

黄大茶多糖的结构表征及其对3T3-L1前脂肪细胞分化的抑制作用

徐珊, 谢海, 李敏妮, 马妍, 葛慧芳, 李大祥, 谢忠稳, 王红燕

Structural Characterization of Large Yellow Tea Polysaccharides and Its Inhibitory Effects on the Differentiation of 3T3-L1 Preadipocytes

XU Shan, XIE Hai, LI Minni, MA Yan, GE Huifang, LI Daxiang, XIE Zhongwen, and WANG Hongyan

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2024040448>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

新橙皮苷对3T3-L1前脂肪细胞分化的影响及其作用机制

Effects of Neoheesperidin on the Differentiation of Adipocyte and the Underlying Mechanism in 3T3-L1 Preadipocytes

食品工业科技. 2021, 42(12): 125-132 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.20201001641>

青天葵多糖的分离纯化、结构表征及其抗氧化活性分析

Separation, Purification, Structural Characterization and Antioxidation Effects of a Polysaccharide from *Nervilia fordii*

食品工业科技. 2022, 43(22): 61-67 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022010223>

不同茶树品种(系)黄大茶的品质分析

Quality Analysis of Large-leaf Yellow Tea Made from Different Tea Cultivars (Strains)

食品工业科技. 2022, 43(21): 310-318 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022010045>

荞麦蜂花粉多糖的分离纯化及结构鉴定

Isolation, Purification and Structure Identification of Polysaccharides from *Fagopyrum esculentum* Moench Bee Pollen

食品工业科技. 2020, 41(12): 35-40 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.12.006>

黍稷麸皮多糖分离纯化、结构表征及抑菌活性分析

Isolation, Purification, Structure Characterization and Antibacterial Activity of Polysaccharides from Proso Millet Bran

食品工业科技. 2024, 45(10): 1-7 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023090118>

信阳毛尖茶末多糖的分离纯化和体外抗氧化活性研究

Isolation, Purification and *in Vitro* Antioxidant Activity of Tea Dust Polysaccharide from Xinyangmaojian

食品工业科技. 2020, 41(13): 181-186 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.13.029>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

徐珊, 谢海, 李敏妮, 等. 黄大茶多糖的结构表征及其对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的抑制作用 [J]. 食品工业科技, 2025, 46(8): 67–75. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040448

XU Shan, XIE Hai, LI Minni, et al. Structural Characterization of Large Yellow Tea Polysaccharides and Its Inhibitory Effects on the Differentiation of 3T3-L1 Preadipocytes[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(8): 67–75. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040448

· 研究与探讨 ·

黄大茶多糖的结构表征及其对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的抑制作用

徐珊¹, 谢海¹, 李敏妮¹, 马妍¹, 葛慧芳^{1,2}, 李大祥^{1,2}, 谢忠稳^{1,2,*}, 王红燕^{1,2,3,*}

(1. 安徽农业大学食品与营养学院, 茶树种质创新与资源利用全国重点实验室, 安徽合肥 230036;

2. 安徽农业大学大健康研究院食品营养健康联合研究中心, 安徽合肥 230036;

3. 安徽农业大学工业新茶饮绿色制造安徽省联合共建学科重点实验室, 安徽合肥 230036)

摘要: 本文探究黄大茶多糖的结构特征和降脂活性, 为夏秋茶资源的开发利用提供依据。以霍山黄大茶为试验材料提取黄大茶多糖, 对其结构进行表征, 分别采用高效液相凝胶渗透色谱 (High-performance gel-permeation chromatography, HPGPC)、离子色谱 (Ion chromatography, IC)、气质联用色谱 (Gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)、傅里叶红外光谱 (Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)、扫描电镜 (Scanning electron microscope, SEM) 等分析方法测定黄大茶多糖的纯度、分子质量、单糖组成、化学键组成以及糖苷键结构; 同时基于 3T3-L1 前脂肪细胞构建成熟脂肪细胞分化模型, 研究黄大茶多糖干预对 3T3-L1 细胞分化和脂滴累积的影响。结果表明, 黄大茶多糖经水提醇沉以及 DE-52 纤维素阴离子交换层析柱和 Sephadex G-100 凝胶柱纯化分离获得 LYP-W1 组分, HPGPC、IC 和 GC-MS 分析结果显示, LYP-W1 的分子量为 1.25×10^5 Da, 单糖组成为 Ara:Rha:Gal:Glc:Man:GalA:GlcA 为 22.22:8.20:27.59:14.88:5.90:4.09, 糖苷键主要由 Rhap-($\rightarrow 1$)-Araf-($\rightarrow 1$)- $\rightarrow 2$)-Rhap-($\rightarrow 1$)-Glc-($\rightarrow 1$)-Glc-($\rightarrow 1$)-Galp-($\rightarrow 1$)-Galp-($\rightarrow 1$)-Araf-($\rightarrow 1$)- $\rightarrow 2,4$)-Rhap-($\rightarrow 1$)- $\rightarrow 4$)-Galp-($\rightarrow 1$)- $\rightarrow 4$)-GalpA-($\rightarrow 1$)- $\rightarrow 4$)-Glc-($\rightarrow 1$)- $\rightarrow 3,4$)-Manp-($\rightarrow 1$)- $\rightarrow 3,6$)-Galp-($\rightarrow 1$) 等连接方式构成。FTIR 结合 SEM 分析结果显示, LYP-W1 中具有 β -型吡喃糖环, 表面光滑致密, 呈不规则片层薄膜状分布。细胞实验结果显示, LYP-W1 在 50~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈剂量依赖性显著抑制 3T3-L1 细胞的分化并降低其脂质沉积 ($P < 0.05$), 表明黄大茶多糖具有天然降脂的潜力。本研究可为其它茶多糖的提取、纯化及生物活性研究提供参考。

关键词: 黄大茶多糖, 分离纯化, 结构鉴定, 降脂活性

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2025)08-0067-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2024040448



本文网刊:

Structural Characterization of Large Yellow Tea Polysaccharides and Its Inhibitory Effects on the Differentiation of 3T3-L1 Preadipocytes

XU Shan¹, XIE Hai¹, LI Minni¹, MA Yan¹, GE Huifang^{1,2}, LI Daxiang^{1,2},
XIE Zhongwen^{1,2,*}, WANG Hongyan^{1,2,3,*}

(1. National Key Laboratory for Tea Plant Germplasm Innovation and Resource Utilization, School of Food and Nutrition, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

2. Joint Research Center for Food Nutrition and Health of IHM, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

收稿日期: 2024-04-29

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (32302007); 安徽农业大学引进和稳定人才科研资助项目 (yj2020-64); 大学生创新创业训练计划项目 (S202310364219); 安徽特有茶资源健康功效和品质形成的分子机制 (19235026); 国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目 (U19A2034); 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-19); 大健康研究院食品营养健康联合研究中心专项资金资助 (2023SJY02)。

作者简介: 徐珊 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 茶叶营养与健康, E-mail: 1303365578@qq.com。

* **通信作者:** 谢忠稳 (1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 茶叶营养生理与健康功能, E-mail: zhongwenxie@ahau.edu.cn。

王红燕 (1989-), (ORCID: 0000-0002-7611-427X), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 茶叶营养与健康, E-mail: hyanwang@ahau.edu.cn。

