

UV-B辐射对鲜土贝母中主要成分和抗氧化活性的影响

刘园, 刘婷, 郑娟娟, 王慧, 岳明, 房敏峰*

(西北大学, 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 西安 710069)

摘要: 为探讨UV-B辐射对鲜土贝母有效成分和抗氧化活性的影响, 对土贝母(*Bolbostemma paniculatum*)新鲜块茎的有效成分含量和抗氧化活性进行了研究。结果表明, 100 kJ m⁻²的高剂量UV-B辐射使鲜土贝母的还原糖含量升高60.17%, 大黄素含量升高209.60%。辐射后还原能力及清除DPPH·自由基能力均显著高于对照($P < 0.01$)。这说明UV-B辐射可显著提高土贝母鲜品的有效成分含量和抗氧化活性, 因此鲜土贝母加工前进行UV-B辐射可望提高药材质量。

关键词: 土贝母; UV-B 辐射; 有效成分; 抗氧化活性

doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.01.007

Effects of Ultraviolet-B Radiation on Active Ingredients and Antioxidant Activities in Fresh *Bolbostemma paniculatum*

LIU Yuan, LIU Ting, ZHENG Juan-juan, WANG Hui, YUE Ming, FANG Min-feng*

(Key Laboratory of Biology and biotechnology in Western China of Ministry of Education, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: In order to understand the effects of ultraviolet-B (UV-B) radiation on active constituents and antioxidant activity in fresh *Bolbostemma paniculatum* (Maxim.) Franque, the contents of active ingredient and antioxidant activities were studied. The results showed that the contents of reducing sugar and emodin increased by 60.17% and 209.60%, respectively, radiated by 100 kJ m⁻² UV-B. Compared to control, the reducing capacity and DPPH· scavenging ability of *B. paniculatum* significantly enhanced ($P < 0.01$). Therefore, UV-B radiation could increase active ingredient contents and antioxidant activities of *B. paniculatum*, and its quality could be improved if radiated with UV-B before processed.

Key words: *Bolbostemma paniculatum*; UV-B radiation; Active ingredient; Antioxidant activity

药材土贝母为葫芦科(Cucurbitaceae)植物土贝母(*Bolbostemma paniculatum*)的干燥块茎^[1], 含有糖类、皂苷和蒽醌等成分^[2], 具有显著的抗病毒、抗肿瘤等活性^[3]。土贝母鲜品在煮晒加工之前, 其生理作用依然活跃, 块茎中的氧化酶、水解酶等并未丧失活性, 会影响其有效成分的含量, 而有效成份

的代谢过程均会受UV-B辐射的影响^[4-6]。研究表明, 合适剂量的UV-B辐射不仅能改善水果、蔬菜的色泽和品质^[7-8], 而且能显著提高采后新鲜药用部位中有效物质的含量, 增强其抗氧化能力^[9-10]。因此, 本文采用UV-B辐射土贝母鲜块茎, 研究块茎中还原糖、土贝母苷甲、大黄素等有效成分和抗氧化活性

收稿日期: 2015-01-22 接受日期: 2015-05-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(J1210063); 陕西省大学生创新创业训练计划项目(201410697116); 西北大学教改研究成果培育与推广计划(JX13017)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. J1210063), the Project for College students Innovative Entrepreneurial Training in Shaanxi Province (Grant No. 201410697116), and the Plan Project for Educational Reform Achievements Cultivation and Promotion in Northwestern University (Grant No. JX13017).

