

青砖茶不同超滤组分抑制 α -淀粉酶和脂肪酶活性研究

刘淑媛 赵书青 倪德江 陈玉琼

园艺植物生物学教育部重点实验室/华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070

摘要 结合膜超滤技术从青砖茶中分离提取 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性组分,分析青砖茶汤直接超滤组分和青砖茶汤乙酸乙酯萃取物超滤分离组分对 α -淀粉酶和脂肪酶活性的影响。结果表明,青砖茶5 ku膜截留组分具有较强的 α -淀粉酶抑制活性;100 ku膜截留组分具有较强脂肪酶抑制活性。乙酸乙酯萃取物5 ku膜截留组分具有更强的 α -淀粉酶抑制活性,而其透过滤组分具有更强的脂肪酶抑制活性。膜超滤技术结合乙酸乙酯萃取法能更好地分离纯化青砖茶汤 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性成分。

关键词 青砖茶; 超滤; α -淀粉酶; 脂肪酶; 抑制剂

中图分类号 TS 272 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)06-0099-06

超滤主要利用膜的分子筛效应,在一定压力差下对料液组分进行选择性地富集与分离。超滤膜孔径范围为0.001~0.1 μm ,根据不同膜孔径可截留分子质量1~1 000 ku的可溶性大分子,从而达到分离、富集不同分子质量物质的效果。超滤具有不需要加热、不需要添加任何的化学试剂、操作条件温和等优点,在各种有效成分的富集与纯化方面应用广泛^[1-2]。刘军海^[3]以截留分子质量为30 ku的超滤膜对茶叶酶解提取液进行超滤分离,有效地将茶多糖、蛋白质等大分子物质从提取液中分离出来。周义卉等^[4]使用截留分子质量为100 ku的超滤膜分离速溶茶副产品,膜透过液中茶多酚含量达48.73%。杜志欣等^[5]以截留分子质量分别为10和5 ku超滤膜提取茶籽饼中茶皂素,截留率分别达到84.82%和94.21%。肖力争等^[6]利用截留分子质量为3.5 ku超滤膜富集提取儿茶素残渣中茶氨酸,得率与纯度分别为54.05%和8.53%。

青砖茶是原产于湖北省的黑茶,已有100多年历史,产品销往内蒙古、青海、西藏及蒙古、俄罗斯等地区。研究表明,青砖茶具有显著抑制糖吸收、降低肥胖大鼠体质量、降血脂、提高抗氧化能力、减轻高脂对肝细胞的损伤等功效^[7-8]。采用不同有机溶剂萃取对青砖茶活性成分进行富集和分离发现,青砖

茶中主要抗氧化及抑制消化酶(α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶)活性物质集中于乙酸乙酯提取层^[9-10]。 α -淀粉酶是碳水化合物消化吸收的关键酶,能随机水解 α -1,4-糖苷键,消化淀粉,促进糖吸收^[11]。脂肪酶是脂肪水解过程中的关键酶,能催化甘油酯类化合物水解,其产物脂肪酸和3-单酰基甘油酯与胆汁盐类混合才能被吸收^[12-13]。抑制 α -淀粉酶和脂肪酶的活性可有效抑制糖和脂肪的水解和吸收,达到控制和治疗肥胖的目的。本研究结合膜超滤技术探究青砖茶活性组分及其体外 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性,旨在为青砖茶活性成分的安全、绿色富集和纯化提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

青砖茶由湖北省赵李桥茶厂有限公司提供,粉碎,过孔径0.425 mm筛备用。Foline-Phenol(福林酚)、 α -淀粉酶(来源于猪胰腺,EC 3.2.1.1)和去氧胆酸钠购自Sigma公司;脂肪酶(来源于猪胰腺,EC 3.1.1.3)购自上海楷洋生物技术有限公司;淀粉酶试剂盒、脂肪酶试剂盒和Bradford法蛋白检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所;其他试剂均为分析纯级别,购自国药集团化学试剂有限公司。

收稿日期: 2017-03-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270732); 湖北省科技项目(2012DBA17001)

