

茶籽多糖的提纯、理化特征和生物活性研究进展

王明乐, 房婉萍, 黎星辉*
(南京农业大学茶叶科学研究所, 江苏 南京 210095)

摘 要: 茶籽多糖是茶籽中一种重要的生物大分子, 具有多种生理功能。然而, 我国茶籽利用率不高, 如能充分利用, 必将产生巨大的经济和社会效益。因此, 笔者综述了近年来国内外关于茶籽多糖 (tea seed polysaccharide, TSPS) 提纯方法、理化特征和生物活性的研究, 为进一步开发利用茶籽多糖提供科学依据。

关键词: 茶籽多糖; 提取; 纯化; 结构; 生物活性; 功能

Research Progress in Isolation, Purification, Physio-chemical Properties and Bioactivities of Tea Seed Polysaccharides

WANG Ming-le, FANG Wan-ping, LI Xing-hui*
(Tea Research Institute, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: As one of the most significant biological macromolecules, tea seed polysaccharides has many kinds of physiological functions. However, the utilization rate of tea seeds in China is still low. The full utilization of tea seeds will surely bring about tremendous economic and social benefits. In this article, the authors review the recent progress in the extraction, physio-chemical properties and bioactivities of tea seed polysaccharides with the aim of providing scientific evidence for their further exploitation and utilization.

Key words: tea seed polysaccharide; extraction; purification; structure; bioactivity; function

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 07-0280-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201407055

在我国山茶科山茶属植物 (茶叶、山茶、油茶、茶梅) 的种子习惯上统称为“茶籽”^[1-2]。茶籽中含有脂肪、蛋白质、多糖、皂素、咖啡碱、茶多酚、粗纤维和无机元素等多种有效成分, 其中茶籽多糖 (tea seed polysaccharides, TSPS) 含量较高, 达20%左右^[3]。研究表明, 植物多糖具有调节免疫系统、降血压、降血脂、抗肿瘤、抗感染、治疗艾滋病等多种生物活性^[4-8]; 多糖糖链在控制细胞分裂、分化, 调节细胞生长和衰老等方面也起着决定性的作用^[9]。

现今, 茶多糖 (tea polysaccharide, TPS) 作为一种几乎无毒副作用的天然提取物已经引起了相关研究者的重视; 国内外对茶叶多糖 (tea leaves polysaccharide, TLPS) 的理化性质、分离纯化方法和生理活性的研究报道较为全面, 而对茶籽多糖研究的综合性报道则少之又少^[10-16]。本文对近年来茶籽多糖的研究进展进行回顾, 旨在为进一步开发利用茶籽多糖提供参考。

1 茶籽多糖的提纯

1.1 茶籽多糖的提取方法

多糖的提取方法有水提法^[17-19]、酸碱提取法^[20]、有机溶剂提取法^[21]、超临界CO₂法^[22]、酶法^[23-24]、超声波辅助提取法^[25-26]和微波辅助提取法^[27-28]。已有的研究^[29]表明, 多糖热稳定差, 高温、过酸或偏碱的条件均会使其部分降解。因此, 多糖的提取应避免在高温和强酸强碱中进行, 否则极易使多糖中的糖苷键断裂而发生构象变化, 甚至失去生物活性。

各提取法中, 由于酸提法和碱提法对实验条件要求较高, 加之操作不便, 因此这两种方法并不经常使用。而采用乙醇沉淀, 不但选择性好、渗透性强、浸出率高, 而且安全环保, 现在茶籽多糖的提取中应用较多。田洪舟等^[30]以茶籽饼粕为原料, 研究了料液比、提取温度和时间对提取的茶籽多糖的含量和纯度的影响, 经单

收稿日期: 2013-04-28

基金项目: 国家现代农业 (茶叶) 产业技术体系建设专项 (CARS-23); 江苏高校优势学科建设工程资助项目 (XDYY2011); 江苏省科技支撑计划项目 (BE2011319); 苏州市现代生态茶业工程技术研究中心专项资金项目 (SZGD201067)