作者简介: 刘园, 本科生。E-mail: liuyuan_0101@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: fff885@126.com

的变化,探讨药材产地加工新方法,为提高药材质量提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料和仪器

土贝母的鲜块茎采集自陕西省合阳县,经西北大学生命科学学院房敏峰教授鉴定为葫芦科植物土贝母(*Bolbostemma paniculatum*)的新鲜块茎。土贝母昔甲、大黄素和葡萄糖对照品均购自中国药品生物制品检定所,批号分别为:111536-200304、110756-200110和110833-201205;其他试剂均为分析纯;水为纯化水。

高效液相色谱仪(岛津LC-20AT);紫外-可见分光光度计(岛津UV-2550);TGL-16G高速离心机(上海安亭科学仪器公司);双通道UV-B紫外辐射计(北京师范大学光电仪器厂生产);40 W中波紫外灯(购于北京电光源研究所);醋酸纤维素膜(美国Grafix公司);可调式灯架。

1.2 UV-B 处理

将土贝母新鲜块茎洗净、分瓣、晾干,等分为5组,分别照射0(对照)、20、40、80和100 kJ m⁻² UV-B。根据辐射剂量的计算^[11],分别连续照射72、142、282及353 min,辐照时用厚度为0.13 mm醋酸纤维素膜滤去UV-B灯中的少量UV-C。处理后样品均置于室温(25±1)°C、相对湿度(65±5)%下黑暗保存20 d,分别于辐射后贮藏0、5、10、15、20 d取样,煮至无白心,80°C干燥,备用。

1.3 方法

还原糖含量测定 参照李雪梅等^[12]的方法测定土贝母样品溶液在520 nm处的吸光度。

土贝母昔甲含量测定 参照金晓东等^[13]的方法。制备2 mg mL⁻¹土贝母昔甲的甲醇对照品溶液。取药材粉末(过3号筛)约1 g,75%乙醇水浴回流提取2次,每次60 min,合并提取液为样品溶液。色谱条件:流动相:乙腈-0.1%磷酸水(30:70),波长:210 nm,流速:0.8 mL min⁻¹,进样量:10 μL。

大黄素含量测定 参照蔡进章等^[14]的方法进行测定。制备0.1 mg mL⁻¹大黄素的甲醇对照品溶液。精确称取药材粉末(过3号筛)1 g,95%乙醇超声提取2次,每次30 min,合并提取液为样品溶液。色谱条件:流动相:甲醇-0.1%磷酸水(75:25),

波长:254 nm,流速:1 mL min⁻¹,进样量:10 μL。

清除DPPH·自由基能力 参照余海忠等^[15]的方法测定。取1.0 mL待测溶液(0.1 mmol L⁻¹)与3.0 mL DPPH·乙醇溶液(0.4 mg mL⁻¹)依次加入具塞试管中,混合均匀,室温静置20 min,在517 nm波长处测定吸光值,以V_C为阳性对照。DPPH·清除率(%)=[1-(A_s-A_b)/A₀]/100,其中A_s为样品吸光值,A_b为样品本底吸光值,A₀为阴性对照值。

还原能力的测定 采用陈欣等^[16]的方法。取1 mL待测液,分别加入2.5 mL磷酸盐缓冲液(0.2 mol L⁻¹,pH 6.6)及2.5 mL 1% (W/V)的铁氰化钾溶液,混合均匀。混合物在50°C水浴20 min,然后加入2.5 mL 10% (W/V)的TCA终止反应,503.55×g离心10 min,取上清液2.0 mL,依次加入2.0 mL蒸馏水和0.5 mL 0.1% (W/V)的FeCl₃溶液,混匀后于700 nm处测定吸光值。以V_C为阳性对照。

2 结果和分析

2.1 有效成分的含量

还原糖含量 土贝母的新鲜块茎中含有麦芽糖,具有抗氧化、抗衰老、抗病毒、降血脂等多种生物活性^[17]。以吸光度为纵坐标,葡萄糖质量为横坐标,绘制标准曲线,根据线性回归方程 $y=0.2076x-0.0002$ ($r=0.9995$)计算还原糖含量。从图1:A可见,100和80 kJ m⁻² UV-B辐射后10 d,块茎中的还原糖含量显著高于对照($P<0.01$),而40和20 kJ m⁻² UV-B辐射处理的与对照的差异不显著($P>0.05$)。100 kJ m⁻² UV-B辐射后5 d,土贝母的还原糖含量比对照高60.17%。

