

秦岭特色药王茶的营养组成、抗氧化活性及其对DNA损伤的作用

叶 彤, 聂聪怡, 李 笑, 张战利, 张华峰

Nutritional Composition, Antioxidant Capacity and Protective Activity against DNA Damage of Yaowang Tea (*Potentilla glabra* var. *mandshurica*) Endemic to Qinling Mountain

YE Tong, NIE Congyi, LI Xiao, ZHANG Zhanli, and ZHANG Huafeng

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022040002>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

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 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.12.018>

五种魔芋中主要营养成分及重金属元素分析

Analysis of Main Nutrients and Heavy Metal in Five Konjac

食品工业科技. 2020, 41(14): 234-239,248 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.14.038>

进口俄罗斯食品重金属含量检测分析

Analysis of heavy metal in imported Russian food

食品工业科技. 2017(08): 53-57 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.08.002>

香椿的营养保健功能及其产品的开发进展

Health-care and nutritional function of Toona sinensis and the development of its products

食品工业科技. 2017(19): 342-345 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.19.063>

脱脂油棕谷蛋白-2的营养价值与功能特性

Nutritional Value and Functional Properties of Defatted Oil Palm Glutelin-2

食品工业科技. 2020, 41(8): 311-315 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.08.050>

鱿鱼内脏的营养价值及综合利用研究进展

Research Progress on the Nutritional Value and Comprehensive Utilization of Squid Viscera

食品工业科技. 2019, 40(4): 307-311,316 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.04.051>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

叶彤, 聂聪怡, 李笑, 等. 秦岭特色药王茶的营养组成、抗氧化活性及其对 DNA 损伤的作用 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(3): 398–405. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040002

YE Tong, NIE Congyi, LI Xiao, et al. Nutritional Composition, Antioxidant Capacity and Protective Activity against DNA Damage of Yaowang Tea (*Potentilla glabra* var. *mandshurica*) Endemic to Qinling Mountain[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(3): 398–405. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040002

· 营养与保健 ·

秦岭特色药王茶的营养组成、抗氧化活性及其对 DNA 损伤的作用

叶彤^{1,2}, 聂聪怡^{1,3,+}, 李笑¹, 张战利⁴, 张华峰^{1,*}

(1. 陕西师范大学中俄食品与健康科学国际联合研究中心, 食品工程与营养科学学院, 陕西省汉阴县富有机硒食品科技创新试验示范站, 陕西西安 710119;

2. 宁夏大学食品与葡萄酒学院, 宁夏银川 750021;

3. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640;

4. 陕西省植物保护工作总站, 陕西西安 710003)

摘要:目的: 揭示秦岭特色药食同源植物药王茶的营养保健功效与活性物质基础, 为药王茶资源的开发利用提供参考。方法: 采用高效液相色谱法、等离子体发射光谱法等分析药王茶的化学组成, 测定其营养素和活性成分的种类与水平, 采用自由基清除实验等评价其抗氧化活性, 采用琼脂糖凝胶电泳技术研究其抗 DNA 损伤作用。结果: 药王茶含有槲皮苷、槲皮素和没食子酸, 提取物中含量依次为 $0.17\% \pm 0.00\%$ 、 $0.29\% \pm 0.01\%$ 和 $0.28\% \pm 0.01\%$ 。必需氨基酸含量为 65.65 ± 1.97 mg/g。锰、硒、镁的含量分别为 1.19 ± 0.04 、 0.43 ± 0.02 、 2.80 ± 0.05 mg/kg, 砷、镉、汞、铅等重金属均未超过国家限量标准。清除 DPPH、ABTS 自由基的 EC_{50} 值分别为 0.0704、0.3810 mg/mL, 具有较高的还原力。对 DNA 损伤的保护作用具有明显的剂量依赖性, 在药王茶提取物浓度达到 1×10^{-2} mg/mL 时抗 DNA 损伤作用强于抗坏血酸。结论: 药王茶含有多种生物活性物质, 重金属含量符合标准, 具有一定的体外抗氧化能力和抗 DNA 损伤作用。

关键词: 药王茶, 营养价值, 重金属, 抗氧化, DNA 损伤

中图分类号: TS218

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)03-0398-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040002



本文网刊:

Nutritional Composition, Antioxidant Capacity and Protective Activity against DNA Damage of Yaowang Tea (*Potentilla glabra* var. *mandshurica*) Endemic to Qinling Mountain

YE Tong^{1,2}, NIE Congyi^{1,3,+}, LI Xiao¹, ZHANG Zhanli⁴, ZHANG Huafeng^{1,*}

(1. Science and Technology Innovation Experiment Demonstration Station of Se-enriched Foods in Hanyin County of Shaanxi Province, International Joint Research Center of Shaanxi Province for Food and Health Sciences, College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710119, China;

2. College of Food and Wine Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China;

3. College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China;

4. Shaanxi Province Plant Protection Station, Xi'an 710003, China)

Abstract: Objective: In order to provide evidence to scientific exploitation of Yaowang tea endemic to Qinling mountain,

收稿日期: 2022-04-02 +并列第一作者

基金项目: 国际科技合作项目 (GJ2021-27/2022GHJD-22); 陕西省重点研发计划项目 (2022CGBX-26/2022ZDLSF05-11)。

作者简介: 叶彤 (1998-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与安全, E-mail: 346542235@qq.com。

