

普洱茶多糖的提取及降血糖的研究

周斌星,孔令波,陈军贤
(云南农业大学普洱茶学院,昆明650201)

摘要:从云南大叶种晒青毛茶经潮水渥堆做成的普洱茶中,提取茶叶多糖,通过分离、纯化得到纯品茶多糖(TPS),配制成不同浓度的茶多糖溶液,以研究测定其对小鼠降血糖效果的差异;在动物活体试验中共设4组:正常对照组、模型对照组、低剂量注射组、高剂量注射组。采用腹腔注射,正常对照组和模型对照组注入同等体积的蒸馏水。糖尿病试验小鼠选择经四氧嘧啶诱发造模后合格的小鼠,观测其体重与血糖的变化情况,为期一周。试验结果表明:(1)普洱茶多糖具有促进糖尿病小鼠体重恢复的作用,但无显著性差异。(2)普洱茶多糖能有效的降低糖尿病小鼠的血糖值,高剂量的普洱茶多糖(160 mg/kg)比低剂量的普洱茶多糖(80 mg/kg)降血糖效果要好,在统计上降血糖幅度差异性显著($P<0.05$),并且呈现一定剂量-反应关系。

关键词:普洱茶;茶多糖;糖尿病小鼠;血糖值

中图分类号:S571.1

文献标识码:A

论文编号:2009-0851

Study on Extraction of Pu'er Tea Polysaccharides and Hypoglycemic

Zhou Binxing, Kong Lingbo, Chen Junxian

(College of Pu'er Tea, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201)

Abstract: In this experiment, extract polysaccharides from pu'er tea. The pu'er tea polysaccharide make through the separation and purification, then prepare of different concentrations of tea polysaccharide solution. In vivo tests in animals for four groups of Communist China: normal control group, diabetes mellitus (DM) model for the control group, diabetes 80 mg/(kg·d) dose injection group, diabetes 160 mg/(kg·d) dose injection group, Normal control group and model control group injected the same volume of distilled water and used the intraperitoneal injection. Choice test in mice diabetic by alloxan-induced model in mice after the qualified, Observed their body weight and blood glucose changes during one week. The results showed that: (1) The pu'er tea polysaccharide have the resumption of the promotion of the polysaccharide tea weight of diabetic mice, however, no significant difference. (2) The pu'er tea polysaccharide could effectively lower blood glucose levels in diabetic mice, The high doses of tea polysaccharide (160 mg/kg) relate hypoglycemic effect better than low doses of tea polysaccharide (80 mg/kg). The hypoglycemic rate was significantly higher in statistics ($P<0.05$), and have a dose - response relationship.

Key words: Pu'er tea, tea polysaccharides, diabetic mice, blood sugar level

0 引言

糖类是自然界最多的有机化合物,也是重要的生物高分子和重要的信息分子。多糖及糖复合物分布广

泛,功能多种多样,它们参与了细胞对多种生命活动的调节。有的多糖具有特殊生物活性,是一种免疫调节剂,且无毒副作用,而被作为临床用药或疫苗^[1]。在茶

基金项目:国家课题“普洱茶深加工产品研究开发”(2007BAD58B03)。

第一作者简介:周斌星,男,1963年出生,云南昆明人,副教授,硕士生导师,主要从事茶叶深加工产品的研发及保健功效方面研究。通信地址:650201 云南农业大学普洱茶学院。E-mail: bxzhou01@yahoo.com.cn。

通讯作者:孔令波,男,1984年出生,山东泰安人,硕士研究生,主要从事茶叶深加工产品研发及保健功效方面研究。通信地址:650201 云南农业大学普洱茶学院研究生班。E-mail: klb20021073@163.com。

收稿日期:2009-04-22,修回日期:2009-05-16。

叶中也存在一种水溶性多糖,具有多种特殊的生物活性,称之为茶多糖(Tea polysaccharide, TPS)^[2]。它能降血糖、防糖尿病,还具有降血脂、抗动脉粥样硬化、降血压、抗凝血、抗血栓、防治心血管疾病等作用,而且它还能使血清凝集素抗体增加,从而增强机体免疫功能^[3-7]。

