

不同种竹叶的化学成分及其提取物抗菌活性的研究

陆志科^{1,2}, 谢碧霞¹

(1. 中南林学院 资源与环境学院, 湖南 株洲 412006; 2. 广西大学 林学院, 广西 南宁 530005)

摘要: 对不同种竹叶样品, 分别用硝酸铝-亚硝酸钠比色法和福林试剂还原比色法测定总黄酮和总酚含量, 用蒽酮-硫酸法测定总糖及水溶性糖成分的含量, 用凯氏定氮法测定含氮量和蛋白质含量。结果表明, 不同竹叶中总黄酮含量 1.18%~2.02%, 总酚含量 2.21%~2.86%, 总糖含量 14.35%~24.61%, 水溶性糖含量 7.86%~11.45%, 多糖 6.49%~14.55%, 蛋白质含量 10.24%~16.68%, 含氮量 2.13%~2.65%。采用滤纸片法进行抗菌试验, 结果表明, 不同竹种及不同生长期的竹叶抗菌活性不同, 麻竹叶的抗菌活性强于其他竹叶, 7 月和 11 月中旬采摘的竹叶的乙醇提取液的抗菌活性较高。

关键词: 不同种竹叶; 提取物; 化学成分; 抗菌活性

中图分类号: S795.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-7461(2005)01-0049-04

A Study of Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Different Extracts in Different Kinds of Bamboo Leaves

LU Zhi-ke^{1,2}, XIE Bi-xia¹

万方数据 (1. College of Resources and Environment, Central South Forestry University, Zhuzhou, Hunan 412006, China;

2. Forestry College of Guangxi University, Nanning, Guangxi 530005, China)

Abstract: With different kinds of bamboo leaves, content of flavonoids and total phenolic compounds measured by aluminium nitrate-sodium nitrite colorimetry and forint reagent deoxidization colorimetry were 1.18%~2.02% and 2.21%~2.86% respectively. Contents of total sugar, water-soluble sugar and polysaccharides measured by anthranone-sulphuric acid method, were 14.35%~24.61%, 7.86%~11.45% and 6.49%~14.55% respectively. The nitrogen content and protein content measured by Kjeldahl method were 2.13%~2.65% and 10.24%~16.68% respectively. Antimicrobial test results by filter paper method showed that the antimicrobial activities of the extracts from different bamboo leaves and the same organ grewed in different periods were different. The antimicrobial activity of *Sinocalamus latiflorus* leaves was better than that of others. Bamboo leaves gathered in the second part of July and November had better antimicrobial activity than others.

Key words: different bamboo leaves; extracts; chemical composition; antimicrobial activity

我国江南竹资源丰富, 竹子、竹笋被充分利用, 而竹叶多被废弃。竹叶在我国有悠久的利用历史, 是一味传统的清热解毒药。近年来对竹子的研究发现, 竹叶中含有大量对人体有益的活性物质, 包括黄酮酚酸类、生物活性多糖、氨基酸肽类、萜烯类、萜类内酯等^[1~3], 其中酚酸类化合物、萜烯类化合物、萜类内酯和生物碱等都有着较强的抑菌杀菌作用^[4~6]。世界竹类植物约有 70~80 属 1 300 多种,

其中我国约有 39 属 500 余种^[7]。全世界已记载的约有 60 属 1 200 多种, 广泛分布于东南亚、印度、中国南部、南美和日本等地。我国是竹子中心产区之一, 主要分布在广东、广西、福建、浙江、湖南、江西、四川、江苏、贵州和云南等省(区)。笔者研究了不同种竹叶的化学成分及其提取物的抑菌作用, 同时对竹叶所含的氮、蛋白质、总糖、水溶性糖、总黄酮、总酚进行了定量分析。为竹叶的开发利用, 寻求了

收稿日期: 2004-05-11

基金项目: 广西大学潭锦球青年基金(03)

作者简介: 陆志科(1964-), 男, 广西邕宁人, 副教授, 中南林学院在读博士研究生, 主要从事经济林加工利用的教学与科研工作。

新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 竹叶 采自广西南宁市竹子公园、广西林学院周围,品种有毛金竹(*Phyllostachys nigra*. var. *henonis*)、毛竹(*P. pubescens*)、茶杆竹(*Pseudosasa amabilis*)、箬叶竹(*Indocalamus longiauritus*)、四季竹(*Semiarundinaria lubrica*)、苦竹(*Pleiblastus amarus*)、早竹(*Phyllostachys praecox*)、麻竹(*Sinocalamus latiflorus*)、高节竹(*Phyllostachys prominens*)。

