

竹叶提取物的工业制备与功效研究进展

尹利端, 王桐, 石丽花, 刘志河

(烟台新时代健康产业有限公司, 山东烟台 264006)

摘要:介绍了竹叶提取物的活性成分,包括黄酮类、活性多糖、特种氨基酸、微量元素、挥发油和其他成分;论述了竹叶提取物的分离、纯化等工业制备技术;重点探讨了竹叶提取物的生物学功能,包括保护心脑血管、抗氧化、抑菌、增强免疫力、阻断亚硝化反应、改善记忆等生物学功能。对竹叶提取物在功能性食品领域的应用前景进行了展望。

关键词:竹叶提取物,生物学功能,功能性食品,研究进展

Research progress in industrial preparation and efficacy of extracts of bamboo leaves

YIN Li-duan, WANG Tong, SHI Li-hua, LIU Zhi-he

(Yantai New Era Health Industry Co., Ltd., Yantai 264006)

Abstract: Some effective components found in extracts of bamboo leaves were reviewed, including flavonoids, active polysaccharides, special amino acid, mineral elements, volatile oils and other components. The industrial technology of extraction and purification of effective components from bamboo leaves were introduced. The biological activities of bamboo leaves extracts were highlighted, including protecting vascular system, antioxidant function, antibacterial properties, enhancing immunity, inhibition of nitrosation and improving memory deficit. Finally, the application potential of extracts of bamboo leaves was prospected in the fields of functional foods.

Key words: extracts of bamboo leaf; biological activity; functional foods; research progress

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)16-0383-04

竹子是禾本科(Grainier)竹亚科(Bambusodeae)多年生常绿植物。据统计,全世界约有竹类植物70余属,1000多种,竹林面积达220万公顷,其中我国竹种有39属500余种,约占世界总量的30%。中国有“竹子王国”之称,主要竹子生长分布在闽浙、两广及云贵川等地区。竹叶在我国具有悠久的药用、食用历史,有关竹叶的药用价值早在《本草纲目》就有记载,《本草求真》、《本草逢原》等古代医学著作均有详尽论述。竹叶性淡、微涩、寒,味甘、苦,具有清热利尿,明目解毒及止血的功能。近年来大量研究表明,竹叶具有调节血脂、抗氧化、增强免疫力、杀菌等生物学功能^[1]。随着植物提取加工技术和检测技术的进步,对竹叶资源的深度开发、利用逐渐引起了医药保健行业的关注,竹叶提取物以其活性成分丰富、生物学功能确切、食用安全性高、原料资源充足等优势,正在成为功能性食品领域的研究热点。

1 竹叶提取物中的活性成分

近年来研究表明,竹叶提取物含有丰富的活性成分,包括黄酮类化合物及其苷类、酚酸类、萜醌类、活性多糖类、特种氨基酸及其衍生物、挥发油、芳香成分和锰、锌、硒、锗、硅等多种微量元素^[2-4]。这些活

性成分是竹叶提取物具备多种生物学功能的物质基础,其中竹叶黄酮是最重要的活性成分。

竹叶提取物是我国新开发的一种植物类黄酮制剂^[5]。竹叶中黄酮类化合物的平均含量在2%左右,张新申等^[6]采用梯度洗脱及柱色谱法对竹叶黄酮进行了分离、提纯研究,发现不同的竹叶其黄酮含量不同。毛竹、苦竹叶粗提取物中总黄酮含量分别为7.85%、13.22%,紫竹叶的全年平均黄酮含量大约为银杏叶的2/3。竹叶提取物中的黄酮类化合物主要以黄酮糖苷的形式存在,糖基通过C-C键与黄酮环相连,并且键能较强。目前国内已有工业化制备的竹叶黄酮原

