

竹叶兰不同部位提取物清除 DPPH 自由基的研究

刘 萍^{1,2}, 高云涛^{1,2}, 杨 露¹, 王淑慧², 邵俊杰², 封金锋¹

(1. 云南民族大学 云南省聚乳酸基功能材料工程实验室, 昆明 呈贡 650500; 2. 云南民族大学

民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室, 昆明 呈贡 650500)

摘 要:以竹叶兰为试材,研究了其不同部位提取物对 DPPH 自由基的清除活性的影响。结果表明:竹叶兰不同部位提取物均有很强的抗氧化活性;竹叶兰的根、茎、叶的 IC_{50} 值分别为 0.03869、0.04976、0.02966 mg/mL;根、茎、叶最大清除率分别为:85.26%、84.75%、90.41%;竹叶兰不同部位抗氧化能力顺序为叶>根>茎。

关键词:竹叶兰;部位;提取物;DPPH 自由基;清除率

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)19-0072-04

竹叶兰(*Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr.) 属兰科(*Orchidaceae*) 竹叶兰属(*Arundina*) 多年生常绿草本植物,喜暖湿,茎直立,常丛生。叶线状披针形,花序总状或圆锥状,花粉红色或略带紫色或白色,具有很高的观赏价值^[1-3]。在云南傣族地区,竹叶兰不仅是观赏植物,而且还是最常用的药物。竹叶兰傣语叫“农尚嗨”,全草药用,傣族人民用其解百毒^[4-5]。目前,国内关于竹叶兰的研究主要集中于化学成分的分析方面,朱慧等^[6]、刘美凤等^[7-8]研究表明,竹叶兰主要成分有芪类、菲类、甾醇类、联苄类、酚类、萜类、有机酸类化合物等高活性成分;屈睿等^[9]研究表明,竹叶兰中含有丰富的 Ca、Zn、Fe 等人体生命活动中不可缺少的微量元素,具有营养作用和临床诊断意义;刘琼等^[10]、高云涛等^[11]对不同极性部位体外抗氧化活性研究发现,乙酸乙酯相的抗氧化作用最强。

疾病、衰老、食物的腐败变质都与自由基氧化损伤密切相关^[12]。从天然植物中开发具有抗氧化活性成分是目前研究的热点,对花卉的研究也越来越受到关注,刘红等^[13]对 15 种热带花卉进行了抗氧化研究,发现所研究的花卉均具有良好的抗氧化性。观赏类植物资源丰富,其药用价值的开发应用具有良好的前景,但目前

相关研究较少。吴春霞等^[14]的研究发现,小甘菊不同生长部位活性成分存在一定差异,不同部位总黄酮含量顺序为叶>花>茎,因而抗氧化活性不同,说明观赏类植物通常因植株较大,不同部分抗氧化活性可能存在较明显差异,因此,研究观赏类植物不同部位的药用活性具有重要意义。尽管已有研究表明竹叶兰具有较好的抗氧化活性,但目前尚鲜见其不同部位活性研究报道。DPPH 自由基清除率试验^[15-16]具有可靠、简单、快速、灵敏等特点,广泛应用于植物抗氧化活性的检验及评价,现利用 DPPH 清除试验,分别对竹叶兰根、茎、叶不同部位提取物的抗氧化活性进行了研究,以期为该观赏植物的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试竹叶兰(*Arundina graminifolia* (D. Don) Hochr),购于云南西双版纳州医院,干制,全株分剪为根、茎、叶 3 个部分;无水乙醇(分析纯);离子交换纯水。Agilent 8453 型 UV-Vis 分光光度计(美国安捷伦公司);WFJ-7200 型可见分光光度计(尤尼柯上海仪器有限公司);AS3120A 超声清洗器;10 mm 石英比色皿;1,1-二苯基-2-苦基肼自由基(1,1-di-phenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH,含量>99%,美国 Sigma 公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 溶液的配制 DPPH 溶液配制:准确称取 DPPH 5.0 mg,用无水乙醇定容至 100 mL,得 0.05 mg/mL 的溶液,4℃储存备用。提取液制备:准确称取根、茎、叶干燥粉末 2.000 g,以料液比 1:20 加入 60%乙醇,浸泡 12 h,在温度为 50℃条件下,超声提取 30 min,抽滤,合并 3 次滤液,过 0.45 μm 滤膜,得到提取液。提取物制

第一作者简介:刘萍(1988-),女,硕士研究生,研究方向为分析化学。E-mail:lp87806683@126.com.