1.1.2 菌种及试剂 大肠杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、苏云金芽孢杆菌(*B. thuringiensis*)、啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、曲霉(*Aspergillus niger*)、无水乙醇、硝酸铝、亚硝酸钠、芦丁、对羟基苯甲酸、蒽酮、蔗糖、柠檬酸钠、磷酸氢二钠、石油醚。

测定的仪器有真空泵、HPX-9082ME 数显电热培养箱、PHS-3G 型精密 pH 计、DKZ-2 电热恒温振荡水槽、RE-52A 型旋转蒸发仪、电子天平等。

1.2 培养基的制备

霉菌用培养基 高盐察氏培养基^[8]。

细菌用培养基(LB) 牛肉膏蛋白胨培养基^[9]。

酵母菌用培养基 麦氏琼脂^[8]。

牛肉膏、土豆、蛋白胨、酵母浸膏、等均为生化试剂。蔗糖、琼脂均为食品级。

1.3 抗菌试验方法

抗菌试验采用滤纸片法^[10]。

预先把各种供试菌种用牛肉膏蛋白胨、麦氏、高盐察氏斜面培养基,分别进行菌种活化。然后分别挑取菌苔,用无菌水分别制成含菌数约 10^6 F μ · mL⁻¹ 的菌悬液,备用。

选择吸水性强的滤纸,用打孔器打成若干直径为 6 mm 的圆形滤纸片,经干热灭菌后,浸在竹叶提取物水溶液中,备用。

将固体培养基溶化倒入平皿,待冷却凝固后,分别加入 0.1 mL 供试菌悬液或孢子悬液,然后用无菌涂布器涂布均匀。再用无菌镊子夹取浸有竹叶提取物的滤纸片贴在上述各种含菌平皿上,滤纸片在每个平皿内间隔一定的距离贴 3 片,并用浸有无菌水的滤纸片做对照。然后将各皿放入各种菌适宜的温度培养。大肠杆菌、枯草杆菌、金黄色葡萄球菌芽孢杆菌、苏云金杆菌 36℃ 培养 24 h。曲霉、啤酒酵母

28℃ 培养 72 h,取出后,测量其抑菌圈直径的大小。

1.4 不同种竹叶醇提物的制取

称竹叶样(过 30 目)2 g 左右,加 70% 的乙醇 50 mL,水浴热回流 1 h,过滤后定容,用等体积的石油醚(60 ~ 90℃)脱脂。

1.5 竹叶总黄酮、总酚含量的测定

用硝酸铝-亚硝酸钠比色法测定总黄酮,福林试剂还原比色法测总酚,分别用芦丁和对羟基苯甲酸作标准^[11,12]。

1.6 竹叶中总糖的提取及比色测定

称取竹叶各 0.2 g,置于 60 mL 烧瓶中,加入 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HCl 10 mL,蒸馏水 15 mL,沸水浴中水解 1.5 h,过滤,用蒸馏水冲洗残渣,以酚酞为指示剂,用 20% NaOH 中和至微红色,定容,待测定总糖。

用蒽酮-硫酸法测定总糖及水溶性糖成分的含量^[13]。多糖的含量为总糖含量减去水溶性糖的含量。

1.7 竹叶中蛋白质及其含氮量的测定

用凯氏定氮法测定蛋白质含量^[14]。分别取一定量的样品,消化后用水蒸汽蒸馏,再用标定过的盐酸滴定,计算产量。

1.8 不同竹种竹叶抗菌活性的比较试验

植物中抗菌成分的含量、种类等除受遗传因素、环境条件等的影响外,还与植株部位、采收时间等有直接关系。抗菌成分在植物体内的分布不一定均匀,本试验以 60% 乙醇为溶剂,在液料比 12:1,温度 80℃,浸提时间 1.5 h 条件下,按醇提取物的制取工艺对 7 月中旬采集的不同竹种竹叶分别进行浸提,进行抗菌试验,比较抗菌活性的大小。

1.9 竹叶不同生长期抗菌活性的比较试验

植物中抗菌成分的积累有一定的时间性,在不同生长期的含量是不同的^[15]。本试验以 60% 乙醇为溶剂,在液料比 12:1,温度 80℃,浸提时间 1.5 h 条件下,按醇提取物的制取工艺对在 5 月下旬、7 月中旬和 8 ~ 12 月下旬采集的竹叶分别进行浸提,以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌为试验菌,分别进行抗菌试验,比较其抗菌活性的大小。

2 结果与分析

2.1 竹叶总黄酮、总酚含量

对不同竹种的竹叶总黄酮、总酚含量的研究表明(表 1),不同竹种的竹叶总黄酮、总酚含量有明显的差别,且变化较大。不同竹叶中总黄酮含量在 1.18% ~ 2.02% 之间;总酚含量在 2.21% ~

