层析柱规格为 60 cm × 2.6 cm,纯水平衡 12 h。洗脱速度 0.5 mL/min,洗脱液采用蒸馏水。各标准葡聚糖和蓝色葡聚糖(Dextran T-2000)上样量均为 2.0 mg,首先用蓝色葡聚糖测得洗脱体积为  $V_0$ ,然后用型号 T-110、T-70、T-40、T-10 标准葡聚糖相继上柱。手动分管收集洗脱液,每管 3 mL,苯酚-硫酸法跟踪检测,根据吸光度测定洗脱体积  $V_e$ 。以  $V_e/V_0$  为纵坐标,分子量的自然对数  $\lg Mr$  为横坐标,绘制标准曲线。标准曲线的回归方程是:  $(V_e/V_0) = -1.4384(\lg Mr) + 8.1382$ ,  $R^2 = 0.9988$ 。在同样洗脱条件下,取纯化后的多糖 2.0 mg 上柱,测定各自的洗脱体积  $V_e'$ ,结合标准曲线和  $V_e'/V_0$  值计算出相应的分子量。

**1.2.6 铁观音茶末多糖的红外光谱扫描** 称取少量经纯化干燥后的多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 分别与溴化钾充分研磨混合后制成压片,放入红外光谱仪中进行波谱扫描<sup>[19]</sup>。

**1.2.7 铁观音茶末多糖的抗氧化活性**

**1.2.7.1 DPPH 自由基清除率的测定** 配制出不同浓度的多糖样品溶液(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg/mL),同时配制 0.125 mmol/L 的 DPPH 甲醇溶液。取一支试管,向其中加入 2.0 mL 多糖溶液后,再加入 2.0 mL 0.125 mmol/L DPPH 的甲醇溶液,充分振荡后,于室温下暗处反应 30 min。在波长 517 nm 处,使用无水甲醇调零后测定其吸光度(A)。同等条件下,对照组( $A_b$ )为 2.0 mL 多糖溶液和 1.0 mL 的无水甲醇,空白组( $A_0$ )为 2.0 mL 的无水甲醇和 1.0 mL 的 DPPH 溶液,以同浓度的抗坏血酸  $V_c$  作为阳性对照组<sup>[21-22]</sup>。测定完成后,按照式(2)计算不同浓度的多糖溶液对 DPPH 自由基的清除率:

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_0 - A_b}{A_0}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

**1.2.7.2 羟自由基清除率测定** 将不同浓度的多糖溶液(0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 mg/mL) 2.0 mL 分别放入不同的试管中并做好标记,再逐一加入 2.0 mL 6 mmol/L 的  $\text{FeSO}_4$  溶液,2.0 mL 6 mmol/L 的  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液,将其充分摇匀,并于室温静置 10 min,之后将 2.0 mL 新配制的 6 mmol/L 水杨酸的乙醇溶液加入其中,并混合均匀,在 37 °C 下反应 30 min 后,测定它们的吸光度( $A_x$ ),波长设置为 510 nm。与此同时,样品对照组实验,使用相同体积的乙醇来替代水杨酸溶液( $A_y$ );空白对照组则使用相同体积的蒸馏水替代多糖溶液( $A_z$ ),以同浓度的抗坏血酸  $V_c$  作为阳性对照组,在相同的条件下测定其吸光度值<sup>[22]</sup>。测定完成后,按照式(3)计算各浓度多糖溶液对羟自由基的清除率:

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_x - A_y}{A_z}\right) \times 100 \quad \text{式(3)}$$

