

金花茶多糖的提取纯化、结构及生物活性研究进展

朱芙蓉 程 忠 唐颖彤 徐海燕 梁思琦

(南宁学院食品与质量工程学院, 广西 南宁 541699)

摘要:金花茶多糖是一种具有多种生物活性的天然高分子化合物,因其显著的抗氧化、抗菌、降血糖等多种生物活性而备受关注,但对金花茶多糖的研究还存在提取方法单一、分离纯化研究不足以及结构表征研究仅局限于一级结构等问题。文章对金花茶多糖的提取工艺、分离纯化、结构表征以及生物活性等方面的研究现状进行了系统性综述,并对其今后的研究方向进行了展望。

关键词:金花茶多糖;提取;纯化;结构;生物活性

Research progress on the extraction, purification, structure, and bioactivity of polysaccharides from *Camellia nitidissima* Chi

ZHU Furong CHENG Zhong TANG Yingtong XU Haiyan LIANG Siqu

(College of Food and Quality Engineering, Nanning University, Nanning, Guangxi 541699, China)

Abstract: *Camellia nitidissima* Chi polysaccharide is a natural polymer compound with multiple biological activities, including significant antioxidant, antibacterial, and hypoglycemic effects, which has attracted considerable attention. However, research on *C. nitidissima* Chi polysaccharides still faces issues such as a limited range of extraction methods, insufficient studies on separation and purification, and structural characterization focused mainly on primary structure. This paper provides a systematic review of the current research on *C. nitidissima* Chi polysaccharides, covering extraction processes, separation and purification, structural characterization, and biological properties, while also discussing future research directions.

Keywords: *Camellia nitidissima* Chi polysaccharides; extraction; purification; structure; bioactivity

金花茶(*Camellia nitidissima* Chi, CNC)作为山茶科山茶属的一种,主要分布在中国广西的南部及与广西接壤的越南地区^[1-2]。研究^[3-4]表明,金花茶富含茶多糖、茶多酚、皂苷、类黄酮等多种生物活性物质,其中金花茶多糖因其独特的生物活性而备受关注。然而,从茶叶、茶花和茶籽等原料中提取金花茶多糖时,易受到多酚、色素、蛋白质和无机盐等小分子化合物的干扰,这些杂质不仅影响金花茶多糖的生物活性,还对其结构定量分析和鉴定造成干扰^[5]。

研究拟对金花茶多糖的提取工艺、分离纯化、结构表征以及生物活性等方面的研究现状进行综述,旨在为后续金花茶多糖的深入研究、开发以及应用提供理论依据。

1 金花茶多糖的提取技术

金花茶多糖(*Camellia nitidissima* Chi polysaccharides, CNCP)是一种天然高分子化合物,主要来源于金花茶的花、叶和芽尖等部位,其中花和叶是CNCP的主要提取原料^[6]。天然多糖的产量、特性和生物活性很大程度上取决于提取方法的选择,因此提取方法一直被认为是多糖深加工的重要程序之一^[7]。

1.1 化学提取法

目前最常用的提取多糖的方法包括化学提取法、生物提取法和物理提取法^[8]。化学提取法包括水提醇沉法、酸提取法和碱提取法。其中热水萃取因操作简单易行,

基金项目:广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(编号:2024KY1884)

通信作者:朱芙蓉(1997—),女,南宁学院讲师,硕士。E-mail: fzh5331@163.com

收稿日期:2024-07-19 改回日期:2024-12-09

引用格式:朱芙蓉,程忠,唐颖彤,等.金花茶多糖的提取纯化、结构及生物活性研究进展[J].食品与机械,2025,41(3):228-235.

Citation: ZHU Furong, CHENG Zhong, TANG Yingtong, et al. Research progress on the extraction, purification, structure, and bioactivity of polysaccharides from *Camellia nitidissima* Chi[J]. Food & Machinery, 2025, 41(3): 228-235.

设备要求不高等特点,至今仍在食品及医药领域被广泛应用。多糖提取温度常设置在90~100℃,高温有利于增大植物基质孔隙,帮助水溶液渗透到细胞,细胞基质内的水分受热蒸发,使细胞壁因压力增大而破裂,促进多糖的溶出^[9-10]。如龚雯等^[11]将金花茶叶剪碎后于92℃蒸馏水中浸提2.5 h,随后用乙醇溶液沉淀,获得金花茶粗多糖。该方法的提取率较低且易产生杂质。由于植物细胞壁主要由纤维素、半纤维素和果胶等组成,提取液中加入适量的酸或碱液能够有效破坏植物细胞壁,促进多糖的释放和溶解。但过量的酸或碱液易破坏多糖之间的酯键和氢键,导致多糖的相对分子质量降低,还可能影响中性糖与糖醛酸的比例^[12]。

1.2 物理提取法

鉴于传统提取技术在CNCP提取领域的局限性,为优化CNCP提取效率,微波提取、超声提取等先进技术已被逐渐应用^[13-14]。微波是一种电磁波,由电场和磁场两个振荡的垂直场组成,通过溶剂及细胞液对微波能的吸收,使细胞内部温度上升、压力增大,直至超过细胞壁的承受极限而破裂,促使多糖在短时间内溶出^[15-16]。刘茜等^[17]优化了金花茶花中水溶性多糖的微波提取工艺,结果表明,在提取温度77℃、液料比26:1(mL/g)、提取时间10 min、重复提取3次的条件下,CNCP提取率为3.4%。通常在较低的微波功率下,多糖结构会经历轻微的降解,表现为起皱和折叠。随着微波频率的增加,植物材料的微观结构和内部组织遭受更深层次的破坏,这促进了高相对分子质量多糖的溶出^[18]。在微波辐照过程中,多糖中的侧链被降解,产生新的官能团,同时高相对分子质量的部分转化为较低相对分子质量的片段,尽管如此,多糖的初始结构得以保留,其一级结构并未发生改变^[19]。然而,当微波功率过高或电磁辐射过强时,多糖链可能会发生解聚。此外,微波处理过程中产生的高温还可能引发褐变反应,这不仅可以降低多糖的提取率,还可能影响其品质^[20]。因此,在微波处理多糖时,需要精确控制功率和时间,以优化提取效率并保持多糖结构的完整性。

