

# 影响绿茶浸提液与胆酸盐结合的因素研究

刘淑敏, 王娟, 黄惠华\*

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510641)

**摘要:** 在体外模拟人体消化环境, 通过测定在不同 pH 值、离子强度、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)和尿素浓度条件下, 绿茶浸提液在体外对牛磺胆酸钠、甘氨酸胆酸钠、胆酸钠的结合能力, 比较这些因素对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响。结果表明, pH 值、尿素浓度对绿茶浸提液结合胆酸盐有显著性影响( $P \leq 0.05$ ), 离子强度对绿茶浸提液结合胆酸盐影响不显著( $P \geq 0.05$ )。

**关键词:** 绿茶浸提液; 胆酸盐; 结合; 影响因素

## Factors Influencing the Binding between Green Tea Extract and Bile Salt

LIU Shu-min, WANG Juan, HUANG Hui-hua\*

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

**Abstract:** Through determining the binding capacity of green tea extract to sodium taurocholate, glycocholate and sodium cholate under polyvinylpyrrolidone (PVP), medium pH, ionic strength and urea *in vitro*, the adsorption behavior of green tea extract to bile salts were compared. The results showed that medium pH and urea concentration had significant effects on binding of green tea extract to bile salts ( $P \leq 0.05$ ), but the effect of ionic strength was not obvious ( $P \geq 0.05$ ).

**Key words:** green tea extract; bile salts; binding; impact factor

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)05-0029-04

近年来, 冠心病、动脉粥样硬化等心血管疾病成为威胁全人类健康的严重疾病之一, 而高胆固醇是冠心病的主要诱因, 保持胆固醇水平正常对于降低冠心病发生率具有重要意义。胆酸盐是指来自人体和动物胆汁具有甾核结构的一类两性大分子, 是人体合成胆固醇的前体物质<sup>[1-2]</sup>。国内外大量体外实验和流行病学调查显示, 茶叶具有降血脂功能<sup>[3-7]</sup>。关于茶叶降血脂机理, 目前尚无明确定论。有学者认为, 饮茶后, 茶中的功能性成分在肠道内能与胆酸盐结合, 影响脂类消化吸收, 同时介入肝肠循环, 使胆酸盐排出体外, 以促使肝脏中胆固醇不断转化为胆酸盐, 达到降血脂目的<sup>[8-11]</sup>。但是由于茶叶是多种物质的复合体, 与胆酸盐作用方式多样, 对胆酸盐结合能力影响因素较多。本实验通过在体外模拟人体消化环境的实验, 研究不同因素对绿茶浸提液与胆酸盐结合能力的影响, 旨在探讨影响茶叶与胆酸盐结合的主要相互作用力, 从机理方面探讨茶中功能性成分与其结合胆酸盐能力及其降血脂的关系。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

绿茶, 产地广西、福建、云南。

牛磺胆酸钠(STC)、甘氨酸胆酸钠(SGC)、胆酸钠(SC)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP) 日本 TCI 公司; 胰酶(蛋白酶 4080U/g、脂肪酶 33600U/g、淀粉酶 91000U/g) 四川贝奥生物制药有限公司; 其他试剂均为国产分析纯。

UV-1800 紫外-可见分光光度计 日本岛津公司; 恒温振荡培养箱 深圳国华仪器厂; TDL-40B 型台式离心机 上海安亭科学仪器厂。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 绿茶浸提液的制备

称取 20g 绿茶, 加入 240mL 蒸馏水, 于 80~85℃ 浸提 60min, 100 目过滤, 定容至 250mL。

#### 1.2.2 胆酸盐含量的比色测定

分别取样液(或不同浓度的标准溶液)2.5mL 于具塞试

收稿日期: 2011-03-02

基金项目: 广东省科技计划项目(2010B020312005); 广州市科技计划项目(2010Z1-E221)

作者简介: 刘淑敏(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工及贮藏工程。E-mail: liushuminlsm@163.com