作者简介: 王明乐 (1988—), 男, 硕士研究生, 研究方向为茶树遗传育种与综合利用。E-mail: wangmingle1988@126.com

*通信作者: 黎星辉 (1962—), 男, 教授, 博士, 研究方向为茶树种质资源与综合利用。E-mail: lxh@njau.edu.cn

因素试验和正交试验得出茶籽多糖的较佳提取条件为料液比1:12 (m/V)、乙醇体积分数55%、提取温度55℃、提取时间3.0 h, 其得率和纯度分别达6.92%和78.74%。胡平等^[31]以油茶饼粕为原料, 脱脂后提取茶皂素, 并利用乙醇沉淀提取茶籽多糖, 经正交试验得出提取茶籽多糖的较佳工艺参数为: 温度70℃、料液比1:30 (m/V)、提取时间4 h, 多糖在此条件下的提取率为5.88%。此方法采用先提取茶皂素后提取多糖的综合提取工艺, 排除了提取多糖的后续处理过程中茶皂素的干扰, 在一定程度上简化了提取工艺。

黄威等^[32]以油茶籽浸出粕为原料, 采用甲醇浸提法, 在单因素试验的基础上, 通过正交试验发现: 料液比为1:10 (m/V)、甲醇体积分数为85%、提取温度65℃、浸提时间3 h为较佳的工艺参数; 此条件下茶籽多糖的提取率达到3.84%, 纯度为89.7%。虽然使用甲醇提取所得茶籽多糖纯度较高, 但由于甲醇的毒性较强, 一般不建议采用。

杜立春等^[33]采用低沸点醇(无水乙醇或无水甲醇或甲醇和乙醇的混合物)为溶剂回流提取已脱脂油茶饼粕中的茶皂素和茶多糖, 回收溶剂得浸膏, 然后使用无水正丁醇提取浸膏中的茶籽多糖, 最终分离得到纯度大于95%的白色茶多糖, 显著高于一般茶多糖提取方法。该方法工艺简单、环保, 生产与设备成本低, 易于大工业生产。

随着我国科学技术的进步, 越来越多的新装备也开始应用到茶籽多糖的提取中。微波辅助提取具有高效性、高频性、选择性和波动性等特点, 该法副产物少, 产率高, 提取时间短。微波的热效应可以穿透到介质内部, 迅速破坏细胞壁, 使提取物快速分离出来^[34]。张忠等^[35]以茶籽为原料, 采用微波辅助提取法发现: 浸提功率400 W、固液比1:30 (m/V)、pH 5.0、浸提时间30 s为较合适的提取条件。王瑾等^[36]也采用此方法, 以冷榨油茶籽饼为原料, 与水提取法进行比较, 得出料液比1:5 (m/V)、微波功率600 W、提取时间9 min、pH 6.0为较佳的提取条件; 然后采用6%的三氯乙酸法脱除蛋白质, 30%的双氧水脱色, 最终经醇沉、浓缩干燥后得到淡黄色多糖晶体。经比较, 该方法与传统热水浸提方法相比能极大的提高茶籽多糖的得率。

基于超声波技术发展起来的超声波辅助提取法是近年来经常采用的样品前处理方法, 空化效应是其主要动力, 有助于加速待测物中有效成分进入溶剂, 缩短体系达到平衡的时间^[37]。张忠^[38]、谭搏^[39]等分别以茶籽和茶籽饼粕为原料, 经超声波辅助提取茶籽多糖时发现, 在试验条件范围内, 对茶籽多糖浸出率的影响顺序为固液比>温度>功率>时间, 固液比1:40 (m/V)、温度60℃、浸提功率400 W、浸提时间5 min为较佳的工艺参数。

以超临界CO₂作为溶剂, 无毒、无害, 不会造成被萃取物的污染, 解决了有机溶剂萃取方法中溶剂残留等问题, 工艺简单, 只需控制温度、压力等主要参数即可达到提取混合物中不同组分的目的; CO₂价廉易得, 萃取溶剂可以循环使用, 生产成本较低^[40-41]。李博等^[42]以茶籽饼粕为原料, 采用响应面法优化超临界CO₂提取茶籽多糖工艺, 运用小星点设计考察萃取时间(30~150 min)、压力(15~45 MPa)、温度(40~80℃)及夹带剂乙醇水溶液体积分数(50%~90%)四因素对茶籽多糖得率的影响, 简化模型后在各因素设定范围内得到较佳提取条件: 萃取时间150 min、压力45 MPa、温度60℃、夹带剂乙醇体积分数65%。该条件下萃取后多糖实际得率为13.23%, 较传统的超临界CO₂萃取法有一定的优越性。有人认为, 食品工业中使用超临界流体萃取技术是最有前途的领域之一。

