

植物体内 MDA 不同提取液与显色液反应条件的比较

刘少霞, 陈贵, 秦萍, 曹冬煦, 马冬伍

(1. 沈阳农业大学生物科学技术学院, 辽宁沈阳 110161; 2. 辽宁省沈阳市沈北新区疾病预防控制中心, 辽宁沈阳 110121)

摘要 用 50 mmol/L 磷酸缓冲液 pH 值 7.8、去离子水、5% 三氯乙酸 3 种提取液分别提取小苍兰叶片中的 MDA, 分别与 5% 三氯乙酸 + 0.5% TBA、1 mol/L HCl + 0.5% TBA、30% 乙酸 + 0.5% TBA 3 种显色液进行交差显色试验。结果表明: 用去离子水提取植物体内的 MDA 效果较好, 用 30% 乙酸 + 0.5% TBA 与 MDA 显色, 反应产物在特定波长(532 nm) 处有明显吸收峰值。

关键词 MDA; 提取液; 显色液; 植物

中图分类号 Q946 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)10-02829-01

Comparisons on Reaction Conditions of Different Extraction Solvents for Plant Endogenous MDA and Chromogenic Reagent

LIU Shao-xia et al (College of Biological Science and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract Three extraction solvents of 50 mmol/L phosphate buffer at pH 7.8, deionized water, 5% TCA were used to extract MDA in leaves of *Freesia refracta* respectively. The MDA extracted by three extraction solvents were reacted with three chromogenic reagents of 5% TCA + 0.5% TBA, 1 mol/L HCl + 0.5% TBA, 30% HAC + 0.5% TBA, respectively. The results showed that deionized water had better effect of extracting plant endogenous MDA and its reactions products with chromogenic reagent of 30% TCA + 0.5% TBA had a remarkable absorption peak at the wavelength of 532 nm.

Key words MDA; Extraction solvent; Chromogenic reagent; Plant

当植物器官衰老时, 或在逆境条件下, 往往发生膜脂过氧化作用。实验证明: 丙二醛(MDA) 是膜脂过氧化产物之一, 它可以作为膜脂过氧化指标表示膜脂过氧化程度, 用以反映植物衰老和对逆境反应强弱。MDA 与硫代巴妥酸(TBA) 在酸性条件下加热产生颜色反应, 反应产物在特定波长(532 nm) 下有明显吸收峰, 因此可以进行 MDA 定量测定。检测植物体内 MDA 含量的方法可行性关键在于提取的植物体内 MDA 的纯度以及反应条件的灵敏度和宽松度。笔者就 MDA 的测定条件进行了探索性试验。

1 材料与方

1.1 材料 供试植物材料为趋于衰老的小苍兰叶片; 提取溶剂为 pH 值 = 7.8 的 50 mmol/L 磷酸缓冲液(简称提取液 a)、去离子水(简称提取液 b)、5% 三氯乙酸(简称提取液 c)。显色溶剂为 5% 三氯乙酸(TCA) + 0.5% TBA, 简称显色液 1; 1 mol/L HCl + 0.5% TBA, 简称显色液 2; 30% 乙酸(HAC) + 0.5% TBA, 简称显色液 3。

1.2 方法 取趋于衰老的小苍兰叶片, 用剪刀剪成 0.1 cm 左右长切段, 混匀, 分别称取 1 g 用上述 3 种提取液研磨并定容至 10 ml, 于 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液 2.5 ml 与显色液 1.5 ml 混合后煮沸 10 min, 然后冷却至室温, 再于 4 000 r/min 离心 10 min。取上清液测 500 ~ 600 nm 吸光度, 每次调分光光度计零点的溶剂都与显色溶剂相匹配。

2 结果与分析

2.1 3 种提取液提取效果比较 试验表明, 从 MDA-TBA 的吸收光谱上看(图 1), 不同提取液的提取效果存在差异。其中, 用提取液 b 提取植物体内的 MDA 效果较好, 它与 3 种显色液反应后都表现出明显的特定吸收峰; 其次是提取液 a, 提取液 c 提取效果最差。

2.2 3 种显色液的显色效果比较 用 3 种不同显色液分别与从植物组织中提取的 MDA 反应, 检测特定吸收峰, 结果表明, 用显色液 3 与植物提取液中 MDA 反应, 特定吸收峰明显