\* 通信作者: 黄惠华(1959—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品科学及农产品加工新技术。

E-mail: fehuang@scut.edu.cn

管中, 加入 7.5mL 60% 的硫酸, 于 70℃ 水浴 20min, 取出冰浴 5min, 于 387nm 波长处测定吸光度。由标准曲线求得样液中胆酸盐的浓度<sup>[12-13]</sup>。

### 1.2.3 人体胃肠道环境模拟

胃环境模拟: 取一定量样品, 加入 1mL 0.01mol/L 的盐酸溶液, 在 37℃ 恒温振荡消化 1h。

肠环境模拟: 以 0.1mol/L 氢氧化钠溶液调节胃环境模拟后样品液 pH 值为 6.3, 随后加入 4mL 10mg/mL 胰酶, (胰酶以 pH6.3 的 0.1mol/L 磷酸缓冲液配制), 在 37℃ 恒温振荡消化 1h。

### 1.2.4 茶多酚含量测定

采用 GB/T 8313—2008《茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法》中方法测定。

### 1.2.5 影响绿茶浸提液结合胆酸盐的因素研究

#### 1.2.5.1 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

经预实验优化确定胆酸盐浓度为 0.3mmol/L。分别称取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0g PVP, 加入 24mL 绿茶浸提液, 37℃ 恒温振荡 30min, 5000r/min 离心 10min。分别取 1mL 上清液, 经胃肠模拟环境处理后加入 4mL 胆酸盐溶液(SC、STC、SGC 浓度均为 0.3mmol/L, 用 pH6.3、0.1mol/L 磷酸缓冲液配制), 恒温振荡 1h, 4000r/min 离心 20min。测定上清液中的胆酸盐含量<sup>[14]</sup>。

#### 1.2.5.2 pH 值对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

取 10mL 绿茶浸提液于 100mL 锥形瓶中, 调节 pH 值为 6.24, 随后加入 40mL 10mg/mL 胰酶, 恒温振荡消化 1h。将上述经胃肠模拟环境处理的绿茶浸提液平均分成 5 份, 分别调节其 pH 值为 4.92、5.29、6.24、7.38、8.04, 最后以相应的磷酸缓冲溶液定容。取 6mL 经调节 pH 值后的处理液, 每个样品中加入 4mL 胆酸盐溶液(SC、STC、SGC 浓度均为 0.3mmol/L, 分别以 pH 值为 4.92、5.29、6.24、7.38、8.04 的 0.1mol/L 磷酸缓冲液配制), 振荡, 离心。测定上清液中的胆酸盐含量。

#### 1.2.5.3 离子强度对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

取 1mL 绿茶浸提液, 经胃肠模拟环境处理后吸取 6mL, 每个样品中加入 4mL 胆酸盐(SC、STC、SGC 的浓度设定为 0.3、0.6、1mmol/L, 分别以 pH6.3, 浓度为 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9mmol/L 的不同离子强度的磷酸缓冲液配制), 振荡, 离心。测定上清液中的胆酸盐含量。

#### 1.2.5.4 尿素对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

将经胃肠模拟环境处理的绿茶浸提液平均分成两份, 其中一份加入一定量尿素(1.5mmol/L)。取 6mL 上

述试液, 每个样品中加入 4mL 胆酸盐溶液(SC、STC、SGC 浓度设定为 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9mmol/L, 分别以 pH6.3 的 0.1mol/L 磷酸缓冲液配制), 恒温振荡, 离心。对照为取 6mL 未加入尿素试液, 其余操作相同。测定上清液中的胆酸盐含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 PVP 对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