1.2 茶籽多糖纯化

经过上述方法提取得到的茶籽粗多糖往往混杂着蛋白质、色素、低聚糖等杂质, 必须经过进一步的分离纯化才能得到纯度较高的茶籽多糖。茶籽多糖的分离纯化步骤, 如图1所示。

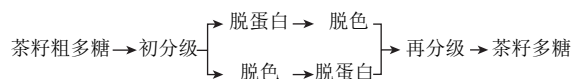


图1 茶籽多糖的纯化步骤

Fig.1 Flowchart for the purification of TSPS

1.2.1 脱蛋白

常用的粗多糖脱蛋白方法有Sevag法、三氟三氯乙烷法和三氯醋酸法。其中, Sevag法是脱蛋白的经典方法, 利用蛋白质在氯仿等有机溶剂中变性的特点将其除去。该方法在避免多糖降解上效果较好, 但是效率不高, 如能加入一些蛋白质水解酶, 再用Sevag法效果更佳。三氟三氯乙烷与多糖混合后搅拌、离心得上清液, 连续几次即得无蛋白质的多糖溶液, 此法效率高, 但三氟三氯乙烷沸点较低, 易挥发, 不宜大量应用。三氯醋酸对蛋白质的脱除效果较好, 但此法反应剧烈, 会引起某些多糖的降解, 得率降低。

传统的植物多糖提取液脱蛋白方法逐渐呈现出劣势, 近年来陆续出现了一些新的脱蛋白的方法, 如醋酸铅法^[43]、氯化钠法^[44]、蛋白酶法^[45]、氯化钙法^[46]、氢氧化钠法^[47]、阴离子交换树脂法^[48]、盐酸法^[49]、径向流动色谱法^[50]和鞣酸法^[51], 这为除去多糖中的蛋白质提供了更为广阔的前景。然而, 这些新方法也有一定的不足, 因此人们更倾向于选择多方法联用以弥补各方法单独使用时的不足。孙柘等^[52]采用蛋白酶-三氯醋酸-正丁醇联用法对粒毛盘菌YM281胞外多糖脱蛋白, 并经均匀设计优化该方法的脱蛋白条件, 得出较佳的工艺参数为粒毛盘

菌YM281多糖溶液20 mL、木瓜蛋白酶溶液11 mL、温度42.2 °C、pH 4.0、酶解时间3.5 h；除去变性蛋白后再用三氯醋酸和正丁醇法脱蛋白2次即可；在该条件下，蛋白脱除率达72.3%，而多糖损失率仅为2.93%。赵鹏等^[53]采用酶法结合Sevag法并与三氯乙酸法、Sevag法和酶法单独使用的脱蛋白效果对比发现，前者最为理想，且较佳的工艺条件为：酶用量2.0%、酶解温度75 °C、酶解时间2 h、pH 7.0；结合3次Sevag法操作。此条件下，蛋白脱除率达83.72%，多糖保留率80.25%。该法可大大减少Sevag法的使用次数，蛋白脱除率高且条件温和，应用前景广阔。

1.2.2 色素的去除

色素按其溶解性的不同可分为：脂溶性色素、水溶性色素和其他色素。脂溶性色素的去除可以经石油醚或乙醚回流脱脂去除，在回流脱脂的过程中一些脂溶性色素也会被除去；水溶性色素在用热水浸提多糖时溶解在水中，在用乙醇沉淀多糖时色素就留在上清液中^[54]。以上两种色素在多糖纯化时较易去除，而和多糖结合的其他色素则较难去除，这也是现阶段多糖回收效率低下的主要原因。

常用的脱色方法有柱层析法、活性炭法、过氧化氢法、聚酰胺法和 Al_2O_3 法等。由于植物材料、实验条件等的差异，脱色方法不尽相同。对于植物来源的多糖，所含色素多是负性离子，用活性炭等脱色效果不如用 Al_2O_3 层析柱法；如果多糖的色素结合，可用 H_2O_2 脱色。过氧化氢法和活性炭法由于简单易行而被广泛使用。对于茶籽多糖而言，由于其色素含量较低，因此，是否进行脱色处理可视需要而定。

1.2.3 低聚糖等小分子杂质的去除

用透析法将多糖提取液置于半透膜透析袋中，逆向流水透析1~3 d。可以用阴阳离子交换树脂混合床，但只能除去离子，不能除去非极性小分子杂质。目前，使用连续透析仪是一种较为方便的实验方法^[55]。