糖尿病是一种严重危害人类健康的疾病,全世界的糖尿病患者已超过3亿^[8]。在中国,随着经济的发展和人们饮食结构的改变,以及人口的老龄化,糖尿病患者的数量急剧增加,预计到2010年糖尿病患者可能达到6300万,居世界首位^[9]。糖尿病病程长,又易诱发多种急、慢性并发症,给患者的身心健康带来了巨大的威胁。当前临床上常用的口服降血糖药虽然在降血糖方面有一定的效果,但大家存在或大或小的副作用^[10]。因此,寻找高效、无毒副作用的天然降糖因子已成为当前的迫切需要。普洱茶作为云南传统名茶,有着悠久的历史,随着社会的发展,生活的提高,人们逐渐的接触普洱茶、喝上普洱茶、爱上普洱茶,此时大家对普洱茶的保健功效提上议程,都希望在喝普洱茶的同时,还能对身体起到保健作用。广大的茶叶界学者也在这一方面做了不少研究。经证实茶叶降血糖保健功效上的研究,都局限在其他茶类^[11-17],比如,受很多饮茶者喜欢的乌龙茶、绿茶、红茶等,而普洱茶的有关降血糖的研究甚少^[18]。当今,随着普洱茶的热潮,不少学者也参与到有关普洱茶降血糖的研究当中。但是很多报道,都是有关普洱茶汤、及其中茶多酚、茶色素等降血糖的研究^[19]。普洱茶多糖的降血糖的研究现在也有报道^[20],但未成系统。多年来,通过广大茶叶界同仁们的努力,现在对普洱茶中的多糖类物质的提取工艺已成熟,相应的动物活体试验技术也已成熟稳定^[21]。采用实验室法从普洱茶成品中提取茶多糖晶体,用于动物活体试验。以此证明普洱茶多糖的降血糖的作用^[22],为广大喝普洱茶、爱普洱茶和即将喝普洱茶的茶叶爱好者提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试材料 市销粗老普洱茶。

1.1.2 仪器设备 分液漏斗(100 ml, 250 ml)、三角瓶(500 ml)、具塞试管、移液管(1 ml)、分液漏斗(100 ml、250 ml)、量筒(10 ml、25 ml)、烧杯(500 ml、800 ml)、旋转蒸发器、抽滤装置、磨碎机、721型分光光度计、电子天平、恒温水浴锅、透析设备、离心机、玻璃棒。One Touch Basic 稳捷基础型血糖仪(美国强生集团理康公司制造)、HIMAC 低温超速离心机(日本 HITACHI 公司制造)、低温冰箱(日本 SANYO 公司制造)。

1.1.3 试剂 四氧嘧啶(ALLOXAN)(SIGMA 公司产品)、葡萄糖测定试剂盒(宁波市慈城生化试剂厂产品)、无水乙醇、Sevag 试剂(氯仿:正丁醇=5:1, V:V)、95%乙醇、乙醚、丙酮、氯仿、正丁醇、蒽酮-硫酸试剂,其他试剂均为国产分析纯。

1.1.4 主要试剂配制 茶多糖溶液 茶多糖从粗老普洱茶熟茶中提取及纯化,按实验要求用蒸馏水配制成相应浓度的茶多精溶液,低温冷冻保存。

1.1.5 试验动物 试验动物由昆明医学院动物中心提供的合格的健康的的小白鼠 105 只,体重(20±2) g。动物饲料由昆明医学院动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 茶多糖的制备 先将茶叶磨碎,用热水 80 °C 浸泡 30 min,浸泡液减压浓缩后,再加入 3 倍体积 95%乙醇沉淀、离心,沉淀物再用少量水溶解,重复乙醇沉淀一次,沉淀物用无水乙醇、丙酮、乙醚交替洗涤 3 次,水浴干燥,得茶多糖粗制品(CTPS)。茶多糖的纯化是采用 Sevag 方法除去蛋白质。经 Sevag 法脱蛋白 4~5 次后,用蒸馏水透析 24 h,然后经醇析,真空低温干燥可得到茶多糖(TPS)纯品^[23]。工艺流程如图 1。