3. Anhui Provincial Joint Construction Key Laboratory of Industrial New-style Tea Beverage Green Manufacturing, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: To provide a basis for the development and utilization of summer and autumn tea resources, the structural characteristics and lipid-lowering activity of polysaccharides from large-leaf yellow tea were investigated. The polysaccharides were extracted from Huoshan large-leaf yellow tea, which structural characteristics including purity, molecular weight, monosaccharide composition, functional groups and glycosidic bond types were characterized by high performance gel permeation chromatography (HPGPC), ion chromatography (IC), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), fourier transform infrared spectrometer (FTIR), and scanning electron microscope (SEM). Concurrently, a mature adipocyte differentiation model was established using 3T3-L1 pre-adipocytes to investigate the effects of large-leaf yellow tea polysaccharide intervention on the differentiation and lipid droplet accumulation in 3T3-L1 cells. A homogeneous polysaccharide fraction (LYP-W1) was obtained from large-leaf yellow tea by water extraction, ethanol precipitation, and purification using DE-52 cellulose and Sephadex G-100 chromatography. Structure analysis indicated that LYP-W1 was composed of Ara:Rha:Gal:Glc:Man:GalA:GlcA=22.22:8.20:27.59:14.88:5.90:4.09 with a molecular weight of 1.25×10^5 Da, and its repeat unit of the glycosidic linkages were consisted of Rha β -($\rightarrow$ 1, Ara β -(1 $\rightarrow$, $\rightarrow$ 2)-Rha β -(1 $\rightarrow$, Glc β -(1 $\rightarrow$, GlcA-(1 $\rightarrow$, Gal β -($\rightarrow$ 1, $\rightarrow$ 5)-Ara β -(1 $\rightarrow$, $\rightarrow$ 2,4)-Rha β -(1 $\rightarrow$, $\rightarrow$ 4)-Gal β -($\rightarrow$ 1, $\rightarrow$ 4)-GalpA-(1 $\rightarrow$, $\rightarrow$ 4)-Glc β -(1 $\rightarrow$, $\rightarrow$ 4) $\rightarrow$, $\rightarrow$ 3,4)-Man β -(1 $\rightarrow$, and $\rightarrow$ 3,6)-Gal β -(1 $\rightarrow$. Meanwhile, FTIR and SEM analysis revealed that LYP-W1 contained β -type pyranose rings, with a smooth and compact surface and an irregular lamellar film-like distribution. In addition, LYP-W1 at dose of 50~200 μ g/mL can significantly inhibit the differentiation of preadipocytes lipid deposition in 3T3-L1 cells in a dose-dependent manner, which suggests that LYP-W1 has good lipid-lowering activity ($P < 0.05$). These results provided a scientific basis for the extraction, purification, and investigation of the biological activities of polysaccharides from other tea sources.

Key words: large yellow tea polysaccharide; separation and purification; structural identification; hypolipemic activity

黄大茶属黄茶,主产于安徽省霍山、金寨、岳西等地,是我国特色茶类之一,干茶外形叶大、梗长^[1],制作原料多以夏秋茶为主,资源丰富。此外,其茶汤除了具有独特的锅巴香^[2],还有多种保健功能。大量研究表明,茶多糖是茶叶发挥抗氧化^[3]、抗炎^[4]、免疫调节^[5]和保肝^[6]等多种生物活性的主要功能成分,尤其是茶多糖在降血脂^[7-8]、降血糖^[9-10]、控制肥胖^[11-12]等代谢综合征方面的研究颇受关注。由于不同的茶叶种类、加工工艺和提取方法对茶多糖的结构都有显著影响,因此不同品种茶多糖的生物活性存在差异。本研究利用团队研制的黄大茶“三闷三烘”标准化加工技术制成的干茶水提物已被证明具有降糖降脂活性,但其黄大茶多糖的降脂活性尚无系统研究。

近期研究发现,黄大茶水提物中的多糖含量较红茶、绿茶、黑茶中高,其茶汤可显著降低高脂饮食小鼠的空腹血糖水平,并且能够显著改善胰岛素抵抗的效应,提高胰岛素的敏感性^[13]。课题组前期研究证明,黄大茶水提物作为膳食补充剂可通过抑制糖尿病 db/db 小鼠脂肪积累^[14]以及巨噬细胞对脂肪组织的炎性浸润^[15]进而改善糖脂代谢紊乱和胰岛素抵抗^[16],但其水提物中发挥活性功能的物质基础尚不清楚,因此,黄大茶中多糖的主要活性组分及其理化性质和功效关系亟待明确。

本文在黄大茶前期研究的基础上,通过单因素实验结合正交试验优化黄大茶多糖的提取工艺参数,进一步通过 DEAE-52 阴离子交换柱和 Sephadex G-100 凝胶柱分离纯化黄大茶多糖,并对其进行精细结构解析和降脂活性评价,以期黄大茶多糖发挥降脂

活性的构效关系奠定理论基础,同时为黄大茶多糖降脂相关的膳食补充剂和功能食品的开发提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄大茶 抱儿钟秀茶叶有限公司;3T3-L1 前脂肪细胞 上海生命科学研究院细胞资源中心;DEAE-52 纤维素 索莱宝科技有限公司;葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 合肥博美生物科技有限公司;葡萄糖等单糖标准品 成都德思特生物技术有限公司;CCK-8 试剂盒 江苏碧云天生物有限公司;高糖 DMEM 培养基、胎牛血清 美国 Gibco 公司;Dextran 葡聚糖标准品、地塞米松(Dexamethasone, DEX)、3-异丁基-1-甲基黄嘌呤(3-isobutyl-methyl-xanthine, IBMX) 美国 Sigma 公司。

RV8 旋转蒸发仪 德国 IKA 集团;RA8 低温循环水浴 德国 LAUDA 公司;371 二氧化碳培养箱、Nicolette 傅里叶红外光谱仪、S4800 场发射扫描电子显微镜 日立有限公司;DelsaMaxPro 纳米粒径分析仪 贝克曼库尔特有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 黄大茶多糖的分离纯化

1.2.1.1 黄大茶多糖的提取 参照 Gu 等^[17]方法,将黄大茶烘干、粉碎、过 60 目筛网后,加入 10 倍体积的无水乙醇浸泡 24 h,抽滤,收集沉淀,烘干得脱色脱脂的茶粉末备用;称取 10 g 脱色脱脂后的茶粉,按照料液比 1:30 加入蒸馏水,90 $^{\circ}$ C 条件下浸提 2.5 h,抽滤,收集滤液,重复 2 次提取滤渣,收集 3 次所得

的茶浸提液,经真空浓缩后加入 4 倍体积的无水乙醇,静置 24 h 后,离心收集醇沉物,加入 Sevage 试剂(氯仿:正丁醇=4:1)脱蛋白至无沉淀产生,收集糖溶液,去除残留有机试剂,流水透析 48 h,冷冻干燥得黄大茶多糖。

1.2.1.2 黄大茶多糖得率的测定 根据刘冰^[18]的方法,配制 0.1 mg/mL 的葡萄糖水溶液,分别取 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6 mL 葡萄糖母液于不同试管中,均补充蒸馏水至 1.0 mL,向每个试管中加入 25 μ L 的 80% 苯酚溶液,再加入 2.5 mL 浓硫酸快速摇匀,在 37 $^{\circ}$ C 水浴锅中反应 30 min,于 490 nm 处测定吸光值。以葡萄糖溶液的浓度为横坐标,吸光值为纵坐标,绘制标准曲线。线性回归方程为 $y=16.077x-0.0292(R^2=0.999)$ 。

称取 5 mg 黄大茶多糖于 10 mL 容量瓶定容,取 1 mL 于试管中,按照测定葡萄糖标准曲线的方法测定糖含量,并按式(1)计算黄大茶多糖的得率。

$$\text{黄大茶多糖得率}(\%) = \frac{c \times v \times n}{m} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中, c 为黄大茶多糖的浓度(mg/mL), v 为黄大茶多糖溶液的体积(mL), n 为稀释倍数, m 表示黄大茶干茶质量(mg)。