**1.2.7.3 还原力的测定** 分别取 1.0 mL 各浓度的多糖溶液于不同试管中将 2.5 mL pH = 6.6、0.2 mol/L 的磷酸缓冲溶液加入其中,再加入 2.5 mL 的 1 g/100 mL 的

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  溶液,充分混匀,并在 50 °C 的条件下水浴 20 min,取出后迅速将其放入冷水中冷却,同时再加入 2.5 mL 10 g/100 mL 的三氯乙酸溶液,混合摇匀。将样品放入离心机中,在 5000 r/min 的条件下离心 5 min,吸取 1.5 mL 反应液至试管中,加入 0.2 mL 新配制的 0.1 g/100 mL 的  $\text{FeCl}_3$  水溶液,再加入 1.0 mL 蒸馏水混合均匀,在暗处反应 30 min,以同浓度的抗坏血酸  $V_c$  作为阳性对照组。用蒸馏水校正后,在 700 nm 波长处测定各试样的吸光度值<sup>[23]</sup>,记录数据。

### 1.3 数据处理

使用 Origin 8.6 和 Excel 进行图表的绘制和相关数据的处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同乙醇终浓度沉淀铁观音茶末粗多糖的得率分析

由图 1 可知,在等体积的提取液中加入不同体积的无水乙醇,使之产生不同的乙醇终浓度沉淀多糖,铁观音茶末粗多糖的得率随着乙醇终浓度的升高而增大,当乙醇浓度达到最大 90% 时,铁观音茶末粗多糖分级沉淀的得率最高,为 1.97%,因此本实验选用 90% 的乙醇终浓度分级沉淀提取的铁观音茶末粗多糖进行后续的分选纯化。

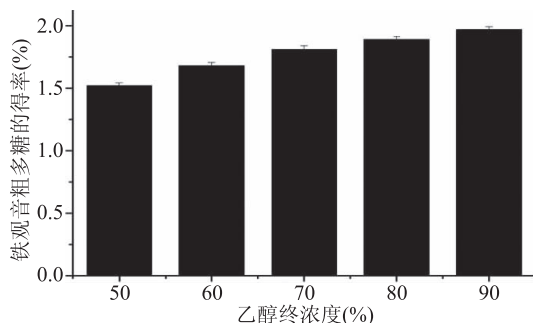


图 1 在不同乙醇终浓度下铁观音茶末粗多糖的得率

Fig.1 The yield of polysaccharide from Tieguanyin tea at the end of different ethanol concentration

### 2.2 不同浓度洗脱液对铁观音茶末粗多糖样品的 DEAE-52 纤维素分级纯化

由图 3 可知,不同浓度的洗脱液对铁观音茶末粗多糖样品均有一定的洗脱效果,将洗脱下来的多糖组分按照洗脱液浓度大小分别命名为 TPS-1、TPS-2、TPS-3、TPS-4、TPS-5。分别收集各吸收峰的洗脱液经过旋转蒸发冷冻干燥,计算出各组分的得率分别为 17.9%、4.2%、3.8%、33.7%、9.6%,由于 TPS-2、TPS-3、TPS-5 得率太低,而 TPS-1 和 TPS-4 较高,所以选择 TPS-1 和 TPS-4 进行下一步的 Sephadex-100 葡聚糖凝胶纯化。

### 2.3 TPS-1 和 TPS-4 的 Sephadex-100 葡聚糖凝胶洗脱曲线

由图 3、图 4 可知,经过 DEAE-52 纤维素分级纯化后的组分 TPS-1 和 TPS-4 分别用纯水、0.10、0.20 mol/L 的 NaCl 溶液经过 Sephadex-100 葡聚糖凝胶进行梯度洗脱,其中 TPS-1 洗脱后得到 TPS-1A、



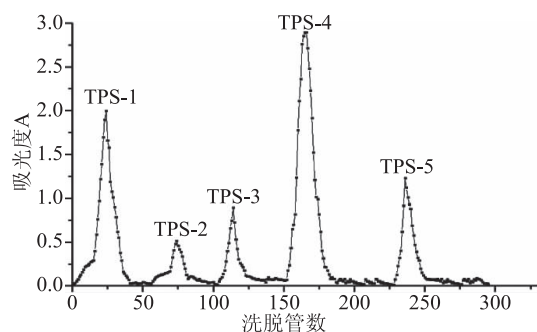


图2 铁观音茶末多糖 DEAE-52 纤维素层析柱洗脱曲线  
Fig.2 Elution curve of DEAE-52 cellulose column of Tieguanyin tea dust polysaccharide