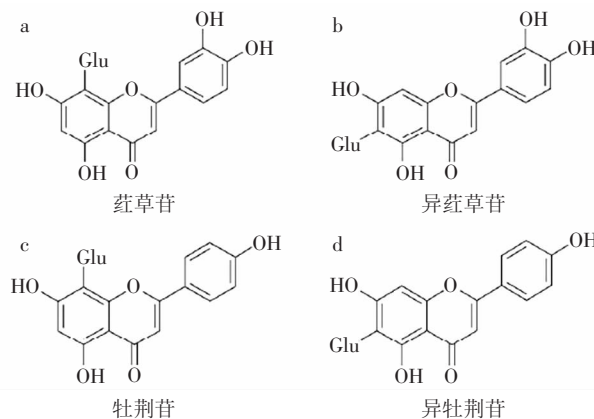


图1 竹叶提取物中的四种黄酮类化合物

Fig.1 Four kinds of flavonoids in extracts of bamboo leaves

收稿日期: 2012-05-07

作者简介: 尹利端, (1979-), 男, 研究生, 工程师, 主要从事功能性食品的研究、开发和产业化应用。

料,其总黄酮含量高达24%以上,在功能性食品领域已经得到产业化应用。竹叶中四种主要的碳苷黄酮分别是荭草苷、异荭草苷、牡荆苷和异牡荆苷^[7-9],其结构如图1所示。

2 竹叶提取物的工业制备

竹叶提取物中的黄酮苷类、酚酸类等活性成分具有酚类化合物的特征,具有较大的极性和亲水性,因此可选择热水、甲醇、乙醇、丙酮、正丁醇等溶剂进行提取。竹叶提取物的传统提取方法多用浸提和蒸馏,目前已采用一些新技术提取和精制竹叶提取物,如超声波提取、微波提取、膜分离、超临界萃取等技术的应用,大幅度提高了提取效率^[10]。

目前工业上常用的竹叶提取物制备技术有水煮提取、微波辅助提取、有机溶剂提取和大孔树脂纯化分离^[11]。水是一种极性溶剂,黄酮类、酚酸类和多糖类化合物能很好地溶于热水中,所以利用水煮竹叶能提取竹叶中大部分活性成分。水煮提取工艺成本低、设备简单,虽然产品过于粗糙、黄酮含量低,但在分离、纯化、精制等后续工艺中不需脱除有机溶剂^[12]。周跃斌等^[13]在考察不同提取工艺和提取条件的基础上,比较了水提法、超声波辅助提取法和微波提取法。结果表明,微波提取在浸提工序中能在较短的提取时间、较大的固液比下,得到较高的提取率,并且认为该法在竹叶活性成分提取中有着重要的开发潜力。用极性有机溶剂浸提竹叶有利于黄酮类化合物的浸出,有研究指出,影响黄酮类物质提取的主要因素是浸提剂及其浓度。大孔树脂是近年来发展起来的有机高分子聚合物吸附剂,具有物化稳定性高、吸附选择性好、不受无机物存在的影响、再生简便、解吸条件温和、使用周期长、节省费用等优点,已广泛用于黄酮类化合物等活性物质的纯化。有报道称用大孔树脂纯化工艺可得到黄酮含量28%的竹叶提取物^[14]。采用大孔树脂纯化工艺应注意控制苯、甲苯等有毒化学物质的残留,保证提取物的安全性。

3 竹叶提取物的保健功能及其在功能性食品中的应用

3.1 保护心脑血管

竹叶提取物具有降血脂,抑制血小板凝集、血栓形成的作用,能起到辅助保护心脑血管的保健功能。血脂异常升高是心脑血管疾病发病的危险因素之一,降低血清中的低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)含量,提高高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平,有利于预防心脑血管疾病。沈健等^[15]以成年SD雄性大鼠为对象,用高脂饲料建立高脂血症模型,研究了竹叶提取物调节血脂的作用。结果表明,竹叶提取物能显著降低SD大鼠血液甘油三酯、总胆固醇、LDL-胆固醇的浓度,中剂量和高剂量组能显著提高HDL-C胆固醇浓度,其降血脂的作用机理与银杏提取物相似。周琦等^[16]在实验中发现竹叶提取物能明显提高胶原蛋白-肾上腺素混合诱导剂诱导的肺血栓小鼠的存活率,与生理盐水相比有显著性差异($p < 0.05$);竹叶提取物能明显抑制家兔

