

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241120003

引用格式: 曹佩琴, 肖艳芬, 宋一平. 新型低共熔溶剂对茶多糖吸光度的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 239-245.

CAO PQ, XIAO YF, SONG YP. Effects of new deep eutectic solvent on absorbance of tea polysaccharide [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 239-245. (in Chinese with English abstract).

新型低共熔溶剂对茶多糖吸光度的影响

曹佩琴*, 肖艳芬, 宋一平

(湖南理工学院化学化工学院, 岳阳 414006)

摘要: **目的** 探究新型低共熔溶剂(deep eutectic solvent, DES)在可见分光光度法检测中对茶多糖吸光度的影响, 建立快速高效的茶多糖含量检测方法。**方法** 氯化胆碱/DL-酒石酸 DES 作为茶多糖的提取溶剂, 考察蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸两种检测方法中 DES 对茶多糖含量检测的影响, 并对方法学线性关系、精密度、稳定性、重复性和加标回收率进行比较。**结果** 茶多糖测定的最佳方法为苯酚-硫酸法, 最适检测波长为 484 nm, 葡萄糖质量浓度在 20~100 $\mu\text{g/mL}$ 之间吸光度具有良好的线性关系, 其精密度相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.10%, 稳定性 RSD 为 0.00%, 重复性 RSD 为 2.40%, 加标回收率为 94.25%~111.19%, 测得茶多糖含量为 54.76 mg/g。**结论** 苯酚-硫酸法适用于以 DES 为提取溶剂的茶叶中茶多糖含量测定。

关键词: 低共熔溶剂; 茶多糖; 检测方法

Effects of new deep eutectic solvent on absorbance of tea polysaccharide

CAO Pei-Qin*, XIAO Yan-Fen, SONG Yi-Ping

(Department of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Institute of Science and Technology, Yueyang 414006, China)

ABSTRACT: Objective To study the effects of deep eutectic solvent (DES) on the absorbance of tea polysaccharide by visible spectrophotometry, and establish a fast and efficient method for the determination of tea polysaccharide. **Methods** Choline chloride/DL-tartaric acid was used as the extraction solvent of tea polysaccharide. The influence of DES on the determination of tea polysaccharide content in anthrone sulfuric acid and phenol-sulfuric acid 2 kinds of detection methods was investigated. The linear relationship, precision, stability, repeatability and standard recovery rate of the 2 kinds of detection methods were compared. **Results** The best method for the determination of tea polysaccharides was phenol-sulfuric acid method, the optimal detection wavelength was 484 nm, and the absorbance had a good linear relationship with glucose concentration between 20 and 100 $\mu\text{g/mL}$. The precision relative standard deviation (RSD) of this method was 0.10%, the stability RSD was 0.00%, the repeatability RSD was 2.40%, and the recovery rate was 94.25%~111.19%, and the content of tea polysaccharide was 54.76 mg/g. **Conclusion** Phenol-sulfuric acid method is suitable for the determination of tea polysaccharide in tea with DES as extraction solvent.

KEY WORDS: deep eutectic solvents; tea polysaccharide; detection methods

收稿日期: 2024-11-20

基金项目: 湖南省教育厅青年项目(21B0587)

第一作者/*通信作者: 曹佩琴(1989—), 女, 博士, 讲师, 主要研究方向为茶叶功能成分利用。E-mail: 835933251@qq.com

0 引言

茶多糖(tea polysaccharides, TPS)是茶叶中非常重要的一类具有生物活性的大分子物质。茶多糖在茶叶中的含量为 1.5%~13.0%，是一类与蛋白质结合在一起的酸性多糖或酸性糖蛋白^[1]。茶多糖由 2~10 种单糖组成，包括鼠李糖、阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖、木糖、甘露糖、岩藻糖、半乳糖酸、葡萄糖酸和核糖，糖苷键的连接方式为(1→2)、(1→3)、(1→4)和(1→6)，其平均分子量范围从 1.02 kDa 至 4940 kDa^[2-3]。体外和体内研究显示，茶多糖具有多种生物活性和药理学潜力，如抗氧化、保肝、免疫调节、抗病毒、抗菌、降糖和抗肿瘤活性^[4-6]。