刘淑媛, 博士研究生, 研究方向: 茶叶功能化学, E-mail: lsy299792458@126.com

通信作者: 陈玉琼, 博士, 副教授, 研究方向: 茶叶品质与功能化学, E-mail: chenyyq@mail.hzau.edu.cn

1.2 主要仪器设备

膜分离设备(MSM-2008型,上海膜速科学器材有限公司);数显恒温水浴锅(HH-S₆型,国华电器有限公司);旋转浓缩蒸发器(RE 52-AA,上海亚荣生化仪器厂);冷冻干燥机(ALPHAL-2,德国);紫外-可见分光光度计(Spectrum 53型,上海棱光技术有限公司);瓶顶过滤器(320-5045,美国Nalgene公司)。

1.3 试验方法

1)青砖茶茶汤超滤组分的制备。取一定量青砖茶,按茶水比1:20(g/mL)加入沸蒸馏水,沸水浴浸提7 min。过滤后茶渣重复浸提1次,合并2次滤液。滤液冷却后分别过100、30、10、5 ku的超滤膜组件进行超滤,压力为0.05 MPa,温度35℃。当透过液为粗滤液质量的90%时,加15%的蒸馏水继续超滤,重复添加蒸馏水2次。分别收集过滤液和截留液,减压浓缩后冷冻干燥。

2)青砖茶不同有机溶剂萃取物及乙酸乙酯超滤组分制备。将按照上述浸提方法浸提所得青砖茶茶汤,于旋转蒸发器55℃减压浓缩。浓缩液依次用2倍体积的三氯甲烷、乙酸乙酯和正丁醇各萃取2次,剩余水层加3倍体积95%乙醇获得沉淀物与剩余水溶物。将各组分于旋转蒸发器55℃减压浓缩,去除有机溶剂后加水溶解,冷冻干燥后分别获得三氯甲烷萃取物、乙酸乙酯萃取物、正丁醇萃取物、沉淀物和剩余水溶物。

乙酸乙酯萃取物加水溶解,过5 ku的超滤膜组件进行超滤,压力为0.05 MPa,温度35℃。当透过液为粗滤液质量的90%时,加15%的蒸馏水继续超滤,重复添加蒸馏水2次。分别收集过滤液和截留液,减压浓缩后,冷冻干燥。

3)主要活性成分分析。茶多酚含量根据GB/T 8313—2008,采用福林酚比色法测定。黄酮含量采用三氯化铝比色法;茶黄素、茶红素、茶褐素含量采用系统分析法;可溶性糖含量采用蒽酮-硫酸比色法^[14]。蛋白含量采用考马斯亮蓝比色法测定。

4)胰α-淀粉酶活性测定。胰α-淀粉酶活力测定采用碘-淀粉比色法。参考傅冬和等^[15]方法,采用淀粉酶试剂盒进行酶活性分析。淀粉酶活力单位定义为:在37℃条件下,反应时间为30 min,100 mL酶滤液中(0.1 g酶粉)和底物淀粉作用,水解10 mg淀粉为1个淀粉酶活性单位。计算半抑制浓度IC₅₀衡量抑制物对α-淀粉酶抑制作用的强弱。α-淀

粉酶抑制剂活性计算公式如下:

$$\text{抑制率} = (1 - U_{\text{样品}}/U_{\text{对照}}) \times 100\% \quad (1)$$

$$U_{\text{样品}}/U_{\text{对照}} = [(A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}}]_{\text{样品}} / [(A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}}]_{\text{对照}} \quad (2)$$

式(1)中 $U_{\text{样品}}/U_{\text{对照}}$ 为含有不同浓度抑制物时淀粉酶的相对活力。式(2)中 $A_{\text{空白}}$ 为反应体系中不含淀粉酶时吸光度值, $A_{\text{测定}}$ 为反应体系中含淀粉酶反应后吸光度值, $[(A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}}]_{\text{样品}}$ 为含有不同浓度抑制物时吸光度计算值, $[(A_{\text{空白}} - A_{\text{测定}})/A_{\text{空白}}]_{\text{对照}}$ 为不含抑制物时吸光度计算值。

5)胰脂肪酶活性测定。胰脂肪酶活力测定采用甘油三酯比浊法。参考田娜^[16]方法,采用脂肪酶试剂盒进行酶活性分析。脂肪酶活力单位定义为:在37℃条件下,反应时间为10 min,100 mL酶滤液中(0.1 g酶粉)的酶和底物甘油三酯作用,水解1 μmol底物为1个脂肪酶活性单位。计算半抑制浓度IC₅₀衡量抑制物对脂肪酶抑制作用的强弱。脂肪酶抑制剂活性计算公式如下:

$$\text{抑制率} = (1 - U_{\text{样品}}/U_{\text{对照}}) \times 100\% \quad (3)$$

$$U_{\text{样品}}/U_{\text{对照}} = (A_1 - A_2)_{\text{样品}} / (A_1 - A_2)_{\text{对照}} \quad (4)$$