颈动脉血栓的形成,并且能明显延长家兔凝血酶时间及凝血酶原时间,同时也发现竹叶提取物能明显延长小鼠出血时间,减轻小鼠全血凝块重量,缩短小鼠优球蛋白溶解时间。付晓春等^[17-18]研究发现竹叶提取物对花生四烯酸诱导的家兔血小板聚集模型具有明显的抗血小板聚集作用;竹叶提取物能显著降低大鼠心肌的耗氧量,增加心脏的冠脉流量,增加心肌的供血供氧,具有较好的抗大鼠心肌缺血的作用。竹叶提取物具有确切的降血脂、抑制血小板凝集和预防血栓形成的作用,可用作保护心脑血管功能性食品的原料。

3.2 抗氧化作用

竹叶提取物具有抗氧化作用,竹叶中的黄酮类、酚酸类、活性多糖类均具有抗氧化活性。沈健等^[19]发现,竹叶黄酮具有明显降低脂质过氧化,升高超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力的作用。SOD广泛存在于需氧细胞中,是生物体抗氧化防御体系中最重要酶,类SOD活性已成为抗衰老药物和保健食品的一个重要指标。张英^[19]采用邻苯三酚自氧化法测定SOD活性,旁证了竹叶提取物具有优良的类SOD活性,并用昆明种小鼠作为实验对象,研究了毛金竹叶提取物抗衰老的生物学效应,结果表明,竹叶提取物能显著增强小鼠对非特异性刺激的抵抗能力,对一些氧化酶活性有显著的诱导作用,说明竹叶提取物具有抗氧化作用,可以作为一种抗氧化功能因子的新资源加以研究。竹叶提取物除了能升高抗氧化酶活性外,还具有直接清除自由基的作用,许纲等^[20]采用水浴法和超声提取法两种方法对竹叶黄酮的提取方法进行了研究,且采用氮蓝四唑光化还原法,对竹叶中提取的黄酮类化合物清除 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 的效果进行测定,结果表明,竹叶提取物是一种良好的活性氧自由基清除剂,并且随着黄酮含量的增加,清除率呈上升趋势。

3.3 抑菌作用

竹叶中含有大量的黄酮类、酚酸类和特种氨基酸等活性成分,这些物质均有不同程度的抑菌作用。一些学者从竹叶中提取活性成分,对其抑菌效果进行了测定,结果证明,这些提取物对某些细菌、霉菌和酵母菌等食物致病菌均具有抑制作用,其中对细菌(如大肠杆菌)具有强烈的抑制作用,但对霉菌和酵母菌的抑制效果较弱。因此,竹叶提取物比较适合添加到主要由细菌引起变质的食品中。竹叶提取物有很好的热稳定性,而且经过高温处理后抑菌效果更加明显,更适合添加到需要进行高温处理的食品中。蔡华芳^[21]在研究竹叶提取物的抗前列腺炎和抗前列腺增生作用研究中发现,竹叶提取物对粪肠球菌、化脓性链球菌等七种泌尿道常见病原菌具有不同程度的抑制作用。陆志科^[22]提取了9种竹叶的活性成分,并对不同竹种及不同生长期的竹叶抗菌活性进行了比较,其中麻竹叶的抗菌活性强于其他竹叶,7月和11月中旬采摘的竹叶乙醇提取液的抗菌活性较好,说明竹叶中抗菌成分的含量受竹叶种类、遗传、环境等因素的影响。姚永红等^[23]研究毛竹叶挥发