PVP 可定量吸附茶多酚, 其用量越大, 茶多酚去除率越大。其吸附机理为: 茶多酚分子中的活性氢基团可与 PVP 形成氢键而导致大分子的形成, 由于 PVP 不溶于水, 茶多酚分子就通过氢键不断沉积到 PVP 上而被除去。用 PVP 处理绿茶浸提液, 可得到不同茶多酚含量的绿茶浸提液。在 PVP 用量分别为 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0g 时, 茶多酚含量依次为 26.95%、23.46%、16.2%、9.31%、4.75%、4.6%。经不等量 PVP 处理后的绿茶浸提液结合胆酸盐的能力均存在显著性差异( $P \leq 0.05$ ), PVP 用量为 0g 时最大, PVP 用量为 1g 时最小; PVP 处理后绿茶浸提液中茶多酚含量与其结合胆酸盐的关系见图 1。

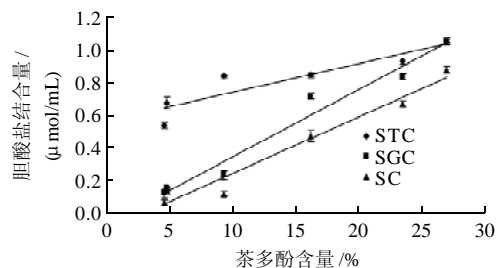


图 1 PVP 对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

Fig.1 Effect of PVP on the adsorption of green tea extract to bile salts

如图 1 所示, 绿茶浸提液中所含茶多酚含量与其结合 STC、SGC、SC 的能力呈显著性正相关, 其相关系数分别为 0.976、0.984、0.981。表明茶多酚与绿茶浸提液结合胆酸盐能力有关, 绿茶浸提液中茶多酚含量越高, 其结合胆酸盐的能力越强, 茶多酚会影响胆酸盐的体内代谢, 从而起到降血脂作用。

### 2.2 pH 值对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

如图 2 所示, 绿茶浸提液在 pH 值为 7.38、8.04 时对胆酸盐的结合能力显著( $P \leq 0.05$ )强于 pH 值为 4.92 时, 而 pH 值为 4.92 时绿茶浸提液对胆酸盐的结合能力显著强于 pH 值为 6.24 时。可能原因是 pH 值会改变绿茶浸提液中功能性成分的水溶性, 影响胆酸盐微团的溶解性和阴离子化程度, 从而影响胆酸盐结合部位的暴露。因为 STC、SGC、SC 的  $pK_a$  分别为 3.33、6.2、4.98<sup>[15]</sup>, 绿茶浸提液的  $pK_a$  接近 6.5, 在 pH6.24 时, 3 种胆酸盐微

团溶解性较强, 微团阴离子化程度较高, 结合位点较多<sup>[16]</sup>, 但弱酸性的绿茶浸提液在此介质中的阳离子化程度较低, 所以绿茶浸提液中功能性成分较难以离子键形式与吸附质发生作用。在 pH7.38 时, 既能保持胆酸盐微团具有较高的阴离子程度, 结合位点多, 同时又可以使绿茶浸提液中功能性成分水溶性增强, 生成较多的阳离子, 使绿茶浸提液对胆酸盐表现出最大吸附能力。pH 值变化对绿茶浸提液结合胆酸盐能力的影响, 说明绿茶浸提液与胆酸盐的结合作用与绿茶浸提液中阳离子与胆酸盐微团阴离子之间的静电离子相互作用有关。