责任作者:高云涛(1962-),男,云南大理人,博士,教授,研究方向为药物分析化学。E-mail:yuntaogao@sohu.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21205104);民族药资源化学国家民族事务委员会-教育部共建民族药资源化学重点实验室开放基金资助项目(MJY090101)。

收稿日期:2013-05-23

备:将提取液旋转蒸发至干,得到提取物固体,使用时称取 0.010 g,用无水乙醇定容至 10.0 mL,配制为质量浓度 1 mg/mL 的竹叶兰不同部位提取物溶液。

1.2.2 竹叶兰与 DPPH 反应的紫外光谱测定 采用 UV-Vis 分光光度计和 10 mm 石英比色皿进行紫外光谱测定,首先对 0.03 mg/mL DPPH 和竹叶兰提取液进行 190~1 100 nm 全波段的 UV-Vis 光谱扫描,然后在 0.03 mg/mL DPPH 中连续加入不同浓度的竹叶兰提取液,记录 190~1 100 nm 的 UV-Vis 光谱。

1.2.3 清除 DPPH 自由基活性测定 参照董秀英等^[17]的方法,2.0 mL DPPH 溶液中加入 2.0 mL 不同浓度的样品,总体积 4.0 mL,将所有的样品在室温下避光静置 60 min 后,在最大波长 517 nm 处测吸光值,平行测定 3 次,取平均值。清除率按下式计算:清除率(%) = $[1 - (A_i - A_0) / A_0] \times 100\%$ 。式中, A_0 :DPPH 溶液和无水乙醇的吸光值; A_i :DPPH 溶液和不同浓度竹叶兰的吸光值; A_j :竹叶兰提取液和无水乙醇的吸光值。不同部位提取物作 DPPH 自由基清除试验:将母液稀释成 10、25、35、45、60、75、85、90 $\mu\text{g/mL}$ 作 DPPH 清除试验。

2 结果与分析

2.1 测定波长的确定

对 DPPH 和竹叶兰根、茎、叶提取液进行 190~1 100 nm 全波段的 UV-Vis 光谱扫描,由图 1 可知,DPPH 在 328、517 nm 处有 2 个特征吸收峰,竹叶兰在 276 nm 处有特征吸收峰。

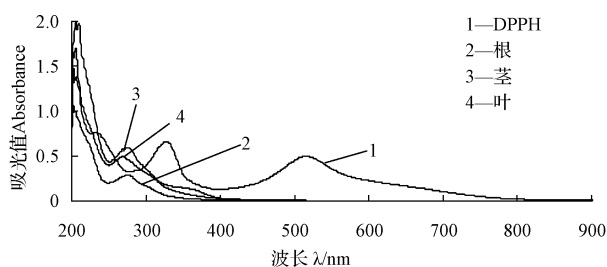


图 1 DPPH 溶液和竹叶兰不同部位提取物的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectrogram of DPPH and extracts from different parts from *Arundina graminifolia*

合并 DPPH 在有机溶剂中是一种稳定的自由基,其醇溶液呈深紫色,当有抗氧化剂存在时,其颜色变浅,在最大光吸收波长处的吸光值下降,且下降程度呈线性关系,通过测定吸收减弱的程度评价自由基清除剂的活性,从而评价试验样品的抗氧化能力^[18]。从图 2 可知,DPPH 在 517 nm 处的吸光值随着加入不同浓度提取液后逐渐降低,且呈良好的线性关系,而由于竹叶兰根、茎、叶在 276 nm 处吸收峰与 DPPH 328 nm 吸收峰存在