低共熔溶剂(deep eutectic solvent, DES)是由氢键供体与氢键受体通过氢键相互作用形成的共熔混合物^[7]。DESs 作为可替代有机溶剂的新一代环保“绿色”溶剂，具有绿色环保可降解、无毒、挥发性低等优点，受到了广泛的关注^[8]。研究显示 DESs 在生物质原料前处理中有利于细胞破损，活性成分的溶出，能获得较高的提取率^[9-11]。GAO 等^[12]使用氢受体为氯化胆碱、甜菜碱、甘氨酸和 L-脯氨酸与氢受体为尿素、酸类和醇类等制备 17 种 DES，甜菜碱/乙二醇 DES 对油茶籽多糖的提取率最高为 121.9 mg/g，显著高于水和碱液，工艺优化后最大提取率为 152.37 mg/g。CAI 等^[13]用氢键受体(乙醇胺、二乙醇胺和三乙醇胺)与氢键供体(邻甲酚、间甲酚和对甲酚)制备 9 种 DES 提取灵芝多糖，多糖得率均显著高于水。GUO 等^[14]采用热水提取、微波提取、超声-微波辅助提取、加压水提取、碱液提取、高速剪切均质提取、DES 和超声辅助 DES 提取 8 种工艺提取甜茶粗多糖，结果表明不同的提取工艺对茶多糖的组成、结构和生物学特性有不同的影响，用 DESs 提取的茶多糖具有较好的生物学性能。目前，DESs 提取茶叶中的多糖研究还较少。

DESs 因其具有极强的可设计性，组成多变复杂，理化性质差异大^[15-16]，对于茶多糖的提取率也有着极大的差异^[17-18]。因此，为了筛选出最优 DES 用于茶多糖的提取，首先要确定检测方法。植物多糖因无变旋现象和还原性，一般需要经过处理后才能检测出其含量。目前常见的检测方法有滴定法、比色法和色谱法等，不同来源的多糖所适用的检测方法不同^[19-21]。高效液相色谱法进行多糖检测时，样品前处理工序比较烦琐，测定时间较长，且检测费用较高，不便快速测定^[22]。比色法利用组成多糖的单糖缩合反应而建立的方法，如蒽酮-硫酸法、苯酚-硫酸法等，相比于高效液相色谱法，这两种方法操作简单、样品无需烦琐前处理、实用性强，具有更好的使用价值^[23-24]。因此蒽酮-硫酸法和苯酚-硫酸法可见分光光度法常用于茶多糖的含量检测。然而，前期研究显示 DESs 的存在可能会影响茶

多糖可见分光光度法含量检测结果的准确性。因此本研究比较了苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法两种检测方法中，DESs 在可见分光光度法检测中对茶多糖吸光度的影响，考察了两种检测方法在线性关系、精密度、稳定性、重复性和加标回收率的优劣，旨在建立最佳的茶多糖测定方法。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

氯化胆碱、DL-酒石酸、草酸、L-脯氨酸、乙二醇、甜菜碱、尿素、苯酚、硫酸(分析纯，上海泰坦科技股份有限公司)；葡萄糖(分析纯，国药集团化学试剂有限公司)；蒽酮(分析纯，北京酷来博科技有限公司)。

紧压金花黄茶粉末(30 目，岳阳市那山那水茶业有限责任公司)。

1.2 仪器与设备

IKA RH digital 磁力搅拌器(德国艾卡公司)；KQ3200E 超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司)；A580 型紫外分光光度计(上海翱艺仪器有限公司)；FA1104 万分之一电子分析天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 DES 溶剂的制备

按照摩尔比 1:2 称取氯化胆碱和酒石酸混合在密闭离心管中，加入 30 wt% 的水，在 80 °C 下磁力搅拌加热，直至溶液澄清透明。

1.3.2 茶多糖 DES 提取液制备

以含水量 30 wt% 的氯化胆碱-酒石酸(摩尔比 1:2)为低共熔提取溶剂，称取 0.1 g 茶粉，加入 2 mL DES 提取剂，60 °C 下超声 30 min，过滤，滤液加水定容于 100 mL 容量瓶，获得茶多糖 DES 提取液。按照相同条件，水作为提取溶剂对茶粉进行提取，过滤，滤液加水定容于 100 mL 容量瓶，获得茶多糖水提液，作为参比溶液。

1.3.3 相关标准溶液的配制

(1) 葡萄糖对照品溶液的配制

配制成 5 mg/mL 的葡萄糖母液，吸取 2 mL 加水定容至 100 mL 容量瓶，作为 100 μg/mL 葡萄糖对照品溶液。按照上述条件，配制 5 mg/mL 的葡萄糖 DES 母液，吸取 2 mL 加水定容至 100 mL 容量瓶，作为 100 μg/mL 葡萄糖 DES 对照品溶液。

(2) DES 空白溶液的配制

取 2 mL 1.3.1 中的 DES 溶液于 100 mL 容量瓶中，加水定容，获得 DES 空白溶液。

1.3.4 DES 对蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸可见分光光度检测方法的影响

(1) DES 对检测波长的影响

蒽酮-硫酸法：分别取葡萄糖对照品溶液、茶多糖水提

液、葡萄糖 DES 对照品溶液和茶多糖 DES 提取液各 0.5 mL, 加入 4 mL 6% 蒽酮-硫酸混匀, 沸水浴 3 min 后冷却以超纯水作为试剂空白, 溶液于 450~800 nm 范围内扫描, 绘制可见吸收光谱图, 确定其最大吸收波长。