油的抑菌活性,结果显示,毛竹叶挥发油对大肠杆菌、枯草杆菌、假单胞杆菌、黄杆菌和酿酒酵母都有较强的抑菌活性,毛竹挥发油对大肠杆菌和枯草杆菌的最低抑菌浓度(MIC)均为2.25mg/mL。孙立娜等^[24]研究竹叶抗氧化物在冷却羊肉保鲜中的应用效果,结果表明,用质量浓度为0.0015g/mL的竹叶抗氧化物溶液浸泡羊肉后,在贮藏过程中其感官、细菌总数、pH以及挥发性盐基氮指标状态均为最好,保鲜时间比对照组样品延长5~7d。

3.4 调节免疫

竹叶中的黄酮类化合物、活性多糖等成分可以促进小鼠体内抗体的产生,增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能,进而提高小鼠细胞免疫功能。唐浩国^[25]等研究证明,在一定剂量范围内竹叶黄酮可显著提高小鼠脾脏细胞中DNA和RNA的含量,促进脾细胞DNA和蛋白质的合成,进而促进细胞增殖;同时也促进了小鼠脾细胞IFN γ mRNA的表达和IFN γ 的产生与分泌,IFN γ 又反过来激活NK细胞,促进T、B细胞分化和CTL成熟,刺激B细胞分泌抗体,具有增强免疫调节的作用。竹叶提取物可作为免疫调节功能性食品的原料。

3.5 阻断亚硝化反应

亚硝胺是当今最令人关注的致癌物之一,据报道,在已经实验的大约130种N-亚硝基化合物中,约80%具有致癌性,阻断亚硝胺合成或清除合成亚硝胺的前体是防癌的有效途径。吴洪^[26]研究竹叶对亚硝酸盐的清除作用,结果表明,竹叶黄酮对亚硝酸盐具有清除能力,并且其清除能力与总黄酮含量呈量效关系。张英等^[27]在体外模拟胃液条件下研究竹叶黄酮对亚硝酸盐的清除能力和对N-亚硝胺合成的阻断作用。结果表明,竹叶提取物能有效地清除亚硝酸盐,并能在一定程度上阻断强致癌物质N-亚硝胺的合成。在一定范围内随质量浓度的增加,呈现出明显梯度变化,当达到一定质量浓度后,清除率和阻断率提高细微,趋于稳定,显示了与维生素C及山楂、大蒜提取物相似的生物活性,即有防癌、抗癌的作用。

3.6 抗抑郁、改善记忆

在我国古代医药典籍记载的著名抗抑郁方剂小补心汤中,竹叶作为一种重要药材被添加其中^[28]。大量研究指出,黄酮类化合物有抗抑郁、改善记忆的功能。赵楠等^[29]采用小鼠悬尾实验、小鼠强迫性游泳实验、5-羟色氨酸诱导小鼠甩头实验、阿朴吗啡诱导小鼠体温降低等抗抑郁评价模型研究竹叶黄酮的抗抑郁活性,结果表明,竹叶黄酮具有抗抑郁活性,其抗抑郁作用可能与改善脑组织营养和微循环有关。目前市面上以竹叶黄酮类为原料的抗抑郁、改善记忆的功能性食品还不多见,研究和开发此类产品是一个值得探讨的课题。

4 竹叶提取物的安全性

竹叶提取物是一种安全性很高的功能性食品原料,1998年,(淡)竹叶被卫生部批准列入“药、食两用的天然植物名单”。竹叶提取物毒理学安全性评价结果表明,小鼠经口致死量(LD₅₀)大于10g/kg,根据LD₅₀