TPS-1B 和 TPS-1C 三种多糖组分,其得率分别为 46.2%、6.8%、5.9%; TPS-4 洗脱后得到 TPS-4A、TPS-4B、TPS-4C 三种多糖组分,其得率分别为 10.9%、11.8%、45.6%; 由于 TPS-1B 和 TPS-1C、TPS-4A、TPS-4B 得率太低,所以本研究选择得率最高的 TPS-1A 和 TPS-4C 进行后续的定性分析和抗氧化活性实验。

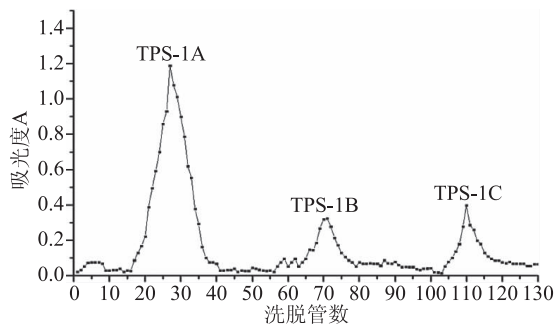


图3 铁观音茶末多糖组分 TPS-1 Sephadex-100 葡聚糖凝胶洗脱曲线

Fig.3 The elution curves of TPS-1 Sephadex-100 chromatographic column of Tieguanyin tea dust polysaccharide

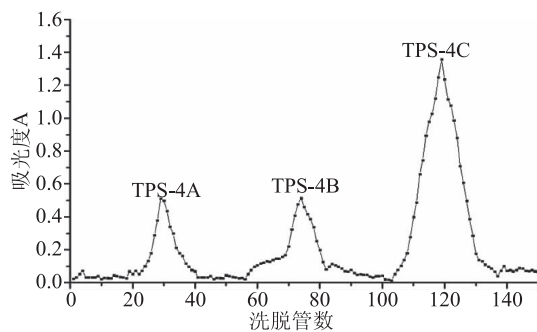


图4 铁观音茶末多糖组分 TPS-4 Sephadex-100 葡聚糖凝胶洗脱曲线

Fig.4 The elution curves of TPS-4 Sephadex-100 chromatographic column of Tieguanyin tea dust polysaccharide

## 2.4 铁观音茶叶末多糖组分纯度结果分析

由图 5、图 6 可知,TPS-1A、TPS-4C 经纯水洗脱后,洗脱曲线均呈单一对称峰,结合在 260~280 nm 波长段处,铁观音茶叶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 无明显吸收峰,纯化后的铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 样品中不含或含有极少量蛋白质

或核酸,结合凝胶过滤法洗脱曲线,并且通过测定其多糖含量,测得其纯度分别为 96.2%、95.1%,经过两次分级纯化后分离效果较好。

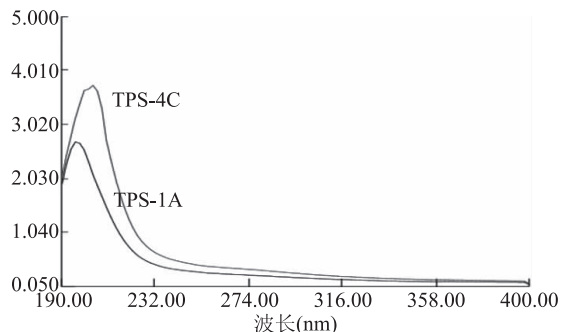


图5 组分 TPS-1A、TPS-4C 的紫外扫描光谱图  
Fig.5 Ultraviolet scanning spectra of component TPS-1A, TPS-4C