超声波是频率为20~100 kHz的高频机械波,超声的工作原理主要基于在介质(常见为水)中传播时产生的“空化作用”,这种作用能有效破坏细胞膜,促进多糖的释放。同时,超声波能形成强烈的冲击波或高速射流,显著降低或消除与水相之间的阻滞层,从而显著提高传质效率与溶质的扩散速度。韦璐等^[21]研究表明,在料液比1:50(g/mL)、提取温度80℃、提取时间1.0 h、超声波频率53.2 kHz的条件下,CNCP提取率为3.1%。比传统浸提法提高了1%,并有效缩短了提取时间。许子竞等^[22]通过调整超声提取CNCP工艺,在料液比1:46(g/mL)、提取温度87℃和提取时间54 min条件下反复提取3次,CNCP提取率为4.39%,相较于韦璐等^[21]的超声提取工艺,提高了

1.29%。尽管超声波的机械效应(高剪切力、碎裂力和搅拌力等)易导致多糖中的聚半乳糖醛酸链和分子间氢键断裂,并增加游离羧基和半乳糖醛酸的含量^[23]。但不会改变多糖的基本结构,如多糖的初级链连接、单糖组成和糖苷键类型^[24]。

1.3 生物提取法

酶法提取是一项通过应用特定酶类(如纤维素酶、中性蛋白酶、木瓜蛋白酶和果胶酶等)在特定环境条件下对金花茶细胞壁的主链和部分支链进行酶解的成熟且稳定的技术^[25]。王元凤等^[26]在金花茶叶水溶液中添加质量分数0.4%的木瓜蛋白酶,并设定pH值为5.0~5.5,温度为50~55℃,恒温提取120 min,其可溶性糖提取率高达12.25%。尽管酶法相较化学法和物理法提取率更高,但酶的价格与敏感的加工条件,限制了其工业化应用。探讨酶固定化策略,有望实现增强酶的稳定性并将其回收再利用,降低工业生产成本。

微生物发酵法借助微生物代谢途径所分泌的生物酶酶解植物细胞壁实现多糖提取。此方法不仅避免了高温处理可能引发的多糖热降解,还可通过微生物的代谢活动,提升有效成分的利用率^[27]。此外,微生物发酵还能生成新化合物,降低潜在毒性以及增强提取物的生物活性。因此,需要加深对微生物发酵方式的作用条件的研究,探索微生物发酵对CNCP结构的机理与生物活性研究。

2 金花茶多糖的分离纯化技术

CNCP在未经过纯化处理的状态下,其成分复杂,包含有蛋白质、色素以及其他小分子物质。田晓春等^[28]研究指出金花茶水提浓缩液中总固形物为14.72 g/100 mL,总糖为6.43 g/100 mL,皂甙与茶多酚分别为2.02, 0.34 g/100 mL。通过进一步浓缩、沉淀、透析、冷冻干燥后得到的金花茶叶多糖组分包含24.4%半乳糖醛酸、41.9%中性糖和12.6%蛋白质。然而,若要获得单一的多糖成分,则需要对CNCP粗提物进行进一步的纯化和分离得到结构均一的多糖组分,为研究CNCP的结构和活性关系奠定基础^[29]。

2.1 脱脂技术

针对粗多糖组分的脱脂操作,常规做法是采用石油醚、乙醚和乙醇等有机溶剂进行处理。方苏等^[30]对比了脱脂处理对硫酸—苯酚法和硫酸—蒽酮法测定虫草多糖含量的影响。研究发现,与未经脱脂处理的对照组相比,脱脂处理后,通过硫酸—苯酚法和硫酸—蒽酮法测定的多糖提取量分别减少了0.43%和0.54%。表明脱脂操作对两种比色法测定结果有显著影响。但目前关于CNCP脱脂效果的研究还相对较少,而是否实施脱脂步骤,以及脱脂操作对多糖提取率与活性的潜在影响,仍有待探讨。

2.2 脱蛋白技术

多糖脱蛋白法包括乙酸铅沉淀法^[31]、盐析法^[32]、三氯三氟乙烷法^[31]、三氯乙酸(TCA)法^[33]、Sevag 法^[34-35]和酶法^[36]等多种技术手段。乙酸铅沉淀法难以避免重金属污染。相对而言,盐析法因操作安全、经济性和环保性等优点,最早被用于蛋白脱除。三氯乙酸法则基于有机酸作用,实现蛋白质的不可逆沉淀,尽管其脱蛋白效率有限,但能有效保持多糖的活性。Sevag 法虽简便快捷,成本较低,但需多次操作以彻底去除蛋白质,且对环境存在显著危害。Li 等^[35,37]指出,盐酸法脱蛋白效果最佳,三氯乙酸法次之,而 Sevag 法效果较差,损失率高达 34.3%。Zhang 等^[38]以豌豆多糖为研究对象,比较 4 种方法脱蛋白效果,结果表明:酶+Sevag 法>酶法>酶+TCA 法>Sevag 法>TCA 法。蔡静^[36]进一步探讨了酶-Sevage 法、Sevage 法、盐酸法、TCA 法 4 种不同脱蛋白方法的效果,最终发现酶-Sevage 法效果更好。在最佳工艺(pH 8,酶用量 2.7%,酶解温度 54℃,酶解时间 2 h;再经 Sevage 法除去游离蛋白)条件下,蛋白清除率可达 92.68%。目前,Sevag 法仍是 CNCP 脱蛋白的主要工艺。随着生物技术的不断发展,酶法以其经济性、高效性,正逐步成为植物多糖提取的重要手段。