的分级标准,竹叶提取物为实际无毒;小鼠骨髓噬多染红细胞微核实验检测结果为阴性,表明其无细胞毒性;小鼠精子畸形实验检测结果为阴性,表明其对生殖细胞无致突变作用;对SD大鼠的30d喂养实验结果表明,竹叶提取物对大鼠体重、进食量、食物利用率未见明显影响,对大鼠血红蛋白、白细胞计数及分类未见明显影响,各剂量组雌、雄大鼠的谷丙转氨酶、总蛋白、清蛋白、胆固醇、血糖、尿素氮等各项生化指标均无明显影响,各剂量组的脏器比均无显著性差异,大体解剖无异常发现,病理切片镜检发现对照组和各剂量组雌雄大鼠的肝、肾、胃、十二指肠均未出现有意义的病变^[30]。

5 竹叶提取物在功能性食品中的应用前景

竹叶提取物以其活性成分丰富、生物学功能确切、食用安全性高、原料资源充足、口感风味清新等优势,近年来成为功能性食品加工领域的热门原料。竹叶提取物作为一种新型的天然抗氧化功能性食品原料,在食品加工领域得到了广泛的应用,竹叶抗氧化物(antioxidant of bamboo, AOB)就是以竹叶为原料得到的提取物,于2004年4月被卫生部批准列入国家标准,可作为食品添加剂应用于油脂、即食谷物、肉制品、水产品及其制品、果蔬及茶饮料、焙烤食品、油炸食品和膨化食品中。目前,我国研发的竹叶提取物保健食品、竹叶啤酒和竹叶饮料已经上市,受到国内外的广泛关注。竹叶作为一种资源量很大而且廉价的林业资源,在我国基本处于未开发、未利用的状态。随着人们对竹叶活性成分功能性和营养性的深入研究以及提取工艺技术的不断进步,竹叶提取物在功能性食品领域的应用前景必将更加广阔。

参考文献

- [1] 刘利艳,张季林. 竹叶黄酮的生物学研究进展[J]. 江西中医学院学报, 2009, 21(4): 98-100.
- [2] 何跃君,岳永德. 竹叶提取物的有效成分及其应用研究进展[J]. 生物质化学工程, 2008, 42(3): 31-38.
- [3] 岳永德,操海群,汤锋. 竹提取物的化学成分及其利用研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2007, 34(3): 328-333.
- [4] 吕兆林,李月琪,秦娇,等. 毛竹叶挥发油的提取方法研究[J]. 北京林业大学学报, 2008, 30(4): 135-140.
- [5] 高志强,江相兰,宋仲容. 竹叶中黄酮类化合物的研究进展评述[J]. 西南农业大学学报, 2005, 31(1): 39-43.
- [6] 张新中,刘福华,孙西征,等. 竹叶中有效成分的分离研究[J]. 四川大学学报:工程科学版, 2002, 34(6): 116-118.
- [7] 许宝泉,吴水英,宋秋华. 竹叶黄酮的生理功能研究进展[J]. 江西林业科技, 2006(1): 37-39.
- [8] 孙长花,张素华,张凌云. 竹叶黄酮的生理活性与应用研究[J]. 四川食品与发酵, 2006(1): 37-39.
- [9] Zhaolin Lv, Jing Dong, Bolin Zhang. Rapid identification and detection of flavonoid compounds from bamboo leaves by LC-(ESI)-IT-TOF/MS. BioResources 2012, 7(2): 1405-1418.
- [10] 王春艳,刘树立,钟耕,等. 竹叶黄酮的生理功能及提取工艺[J]. 食品与药品, 2007, 9(4): 59-62.
- [11] 刘羽中,杨洋. 生物类黄酮提取研究进展[J]. 中外食品, 2004