聂聪怡 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 3190814596@qq.com。

* 通信作者: 张华峰 (1975-), 男, 博士, 主任, 研究方向: 药食同源植物资源开发与利用, E-mail: isaacsau@sohu.com。

nutritional value, health benefits and their material basis of Yaowang tea were investigated. Methods: Chemical composition as well as nutrients and bioactive constituents profile of Yaowang tea was analyzed by high performance liquid chromatography and plasma emission spectroscopy, etc. Antioxidant activity was determined by free radical scavenging experiment, and protective effect on DNA damage was studied by agarose gel electrophoresis. Results: Quercitrin, quercetin and gallic acid were determined in Yaowang tea, and their contents were $0.17\% \pm 0.00\%$, $0.29\% \pm 0.01\%$ and $0.28\% \pm 0.01\%$, respectively. Content of essential amino acids was 65.65 ± 1.97 mg/g. Contents of manganese, selenium and magnesium were 1.19 ± 0.04 , 0.43 ± 0.02 and 2.80 ± 0.05 mg/kg, respectively, while heavy metals (e.g., arsenic, cadmium, mercury, lead) did not exceed the national permissible limit. Yaowang tea extract exhibited the ability to scavenge DPPH and ABTS radicals with EC_{50} values of 0.0704 and 0.3810 mg/mL, respectively. Protective activity of Yaowang tea extract against DNA damage was in dose-dependent manner. Protective effect of 1×10^{-2} mg/mL Yaowang tea extract against DNA damage was higher than that of ascorbic acid. Conclusion: Yaowang tea contains several bioactive constituents, and it is safe in respect to heavy metals. Yaowang tea possesses *in vitro* antioxidant activity and protective effect against DNA damage.

Key words: Yaowang tea; nutritional value; heavy metal; antioxidant activity; DNA damage

药王茶是蔷薇科(Rosaceae)委陵菜属(*Potentilla* L.)落叶灌木白毛银露梅(*Potentilla glabra* var. *mandshurica*)的叶和花,主要生长在秦岭太白山地区的高山草甸上^[1]。相传药王茶被“药王”孙思邈发现并长期饮用,因此得名。药王茶能够“治暑热眩晕、两目不清、胃气不和、滞食及月经不调”^[1],是具有地方特色的药食同源植物^[2]。白吉庆等^[3]对药王茶总黄酮含量进行了测定,发现不同采收月份药王茶的总黄酮含量各异;郑麟枫等^[4]利用响应面方法对药王茶总黄酮提取工艺进行了优化,所得最优工艺参数为液料比 16:1、乙醇溶液浓度 65%、提取时间 60 min;崔小敏等^[5]利用质谱技术从药王茶中鉴定出 36 种有机酸和黄酮类化合物。大量研究发现,DNA 损伤与癌症、免疫缺陷、胃肠疾病、炎症等多种疾病密切相关^[6-9]。药王茶的部分生物活性(如胃肠疾病防治功效)可能与其对 DNA 损伤的作用有关,但是目前国内鲜见有关药王茶抗 DNA 损伤活性的研究报道,其营养学、功能学、毒理学等方面的数据也较少,严重制约了药王茶资源的科学开发和安全应用。本研究采用等离子体发射光谱法、高效液相色谱法等分析了药王茶中蛋白质、氨基酸、矿物质等营养成分以及多酚、黄酮类化合物等活性物质的种类与水平,在此基础上分析了药王茶的体外抗氧化活性,并首次研究了其对 DNA 损伤的保护作用,以期揭示药王茶营养成分和活性物质基础,促进其资源开发利用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

药王茶 购自陕西省太白县医药公司,由西安神龙制药厂毛水龙研究员鉴定;pBR322 质粒 日本 TaKaRa 公司;标准对照品芦丁、葡萄糖以及 ABTS、DPPH、琼脂糖、TAE 缓冲液(50×)、2 mol/L 福林酚、PBS 缓冲液(pH6.6、7.4)、loading buffer(6×)均为分析纯,美国 sigma 公司;标准对照品没食子酸、槲皮素、槲皮苷与氨基酸 上海源叶公司;抗坏血酸 分析纯,国药集团化学试剂公司;矿物质元素标准液 北京普天公司;磷酸 色谱级,天津科密欧公司;甲醇、乙腈 色谱级,德国 Merck 公司。

JPCQ0328 全数字式超声波清洗机 武汉嘉鹏公司;MultiskanGo 全波长酶标仪、DIONEX UltiMate3000 高效液相色谱仪(配备 Agilent C₁₈ 柱)、5110 电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES) 美国 Thermo Electron 公司;FDU-1200 真空冷冻干燥机 日本 Tokyo Rikakikai 公司;MARS6 微波消解仪配消解管 美国 CEM 公司;L-8900 氨基酸分析仪 日本 HITACHI 公司;DYY-8C 电泳电源配 DNA 电泳装置 北京六一公司;JS-6800 凝胶成像系统 上海培清公司;Kjeltec 2300 全自动凯氏定氮仪 丹麦 FOSS 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 药王茶的处理与提取物制备 用清水漂洗 1 次药王茶除去其中灰尘等杂物,烘箱中 40 ± 5 °C 烘干,烘干后用粉碎机粉碎至 200 目。将预处理后的药王茶按料液比 1:100(g/mL)放入 95 ± 5 °C 热水中浸提 30 ± 5 min,浸提之后立即抽滤,将滤液真空减压浓缩至原体积的 1/3~1/4,得到浓缩液,在温度为 -48 ± 3 °C、真空度 20 ± 3 Pa 条件下对浓缩液进行冻干得到提取物。

1.2.2 药王茶化学组成的测定

1.2.2.1 蛋白质定量分析 参考国家标准采用凯氏定氮法^[10]测定其含氮量,并计算其蛋白质含量。

1.2.2.2 氨基酸分析 使用氨基酸分析仪测定药王茶中氨基酸含量(因仪器限制,不能检测天冬酰胺、谷氨酰胺、色氨酸),参考文献[11-13]方法对药王茶的氨基酸质量(氨基酸评分(AAS)、化学评分(CS)、氨基酸比值(RAA)、氨基酸比值系数(RC)、必需氨基酸与半必需氨基酸的总和占总氨基酸比例(E/T 值))进行评价。氨基酸含量测定结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm SD$)表示,以平均值进行评分。

1.2.2.3 多糖定量分析 采用苯酚-硫酸法进行多糖含量测定^[14]。标准曲线方程为 $y = 0.0049x - 0.0134$ (式中: x 为葡萄糖溶液浓度,mg/mL; y 为吸光度), $R^2 = 0.9944$ 。多糖分析结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{X} \pm SD$)表示。