2.3 脱色技术

在进行多糖含量测定时,色素的存在对试验结果具有显著影响。分离多糖的脱色方法包括活性炭吸附、大孔树脂吸附和 H₂O₂ 氧化等^[39-40]。活性炭脱色过程中,色素分子通过范德华力、静电引力或化学键合等方式被束缚在活性炭的疏松多孔结构中^[41]。尽管活性炭脱色操作简便,但对色素和多糖的选择性较差且易产生炭渣杂质,难以实现有效分离。H₂O₂ 脱色技术则是通过 H₂O₂ 水解产生 H⁺ 和 HO₂⁻,利用游离的 HO₂⁻ 氧化色素分子实现脱色^[42-43]。由于 H₂O₂ 具有较强氧化能力,易导致多糖氧化降解。树脂吸附则是基于物理和化学键的形成,将化合物吸附于表面^[44]。大孔树脂因其选择性富集有机物的特性而得到广泛应用,尤其在动态吸附方式占主导地位。此外,反胶束系统、磁性壳聚糖微球吸附和基于石墨烯的纳米脱色等技术亦展现出高选择性、快速传质、操作简便、大比表面积和化学稳定性强等优势^[45-47]。然而,这些方法亦存在工作成本增加、筛选工作量增加以及多糖降解等潜在问题。

2.4 柱层析技术

经过脱蛋白和脱色处理,CNCP 提取物的纯度显著提高。但提取物中仍残留部分小分子物质。透析和高速离心技术被认为是去除这些小分子杂质有效的处理方法。其中柱层析技术因其在多糖深度纯化方面的出色表现而被广泛应用^[48]。阴离子交换色谱法(DEAE-纤维素、DEAE-琼脂糖、DEAE-52 等)在酸性和中性多糖的分离上

展现出良好的适用性,其中 DEAE-52 纤维素色谱柱同时具备脱色和分离能力^[11]。但仅通过单一的色谱方法仍无法获得高纯度多糖。如:凝胶过滤色谱法(Sephacrose CL-6B 和 Sephadex G-100 等)依据组分平均相对分子质量的差异来实现多糖的有效分离,其通常与阴离子交换色谱法结合使用以获取更好的效果^[49]。

3 金花茶多糖的结构解析

多糖的生物活性与其单糖组成、结构、糖苷键、官能团和相对分子质量密切相关^[50]。深入揭示 CNCP 的结构特征,对于探索其生物活性具有举足轻重的作用。CNCP 的结构表征包括分析其单糖组成、化学结构及分子构象^[51]。多糖结构测定常采用高效液相色谱法^[52]、傅里叶变换红外光谱法^[53]、核磁共振法^[54]、联用气相色谱-质谱法^[55]、X 射线衍射法^[56]、紫外光谱法^[57]等技术来解析多糖的形态、结晶、官能团和物理强度等结构信息,从而为未来的生物功能研究和应用提供有力支持。

3.1 单糖组成

对 CNCP 单糖组合物的深入研究有助于全面认识其化学成分,可为金花茶的品质评估及后续的开发利用奠定坚实的基础。刘青等^[58]研究发现,粗提 CNCP 富含中性糖、半乳糖醛酸及蛋白质。其中中性糖的成分为阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖和甘露糖。牛广俊等^[6]采用苯酚—硫酸比色法测定 CNCP 花、叶、芽尖和果皮 4 个不同部位水提取物的多糖含量依次为 32.88, 29.48, 35.89, 30.02 mg/g, 4 个部位间多糖质量分数趋近于 30 g/kg,金花茶芽尖部位多糖含量最高。

除了解析 CNCP 成分外,单糖组成亦成为学者关注的焦点。韦璐等^[59]研究发现,金花茶叶片多糖单糖组成为阿拉伯糖、半乳糖、鼠李糖、葡萄糖、木糖和甘露糖,各自占比依次为 43.26:27.56:14.30:10.69:2.34:1.82。陆建平^[60]采用胶束电动毛细管色谱法测定超声辅助提取的 CNCP 的单糖组成为葡萄糖、半乳糖、半乳糖醛酸、阿拉伯糖、甘露糖、鼠李糖,其比例为 0.02:0.42:0.35:0.29:0.06:0.10。

采用不同的提取方法得到的多糖纯化组分及单糖组成存在显著差异。龚雯等^[11]采用 DEAE-纤维素阴离子交换法对金花茶叶多糖进行分级纯化得到 3 种多糖。其中,TPS1 主要由葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖构成,TPS2 与 TPS3 主要由鼠李糖、半乳糖醛酸、半乳糖和阿拉伯糖构成。田晓春等^[28]采用 Cellulose DE-52 离子交换柱层析法对 CNCP 进行分离纯化,成功分离出 TPS0、TPS1、TPS2、TPS3、TPS4 和 TPS5 6 个多糖组分。前 3 个组分为主要成分,但未检出鼠李糖,而后 3 个组分则以半乳糖醛酸为主,且包含约 11% 的鼠李糖。由此推测后 3 个组分的糖分子很可能由鼠李糖和半乳糖醛酸交替连接形成的毛发区