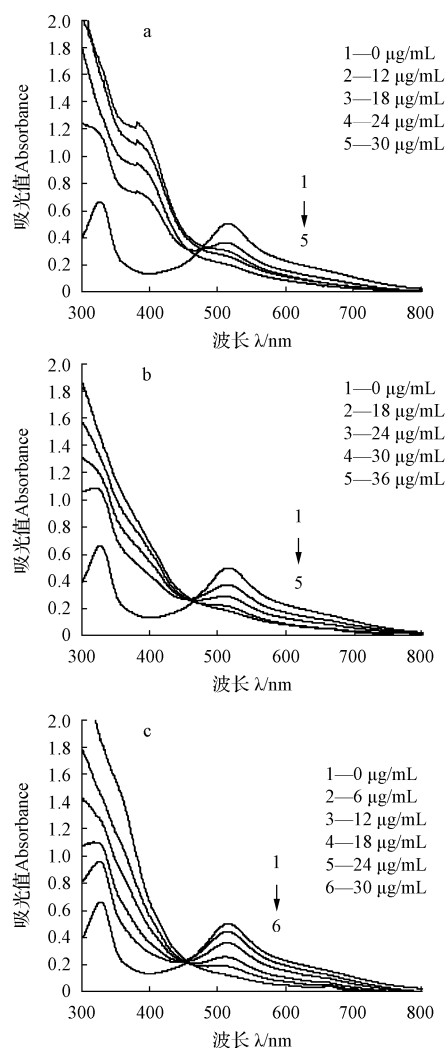


图 2 根(a)、茎(b)、叶(c)提取物与 DPPH 反应的吸收光谱

Fig. 2 Absorption spectrogram of DPPH reaction with extracts from root(a), stem(b), leaves(c)

一定程度重叠干扰(图 1),导致 328 nm 处没有降低现象,故选择 517 nm 作为测定波长。

2.2 竹叶兰不同部位清除 DPPH 自由基活性

根据 1.2.1 制备得到竹叶兰不同部位提取液,并旋蒸得到固形提取物,根、茎、叶的固形物得率分别为 18.87%、11.91%、13.20%。在提取液及提取固形物溶液用量均为 2.0 mL 的条件下,分别测定不同部位提取液及提取固形物对 DPPH 自由基的清除作用。从图 3 可知,对于提取液而言,其根部清除活性最高,叶次之,说明在相同物料用量的情况下,根部氧化活性物质得率最高。而提取固形物则是叶部的活性最高,根与茎活性相近,试验是在提取固形物质量浓度相同的条件下进行的,表明叶部提取物中抗氧化活性物质纯度更高。

结合不同部位提取物得率的结果,可知根部所含抗氧化活性成分较多,但同时含有较多杂质成分,如糖类和胶质等,在开发利用时需考虑进一步分离纯化,而叶

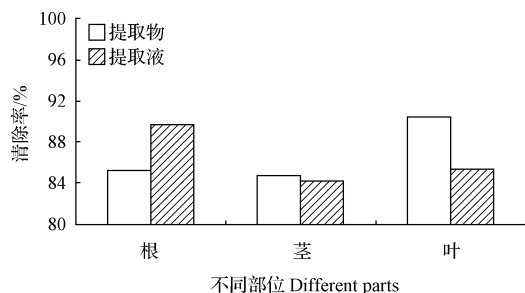


图3 竹叶兰不同部位提取液及提取固形物对 DPPH 自由基清除率

Fig. 3 DPPH radical scavenging rate of different parts of extracting solution and solid content from

Arundina graminea

部抗氧化活性物质纯度高,可根据其生长周期进行多次采取,利用价值较高。

由图4可知,随着不同部位固形提取物质量浓度的增加,其对DPPH自由基清除率均增加,且呈良好的剂量-效应关系。从表1可看出,竹叶兰的根、茎、叶粗提物均有很强的抗氧化活性,以清除率达50%时的质量浓度 IC_{50} 值作为评价其对自由基清除能力的指标^[19-20], IC_{50} 值越低,其对应的样品抗氧化活性越强。结合最大清除率,其活性大小顺序为:叶>根>茎。

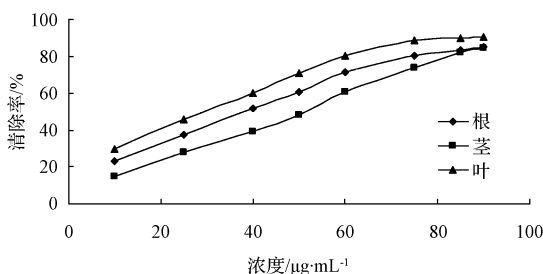


图4 竹叶兰不同部位提取物对DPPH自由基的清除曲线

Fig. 4 DPPH radical scavenging rate curve of extracts from different parts from *Arundina graminea*

表1 不同部位提取物对 DPPH 自由基的清除数据

Table 1 The date of DPPH radical scavenging activities of extracts from different parts

	最大清除率 Maximum scavenging rate/%	回归方程 Regression equation	相关系数 Correlation index	IC_{50} 值 IC_{50} values /mg · mL ⁻¹
根 Root	85.26	$y=0.8991x+15.213$	$R^2=0.9948$	0.03869
茎 Stem	84.75	$y=0.9152x+4.4621$	$R^2=0.9947$	0.04976
叶 Leaves	90.41	$y=0.9332x+22.316$	$R^2=0.9900$	0.02966

注: y 为清除率, x 是提取物质量浓度。

Note: y is the scavenging rate, x is the mass concentration extract.