此外，超滤技术是利用膜的筛分性质，以膜两侧的压力差为推动力将高分子溶质与小分子溶质依据其相对分子质量的差别进行分离。因其操作条件温和、分离环境密闭、生产效率高、实用性强而在果汁、发酵工程、酿造和茶饮料等食品工业生产中得到广泛应用^[56]。

1.2.4 应用实例

陶俊等^[57]采用Sevag法对油茶籽多糖粗提物进行脱蛋白，然后采用适合于各种酸性、中性多糖和黏多糖的DEAE-纤维素层析来除去油茶籽多糖中的杂质，最后经Sephadex G-100柱层析、透析、浓缩和冷冻干燥得油茶籽多糖精品。由于多糖类物质在强碱条件下会发生异构化和分解反应，因此只能选用弱碱性或极阴性的离子交换剂来吸附茶籽多糖。郭艳红^[58]在实验中采用离子交换纤

维素DEAE-52对茶籽多糖进行分离纯化；然后又使用凝胶色谱进一步纯化得到单一多糖。

王瑾^[59]对比了Sevag法和三氯乙酸法脱蛋白效果并从蛋白残留量和糖得率两方面判定三氯乙酸法脱除效果较好。而Sevag法虽是经典的脱蛋白方法，但操作过程复杂且样品损失较大，消耗能量较多。此外，该实验还对比了活性炭脱色和过氧化氢脱色，虽然活性炭脱色简便易行，是大部分多糖脱色的首选方法；但是实验发现油茶籽多糖可能为糖蛋白，由于活性炭对多糖的物理吸附作用，会造成多糖的部分损失，导致脱色效果不理想，因而选择过氧化氢法脱色。由于过氧化氢是一种氧化脱色剂，能将多糖提取液脱至无色，但色素物质还是会残留在溶液中，而过量的过氧化氢需要充分的透析除去，否则会对后续的凝胶柱层析中的凝胶造成损害。

2 茶籽多糖的理化性质

研究发现，茶籽多糖是黏度适中、非淀粉、非酚类物质、不含还原糖和氨基酸的淡黄色粉状晶体；茶籽多糖溶于热水，不易溶解于冷水，不溶于高体积分数的乙醇、丙酮、乙酸乙酯和正丁醇等有机溶剂；对双缩脲试剂和茚三酮溶液均无颜色反应而遇蒽酮-硫酸试剂或其他糖的显色剂（如苯酚-硫酸）都能发生相应的特征颜色反应；热稳定性较差，高温易降解^[57,59]。

3 茶籽多糖的结构分析

多糖的结构可分为一级结构和高级结构。多糖的一级结构可简要描述为单糖的连接方式，既包括单糖的组成又包括各单糖间的连接方式。多糖经分离纯化并验证后即可进行一级结构的分析。多糖的一级结构分析方法很多，主要分为三类：化学分析法、物理分析法和生物分析法。目前，化学法在研究中的应用比较成熟，如水解法（包括完全水解法和部分酸水解法）、过碘酸氧化和Smith降解、甲基化反应、顺序降解法等；物理方法主要借助纸色谱、高效凝胶色谱、红外光谱法、核磁共振波谱法、气相色谱法、质谱法和毛细管电泳法等各种分析仪器来完成；生物法主要是利用特异性糖苷酶的酶法分析，利用酶的专一性强的特点用不同酶和放射性标记的方法来分析糖链结构和糖苷键的类型^[60]。由于茶籽多糖是极其复杂的化合物，因此，在实际应用中通常是物理、化学多方法结合使用。近些年的研究虽已对茶籽多糖的一级结构有所认识，但其精确的内部构造还不是很清楚，这主要是因为其一级结构本身非常复杂，再加上糖残基上可以连接硫酸基团、乙酯基团、磷酸基团和甲基化基团，这更加剧了多糖一级结构的复杂性^[57]。