1.2.1.3 单因素实验 分别设置提取黄大茶多糖的料液比(1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 g/mL)、时间(1、1.5、2、2.5、3 h)、温度(60、70、80、90、100 $^{\circ}$ C)等因素,以黄大茶多糖的得率为指标,考察各因素变量对黄大茶多糖得率的影响,确定最佳提取工艺参数。

1.2.1.4 正交试验 根据单因素实验结果,以黄大茶多糖得率为指标,采用三因素三水平正交试验进行提取工艺优化,正交实验设计的水平因素如表 1。

表 1 正交试验水平因素设计
Table 1 Level and factors of orthogonal test

水平	料液比(g/mL)	提取温度($^{\circ}$ C)	提取时间(h)
1	1:20	80	2.0
2	1:30	90	2.5
3	1:40	100	3.0

1.2.1.5 黄大茶多糖的分离纯化 配制 20 mg/mL 的黄大茶多糖溶液,使用 DEAE-52 纤维素阴离子交换层析柱,分别用蒸馏水和 0.1、0.2、0.3、0.4 mol/L 的 NaCl 溶液进行梯度洗脱,流速为 5 mL/min,通过苯酚-硫酸比色法^[18]在紫外分光光度计 490 nm 波长处测定梯度洗脱液的吸光度,以蒸馏水为空白对照组,洗脱管数作为横坐标,相应的吸光度作为纵坐标,绘制洗脱曲线。收集含糖洗脱峰,经透析(3500 Da, 24 h)、减压浓缩(35 r/min, 55 $^{\circ}$ C, 0.09~0.10 MPa)、冷冻干燥(-50 $^{\circ}$ C, 10 Pa, 48 h),得到黄大茶多糖。

收集水洗组分黄大茶多糖溶液,使用 Sephadex G-100 凝胶柱进一步纯化,用蒸馏水按 0.2 mL/min

流速洗脱,通过苯酚-硫酸比色法检测洗脱液中多糖含量,收集含多糖洗脱液,经减压浓缩(35 r/min, 55 $^{\circ}$ C, 0.09~0.10 MPa)、透析脱盐(3500 Da, 24 h)、真空冷冻干燥(-50 $^{\circ}$ C, 10 Pa, 48 h),得纯化的黄大茶多糖 LYP-W1。分别采用硫酸苯酚法、硫酸咔唑法和考马斯亮蓝法测定 LYP-W1 的中性糖、糖醛酸和蛋白质含量^[19]。

1.2.2 LYP-W1 的结构鉴定

1.2.2.1 LYP-W1 的分子量测定 采用高效凝胶渗透色谱法(High-performance gel-permeation chromatography, HPGPC)测定 LYP-W1 的相对分子量^[20]。分别将 5、25、80、150、420、670 kDa 的葡聚糖标准品配成浓度为 1 mg/mL 的溶液,根据标准品的出峰时间和相对分子量绘制分子量标准曲线。根据标准曲线和黄大茶多糖样品的出峰时间计算其相对分子量。检测条件: Waters Arc HPLC 系统, 2414 示差检测器, TSK G5000 PWxl (7.8 mm $\times$ 300 mm) 和 TSK G4000 PWxl (7.8 mm $\times$ 300 mm) 色谱柱串联; 流动相: 蒸馏水; 柱温: 35 $^{\circ}$ C; 流速: 1 mL/min; 进样量: 10 μ L。

1.2.2.2 LYP-W1 的紫外光谱分析 配制 0.1 mg/mL 的 LYP-W1 溶液,采用紫外分光光度计在 200~400 nm 波长范围内进行扫描。

1.2.2.3 LYP-W1 的特征基团分析 将 2 mg 的 LYP-W1 粉末和 200 mg 溴化钾粉末混合均匀,烘干至恒重,经充分研磨、干燥、固定后压成薄片,置于傅里叶红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)上扫描分析,扫描范围 4000~400 cm^{-1} 。

1.2.2.4 LYP-W1 的离子色谱分析 采用离子色谱法(Ion chromatography, IC)测定 LYP-W1 的单糖组成^[21]。称取 5 mg 的 LYP-W1,加入 3 mol/L 三氟乙酸 2 mL, 120 $^{\circ}$ C 水解 3 h,反应结束后充入氮气至吹干,加入 5 mL 去离子水涡旋混匀, 12000 r/min 离心 5 min,经 0.22 μ m 滤膜过滤后备用。称取单糖标品各 5 mg,包括岩藻糖、鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖、果糖、核糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、氨基半乳糖盐酸盐、盐酸氨基葡萄糖、N-乙酰-D 氨基葡萄糖、古罗糖醛酸和甘露糖醛酸,配制不同浓度梯度的单糖混合标准溶液,测定不同单糖质量,计算各单糖摩尔比。

1.2.2.5 LYP-W1 的甲基化分析 采用气相色谱-质谱联用分析 LYP-W1 的糖苷键类型^[22]。配制 20 mg/mL 的 LYP-W1 溶液,加入 1 mmol/L 的 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺试剂在 37 $^{\circ}$ C 下反应 2 h,加入 HCl 调节 pH 使其始终保持在 4.7 左右。然后加入 2 mol/L 的硼氢化钠溶液 20 mL 反应 1 h,调节 pH 使其始终保持在 7.0 左右。反应结束后,将溶液透析并冷冻干燥,即得到羰基还原的多糖。称取还原后的多糖,经 DMSO 充分溶解,加入

NaOH 粉末,磁力搅拌反应 3 h,冰浴条件下加入无水碘甲烷,避光反应 2 h,反应结束后加适量蒸馏水中止反应,反应液经干燥后加入 4 mol/L 三氟乙酸溶液,100 ℃ 水解 8 h,加入硼氢化钠还原,乙酸酐衍生,经 0.22 μm 有机滤膜过滤后,上机测定分析。

1.2.2.6 LYP-W1 的刚果红分析 配制 2 mg/mL 的 LYP-W1 溶液,加入刚果红溶液,混匀后加入不同终浓度的 NaOH 溶液(0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mol/L),以不含 LYP-W1 溶液的混合溶液作为对照,室温静置反应 10 min,在紫外 400~600 nm 的波长范围内扫描,测定刚果红-黄大茶多糖复合物的最大吸收波长。

1.2.2.7 LYP-W1 的粒径分析 配制 1 mg/mL 的 LYP-W1 溶液,经 0.22 μm 水系膜过滤,利用纳米粒径分析仪在 25 ℃、633 nm 波长、90°散射角条件下测量其粒径。

1.2.2.8 LYP-W1 的扫描电镜分析 取适量 LYP-W1 粉末,粘附于样品台上,置真空喷镀仪内,镀一层导电膜(金)后,在扫描电子显微镜下观察。

1.2.3 LYP-W1 的体外降脂活性

1.2.3.1 LYP-W1 对 3T3-L1 前脂肪细胞活力的影响

选取对数生长期的细胞,消化后调整细胞浓度至 1×10^5 个/mL,以每孔 100 μL 的量接种于 96 孔板,培养至对数生长期,弃去上清液加 PBS 润洗,再加入终浓度分别为 0、25、50、100、200、400、800、1200、1600 μg/mL 的黄大茶多糖,孵育 24 h 后,弃去培养液,每孔加入含 10 μL CCK8 的新培养液,37 ℃ 摇床孵育 2 h,利用酶标仪在 450 nm 条件下测定吸光值。细胞活力按 CCK8 试剂盒说明书计算。