域,以及由 n 个半乳糖醛酸连接构成的平滑区域所组成。林华娟等^[49]采用 Cellulose DE-52 离子交换柱层析、凝胶柱层析和体积排阻色谱法纯化粗多糖得到 TPS3-1 多糖组分,经部分酸水解、红外光谱和核磁共振分析发现 TPS3-1 由两个结构域即甲基酯化聚半乳糖醛酸的光滑结构域,以及包含 3 种具有不同化学结构特征的片段的毛发状结构域组成。

3.2 分子构象

分子构象是指分子在三维空间中的排列与相对位置,对分子间相互作用、反应速率及所展现的物化性质与生物活性具有显著影响。Zheng 等^[61]认为多糖的相对分子质量是影响其生物活性的主要因素之一。凝胶渗透色谱(GPC)或尺寸排阻色谱(SEC)作为测定多糖相对分子质量的重要工具得到了广泛应用^[62-63]。尽管 GPC/SEC 能有效分离多糖组分,但其准确性依赖于标准样品的校准,以确定未知样品的摩尔质量。对于多数多糖而言,难以获得具有相似组成与构象的适宜标准品,校准过程耗时且存在误差^[64]。

CNCP 因其独特的分子结构,展现了高度的构象可塑性及复杂性,其复杂性主要体现在两方面:① 由单糖单元间的不同排列与链接方式,如 α -D-葡萄糖、 α -D-半乳糖、 β -D-半乳糖等单糖成分通过 1 $\rightarrow$ 4 或 1 $\rightarrow$ 6 糖苷键连接形成了无规卷曲、半柔性链、刚链、螺旋链、蠕虫状、棒状及聚集体等多种形式复杂的分子结构^[65]。② 作为大分子聚合物,CNCP 在空间构象上展现出多样性,呈现不同的形态和组合方式。与其他生物大分子相似,CNCP 的构象特征取决于其化学结构和空间排布,可因温度、pH 值等外部因素而发生构象变化。

目前,对 CNCP 的分子构象特征及其对生物学效应的具体影响尚缺乏深入了解。通过解析分子构象,从分子层面深入探究 CNCP 的生物活性,将有助于其在医药、保健等领域中的应用。

4 金花茶多糖的生物活性

CNCP 作为中国传统民间药物,在中国药典文献中早有记载,最早可追溯至《本草纲目》,并逐渐认识到其活性成分和药用潜力^[66]。金花茶的叶子和花朵具有强抗氧化和抗菌活性^[67-70],并被作为胰脂肪酶抑制剂^[71]和潜在的胃与结肠癌抗癌药物^[72-73]。然而,关于其功效与具体作用机制之间的关系,尚待进一步阐明。

4.1 抗氧化活性

金花茶的花和叶已被作为新型食物来源。其显著的抗氧化活性可有效治疗和预防与氧化应激相关的心血管和神经系统等疾病^[11,74]。龚雯等^[11]研究了 3 种 CNCP (TPS1、TPS2、TPS3)组分的抗氧化活性,结果表明,TPS2 和 TPS3 主要为酸性多糖,酸性多糖中存在酮或者醛等亲

电基团,更有利于 O—H 键中氢质体的释放,从而消除自由基。而 TPS3 因其高达 33.17% 的糖醛酸含量,能够提供更多氢质子来中和自由基,抗氧化能力最高。

4.2 免疫调节活性

CNCP 能够增强巨噬细胞、T 淋巴细胞、自然杀伤细胞等免疫细胞活性,从而增强特异性免疫反应对免疫原的应答。邹登峰等^[75]研究发现,接受 CNCP 治疗的免疫性肝病小鼠,其体内炎症细胞因子及毒性介质的表达得到了明显抑制,表明 CNCP 可有效减轻肝内炎症反应和细胞毒性,保肝效果显著。此外,已有研究^[73]证实,茶多糖能增强巨噬细胞的吞噬能力,激活 T、B 细胞的免疫应答,并具备抑制肿瘤转移的能力。然而,对 CNCP 的免疫调节机制尚需进一步探索和验证。

4.3 降血脂活性

CNCP 可有效降低血脂,对冠心病和脑梗死等疾病的预防与治疗具有积极作用^[76]。韦璐等^[59]通过水提法从金花茶叶中提取 CNCP,并将纯化后的 CNCP 分为高(200 mg/kg 体质量)、中(100 mg/kg 体质量)、低(50 mg/kg 体质量)3 个剂量组对患有高血脂症小鼠进行灌胃试验。结果表明,3 个剂量组均能有效降低高血脂症小鼠血清中的总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平,同时提升高密度脂蛋白胆固醇与总胆固醇的比值。随后经过 2 周的小鼠灌胃处理,金花茶组小鼠的血清中总胆固醇水平达到正常组水平,且其效果优于临床药物血脂康胶囊。

4.4 抗炎活性

CNCP 能有效抑制免疫细胞如白细胞和巨噬细胞释放炎症介质如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β (IL-1 β),减轻由炎症反应导致的疼痛和红肿等症状。同时,它还能调控炎症细胞的增殖,可有效防治急性肝炎等疾病。黄思茂等^[77]研究发现,CNCP 对四氯化碳诱导的小鼠急性肝损伤的保护作用显著。接受 200, 100 mg/kg 多糖剂量组的小鼠,其血清中丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸氨基转移酶及丙二醛含量明显降低,而超氧化物歧化酶及谷胱甘肽过氧化物酶的活性则显著提升。此外,肝组织内一氧化氮含量明显减少,同时 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 及 NF- κ B 的表达水平也呈下降趋势。病理切片观察进一步证实,接受 CNCP 治疗的小鼠肝脏表面泛黄程度减弱,小叶结构相对完整,肝细胞坏死程度及炎症细胞数量均明显降低,肝组织炎症得到显著改善。