式(3)中 $U_{\text{样品}}/U_{\text{对照}}$ 为含有不同浓度抑制物时淀粉酶的相对活力。式(4)中 A_1 为体系反应初始时吸光值, A_2 为反应10 min后的吸光值, $(A_1 - A_2)_{\text{样品}}$ 为含有不同浓度抑制物时反应前后吸光度差值, $(A_1 - A_2)_{\text{对照}}$ 为不含抑制物时反应前后的吸光度差值。

1.4 数据处理

试验数据用3次重复试验所得数据的平均数±标准差(mean±SD)表示,所得数据均采用SPSS Statistics 18软件进行数据统计分析,方差分析显著后多重比较采用Duncan's检验法进行。

2 结果与分析

2.1 青砖茶汤超滤组分对α-淀粉酶和脂肪酶活性的抑制效果

青砖茶汤经不同孔径超滤膜处理后所得各组分对α-淀粉酶和脂肪酶抑制活性均有影响(表1)。不同规格的超滤膜截留组分对α-淀粉酶活性的抑制作用较原青砖茶组分显著提高,且抑制活性随着超滤膜截留分子孔径减小而增大,5 ku膜截留组分对α-淀粉酶活性的抑制作用最强。而不同超滤膜透过组分的抑制作用与原青砖茶组分相当或显著下降。脂肪酶抑制活性除100 ku膜截留组分有显著提升

外,其他膜分离组分对脂肪酶的抑制作用变化不明显或显著下降。

青砖茶汤经不同孔径超滤膜处理后所得各组分主要活性成分见表 2。经超滤膜处理后,截留组分中多酚、黄酮、茶褐素和蛋白质含量均随超滤膜孔径的减小而有升高的趋势。不同孔径膜截留组分中抑制 α -淀粉酶活性与这些内含成分变化一致,这可能是导致其 α -淀粉酶活性增强的主要原因。截留组分中茶黄素含量几乎不变,而茶红素含量则随着截

留孔径的减小而降低。茶红素包括多种相对分子质量差异极大的异源物质,其相对分子质量为 700~40 000,其中相对分子质量小于 5 000 的占 78%^[17]。截留组分中茶红素的减少,可能与随着截留孔径的减小、其他内含成分富集以及茶红素在组分中所占相应比例减小有关。不同膜超滤透过组分中除黄酮和茶黄素含量几乎无变化外,其他内含成分变化无明显规律。这可能与透过液组分组成比例变化有关。脂肪酶抑制活性中,只有 100 ku 膜截留组分显

表 1 青砖茶汤超滤组分对 α -淀粉酶和脂肪酶活性的抑制作用

Table 1 Effect of Qingzhuan tea ultra-filtrated liquors on α -amylase and lipase activity

mg/mL

膜规格/ku Ultrafiltration membrane	样品 Sample	α -淀粉酶 IC ₅₀ α -Amylase	脂肪酶 IC ₅₀ Lipase
100	A	17.54±0.22b	18.89±0.11a
	B	17.48±0.10ab	18.72±0.36a
	C	16.85±0.11c	11.16±0.81b
30	B	>20.00	18.17±0.37a
	C	16.40±0.13d	>20.00
10	B	17.61±0.11a	18.94±0.64a
	C	16.16±0.05e	>20.00
5	B	>20.00	>20.00
	C	15.90±0.08f	>20.00

注: Note:A:原茶汤 Crude water extract;B:膜透过组分 Filtrate;C:膜截留组分 Trapped fluid;表中同列不同字母表示各处理经 Duncan's 法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。The different letter in the same list indicated that there is no significant difference at $P<0.05$ level between the treats through Duncan's test.下同 The same as below.