土贝母昔甲含量 土贝母昔甲是一种三萜皂苷,体外可抑制多种癌细胞的生长,诱导肿瘤细胞凋亡^[18]。以对照品进样量(μg)为横坐标,峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,根据回归方程 $y=32555x+3106.8$ ($r=0.9994$)计算土贝母昔甲含量,经检验土贝母昔甲含量在2.0~40 μg范围内线性关系良好,该方法精密度的相对标准偏差(RSD)为0.67%、重复性的RSD为1.23%,8 h内稳定性的RSD为1.64%,加样回收率为98.01%,RSD为2.45%。从图1:B可见,经UV-B辐射后的土贝母昔甲含量比对照增加了15.02%~40.04% ($P<0.01$)。随着贮藏时间延长,高剂量UV-B辐射(100 kJ m⁻²)的土贝母昔甲含量显著下降($P<0.01$),而其他处理的无明显差异($P>0.05$)。这说明要提高土贝母昔甲含量,应以低剂量

辐射和快速煮晒才能达到杀酶保苷的目的。

大黄素含量 大黄素为蒽醌类衍生物, 具有抑菌抗炎、抗肿瘤等多种药理活性^[19]。以对照品进样量(μg)为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 根据回归方程 $y=433128x-5340$ ($r=0.9996$)计算大黄素含量。经检验进样量在 $0.1\sim 2.0\ \mu\text{g}$ 范围内线性关

系良好。该方法精密度的RSD为0.46%、重复性的RSD为1.74%, 8 h内稳定性的RSD为1.08%, 加样回收率为98.46%, RSD为2.13%。从图1: C可见, 高剂量UV-B辐射($100\ \text{kJ m}^{-2}$)土贝母中的大黄素含量显著高于对照($P<0.01$), 贮藏5 d的大黄素含量高出对照209.60%, 说明大黄素对高剂量UV-B辐射有强烈响应。