清晰, 且峰值较高(图 1); 其次是显色液 1, 显色效果最差者为

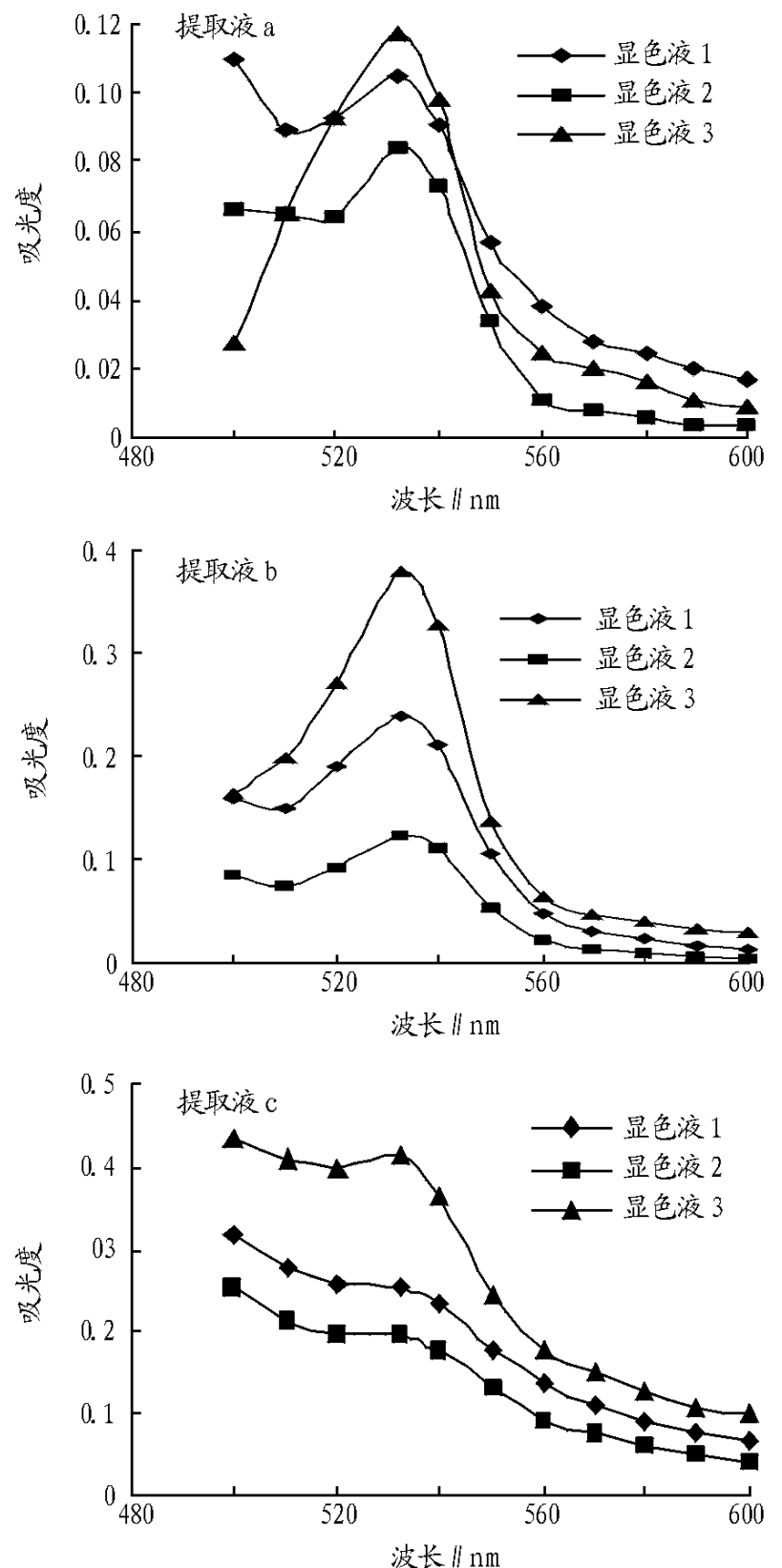


图 1 MDA 与不同显色液反应的吸收光谱

(下转第 2832 页)

作者简介 刘少霞(1965-), 女, 辽宁沈阳人, 实验师, 从事生物技术教学与科研。

收稿日期 2007-01-10

(上接第2829页)

显色液2。

3 讨论

MDA 是细胞内脂质过氧化产物,可溶于水,因此,用水提取植物体内的 MDA,不会严重降解植物体内的其他组分,所得提取物较纯。MDA 与 TBA 在酸性条件下加热产生颜色反应,酸性只是一种反应条件,只要酸度能引起反应即可,不一定需要更强的酸。若使用过强的酸,在满足反应的

同时,也酸解了提取液中的其他易酸解组分,从而影响测定结果。试验结果表明,用去离子水或蒸馏水效果较好,提取植物体内的 MDA;将提取液中的 MDA 与用30%乙酸溶解的 TBA 进行加热反应测定 MDA 含量,效果较好。该方法优于文献[1]中的测定方法。

参考文献

[1] 张宪政.植物生理学实验技术 M.沈阳:辽宁科学技术出版社,1994.