表1 茶籽多糖的结构特点
Table 1 Structure features of TSPS

来源	结构分析方法	多糖名称	是否结合蛋白	多糖组成	分子质量/ku	单糖物质的量比	参考文献
<i>Camellia oleifera</i> Abel.	薄层色谱、红外光谱	CPS I	否	半乳糖、木糖	256.035	—	[57]
<i>Camellia oleifera</i> Abel.	薄层色谱、红外光谱	CPS II	否	果糖、木糖	10.290 3	—	[57]
<i>Camellia oleifera</i> Abel.	薄层色谱、红外光谱	CPS III	否	半乳糖	3.590	—	[57]
<i>Camellia oleifera</i> Abel.	薄层色谱、气相色谱	COP I	—	葡萄糖、鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、甘露糖、半乳糖	—	1.00:7.73:6.00:3.27:0.82:9.09	[59]
<i>Camellia oleifera</i> Abel.	薄层色谱、气相色谱	COP II	—	/	—	—	[59]
<i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze	紫外扫描、红外扫描	NTSPS1	否	半乳糖、核糖	4.588	1:2.3	[58]
<i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze	紫外扫描、红外扫描	ATSPS1-1	是	鼠李糖、核糖、阿拉伯糖、半乳糖	130	1.5:5.9:3.5:1	[58]
<i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze	紫外扫描、红外扫描	ATSPS1-2	否	/	4.566	—	[58]
<i>Camellia sinensis</i> (L.) O. Kuntze	紫外扫描、红外扫描	ATSPS2	是	半乳糖、鼠李糖	500	1:6.3	[58]

注：/。成分不明；—。无数据；CPS. 油茶多糖（*Camellia oleifera* polysaccharide）；NTSPS. 中性茶籽多糖（neutral tea seed polysaccharide）；ATSPS. 酸性茶籽多糖（acid tea seed polysaccharide）；COP. 油茶多糖（*Camellia oleifera* polysaccharide）。

多糖的高级结构是指在一级结构的基础上，各侧链通过非共价键相互结合作用而形成的复杂结构。常用的多糖高级结构测定方法有：核磁共振、X射线衍射法、圆二色谱法、原子力显微镜法、电子显微镜、扫描隧道显微镜。

统观近年茶籽多糖方面的研究，主要集中在提取、纯化、一级结构分析和生物活性方面，而对其高级结构的研究较少。除了由于茶籽多糖本身结构的复杂性外，方法不完善也阻碍了对其高级结构的进一步探索。现已从茶籽中陆续分离得到多种多糖，其结构特点见表1。

4 茶籽多糖的生物活性

大量药理和临床实验证明，从天然产物中分离出的多糖与免疫功能的调节、细胞与细胞的识别、细胞间物质的传输、癌症的诊断与治疗等都有密切关系^[61-63]。对于茶籽多糖而言，经过实验得到证实的功能则少之又少，且主要集中在促进生长和抗氧化两方面，这也为其他功能的发掘提供了广阔的空间。

4.1 促进生长的作用

王瑾^[59]和袁钟宇^[64]等的实验结果表明，茶籽多糖能够促进肉鸡生长，并推测其对肉鸡生产性能的影响可能与多糖促进RNA、DNA和蛋白质的合成，清除自由基，激活免疫系统活性的特征有关。李学军等^[65]在生长猪日粮中添加茶籽多糖除也发现了类似的结果：猪的生长性能得到改善。

4.2 抗氧化性

张忠等^[38]研究发现，提取方法对茶籽多糖的抗氧化性也有影响；超声波辅助提取对茶籽多糖清除·OH的能力影响不显著，而对茶籽多糖清除O₂⁻·的能力有较好的增强作用，其原因是超声波辅助提取茶籽多糖能够缩短浸提时间，避免了茶籽多糖在水中长时间受热，从而使得茶籽多糖清除O₂⁻·的能力增强。李学军等^[65]的研究还发现，茶籽多糖能通过提高生长猪体内抗氧化酶的活

力，抑制脂质过氧化反应从而增强生长猪机体的抗氧化能力。

胡平平^[31]使用了4种不同的体外抗氧化体系（DPPH自由基体系、O₂⁻·体系、·OH体系和还原力测定）对油茶饼粕多糖的抗氧化活性进行了研究。结果发现油茶饼粕多糖具有较好的清除DPPH自由基、O₂⁻·、·OH和一定的还原力，其IC₅₀分别为9.449、0.989、3.5 mg/mL。然而，四体系中油茶饼粕多糖的抗氧化能力均低于等质量浓度的VC。此外，黄威^[66]和Wang Yunfeng^[10]等也证明了茶籽多糖具有一定的抗氧化活性。