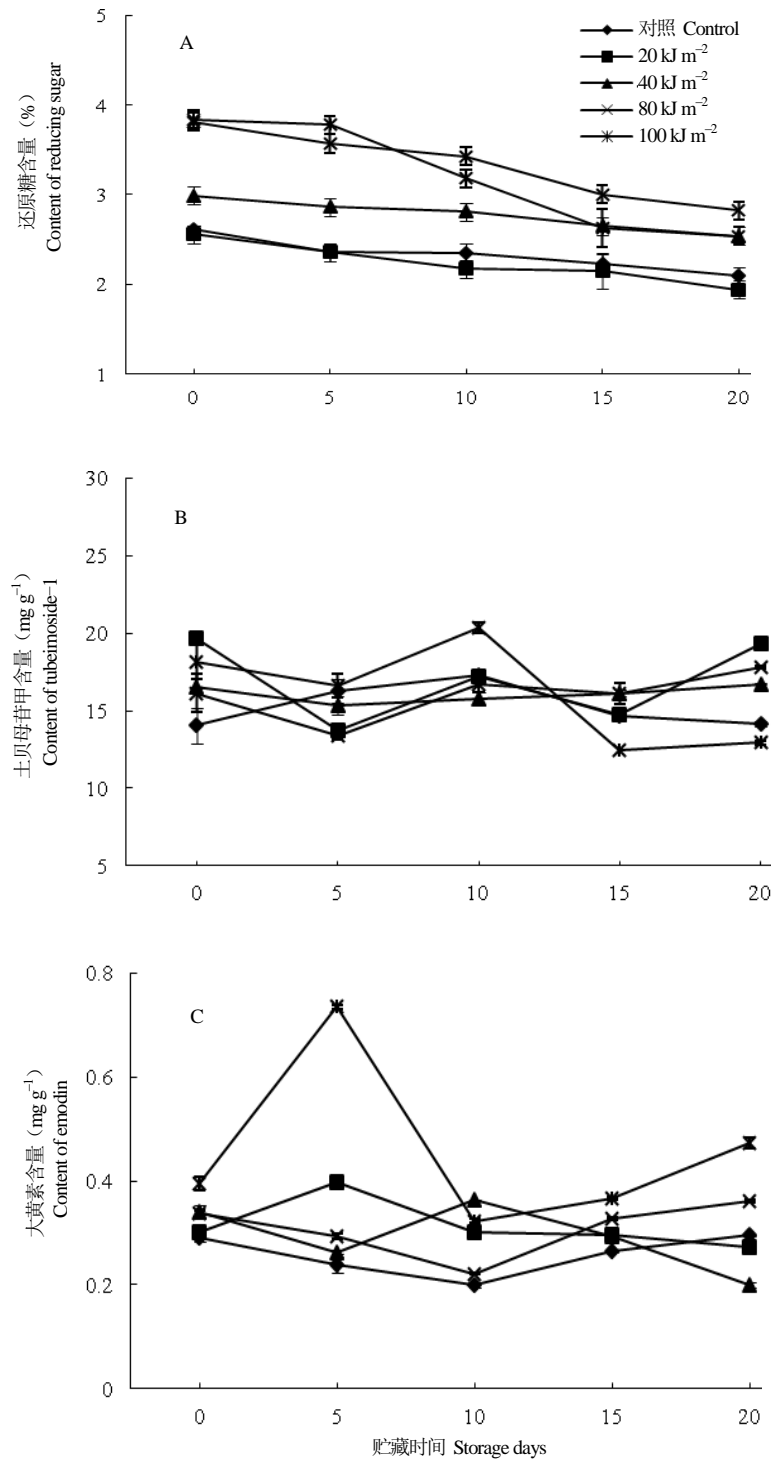
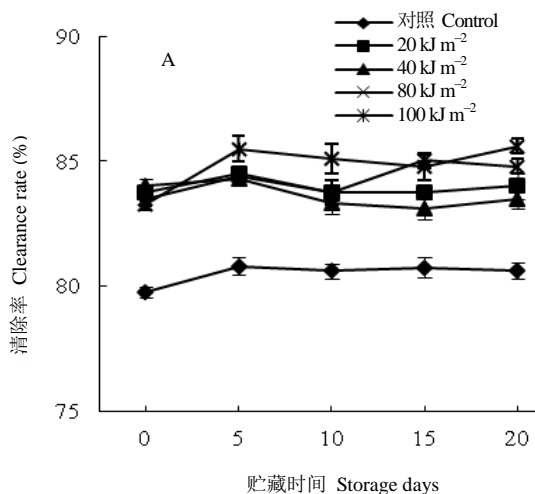


图1 UV-B辐射对土贝母中有效成分含量的影响。A: 还原糖; B: 土贝母苷甲; C: 大黄素。

Fig. 1 Effect of UV-B radiation on contents of active ingredients in *Bolbostemma paniculatum*. A: Reducing sugar; B: Tubeimoside-1; C: Emodin.

2.2 抗氧化活性

DPPH·自由基清除能力 从图2: A可见, UV-B辐射处理的DPPH·自由基清除率差异不显著($P>0.05$), 但均显著高于对照($P<0.01$)。100 kJ m^{-2} UV-B辐射后5 d, 土贝母的DPPH·自由基清除能力比对照提升5.84%。



还原能力 还原能力是评估抗氧化剂活性的重要的指标。从图2: B可见, UV-B辐射处理的土贝母还原能力差异不明显($P>0.05$), 但均显著高于对照组($P<0.01$)。经UV-B辐射后土贝母的还原能力比对照提升了36.88%~62.40% ($P<0.01$)。