表 2 青砖茶不同超滤膜组分主要成分分析

Table 2 The analysis of the main ingredients of Qingzhuan tea ultra-filtrated liquors

%

膜规格/ku Ultrafiltration membrane	样品 Sample	茶多酚 Polyphenol	黄酮 Flavonoid	茶黄素 Theaflavin	茶红素 Thearubigin	茶褐素 Theabrownin	可溶性糖 Carbohydrate	蛋白质 Protein
100	A	18.18±0.57ab	3.92±0.17c	0.25±0.06a	3.24±1.02c	26.62±0.98d	11.34±0.44b	7.49±0.21b
	B	16.67±0.90b	2.97±0.46e	0.22±0.01a	1.26±0.56de	25.75±1.47de	9.46±0.42c	5.65±0.19c
	C	13.94±0.63cd	3.48±0.21d	0.32±0.08a	3.73±0.59bc	23.22±2.33e	10.41±0.10bc	4.87±0.70d
30	B	12.74±0.25de	2.90±0.05e	0.24±0.03a	4.76±1.08ab	18.97±1.14f	11.44±1.17b	3.46±0.13f
	C	16.03±2.24bc	4.56±0.17b	0.31±0.12a	1.90±0.24d	32.11±0.56c	15.23±1.43a	8.62±0.07a
10	B	16.80±1.53b	2.94±0.12e	0.21±0.05a	5.54±0.48a	17.74±1.52f	10.53±0.98b	4.22±0.20e
	C	16.90±1.87ab	4.59±0.31b	0.29±0.06a	0.41±0.38e	34.78±1.41b	15.31±1.05a	8.72±0.14a
5	B	10.76±0.26e	2.99±0.02e	0.31±0.08a	2.02±0.26d	20.11±2.34f	8.70±0.82c	5.58±0.78c
	C	19.16±1.39a	5.33±0.16a	0.32±0.07a	ND	40.28±1.27a	14.77±0.98a	8.78±0.14a

注:ND 表示未检出,下同。Note:ND means not detected.The same as follows.

著提高,而其所测内含成分均低于原青砖茶组分。青砖茶脂肪酶抑制活性中,可能存在大于 100 ku 的未知大分子物质发挥作用。

2.2 不同有机溶剂萃取物组分对 α -淀粉酶和脂肪酶活性的抑制效果

有机溶剂萃取法被广泛应用于植物活性物质的

提取分离。为获得更有效的青砖茶 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性成分,比较了原青砖茶与不同有机溶剂萃取物组分 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性,结果表明乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物对 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性都较原茶汤显著提升,其中乙酸乙酯萃取物对 α -淀粉酶抑制活性最强,正丁醇萃取物

表 3 青砖茶汤不同有机溶剂萃取物组分对 α -淀粉酶和脂肪酶活性的抑制作用Table 3 Effect of different Qingzhuan tea extracts on α -amylase and lipase activity

mg/mL

样品 Sample	α -淀粉酶 IC ₅₀ α -Amylase	脂肪酶 IC ₅₀ Lipase
原茶汤 Crude water extract	17.54±0.22a	18.89±0.11a
氯仿萃取物 Chloroform fraction	ND	ND
乙酸乙酯萃取物 Ethyl acetate fraction	5.98±0.16c	6.62±0.37d
正丁醇萃取物 <i>n</i> -Butanol fraction	11.30±0.23b	2.85±0.10e
沉淀物 Sediment fraction	ND	14.54±0.34b
剩余水溶物 Residual aqua fraction	ND	13.20±0.71c

抑制脂肪酶活性最强。

2.3 乙酸乙酯萃取物膜分离组分对 α -淀粉酶和脂肪酶活性的抑制效果

研究表明,乙酸乙酯层主要含多酚类等小分子物质^[9-10]。进一步选用 5 ku 的超滤膜对乙酸乙酯萃取物进行分离,探究膜超滤对乙酸乙酯萃取物抑制 α -淀粉酶和脂肪酶活性的影响。从表 4 可以看出,乙酸乙酯萃取物经 5 ku 膜分离后,截留组分抑制 α -淀粉酶作用显著增强,而膜透过组分抑制脂肪酶作用显著增强。分析青砖茶乙酸乙酯萃取物及用 5 ku 超滤膜分离后所得的透过组分和截留组分主要活性成分(表 5),从表 5 中可以看出,乙酸乙酯萃取物经 5 ku 膜处理后,截留组分对茶多酚、黄酮、茶