1.2.2 动物活体试验(茶多糖对糖尿病小鼠血糖的影响)

(1)糖尿病(DM)小鼠模型的建立:选择健康合格的昆明小白鼠 90 只,体重(20±2) g,分笼、标记,称重。禁食 12 h 后,四氧嘧啶用 0.9%NaCl 溶液配制成 1%的溶液,以 200 mg/kg 体重的剂量给小白鼠注射,第二天同样以 200 mg/kg 体重的剂量再次注射。3 天后尾尖取血测定空腹血糖,以血糖值在 18.00 mmol/L 上的,且连续出现多食、多饮、多尿症状者,确定为糖尿病小鼠。此次建模共得 72 只合格的糖尿病小鼠。

(2)分组与处理:分成 4 组,正常对照组 a(6 只),将糖尿病小鼠按血糖和体重随机分为模型对照组 b、低剂量组 c 和高剂量组 d(每组 6 只)。低剂量组 c 给予 80 mg/kg 体重剂量的茶多糖配制溶液,高剂量组 d 给予 160 mg/kg 体重剂量的茶多糖配制溶液。每只小鼠每天以茶多糖配制成相应浓度的溶液 0.5 ml 进行灌胃。正常对照组 a 和模型对照组 b 给予等体积的蒸馏水灌胃。试验周期为 1 周,均予普通饲料喂养。试验共由 3 个批次组成,总试验周期为 3 周。

(3)血糖测定:血糖测定分 3 个阶段,建模前给予达标各小鼠测定空腹血糖值并记录;建模成功后给予符合要求的 72 只糖尿病小鼠测定空腹血糖值并记录;于试验周期的末期测定所有参与试验的小鼠的空腹血糖值并记录。(注:血糖测定为求其准确,第一阶段测血