苯酚-硫酸法: 分别取葡萄糖对照品溶液、茶多糖水提液、葡萄糖 DES 对照品溶液和茶多糖 DES 提取液各 0.5 mL, 加入 0.5 mL 水、0.5 mL 5% 苯酚溶液, 振荡后加入 2.5 mL 硫酸, 混匀, 沸水浴 15 min 后冷却。以超纯水作为试剂空白, 于 400~800 nm 范围内扫描, 绘制可见吸收光谱图, 确定其最大吸收波长。

(2) 水浴时间对吸光度的影响

蒽酮-硫酸法: 分别取葡萄糖对照品溶液和 DES 空白溶液与蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸反应沸水浴分别反应 3、6、9、12、15 min 后冷却, 于最大吸收波长处测定吸光度值。

苯酚-硫酸法: 分别取葡萄糖对照品溶液和 DES 空白溶液与蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸反应后, 沸水浴分别反应 5、10、15、20、25 min 后冷却, 于最大吸收波长处测定吸光度值。

(3) DES 含量对吸光度的影响

分别移取 2、4、6、8、10 mL DES 溶液定容至 100 mL 容量瓶, 移取各溶液与蒽酮-硫酸反应后沸水浴 3 min 后冷却, 与苯酚-硫酸反应后沸水浴 15 min, 冷却后于最大吸收波长处测定吸光度值。

1.3.5 方法学研究

(1) 线性关系考察

蒽酮-硫酸法: 吸取葡萄糖母液, 配成质量浓度为 25、50、100、150、200、250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的葡萄糖溶液。溶液按照最佳检测条件反应后, 在最大吸收波长测定吸光度, 以吸光度值为横坐标(X), 葡萄糖标准溶液质量浓度为纵坐标(Y, $\mu\text{g}/\text{mL}$), 制作标准曲线, 得到线性回归方程。

苯酚-硫酸法: 吸取葡萄糖母液, 配成质量浓度为 20、40、60、80、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的葡萄糖溶液。溶液按照最佳检测条件反应后, 在最大吸收波长测定吸光度, 以吸光度值为横坐标(X), 葡萄糖标准溶液质量浓度为纵坐标(Y, $\mu\text{g}/\text{mL}$), 制作标准曲线, 得到线性回归方程。

(2) 精密性

吸取 0.5 mL 茶多糖提取液, 按照蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸两种方法分别操作, 连续测定 6 次。按照公式(1)计算 RSD 值。

$$\text{RSD}/\%=(\text{标准偏差}/\text{算术平均值})\times 100\% \quad (1)$$

(3) 稳定性

参照蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸的方法, 精确量取 0.5 mL 茶多糖提取液, 加热后冷却, 分别在冷却后 0、10、20、30、40、50 min 时测定吸光度, 考察 50 min 内显色液及方法的稳定性。计算 RSD 值。

(4) 重复性

吸取相同的茶多糖提取液 6 份, 尽量保证每份溶液完全相同, 参照蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸中的方法, 测定吸光度, 计算 RSD 值。

(5) 加标回收率

首先吸取 0.5 mL 茶多糖提取液, 照蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸中的方法, 测定吸光度, 代入标准曲线方程中, 计算出茶多糖的含量, 再准备 6 份相同的茶多糖粗提液, 分为 2 组, 加入 0.5 mL 已知不同浓度的葡萄糖溶液, 分别按照苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法测定吸光度。计算加标回收率和 RSD 值。加标回收率的计算如公式(2)所示。

$$\text{加标回收率}/\%=(\text{加标样品测定值}-\text{样品测定值})/\text{加标量}\times 100\% \quad (2)$$

1.3.6 茶多糖含量的测定

称取 6 份相同的茶粉, 按照 1.3.2 中的方法提取, 提取后取 3 份用蒽酮-硫酸法测定吸光值, 另 3 份用苯酚-硫酸法测定, 再通过线性回归方程计算多糖含量。

1.4 数据处理

所有实验数据均进行 3 次平行实验, 平均值 \pm 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。表示结果。采用 SPSS 21 软件进行显著性分析, 采用方差分析和邓肯^a分析, 当 $P<0.05$ 时具有统计学上显著性差异, 使用 Origin 2022 软件处理实验数据并绘制成图。