1.2.2.4 总多酚定量分析 参考国家标准^[15]进行多酚的提取与测定。标准曲线方程为 $y=0.0431x+0.0624$ (式中: x 为没食子酸溶液浓度, $\mu\text{g/mL}$; y 为吸光度), $R^2=0.9971$ 。总多酚分析结果以没食子酸当量表示, 记作平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm\text{SD}$)。

1.2.2.5 总黄酮定量分析 采用白吉庆等^[3]的方法提取总黄酮, 采用国家标准^[16]的分光光度法测定总黄酮含量。标准曲线方程为 $y=0.1106x+0.0434$ (式中: x 为芦丁溶液浓度, mg/mL ; y 为吸光度), $R^2=0.9986$ 。总黄酮分析结果以芦丁当量表示, 记作平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm\text{SD}$)。

1.2.2.6 酚类化合物、黄酮类化合物高效液相色谱分析 参考何晶晶等^[17]的方法测定药王茶中的槲皮苷与槲皮素的含量, 色谱条件: 使用 C_{18} 色谱柱($4.6\times 250\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$)分离, 以乙腈和 0.5% 磷酸溶液为流动相。按照《中国药典》^[18]的方法测定药王茶中的没食子酸含量。槲皮苷标准曲线方程为 $y=0.99375x-5.9625$, $R^2=0.9985$; 槲皮素标准曲线方程为 $y=0.308x+1.4$, $R^2=0.9873$; 没食子酸标准曲线方程为 $y=0.46x+1.5$, $R^2=0.9974$ (以上各式中: x 为标准品浓度, mg/L ; y 为响应值, mAU)。高效液相色谱分析结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm\text{SD}$)表示。

1.2.2.7 矿物质与重金属分析 参考国家标准^[19-21]分析药王茶中的矿物质与重金属, 简述如下: 精密称取 0.2 g 药王茶样品于消解管中, 加入浓硝酸, 微波消解 30 min, 赶酸后用蒸馏水定容至 10 mL, 制得 20 g/L 的药王茶消解液, 使用 ICP-OES 上机测定。元素含量测定回归方程如表 1 所示。

表 1 元素测定回归方程
Table 1 Regression equation of element assay

元素	波长(nm)	回归方程	R^2
As	188.980	$y=735.2x-25.666$	0.9983
Cd	226.502	$y=45850x-1912.3$	0.9986
Cr	205.560	$y=7184.73x+12.83$	0.9982
Hg	184.887	$y=161.84x-8.63$	1.0000
Pb	182.143	$y=395.56x-1.2042$	0.9980
Cu	324.754	$y=27182x-617.9$	0.9985
Mo	202.032	$y=7445.5x-302.96$	0.9981
Se	206.279	$y=128.19x+231.31$	0.9987
Sr	407.771	$y=7379191x+849.60$	1.0000
Zn	202.548	$y=28193.95x+147.88$	0.9904
Fe	259.940	$y=15705.71x+57.80$	0.9997
Mg	280.270	$y=69128x+849946$	0.9306
Mn	257.610	$y=268032x-22217$	0.9982

注: x 为元素浓度, mg/L ; y 为响应值, mAU 。

1.2.3 体外抗氧化活性测定 按照文献方法分别测定 DPPH 自由基^[22]、ABTS 自由基^[23]、羟基自由基($\cdot\text{OH}$)^[19]清除活性以及总还原力^[24], 并计算 EC_{25} 和 EC_{50} 值, 以抗坏血酸为阳性对照。

1.2.4 DNA 损伤保护作用测定 参考 YANG 等^[9]的方法进行体外 DNA 损伤保护试验, 分为药王茶提取物实验组、抗坏血酸对照组、PBS 缓冲液对照组与

质粒组。在药王茶提取物实验组中, 将 FeSO_4 溶液、 H_2O_2 溶液和不同浓度的药王茶提取物溶液(1×10^{-2} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 、 $1\times 10^{-5}\text{ mg/mL}$)加入反应杯中, 再加入 pBR322 质粒, $37\text{ }^\circ\text{C}$ 下孵育 30 min 后加入 loading buffer 进行电泳。电泳条件优化如下: 72 V 电泳 15 min 之后在 122 V 条件下继续电泳 40 min。电泳完成后用凝胶成像系统进行拍照。在抗坏血酸对照组、PBS 缓冲液对照组和质粒组中, 除了分别用 $1\times 10^{-3}\text{ mg/mL}$ 的抗坏血酸溶液、0.01 mol/L 的 PBS 缓冲液($\text{pH}7.4$)和蒸馏水代替药王茶提取物溶液以外, 其余操作与药王茶样品处理组相同。

1.3 数据处理

所有实验平行重复 3 次, 结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm\text{SD}$)表示。采用 SPSS 26.0 软件进行方差分析(One-Way ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 药王茶的化学组成

2.1.1 蛋白质与氨基酸 药王茶的蛋白质含量为 $10.43\%\pm 0.16\%$, 其中含量最高的氨基酸是丙氨酸($29.14\pm 0.55\text{ mg/g}$), 占总氨基酸的 15.36%, 含量最高的必需氨基酸是苯丙氨酸($17.84\pm 0.64\text{ mg/g}$), 占总氨基酸的 9.41%(表 2)。药王茶的总氨基酸含量为 $189.52\pm 5.78\text{ mg/g}$, 其中必需氨基酸含量为 $65.65\pm 1.97\text{ mg/g}$, 半必需氨基酸含量为 $20.39\pm 0.91\text{ mg/g}$, 非必需氨基酸含量为 $103.48\pm 2.90\text{ mg/g}$, E/T 值为 45.4%, 说明了药王茶中必需氨基酸、半必需氨基酸含量较高。由表 3 可知, 除亮氨酸外, 其它必需氨基酸的 AAS 均高于 100, 这说明药王茶中必需氨基酸含量较高, 基本可以满足成年人相关氨基酸需求。药王茶的氨基酸与对照鸡蛋氨基酸的种类、含量的相似度较高。除异亮氨酸和亮氨酸外, 其它氨基酸的 CS 均高于 100, 提示药王茶的氨基酸质量总体上略优于鸡蛋氨基酸。

