

## 海菜花结合酚的组成、抗氧化活性及其对DNA损伤的保护作用

刘青, 张天阳, 洪 , 李媛丽, 李 望, 高春燕, 卢跃红

### Composition, Antioxidant Activity and DNA Damage Protective Effect of Bound Phenolics from *Ottelia acuminata*

LIU Qing, ZHANG Tianyang, HONG Yue, LI Yuanli, LI Wang, GAO Chunyan, and LU Yuehong

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021070217>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 不同可食阶段蚕豆结合酚抗氧化活性的研究

Antioxidant Activity of Bound Phenolics from Broad Beans at Different Edible Stages

食品工业科技. 2021, 42(4): 39-43

#### 枸杞蜜的抗氧化活性及其对DNA氧化损伤的保护作用

Antioxidant Activity and Protective Effect on DNA Oxidative Damage of Medlar Honey

食品工业科技. 2019, 40(12): 105-111

#### 石榴花游离型和结合型多酚提取物抗氧化活性探究

Antioxidant Activity of Free and Bound Polyphenols from Pomegranate Flowers

食品工业科技. 2021, 42(22): 290-296

#### 核桃多酚与蛋白质的作用方式及其抗氧化活性

Interaction between Walnut Polyphenols and Protein and Its Antioxidant Activity

食品工业科技. 2019, 40(13): 23-28

#### 新疆红肉苹果多酚的纯化、组成分析与抗氧化活性

Purification, Composition Analysis and Its Antioxidant Activity of Polyphenols from Red-Flesh Apple of Xinjiang

食品工业科技. 2019, 40(12): 38-44,50

#### 花旗参茶对乙醇诱导小鼠氧化损伤的保护作用

Protective Effect of American Ginseng Tea on Oxidative Damage Induced by Alcohol in Mice

食品工业科技. 2020, 41(16): 286-291



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

刘青, 张天阳, 洪玥, 等. 海菜花结合酚的组成、抗氧化活性及其对 DNA 损伤的保护作用 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(6): 63-69.  
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070217

LIU Qing, ZHANG Tianyang, HONG Yue, et al. Composition, Antioxidant Activity and DNA Damage Protective Effect of Bound Phenolics from *Ottelia acuminata*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(6): 63-69. (in Chinese with English abstract).  
doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070217

· 研究与探讨 ·

# 海菜花结合酚的组成、抗氧化活性及其对 DNA 损伤的保护作用

刘青<sup>1</sup>, 张天阳<sup>1</sup>, 洪玥<sup>1</sup>, 李媛丽<sup>1</sup>, 李望<sup>1</sup>, 高春燕<sup>1,2</sup>, 卢跃红<sup>1,2,\*</sup>

(1. 大理大学公共卫生学院, 云南大理 671000;

2. 北方民族大学生物科学与工程学院, 宁夏银川 750021)

**摘要:** 采用福林-酚法、亚硝酸钠-氯化铝法分别测定海菜花花、茎、叶中结合酚总酚及黄酮含量, 采用高效液相色谱 (HPLC) 分析结合酚的组成, 并研究其抗氧化活性及其对过氧自由基 (ROO·) 介导的 DNA 损伤保护作用。结果表明, 海菜花结合酚总酚含量为 209.72~366.35 mg GAE/g 提取物 (Extract), 黄酮含量为 156.69~466.08 mg CAE/g Extract; 海菜花结合酚主要含咖啡酸、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、木犀草素、绿原酸和阿魏酸 5 种单体酚; 花、茎、叶结合酚的 Trolox 等量抗氧化活性 (TEAC)、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除能力、铁离子还原抗氧化能力 (FRAP) 以及对羟基自由基 (·OH) 清除率 IC<sub>50</sub> 值的范围分别为: 1.19~1.25 μmol TE/g Extract、0.74~0.94 mmol/g Extract、3.61~4.75 mmol Fe<sup>2+</sup>/g Extract、0.34~1.26 mg/mL, 其中叶的抗氧化活性最强; 在 12.5~500 mg/mL 浓度范围内花、茎、叶结合酚对 ROO· 介导的 DNA 损伤双螺旋百分比范围分别为 22.74%~50.07%、18.25%~53.28%、25.93%~53.60%, 其中叶的保护作用最强, 其次为茎。研究表明, 海菜花结合酚酚类化合物含量丰富, 且具有较强的抗氧化活性以及对 DNA 损伤的保护作用。

**关键词:** 海菜花, 结合酚, 抗氧化活性, DNA 损伤

中图分类号: R151.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)06-0063-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021070217



本文网刊:

## Composition, Antioxidant Activity and DNA Damage Protective Effect of Bound Phenolics from *Ottelia acuminata*

LIU Qing<sup>1</sup>, ZHANG Tianyang<sup>1</sup>, HONG Yue<sup>1</sup>, LI Yuanli<sup>1</sup>, LI Wang<sup>1</sup>, GAO Chunyan<sup>1,2</sup>, LU Yuehong<sup>1,2,\*</sup>

(1. College of Public Health, Dali University, Dali 671000, China;

2. College of Biological Science and Engineering, North Minzu University, Yinchuan 750021, China)

**Abstract:** Folin-Ciocalteu method and sodium nitrite-aluminum chloride method were used to determine total phenolic content and flavonoid content of bound phenolics from the inflorescences, peduncles and leaves of *Ottelia acuminata* (*O. acuminata*), respectively. The composition of bound phenolics was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). The antioxidant activity and protective effect against ROO· mediated DNA damage were also investigated. The results showed that total phenolic content of *O. acuminata* was in the range of 209.72~366.35 mg GAE/g Extract while total flavonoid content was in the range of 156.69~466.08 mg CAE/g Extract. Five phenolics, namely, caffeic acid, quercetin-3-O-glucoside, luteolin, chlorogenic acid and ferulic acid were identified in bound phenolics of *O. acuminata*. Trolox equivalent antioxidant activity (TEAC), 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) radical scavenging ability, iron ion reduction antioxidant ability (FRAP) and hydroxyl radical (·OH) scavenging rate IC<sub>50</sub> value of different plant parts were in the range of 1.19~1.25 μmol TE/g Extract, 0.74~0.94 mmol/g Extract, 3.61~4.75 mmol Fe<sup>2+</sup>/g Extract, 0.34~1.26 mg/mL,