2 结果与分析

2.1 DES 对苯酚-硫酸和蒽酮-硫酸检测方法的影响

苯酚-硫酸法的原理, 多糖在硫酸的作用下生成糖醛衍生物, 然后与苯酚生成橙黄色化合物, 在 490 nm 处有一最大紫外吸收峰, 随着多糖含量的增加, 其颜色和吸光度也会递增^[25]。蒽酮-硫酸法的原理是多糖在硫酸的作用下生成糖醛衍生物(羟甲基糖醛), 再与蒽酮脱水和水缩合成蓝绿色化合物, 其颜色的深浅和吸光值与多糖含量呈正比^[26]。

2.1.1 检测波长对苯酚-硫酸和蒽酮-硫酸法吸光度的影响

葡萄糖对照品溶液、葡萄糖 DES 对照品溶液、茶多糖水提液和茶多糖 DES 提取液与苯酚-硫酸和蒽酮-硫酸反应后在 400~800 nm 的可见光扫描结果如图 1 所示。如图 1A 所示, 4 种溶液均只有一个特征吸收峰, 峰形一致, 对称性好。茶多糖水提液和茶多糖 DES 提取液与苯酚-硫酸反应后的最大吸收波长均在 484 nm, 与文献中的 490 nm 最大吸收波长相吻合^[27-28]。因此选择 484 nm 作为茶多糖苯酚-硫酸法含量测定波长。如图 1B 所示, 葡萄糖 DES 对照品溶液和茶多糖 DES 提取液与蒽酮-硫酸反应后, 在 465 nm 处存在一个最大的吸收峰, 而茶多糖水提液和葡萄糖对照品溶液在此处没有特征吸收, 这可能是 DES 与蒽酮-硫酸的特征吸收峰。同时, 4 种溶液在 567 nm 波长处均具

有明显的特征吸收峰,可作为后续茶多糖含量测定的最大吸收波长。综上,以绿色溶剂DES为提取溶剂提取茶叶中茶多糖,茶多糖在苯酚-硫酸作用下生成络合衍生物组分单一,显色效果良好,与蒽酮-硫酸相比较稳定性较好。

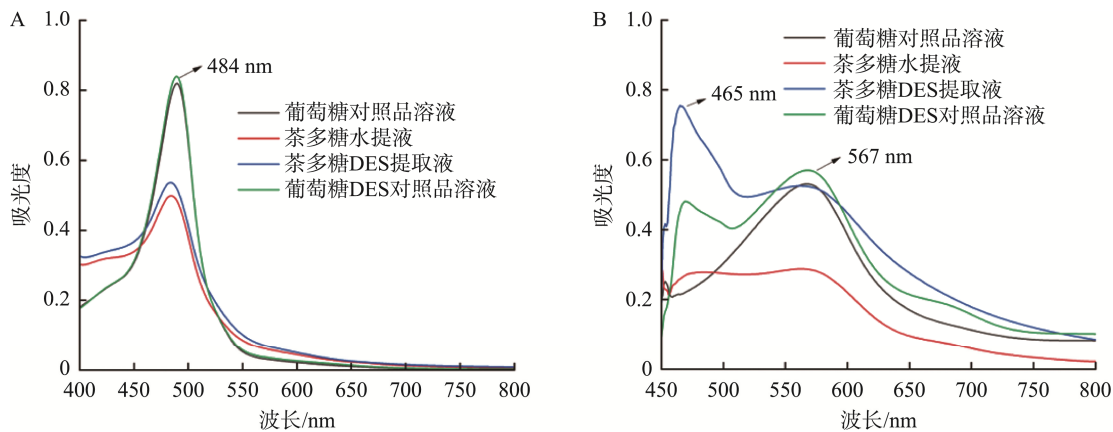
2.1.2 水浴时间对蒽酮-硫酸和苯酚-硫酸法吸光度的影响

葡萄糖对照品溶液和DES空白溶液与苯酚-硫酸和蒽酮-硫酸沸水浴时间对吸光度的影响结果如图2所示。图2A所示,苯酚-硫酸水浴时间对葡萄糖对照品溶液吸光度0.428~0.485之间波动;对DES空白溶液吸光度在0.007~0.009之间波动,对吸光度的影响基本可以忽略。根据其他参考文献的最佳水浴时间,选择水浴时间15 min作为后续反应条件。图2B所示,随着加热时间的延长,葡萄糖对照品溶液的吸光度由0.538增至0.727,加热9 min显著高于3 min和6 min的吸光度($P<0.05$)。同时,加热时间对DES空白溶液的影响更加明显,在加热3 min时,吸光

度仅有0.024,而在加热15 min时显著增加($P<0.05$),吸光度变为0.466。因此,水浴时间会对葡萄糖和DES溶液的吸光度产生较大影响,考虑到DES茶多糖粗提液中含有DES,选择加热时间3 min作为后续研究。综上,苯酚-硫酸法在显色反映过程中水浴时间对吸光度的影响小于蒽酮-硫酸法,更加适合于以DES为提取溶剂的茶多糖含量检测。