4.3 其他功能

Wei Xinlin等^[67]通过体外培养K562人类白血病细胞发现：与对照组相比，在0.5~400 μg/mL范围内茶籽多糖能够显著抑制K562人类白血病细胞的生长，50 μg/mL时其抑制率最高，达（38.43±2.22）%；免疫活性研究表明：茶籽多糖能有效促进小鼠脾脏淋巴细胞的增殖。这表明茶籽多糖可作为天然的抗癌药物。

5 结 语

目前，茶籽多糖的结构研究还处在研究其一级结构中单糖的组成阶段。就多糖一级结构与其生物活性的关系而言，一方面多糖的组成和糖苷键类型对其生物活性有一定影响，另一方面是多糖中的一些官能团（如硫酸酯化多糖）对活性的影响。茶籽多糖的高级结构与其生物活性的关系至今尚不十分清楚，但同蛋白质和核酸一样，立体构型是决定多糖生物活性的决定因素之一；同时，多糖的分子质量、取代基、溶解度、黏度甚至给药剂量、途径等也都影响其生物活性。茶籽原料、提取方法的不同，提取的茶籽多糖组成成分并不完全形同，其功能也会有所差异。

其次，研究者对于茶籽多糖生理活性上的研究很少，且主要集中在促进生长和抗氧化活性方面，而对其他生理活性探索较少；然而，茶籽多糖和茶叶多糖具有

类似的结构特征,其潜在的生理活性价值有助于为茶籽资源的开发利用提供新的途径。研究茶籽多糖的体内抗氧化实验以及抗肿瘤、提高机体免疫力等方面的生物活性实验,探讨茶籽多糖的各种活性机理,研究其构效关系等需要我们进一步去完成。

最后,茶籽多糖作为一种功能性食品或饲料添加剂的开发尚处于起步阶段,具有广阔的市场前景,可大力发展其作为一类新型的保健食品、药品原料和功能性食品添加剂。

参考文献:

- [1] 周素梅,王强.我国茶籽资源的开发利用及前景分析[J].中国食物与营养,2004(3):15-18.
- [2] 刘仲华.茶叶籽高效综合利用途径[J].农业机械,2012(3):22-23.
- [3] 郭华.高档茶籽油的提取及茶籽综合利用技术研究[D].长沙:湖南农业大学,2007.
- [4] TANG Xinhui, YAN Lifang, GAO Jing, et al. Antitumor and immunomodulatory activity of polysaccharides from the root of *Limonium sinense* Kuntze[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51(5): 1134-1139.
- [5] 刘春兰,周宜君,刘海青,等.植物多糖的生物活性及其应用前景[J].中央民族大学学报:自然科学版,2004(2):159-162.
- [6] 程新星,孙黔云,杨娟,等.九种黔产植物多糖的体外免疫调节活性研究[J].贵州师范大学学报:自然科学版,2012(4):5-8.
- [7] 欧阳健明,彭花.植物多糖对细胞氧化损伤的保护和修复作用[J].暨南大学学报:自然科学与医学版,2012(5):516-523.
- [8] 张丽娇,苏志刚,佟巨慧,等.植物多糖对多种肿瘤细胞抑制作用的研究进展[J].广东农业科学,2011(17):117-120.
- [9] 吴谋成.功能性食品研究与应用[M].北京:化学工业出版社,2003:27-28.
- [10] WANG Yuanfeng, MAO Fangfang, WEI Xinlin. Characterization and antioxidant activities of polysaccharides from leaves, flowers and seeds of green tea[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(1): 146-153.
- [11] CHEN Haixia, ZHANG Min, QU Zhishuang, et al. Compositional analysis and preliminary toxicological evaluation of a tea polysaccharide conjugate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(6): 2256-2260.
- [12] CHEN Haixia, WANG Zhaoshuai, LU Xueming, et al. Isolation and chemical characterisation of a polysaccharide from green tea (*Camellia sinensis* L.)[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2008, 88: 2523-2528.
- [13] YANG Jianjun, CHEN Bin, GU Yan. Pharmacological evaluation of tea polysaccharides with antioxidant activity in gastric cancer mice[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(2): 943-947.
- [14] CHEN Haixia, WANG Zhaoshuai, QU Zhishuang, et al. Physicochemical characterization and antioxidant activity of a polysaccharide isolated from oolong tea[J]. European Food Research and Technology, 2009, 229: 629-635.
- [15] CHEN Haixia, QU Zhishuang, FU Lingling, et al. Physicochemical properties and antioxidant capacity of 3 polysaccharides from green tea, oolong tea, and black tea[J]. Journal of Food Science, 2009, 74(6): 469-474.
- [16] NIE Shaoping, XIE Mingyong. A review on the isolation and structure of tea polysaccharides and their bioactivities[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 144-149.
- [17] 卢金珍,孙金龙,任俊,等.绿茶茶多糖提取工艺优化研究[J].现代农业科技,2012,28(7):335-336;339.
- [18] 金婷,谭胜兵.水法提取普洱茶茶多糖条件优化[J].安徽农业科学,2012(12):7382-7384.
- [19] 赵丽平,肖颖,董翠.信阳绿茶中茶多糖提取工艺研究[J].江苏农业科学,2012(10):245-246.
- [20] 陈小强,周琪,叶阳,等.碱性茶多糖的提取及其分析[J].应用化学,2008(12):1496-1498.
- [21] 谢爱泽,邹登峰,章艳,等.丙酮沉淀法提取金花茶多糖的研究[J].安徽农业科学,2011(25):15268-15269.
- [22] 陈明,熊琳媛,袁城.茶叶中多糖提取技术进展及超临界萃取探讨[J].安徽农业科学,2011(8):4770-4771.
- [23] 刘育玲,姚开,贾冬英,等.茶多糖酶法提取的优化条件及其对葡萄糖激酶活性的影响[J].食品科技,2010,35(2):134-137.
- [24] 李星科,彭星星,李素云,等.酶法提取信阳红茶多糖的工艺研究[J].食品工业科技,2012,33(20):168-170;175.
- [25] 许子竞,廖敏富,陈海燕,等.金花茶叶多糖超声波辅助提取工艺优化和含量测定[J].食品科学,2010,31(4):53-58.
- [26] 王晓琴,余岚岚.超声波技术提取乌龙茶多糖工艺及其降血糖活性研究[J].中国农学通报,2010(20):102-105.
- [27] 李鹤,马力,张诗静,等.微波辅助萃取提取茶叶中茶多糖的工艺研究[J].生命科学仪器,2010(4):50-53.
- [28] 陈义勇,裘祥龙,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,2012,33(4):100-103.
- [29] 崔宏春,余继忠,黄海涛,等.茶多糖的提取及分离纯化研究进展[J].茶叶,2011,37(2):67-71.
- [30] 田洪舟,裘爱泳,史小华.茶籽多糖提取工艺的研究[J].中国油脂,2004,29(6):27-29;44.
- [31] 胡平平,李加兴,李忠海,等.油茶饼粕茶皂素与多糖综合提取工艺[J].食品科技,2012,37(2):196-200;204.
- [32] 黄威,胡建华.油茶籽浸出粕提取茶籽多糖的工艺研究[J].中国食品工业,2011,32(2):45-46.
- [33] 杜立春,陈建民,吴蓓莉.从茶油粕分离茶皂素与茶多糖的方法:中国, CN101070334[P]. 2007-11-14.
- [34] 吴世容.黄酮类化合物的提取分离及定量构效关系研究[D].重庆:重庆大学,2005.
- [35] 张忠,李静,花旭斌,等.微波辅助提取茶籽多糖工艺条件的研究[J].四川食品与发酵,2007,43(1):23-25.
- [36] 王瑾,周建平.油茶籽多糖微波辅助提取及纯化[J].中国油脂,2009,34(4):50-53.
- [37] 谷勋刚.超声波辅助提取新技术及其分析应用研究[D].合肥:中国科学技术大学,2007.
- [38] 张忠,李静,李正涛,等.超声波辅助提取茶籽多糖工艺条件的研究[J].安徽农学通报,2007,13(10):49-50;99.
- [39] 谭搏.茶籽饼中茶皂素的提取纯化与茶籽多糖的提取[D].长沙:中南林业科技大学,2009.
- [40] 项昭保,霍丹群,任绍光.一种提取中草药化学成分的新方法:超临界流体萃取技术[J].自然杂志,2002,24(2):103-106.
- [41] 孙爱友,贾士儒,杨扬.超临界流体技术在生物工程中的应用[J].天津轻工业学院学报,2001(4):14-16;27.
- [42] 李博,屠幼英,梅鑫,等.响应面法优化超临界CO₂提取茶籽多糖的工艺研究[J].高校化学工程学报,2010,24(5):897-902.
- [43] 高美凤,俞婷婷.黄芪多糖中脱蛋白方法的研究[J].中华中医药学刊,2008(3):614-615.
- [44] 黄纯,马驰,宋慧智,等.亮菌多糖提取中脱蛋白和脱色方法比较[J].药学与临床研究,2007,15(1):45-46.
- [45] 张斌,张璐,李沙沙,等.甘蔗渣多糖脱蛋白方法研究[J].辽宁中医药大学学报,2012,14(10):101-102.
- [46] 冯丽虹,李孟全,徐红纳,等.咳尔康口服液多糖脱蛋白方法研究[J].安徽医药,2010,14(6):635-636.