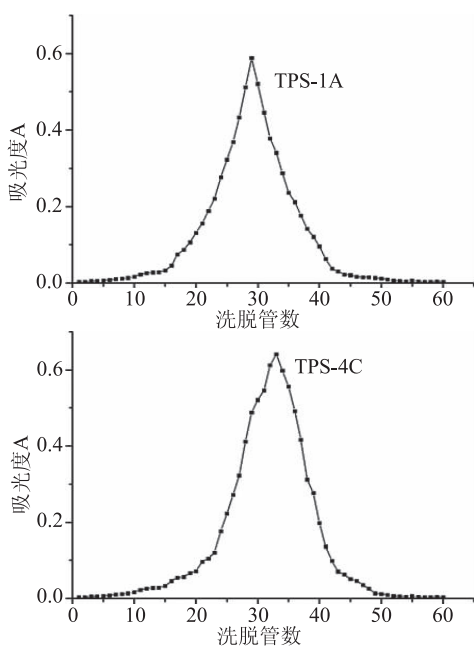


图6 铁观音茶末多糖 TPS-1A、TPS-4C Sephadex-150 葡聚糖凝胶洗脱曲线

Fig.6 The elution curves of TPS-1A, TPS-4C Sephadex-150 chromatographic column of Tieguanyin tea dust polysaccharide

## 2.5 铁观音茶叶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 的红外扫描图谱

从图 7 中可以看出,组分 TPS-1A 和 TPS-4C 分别在波数 3424、3421  $\text{cm}^{-1}$  产生的-OH 伸缩振动吸收峰;分别在 2942、2927  $\text{cm}^{-1}$  处产生的 C-H 伸缩振动吸收峰;分别在 1647、1643  $\text{cm}^{-1}$  处产生的羰基伸缩振动吸收峰;分别在 1442、1412  $\text{cm}^{-1}$  及 1019  $\text{cm}^{-1}$  处产生的-OH 弯曲振动吸收峰;分别在 800、803  $\text{cm}^{-1}$  处产生的  $\beta$ -型糖苷键吸收峰<sup>[19,24-25]</sup>。结合紫外和红外吸收图谱可知,两种茶末多糖组分均为  $\beta$ -型糖多糖类物质。

## 2.6 铁观音茶末多糖组分分子量 Mr 结果分析

由图 8 可知,分别收集 TPS-1A、TPS-4C 吸光度大于 0.1 的管数为 21~41 管、27~45 管,洗脱体积  $V_e$  分别为 63、57 mL。已测得标准蓝色葡聚糖外水体积