2.1.3 DES含量对苯酚-硫酸和蒽酮-硫酸法吸光度的影响

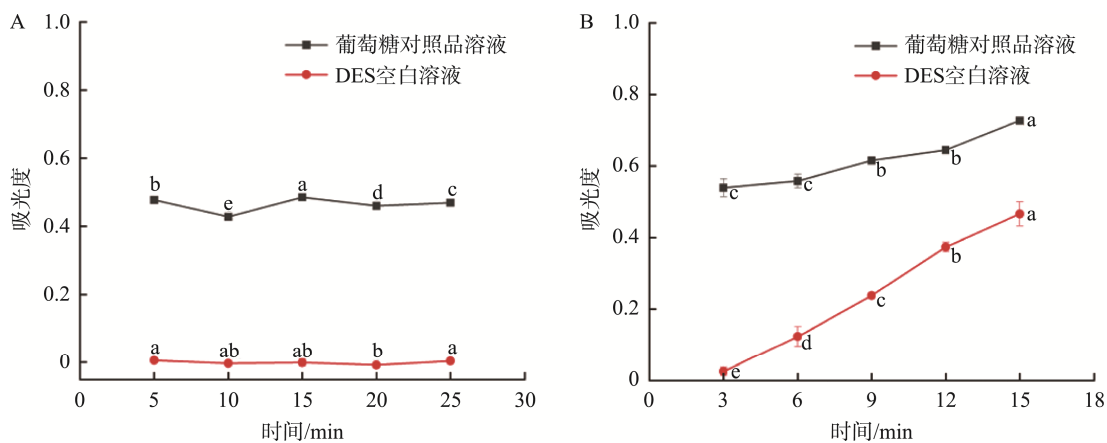
DES加入量对苯酚-硫酸和蒽酮-硫酸法吸光度的影响结果如图3所示。如图3A所示,随着DES含量的增加,苯酚-硫酸法吸光度呈现出增加的趋势。在DES含量为2 mL时,吸光度为0.0137,而当DES的含量为10 mL时,吸光度显著增加至0.113 ($P<0.05$)。如图3B所示,随着DES含量的增加,蒽酮-硫酸法吸光度呈现增加的趋势,在DES含量为2 mL时吸光度为0.015,而当DES的含量为10 mL时,吸光度为0.051 ($P<0.05$)。综上,DES与苯酚-硫酸反应



注: A. 苯酚-硫酸法; B. 蒽酮-硫酸法,图2、3同。

图1 检测波长对苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法吸光度的影响

Fig.1 Effects of wavelength on the absorbance of phenol-sulfuric acid method and anthrone-sulfuric acid method



注: 图中不同字母表示组内显著性差异($P<0.05$),图3同。

图2 水浴时间对苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法吸光度的影响

Fig.2 Effects of water bath time on absorbance of phenol-sulfuric acid method and anthrone-sulfuric acid method

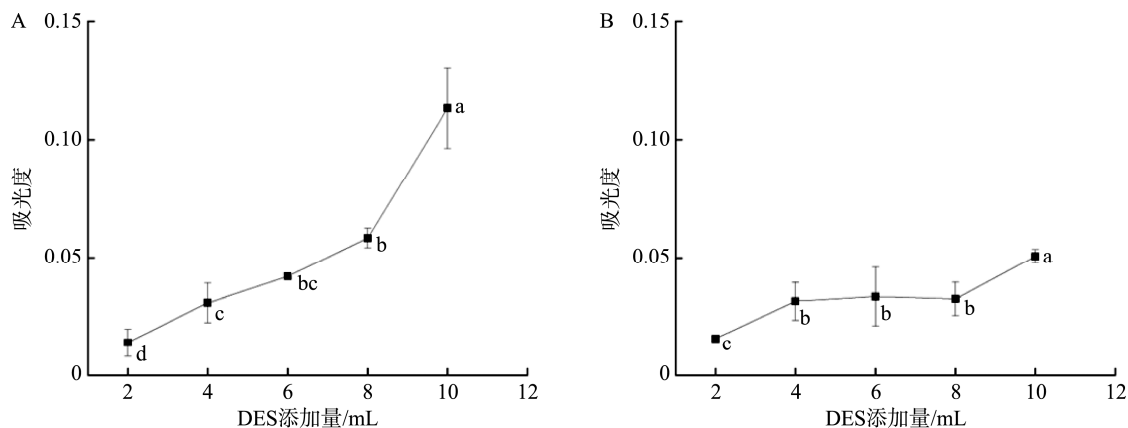


图 3 DES 含量对苯酚-硫酸法和硫酸-蒽酮法吸光度的影响

Fig.3 Effects of DES content on absorbance of phenol-sulfuric acid method and anthrone-sulfuric acid method