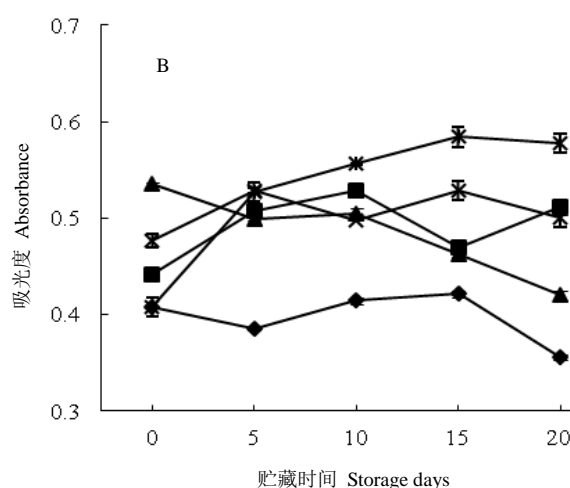


图2 UV-B 辐射对土贝母抗氧化活性的影响。A: 清除 DPPH·自由基能力; B: 还原能力。

Fig. 2 Effect of UV-B on antioxidant activities in *Bolbostemma paniculatum*. A: DPPH·-scavenging ability; B: Reducing capacity.

3 结论和讨论

植物多糖是一类具有广泛生物活性的大分子物质^[20], 其中可溶性多糖具有重要的药理作用, 还原糖是一种重要的可溶性糖。有研究表明, UV-B辐射能影响植物中的多糖代谢。玉米(*Zea mays*)叶中糖代谢受UV-B辐射的影响显著, 随着UV-B辐射增强, 除葡萄糖含量降低外, 麦芽糖等还原糖类的含量都显著增加^[21]。在黑暗环境下, 催化碳固定反应的关键酶——1,5-二磷酸核酮糖羧化酶活性受到抑制, 导致糖类合成降低^[22]。同时, 随着UV-B辐射增强, 植物中的乙酰辅酶A (Acetyl-CoA)含量增加^[23], 可能会引起三萜类和醌类成分含量增加。本研究结果表明, 随辐射剂量增强, 土贝母块茎中还原糖含量升高, 但储存时间太长则又逐渐降低($P<0.01$); 土贝母苷甲及大黄素含量均有不同程度的增加, 这与前人的研究结果基本一致。

植物受到UV-B辐射后通过提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)及过氧化物酶(POD)等抗氧化系统关键酶活性, 减轻活性氧自由基的损伤^[24]。本研究结果表明, 经UV-B辐射后土贝母的抗氧化活性提高。中药材的抗氧化活性可清除人体

内的自由基, 用于治疗由自由基氧化损伤引起的糖尿病、癌症、动脉粥样硬化、关节炎、神经退行性疾病及机体老化等多种慢性疾病^[25]。因此, 通过UV-B辐射提高中药材的抗氧化能力, 一定程度上可提高其质量和疗效。

紫外辐射和水杨酸浸渍均可以激活离体新鲜桑枝(*Morus alba*)皮层细胞, 促进桑皮苷A合成^[26]。通过UV-B辐射, 阔叶十大功劳叶(*Mahonia bealei*)中3种生物碱(小檗碱、药根碱、巴马汀)的含量^[27]及新鲜银杏(*Ginkgo biloba*)叶中的黄酮含量均发生明显变化^[10]。近年的研究表明, 通过UV-B辐射处理新鲜药材已成为改变其次生代谢产物和提高主要药用成分含量的重要方法之一。因此, 在不改变药用植物原产地及种植方式等情况下, 在传统的蒸、煮、晒等加工之前增加UV-B辐射可有效改善药材质量, 具有较高的实践价值和理论研究意义。

参考文献

- [1] Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China, Vol. 1 [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010: 16.

国家药典委员会. 中华人民共和国药典, 一部 [M]. 北京:

- 中国医药科技出版社, 2010: 16.
- [2] ZHU H O, ZHU X W, HOU W B, et al. New research progress of *Bolbostemma paniculatum* [J]. *Shizhen J Trad Chin Med Res*, 2008, 19(12): 2985–2987.
- 朱海鸥, 朱晓薇, 侯文彬, 等. 中药土贝母的现代研究进展 [J]. *时珍国医国药*, 2008, 19(12): 2985–2987.
- [3] CHENG G, ZHANG Y, ZHANG X, et al. Tubeimoside V (1), a new cyclic bisdesmoside from tubers of *Bolbostemma paniculatum*, functions by inducing apoptosis in human glioblastoma U87MG cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2006, 16(17): 4575–4580.
- [4] WANG H X, TANG T W, LI J Y. Effects of enhanced UV-B radiation on leaf anthraquinones content and cell ultrastructure of *Aloe vera* L. [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2010, 21(1): 260–264.
- [5] MÜLLER V, ALBERT A, WINKLER J B, et al. Ecologically relevant UV-B dose combined with high PAR intensity distinctly affect plant growth and accumulation of secondary metabolites in leaves of *Centella asiatica* L. Urban [J]. *J Photochem Photobiol B: Biol*, 2013, 127: 161–169. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2013.08.014.
- [6] YU N N, LI D M, TAN Q P, et al. Effect of UV-B radiation on assimilate translocation and distribution in fruiting shoot of protected peach [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2013, 19(1): 157–163. doi: 10.3724/SP.J.1145.2013.00157.
- [7] SEIDEL F H, GRETHE I A B, GUNNAR B B, et al. Phenolic contents and other health and sensory related properties of apple fruit (*Malus domestica* Borkh., cv. Aroma): Effect of postharvest UV-B irradiation [J]. *Postharv Biol Techn*, 2007, 45(1): 1–10. doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.02.002.
- [8] LIU C H, HAN X X, CAI L Y, et al. Postharvest UV-B irradiation maintains qualities and enhances antioxidant capacity in tomato fruit during storage [J]. *Postharv Biol Techn*, 2011, 59(3): 232–237. doi: 10.1016/j.postharvbio.2010.09.003
- [9] SUN M Y, GU X D, FU H W, et al. Change of secondary metabolites in leaves of *Ginkgo biloba* L. in response to UV-B induction [J]. *Innov Food Sci Emerg Techn*, 2010, 11(4): 672–676. doi: 10.1016/j.ifset.2010.08.006.
- [10] WEI N, XIN P, MA L Y, et al. Enhanced secondary metabolites production and antioxidant activity in postharvest *Lonicera japonica* Thunb. in response to UV radiation [J]. *Innov Food Sci Emerg Techn*, 2012, 13: 231–243. doi: 10.1016/j.ifset.2011.10.005.
- [11] GAO J F. *Experiment Guide of Plant Physiology* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 144–148.
- 高俊凤. *植物生理学实验指导* [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 144–148.
- [12] LI X M, YANG J H, ZHANG L Q, et al. Comparisons of determination approaches of reducing sugar [J]. *Shandong Sci*, 2008, 21(2): 18–20.
- 李雪梅, 杨俊慧, 张利群, 等. 还原糖测定方法的比较 [J]. *山东科学*, 2008, 21(2): 18–20.
- [13] JIN X D, ZHANG J, LI Y, et al. Preparation of tubeimosides I, II, and III reference substances from *Bolbostemma paniculatum* by preparative HPLC [J]. *Drug Clin*, 2014, 29(12): 1361–1364.
- 金晓东, 张杰, 李佑, 等. 高效液相制备色谱制备土贝母中土贝母苷甲、乙、丙对照品的研究 [J]. *现代药物与临床*, 2014, 29(12): 1361–1364.
- [14] CAI J Z, LIN C L, WANG X Q, et al. Determination and comparison of emodin in six kinds of polygonaceae herbs [J]. *Chin Arch Trad Chin Med*, 2012, 30(6): 1372–1374.
- 蔡进章, 林崇良, 王贤亲, 等. 6 种蓼科植物药材大黄素含量比较 [J]. *中华中医药学刊*, 2012, 30(6): 1372–1374.
- [15] YU H Z, LIU T, LIN D J, et al. *In vitro* antioxidant activity evaluating of extracts of *Houttuynia cordata* from northwestern Hubei based on four chemical methods [J]. *Chin Wild Plant Res*, 2012, 31(1): 22–25.
- 余海忠, 刘统, 林丹洁, 等. 鄂西北产鱼腥草提取物体外抗氧化性的四种化学方法评价 [J]. *中国野生植物资源*, 2012, 31(1): 22–25.
- [16] CHEN X, GONG L, LIU G H. Extraction and ferric reducing antioxidant power of polysaccharides from pour edible fungi [J]. *Food Sci*, 2010, 31(14): 140–144.
- 陈欣, 龚兰, 刘冠卉. 食用真菌多糖提取条件的优化及其还原力的比较 [J]. *食品科学*, 2010, 31(14): 140–144.
- [17] SHEN L H, WANG J S, LI Y, et al. Research and application of plant polysaccharide [J]. *Chin Agri Sci Bull*, 2011, 27(2): 349–352.
- 申利红, 王建森, 李雅, 等. 植物多糖的研究及应用进展 [J]. *中国农学通报*, 2011, 27(2): 349–352.
- [18] JIA G, XIA X W, PENG Y, et al. Tubeimoside-1 induces apoptosis in human glioma U251 cell line by up-regulating FADD/caspase-8/caspase-3 pathway [J]. *J Clin Neurosurgery*, 2014, 11(6): 426–429.
- 贾耿, 夏锡伟, 彭亚, 等. 土贝母苷甲通过上调FADD/caspase-8/caspase-3的表达促进人胶质瘤U251细胞凋亡 [J]. *临床神经外科杂志*, 2014, 11(6): 426–429.
- [19] HSU S C, CHUNG J G. Anticancer potential of emodin [J]. *Bio-Medicine*, 2012, 2(3): 108–116. doi: 10.1016/j.biomed.2012.03.003.
- [20] TIAN L M, ZHAO Y, GUO C, et al. A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata* [J]. *Carbohydr Polym*, 2011, 83(2): 537–544. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.08.023.
- [21] BARSIG M, MALZ R. Fine structure, carbohydrates and photo-synthetic pigments of sugar maize leaves under UV-B radiation [J].