此外,脑出血后常伴随的继发性炎症反应是导致细胞死亡和继发神经功能障碍的关键因素。其中,小胶质细胞作为中枢炎症反应中的重要细胞类型,对调节继发性炎症反应具有重要意义。田宁等^[78]对脑出血后的小鼠即刻灌胃 CNCP 并连续给药 3 d,结果显示,CNCP 能促使 M1 型小胶质细胞(释放炎症因子发挥神经毒性作用)向 M2 型小胶质细胞(释放抗炎因子并调控细胞吞噬,发挥

神经保护作用)转变。这一转变有助于减轻炎症、脑水肿以及血脑屏障的损伤,从而显著改善脑出血后的损伤情况。综上所述,CNCP通过调节免疫功能、抑制炎症介质和氧化应激等多种机制,展现出显著的抗炎作用,因此被视为一种具有良好药理活性的天然抗炎剂。

5 结论

目前,对金花茶多糖的研究主要集中在对其提取、分离、纯化、结构鉴定和活性研究等多个方面。尽管多糖的提取、分离和纯化方法繁多,每种方法均有独特优势与局限。在提取过程中,需依据金花茶多糖的特定性质或特征,谨慎选择提取与纯化方法,旨在最大化提取金花茶多糖并维护其活性。

当前对金花茶多糖结构的研究尚显不足,难以获得均一的活性多糖组分。其结构分析主要局限于单糖组成与相对分子质量,这亦是阻碍多糖研究深入发展的关键因素之一。因此,未来研究需着重于高阶结构表征的基础阶段,如单糖在一级结构中的排列、糖苷键的类型、分支的有无、糖链的长度,以及分支的大小与位置等,以期阐明金花茶多糖分子结构与功能之间的内在关系。

金花茶多糖已展现出对慢性再生障碍性贫血、食管癌等病状的治疗潜力。然而,这些疗效尚未在临床实践中得到验证,其作用机制亦需进一步深入探索与验证。未来可针对金花茶多糖的分子结构、毒副作用及临床药理作用等方面进行更为详尽的研究,全面揭示其药理作用,拓宽其在食品工业安全生产领域的应用范围。

参考文献

- [1] ZHANG H L, WU Q X, WEI X, et al. Pancreatic lipase and cholesterol esterase inhibitory effect of *Camellia nitidissima* Chi flower extracts *in vitro* and *in vivo*[J]. Food Bioscience, 2020, 37: 100682.
- [2] ZHANG X M, FENG J, SU S F, et al. Hepatoprotective effects of *Camellia nitidissima* aqueous ethanol extract against CCl₄-induced acute liver injury in SD rats related to Nrf2 and NF-κB signalling[J]. Pharmaceutical Biology, 2020, 58(1): 239-246.
- [3] HE D Y, LI X Y, SAI X, et al. *Camellia nitidissima* C.W. Chi: a review of botany, chemistry, and pharmacology[J]. Phytochemistry Reviews, 2018, 17(2): 327-349.
- [4] QI J, SHI R F, YU J M, et al. Chemical constituents from leaves of *Camellia nitidissima* and their potential cytotoxicity on SGC7901 cells[J]. Chinese Herbal Medicines, 2016, 8(1): 80-84.
- [5] WANG Y X, ZHANG T, HUANG X J, et al. Heteroglycans from the fruiting bodies of *Agrocybe cylindracea*: fractionation, physicochemical properties and structural characterization[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 114: 106568.
- [6] 牛广俊, 朱思, 陈清英, 等. 金花茶不同部位多糖的测定及体外抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 168-172.
- [7] XU Y Q, JI W B, YU P G, et al. Effect of extraction methods on the chemical components and taste quality of green tea extract [J]. Food Chemistry, 2018, 248: 146-154.
- [8] LEI P Y, CHEN H J, MA J H, et al. Research progress on extraction technology and biomedical function of natural sugar substitutes[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 952147.
- [9] DREVELEGKA I, GOULA A M. Recovery of grape pomace phenolic compounds through optimized extraction and adsorption processes[J]. Chemical Engineering and Processing-Process Intensification, 2020, 149: 107845.
- [10] CHENG Y, XUE F M, YANG Y. Hot water extraction of antioxidants from tea leaves-optimization of brewing conditions for preparing antioxidant-rich tea drinks[J]. Molecules, 2023, 28(7): 3 030.
- [11] 龚雯, 唐婕, 韦雅渊, 等. 金花茶多糖分离纯化、结构表征及其体外抗氧化性[J]. 食品与机械, 2021, 37(6): 184-190.
- [12] CHEN X H, CHEN G J, WANG Z R, et al. A comparison of a polysaccharide extracted from ginger (*Zingiber officinale*) stems and leaves using different methods: preparation, structure characteristics, and biological activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 151: 635-649.
- [13] QURESHI F, YUSUF M, KHAN M A, et al. A state-of-the-art review on the latest trends in hydrogen production, storage, and transportation techniques[J]. Fuel, 2023, 340: 127574.
- [14] YAO J M, LIU H F, MA C Y, et al. A review on the extraction, bioactivity, and application of tea polysaccharides[J]. Molecules, 2022, 27(15): 4 679.
- [15] GHARIBZAHEDI S M T, MARTI-QUIJAL F J, BARBA F J, et al. Current emerging trends in antitumor activities of polysaccharides extracted by microwave-and ultrasound-assisted methods[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 202: 494-507.
- [16] MANDAL C, JAISWAL M, BOSCO S J D, et al. Process optimization for ultrasound and microwave-assisted phytonutrients extractions from *Averrhoa carambola* fruit[J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2024, 14(15): 18 253-18 265.
- [17] 刘茜, 许子竞, 胡旭飞. 响应面微波辅助提取金花茶花多糖工艺研究[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 2016, 39(3): 40-45.
- [18] LIU Q, XU Z J, HU X F. Study on the microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Camellia chrysantha* (Hu)