收稿日期: 2021-07-20

基金项目: 北方民族大学青年人才培育项目 (2021KYQD34); 云南省地方高校联合专项 (202001BA070001-202)。

作者简介: 刘青 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 营养与慢性病, E-mail: 2219960591@qq.com。

\* 通信作者: 卢跃红 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与植物功能活性成分评价, E-mail: 78645515@qq.com。

respectively, among which the leaves displayed the strongest antioxidant activity. In the concentration range of 12.5~500 mg/mL, the percentage of double helix DNA in bound phenolics of inflorescences, peduncles and leaves ranged from 22.74% to 50.07%, 18.25% to 53.28% and 25.93% to 53.60%, respectively, among which the leaves showed the strongest DNA damage protective effect, followed by the peduncles. The results showed that *O. acuminata* was rich in bound phenolics which possessed strong antioxidant activity and DNA damage protective effect.

**Key words:** *O. acuminata*; bound phenolics; antioxidant activity; DNA damage

海菜花(*Ottelia acuminata*(Gagnep.) Dandy, *O. acuminata*), 又称异叶水车前、小海带、龙爪菜等, 系水鳖科, 水车前属<sup>[1]</sup>, 沉水植物, 生长在池塘和淡水湖泊内, 喜温暖; 是云贵高原和中国西南地区特有的水生植物<sup>[2-3]</sup>, 云南为海菜花的主要分布区。海菜花营养丰富且齐全<sup>[4]</sup>, 含多种矿物质元素<sup>[5]</sup>, 全株蛋白质含量 24.12%、脂肪含量 7.14%、粗纤维含量 8.43%<sup>[6]</sup>, 游离酚提取物总酚含量为 257.62~388.19 mg/g Extract<sup>[7]</sup>。在云南, 海菜花是一种美味的食用蔬菜; 同时也是一味传统白族中药, 用于治小便不利、便秘、热咳、咯血、哮喘、淋症、水肿等多种疾病<sup>[8]</sup>; 另外, 海菜花还具有净化水质的作用<sup>[9]</sup>。海菜花是一种极具开发潜力的植物资源<sup>[10]</sup>。

植物多酚是植物中分布最广的次生代谢产物之一, 主要以结合酚和游离酚的形态存在, 具有抗氧化活性<sup>[11]</sup>、抗炎活性<sup>[12-13]</sup>、抗菌活性<sup>[14]</sup>、抗肿瘤活性<sup>[15]</sup>、保护 DNA 损伤<sup>[16]</sup>、延缓衰老<sup>[17]</sup>、调节肠道微生物<sup>[18]</sup>等作用及功效。近几年来, 植物多酚的组成与功效引起了广大科研工作者的极大兴趣。

目前, 海菜花在云南主要作为一种食用蔬菜大面积栽培<sup>[19]</sup>, 对其研究大多集中在其生物学特性<sup>[20-24]</sup>、生态学保护利用方面<sup>[25-26]</sup>, 而对其营养组成、多酚的组成与功效方面的报道还比较少。本课题组 2019 年报道了海菜花游离酚提取物的多酚组成及部分功能活性<sup>[7]</sup>。本研究拟对海菜结合酚的组成、抗氧化活性以及对 DNA 损伤的保护作用进行研究, 为海菜花的合理食用、药用提供理论依据, 对于海菜花的保护、利用、开发以及促进当地经济发展具有重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

海菜花 于 2020 年 10 月在云南省大理白族自治州大理市洱源县邓川镇采集, 将采集的海菜花分为花、茎、叶三部分, 各部分样品分别进行除杂、清洗、冷冻干燥、粉碎, 并密封储存于 4 °C 冰箱备用; 福林-酚试剂、标准品(绿原酸、咖啡酸、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、木犀草素、阿魏酸)、pBR322 质粒 DNA (0.5 μg/L)、DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基苯肼)、Trolox 标准品(6-羟基-2,5,7,8-四甲基色烷-2-羧酸)、ABTS(2,2'-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐) 美国 Sigma 试剂公司; 没食子酸(GaLLic-Acid) 成都市科龙化工试剂厂; 乙腈和色谱甲醇 美国 Fisher 公司; 乙酸乙酯、浓盐酸、乙醇等 为国

产分析纯。

RE-3000 旋转蒸发器 上海亚荣生化仪器厂; 水浴震荡(HZS-HA) 哈尔滨市东明医疗仪器厂; 真空冷冻干燥机(Scientz-ND 系列) 宁波新芝生物科技有限公司; 722N 可见分光光度计 上海菁华科技仪器有限公司; AgiLent 1260 高相液相色谱仪(带紫外检测器)、色谱柱(ZORAAX SA-C<sub>18</sub>, 5 μm, 250 mm×4.6 mm) 美国 AgiLent 公司; DYY-6C 型电泳仪 北京市六一仪器厂; G:AOX-F3 凝胶成像系统 基因有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 结合酚的提取与纯化 参照郭琦等<sup>[27]</sup>的方法稍作修改, 分别称取花、茎、叶不同部位样品 5 g 左右, 用 80% 的甲醇提取 3 次后, 残渣用含有 EDTA 和抗坏血酸的 NaOH 溶液避光水解 4 h, 水解结束后调 pH 至 1, 抽滤, 乙酸乙酯萃取, 收集乙酸乙酯相, 旋转蒸发除去乙酸乙酯后得结合酚粗提取液。粗提液用 95% 乙醇激活的 X-5 大孔树脂水浴振荡吸附 24 h(25 °C, 120 r/min)后抽滤, 收集大孔树脂, 加入 70% 乙醇, 相同条件下水浴振荡解析 24 h, 抽滤, 收集滤液, 35 °C 旋转蒸发除去乙醇, 真空冷冻干燥, 得纯化的结合酚提取物, -20 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 总酚含量测定 参照文献 [28] 的方法稍作修改, 分别吸取不同体积(80~320 μL)的没食子酸标准溶液(100 μg/mL)加 100 μL 福林-酚试剂(1 mg/mL), 混匀, 3 min 后, 加 2 mL 7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 纯水定容至 5 mL, 避光反应 40 min 后, 于 760 nm 波长测吸光度值。得标准曲线方程为  $A=0.0729C+0.062$  ( $R^2=0.9916$ )。分别测定花、茎、叶结合酚提取物吸光度值, 代入标曲计算得到样品中的总酚含量。样品中的总酚含量以每克海菜花结合酚提取物中没食子酸相当的质量表示(mg GAE/g Extract)。