红素和茶褐素有明显的富集作用;茶黄素含量则显著下降。透过组分茶褐素较原液有显著提高,但其他各成分含量较原乙酸乙酯萃取物均降低。

表 4 乙酸乙酯萃取物膜分离组分对 α -淀粉酶和脂肪酶活性的抑制作用Table 4 Effect of ultra-filtrated fractions of ethyl acetate extract on α -amylase and lipase activity

mg/mL

样品 Sample	α -淀粉酶 IC ₅₀ α -Amylase	脂肪酶 IC ₅₀ Lipase
乙酸乙酯萃取物 Ethyl acetate fraction	5.98±0.16b	6.62±0.13a
5 ku 膜透过组分 5 ku ultrafiltration filtrate	14.98±0.34a	1.71±0.18b
5 ku 膜截留组分 5 ku ultrafiltration trapped fluid	3.88±0.38c	6.24±0.37a

表 5 乙酸乙酯萃取物的膜分离组分主要活性成分含量

Table 5 The analysis of the main active ingredients of ultra-filtrated fractions from ethyl acetate extract

%

样品 Sample	茶多酚 Polyphenol	黄酮 Flavonoid	茶黄素 Theaflavin	茶红素 Thearubigin	茶褐素 Theabrownin
乙酸乙酯萃取物 Ethyl acetate fraction	31.28±2.28b	5.37±0.06b	1.39±0.17a	23.20±3.17b	4.08±0.03c
5 ku 膜透过组分 5 ku ultrafiltration filtrate	18.08±0.51c	1.68±0.06c	0.28±0.03c	11.43±0.61c	9.40±1.75b
5 ku 膜截留组分 5 ku ultrafiltration trapped fluid	37.36±1.39a	8.50±0.11a	0.94±0.17b	29.38±1.26a	33.15±0.33a

3 讨论

膜超滤技术不需要添加任何的化学试剂,可安全、绿色富集和纯化茶活性成分。将膜超滤技术与特定生物活性相结合,通过超滤膜不同截留孔径,可特定富集具有此生物活性的活性成分。本研究将膜超滤与青砖茶 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性成分的筛选相结合,探寻更安全、绿色富集青砖茶减肥降脂生物活性组分的方法。结果表明,青砖茶茶汤 5 ku 截留组分对 α -淀粉酶抑制活性显著增强,而 100 ku 截留组分对脂肪酶抑制活性显著增强。因此,选用适当规格超滤膜可达到一定的分离青砖茶汤 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性成分的目的。

采用不同有机溶剂萃取分离活性成分是目前广泛应用的方法^[18-19]。本研究比较了膜分离法和有机

溶剂萃取法对青砖茶 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性成分分离效果,结果显示乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物较膜分离组分具有更强的 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性,说明适当的有机溶剂萃取法较膜超滤技术能更有效分离青砖茶汤这两种酶的抑制活性成分。进一步将膜超滤技术与乙酸乙酯萃取相结合发现,乙酸乙酯萃取物用 5 ku 超滤膜进行超滤,截留组分和透过组分分别具有更强的 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性。这表明青砖茶汤先经过乙酸乙酯抑制萃取富集有效成分,再用 5 ku 规格膜超滤可更好实现 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性物质的富集。

青砖茶各组分中 α -淀粉酶抑制活性与其主要成分含量密切相关。不同有机溶剂萃取物中 α -淀粉酶的抑制活性表现于富集多酚的乙酸乙酯和正丁醇萃取物;不同孔径膜超滤组分中 α -淀粉酶抑制活

性与其内含成分中茶多酚、黄酮和茶褐素含量呈正相关。茶多酚已被证实是青砖茶中主要的抑制 α -淀粉酶活性物质,其中儿茶素 EGCG 和 ECG 为最有效抑制成分^[10]。黄酮和茶黄素抑制 α -淀粉酶活性亦有报道,且茶黄素抑制活性要强于儿茶素^[20-21]。茶红素和茶褐素已被证实具有清除自由基和抗氧化能力,是否具有 α -淀粉酶抑制活性仍有待证实^[22-23]。茶多糖 α -淀粉酶抑制活性已有报道,然而多采用绿茶多糖、红茶多糖^[24-25]。本试验中富含多糖的沉淀物未检测到 α -淀粉酶抑制活性,这与张冬英^[26]对普洱茶不同有机溶剂萃取物降血糖活性研究结果一致,其95%乙醇沉淀物在试验中亦未表现出降血糖活性。不同茶类加工方式对茶多糖含量、组成、体外清除自由基以及降血糖效果均有影响^[27]。青砖茶属于黑茶,是否其“渥堆”过程中活性多糖被微生物分解,还是其他未知原因导致青砖茶中多糖 α -淀粉酶的抑制活性损失,有待进一步探究。