- Tuyama flowers by response surface analysis[J]. Journal of Natural Science of Hunan Normal University, 2016, 39(3): 40-45.
- [18] OYEYINKA S A, AKINTAYO O A, ADEBO O A, et al. A review on the physicochemical properties of starches modified by microwave alone and in combination with other methods [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 176: 87-95.
- [19] CHEN X X, YANG J, SHEN M Y, et al. Structure, function and advance application of microwave-treated polysaccharide: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 123: 198-209.
- [20] CHEN Y Y, GU X H, HUANG S Q, et al. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti-tumor activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 46(4): 429-435.
- [21] 韦璐, 秦小明, 黄日秋, 等. 超声波提取金花茶多糖的工艺研究[J]. 食品科技, 2007, 32(11): 100-102.
- WEI L, QIN X M, HUANG R Q, et al. Study on tea polysaccharide from the leave of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama by the ultrasonic extraction process[J]. Food Science and Technology, 2007, 32 (11): 100-102.
- [22] 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.
- XU Z J, LIAO M F, CHEN H Y, et al. *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama leaves: optimization of ultrasonic-assisted extraction and methodological evaluation of phenol-sulfuric acid determination of polysaccharide[J]. Food Science, 2010, 31(4): 53-58.
- [23] WU J, CHEN R Z, TAN L, et al. Ultrasonic disruption effects on the extraction efficiency, characterization, and bioactivities of polysaccharides from *Panax notoginseng* flower[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 291: 119535.
- [24] 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.
- [25] BAIK J H, SHIN K S, PARK Y, et al. Biotransformation of catechin and extraction of active polysaccharide from green tea leaves via simultaneous treatment with tannase and pectinase [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2015, 95 (11): 2 337-2 344.
- [26] 王元凤, 魏新林, 王登良, 等. 金花茶叶酶法提取工艺条件的研究[J]. 无锡轻工大学学报, 2001, 20(6): 582-587.
- WANG Y F, WEI X L, WANG D L, et al. Studying on enzymatic extraction process condition of yellow flower camellia[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2001, 20(6): 582-587.
- [27] 王若男, 厉荣玉, 郑鹏, 等. 黄精多糖微生物发酵提取、表征及其抗氧化活性分析[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(9): 54-62.
- WANG R N, LI R Y, ZHENG P, et al. Microbial fermentation extraction, characterization and antioxidant activity of *Polygonatum* polysaccharide[J]. China Food Additives, 2022, 33(9): 54-62.
- [28] 田晓春, 秦小明, 林华娟, 等. 金花茶多糖理化性质的研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(8): 47-52.
- TIAN X C, QIN X M, LIN H J, et al. Studies on physicochemical characteristic of polysaccharides from leaves of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2011, 11(8): 47-52.
- [29] ZENG X T, LI P Y, CHEN X, et al. Effects of deproteinization methods on primary structure and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 126: 867-876.
- [30] 方苏, 闫兴富, 周立彪. 脱脂和脱蛋白处理对虫草多糖测定的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(9): 144-146.
- FANG S, YAN X F, ZHOU L B. Effect of degreasing and deproteinized treatments on Cordyceps polysaccharide assays [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2017, 45(9): 144-146.
- [31] CHEN Y, XIE M Y, LI W J, et al. An effective method for deproteinization of bioactive polysaccharides extracted from lingzhi (*Ganoderma atrum*) [J]. Food Science and Biotechnology, 2012, 21(1): 191-198.
- [32] HUANG G L, SHU S Q, CAI T T, et al. Preparation and deproteinization of garlic polysaccharide[J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2012, 63(6): 739-741.
- [33] FIC E, KEDRACKA-KROK S, JANKOWSKA U, et al. Comparison of protein precipitation methods for various rat brain structures prior to proteomic analysis[J]. Electrophoresis, 2010, 31(21): 3 573-3 579.
- [34] QIN C G, HUANG K X, XU H B. Isolation and characterization of a novel polysaccharide from the mucus of the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 49(3): 367-371.
- [35] LI X, ZHAO R, ZHOU H L, et al. Deproteinization of polysaccharide from the stigma maydis by sevag method[J]. Advanced Materials Research, 2011, 340: 416-420.
- [36] 蔡静. 飞天蜈蚣七多糖提取纯化工艺、结构及抗氧化性研究[D]. 西安: 西北大学, 2011: 23-32.
- CAI J. Study on extraction and purification process, structure and antioxidant activity of polysaccharides from *Pteris icropo* [J]. Xi'an: Northwestern University, 2011: 23-32.
- [37] 李知敏, 王伯初, 周菁, 等. 植物多糖提取液的几种脱蛋白方法的比较分析[J]. 重庆大学学报(自然科学版), 2004, 27(8): 57-59.
- LI Z M, WANG B C, ZHOU J, et al. Comparison of three methods of removing protein from polysaccharide extract in the plant[J]. Journal of Chongqing University (Natural Science