1.2.3 总黄酮含量测定 参照乌仁格格<sup>[29]</sup>的方法稍加修改。分别吸取不同体积(0.5~2.5 mL)的儿茶素标准溶液(100 μg/mL)加甲醇补足至 2.5 mL, 加 0.15 mL NaNO<sub>3</sub>(5%), 摇匀静置 6 min, 加 0.15 mL AlCl<sub>3</sub>(10%), 摇匀避光静置 6 min, 加 2 mL NaOH(4%), 纯水定容至 5 mL, 静置 15 min 后, 于 510 nm 波长测吸光度值。得标准曲线方程为  $A=7.3829C+0.0161$  ( $R^2=0.9978$ )。准确吸取 100 μL 海菜花结合酚(10 mg/mL), 测定总黄酮含量。样品中的总黄酮含量以每克海菜花提取物中儿茶素相当的质量表示(mg CAE/g Extract)。

1.2.4 酚类化合物单体分析 采用高效液相色谱(HPLC)对结合酚的组成进行分析。液相色谱条件:流速 0.8 mL/min,柱温 37 °C,进样量 10  $\mu$ L,波长 280 nm;流动相 A 为 100% 色谱乙腈,流动相 B 为 1% 乙酸超纯水溶液(乙酸/H<sub>2</sub>O, 1/100, v/v)。梯度洗脱程序: 0~11 min: A 由 2% 升至 17%, B 由 98% 降至 83%; 11~17 min: A 由 17% 升至 24%, B 由 83% 降至 76%; 17~22 min: A 由 24% 升至 26%, B 由 76% 降至 74%; 22~28 min: A 由 26% 升至 28%, B 由 74% 降至 72%; 28~33 min: A 由 28% 降至 18%, B 由 72% 升至 82%; 33~35 min: A 由 18% 降至 10%, B 由 82% 升至 90%; 35~38 min: A 由 10% 降至 2%, B 由 90% 升至 98%。以绿原酸、咖啡酸、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、木犀草素、阿魏酸为标准品,设 5 个不同的浓度梯度(20.0、40.00、60.00、80.00、100.00  $\mu$ g/mL),分别进行 HPLC 分析,确定出峰时间及峰面积值。以标品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标分别绘制标准曲线。样品用色谱甲醇稀释成 2.0 mg/mL,过 0.22  $\mu$ m 微孔滤膜,进样分析。将峰面积代入标准曲线方程分别计算样品中各单体酚的含量。

### 1.2.5 抗氧化活性测定

1.2.5.1 DPPH 自由基清除能力 参照 Tan 等<sup>[30]</sup>的方法,稍加修改。将结合酚提取物用甲醇配制成 35  $\mu$ g/mL 的溶液,吸取 0.5 mL 与 3.5 mL DPPH 甲醇溶液(60  $\mu$ mol/L)混匀,暗室反应 30 min 后,于 517 nm 波长测吸光值,并计算清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \left[ \frac{1 - (A_3 - A_2)}{A_1} \right] \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: A<sub>1</sub> 为 0.5 mL 甲醇+3.5 mL DPPH 溶液的吸光度值; A<sub>2</sub> 为 0.5 mL 样品+3.5 mL 甲醇溶液的吸光度值; A<sub>3</sub> 为 0.5 mL 样品+3.5 mL DPPH 溶液的吸光度值。

以 Trolox(10~100  $\mu$ mol/L)绘制标准曲线,得回归方程为: A=0.6172C-4.1529(R<sup>2</sup>=0.9965), A 为清除率, C 为浓度。样品对 DPPH 自由基清除能力的结果以毫摩尔 Trolox 等量每克海菜花结合酚提取物表示(mmol TE/g Extract)。

1.2.5.2 铁还原抗氧化能力 参照 Song 等<sup>[31]</sup>的方法,分别吸取 100  $\mu$ L 不同浓度梯度的 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O(100~1000  $\mu$ mol/L)标准液加 1.4 mL FRAP 工作液[30 mmol/L TPTZ:0.3 mol/L pH 3.6 乙酸钠缓液: 20 mmol/L FeCl<sub>3</sub>, 1:10:1(v:v:v)]和 2 mL 纯水,混匀,在 37 °C 下水浴 30 min,于 593 nm 波长测吸光值。得回归方程: A=0.0006C+0.0034(R<sup>2</sup>=0.9937), A 为吸光度值, C 为 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 浓度。将结合酚提取物用甲醇配制成 250  $\mu$ g/mL 的溶液进行测定。样品的 FRAP 结果以 mmol Fe<sup>2+</sup>每克海菜花结合酚提取物表示(mmol Fe<sup>2+</sup>/g Extract)。