RAA 通常用来表示氨基酸在一定量食物中的含

表 2 药王茶中氨基酸种类与水平

Table 2 Type and level of amino acids in Yaowang tea			
氨基酸	含量(mg/g)	氨基酸	含量(mg/g)
Thr [*]	5.96 ± 0.04	Ser	8.48 ± 0.33
Met [*]	11.86 ± 0.53	Glu	15.15 ± 0.42
Ile [*]	4.61 ± 0.05	Gly	\
Leu [*]	6.30 ± 0.12	Ala	29.14 ± 0.55
Phe [*]	17.84 ± 0.64	Cys	\
Lys [*]	10.45 ± 0.31	Pro	10.65 ± 0.41
Val [*]	8.63 ± 0.28	总氨基酸	4.60 ± 0.21
Arg [#]	6.68 ± 0.32	总氨基酸	189.52 ± 5.78
His [#]	13.71 ± 0.59	必需氨基酸	65.65 ± 1.97
Tyr	24.95 ± 0.61	半必需氨基酸	20.39 ± 0.91
Asp	15.11 ± 0.58	非必需氨基酸	103.48 ± 2.90
E/T值(%)		45.4	

注: \ 代表未检出, * 代表必需氨基酸, # 代表半必需氨基酸, E/T 值代表必需氨基酸与半必需氨基酸的总和占总氨基酸比例。

表 3 药王茶的氨基酸评分(AAS)、化学评分(CS)、氨基酸的比值(RAA)及其系数(RC)

Table 3 Amino acid score (AAS), chemical score (CS), amino acid ratio (RAA) and its coefficient (RC) of Yaowang tea

氨基酸 (AA)	药王茶中氨基酸含量(mg/g)	氨基酸评分 (AAS)	化学评分 (CS)	氨基酸比值 (RAA)	RAA系数 (RC)
Ile	4.61±0.05	115.35	69.908	1.154	0.457
Leu	6.30±0.12	89.971	89.966	0.9	0.356
Lys	10.45±0.31	190.055	163.333	1.901	0.752
Thr	5.96±0.04	148.875	116.765	1.489	0.589
Val	8.63±0.28	172.52	118.17	1.725	0.683
His	13.71±0.59	\	427.868	\	\
Phe+Tyr	42.79±1.21	713.117	215.662	7.131	2.822
Met+Cys	11.86±0.53	338.886	189.132	3.389	1.341
合计	104.31±3.13	\	\	2.527	\

注: \代表无法计算或计算无意义。

量占模式氨基酸的倍数,而 RC 则表示氨基酸在食物内与模式氨基酸的偏离程度^[25]。由表 3 可知,除亮氨酸外,药王茶其余必需氨基酸的 RAA 均高于模式氨基酸,其第一限制性氨基酸为亮氨酸,这与前文的 AAS 分析结果相吻合。药王茶中苯丙氨酸+酪氨酸、甲硫氨酸+半胱氨酸的 RC 值均大于 1,说明药王茶中这 4 种氨基酸相对过剩;而异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、苏氨酸与缬氨酸 RC 值均小于 1,可能是因为药王茶中苯丙氨酸+酪氨酸、甲硫氨酸+半胱氨酸等含量过高从而提高了 RAA 的平均值所致,并非药王茶缺乏这些氨基酸。

2.1.2 多糖、黄酮类化合物、酚类化合物 药王茶中多糖含量较高(11.88%±0.13%),总黄酮含量为 1.51%±0.04%,多酚含量为 7.47%±0.08%,槲皮苷、槲皮素、没食子酸单体的含量分别为 0.17%±0.00%、0.29%±0.01% 和 0.28%±0.01%(图 1)。多糖特别是植源性多糖往往具有调节免疫、降低血糖、调节肠道菌群、抗肿瘤、清除体内自由基等作用^[26]。植物多酚具有一定的清除自由基、调节氧化酶系与抗氧化酶系、控制高价态金属元素与 DNA 的螯合、抗动脉粥样硬化、抗菌、抗辐射、抗肿瘤、延迟衰老、控制肥胖等作用^[27]。黄酮类化合物具有抗氧化、抗癌症、调节人体生理机能、抗病毒与抗辐射等作用^[28]。槲皮苷具有一定的抗氧化和消炎作用^[29-30];槲皮素具有抗氧化、抗病毒、抗炎等作用,对肝脏疾病、神经系统疾病等具有一定的积极作用^[31];没食子酸对肝脏具有一定的保护作用^[32]。今后可对药王茶多糖的结构与生物活性以及黄酮类化合物、酚类化合物的种类与功能进行深入研究。

2.1.3 矿物质与重金属 由表 4 可知,在药王茶中,有害元素砷、镉、铬、汞、铅含量均未超过国家限量标准^[33]。药王茶中含有多种人体需要的矿物质元素,包括铁、锰、锶、硒、锌、镁等(表 4)。其中,锰、硒、镁的含量依次为 1.19±0.04、0.43±0.02、2.80±0.05 mg/kg,高于广西甜茶(蔷薇科悬钩子属(*Rubus* L.)落叶灌木甜茶(*Rubus chingii* var. *suavissimus*)的叶片)的锰、硒、镁含量(依次为 0.15、0.13、0.26 mg/kg)^[34-35]。