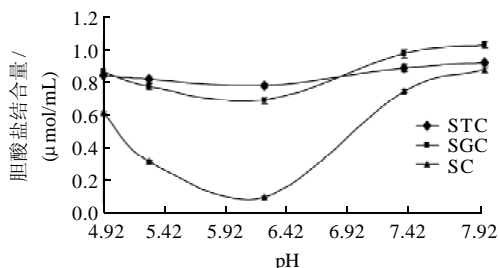


图2 不同 pH 值对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

Fig.2 Effect of medium pH on the adsorption of green tea extract to bile salts

2.3 离子强度对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

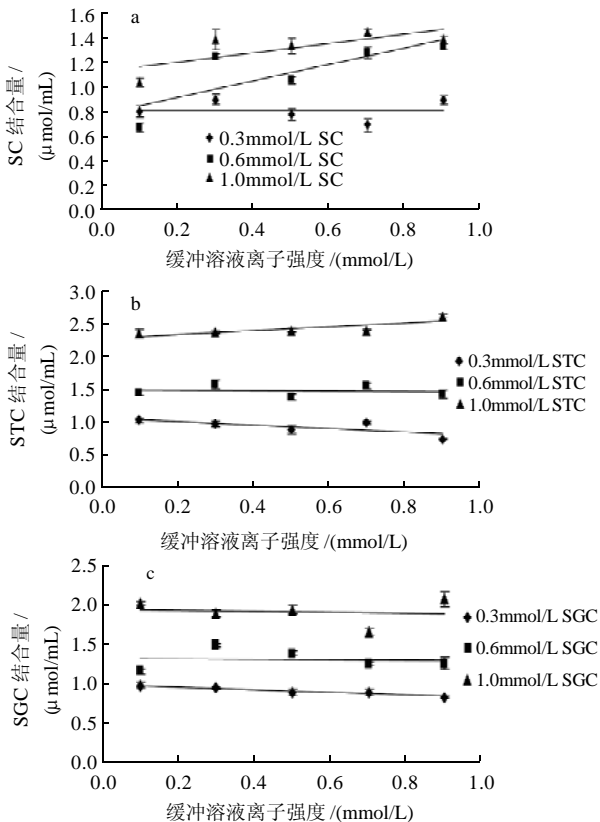


图3 不同磷酸盐离子强度对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

Fig.3 Effect of ionic strength on the adsorption of green tea extract to bile salts

如图3所示, 在不同离子强度的缓冲溶液中绿茶浸提液对3种胆酸盐的结合量不存在显著性差异( $P \geq 0.05$ ), 表明离子强度对绿茶浸提液结合胆酸盐不存在显著性影响, 疏水作用对绿茶浸提液结合胆酸盐无显著贡献。

2.4 尿素对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

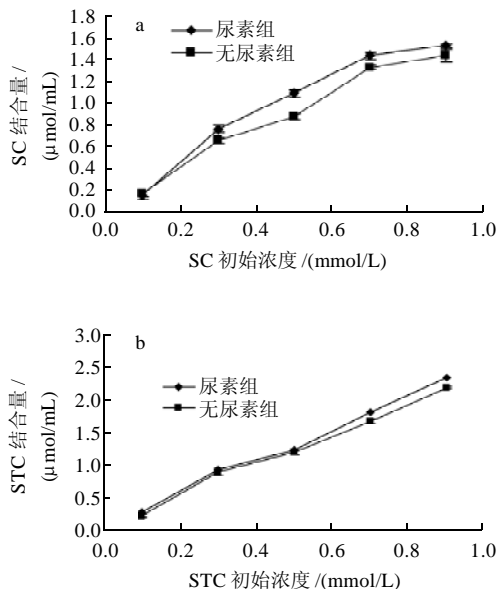


图4 尿素对绿茶浸提液结合胆酸盐的影响

Fig.4 Effect of urea concentration on the adsorption of green tea extract to bile salts

为了考察氢键作用对吸附过程的影响, 在有尿素存在下进行吸附实验。尿素能够形成氢键, 并且优先在自身与水之间形成氢键, 影响胆酸盐微团的稳定性, 促使胆酸盐的活性基团暴露, 从而有利于绿茶浸提液中功能性成分与胆酸盐之间形成氢键。尿素存在的情况下绿茶浸提液对3种胆酸盐的结合作用结果如图4所示。在胆酸盐初始浓度较低时, 尿素对绿茶浸提液结合胆酸盐不存在显著性影响, 而在胆酸盐初始浓度较高(SC 浓度高于 0.3mmol/L、STC 浓度高于 0.7mmol/L、SGC 浓度高于 0.5mmol/L)时, 尿素对绿茶浸提液结合胆酸盐存在显著性影响( $P \leq 0.05$ )。由此可以推断氢键在3种胆酸盐吸附到绿茶浸提液表面的过程中起着一定的作用, 可能是由于胆酸盐中的羟基和茶多酚的酚羟基、咖啡碱的氨基形成氢键。