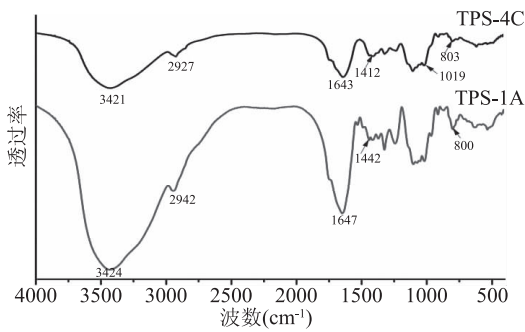


图7 组分 TPS-1A、TPS-4C 的红外扫描图谱

Fig.7 Infrared scanning map of component TPS-1A, TPS-4C

$V_0$  为 30 mL, 根据  $V_e/V_0$  值, 计算其分子量为 15792、21722 Da。

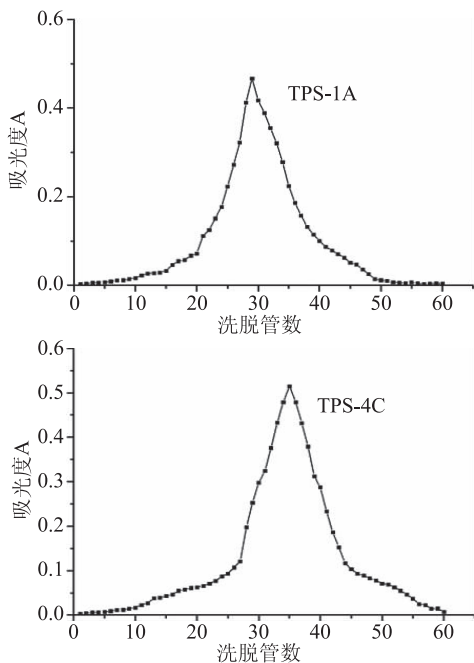


图8 TPS-1A、TPS-4C SephadexG-100 洗脱曲线

Fig.8 SephadexG-100 elution curve of TPS-1A, TPS-4C

## 2.7 铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 抗氧化活性测定结果

**2.7.1 铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 的 DPPH 自由基清除率** 由图 9 可知, 在铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 质量浓度 0.2~1.2 mg/mL 范围内, DPPH 自由基清除率随着质量浓度的不断增加而增加, 即 DPPH 自由基的清除率与质量浓度呈依赖关系, TPS-1A 和 TPS-4C 的  $IC_{50}$  值分别为 0.64 和 0.58 mg/mL, 均高于对照组  $V_c$  的 0.33 mg/mL, 当其浓度为 1.2 mg/mL 时 DPPH 自由基清除率分别达到 95.41%、97.71%, 均低于阳性对照组  $V_c$ , 但与郑霖华等<sup>[10]</sup> 提取的铁观音茶多糖 DPPH 自由基清除率最高的 89.67% 相比, 说明两种茶末多糖组分具有较强的 DPPH 自由基清除效果, 且 TPS-4C 强于 TPS-1A。

**2.7.2 铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 的羟自由基清除率** 羟自由基的氧化活性较强, 会对人体细胞造成很大的危害, 从而诱使多种疾病的产

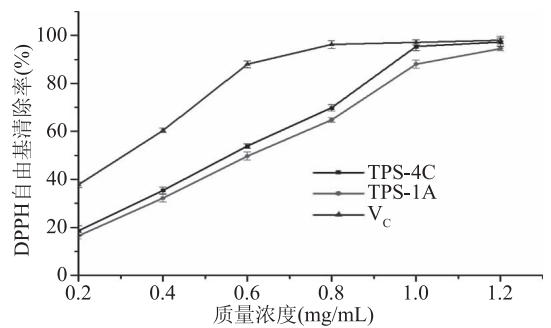


图9 不同浓度多糖组分对 DPPH 自由基的清除率

Fig.9 Removal rate of DPPH free radicals

at different concentrations of polysaccharide component

生<sup>[26-27]</sup>。由图 10 可知, 在铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 质量浓度 0.2~1.2 mg/mL 范围内, 羟自由基清除率随着质量浓度的不断增加而增加, 即羟自由基的清除率与质量浓度呈依赖关系; TPS-1A 和 TPS-4C 的  $IC_{50}$  值分别为 0.63 和 0.52 mg/mL, 均高于对照组  $V_c$  的 0.31 mg/mL, 当其浓度为 1.2 mg/mL 时, 羟自由基清除率分别达到 93.39%、94.21%, 均低于阳性对照组  $V_c$  的 96.76%, 但是与丁世环等<sup>[26]</sup> 粗提的茶多糖在 3.2 mg/mL 对羟自由基的清除率最高可达 60.37% 相比, 分离纯化后的两种茶末多糖组分均具有较强的羟自由基清除效果, 且 TPS-4C 强于 TPS-1A。