- Edition), 2004, 27(8): 57-59.
- [38] ZHANG S J, HU T T, CHEN Y Y, et al. Analysis of the polysaccharide fractions isolated from pea (*Pisum sativum* L.) at different levels of purification[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(8): e13248.
- [39] 覃梦琳. 毛细管电泳测定金花茶, 六堡茶中多糖组成和食品添加剂的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2016: 16-25.
- QIN M L. Determination of polysaccharide composition of *Camellia nitidissima* Chi, Liupao tea and food additives by capillary electrophoresis[D]. Nanning: Guangxi University, 2016: 16-25.
- [40] HU Z Y, ZHOU H L, LI Y P, et al. Optimized purification process of polysaccharides from *Carex meyeriana* Kunth by macroporous resin, its characterization and immunomodulatory activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 76-86.
- [41] HU Z Y, YU R Y, SUN J F, et al. Static decolorization of polysaccharides from the leaves of *Rhododendron dauricum*: process optimization, characterization and antioxidant activities [J]. Process Biochemistry, 2022, 121: 113-125.
- [42] WANG P Y, ZHAO B L, YIN Z T, et al. Structure elucidation and anticancer activity of a heteropolysaccharide from white tea[J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 333: 121976.
- [43] SHAO L J, SUN Y, LIANG J, et al. Decolorization affects the structural characteristics and antioxidant activity of polysaccharides from *Thesium chinense* Turcz: comparison of activated carbon and hydrogen peroxide decolorization[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1 084-1 091.
- [44] BELWAL T, LI L, XU Y Q, et al. Ultrasonic-assisted modifications of macroporous resin to improve anthocyanin purification from a *Pyrus communis* var. Starkrimson extract [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 62: 104853.
- [45] ZHOU R, WANG Y T, LI C, et al. A preliminary study on preparation, characterization, and prebiotic activity of a polysaccharide from the edible mushroom *Ramaria flava*[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(9): e14371.
- [46] SHI S, WANG G C, LIU J, et al. *Gentiana straminea* Maxim. polysaccharide decolorized via high-throughput graphene-based column and its anti-inflammatory activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 193: 1 727-1 733.
- [47] SHI S, ZHANG W T, LIU X N, et al. A sustainable and nondestructive method to high-throughput decolor *Lycium barbarum* L. polysaccharides by graphene-based nano-decoloration[J]. Food Chemistry, 2021, 338: 127749.
- [48] 路霆, 林华娟, 杨基佳. 凝集素亲和层析技术分离金花茶多糖的研究[J]. 农业研究与应用, 2014(4): 1-8, 16.
- LU Y, LIN H J, YANG J Z. Study on the lectin affinity chromatography of polysaccharides in *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama[J]. Agricultural Research and Application, 2014 (4): 1-8, 16.
- [49] 林华娟, 田晓春, 秦小明, 等. 金花茶多糖单一成分的化学结构特征解析[J]. 食品科学, 2013, 34(3): 141-146.
- LIN H J, TIAN X C, QIN X M, et al. Structural characteristics of purified polysaccharide from *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyams[J]. Food Science, 2013, 34(3): 141-146.
- [50] FERREIRA S S, PASSOS C P, MADUREIRA P, et al. Structure-function relationships of immunostimulatory polysaccharides: a review[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 132: 378-396.
- [51] NIE S P, XIE M Y. A review on the isolation and structure of tea polysaccharides and their bioactivities[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 144-149.
- [52] 刘永玲, 赵建国, 赵治兵, 等. PMP柱前衍生 HPLC 法测定八月瓜果皮多糖中单糖组成[J]. 食品研究与开发, 2023, 44 (21): 131-137.
- LIU Y L, ZHAO J G, ZHAO Z B, et al. Determination of monosaccharide composition of polysaccharides from akebia trifoliolate peel by PMP-HPLC with pre-column derivatization [J]. Food Research and Development, 2023, 44(21): 131-137.
- [53] FENG Z H, DENG L M, CHEN X L, et al. Structural characterization and anti-pigmentation of a novel heteropolysaccharide from *Gracilaria lemaneiformis* via α -MSH/MC1R pathway[J]. Journal of Functional Foods, 2023, 107: 105650.
- [54] CAMPO-GRANDE G C, DA LUZ B B, MARIA-FERREIRA D, et al. Water-soluble polysaccharides from *Piper regnellii* (Pariparoba) leaves: structural characterization and antinociceptive and anti-inflammatory activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 319: 121142.
- [55] MIAO X L, MA H M, KE Q H, et al. The determination of monosaccharide in different years Qingzhuang dark tea polysaccharide by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Phytochemical Analysis, 2022, 33(4): 577-589.
- [56] 张玉梅, 邢慧珍, 刘会平, 等. 槐花多糖的提取、纯化和抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(24): 207-215.
- ZHANG Y M, XING H Z, LIU H P, et al. Extraction, purification and antioxidant activity of polysaccharides from *Sophora japonica*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(24): 207-215.
- [57] 蒋文明, 周石洋. 海棠果多糖提取、结构表征以及生物活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(7): 81-89.
- JIANG W M, ZHOU S Y. Extraction, structure characterization and biological activity of polysaccharides from *Malus prunifolia*[J]. China Food Additives, 2023, 34(7): 81-89.
- [58] 刘青, 李月, 杨润梅, 等. 金花茶组植物资源现状与现代研究进展[J]. 中国现代中药, 2021, 23(4): 727-733.
- LIU Q, LI Y, YANG R M. Yellow camellia: resource status and research progress in modern studies[J]. Modern Chinese Medicine, 2021, 23(4): 727-733.