3 结论与讨论

竹叶兰除了有很高的观赏价值,还具有多种药用价值,是珍贵的药用花卉植物^[21]。该试验通过研究 DPPH 溶液与竹叶兰根、茎、叶的紫外光谱,得出竹叶兰清除 DPPH 自由基测定选用波长为 517 nm,当清除率为 50% 时,竹叶兰的根、茎、叶的 IC_{50} 值分别为 0.03869、0.04976、0.02966 mg/mL,得出抗氧化能力大小为叶>根>茎,其根部和叶部均有较高的利用价值。该试验研究表明,竹叶兰具有很强的抗氧化能力,值得进一步深入研究。

参考文献

- [1] 黄明忠,莫饶,冷青云,等. 竹叶兰和香港毛兰的核型分析[J]. 中国农学通报,2010,26(12):339-343.
- [2] 曾凌云. 海南野生竹叶兰[J]. 琼州学院学报,2009,16(5):53-54.
- [3] 陈之林,曾宋君,温铁龙,等. 竹叶兰的无菌播种和试管成苗[J]. 植物生理学通讯,2006,42(1):66.
- [4] 金锦,林艳芳,依专. 西双版纳傣族传统医药学研究概况[J]. 中国民族医药杂志,2000,6(1):3-4.
- [5] 胥筱云,玉腊波,杨梅,等. 傣族“解药”研究综述[J]. 中国民族药杂志,2007(3):73-75.
- [6] 朱慧,宋启示. 竹叶兰化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2008,40(20):5-8.
- [7] 刘美凤,韩芸,邢东明,等. 竹叶兰化学成分研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(2):147-149.
- [8] 刘美凤. 傣药竹叶兰化学成分研究与抗抑郁新药 YL102 的药学研究[D]. 北京:清华大学,2004.
- [9] 屈睿,罗雯,张龙旺,等. 竹叶兰中几种微量元素含量测定[J]. 安徽农业学报,2011,39(20):12093-12094.
- [10] 刘琼,李乔丽,放茂良,等. 傣族药竹叶兰不同极性部位提取物的抗氧化性研究[J]. 中国农业通报,2011,27(14):77-81.
- [11] 高云涛,刘萍,何弥尔,等. 竹叶兰萃取物对四氯化碳诱导脂质过氧化体外抑制作用[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2013,22(3):182-185.
- [12] 崔剑,李兆陇,洪啸吟. 自由基生物抗氧化与疾病[J]. 清华大学学报(自然科学版),2000,40(6):9-12.
- [13] 刘红,王琳,赵丹薇,等. 15 种常见热带植物花卉的抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(1):1-3,7.
- [14] 吴春霞,宋曼曼,阿不都拉,等. 小甘菊不同部位总黄酮含量测定及其薄层色谱的初步分析[J]. 食品科学,2007,28(7):430-433.
- [15] 张娜,周树娅,尹艳清,等. 藏药草叶兔耳草粗提物的抗氧化活性研究[J]. 云南民族大学学报(自然科学版),2013,22(1):5-9.
- [16] 赵昕,吴子龙,陈立凤,等. 香菇菌柄基部多糖的提取及其清除 DPPH 自由基作用的研究[J]. 北方园艺,2012(24):165-168.
- [17] 董秀英,吕青涛,张国英,等. DPPH 法测定九州虫草不同极性部位抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):70-73.
- [18] 刘帅涛,陶慧林,李锦艳. 4 种黄酮小分子对 DPPH 自由基的清除作用及构效关系研究[J]. 分析测试学报,2012,31(1):71-75.
- [19] 郭雪峰,岳永德,汤锋,等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价竹叶提取物抗氧化能力[J]. 光谱学与光谱分析,2008,28(7):1578-1582.
- [20] 黄素峰,韦绍龙,韦弟,等. 几种香蕉废弃物清除 DPPH 自由基的作用[J]. 北方园艺,2012(15):5-8.
- [21] 王健. 竹叶兰-珍贵的药用花卉[J]. 中国野生植物,1988(3):33-34.