1.2.3.2 3T3-L1 前脂肪细胞的诱导分化

参考 Teng 等^[23]的方法,选取对数生长期的细胞,以每孔 1×10^6 个/mL 接种于 12 孔板中,贴壁接触抑制培养 48 h 后,弃去旧培养基,每孔加入 2 mL 含不同浓度多糖溶液(50、100、200 μg/mL)的诱导液 I(含终浓度为 0.25 mol/L DEXA、0.5 mmol/L IBMX、10 μg/mL 胰岛素的完全培养基),培养 48 h 后,弃去诱导液 I,每孔加入 2 mL 含不同浓度多糖溶液加入诱导液 II(含终浓度为 10 μg/mL 胰岛素的完全培养基)培养 48 h。最后弃去诱导液 II,加入含不同浓度多糖溶液的完全培养基继续培养 6~8 d。分别设置不加诱导液和多糖溶液的为对照组,只加诱导液不加多糖溶液的为模型组。

1.2.3.3 油红 O 染色 3T3-L1 细胞诱导分化结束后,加入 PBS 润洗后,立即加 4% 多聚甲醛组织固定液,固定细胞 30 min,再用蒸馏水清洗 3 次。配制油红 O 染色液(油红 O:水=3:2),每孔加入 1 mL 染色工作液,染色 30 min 后除去,蒸馏水清洗 3 次;在显微镜下观察细胞状态和脂滴积累程度并拍照。最后每孔中加入 1 mL 异丙醇,摇床振荡 15 min 后在酶

标仪 492 nm 处测量吸光值。

1.3 数据处理

实验所得数据通过 Excel 2019 计算分析,利用 GraphPad Prism 8.5 和 Origin2022 进行数据统计作图。所有数据均以平均值±标准差(mean±SD)表示,两组数据之间比较采用 T-test, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 LYP-W1 的分离纯化

2.1.1 单因素实验结果 如图 1A 所示,随着料液比的增加,黄大茶多糖得率呈现上升的趋势,在料液比为 1:30 g/mL 时达到了最高值,但随着料液比持续升高,多糖得率开始下降。分析原因可能是在一定热量的条件下,固相与液相之间会有浓度差,所加的水

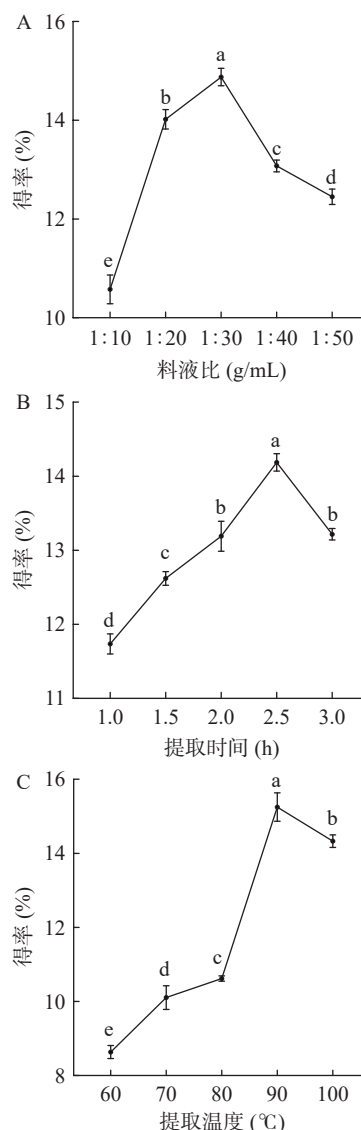


图 1 料液比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)对黄大茶多糖得率的影响

Fig.1 Effects of material-liquid ratio (A), extraction temperature (B) and extraction time (C) on the yield of large yellow tea polysaccharide

注:不同小写字母代表差异显著, $P < 0.05$ 。

越多,茶叶里细胞内外的多糖浓度差就越大,多糖扩散到溶剂中的量就会增加,茶多糖的得率就会上升^[24];但是随着水的持续增加,分子间的吸附作用增强从而导致多糖得率下降^[25]。综合考虑,选取料液比 1:20~1:40 g/mL 进行后续实验。

如图 1B 所示,随着提取时间的增加,多糖得率呈先升后降的趋势,当时间为 2.5 h 时,黄大茶多糖的得率达到最大。原因可能是当提取时间较短时,茶多糖未能充分溶解在水中,但如果提取时间过长,茶多糖的稳定性会降低,多糖结构会被破坏进而影响得率^[26],故选择提取时间 2~3 h 进行后续实验。

如图 1C 所示,当提取温度在 60~90 ℃ 之间时,黄大茶多糖得率呈上升趋势,并且在 90 ℃ 时最大,但当温度超过 90 ℃ 后,黄大茶多糖得率却开始下降。原因可能是随着温度的升高,溶质分子运动加快,有利于多糖从细胞内部溶解析出^[27],但如果温度过高,溶质分子结构遭到破坏,导致多糖分解从而得率下降^[27]。因此选取温度 80~100 ℃ 进行后续实验。

2.1.2 正交试验结果 通过表 2 正交试验直观分析结果可知,3 个因素中对黄大茶多糖得率的影响大小顺序为提取温度>料液比>提取时间。对因素 A 料液比来说,当料液比为 1:30 g/mL 时 K 均值最大;对因素 B 提取温度来说,当温度为 100 ℃ 时 K 均值最大;对因素 C 提取时间来说,当时间为 3 h 时 K 均值最大。由此得出黄大茶多糖最佳提取工艺组合为 A₂B₃C₃,即料液比:1:30 g/mL,提取温度:100 ℃,提取时间:3 h。由表 3 正交试验方差分析结果可知,在

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal experiments

试验号	A料液比(g/mL)	B提取温度(℃)	C提取时间(h)	得率(%)
1	1:20	80	2.0	10.96±0.58
2	1:20	90	2.5	12.65±0.21
3	1:20	100	3.0	16.05±1.05
4	1:30	80	2.5	11.78±0.64
5	1:30	90	3.0	15.44±0.43
6	1:30	100	2.0	17.72±1.18
7	1:40	80	3.0	12.69±0.18
8	1:40	90	2.0	12.95±0.21
9	1:40	100	2.5	17.53±0.14
K ₁	13.223	11.813	13.877	
K ₂	14.982	13.681	13.988	
K ₃	14.392	17.103	14.731	
R	1.759	5.290	0.854	

表 3 正交试验方差分析

Table 3 Analysis of variance of orthogonal tests

因素	偏差平方和	自由度	F值	显著性
料液比	4.807	2	0.376	*
温度	43.225	2	3.384	
时间	1.285	2	0.101	
误差	51.09	8		

注:表中*表示差异显著,P<0.05。

进行黄大茶多糖的提取试验过程中,温度显著影响黄大茶多糖的得率,而料液比和时间对黄大茶多糖的得率影响均不显著。

2.1.3 LYP-W1 的分离纯化 黄大茶粗多糖经 DEAE-52 纤维素离子交换色谱柱分离纯化,依次用蒸馏水和 0.1、0.2、0.3、0.4 mol/L NaCl 溶液进行梯度洗脱,得到五个组分,分别命名为 LYP-W1、LYP-S1、LYP-S2、LYP-S3、LYP-S4(图 2A)。本研究主要收集含量较高的洗脱组分 LYP-W1,对其进行 Sephadex G-100 再次纯化,纯化后的 LYP-W1 呈现出单一对称的峰(图 2B)。经测定,LYP-W1 中糖含量为 43.96%±0.43%;糖醛酸含量为 38.04%±1.40%;蛋白质含量为 1.44%±0.49%。表明 LYP-W1 的分离效果较好,纯度较高,可以用于后续结构分析。