- [47] 蔡彬新, 吴成业, 刘淑集. 海地瓜多糖提取条件的优化和脱蛋白的研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(10): 194-196; 199.
- [48] 张坤, 吴皓, 王令充, 等. 四角蛤蜊多糖脱蛋白方法比较[J]. 食品科学, 2011, 32(8): 50-53.
- [49] 董英, 张艳芳, 孙艳辉. 水飞蓟粗多糖脱蛋白方法的比较[J]. 食品科学, 2007, 28(12): 82-84.
- [50] 姜慧燕, 孙培龙, 邵平. 径向流色谱除灵芝多糖中蛋白质和色素的工艺优化[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(3): 84-89.
- [51] 郑晓翠, 苏瑛, 唐咏, 等. 淫羊藿多糖的提取及其蛋白的脱除[J]. 华西药理学杂志, 2009, 24(2): 155-157.
- [52] 孙柘, 邱涛, 袁如月, 等. 粒毛盘菌多糖脱蛋白方法及其条件优化[J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2012, 38(4): 519-523.
- [53] 赵鹏, 张丽华, 李小蓉, 等. 二色补血草多糖脱蛋白工艺研究[J]. 医药导报, 2011, 30(10): 1328-1332.
- [54] 付学鹏, 杨晓杰. 植物多糖脱色技术的研究[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(11): 166-169.
- [55] 许克勇. 大蒜油逆流超临界CO₂萃取及大蒜多糖提取技术研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2005.
- [56] 王熊, 郭宏, 刘宗林. 膜分离技术在食品工业中的应用[J]. 食品科学, 2000, 21(12): 178-180.
- [57] 陶俊, 文汉. 油茶籽多糖分离纯化和结构分析[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 132-135.
- [58] 郭艳红. 从茶籽中提取茶籽油、茶皂素和茶籽多糖研究[D]. 上海: 上海师范大学, 2009.
- [59] 王瑾. 水溶性油茶籽多糖的提取、分离纯化及功能性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- [60] TERMAN A, BRUNK U. The effect of Polbax extract on lipofuscin accumulation in cultured neonatal rat cardiac myocytes[J]. Phytotherapy Research, 2002, 16(2): 180-182.
- [61] HSIEH Y S Y, CHIEN C, LIAO S K S, et al. Structure and bioactivity of the polysaccharides in medicinal plant *Dendrobium huoshanense*[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2008, 16(11): 6054-6068.
- [62] YANG Jianhong, DU Yumin. Chemical modification, characterization and bioactivity of Chinese lacquer polysaccharides from lac tree *Rhus vernicifera* against leukopenia induced by cyclophosphamide[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 52(4): 405-410.
- [63] HOKPUTSA S, HARDING S E, INNGJERDINGEN K, et al. Bioactive polysaccharides from the stems of the Thai medicinal plant *Acanthus ebracteatus*: their chemical and physical features[J]. Carbohydrate Research, 2004, 339(4): 753-762.
- [64] 袁钟宇, 张石蕊, 贺喜, 等. 茶籽多糖及茶皂素对肉鸡生长性能和肠道微生物的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(7): 28-31.
- [65] 李学军, 朱良. 茶籽多糖对生长猪生长性能及抗氧化能力的影响[J]. 饲料广角, 2010(14): 29-30.
- [66] 黄威. 油茶籽脱壳冷榨浸出粕提取茶籽多糖的研究[D]. 武汉: 武汉工业学院, 2011.
- [67] WEI Xinlin, MAO Fangfang, CAI Xuan, et al. Composition and bioactivity of polysaccharides from tea seeds obtained by water extraction[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2011, 49(4): 587-590.