后会有一定的吸光度, 且会随着 DES 含量的增加而累加, 变化趋势较蒽酮-硫酸法大。因此, 选择苯酚-硫酸和蒽酮-硫酸法检测茶多糖含量需要考虑溶液中 DES 含量对吸光度的影响, 消除溶剂误差。

2.2 方法学研究

2.2.1 线性关系考察

硫酸-蒽酮法葡萄糖溶液的回归方程为 $Y=0.00547X+0.02077$, $r^2=0.9996$, 说明葡萄糖质量浓度在 25~175 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 吸光度具有线性关系良好。苯酚-硫酸法葡萄糖溶液的回归方程为 $Y=0.00848X+0.015$, $r^2=0.9996$, 说明葡萄糖质量浓度在 20~100 $\mu\text{g/mL}$ 之间, 吸光度具有线性关系良好。

2.2.2 精密度的

苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法精密度的结果如表 1 所示, 蒽酮-硫酸法的 RSD 为 0.12%, 苯酚-硫酸法的 RSD 为 0.10%, 两种方法的 RSD 值均较小, 说明仪器的精密度良好。

表 1 样品精密度
Table 1 Precision of sample

方法	组别						RSDs /%
	1	2	3	4	5	6	
蒽酮-硫酸法	81.39	81.21	81.21	81.21	81.39	81.39	0.12
苯酚-硫酸法	55.90	55.90	55.78	55.78	55.78	55.78	0.10

2.2.3 稳定性

苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法稳定性结果见表 2。两种方法 50 min 内均表现出较高的稳定性, 其中, 蒽酮-硫酸法吸光度稳定性较低, RSD 为 0.30%, 而苯酚-硫酸法 RSD 为 0.00%, 在 50 min 内吸光度没有波动, 说明该溶液 50 min 内稳定。

2.2.4 重复性

苯酚-硫酸法和蒽酮-硫酸法稳定性结果表 3。结果表明, 蒽酮-硫酸法和苯酚-硫酸法的 RSD 分别为 3.07% 和 2.40%, RSD 均小于 5.0%, 说明这两种方法的重现性良好。

苯酚-硫酸法的 RSD 值略小于蒽酮-硫酸法, 苯酚-硫酸法重现性优于蒽酮-硫酸法。

表 2 样品稳定性
Table 2 Stability of sample

方法	时间/min						RSDs /%
	0	10	20	30	40	50	
蒽酮-硫酸法	91.08	90.54	90.35	90.35	90.35	90.54	0.30
苯酚-硫酸法	59.67	59.67	59.67	59.67	59.67	59.67	0.00

表 3 样品重复性
Table 3 Repeatability of sample

方法	组别						RSDs /%
	1	2	3	4	5	6	
蒽酮-硫酸法	86.88	94.19	91.08	92.36	91.45	87.79	3.07
苯酚-硫酸法	61.32	58.61	60.14	58.61	62.15	59.55	2.40

2.2.5 加标回收率

蒽酮-硫酸法和苯酚-硫酸法的加标回收率结果见表 4。按照相关标准, 加标回收率的合适范围为 80%~120%, 蒽酮-硫酸法的加标回收率为 95.23%~116.20%, 平均加标回收率为 103.88%; 苯酚-硫酸法的加标回收率为 94.25%~111.19%, 平均加标回收率为 100.96%, 两种方法的加标回收率均在标准范围内, 表明这两种方法均适用于多糖的

表 4 样品加标回收率
Table 4 Recovery rate of sample

方法	加入量/ μg	平均回收率/%	RSDs/%
蒽酮-硫酸法	10	103.88	10.55
	20		
	30		
苯酚-硫酸法	15	100.96	8.92
	30		
	45		

含量测定。其中苯酚-硫酸法的 RSD 值较蒽酮-硫酸法较低,说明苯酚-硫酸法测定 DES 茶多糖粗提液中多糖含量精确度更高。

2.2.6 茶多糖的含量

苯酚-硫酸和蒽酮硫酸法对茶多糖含量测定结果如表 5 所示。蒽酮-硫酸法测定茶多糖含量为 83.22 mg/g, 其 RSD 为 6.83%。苯酚-硫酸法测定茶多糖含量为 54.76 mg/g, 其 RSD 为 3.12%, 由此看出, 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定茶多糖含量存在一定的差异, 因为苯酚-硫酸法多用于样品中甲基化的糖、戊糖和多聚糖的测定, 基本不受蛋白质的影响; 而蒽酮-硫酸法几乎可以测定所有可溶性碳水化合物的含量, 但其显色易受干扰, 稳定性较差^[28-30]。综合比较, 苯酚-硫酸法测定茶多糖含量的 RSD 较小, 故苯酚-硫酸法优于蒽酮-硫酸法。