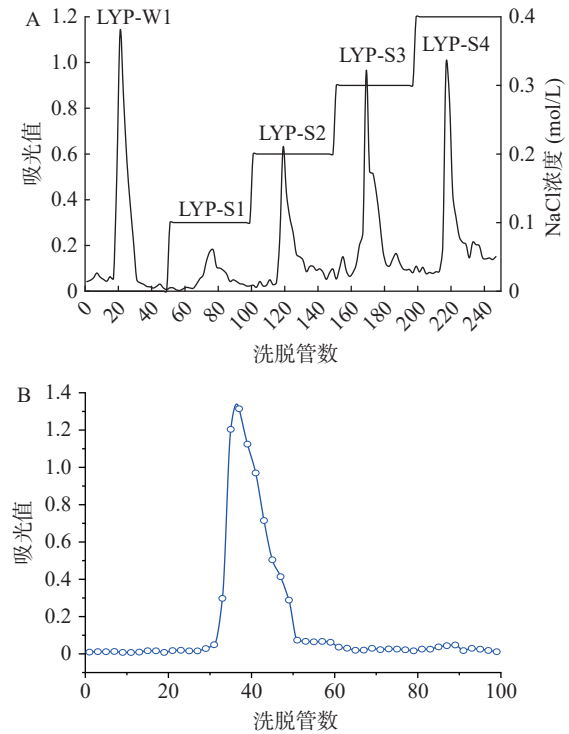


图 2 黄大茶多糖的分级纯化洗脱曲线

Fig.2 Elution curves of large yellow tea polysaccharides
注:A: DEAE-52 纤维素离子交换层析柱洗脱曲线;B: 葡聚糖凝胶 Sephadex G-100 层析柱洗脱曲线。

2.2 LYP-W1 的结构鉴定

2.2.1 LYP-W1 的分子量 利用 HPGPC 法测定 LYP-W1 的相对分子质量,如图 3 所示,LYP-W1 为单一对称峰,说明 LYP-W1 经分离纯化后为均一性多糖。LYP-W1 的保留时间为 36.58 min,根据标准品分子量曲线,计算出 LYP-W1 的分子量为 1.25×10⁵ Da。

2.2.2 LYP-W1 的紫外光谱和红外光谱分析 已知核酸的紫外吸收峰是 260 nm,蛋白质的紫外吸收峰是 280 nm,如图 4A,LYP-W1 在 260 nm 处无吸收峰,在 280 nm 处有微弱吸收峰,说明在 LYP-W1 中不含核酸,蛋白质含量很低。

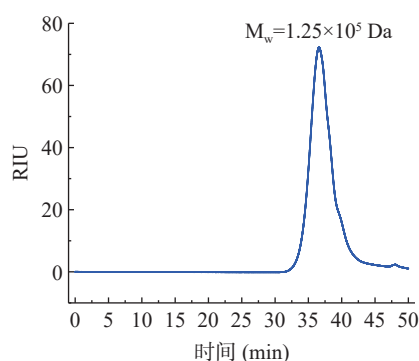


图3 LYP-W1 的分子量分布图

Fig.3 Molecular weight distribution of LYP-W1

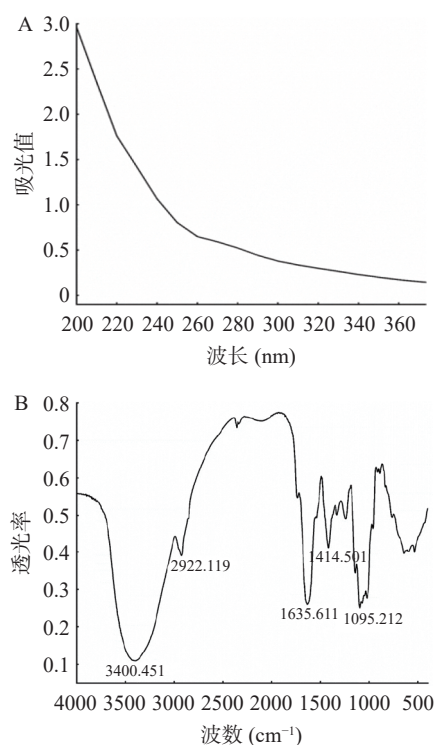


图4 LYP-W1 的紫外光谱图(A)和红外光谱图(B)

Fig.4 UV spectra (A) and FTIR spectra (B) of LYP-W1

LYP-W1 的 FTIR 结果显示如图 4B, 3400 cm^{-1} 处的吸收峰归属于糖分子内或分子间 O-H 伸缩振动的结果; 2900 cm^{-1} 处的吸收峰是糖类物质 C-H 伸缩振动导致的结果; 1400 cm^{-1} 处的吸收峰是糖类 C-H 变角振动引起的^[28]; 以上这三类吸收峰均是糖类物质的特征峰。此外, 1640 cm^{-1} 处的吸收峰是 -COOH 中的羰基(C=O)引起的, 这说明 LYP-W1 中含有糖醛酸^[29], 与之前理化性质测定的结果相吻合。 1100 cm^{-1} 处的吸收峰对应着吡喃糖环中 C-O-C 和 C-O-H 两种伸缩振动, 也是葡聚糖典型的红外光谱信号^[30]; $900\sim 800\text{ cm}^{-1}$ 处的峰归属于吡喃糖环的弯曲振动, 表明 LYP-W1 中具有吡喃糖环的骨架。Wang 等^[28] 和 Chen 等^[29] 分别用超声和超高压提取黄大茶多糖, 在分子量、单糖组成和糖苷键连接方式上与 LYP-W1 有显著差异, 但红外光谱扫描的结果与本文相比较, 多糖类物质典型的主吸收峰没有发生变

化, 说明水提、超声和高压辅助提取都没有改变黄大茶多糖的基本官能团。

2.2.3 LYP-W1 的单糖组成 采用带脉冲安培检测器的 IC 对 LYP-W1 黄大茶多糖的单糖组成进行分析, 如图 5 所示, 通过与单糖标准品的谱图比对, LYP-W1 主要由阿拉伯糖 Ara、鼠李糖 Rha、半乳糖 Gal、葡萄糖 Glc、甘露糖 Man、半乳糖醛酸 GalA、葡萄糖醛酸 GlcA 组成, 其摩尔比分别为 Ara: Rha: Gal: Glc: Man: GalA: GlcA=22.22: 8.20: 27.59: 14.88: 5.90: 4.09。LYP-W1 的单糖组成与已发表文献所报道的茶多糖的单糖组成具有相似性^[28], 但具体组成摩尔比例有显著差异, 这可能与不同茶类的加工方式和提取方法有关。