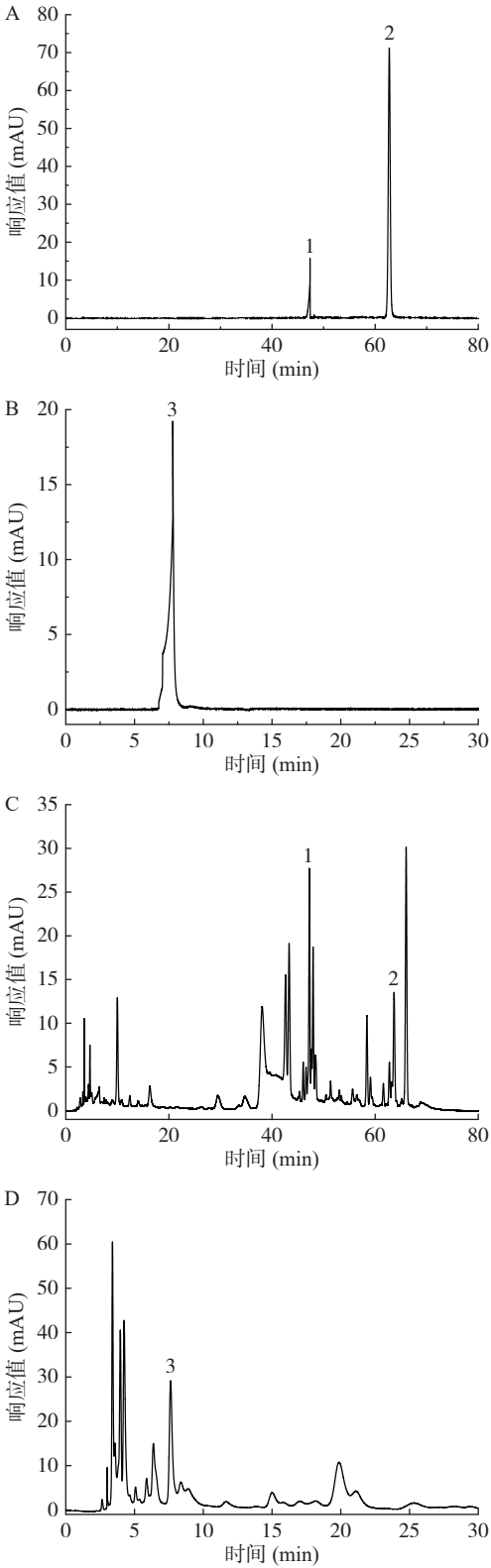


图 1 药王茶的高效液相色谱分析

Fig.1 High-performance liquid chromatogram of Yaowang tea

注: A、B、C 和 D 分别为槲皮苷+槲皮素混合标准品图谱、没食子酸标准品图谱、药王茶黄酮类化合物图谱和药王茶酚类化合物图谱;1、2 和 3 分别为槲皮苷、槲皮素和没食子酸。

镁属于宏量元素,铁、锰、硒、锌等属于微量元素^[34-42]。锶元素与钙元素具有一定的协同效应,可以强壮骨骼、改善心血管功能^[36];硒元素的摄入有助于人体抑制癌细胞生长、保护和改善胰腺功能、帮助肝

脏分解毒素、保护肾小管与肾小球细胞、减少外周血管阻力、保护心脑血管、防止心肌缺血缺氧性损伤、保护视力,特别是在新型冠状病毒(COVID-19)肺炎疫情防控过程中可能具有重要作用^[39];锌元素具有增高抵抗力、提升食欲、促进人体正常发育、降低糖尿病风险、防止肝硬化与抗癌等作用^[34];镁元素能够促进骨骼生长、调节神经兴奋性、改善肾功能、维护胃肠道和肌肉功能、减少免疫细胞产生促炎症细胞因子^[41-42]。药王茶含有较丰富的锰、硒、镁等矿物质元素,在重金属方面较为安全。

表4 药王茶中重金属与矿物质种类与水平

Table 4 Type and level of heavy metals and mineral elements in Yaowang tea

元素	含量(mg/kg)	国标限量(mg/kg)
As	0.05±0.00	≤0.500
Cd	0.04±0.00	≤0.050
Cr	0.02±0.00	≤1.000
Hg	0.02±0.00	≤0.050
Pb	0.08±0.00	≤2.000
Cu	0.15±0.01	\
Mo	0.05±0.01	\
Se	0.43±0.02	\
Sr	0.55±0.03	\
Zn	0.48±0.05	\
Fe	1.14±0.04	\
Mg	2.80±0.05	\
Mn	1.19±0.04	\

注:\表示国家标准未规定该元素在食物中的限量。

2.2 药王茶的体外抗氧化活性

由图2可见,在0~0.5 mg/mL浓度范围内,随着药王茶提取物浓度的升高,其DPPH、ABTS、羟基

自由基清除率也逐渐升高,显示出明显的剂量依赖性。药王茶清除DPPH、ABTS自由基的 EC_{50} 值分别为0.0704、0.3810 mg/mL(表5)。由表5可知,药王茶的体外抗氧化活性与抗坏血酸接近,显示出较高的体外自由基清除能力和总还原力,这可能与药王茶中多酚、黄酮类化合物含量较多有关。

2.3 药王茶对DNA损伤的保护作用

细胞DNA损伤可能导致DNA复制和转录异常。大量体内、体外实验证明部分抗氧化剂有助于维持DNA稳定性,防止DNA损伤^[6-9]。本研究采用质粒DNA体外实验分析药王茶对DNA损伤的保护作用,根据电泳图谱中各条带的亮度判断DNA损伤的程度以及目标物质的保护作用^[9,43]。在正常情况下,pBR322质粒DNA呈超螺旋状态,加入 $FeSO_4$ 与 H_2O_2 溶液后, H_2O_2 产生的羟基自由基可使超螺旋质粒DNA氧化,变成开环甚至线状,造成泳动迁移率变小,在电泳图谱中表现为条带2亮度减小、条带1亮度增大^[9]。由图3可见,随着药王茶提取物浓度的增加,条带2的亮度也逐渐增加,说明药王茶对DNA损伤的保护作用呈剂量依赖关系; 1×10^{-2} mg/mL的药王茶提取物对DNA损伤的保护作用远高于抗坏血酸, 1×10^{-3} mg/mL的药王茶提取物对DNA损伤的保护作用与抗坏血酸接近。药王茶对DNA损伤的保护作用可能与其中所含的酚类化合物、黄酮类化合物(如槲皮素)有关。已有研究发现,DNA损伤与胃肠疾病密切相关^[44],药王茶对“胃气不和”、“滞食”等的缓解作用可能与其抗DNA损伤活性有关。近期的研究还发现,DNA损伤与老年痴呆、肝病等也存在一定的关联^[45],今后可从