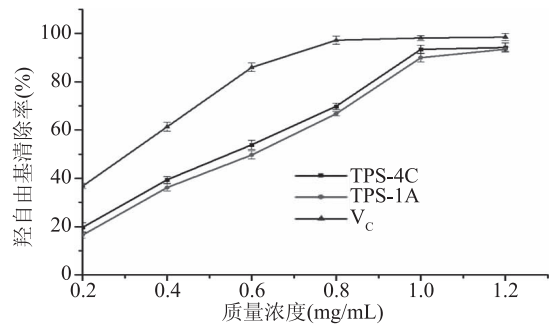


图10 不同浓度的多糖组分对羟自由基清除率

Fig.10 Removal rate of hydroxyl radicals

by different concentrations of polysaccharide component

**2.7.3 铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 的还原力** 根据铁总还原力测定法, 吸光度值的变化大小反映出样品总还原力的高低, 吸光度越大, 则样品的还原力就越强<sup>[27-28]</sup>。由图 11 可知, 铁观音茶叶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 总还原力随着质量浓度的不断增加而增大, 即总还原力与质量浓度呈依赖关系。当 TPS-1A 和 TPS-4C 质量浓度为 1.2 mg/mL 时, 吸光度值分别为 0.699、0.712, 均低于阳性对照组  $V_c$  的 1.106, 说明铁观音茶末多糖组分 TPS-1A 和 TPS-4C 的还原力弱于  $V_c$ , 具有一定的还原力, 且 TPS-4C 强于 TPS-1A, 这与两种多糖组分的 DPPH 自由基和羟自由基清除效果一致。由此可知, TPS-4C 的抗氧化性强于 TPS-1A, 但均弱于阳性对照组  $V_c$ 。

## 3 结论

乙醇终浓度为 90% 提取铁观音茶末多糖得率最

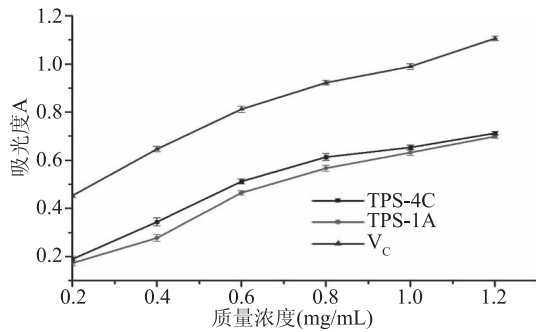


图 11 不同浓度多糖组分的还原力

Fig.11 Reduction force of polysaccharide component at different concentrations

高,为 1.97%,在此条件下提取的粗多糖进行DEAE-52纤维素和Sephadex-100葡聚糖凝胶分级纯化,得到主要多糖组分TPS-1A和TPS-4C,两者纯度较高,分别为96.2%、95.1%,均具有 $\beta$ -型糖苷键多糖,分子量分别为15792、21722 Da;TPS-1A和TPS-4C抗氧化活性均随着组分浓度的增加而逐渐增强,结合DPPH自由基和羟自由基的清除率效果、 $IC_{50}$ 值以及总还原力的吸光度大小分析比较,说明铁观音茶末多糖具有较强的抗氧化活性,且TPS-4C强于TPS-1A。本研究为铁观音茶末废弃资源的再利用以及功能产品的研究开发提供一定的理论依据。由于本研究仅对分离纯化后的铁观音茶末多糖进行了简单的构型分析和体外抗氧化活性测定,有关铁观音茶末多糖的单糖分子量、组成、糖苷键等结构分析及降低胆固醇、抑制肿瘤等其他生物活性有待进一步的研究。