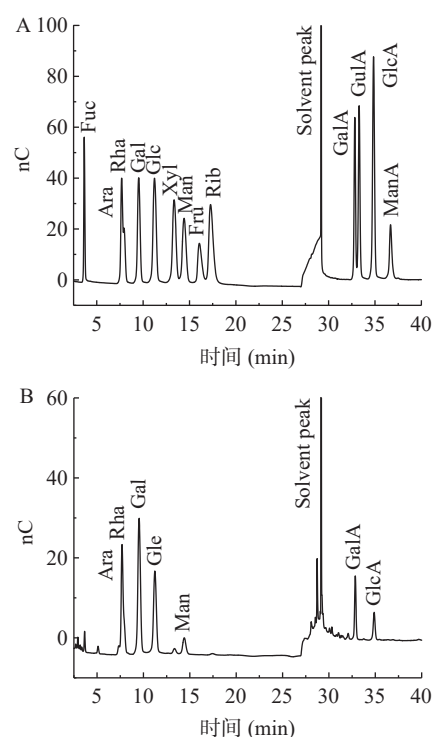


图5 LYP-W1 的单糖组成分析

Fig.5 Analysis of monosaccharide composition of LYP-W1

注: A: 单糖混合标准品; B: LYP-W1。

2.2.4 LYP-W1 的糖苷键组成和连接方式 为了确定 LYP-W1 的糖苷键类型, 将 LYP-W1 甲基化后, 通过水解和衍生获得甲基化的糖醇乙酸酯(PMAA)产物, 结果如表 4 所示, 根据甲基化的糖醇乙酸酯的裂解规律和碎片质谱峰, 对照标准谱库, 推测出 LYP-W1 中的糖苷键主要有 Rhap-($\rightarrow 1$ 、Araf-($1\rightarrow$ 、 $\rightarrow 2$)-Rhap-($1\rightarrow$ 、Glc-($1\rightarrow$ 、GlcA-($1\rightarrow$ 、Gal-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 5$)-Araf-($1\rightarrow$ 、 $\rightarrow 2,4$)-Rhap-($1\rightarrow$ 、 $\rightarrow 4$)-Gal-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 4$)-GalA-($1\rightarrow$ 、 $\rightarrow 4$)-Glc-($1\rightarrow$ 、 $\rightarrow 3,4$)-Man-($1\rightarrow$ 、 $\rightarrow 3,6$)-Gal-($1\rightarrow$ 等 13 种连接方式。

2.2.5 LYP-W1 的构象和微观结构 刚果红能与三股螺旋多糖结合形成络合物, 改变多糖的最大吸收波长, 刚果红-多糖络合物的最大吸收波长会产生红

表 4 LYP-W1 的甲基化分析数据
Table 4 Methylation analysis of LYP-W1

序号	连接方式	衍生物名称	保留时间(min)	相对摩尔比(%)
1	t-Rha(<i>p</i>)	1,5-di-O-acetyl-6-deoxy-2,3,4-tri-O-methyl rhamnitol	5.703	3.612
2	t-Ara(<i>f</i>)	1,4-di-O-acetyl-2,3,5-tri-O-methyl arabinitol	5.969	12.955
3	2-Rha(<i>p</i>)	1,2,5-tri-O-acetyl-6-deoxy-3,4-di-O-methyl rhamnitol	8.778	3.265
4	t-Glc(<i>p</i>)	1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl glucitol	8.933	3.521
5	t-Glc(<i>p</i>)-UA	1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl glucitol	8.933	1.509
6	t-Gal(<i>p</i>)	1,5-di-O-acetyl-2,3,4,6-tetra-O-methyl galactitol	9.927	11.058
7	5-Ara(<i>f</i>)	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3-di-O-methyl arabinitol	10.58	4.619
8	2,4-Rha(<i>p</i>)	1,2,4,5-tetra-O-acetyl-6-deoxy-3-O-methyl rhamnitol	12.414	4.424
9	4-Gal(<i>p</i>)	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl galactitol	13.792	15.882
10	4-Gal(<i>p</i>)-UA	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl galactitol	13.792	15.882
11	4-Glc(<i>p</i>)	1,4,5-tri-O-acetyl-2,3,6-tri-O-methyl glucitol	14.076	4.740
12	3,4-Man(<i>p</i>)	1,3,4,5-tetra-O-acetyl-2,6-di-O-methyl mannitol	15.12	3.327
13	3,6-Gal(<i>p</i>)	1,3,5,6-tetra-O-acetyl-2,4-di-O-methyl galactitol	18.928	4.111

移^[31]。因此可利用刚果红试剂来判断多糖中是否存在三股螺旋结构。如图 6A 所示,随着 NaOH 浓度的增加,刚果红与 LYP-W1 络合物的最大吸收波长减小,最后趋于稳定,表明 LYP-W1 不具有三股螺旋结构。

粒径是描述溶液中聚合物大小的重要参数之

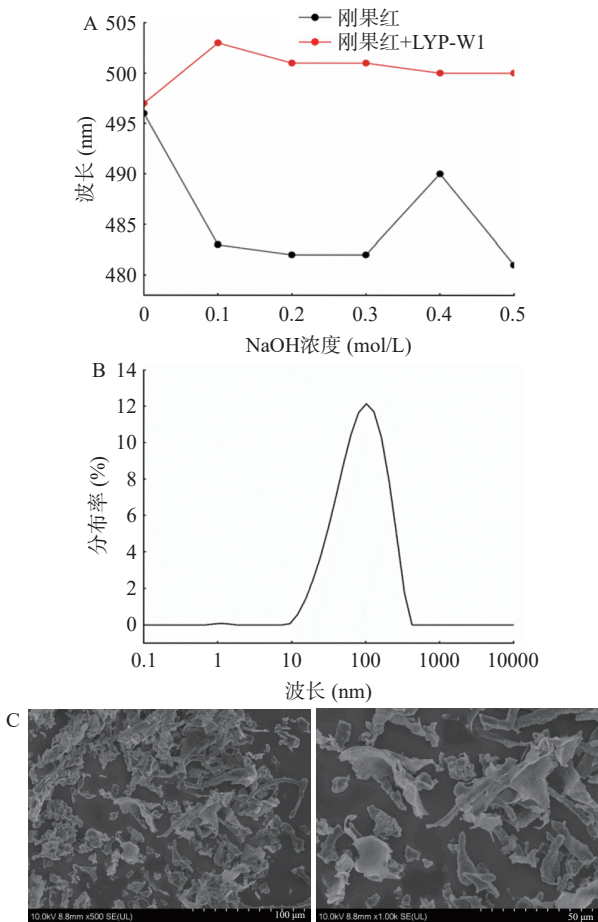


图 6 LYP-W1 的构象和微观结构

Fig.6 Conformation and microstructure of LYP-W1

注: A: LYP-W1 与刚果红在不同浓度 NaOH 下的最大吸收波长; B: LYP-W1 的粒径分布图; C~D: LYP-W1 扫描电镜图, C 图放大倍数为 500 倍, D 图放大倍数为 1000 倍。

一,其影响多糖在生物体内的代谢,粒径减小,有利于多糖发挥生物活性^[32]。利用纳米粒径分析仪测定 LYP-W1 的粒径大小,如图 6B 所示,LYP-W1 的粒径大小主要集中在 10~1000 nm,LYP-W1 的平均粒径是 39.52 nm。

为进一步研究 LYP-W1 的微观结构,利用扫描电镜观察 LYP-W1 表面微观形态。如图 6C~图 6D 所示,在高倍镜下,LYP-W1 呈不规则片层薄膜状分布,边缘有不规则层片状堆叠,表面光滑致密。

2.3 黄大茶多糖 LYP-W1 对 3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化的抑制作用

2.3.1 LYP-W1 对 3T3-L1 细胞活力的影响 采用 CCK8 法检测 LYP-W1 对 3T3-L1 前脂肪细胞的活性影响。如图 7 所示,与对照组相比,LYP-W1 在 25~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内对 3T3-L1 细胞的活力无显著影响,说明 0~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内 LYP-W1 对细胞没有毒性。但当浓度在 400~1200 $\mu\text{g/mL}$ 时,LYP-W1 显著抑制了 3T3-L1 细胞的活力($P<0.01$)。根据细胞活力实验,选择 50、100 和 200 $\mu\text{g/mL}$ 的 LYP-W1 进行后续实验。