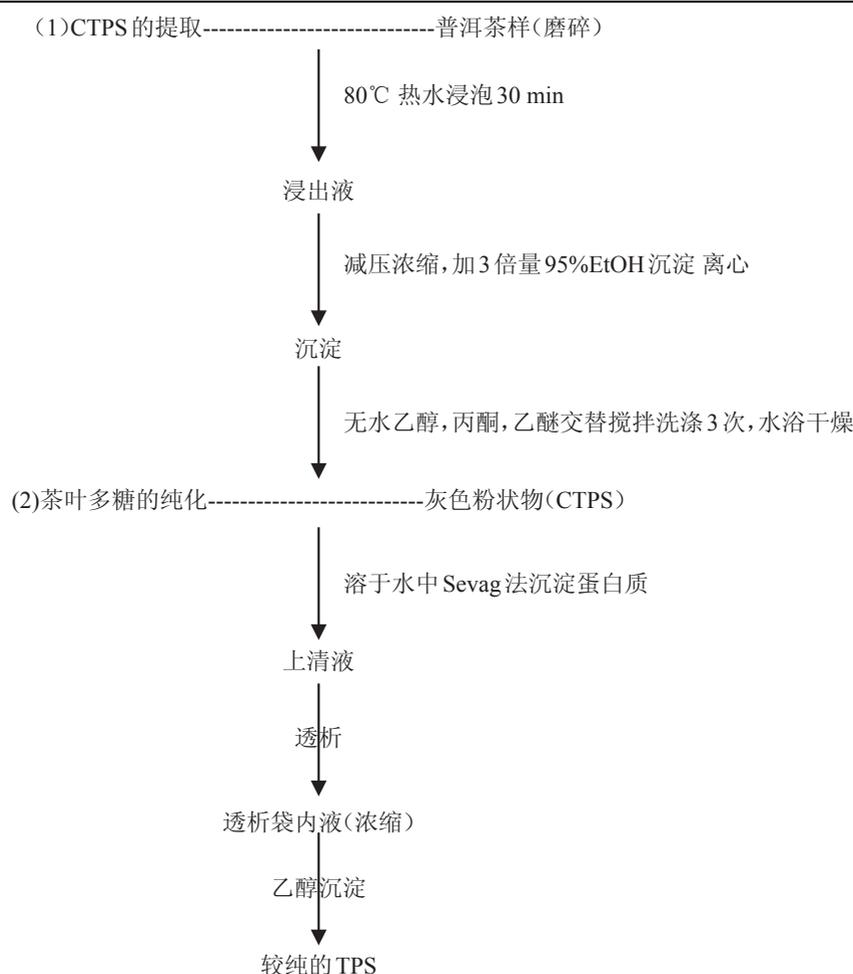


图1 茶多糖的制备的工艺流程

糖,采用尾尖取血。第二、三阶段采用眼眶取血。于快速血糖仪测定血糖。按操作说明书进行血糖测定。)

(4) 数据分析:采用 SPSS 13.0 for Windows 进行数据统计,表示方法为平均值±标准误差。 $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 普洱茶多糖对第一批糖尿病小鼠血糖的影响

从表1可知,试验开始时,正常对照组、糖尿病模型对照组、低剂量和高剂量组的空腹血糖均无显著性差异($P<0.05$)。试验期间,正常对照组的小鼠空腹血糖值一直维持在统一水平。与造模后及试验终期的血

糖值并无显著性差异($P<0.05$)。

糖尿病(DM)小鼠对照组,其血糖值在造模后变化幅度大,升高了近225%,但在造模后的几天中,其血糖值均呈现升高的趋势,到试验末期血糖值还有升高的趋势。总体来说,糖尿病对照组小鼠的血糖值在整个试验中,组内的造模后及试验末期小鼠血糖值与造模前呈现出显著性差异($P<0.05$)。造模后与试验终期的小鼠血糖值无显著性差异($P<0.05$)。

糖尿病(DM)注射80 mg/(kg·天)的小鼠组,与糖尿病模型对照组相似,其血糖值在造模后变化明显,迅速升高了224%,在造模后的几天中,其血糖值下降了

表1 普洱茶多糖液对糖尿病小鼠血糖值的影响(第一批)

| 组别 | 造模前 | 造模后 | 试验终期 |
|-------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 正常对照组 | 6.10±0.01 ^a | 6.10±0.01 ^a | 6.10±0.01 ^a |
| 模型对照组 | 6.10±0.01 ^a | 19.80±0.16 ^b | 20.00±0.23 ^b |
| 低剂量组 | 6.09±0.01 ^a | 19.73±0.21 ^b | 14.44±0.11 ^c |
| 高剂量组 | 6.09±0.01 ^a | 19.89±0.20 ^b | 10.40±0.21 ^d |

注:与正常对照组a比较, $P<0.05$ 表示差异显著,下同。

27%，还是超过了造模前的水平。组内的造模后及试验末期小鼠血糖值与造模前呈现出显著性差异($P<0.05$)，在($P<0.01$)下也呈现显著性差异。但造模后与试验终期的小鼠血糖值呈现出显著性差异($P<0.05$)。

糖尿病(DM)注射 160 mg/(kg·天)的小鼠组，与糖尿病模型组和糖尿病(DM)注射 80 mg/(kg·天)的小鼠组比较，有非常类似的动态过程，在造模后小鼠血糖值都呈升高趋势，其血糖值升高了 226%。与造模前的小鼠血糖值比较，呈现出显著性差异($P<0.05$)。在试验终期，小鼠的血糖值下降迅速，但没有恢复到造模前的水平。与造模前比较，差异显著($P<0.05$)。

模后的几天中，由于每天都定时、定量的注射茶多糖配制溶液，其血糖值逐渐的下降，两种不同剂量的茶多糖配制液腹腔注射的糖尿病(DM)小鼠的血糖值随着试验进程症状逐渐缓解，但都超过造模前的血糖值，直到试验结束，两组注射茶多糖配制溶液的小鼠血糖值还呈现下降的趋势。这表明茶多糖溶液具有降低糖尿病小鼠血糖值的作用。试验终期小鼠的血糖值与造模前小鼠的血糖值比较其差异性，差异显著($P<0.05$)。