铅胁迫对滇润楠幼苗生理特性的影响

姜永雷, 鲁红鼎, 黄晓霞, 邓莉兰

(西南林业大学 园林学院, 云南 昆明 650224)

摘 要:以 2 a 生滇润楠实生幼苗为试材,研究了对照(CK)、5 mmol/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、10 mmol/L $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 铅胁迫处理对其部分生理生化特性的影响。结果表明: Pb^{2+} 胁迫处理下,叶片初始荧光(F_0)呈现上升趋势,PSII 最大光化学效率(F_v/F_m)和 PSII 实际光合效率(Yield)显著受 Pb^{2+} 的影响,且在低浓度的 Pb^{2+} 浓度胁迫下呈现出显著下降趋势,表明在 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液处理下的滇润楠幼苗光系统 II 受到损伤,且 5 mmol/L 浓度处理比 10 mmol/L 浓度处理对其伤害更大。此外, Pb^{2+} 胁迫引起植株叶绿素含量先降后升、可溶性蛋白含量显著下降,导致膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)含量的增加,且在 5 mmol/L 的处理浓度下的变化较大。同时 Pb^{2+} 胁迫使过氧化物酶(POD)活性显著提高,在低浓度铅胁迫下脯氨酸含量显著降低,表明该幼苗可以通过启动抗氧化酶系统及渗透调节来抵御铅胁迫。

关键词:铅胁迫;滇润楠;叶绿素荧光;生理特性

中图分类号:S 687.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)19-0075-05

随着我国城市化和工业化的迅速发展,重金属污染问题越来越严重,大量的重金属通过工业三废排放,进入土壤、水域,严重破坏了生态系统。其中铅(Pb)是重

金属环境污染物中影响最严重的元素之一^[1]。过量的铅不仅阻滞植物的生长发育、降低植物的品质,而且对人体的危害也不可忽视,尤其对儿童的智力发育危害极其严重^[2]。铅是植物生长的一种非必需元素,进入到植物体内会影响到植物的生理生化过程,Palavi 等^[3]认为铅会对植物的光合作用产生不利影响,在植物组织中的大量积累会导致体内活性氧代谢失调,活性氧水平上升,从而引起细胞膜脂过氧化,并最终影响植物的生长与发育。因此开展植物对铅胁迫生理特性反应的研究,可以进一步了解铅的毒害效应以及为植物对铅的抗性机制提供一定的试验依据。滇润楠(*Machilus*

第一作者简介:姜永雷(1988-),男,河南周口人,硕士研究生,研究方向为园林植物。E-mail:10-29jyl@163.com.

责任作者:邓莉兰(1962-),女,本科,教授,现主要从事树木学与园林植物学等方面的科研与教学工作。E-mail:lilandeng1962@yahoo.com.cn.

基金项目:省部级重点学科、省高校重点实验室及校实验室共享平台资助项目;云南省应用基础面上资助项目(2010ZC267)。

收稿日期:2013-05-17

Study on Scavenging Activities of Different Parts Extracts from *Arundina graminifolia* on DPPH Radical

LIU Ping^{1,2}, GAO Yun-tao^{1,2}, YANG Lu¹, WANG Shu-hui², SHAO Jun-jie², FENG Jin-feng¹

(1. The Engineering Laboratory of Polylactic Acid-Based Functional Materials of Yunnan, Yunnan University of Nationalities, Kunming, Yunnan 650500; 2. Key Laboratory of Ethnic Medicine Resource Chemistry, State Ethnic Affairs Commission & Ministry of Education, Yunnan University of Nationalities, Kunming, Yunnan 650500)

Abstract: Taking *Arundina graminifolia* as material, the scavenging activities of different part extracts from it on DPPH free radical was investigated. The results showed that different parts of *Arundina graminifolia* all had strong antioxidant activity. The IC_{50} values of root, stem, leaves were 0.03869, 0.04976, 0.02966 mg/mL, respectively; the maximum scavenging rate was 85.26% for root, 84.75% for stem and 90.41% for leaves; the antioxidant capacity was observed in the following order: leaves > root > stem.

Key words: *Arundina graminifolia*; parts; extract; DPPH free radical; scavenging rate