1.2.5.3 Trolox 等量抗氧化活性 参考张天阳等<sup>[32]</sup>的方法稍作修改。分别吸取不同浓度梯度的 Trolox 25  $\mu$ L(100~1000  $\mu$ mol/L),加 2 mL ABTS<sup>+</sup>工作液反应 6 min 后,于 734 nm 波长测吸光度值,以纯甲醇为空白对照,绘制标准曲线,得回归方程: A=-0.0004C+0.6679(R<sup>2</sup>=0.9995), A 为吸光度值, C 为 Trolox 浓度。将海菜花提取物用甲醇配制成 1.0 mg/mL 的溶液进行测定。测定结果以毫摩尔 Trolox 等量每克海菜花结合酚提取物表示(mmol TE/g Extract)。

1.2.5.4 羟基自由基清除活性 参照卢跃红等<sup>[33]</sup>的方法稍加修改。以 Trolox 为阳性对照,100  $\mu$ L 不同浓度的结合酚溶液(0.25~4.0 mg/mL)或 Trolox 溶液(0.5~8.0  $\mu$ g/mL)与 1.5 mL PBS 缓冲液(10 mmol/L)、150  $\mu$ L 脱氧核糖(25 mmol/L)、150  $\mu$ L 的 FeCl<sub>3</sub>(1 mmol/L)、150  $\mu$ L EDTA(1.04 mmol/L)、150  $\mu$ L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(15 mmol/L)和 150  $\mu$ L 抗坏血酸(1 mmol/L),充分混匀,在 37 °C 下水浴 30 min 后,加 1 mL 三氯乙酸(2.8%) 和 1 mL 硫代巴比妥酸(0.5%),沸水浴 15 min,于 532 nm 波长测定吸光度值。对照管用 PBS 溶液代替样品或 Trolox。

$$\text{羟基自由基清除率}(\%) = \left( \frac{1 - A_{\text{样}}}{A_{\text{对}}} \right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: A<sub>样</sub>表示样品的吸光度值; A<sub>对</sub>表示对照管的吸光度值。

1.2.5.5 DNA 损伤的保护作用 参照林琳等<sup>[34]</sup>的方法稍加修改。反应体系: 1  $\mu$ L DNA、11  $\mu$ L PBS 溶液、5  $\mu$ L 海菜花结合酚提取物或 V<sub>C</sub> 与 3  $\mu$ L AAPH 溶液充分混匀后,37 °C 水浴避光反应 45 min。反应结束后,吸取 4  $\mu$ L 反应液与 2  $\mu$ L loading buffer(含 0.15% 溴酚蓝、10 mmol/L EDTA 和 40% 蔗糖)混匀,吸取 4  $\mu$ L 混合液置于 1.0% 琼脂糖凝胶中,电泳(60 V、50 min)。待电泳结束后,凝胶成像系统进行半定量分析,计算双螺旋百分比。

$$\text{双螺旋百分比}(\%) = \left[ \frac{A_0}{(A_0 + A_1 + A_2)} \right] \times 100 \quad \text{式(3)}$$

式中: A<sub>0</sub> 为双螺旋构象的灰度值; A<sub>1</sub> 为开环型构象的灰度值; A<sub>2</sub> 为线性构象的灰度值。

## 1.3 数据处理

所有实验均重复 3 次,实验数据使用 Excel 和 SPSS 19.0 进行分析,采用方差分析进行显著性检验,组间差异采用 Tukey 多重检验, P<0.05 认为差异具有统计学意义,结果用均值±标准差表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 总酚和总黄酮含量

海菜花不同部位结合酚提取物的总酚含量和黄酮含量测定结果见表 1。由表可知,花、茎、叶的总酚含量依次为 366.35±6.37、259.60±2.60、209.72±3.14 mg GAE/g Extract,总酚含量花>茎>叶,三者之

表1 海菜花结合酚提取物总酚和总黄酮含量

Table 1 Total phenolic content and flavonoid content of bound phenolics from *O. acuminata* extract

部位	总酚含量(mg GAE/g Extract)	总黄酮含量(mg CAE/g Extract)
花	366.35±6.37 <sup>c</sup>	466.08±4.05 <sup>c</sup>
茎	259.60±2.60 <sup>b</sup>	305.72±7.92 <sup>b</sup>
叶	209.72±3.14 <sup>a</sup>	156.69±2.34 <sup>a</sup>

注: 同一列不同字母表示差异具有统计学意义,  $P < 0.05$ ; 表3同。

间的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 总黄酮含量依次为 466.08±4.05、305.72±7.92、156.69±2.34 mg CAE/g Extract, 其花>茎>叶, 三者之间的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。本研究中, 海菜花不同部位结合酚提取物的总酚含量与黄酮含量总体趋势一致, 即花含量最高, 其次为茎, 叶最低。本研究测定的海菜花结合酚总酚含量略低于 Lu 等<sup>[7]</sup>报道的海菜花游离酚总酚含量(257.62~388.19 mg/g Extract), 不同部位游离酚总酚含量与本研究测定的不同部位结合酚含量总体趋势一致, 均是花的高于茎的, 茎的高于叶的。这表明海菜花不同部位的结合酚含量有差异。

## 2.2 海菜花结合酚组成与含量

绿原酸、咖啡酸、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、阿魏酸和木犀草素 5 种标准品的标准曲线方程分别为:  $y = 20.19x + 52.38$ ,  $y = 21.07x + 58.205$ ,  $y = 5.4105x + 17.274$ ,  $y = 34.816x + 105$ ,  $y = 21.049x + 42.551$ ,  $R^2$  均大于 0.998, 标准品在测定的浓度范围内呈良好的线性关系。不同部位结合酚的组成及含量见表 2。由表 2 可知, 含量最高的是咖啡酸(86.51~102.28 mg/g Extract); 含量第二的是槲皮素-3-O-葡萄糖苷(5.50~28.01 mg/g Extract); 其余三种酚类物质的含量为 0.31~3.09 mg/g Extract。同一种酚类物质在不同部位的分布具有显著差异( $P < 0.05$ )。其中, 咖啡酸、槲皮素-3-O-葡萄糖苷和阿魏酸均是叶含量最高, 其次是花, 茎最低; 对于