2.86%。总黄酮含量最高为麻竹叶(2.02%),最低为四季竹(1.18%);总酚含量最高为苦竹叶(2.86%),最低为茶杆竹叶(2.21%)。测定结果与文献[16]有差别,说明不同地方生长的竹叶其成分含量不同。

表 1 竹叶总黄酮、总酚的含量

Table 1 Content of flavonoids and phenols in different bamboo leaves %

竹种	总黄酮含量	总酚
毛金竹	1.98	2.45
毛竹	1.70	2.68
茶杆竹	1.20	2.21
箬叶竹	1.41	2.62
四季竹	1.18	2.37
苦竹	1.35	2.86
早竹	1.46	2.52
高节竹	1.55	2.73
麻竹	2.02	2.77

2.2 竹叶中糖含量

由表 2 可以看出,不同竹叶中总糖含量在 14.35%~24.61%之间,水溶性糖含量在 7.86%~11.45%之间,多糖 6.49%~14.55%之间。总糖含量最高为毛竹叶(24.61%);水溶性糖含量最高为毛金竹叶(11.45%);多糖含量最高为麻竹叶(14.55%)。竹叶中的多糖具有抗肿瘤作用^[17],可做作为一种很好的保健饮料加以开发利用。

表 2 竹叶中糖类成分的含量

Table 2 Saccarides contents in different bamboo leaves %

竹种	总糖	水溶性糖	多糖
毛金竹	22.14	11.45	10.69
毛竹	24.61	10.23	14.38
茶杆竹	21.20	10.21	10.99
箬叶竹	17.41	8.62	8.79
四季竹	18.18	9.37	8.81
苦竹	14.35	7.86	6.49
早竹	15.46	8.52	6.94
高节竹	19.55	9.73	9.82
麻竹	24.32	9.77	14.55

2.3 蛋白质、氮的含量

竹叶中的蛋白质、氮的含量测定结果表明(表 3),竹叶中蛋白质含量为 10.24%~16.68%(以绝干计算,下同),含氮量 2.13%~2.65%,毛竹叶中蛋白质和氮的含量均为最高,分别为 16.68%和 2.65%,因此,毛竹叶是一种很有发展前途的蛋白质资源。

2.4 不同竹种竹叶提取物抗菌活性

研究表明,不同竹种竹叶提取物对所试微生物

均有明显的抑制效果,且对细菌的抑制效果明显优于酵母、霉菌(表 4)。竹叶提取液对 4 种细菌的抑菌圈直径为 8.06~12.82 mm,对酵母菌的抑菌圈直径为 6.84~8.85 mm,对霉菌的抑制力相差不大,抑菌圈直径为 6.82~7.84 mm。竹叶提取液对细菌、霉菌和酵母菌的抑制力顺序为:细菌>酵母菌>霉菌。由表 4 可知,麻竹叶提取液的抗菌活性强于其他竹叶,茶杆竹叶提取液抗菌活性最弱。因此,实际应用中竹叶可以作为提取抗菌物质的原料。

表 3 竹叶中蛋白质成分含量

Table 3 Protein contents in different bamboo leaves %

竹种	蛋白质	氮
毛金竹	15.24	2.54
毛竹	16.68	2.65
茶杆竹	11.23	2.31
箬叶竹	14.32	2.44
四季竹	10.86	2.13
苦竹	10.24	2.27
早竹	12.46	2.32
高节竹	14.29	2.38
麻竹	15.08	2.48

表 4 不同竹种竹叶的抑菌效果

Table 4 Inhibition of different bamboo leaves to experimented microbes

竹种	菌 种(抑菌圈直径/mm)					
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	酵母	苏云金杆菌	曲霉
毛金竹	12.52	10.84	11.03	8.64	12.34	7.42
毛竹	11.02	10.83	10.44	8.54	11.75	6.82
茶杆竹	8.54	8.42	8.06	7.42	8.96	6.87
箬叶竹	12.24	11.73	11.42	8.50	12.62	7.84
四季竹	11.64	10.84	11.05	8.27	11.24	7.26
苦竹	12.45	11.42	10.82	8.23	11.62	7.24
早竹	10.94	10.25	9.66	7.24	11.24	7.05
麻竹	12.82	11.54	11.04	8.85	12.80	7.44
高节竹	9.48	8.84	8.46	6.84	9.05	7.08