青砖茶经不同孔径膜超滤后,100 ku 膜截留组分脂肪酶抑制活性明显增强。这说明青砖茶中可能存在分子质量大于100 ku 抑制脂肪酶活性物质,这些大分子物质的组成成分还有待确定。青砖茶正丁醇和乙酸乙酯萃取物均具有较强脂肪酶抑制活性,与 Kusan o 等^[28]研究红茶乙酸乙酯和正丁醇萃取物均具有脂肪酶抑制活性结果一致。Kusan o 等^[28]同时指出其活性主要由萃取物中富含的多酚产生。然而,本试验中乙酸乙酯萃取物用5 ku 超滤膜超滤,透过组分中所测各活性成分含量都降低,而脂肪酶抑制活性却有显著提升。杨龙佳等^[29]认为红茶提取物中咖啡因是其抑制脂肪酶活性的主要成分,多酚的富集有助于脂肪酶抑制活性的增强,但不与之呈正相关。在青砖茶氯仿萃取物中,主要成分为咖啡碱^[11],但几乎没有抑制淀粉酶和脂肪酶的活性。Gondoin 等^[30]认为木麻黄素(strictinin)在茶抑制脂肪酶活性中发挥重要作用,多酚与其有协同效用。而青砖茶中究竟是何种成分起主要脂肪酶抑制作用,是单体还是复合物或混合物,这些仍有待进一步研究。

本试验研究结果显示,青砖茶具有 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性。膜超滤技术可用于分离富集青砖茶汤中较强 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性物质。青砖茶5 ku 膜截留组分具有较强 α -淀粉酶抑制活性;100 ku 膜截留组分具有较强脂肪酶抑制活性。乙

酸乙酯具有较好富集青砖茶汤 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性成份的作用。将乙酸乙酯萃取与5 ku 超滤膜超滤相结合能更好分离富集青砖茶汤中 α -淀粉酶和脂肪酶抑制活性成分。

参 考 文 献

- [1] DE CARVALHO L M J, DE CASTRO I M, DA SILVA C A B. A study of retention of sugars in the process of clarification of pineapple juice (*Ananas comosus* L. Merrill) by micro- and ultra-filtration[J]. Journal of food engineering, 2008, 87(4): 447-454.
- [2] SØRENSEN I, JENSEN S, OTTOSEN N, et al. Chemical quality of raw milk retentate processed by ultra-filtration or reverse osmosis at the dairy farm[J]. International journal of dairy technology, 2015, 69(1): 31-37.
- [3] 刘军海. 超滤法提取茶多糖研究[J]. 食品工业科技, 2007, 28(9): 124-126.
- [4] 周义卉, 高学玲, 张斌, 等. 超滤膜澄清分离速溶茶副产品中茶多酚的研究[J]. 膜科学与技术, 2012, 32(1): 102-105.
- [5] 杜志欣, 张崇坚, 万端极. 茶皂素的提取及膜技术纯化工艺研究[J]. 食品科技, 2015, 40(4): 291-295.
- [6] 萧力争, 肖文军, 龚志华, 等. 膜技术富集儿茶素渣中茶氨酸效应研究[J]. 茶叶科学, 2005, 26(1): 37-41.
- [7] 陈玉琼, 张伟, 程倩, 等. 湖北青砖茶减肥作用研究[J]. 茶叶科学, 2008, 28(5): 363-369.
- [8] 陈玉琼, 张伟, 倪德江, 等. 湖北青砖茶辅助降血脂作用及其抗氧化效果[J]. 茶叶科学, 2010, 30(2): 124-128.
- [9] CHENG Q, CAI S, NI D, et al. *In vitro* antioxidant and pancreatic α -amylase inhibitory activity of isolated fractions from water extract of Qingzhuan tea[J]. Journal of food science and technology, 2013, 52(2): 928-935.
- [10] LIU S, YU Z, ZHU H, et al. *In vitro* α -glucosidase inhibitory activity of isolated fractions from water extract of Qingzhuan dark tea[J]. BMC complementary and alternative medicine, 2016, 16(1): 378.
- [11] FEI Q, YUAN G, XIN Z, et al. Effects of oolong tea polyphenols, EGCG, and EGCG3"Me on pancreatic α -amylase activity *in vitro*[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2014, 62(39): 9507-9514.
- [12] 王自社, 张继, 马君义, 等. 脂肪酶的研究及应用进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7): 3798-3800.
- [13] 杨志秋, 詹莉莉, 傅正伟. 脂肪酶抑制剂应用于抗肥胖的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(21): 4178-4181.
- [14] 钟萝. 茶叶理化品质分析[M]. 上海: 上海科技出版社, 1989.
- [15] 傅冬和, 刘仲华, 黄建安, 等. 茯砖茶不同萃取物对消化酶活性的影响[J]. 茶叶科学, 2008, 28(1): 62-66.
- [16] 田娜. 荷叶黄酮类化合物的分离鉴定及药理作用研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2005.
- [17] 萧伟祥, 钟瑾, 萧慧, 等. 茶红色素形成机理和制取[J]. 茶叶科