纵向比较，各处理组间，在造模前各组小鼠的血糖值都不呈现显著性差异，在造模后四组间，只有正常对

照组的小鼠的血糖值保持在造模前的水平。其余三组，小鼠的血糖值都表现出不同程度的升高。模型对照组的血糖值一直维持在高的水平下。并没有下降的趋势，从试验末期看还有升高的趋势。这主要是因为其注射液是采用蒸馏水。其他两组为注射浓度不同的茶多糖配制液，其小鼠血糖值随着试验的进行，都表现出下降的趋势。且三组小鼠的血糖值与正常对照组呈现出显著性差异($P<0.05$)。在试验终期，注射茶多糖配制液的两组糖尿病小鼠的血糖值，与刚造模相比，都有下降，其下降程度不同。三组糖尿病小鼠的血糖值在试验终期比较，均呈现出显著性差异($P<0.05$)。

2.2 普洱茶多糖对第二批糖尿病小鼠血糖的影响

从表 2 中可知，正常对照组小鼠的血糖值一直维持在造模前的水平。且造模后和试验末期的血糖值与造模前比较无显著性差异。三组糖尿病小鼠的血糖值在造模后升高幅度大，表现出显著性差异($P<0.05$)。同时模型对照组在试验末期，其血糖值乃处在较高的水平，与造模后比，并没有下降反而出现有再升高的可能。而其他注射茶多糖配制液的两组，随着时间的推移，糖尿病小鼠的血糖值都在一定范围内下降。但都没下降到造模前的水平。且组间比较呈现出显著性差异($P<0.05$)。

表 2 普洱茶多糖液对糖尿病小鼠血糖值的影响(第二批)

| 组别 | 造模前 | 造模后 | 试验终期 |
|-------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 正常对照组 | 6.09±0.01 ^a | 6.09±0.01 ^a | 6.10±0.01 ^a |
| 模型对照组 | 6.09±0.01 ^a | 19.96±0.21 ^b | 19.99±0.11 ^b |
| 低剂量组 | 6.08±0.01 ^a | 19.96±0.22 ^b | 14.28±0.23 ^c |
| 高剂量组 | 6.08±0.01 ^a | 19.99±0.19 ^b | 10.28±0.24 ^d |

表 3 普洱茶多糖液对糖尿病小鼠血糖值的影响(第三批)

| 组别 | 造模前 | 造模后 | 试验终期 |
|-------|------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 正常对照组 | 6.08±0.01 ^a | 6.08±0.01 ^a | 6.08±0.01 ^a |
| 模型对照组 | 6.09±0.01 ^a | 20.01±0.21 ^b | 20.02±0.13 ^b |
| 低剂量组 | 6.10±0.01 ^a | 19.99±0.22 ^b | 14.49±0.24 ^c |
| 高剂量组 | 6.09±0.01 ^a | 20.04±0.23 ^b | 10.39±0.23 ^d |

2.3 普洱茶多糖对第三批糖尿病小鼠血糖的影响

从表 3 中可知，糖尿病小鼠组的血糖值变化比正常对照组大，糖尿病模型组小鼠的血糖值，在造模后升高显著，升高了 231%，直到试验末期还维持在这个水平。糖尿病(DM)注射 80 mg/(kg·天)的小鼠组，在造模后小鼠的血糖值升高了 228%，在试验期间，随着茶多糖配制液的注入，血糖值呈现下降的趋势。下降了 28%，并表现出进一步下降的趋势。糖尿病(DM)注射 160 mg/(kg·天)的小鼠组，在造模后，下降显著($P<0.05$)。小鼠的血糖值升高了 230%，升高显著。到试