绿原酸, 茎含量最高, 其次是花, 叶最低; 木犀草素只在花中检出。本课题组的另一篇文献报道了海菜花游离酚提取物中主要含有木犀草素、木犀草素-7-O-葡萄糖苷、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、咖啡酰苹果酸、绿原酸等酚类化合物<sup>[8]</sup>, 部分酚类化合物与本研究鉴定的一致, 但在含量上差异较大, 这可能是由于同种原料中游离酚和结合酚的种类和含量不同造成的<sup>[35]</sup>。三个不同部位总单体酚含量范围为 95.22~134.82 mg/g Extract, 叶最高, 其次为花, 茎最低, 三者之间的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 2.3 抗氧化活性

海菜花不同部位结合酚的抗氧化活性见表 3。由表 3 可知, 海菜花花、茎、叶的 Trolox 等量抗氧化活性(TEAC)依次为 1.25±0.06、1.20±0.12、1.19±0.26  $\mu\text{mol TE/g Extract}$ , 不同部位之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); DPPH 自由基清除能力依次是 0.74±0.13、0.94±0.01、0.84±0.10 mmol/g Extract, 三个部位之间无显著性差异( $P < 0.05$ ); 铁离子还原能力(FRAP)依次为 3.61±0.05、4.39±0.03、4.75±0.35 mmol  $\text{Fe}^{2+}/\text{g Extract}$ , 叶和茎的 FRAP 显著高于花( $P < 0.05$ ); 对羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )的清除活性  $\text{IC}_{50}$  值分别为 0.70、1.26、0.34 mg/mL, 抑制作用叶强于花, 花强于茎, 三者之间的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。三者的抑制作用弱于阳性对照 Trolox( $\text{IC}_{50}$  值  $2.81 \times 10^{-3}$  mg/mL)。植物多酚的抗氧化活性与酚的含量和酚类物质的种类有关<sup>[36]</sup>, 本研究中, 4 种不同的抗氧化体系研究表明, 叶的抗氧化活性最强, 这一结果与上述研究结果“叶中总单体酚含量最高”相一致。

## 2.4 对 ROO·介导的 DNA 损伤的保护作用

海菜花结合酚提取物对 ROO·介导的 DNA 损伤的保护作用见图 1。由图 1(左侧)电泳结果可知, 第 1 泳道正常 DNA 主要以正常的双螺旋分子为主,

表2 海菜花结合酚提取物的组成及含量

Table 2 Composition and content of bound phenolics extracts from *O. acuminata*

峰号	鉴定物质	含量(mg/g Extract)		
		花	茎	叶
1	绿原酸	1.92±0.04 <sup>b</sup>	2.43±0.28 <sup>c</sup>	0.74±0.13 <sup>a</sup>
2	咖啡酸	90.43±0.22 <sup>b</sup>	86.51±0.25 <sup>a</sup>	102.28±0.36 <sup>c</sup>
3	槲皮素-3-O-葡萄糖苷	15.42±0.21 <sup>b</sup>	5.50±0.25 <sup>a</sup>	28.01±0.01 <sup>c</sup>
4	阿魏酸	1.14±0.07 <sup>b</sup>	0.40±0.10 <sup>a</sup>	3.09±0.20 <sup>c</sup>
5	木犀草素	0.31±0.01	-	-
	总单体酚含量	108.76±0.38 <sup>b</sup>	95.22±0.31 <sup>a</sup>	134.82±0.56 <sup>c</sup>

注: 同一行不同字母表示差异具有统计学意义,  $P < 0.05$ 。

表3 海菜花结合酚提取物的抗氧化活性

Table 3 Antioxidant activity of bound phenolics extracts from *O. acuminata*

	TEAC值(mmol TE/g Extract)	DPPH值(mmol TE/g Extract)	FRAP值(mmol $\text{Fe}^{2+}/\text{g Extract}$ )	OH清除活性 $\text{IC}_{50}$ 值(mg/mL)
花	1.25±0.06 <sup>a</sup>	0.74±0.13 <sup>a</sup>	3.61±0.05 <sup>a</sup>	0.70±0.01 <sup>b</sup>
茎	1.20±0.12 <sup>a</sup>	0.94±0.01 <sup>a</sup>	4.39±0.03 <sup>b</sup>	1.26±0.10 <sup>c</sup>
叶	1.19±0.26 <sup>a</sup>	0.84±0.10 <sup>a</sup>	4.75±0.35 <sup>b</sup>	0.34±0.01 <sup>a</sup>