- Environ Exp Bot, 2000, 43(2): 121–130. doi: 10.1016/S0098-8472(99)00049-0.
- [22] LI Y, ZHANG C P, ZU Y Q. Effects of enhanced UV-B radiation on plant sugar metabolism [J]. Chin J Ecol, 2006, 25(10): 1265–1268.
李元, 张翠萍, 祖艳群. 紫外辐射增强对植物糖代谢的影响 [J]. 生态学杂志, 2006, 25(10): 1265–1268.
- [23] JIAO X L, GAO W W. Advances in studies on influence of environmental factors on triterpenoid saponin synthesis in medicinal plants [J]. Chin Trad Herb Drug, 2011, 42(2): 298–402.
焦晓林, 高微微. 环境因子对药用植物三萜皂苷合成影响的研究进展 [J]. 中草药, 2011, 42(2): 298–402.
- [24] NING W, PENG X, MA L Y, et al. Enhanced secondary metabolites production and antioxidant activity in postharvest *Lonicera japonica* Thunb. in response to UV radiation [J]. Innov Food Sci Emerg Technol, 2012, 13(1): 231–243. doi: 10.1016/j.ifset.2011.10.005.
- [25] INBATHAMITH L, PONNU T M, MARY E J. *In vitro* evaluation of antioxidant and anticancer potential of *Morinda pubescens* synthesized silver nanoparticles [J]. J Pharm Res, 2013, 6(1): 32–28. doi: 10.1016/j.jopr.2012.11.010
- [26] ZHAO L J. Effects of UV irradiation and salicylic acid immersion on mulberroside A level in the isolated mulberry branch bark [D]. Suzhou: Soochow University, 2014: 1–72.
赵丽君. 紫外辐射和水杨酸浸渍对离体桑树枝条韧皮部中桑皮苷 A 水平的影响 [D]. 苏州: 苏州大学, 2014: 1–72.
- [27] NING W, ZHANG Y Z, LU X P, et al. Study on influence of UV-B induction on accumulation of secondary metabolites in postharvest leaves of *Mahonia bealei* (Fort.) Carr. [J]. Chin Pharm J, 2012, 47(1): 19–22.
宁伟, 章燕珍, 卢晓萍, 等. UV-B 诱导对离体阔叶十大功劳叶次生代谢产物累积影响的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(1): 19–22.