### 参考文献

- [1]高水练,林郑和,郝志龙,等.新旧工艺制成铁观音的品质化学比较[J].茶叶科学技术,2004,45(3):27-28.
- [2]文祎,王振,蔡淑娟,等.铁观音茶提取物对脂多糖诱导RAW264.7细胞炎症反应的抑制作用及机制[J].食品工业科技,2018,24(17):294-299.
- [3]郑清梅,陈昆平,钟艳梅,等.4类茶叶及其茶渣主要成分的测定与分析[J].广东农业科学,2015,42(6):14-20.
- [4]李海珊,刘丽乔,聂少平.茶多糖对小鼠肠道健康及免疫调节功能的影响[J].食品科学,2017,38(7):187-192.
- [5]张黎,杨艳.茶多糖药理活性研究进展[J].中国实用医药,2013,8(16):255-257.
- [6]李美辰.茶多糖的理化性质及提取工艺研究进展[J].西部皮革,2018,41(2):7.
- [7]何传波,吴兰兰,汤凤霞,等.铁观音茶多糖的酶法提取及脱蛋白工艺研究[J].云南民族大学学报,2009,18(1):41-44.
- [8]Wang T, Li W, Li T X. Microwave-ultrasonic synergistic extraction of crude Se-polysaccharides from Se-enriched tea[J]. Key Engineering Materials, 2017, 6:360-366.
- [9]陈义勇,窦祥龙,黄友如,等.响应面法优化超声-微波协同辅助提取茶多糖工艺[J].食品科学,2012,32(4):100-103.
- [10]郑霖华,姚丽云,张秀芬,等.响应面优化铁观音茶末多

糖提取及清除自由基作用[J].云南民族大学学报,2017,26(5):344-348.

[11]Zhao L Y, Dong Y H, Chen G T, et al.Extraction, purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(3):783-789.

[12]吴金松,郑炯,夏雪娟,等.大叶麻竹笋多糖的分离纯化工艺[J].食品科学,2015,36(2):80-84.

[13]Meng F Y, Ning Y L, Qi J, et al.Structure and antitumor and immunomodulatory activities of a water-soluble polysaccharide from *Dimocarpus longan* Pulp [J].Molecular Sciences, 2014, 15(3):5140-5142.

[14]杨军国,王丽丽,陈键,等.乙醇在茶叶多糖提取中的应用研究[J].茶叶学报,2016,57(4):192-199.

[15]许婧.茶多糖的结构与其降血糖机理研究进展[J].河南农业,2018,29(5):58-62.

[16]刘绍.食品分析与检验[M].1版.华中科技大学出版社,2017.

[17]张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].2版.杭州:浙江大学出版社,2003.

[18]任小盈,李静,马存强,等.茶多糖的提取与分离纯化技术研究新进展[J].安徽农业科学,2014,42(23):7993-7995, 7999.

[19]王慧宾,熊伟,韩晓丹,等.超声辅助提取藤茶多糖的工艺优化及其成分分析[J].生物化工,2016,2(1):7-11.

[20]Aida F M N A, Shuhaimi M, Dzulkifly M H, et al.Prebiotic activity of polysaccharides extracted from *Gigantochloa levis* (Buluhbeting) shoots [J].Molecules, 2012, 17:1635-1651.

[21]McCue P, Shetty K.Phenolic antioxidant mobilization during yogurt production from soymilk using Kefir cultures [J].Process Biochemistry, 2005, 40:1791-1797.

[22]马玲,赵亚娜,张乐,等.富硒平菇多糖提取纯化及抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2018,39(10):38-42.

[23]周雪艳,李慧,刘云.不同分子量黑果腺肋花楸叶多糖的单糖组成及抗氧化研究[J].中国食品添加剂,2018,24(6):93-99.

[24]Zheng Y F, Zhang Q, Liu X M, et al. Extraction of polysaccharides and its antitumor activity on *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 142:98-104.

[25]孙苏军,纪海玉,白云,等.坦洋工夫红茶多糖提取工艺优化及其抑制肿瘤活性分析[J].食品科学,2018,39(4):254-260.

[26]丁世环,张嘉杨,鲁群岷.普洱茶叶茶渣中茶多糖的超声波辅助提取及其抗氧化性[J].食品工业科技,2018,39(18):187-193.

[27]杨新河,黄明军,马蔚,等.不同黑茶多糖的组成分析及其抗氧化活性[J].食品工业科技,2017,38(20):16-20.

[28]Liu J, Wang C N, Wang Z Z, et al.The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides [J].Food Chemistry, 2011, 126(1):261-269.