表 5 两种方法测定 DES 茶多糖样品中多糖的含量结果
Table 5 Result of the content of polysaccharide in DES tea polysaccharide samples by 2 kinds of methods

方法	平均值/(mg/g)	RSDs/%
蒽酮-硫酸法	83.22	6.83
苯酚-硫酸法	54.76	3.12

3 结 论

本研究建立了一种基于绿色新型溶剂 DES 的茶多糖分光光度检测方法。该法以氯化胆碱/*DL*-酒石酸 DES 为提取溶剂提取茶叶中茶多糖。目前, 常用的茶多糖检测方法为蒽酮-硫酸法和苯酚-硫酸法, 研究中发现苯酚-硫酸与 DES 茶叶提取液中茶多糖反应后全波长扫描有明显的特征吸收峰, 操作条件水浴时间差异对吸光度的影响较小, 有利于茶多糖含量检测, 而且苯酚-硫酸法检测方法得出的茶多糖含量远低于蒽酮-硫酸法, 与其他文献中多糖检测方法比较结果一致。然而, 在研究 DES 含量对吸光度的影响时, 随着检测溶液中 DES 含量增加吸光度增加。因此, 在检测过程中应对反应条件严格控制, 对于样品体系中 DES 含量保持一致, 或者检测时需通过 DES 空白溶液扣除溶剂影响, 获得准确稳定的数据。

参考文献

- NIE S, CUI SW, XIE M. Bioactive polysaccharides [M]. Netherlands: Elsevier Science Publisers BV, 2017.
- HU T, WU P, ZHAN J, *et al.* Structure variety and its potential effects on biological activity of tea polysaccharides [J]. Food Science and Human Wellness, 2022, 11(3): 587-597.
- CHEN G, YUAN Q, SAEEDUDDIN M, *et al.* Recent advances in tea polysaccharides: Extraction, purification, physicochemical characterization and bioactivities [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 153: 663-678.
- NIE SP, XIE MY. A review on the isolation and structure of tea polysaccharides and their bioactivities [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 144-149.
- CAO H. Polysaccharides from Chinese tea: Recent advance on bioactivity and function [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62: 76-79.
- 汪东风, 李俊, 赵贵文, 等. 茶叶多糖的组成及免疫活性研究[J]. 茶叶科学, 2000, 20(1): 45-50.
WANG DF, LI J, ZHAO GW, *et al.* Study on the component and immune activity of polysaccharides from tea [J]. Journal of Tea Science, 2000, 20(1): 45-50.
- ABBOTT AP, BOOTHBY D, CAPPER G, *et al.* Deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids [J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(29): 9142-9147.
- FLORINDO C, BRANCO LC, MARRUCHO IM. Cover feature: Quest for green-solvent design: From hydrophilic to hydrophobic (deep) eutectic solvents [J]. ChemSusChem, 2019, 12(8): 1549-1559.
- SARAVANA PS, UMMAT V, BOURKE P, *et al.* Emerging green cell disruption techniques to obtain valuable compounds from macro and microalgae: A review [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2023, 43(6): 904-919.
- RAJ T, MORYA R, CHANDRASEKHAR K, *et al.* Microalgae biomass deconstruction using green solvents: Challenges and future opportunities [J]. Bioresource Technology, 2023, 369: 128429.
- XIAO T, HOU M, GUO X, *et al.* Recent progress in deep eutectic solvent (DES) fractionation of lignocellulosic components: A review [J]. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 2024, 192: 114243.
- GAO C, CAI C, LIU J, *et al.* Extraction and preliminary purification of polysaccharides from *Camellia oleifera* Abel. seed cake using a thermoseparating aqueous two-phase system based on EOPO copolymer and deep eutectic solvents [J]. Food Chemistry, 2020, 313: 126164.
- CAI CY, WANG YN, YU W, *et al.* Temperature-responsive deep eutectic solvents as green and recyclable media for the efficient extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* [J]. Journal of Cleaner Production, 2020, 274: 123047.
- GUO H, FU MX, ZHAO YX, *et al.* the chemical, structural, and biological properties of crude polysaccharides from sweet tea [*Lithocarpus litseifolius* (hance) chun] based on different extraction technologies [J]. Foods, 2021, 10(8): 1779.
- ZHANG J, LI S, YAO L, *et al.* Responsive switchable deep eutectic solvents: A review [J]. Chinese Chemical Letters, 2023, 34(5): 107750.
- SHEKAARI H, ZAFARANI-MOATTAR MT, MOKHTARPOUR M, *et al.* Effect of some choline based deep eutectic solvents on volumetric and ultrasonic properties of gabapentin drug in water at $T=(288.15$ to $318.15)$ K [J]. Journal of Molecular Liquids, 2022, 346: 117073.
- CHEN X, WANG R, TAN Z. Extraction and purification of grape seed polysaccharides using pH-switchable deep eutectic solvents-based three-phase partitioning [J]. Food Chemistry, 2023, 412: 135557.