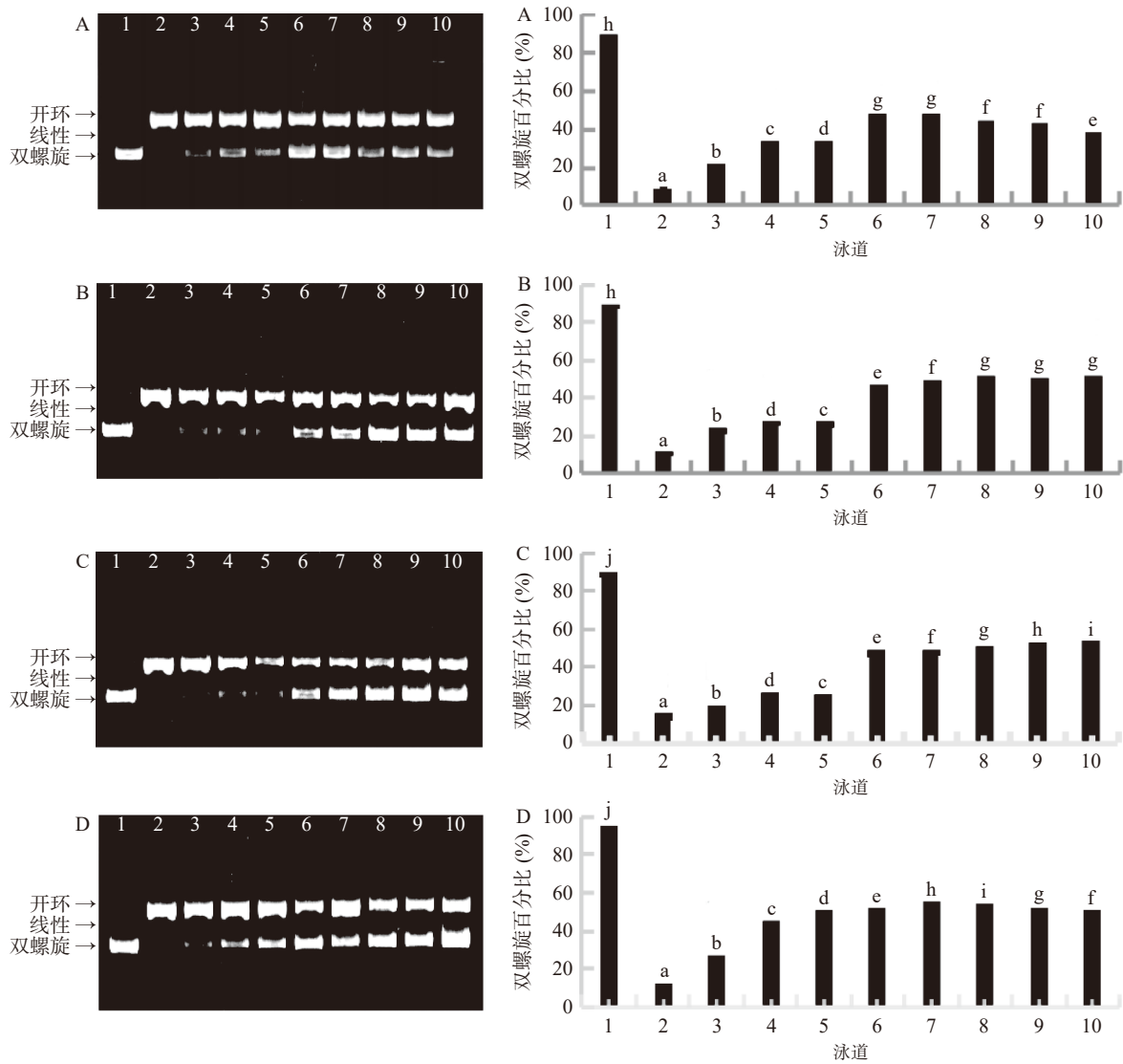


图 1 海菜花结合酚提取物对 DNA 损伤的保护作用

Fig.1 DNA damage protective effect of bound phenolics extracts from *O. acuminata*

注: A: 阳性对照  $V_C$ ; B: 花; C: 茎; D: 叶; 泳道 1: 正常 DNA; 2: AAPH+DNA; 3~10 依次为 12.5、25、50、100、200、300、400、500  $\mu\text{g/mL}$  样品(或  $V_C$ )+AAPH+DNA; 柱形图中不同小写字母表示差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

第 2 泳道添加了自由基后, 由于受到自由基的攻击, 双螺旋 DNA 转变为开环或线性构象, 第 3~10 泳道, 添加了不同浓度的海菜花结合酚或  $V_C$  溶液后, 与第 2 泳道相比, 双螺旋构象的 DNA 分子条带随结合酚或  $V_C$  溶液浓度的增加逐渐增多。表明海菜花结合酚或  $V_C$  对 ROO·介导的 DNA 损伤具有明显的保护作用。图 1(右侧)的半定量分析可知, 在浓度 12.5~500  $\mu\text{g/mL}$  范围内,  $V_C$ 、花、茎、叶结合酚的 DNA 双螺旋百分比范围依次为 22.00%~48.25%、22.74%~50.07%、18.25%~53.28%、25.93%~53.60%, 且大体上在 12.5~100  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内, 随着浓度的增加, 保护作用均逐渐增强, 即保护作用呈现浓度剂量依赖关系。当叶、茎、花结合酚浓度分别为 200、500、300  $\mu\text{g/mL}$  时, 其 DNA 双螺旋百分比分别达到最大(53.60%、53.28%、50.07%), 均高于阳性对照  $V_C$  的最大双螺旋百分比 48.25%。由此可见, 对 ROO·介导的 DNA 氧化损伤的保护作用叶>茎

>花> $V_C$ 。叶结合酚对 DNA 损伤的保护作用最强与本文上述的研究结果“叶的抗氧化活性最强、总单体酚含量最高”一致。植物多酚对 DNA 损伤的保护作用不但与其酚类物质的含量有关, 而且与酚类物质的种类有关<sup>[37-38]</sup>, 叶结合酚较强的 DNA 损伤保护作用可能与其含有较高的咖啡酸和槲皮素素-3-O-葡萄糖苷含量也有关系。咖啡酸具有 3, 4-二羟基结构, 可通过递氢的方式清除被氧化 DNA 所形成的过氧自由基, 稳定氧原子上的单电子, 易生成稳定的半醌式自由基<sup>[39]</sup>, 使得咖啡酸具有较强的清除过氧自由基的能力。据报道咖啡酸<sup>[40]</sup>、槲皮素素-3-O-葡萄糖苷<sup>[41]</sup>能有效抑制过氧自由基引起的 DNA 氧化损伤。

### 3 结论

海菜花结合酚酚类化合物含量丰富, 主要含咖啡酸、槲皮素-3-O-葡萄糖苷、阿魏酸、绿原酸和木犀草素 5 种。不同部位的酚类化合物含量和组成不同。海菜花结合酚具有较强的抗氧化活性以及对