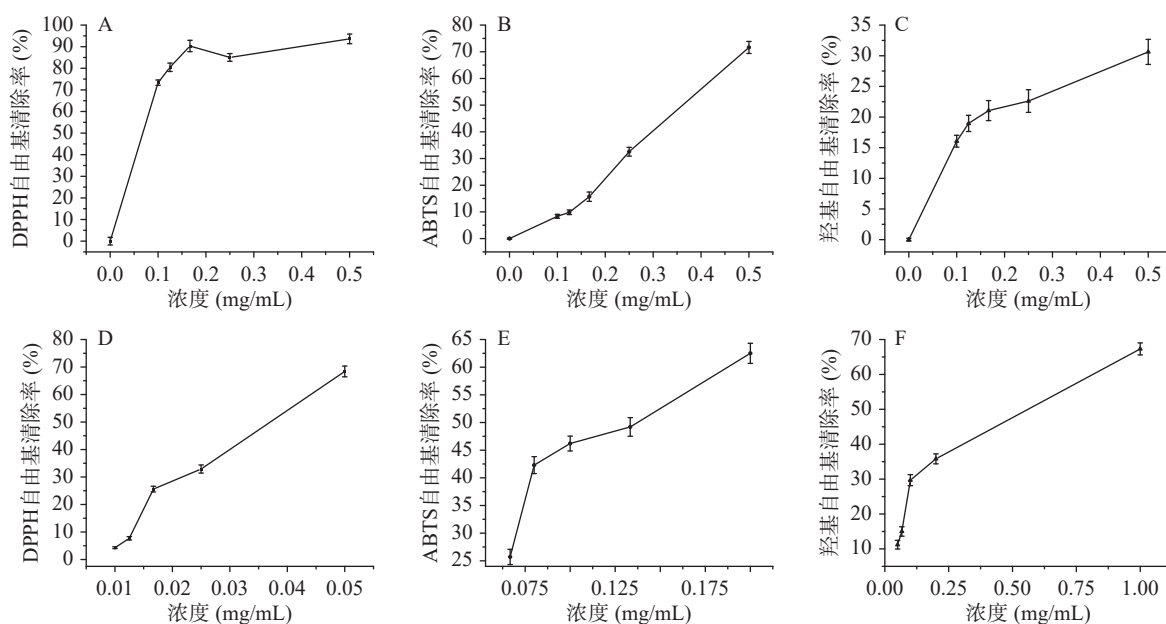


图2 药王茶提取物和抗坏血酸的DPPH、ABTS、羟基自由基清除率曲线

Fig.2 DPPH, ABTS and OH radical-scavenging curves of Yaowang tea extract and ascorbic acid

注:A、B、C分别为药王茶提取物的DPPH、ABTS、羟基自由基清除率曲线;D、E、F分别为抗坏血酸的DPPH、ABTS、羟基自由基清除率曲线。

表 5 药王茶的抗氧化活性
Table 5 Antioxidant activity of Yaowang tea extract

种类	自由基	拟合方程	R^2	EC ₂₅ (mg/mL)	EC ₅₀ (mg/mL)
药王茶	DPPH	$y=-1147.8x^2+755.54x+2.4633$	0.9844	0.0313	0.0704
	ABTS	$y=102.07x^2+96.441x-1.5653$	0.9929	0.2229	0.3810
	OH	$y=-215.52x^2+167.94x+0.4675$	0.9921	0.1948	\
	总还原力	$y=-1.6971x^2+1.7109x-0.0182$	0.9420	\	\
V _c	DPPH	$y=-19074x^2+2728.3x-20.572$	0.9805	0.0193	0.0339
	ABTS	$y=-3508.2x^2+1190.8x-35.438$	0.9461	0.0621	0.1030
	OH	$y=-131.81x^2+194.52x+4.5486$	0.9667	0.1139	\
	总还原力	$y=1.422x+0.0535$	0.9999	\	\

注: y 为体外抗氧化活性; x 为物质浓度, mg/mL; \ 表示无法计算或计算结果为负值。

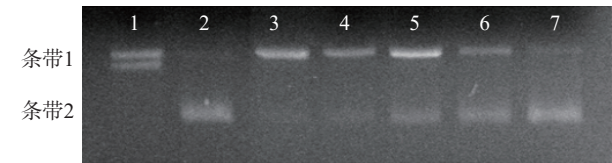


图 3 药王茶提取物对 DNA 损伤的保护作用

Fig.3 Protective effect of Yaowang tea extract on DNA oxidative damage

注: 泳道 1 为质粒组, 泳道 2~5 分别为 1×10^{-2} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-3} mg/mL 药王茶提取物实验组, 泳道 6 为 1×10^{-3} mg/mL 抗坏血酸对照组, 泳道 7 为 PBS 缓冲液对照组。

这些方面多角度探究药王茶的保健作用。

3 结论

药王茶中含有较丰富的矿物质、蛋白质等营养素以及多酚、黄酮类化合物、多糖等活性成分,具有一定的 DPPH、ABTS、羟基自由基清除能力和较高的总还原力,对 DNA 损伤具有明显的保护作用。药王茶中槲皮苷、槲皮素和没食子酸含量较高,必需氨基酸种类较为齐全且含量丰富,铁、锰、镉、硒、锌、镁等矿物质元素含量较高,砷、镉、汞、铅等有害元素含量均未超过国家限量标准。药王茶的体外抗氧化活性和 DNA 损伤保护作用可能与其中所含黄酮类化合物、酚类化合物有关。本研究为秦岭特色药食同源植物药王茶的科学开发和利用提供了参考。

参考文献

[1] 崔友文,王作宾,付坤俊,等.秦岭植物志(第一卷)[M].北京:科学出版社,北京,1964: 547-549. [CUI Y W, WANG Z B, FU K J, et al. Flora of Qinling mountain (Volume I)[M]. Beijing: Science Press, 1964: 547-549.]