验末期，茶多糖溶液的注入，小鼠的血糖值下降明显，下降了 50%，下降显著($P<0.05$)。

3 结论

(1) 试验通过腹腔注射普洱茶多糖配制溶液，对糖尿病小鼠体重的研究表明，普洱茶多糖能够有效的促进糖尿病小鼠体重的恢复。但其效果在试验终期体重变化与造模后体重变化比较，其差别无显著性意义。

(2) 试验通过腹腔注射普洱茶多糖配制溶液，对降低糖尿病小鼠血糖的研究表明，普洱茶多糖能很好的降低由四氧嘧啶诱发的高血糖小鼠的血糖值。效果在试

验终期小鼠血糖值变化与造模后小鼠血糖值变化间比较,其差别有显著性意义($P<0.05$)。并且,在试验终期时,高剂量的普洱茶多糖注射组内和低剂量的普洱茶多糖注射组内,糖尿病小鼠血糖值比较,其差别显著($P<0.05$)。

(3)试验通过腹腔注射普洱茶多糖配制液,对降糖尿病小鼠血糖的研究表明,随着注射不同普洱茶多糖配制液,对由四氧嘧啶诱发高血糖小鼠的血糖值存在着显著性差异。高剂量(160 mg/kg)的降血糖效果要好于比低剂量(80 mg/kg),其降幅大于低剂量的,且在统计学上比较有显著性($P<0.05$)。

参考文献

- [1] 傅博强,谢明勇,周鹏.茶叶多糖的提取纯化及药理作用研究进展[J].南昌大学学报:理科版,2001,25(4):358.
- [2] 陈宗道主编.茶叶化学工程学[M].重庆:西南师范大学出版社,1999.
- [3] 汪东风,谢晓凤,王银龙.茶叶多糖及其药理作用进展[J].天然药物研究与开发,1996,(3):63-67.
- [4] 汪东风,谢晓凤,王泽农.粗老茶中的多糖含量及其保健作用[J].茶叶科学,1994,14(1):73-74.
- [5] 萧伟祥,萧忠.茶多糖生物活性与结构的研究进展[J].中国茶叶,2002,24(1):14-15.
- [6] 叶盛,程玉祥,汪东风.茶叶多糖及其生物活性[J].茶叶科学技术,2001,(1):8-11.
- [7] 汪东风,杨敏.粗老茶治疗糖尿病的药理成分分析[J].中草药,1995,26(5):255-257.
- [8] 蔡鸿恩.中西医结合茶治疗糖尿病初步疗效报告[J].茶叶通讯,1979,11(2):58-59.
- [9] 刘强.茶的保健功能与药用便方[M].北京:金盾出版社,1990:31-31.
- [10] 朱楔星.现代糖尿病学[M].上海:上海医科大学出版社,2000:9-57.
- [11] 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.
- [12] 李布青,张慧玲,舒庆龄,等.中低档绿茶中茶多糖的提取及降血糖作用[J].茶叶科学,1996,16(1):67-72.
- [13] 陈海霞,谢笔军.茶多糖不同提取工艺的比较研究[J].食品工业科技,2003,22(2):18.
- [14] 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,2001,28(3):83-84.
- [15] 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,1996,16(1):67-72.
- [16] 屠幼英.绿茶饮料中茶多糖的构成[J].茶叶,2001,27(2):22-24.
- [17] 黄桂宪.广西绿茶多糖的分离与分析[J].中国茶叶,1995,(5):18-19.
- [18] 邓俊林,许平,王志勇.茶叶多糖的分离、纯化及分析[J].重庆师范学院学报,1998,15(2):37-38.
- [19] 程启坤主编.茶化浅析[M].中国农科院茶叶研究所资料研究室,1982.
- [20] 汪东风,谢晓凤,蔡成永,等.粗老茶治糖尿病的药理成分分析[J].中草药,1995,26(5):255-257.
- [21] 厉朝龙.生物化学与分子生物学实验技术[M].杭州:浙江大学出版社,2001:158-159.
- [22] Wang Dong feng W, Wang Chenghong W, Li Jun L, et al. Components and activity of polysaccharides from coarse tea[J]. J-Agric-Food-Chem, 2001, 49(1): 507-510.
- [23] 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.