### 3 结 论

绿茶浸提液结合胆酸盐能力与茶多酚含量呈显著性相关关系,表明绿茶多酚是绿茶浸提液中结合胆酸盐的功能成分,这是绿茶具有降血脂功能的机理之一。绿茶浸提液结合胆酸盐能力与pH值及尿素显著相关,表明静电作用力和氢键作用均是绿茶浸提液结合胆酸盐的主要相互作用力。绿茶浸提液结合胆酸盐能力与离子强度变化差异不显著,表明疏水作用力对绿茶浸提液结合胆酸盐无显著贡献,不是主要作用力。

#### 参考文献:

- [1] HOFMANN A F, HAGEY L R. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(16): 2461-2483.
- [2] HU Yebi, WANG Zhang, XU Shiyong. Treatment of corn bran dietary fiber with xylanase increase its ability to bind bile salts, *in vitro*[J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(1): 113-121.
- [3] 林仁混, 黄琇珍, 林志立, 等. 茶与茶多酚之降血脂与瘦身作用机理[J]. *福建茶叶*, 2008(1): 45-47.
- [4] 宁正祥, 赵谋明, 王菊祥. 绿茶提取物降血脂及清除活性氧自由基作用的研究[J]. *营养学报*, 1992, 14(4): 414-418.
- [5] TOKUNAGA S, WHITE I R, FROST C. Green tea consumption and serum lipids and lipoproteins in a population of healthy workers in Japan [J]. *Ann Epidemiol*, 2002, 12(3): 157-165.
- [6] 宋小鸽, 唐照亮, 侯正明, 等. 茶多酚对大鼠高脂血症的预防作用[J]. *中医研究*, 1998, 11(1): 19-20.
- [7] DAVIDS M J, JUDD J T, BEAR D J. Black tea consumption reduces total and LDL cholesterol in mildly hypercholesterolemic adults[J]. *J Nutr*, 2003, 133(Suppl 10): 3298-3302.
- [8] 邓慧君, 曹进. 茶及茶多酚类化合物对血脂水平的影响[J]. *国外医学: 医学地理分册*, 2004, 25(3): 101-104.
- [9] YANG T T, KOO M W. Chinese green tea lowers cholesterol level through an increase in fecal lipid excretion[J]. *Life Sci*, 2000, 66(5): 411-423.
- [10] YUMIKO N, AKIKO K, KIMIHIKO Y. Effects of the oral administration of green tea polyphenol and tannic acid on serum and hepatic lipid contents and fecal steroid excretion in rats[J]. *J Health Sci*, 2001, 47(2): 107-117.
- [11] CHEN Zhenyu, JIAO Rui, MA Kaying. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(19): 8761-8773.
- [12] 辛勋, 陆红云. 紫外分光光度法测定速效伤风胶囊中胆酸含量[J]. *中国药业*, 2000, 9(1): 36-37.
- [13] 胡凯, 黄惠华. 不同茶叶对胆酸盐的结合及其降血脂机理的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2010, 36(9): 42-45.
- [14] 易国斌, 崔英德, 廖列文, 等. PVPP吸附绿茶饮料中茶多酚的研究[J]. *食品科学*, 2001, 22(5): 14-16.
- [15] 贺继东, 夏文水, 张家骊. 壳聚糖吸附胆酸盐的研究[J]. *食品工业科技*, 2008, 29(2): 80-83.
- [16] HOFMANN A F. Bile acids: trying to understand their chemistry and biology with the hope of helping patients[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5): 1403-1418.