[2] 张华峰.药食同源相关术语问题与对策[J].中国科技术语, 2019, 21(4): 65-71. [ZHANG H F. Terms about homology between drug and food: Problems and counter measures[J]. China Terminology, 2019, 21(4): 65-71.]

[3] 白吉庆,王小平,王媚,等.药王茶总黄酮含量测定分析[J].陕西农业科学,2012,58(2): 18-19. [BAI J Q, WANG X P, WANG M, et al. Determination and analysis of total flavonoids in Yaowang tea[J]. Shaanxi Agricultural Science, 2012, 58(2): 18-19.]

[4] 郑麟枫,张烺烺,刘婷,等.响应面法优化药王茶总黄酮提取工艺[J].陕西中医药大学学报,2019,42(3): 51-56. [ZHENG L F, ZHANG Y Y, LIU T, et al. Optimization of extraction process of

total flavonoids from Yaowang tea by response surface analysis[J]. Journal of Shaanxi University of Chinese Medicine, 2019, 42(3): 51-56.]

[5] 崔小敏,万兆新,任慧,等.基于 UPLC-Q-Orbitrap HRMS 技术的白毛银露梅化学成分研究[J].中药材,2020,43(8): 1901-1906. [CUI X M, WAN Z X, REN H, et al. Study on chemical constituents of *Potentilla glabra* var. *mandshurica* Maxim based on UPLC-Q-Orbitrap HRMS technology[J]. Traditional Chinese Medicine, 2020, 43(8): 1901-1906.]

[6] JACKSON S P, BARTEK J. The DNA-damage response in human biology and disease[J]. Nature, 2009, 461(7267): 1071-1078.

[7] TANG Z Z, LIN W J, YANG J, et al. Ultrasound-assisted extraction of *Cordyceps cicadae* polyphenols: Optimization, LC-MS characterization, antioxidant and DNA damage protection activity evaluation[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2022, 15(8): 1-17.

[8] DAS N, PARVIN M S, HASAN M, et al. A flavone from the ethyl acetate extract of *Leea rubra* leaves with DNA damage protection and antineoplastic activity[J]. Biochemistry and Biophysics Reports, 2022, 30: 1-7.

[9] YANG J, ZHANG H F, CAO X Y, et al. Enzymatic water extraction of polysaccharides from *Epimedium brevicornu* and their antioxidant activity and protective effect against DNA damage[J]. Journal of Food Biochemistry, 2017, 41(1): 1-5.

[10] 国家食品药品监督管理总局,国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.5—2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S].北京:中国标准出版社,2016: 3-5. [China Food and Drug Administration, National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.5—2016 National food safety standard-Determination of protein in foods[S]. Beijing: Standards Press of China, 2016: 3-5.]

[11] 罗钦,李冬梅,钟茂生,等.澳洲龙纹斑雌、雄亲鱼营养成分比较分析[J].福建农业学报,2020,35(1): 51-58. [LUO Q, LI D M, ZHONG M S, et al. Nutritional compositions of female and male murray cod filets[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2020, 35(1): 51-58.]

[12] LI J H, HUANG J, LI C L, et al. Evaluation of the nutritional quality of edible tissues (muscle and hepatopancreas) of cultivated *Procambarus clarkii* using biofloc technology[J]. Aquaculture Reports, 2021, 19: 100586.