- 学,1997,17(1):1-8.
- [18] YOU Q, CHEN F, WANG X, et al. Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against α -glucosidase and pancreatic lipase[J]. LWT-food science and technology, 2012, 46(1):164-168.
- [19] WANG H, DU Y J, SONG H C. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of guava leaves[J]. Food chemistry, 2010, 123(1):6-13.
- [20] TADERA K, MINAMI Y, TAKAMATSU K, et al. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids[J]. Journal of nutritional science and vitaminology, 2006, 52(2):149-153.
- [21] KOH L W, WONG L L, LOO Y Y, et al. Evaluation of different teas against starch digestibility by mammalian glycosidases[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2010, 58(1):148-154.
- [22] YOSHINO K, YUKIHIKO H, MITSUAKI S, et al. Antioxidative effects of black tea theaflavins and thearubigin on lipid peroxidation of rat liver homogenates induced by tert-butyl hydroperoxide[J]. Biological and pharmaceutical bulletin, 1994, 17(1):146-149.
- [23] XU Y, ZHAO H, ZHANG M, et al. Variations of antioxidant properties and NO scavenging abilities during fermentation of tea[J]. International journal of molecular sciences, 2011, 12(7):4574-4590.
- [24] 全吉淑,尹学哲,及川和志.茶多糖降糖作用机制[J].中国公共卫生,2007,23(3):295-296.
- [25] 何学斌,薛存宽,魏守蓉,等.茶多糖对 α -淀粉酶活性抑制作用及对糖尿病模型大鼠血糖影响研究[J].医药导报,2007,26(11):1284-1286.
- [26] 张冬英.普洱茶降糖降脂活性成分的研究[D].长沙:湖南农业大学,2006.
- [27] 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.
- [28] KUSANO R, ANDOU H, FUJIEDA M, et al. Polymer-like polyphenols of black tea and their lipase and amylase inhibitory activities[J]. Chemical and pharmaceutical bulletin, 2008, 56(3):266-272.
- [29] 杨龙佳,王进,杨庆雄.红茶提取物对胰脂肪酶抑制活性的研究[J].中国农学通报,2015,8(40):212-222.
- [30] GONDOIN A, GRUSSU D, STEWART D, et al. White and green tea polyphenols inhibit pancreatic lipase *in vitro*[J]. Food research international, 2010, 43(5):1537-1544.

Ultra-filtrated liquors from water extract of Qingzhuan tea inhibiting activities of pancreatic α -amylase and lipase *in vitro*

LIU Shuyuan ZHAO Shuqing NI Dejiang CHEN Yuqiong

*Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education/
College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University,
Wuhan 430070, China*

Abstract Fractions with high inhibitory activities on α -amylase and lipase were isolated from water extracts of Qingzhuan tea *via* ultra-filtration technology. Results showed that the trapped fraction of 5 ku ultra-filtration isolated from water extracts had strong α -amylase inhibitory activity. The trapped fraction of 100 ku ultra-filtration isolated from water extracts had strong lipase inhibitory activity. The α -amylase and lipase inhibitory activity of trapped fraction of 5 ku ultra-filtration isolated from the ethyl acetate fraction was higher than that of the ethyl acetate fraction. It is indicated that ultra-filtration combining with ethyl acetate extraction can more effectively isolate fractions with high α -amylase and lipase inhibitory activities from water extracts of Qingzhuan tea.

Keywords Qingzhuan tea; ultra-filtration; α -amylase; lipases; inhibitory

(责任编辑:陆文昌)