- [18] LI JH, LI W, LUO S, *et al.* Alternate ultrasound/microwave digestion for deep eutectic hydro-distillation extraction of essential oil and polysaccharide from *Schisandra chinensis* (turcz.) baill [J]. *Molecules*, 2019, 24(7): 1288.
- [19] 陈凌霄, 吴定涛, 赵静, 等. 高效液相色谱联用电喷雾检测器分析不同植物中棉子糖系列寡糖[J]. *药物分析杂志*, 2018, 38(1): 34–40.
- CHEN LX, WU DT, ZHAO J, *et al.* Analysis of raffinose family oligosaccharides in selected plants using high performance liquid chromatography with charged aerosol detector [J] *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2018, 38(1): 34–40.
- [20] LI LF, ZHANG QW, HAN QB. Recent advances in qualitative and quantitative analysis of polysaccharides in natural medicines: A critical review [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2022, 220(25): 115016.
- [21] 黄耀宗, 郭清泉, 焦文娟, 等. 4种藤茶多糖的检测方法比较[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(11): 342–350.
- HUANG YZ, GUO QQ, JIAO WJ, *et al.* Comparison of 4 methods for the determination of polysaccharides in vine tea (*Ampelopsis grossedentata*) [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(11): 342–350.
- [22] 黄华丹, 阚启鑫, 张乐宜, 等. 3种测定广式酱油中总糖含量的方法比较[J]. *现代食品科技*, 2024, 40(7): 296–304.
- HUANG HD, KAN QX, ZHANG LY, *et al.* Comparison of three methods for determination of total sugar content in cantonese soy sauce [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2024, 40(7): 296–304.
- [23] 谭敏, 邱细敏. 白术多糖含量两种测定方法的比较[J]. *现代中药研究与实践*, 2012, 26(2): 73–75.
- TAN M, QIU XM. The method comparison of determining polysaccharide content in *Atractylodes macrocephala* koidz [J]. *Research and Practice on Chinese Medicines*, 2012, 26(2): 73–75.
- [24] 张妍, 刘太林. 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定麦冬中多糖含量的比较研究[J]. *现代食品*, 2018(18): 95–102.
- ZHANG Y, LIU TL. Comparison of phenol-sulfuric and anthrone-sulfuric acid methods for determination of polysaccharide in *Radix ophiopogonis* [J]. *Modern Food*, 2018(18): 95–102.
- [25] 宋奇, 杨杰, 鲁瑶, 等. 基于硫酸-苯酚法的可溶性糖高通量测定方法及其应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(5): 1480–1487.
- SONG Q, YANG J, LU Y. High-throughput method for determining soluble sugar based on sulfuric acid-phenol method and its application [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2022, 13(5): 1480–1487.
- [26] 张庆红, 马梅芳. 硫酸-蒽酮法测定天冬中多糖含量[J]. *中国现代中药*, 2008, 10(8): 18–19, 22.
- ZHANG QH, MA MF. Determination of polysaccharide in radix asparagi [J]. *Modern Chinese Medicine*, 2008, 10(8): 18–19, 22.
- [27] DUBOIS M, GILLES KA, HAMILTON JK, *et al.* Colorimetric method for determination of sugars and related substances [J]. *Analytical Chemistry*, 1956, 28(3): 350–356.
- [28] 陈芬芳, 苏建青, 褚秀玲. 刺五加多糖含量测定方法的建立[J]. *畜牧与饲料科学*, 2014, 35(9): 19–21.
- CHEN FF, SU JQ, CHU XL. Determination method establishment of polysaccharide content in *Acanthopanax senticosus* [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2014, 35(9): 19–21.
- [29] 范传颖, 陶正明, 吴志刚. 苯酚-硫酸法与蒽酮-硫酸法测定铁皮石斛中多糖含量的比较[J]. *浙江农业科学*, 2013(7): 799–801.
- FAN CY, TAO ZM, WU ZG. Comparison between phenol-sulfuric acid method and anthrone sulfuric acid method for determination of polysaccharide content in *Dendrobium officinale* [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2013(7): 799–801.
- [30] 吴永祥, 卢玮玮, 蒋小旋, 等. 祁白术多糖的微波-超声协同提取工艺优化与测定方法研究[J]. *农业与技术*, 2023, 43(10): 14–19.
- WU YX, LU WW, JIANG XX, *et al.* Study on microwave-ultrasonic collaborative extraction process optimization and determination method of *Atractylodes macrocephala* Koidz. polysaccharide [J]. *Agriculture and Technology*, 2023, 43(10): 14–19.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)