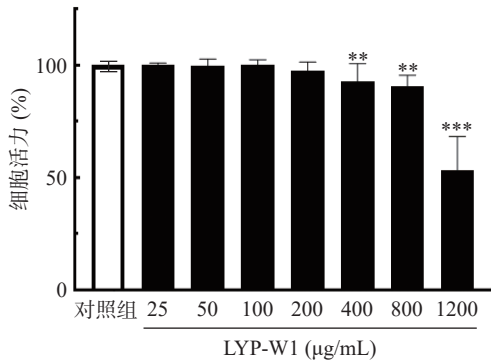


图 7 LYP-W1 对 3T3-L1 细胞活力的影响

Fig.7 Effects of LYP-W1 on the viability of 3T3-L1 cells

注: ** $P<0.01$ 差异十分显著; *** $P<0.001$ 差异极显著。

2.3.2 LYP-W1 对 3T3-L1 细胞分化和脂滴积累的影响 油红 O 是一种脂溶性染料,能特异性地与脂

肪组织和细胞内的中性甘油三脂、脂质以及脂蛋白产生吸附作用从而使脂肪染色^[23]。成熟脂肪细胞除了分泌的脂滴会被染成红色,其他的细胞结构不会与油红 O 染料结合,因此可根据油红 O 染色进行判定脂肪细胞在成熟分化过程中的脂质沉积情况^[33]。如图 8A 所示,与对照组相比,模型组和不同浓度的 LYP-W1 干预组细胞的油红 O 染色程度明显,LYP-W1 在 50~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内均能减少细胞内的脂滴生成量,并呈剂量依赖性抑制作用。

进一步利用异丙醇溶解与细胞内脂质结合的油红 O,在波长为 510 nm 的条件下,检测分析 LYP-W1 对 3T3-L1 前脂肪细胞的分化程度。结果如图 8B 所示,与对照组相比,模型组吸光值显著增加,说明 3T3-L1 前脂肪细胞被成功诱导为成熟脂肪细胞。与模型组相比,随着 LYP-W1 给药浓度的增加,细胞分化率均呈显著下降趋势($P<0.05$),当 LYP-W1 浓度达到 200 $\mu\text{g/mL}$ 时,LYP-W1 对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的抑制率达到 38.42%。说明 LYP-W1 可显著抑制 3T3-L1 细胞的分化,减少细胞内脂质积累,并且呈剂量依赖性抑制作用。降血脂作为多糖最显著的活性之一,李娟等^[34]比较了绿茶、红茶和乌龙茶多糖 3T3-L1 前脂肪细胞分化的抑制作用,结果发现三种茶多糖均能显著抑制 3T3-L1 的分化,其中绿茶多糖的抑制效果最好,并且通过激活 AMPK 信号通路调控相关脂肪细胞因子的表达,最终抑制 TG 的合成。这可能和绿茶多糖中的糖醛酸含量明显高于其他两种多糖有关,糖醛酸在减肥和降脂方面发挥着重要作用^[35]。

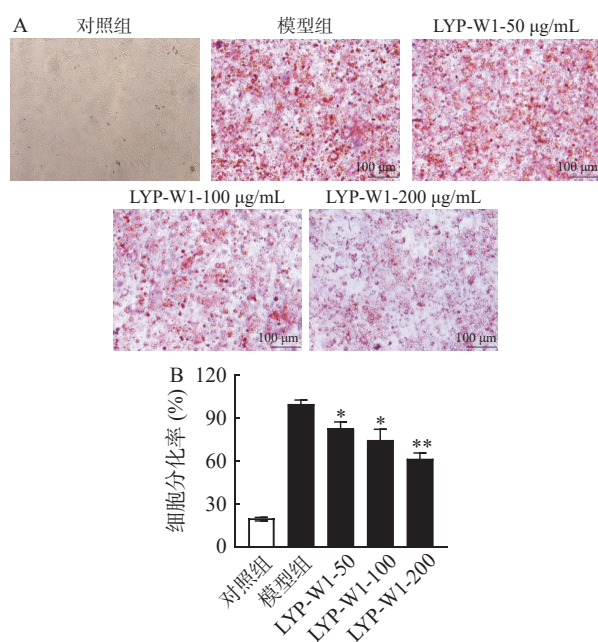


图 8 LYP-W1 对 3T3-L1 前脂肪细胞成脂分化的抑制作用

Fig.8 Inhibitory effects of LYP-W1 on adipogenic differentiation of 3T3-L1 preadipocytes

注: A: 3T3-L1 细胞的油红 O 染色; B: 3T3-L1 细胞的分化率; * $P<0.05$ 差异显著; ** $P<0.01$ 差异十分显著。

3 结论

黄大茶多糖最佳提取工艺为:料液比 1:30 g/mL ,提取温度 100 $^{\circ}\text{C}$,提取时间 3 h。在该提取条件下分离纯化的黄大茶多糖 LYP-W1 的分子量为 1.25×10^5 Da,粒径为 39.52 nm,单糖组成为 Ara:Rha:Gal:Glc:Man:GalA:GlcA=22.22:8.20:27.59:14.88:5.90:4.09,糖苷键主要由 Rhap-($\rightarrow 1$ 、Araf-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 2$)-Rhap-($\rightarrow 1$ 、GlcP-($\rightarrow 1$ 、GlcP-($\rightarrow 1$ 、Galp-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 5$)-Araf-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 2,4$)-Rhap-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 4$)-Galp-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 4$)-GalpA-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 4$)-GlcP-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 3,4$)-Manp-($\rightarrow 1$ 、 $\rightarrow 3,6$)-Galp-($\rightarrow 1$ 组成,属于含有 β 构型的吡喃多糖,表面光滑致密,呈不规则片层薄膜状分布。LYP-W1 能够显著抑制 3T3-L1 前脂肪细胞的分化和脂滴积累,具有良好的降脂活性,但有关 LYP-W1 抑制前脂肪细胞成脂分化的分子机制还有待进一步研究。本研究旨在为夏秋茶资源的充分利用提供技术支撑,同时为黄大茶多糖的构效关系研究提供一定的物质基础参考。

© The Author(s) 2025. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

- [1] 汪礼品, 衡永志. 霍山黄大茶机械加工技术[J]. 茶业通报, 2021, 43(1): 41-42. [WANG L P, HENG Y Z. Huoshan huangda tea mechanical processing technology[J]. Journal of Tea Business, 2021, 43(1): 41-42.]
- [2] 裴子莹, 赫桂影, 刘或辰, 等. 黄大茶特征“锅巴香”的关键呈香物质鉴定[J]. 食品科学, 2023, 44(12): 289-297. [PEI Z Y, HE G Y, LIU Y C, et al. Characterization of the key aroma-active compounds responsible for the rice cruse-like aroma of Large-Leafed Yellow Tea (*Camellia sinensis*)[J]. Food Science, 2023, 44(12): 289-297.]
- [3] LIU J B, LIN J, HUANG Z H, et al. Chemical characterization of Tianshan green tea polysaccharides and its protective effects on cell oxidative injury[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(1): e14000.
- [4] LIU L Q, NIE S P, SHEN M Y, et al. Tea polysaccharides inhibit colitis-associated colorectal cancer via interleukin-6/STAT3 pathway[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2018, 66(17): 4384-4393.
- [5] JI S H, SUN J, BIAN C C, et al. PKA/ATGL signaling pathway is involved in ER stress-mediated lipolysis in adipocytes of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Fish Physiology Biochemistry, 2022, 48(3): 683-691.
- [6] WANF J Y, LIU W, CHEN Z Q, et al. Physicochemical characterization of the oolong tea polysaccharides with high molecular weight and their synergistic effects in combination with polyphenols on hepatocellular carcinoma[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 90(1): 160-170.
- [7] CHEN G J, XIE M H, WAN P, et al. Fuzhuan brick tea polysaccharides attenuate metabolic syndrome in high-fat diet induced mice in association with modulation in the gut microbiota[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2018, 66(11): 2783-2795.