ROO·介导的DNA损伤的保护作用。其中,叶结合酚的抗氧化活性及对DNA损伤的保护作用最强。本研究可为海菜花的保护、开发和利用提供一定的理论依据。

### 参考文献

- [1] 严东莹,李艳,孙文礼,等.基于流式细胞术的海菜花属植物基因组大小测定[J].植物科学学报,2020,38(2):173-180. [YAN D Y, LI Y, SUN W L, et al. Estimation of genome sizes of plants from *Ottelia* Pers. based on flow cytometry[J]. Journal of Plant Science, 2020, 38(2): 173-180.]
- [2] 汪松,解焱.中国物种红色名录[M].北京:高等教育出版社,2004. [WANG S, JIE Y. Red list of Chinese species[M]. Beijing: Higher Education Press, 2004.]
- [3] CHEN J M, DU Z Y, LONG Z C, et al. Molecular divergence among varieties of *Ottelia acuminata* (Hydrocharitaceae) in the Yunnan-Guizhou Plateau[J]. Aquatic Botany, 2017, 140(5): 62-68.
- [4] VYAS S C, DASR R. Protein content of some hydrophytes[J]. Aquatic Botany, 1978, 5: 207-208.
- [5] 李原,杨君兴,崔桂华,等.海菜花营养成分初步分析[J].营养学报,2009,31(1):96-97. [LI Y, YANG J X, CUI G H, et al. Analysis of the nutritional composition of *Ottelia acuminata*(Gagnep.) dandy (hydrocharitaceae)[J]. Journal of Nutrition, 2009, 31(1): 96-97.]
- [6] 朱静,杨亚维,郭爱伟,等.云南几大湖泊海菜花营养成分分析[J].安徽农业科学,2010,38(24):12952-12953. [ZHU J, YANG Y W, GUO A W, et al. Analysis on nutrient components in *Ottelia acuminata* several lakes of Yunnan[J]. Anhui Agricultural Sciences, 2010, 38(24): 12952-12953.]
- [7] LU Y H, TIAN C R, GAO C Y, et al. Phenolic profile, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Ottelia acuminata*, an endemic plant from southwestern China[J]. Industrial Crops & Products, 2019: 138.
- [8] 国家中医药管理局.中华本草[M].上海:上海科学技术出版社,1999. [National Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese herbal medicine[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999.]
- [9] LI D, YE B B, HOU Z Y, et al. Long-term performance and microbial distribution of a field-scale storing multi-pond constructed wetland with *Ottelia acuminata* for the treatment of non-point source pollution[J]. Journal of Cleaner Production, 2020, 262: 121367.1-121367.9.
- [10] FAN X R, NJERI H K, LI W, et al. Abundant historical gene flow within and among river systems for populations of *Ottelia acuminata* var. jingxiensis, an endangered macrophyte from southwest China[J]. Aquatic Botany, 2019: 157.
- [11] SHARIFA SOPLAH S A, ANISS N M. Quantification of polyphenols and antioxidant activity in several herbal and green tea products in Malaysia[C]. Materials Today: Proceedings, 2021, 31(3).
- [12] ALBERTO B E, LAURA M P, FELIPE J A, et al. Anti-inflammatory effect of polyphenols from Chilean currants(*Ribes magellanicum* and *R. punctatum*) after *in vitro* gastrointestinal digestion on Caco-2 cells: Anti-inflammatory activity of *in vitro* digested Chilean currants[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 59: 329-336.
- [13] ZHANG T, QIU F, CHEN L, et al. Identification and *in vitro* anti-inflammatory activity of different forms of phenolic compounds in *Camellia oleifera* oil[J]. Food Chemistry, 2020, 344(49): 128660.
- [14] LU C R, LI C, CHEN B, et al. Composition and antioxidant, antibacterial, and anti-HepG2 cell activities of polyphenols from seed coat of *Amygdalus pedunculata* pall[J]. Food Chemistry, 2018, 265: 111-119.
- [15] ABDELGAWAD A F, MOHAMED A E R, ABEER Y I, et al. A sulfated polyphenols-rich extract from *Sabal yapa* exhibits antitumor activities in ehrlich ascites carcinoma[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2021, 28(5): 3117-3125.
- [16] CHAITI M, SWATI C. Study of dietary polyphenols from natural herbal sources for providing protection against human degenerative disorders[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2021, 33: 101956.
- [17] MASOMEH M, NAFISEH K, FOROUGH A, et al. Stabilization of telomere by the antioxidant property of polyphenols: Anti-aging potential[J]. Life Sciences, 2020, 259: 118341.
- [18] S MITHUL A, SANTAD W, RONG T, et al. Role of dietary polyphenols on gut microbiota, their metabolites and health benefits[J]. Food Research International, 2021, 142: 110189.
- [19] 詹瑰然,卵玲,金林,等.滇池金线鲃-海菜花共生生态养殖试验[J].农村实用技术,2021(3):54-55. [ZHAN M R, LING L, JIN L, et al. *Sinocyclocheilus grahami*-*Ottelia acuminata* (Gagnep.) dandy symbiosis ecological farming experiment[J]. Rural Practical Technology, 2021(3): 54-55.]
- [20] LI Z Z, LEHTTONEN S, MARTINS K, et al. Phylogenomics of the aquatic plant genus *Ottelia*(Hydrocharitaceae): Implications for historical biogeography[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2020, 152: 106939.
- [21] LI Z Z, LU M X, ANDREW W G, et al. Genetic diversity and population structure of *Ottelia acuminata* var. jingxiensis, an endangered endemic aquatic plant from southwest China[J]. Aquatic Botany, 2018, 152: 20-26.
- [22] ZHAI S H, YIN G S, YANG X H. Population genetics of the endangered and wild edible plant *Ottelia acuminata* in southwestern China using novel SSR markers[J]. Biochemical Genetics, 2018, 56(3): 235-254.
- [23] ZHAO S T, ZHANG R F, LIU Y, et al. The effect of storage condition on seed germination of six Hydrocharitaceae and Potamogetonaceae species[J]. Aquatic Botany, 2017, 143: 49-53.
- [24] ZHAO F B, ZHANG W, LIU Y H, et al. Responses of growth and photosynthetic fluorescent characteristics in *Ottelia acuminata* to a water-depth gradient[J]. Journal of Freshwater Ecology, 2018, 33(1): 285-297.
- [25] CHEN S Q, CHU Z S. Study on the ammonia tolerance threshold of *Ottelia acuminata* (Gagnep.) Dandy Seedling[J]. Vegetos-An International Journal of Plant Research, 2015, 28(2): 72-81.
- [26] CHEN S Q, CHU Z S, ZHOU Y Q, et al. Screening optimal substrates from Erhai lakeside for *Ottelia acuminata* (Gagnep.) Dandy, an endangered submerged macrophyte in China[J]. Envir-