- [59] 韦璐, 秦小明, 林华娟, 等. 金花茶多糖的降血脂功能研究[J]. 食品科技, 2008(7): 247-249.
- WEI L, QIN X M, LIN H J, et al. Study on the hypolipidemia activity of polysaccharides from the leaves of *Camellia chrysantha* (Hu) Tuyama[J]. Food Science and Technology, 2008(7): 247-249.
- [60] 陆建平, 覃梦琳, 布静龙, 等. 胶束电动毛细管色谱法测定金花茶和六堡茶中多糖的单糖组成[J]. 理化检验(化学分册), 2017, 53(4): 442-446.
- LU J P, QIN M L, BU J L, et al. MECC determination of monosaccharide composition of polysaccharides in camellia and Liupu teas[J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2017, 53(4): 442-446.
- [61] ZHENG Z M, PAN X L, LUO L, et al. Advances in oral absorption of polysaccharides: mechanism, affecting factors, and improvement strategies[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 282: 119110.
- [62] FORSBERG Z, STEPNOV A A, TESEI G, et al. The effect of linker conformation on performance and stability of a two-domain lytic polysaccharide monooxygenase[J]. Journal of Biological Chemistry, 2023, 299(11): 105262.
- [63] HUANG P H, CHIU C S, LU W C, et al. Change in chemical composition and enhancement of intestinal microflora of acid hydrolyzed polysaccharides from *Zizyphus jujube* and *Sterculia lychnophora*[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2024, 17(3): 105598.
- [64] DEMUTH T, BETSCHART J, NYSTRÖM L. Structural modifications to water-soluble wheat bran arabinoxylan through milling and extrusion[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 240: 116328.
- [65] WANG Q, SHENG X J, SHI A M, et al. β -Glucans: relationships between modification, conformation and functional activities[J]. Molecules, 2017, 22(2): 257.
- [66] RAHAYU R P, PRASETYO R A, PURWANTO D A, et al. The immunomodulatory effect of green tea (*Camellia sinensis*) leaves extract on immunocompromised Wistar rats infected by *Candida albicans*[J]. Veterinary World, 2018, 11(6): 765-770.
- [67] WANG B, GE L, MO J G, et al. Essential oils and ethanol extract from *Camellia nitidissima* and evaluation of their biological activity[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 55(12): 5 075-5 081.
- [68] YANG R, GUAN Y, WANG W X, et al. Antioxidant capacity of phenolics in *Camellia nitidissima* Chi flowers and their identification by HPLC Triple TOF MS/MS[J]. PLoS One, 2018, 13(4): e0195508.
- [69] SONG L X, WANG X S, ZHENG X Q, et al. Polyphenolic antioxidant profiles of yellow camellia[J]. Food Chemistry, 2011, 129(2): 351-357.
- [70] YANG R, GUAN Y, ZHOU J W, et al. Phytochemicals from *Camellia nitidissima* Chi flowers reduce the pyocyanin production and motility of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 8: 2 640.
- [71] CHEN J H, WU X H, ZHOU Y, et al. *Camellia nitidissima* Chi leaf as pancreatic lipase inhibitors: inhibition potentials and mechanism[J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(9): e13837.
- [72] CHEN Y W, ZHANG F, DU Z C, et al. Proteome analysis of *Camellia nitidissima* Chi revealed its role in colon cancer through the apoptosis and ferroptosis pathway[J]. Frontiers in Oncology, 2021, 11: 727130.
- [73] HE X, LI H, ZHAN M X, et al. *Camellia nitidissima* chi extract potentiates the sensitivity of gastric cancer cells to paclitaxel via the induction of autophagy and apoptosis[J]. OncoTargets and Therapy, 2019, 12: 10 811-10 825.
- [74] 韦霄, 黄兴贤, 蒋运生, 等. 3种金花茶组植物提取物的抗氧化活性比较[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(5): 639-641.
- WEI X, HUANG X X, JIANG Y S, et al. Comparison of antioxidant activity of extracts from three plant groups of *Camellia sinensis*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2011, 36(5): 639-641.
- [75] 邹登峰, 张可锋, 谢爱泽. 金花茶多糖抗小鼠免疫性肝损伤作用的研究[J]. 华西药学杂志, 2014, 29(5): 525-527.
- ZOU D F, ZHANG K F, XIE A Z. Protective effect of *Camellia nitidissima* polysaccharides on immunological liver injury in the mice induced by BCG combined LPS[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2014, 29(5): 525-527.
- [76] BAI Y, YE L, YANG K, et al. Genome survey and SSR analysis of *Camellia nitidissima* Chi (Theaceae) [J]. Genetics Research, 2022, 2 022(1): 5417970.
- [77] 黄思茂, 曹后康, 高雅, 等. 金花茶多糖对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用及其机制的研究[J]. 中药药理与临床, 2016, 32(6): 117-120.
- HUANG S M, CAO H K, GAO Y, et al. Protective effect and mechanism of polysaccharides of *Camellia nitidissima* on acute hepatic injury induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2016, 32(6): 117-120.
- [78] 田宁, 向文静, 周紫贤, 等. 小胶质细胞在金花茶多糖保护脑出血中的作用[J]. 中国药理学通报, 2020, 36(2): 231-237.
- TIAN N, XIANG W J, ZHOU Z X, et al. *Camellia nitidissima* polysaccharides alleviate experimental intracerebral hemorrhage injury via regulating microglia M1/M2 polarization[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2020, 36(2): 231-237.