2.5 不同生长期的竹叶提取物抗菌活性

麻竹叶生长期不同,竹叶提取液抗大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌 3 种细菌的能力不同(图 1)。由图 1 可以看出,从 5 月下旬到 7 月中旬,提取液对 3 种细菌的抑制力均呈现出增强趋势,对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径分别从 5 月下旬的 5.62、5.24、6.02 mm 增加到 7 月中旬的 8.74、8.42、8.64 mm。这是由于随着营养生长期的延长,植物中具有抑菌作用的物质的量和组分增多^[1],到了 8 月下旬,提取液对 3 种细菌的抑制力均低于 7 月中旬,抑菌圈直径分别减少到 8.05、7.74、7.46 mm,9 月继续下降,10 月开始回升,11 月与 7 月相当。这说明其中的抑菌物质已转移。因此,在实际生产中,应该在叶生长旺盛或没有

开始凋谢时采收。

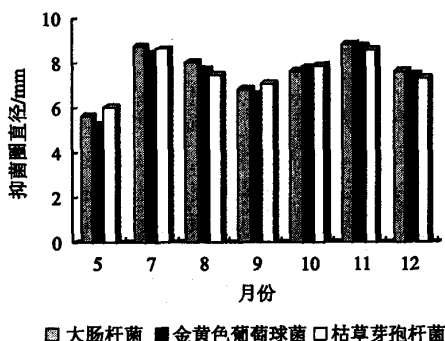


图1 麻竹叶不同生长期的抗菌活性

Fig.1 Antimicrobial activities of *Sinocalamus latiflorus* leaves extracts in different growing periods

3 结论

研究表明,不同种竹叶总黄酮含量为1.18%~2.02%;总酚含量2.21%~2.86%;总黄酮含量最高为麻竹叶(2.02%),最低为四季竹(1.18%),总酚含量最高为苦竹叶(2.86%),最低为茶杆竹叶(2.21%)。

不同种竹叶总糖含量为14.35%~24.61%,水溶性糖含量为7.86%~11.45%,多糖含量6.49%~14.55%。总糖含量最高为毛竹叶(24.61%);水溶性糖含量最高为毛金竹叶(11.45%);多糖含量最高为麻竹叶(14.55%)。

不同种竹叶样品蛋白质含量在10.24%~16.68%之间,含氮量在2.13%~2.65%之间。蛋白质和氮含量最高均为毛竹叶,分别为16.68%和2.65%。

不同竹种及不同生长期的竹叶抗菌活性不同。麻竹叶的抗菌活性强于其他竹叶,7月和11月中旬

采摘的竹叶的乙醇提取液抗菌活性较高。

参考文献:

- [1] 李洪玉,孙静芸. 竹叶化学成分研究[J]. 中药材,2003,26(8): 562-563.
- [2] 罗金岳,陈小燕. 从箬竹叶中提取茶多酚的研究[J]. 林产化工通讯,2003,37(6):15-19.
- [3] 冯涛,曹东旭. 竹叶总黄酮含量的测定[J]. 中国食品添加剂,2002(6):85-87.
- [4] 杨兰,白勇. 竹叶中黄酮类化合物的研究[J]. 食品研究与开发,2002,23(5):23-25.
- [5] 吴传茂,吴周和,曾莹. 从植物中提取天然防腐剂的研究[J]. 食品科学,2000,21(9):24-27.
- [6] 黄文,王益. 竹叶提取物抑菌特性的研究[J]. 林产化学与工业,2002,22(1):68-70.
- [7] 朱石麟,马乃训,傅德毅,等. 中国竹类植物图志[M]. 北京:中国林业出版社,1994.
- [8] 孟昭赫. 食品卫生检验方法注解—微生物学部分[M]. 北京:人民卫生出版社,1990.
- [9] 沈萍,范秀容,李广武. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育出版社,1999.
- [10] 郑钧镛,王光宝. 药品微生物学及检验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,1989.
- [11] 北京医学院. 中草药成分化学[M]. 北京:人民卫生出版社,1980.286,314-315.
- [12] 庄向平. 总黄酮含量的测定[J]. 中草药,1992,23(3):122-124.
- [13] 韩雅珊. 食品化学实验指导[M]. 北京:北京农业大学出版社,1992.19-21
- [14] 无锡轻工业学院,天津轻工业学院. 食品分析[M]. 北京:轻工业出版社,1989.211
- [15] 张立明,王贤舜. 现代生物化学分析原理[M]. 合肥:中国科技大学出版社,1991.
- [16] 毛燕,王学利. 毛竹等九种竹叶中蛋白质和总糖含量的测定[J]. 竹子研究汇刊,1998,17(2):18-20.
- [17] 唐莉莉,徐榕榕,丁霄霖. 竹叶多糖对小鼠移植瘤的抑制作用[J]. 无锡轻工大学学报,1998,17(3):62-65.