- onmental Science and Pollution Research, 2018, 25(20): 19887–19897.
- [ 27 ] 郭琦, 高春燕. 硬毛地笋酚类化合物对 DNA 损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2018, 39(23): 54–59. [ GUO Q, GAO C Y. Protective effect of phenolic compounds from *Lycopus lucidus* Turcz. on DNA Damage[J]. Food Science, 2018, 39(23): 54–59. ]
- [ 28 ] CAI R R, ZHOU Z D, CHAI Q Q. Study on the content of total flavonoids, total phenolic acid and antioxidant activity of extracts from *Potamogeton crispus* L[J]. Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology), 2020, 39(3): 1457–1462.
- [ 29 ] 乌仁格格. 沙芥不同部位总黄酮含量比较研究[J]. 黑龙江科学, 2020, 11(14): 7–8, 11. [ URENGUE. Comparative study on total flavonoids content in different parts of *Pugionium cornutum* [J]. Heilongjiang Science, 2020, 11(14): 7–8, 11. ]
- [ 30 ] TAN L, ZHENG X Y, WANG J S, et al. Antioxidant activity and inhibitory activity of ethanol extract from *Ficus auriculata* fruits against  $\alpha$ -glucosidase and acetylcholine esterase[J]. Food Science, 2016, 37(13): 77–81.
- [ 31 ] SONG W, YUAN Y, YU N X, et al. Antioxidant capacity of extract from Jiang Tang Xiao Zhi recipe *in vitro* [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 40(3): 393–400.
- [ 32 ] 张天阳, 陈友霞, 刘珍珍, 等. 不同可食阶段蚕豆结合酚抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(4): 39–43. [ ZHANG T Y, CHEN Y X, LIU Z Z, et al. Antioxidant activity of bound phenolics from broad beans at different edible stages[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(4): 39–43. ]
- [ 33 ] 卢跃红, 田呈瑞, 高春燕. 黄参籽可溶性酯结合酚和糖苷结合酚的组成及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2016, 37(8): 158–162. [ LU Y H, TIAN X R, GAO C Y. Phenolic composition and antioxidant activity of soluble ester-bound and glycoside-bound phenolics from *Sphallerocarpus gracilis* seeds[J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(8): 158–162. ]
- [ 34 ] 林琳, 卢跃红, 陈友霞, 等. 蚕豆多酚对过氧自由基介导的 DNA 损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2020, 41(17): 83–88. [ LIN L, LU Y H, CHEN Y X, et al. Protective effect of polyphenols from broad bean on peroxy radical-induced DNA damage[J]. Food Science, 2020, 41(17): 83–88. ]
- [ 35 ] WU S T, SHEN T Y, WANG R H, et al. Phenolic profiles and antioxidant activities of free, esterified and bound phenolic compounds in walnut kernel[J]. Food Chemistry, 2021, 350: 129217.
- [ 36 ] JAADAN H, MUSTAPHA A, ABDELMAJID M, et al. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L from 2 different localities of northeast of Morocco[J]. Heliyon, 2020, 6(11): 5609.
- [ 37 ] K BAJPAI V, ALAM M B, JU M K, et al. Antioxidant mechanism of polyphenol-rich *Nymphaea nouchali* leaf extract protecting DNA damage and attenuating oxidative stress-induced cell death via Nrf2-mediated heme-oxygenase-1 induction coupled with ERK/p38 signaling pathway[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 103: 1397–1407.
- [ 38 ] GAO C Y, LU Y H, TIAN C R, et al. Main nutrients, phenolics, antioxidant activity, DNA damage protective effect and microstructure of *Sphallerocarpus gracilis* root at different harvest time[J]. Food Chemistry, 2011, 127(2): 615–622.
- [ 39 ] ANDERSON R F, FISHER L J, HARA Y, et al. Green tea catechins partially protect DNA from  $\cdot$ OH radical-induced strand breaks and base damage through fast chemical repair of DNA radicals[J]. Carcinogenesis, 2001, 22(8): 1189–1193.
- [ 40 ] 王长松, 田莉莉, 张俊刚, 等. 五种中药酚酸类化合物体外抗 DNA 损伤的作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2012, 26(4): 529–533. [ WANG C S, TIAN L L, ZHANG J G, et al. Protective effect of five natural phenolic acids against DNA oxidative damage *in vitro* [J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2012, 26(4): 529–533. ]
- [ 41 ] SHUNSUKE Y, HIROYUKI S, HITOMI T, et al. Quercetin-3-O-glucuronide inhibits noradrenaline binding to  $\alpha$ 2-adrenergic receptor, thus suppressing DNA damage induced by treatment with 4-hydroxyestradiol and noradrenaline in MCF-10A cells[J]. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 2014, 143: 122–129.