- [8] LI H S, FANF Q Y, NIE Q X, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic mechanism of tea polysaccharides on type 2 Diabetic rats via gut microbiota and metabolism alteration[J]. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2020, 68(37): 10015–10028.
- [9] WU Z, ZENG W Z, ZHANG X, et al. Characterization of acidic tea polysaccharides from yellow leaves of Wuyi Rock tea and their hypoglycemic activity via intestinal flora regulation in rats[J]. *Foods*, 2022, 11(4): 617.
- [10] XIANG G, SUN H P, CHEN Y Y, et al. Antioxidant and hypoglycemic activity of tea polysaccharides with different degrees of fermentation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 228: 224–233.
- [11] ZHU M Z, OUYANG J, ZHOU F, et al. Polysaccharides from Fu brick tea ameliorate obesity by modulating gut microbiota and gut microbiota-related short chain fatty acid and amino acid metabolism[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2023, 118: 109356.
- [12] 欧阳建, 周方, 卢丹敏, 等. 茶多糖调控肥胖作用研究进展[J]. *茶叶科学*, 2020, 40(5): 565–575. [OUYANG J, ZHOU F, LU D M, et al. Research progress of tea polysaccharides in regulating obesity[J]. *Journal of Tea Science*, 2020, 40(5): 565–575.]
- [13] HAN M M, ZHAO G S, WANG Y J, et al. Safety and anti-hyperglycemic efficacy of various tea types in mice[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 31703.
- [14] TENG Y, LI D X, GURUVAIAH P, et al. Dietary supplement of large yellow tea ameliorates metabolic syndrome and attenuates hepatic steatosis in db/db mice[J]. *Nutrients*, 2018, 10(1): 75–92.
- [15] WANG H Y, XU S, LI D X, et al. Structural characterization and macrophage polarization-modulating activity of a novel polysaccharide from large yellow tea[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(39): 12565–12576.
- [16] WANG H Y, WANG L, CHENG H J, et al. Large yellow tea polysaccharides ameliorate obesity-associated metabolic syndrome by promoting M2 polarization of adipose tissue macrophages[J]. *Food & Function*, 2023, 14(20): 9337–9349.
- [17] GU Y G, QIU Y, WEI X, et al. Characterization of selenium-containing polysaccharides isolated from selenium-enriched tea and its bioactivities[J]. *Food Chemistry*, 2020, 126371.
- [18] 刘冰. 霍山石斛(栽培)多糖化学结构系统解析及抗胃癌活性构效关系研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2021. [LIU B. Study on chemical structural characteristics and relationship between structure and anti-gastric cancer activity of polysaccharides from cultivated *Dendrobium huoshanense*[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2021.]
- [19] 邵淑宏. 乌龙茶多糖理化性质及抗氧化、降血糖活性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2015. [SHAO S H. Physicochemical properties, antioxidant and hypoglycemic activities of the polysaccharides from Oolong tea[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2015.]
- [20] QIN H N, HUANG L, TENG J W, et al. Purification, characterization, and bioactivity of Liupao tea polysaccharides before and after fermentation[J]. *Food Chemistry*, 2021, 353: 129419.
- [21] ZHU J X, ZHOU H, ZHANG J Y, et al. Valorization of polysaccharides obtained from dark tea: preparation, physicochemical, antioxidant, and hypoglycemic properties[J]. *Foods*, 2021, 10(10): 2276.
- [22] ZHU M Q, HUANG R M, WEN P, et al. Structural characterization and immunological activity of pectin polysaccharide from kiwano (*Cucumis metuliferus*) peels[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 254: 117371.
- [23] TENG C, SHI Z X, YAO Y, et al. Structural characterization of quinoa polysaccharide and its inhibitory effects on 3T3-L1 adipocyte differentiation[J]. *Foods*, 2020, 9(10): 1511.
- [24] 宋姗姗, 杨艾华, 王微微, 等. 湄潭白茶多糖提取工艺优化及其抑菌活性研究[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(13): 230–234. [SONG S S, YANG A H, WANG W W, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(13): 230–234.]
- [25] 帅良, 廖玲燕, 段振华, 等. 百香果果皮多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(18): 150–156. [SHUAI L, LIAO L Y, DUAN Z H, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from passion fruit peel and its antioxidant activity[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2020, 41(18): 150–156.]
- [26] 张雅丹, 赵梦倩, 杨煜俊, 等. 铁皮石斛多糖提取及对羟基自由基诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡的抑制作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(14): 286–293. [ZHANG Y D, ZHAO M Q, YANG Y J, et al. Extraction of polysaccharides from dendrobium officinale and their inhibition effect on hydroxyl radical-induced apoptosis of SH-SY5Y cells[J]. *Food Science*, 2020, 41(14): 286–293.]
- [27] 吴翔, 徐雅芃, 魏秀兰, 等. 响应面法优化瓜蒌皮中粗多糖提取工艺[J]. *农产品加工*, 2023(22): 57–60, 65. [WU X, XU Y W, WEI X L, et al. Optimization of extraction process of crude polysaccharide from *Pericarpium trichosanthes* by response surface method[J]. *Farm Products Processing*, 2023(22): 57–60, 65.]
- [28] WANG H S, CHEN J R, REN P F, et al. Ultrasound irradiation alters the spatial structure and improves the antioxidant activity of the yellow tea polysaccharide[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 70: 105355.
- [29] CHEN H, HUANG Y Z, ZHOU C C, et al. Effects of ultrahigh pressure treatment on structure and bioactivity of polysaccharides from large leaf yellow tea[J]. *Food Chemistry*, 2022, 387: 132862.
- [30] YAN J K, YU Y B, WANG C, et al. Production, physicochemical characteristics, and *in vitro* biological activities of polysaccharides obtained from fresh bitter melon (*Momordica charantia* L.) via room temperature extraction techniques[J]. *Food Chemistry*, 2021, 337: 127798.
- [31] GUO X Y, KANG J, XU Z Y, et al. Triple-helix polysaccharides: Formation mechanisms and analytical methods[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 262: 117962.
- [32] ZHANG J X, YANG X, JI T, et al. Digestion and absorption properties of Lycium barbarum polysaccharides stabilized selenium nanoparticles[J]. *Food Chemistry*, 2022, 373(Pt B): 131637.
- [33] CHOI Y, KIM D S, LEE M C, et al. Effects of bacillus subtilis-fermented white sword bean extract on adipogenesis and lipolysis of 3T3-L1 adipocytes[J]. *Foods*, 2021, 10(6): 1423.
- [34] 李娟, 刘锐, 吴涛, 等. 不同茶多糖对 3T3-L1 前脂肪细胞分化的抑制作用比较(英文)[J]. *食品科学*, 2017, 38(21): 187–194. [LI J, LIU R, WU T, et al. Comparative study of the anti-obesity effects of green, black and oolong tea polysaccharides in 3T3-L1 preadipocytes[J]. *Food Science*, 2017, 38(21): 187–194.]
- [35] XU A A, LAI W Y, CHEN P, et al. A comprehensive review on polysaccharide conjugates derived from tea leaves: Composition, structure, function and application[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 114: 83–99.