[13] 孙娟娟,阿拉木斯,赵金梅,等.6个紫花苜蓿品种氨基酸组成分析及营养价值评价[J].中国农业科学,2019,52(13): 2359-

2367. [SUN J J, A L M S, ZHAO J M, et al. Analysis of amino acid composition and six native alfalfa cultivars[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(13): 2359–2367.]
- [14] CHEN L, HUANG G L. Antioxidant activities of sulfated pumpkin polysaccharide[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 126: 743–746.
- [15] 国家市场监督管理总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 8313—2018 茶叶中茶多酚和儿茶素类含量的检测方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 4–5. [State Administration for Market Regulation, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 8313—2018 Determination of total polyphenols and catechins content in tea[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018: 4–5.]
- [16] 国家质量监督检验检疫总局, 国家标准化管理委员会. GB/T 20574—2006 蜂胶中总黄酮含量的测定方法 分光光度比色法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006: 1–2. [State General Administration of the People's Republic of China for Quality Supervision and Inspection and Quarantine, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 20574—2006 Method for determination of total flavonoids in propolis-Colorimetric method [S]. Beijing: Standards Press of China, 2006: 1–2.]
- [17] 何晶晶, 杜江. 景天三七中槲皮素、槲皮素及山茶酚含量的高效液相色谱法同时测定[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(3): 524–526. [HE J J, DU J. Simultaneous determinate the content of quercetin, quercitroside and kaempferol in *Sedum aizoon* L. by HPLC[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2016, 27(3): 524–526.]
- [18] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 673. [Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020, 673.]
- [19] 国家标准化管理委员会, 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 35871—2018 粮油检验 谷物及其制品中钙、钾、镁、钠、铁、磷、锌、铜、锰、硼、钼、钴、铬、锂、锶、镍、硫、钒、硒、铷含量的测定 电感耦合等离子体发射光谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018: 1–7. [Standardization Administration of the People's Republic of China, State General Administration of the People's Republic of China for Quality Supervision and Inspection and Quarantine. GB/T 35871—2018 Inspection of grain and oils-Determination of calcium, potassium, magnesium, sodium, iron, phosphorus, zinc, copper, manganese, boron, barium, molybdenum, cobalt, chromium, lithium, strontium, nickel, sulfur, vanadium, selenium, rubidium contents in cereals and derived products-Inductively coupled plasma optical emission spectrometric method[S]. Beijing: Standards Press of China, 2018: 1–7.]
- [20] 国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.11—2014 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 1–3. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.11—2014 National food safety standard-Determination of total arsenic and inorganic arsenic in food[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014: 1–3.]
- [21] 国家卫生和计划生育委员会. GB 5009.15—2014 食品安全国家标准 食品中镉的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 1–2. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 5009.15—2014 National food safety standard-Determination of cadmium in food[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014: 1–2.]
- [22] SRIDHAR K, CHARLES A L. *In vitro* antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH· and ABTS· assays: Estimation methods for EC₅₀ using advanced statistical programs[J]. *Food Chemistry*, 2019, 275: 41–49.
- [23] 张昊, 魏跃伟, 姬小明, 等. 烟叶多糖砷化衍生物制备及其体外抗氧化活性研究[J]. *生物技术通报*, 2019, 35(10): 89–94. [ZHANG H, WEI Y W, JI X M, et al. Preparation of selenized derivatives from tobacco leaf polysaccharides and its antioxidant activity *in vitro*[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2019, 35(10): 89–94.]
- [24] 张瑞娟, 柯莉娜, 郑静, 等. 鲍鱼内脏多糖的提取、纯化及其抗氧化和抑菌活性[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2018, 57(1): 58–64. [ZHANG R J, KE L N, ZHENG J, et al. Extraction, purification and antioxidant and antibacterial activity analysis of polysaccharides from abalone viscera[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science)*, 2018, 57(1): 58–64.]
- [25] 邓文亚, 徐婧婷, 郭顺堂, 等. 大麻仁蛋白与大豆蛋白的营养评价及比较[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(23): 273–279. [DENG W Y, XU J T, GUO S T, et al. Nutritional evaluation and comparison of hemp seed protein and soybean protein[J]. *Food Industry Technology*, 2021, 42(23): 273–279.]
- [26] LOVEGROVE A, EDWARDS C H, NONI I D, et al. Role of polysaccharides in food, digestion, and health[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(2): 237–253.
- [27] LUCA S V, MACOVEIA I, BUJOR A, et al. Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(4): 626–659.
- [28] ZHAO C Y, WANG F, LIAN Y H, et al. Biosynthesis of citrus flavonoids and their health effects[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, 60(4): 566–583.
- [29] ROMERO M, VERA B, GALISTEO M, et al. Protective vascular effects of quercitrin in acute TNBS-colitis in rats: The role of nitric oxide[J]. *Food & Function*, 2017, 8: 2702–2711.
- [30] KAWABATA K, MUKAIB R, ISHISAKA A. Quercetin and related polyphenols: New insights and implications for their bioactivity and bioavailability[J]. *Food & Function*, 2015, 6(5): 1399–1417.
- [31] BATIHA G E, BESHBIHY A M, IKRAM M, et al. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin[J]. *Foods*, 2020, 9(3): 374–390.
- [32] KAHKESHANI N, FARZAEI F, FOTOUHI M, et al. Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review[J]. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 2019, 22: 225–237.
- [33] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. GB 2762—2017 食品安全国家标准 食品中污染物限量(含第1号修改单)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017: 1–22. [National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. GB 2762—2017 National food safety standard-Limits of contaminants in food (Including amendment No. 1)[S]. Beijing:

Standards Press of China, 2017: 1–22.]

[34] BELAIDI A A, BUSH A I. Iron neurochemistry in Alzheimer's disease and Parkinson's disease: Targets for therapeutics[J]. *Journal of Neurochemistry*, 2016, 139(1): 179–197.

[35] 邓绍林. 广西甜茶叶片的营养成分及开发利用价值研究[J]. *中国林副特产*, 2000, 3(54): 18–19. [DENG S L. Study on nutritional components and development and utilization value of Guangxi sweet tea leaves[J]. *Quarterly of Forest By-Product and Speciality in China*, 2000, 3(54): 18–19.]

[36] LUZA E P C G, CHAGASB B S D, ALMEIDA N T D, et al. Resorbable bacterial cellulose membranes with strontium release for guided bone regeneration[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2020, 116: 1–14.

[37] XIA X J, ZHANG X L, LIU M C, et al. Toward improved human health: Efficacy of dietary selenium on immunity at the cellular level[J]. *Food & Function*, 2021, 12(3): 976–989.

[38] RAYMAN M P. Selenium and human health[J]. *Lancet*, 2012, 379(5): 1256–1268.

[39] MOGHADDAM A, HELLER R A, SUN Q, et al. Selenium deficiency is associated with mortality risk from COVID-19[J]. *Nutrients*, 2020, 12(7) 2098: 1–13.

[40] NRIAGU J. Zinc deficiency in human health[J]. *Encyclopedia of Environmental Health*, 2011, 1(1): 789–800.

[41] HAMMARSTEN J F, ALLGOOD M, SMITH W O. Effects of magnesium sulfate on renal function, electrolyte excretion and clearance of magnesium[J]. *Journal of Applied Physiology*, 1957, 10(3): 476–478.

[42] SILVA L F D, AMBROSIO F R. A review of the action of magnesium on several processes involved in the modulation of hematopoiesis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(19): 7084.

[43] LIMMONGKON A, PANKAM J, SOMBOON T, et al. Evaluation of the DNA damage protective activity of the germinated peanut (*Arachis hypogaea*) in relation to antioxidant and anti-inflammatory activity[J]. *LWT*, 2019, 101(C): 259–268.

[44] ADET J, DAVIES K J A. Oxidative DNA damage & repair: An introduction[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2017, 107(6): 6–12.

[45] PENA-BAUTISTA C, TIRLE T, LOPEZ-NOGUEROLES M, et al. Oxidative damage of DNA as early marker of Alzheimer's disease[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(24): 1–13.