- (10):48-49.
- [12] 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.
- [13] 周跃斌,王伟,李适,等. 竹叶多糖提取条件的优化[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2006,32(2):206-209.
- [14] 冯涛,曹东旭,高辉,等. 大孔吸附树脂对竹叶黄酮的吸附分离特性研究[J]. 广东食品工业科技,2002,19(1):9-11.
- [15] 沈健,冯磊. 竹叶提取物降低小鼠脂质过氧化、升高GSH-Px和SOD活力的作用研究[J]. 现代康复,1999,3(3):334-336.
- [16] 周琦. 竹叶提取物抗脑缺血作用研究[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005
- [17] 付晓春. 竹叶提取物及荛苳草苷抗心肌缺血作用及其机制探讨[D]. 沈阳:沈阳药科大学,2005
- [18] 付晓春,王敏伟,李少鹏,等. 竹叶提取物对缺血缺氧心肌的保护作用[J]. 中成药,2006,28(4):558-561.
- [19] 张英,吴晓琴. 竹叶和银杏总黄酮含量及其抗自由基活性的比较研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(4):254-257.
- [20] 许钢,张虹,董建红. 竹叶提取物清除 O_2^- 和 $\cdot OH$ 的研究[J]. 浙江林业科技,2000,20(3):17-21.
- [21] 蔡华芳. 竹叶黄酮提取物抗前列腺炎和抗前列腺增生作用研究[D]. 杭州:浙江大学,2001.
- [22] 陆志科,谢碧霞. 竹叶活性成分分析及其提取物抗菌效果[J]. 中南林学院学报,2004,24(4):70-73.
- [23] 姚永红,秦娇,张柏林,等. 毛竹叶挥发油抑菌活性研究. 食品工业科技,2010(1):71-73.
- [24] 孙立娜,靳焯. 竹叶抗氧化物在冷却羊肉中的保鲜效果[J]. 肉类研究,2011,25(2):21-24.
- [25] 唐浩国. 竹叶黄酮对小鼠脾细胞免疫的分子机制研究发现[J]. 食品科学,2007,28(9):523-525.
- [26] 吴洪. 竹叶、竹茹对亚硝酸盐的清除能力与总黄酮含量的相关性[J]. 宜春学院学报,2010,32(8):48-50.
- [27] 张英,丁霄霖. 竹叶有效成分和抗活性氧自由基效能的研究[J]. 竹子研究汇刊,1996(3):17-24.
- [28] 安磊,张有志. 小补心汤总黄酮提取物对慢性应激模型大鼠的抗抑郁作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2008,22(2):102-107.
- [29] 赵楠,张有志,于能江,等. 竹叶总黄酮在小鼠行为模型上的抗抑郁作用[J]. 中国药理通讯,2008,25(3):47.
- [30] 陈冠敏,姜瑞钗. 天然防腐剂——“竹叶提取液”的致突变性研究[J]. 卫生毒理学杂志,1994(4):309-310.

(上接第353页)

- [8] Mikler JR, Theoret CL, High JC. Effects of topical elk velvet antler on cutaneous wound healing in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Journal of Alternative and Complementary Medicine,2004,10(5):835-840.
- [9] 金光湖,崔平洛. 鹿茸对氨甲喋呤引发的免疫功能低下的影响[J]. 黑龙江中医药,1993(2):40-42.
- [10] Kim YK, Kim KS, Chung KH, et al. Inhibitory effects of deer antler aqua-acupuncture, the pilose antler of Cervus korean TEMMINCK var. mantchuricus Swinhoe, on type II collagen-induced arthritis in rats[J]. International Immunopharmacology, 2003(3):1001-1010.
- [11] 赵磊. 鹿茸水提取物的特征成分及蛋白质功能研究[D]. 北京:中国农业大学,2010.
- [12] 朱力平,陈学清. 免疫学常用实验方法[M]. 北京:人民军医出版社,2000:151-190.
- [13] Kang KS, Kim KS, Kim SI, et al. Immunosuppressive activity of deer antler extracts of Cervus korean TEMMINCK var. mantchuricus Swinhoe, on type II collagen-induced arthritis in rats[J]. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Animal, 2006,42(3/4):100-107.
- [14] 范玉林. 鹿茸化学成分研究概述[J]. 吉林农业大学学报,1980(1):72-78.

(上接第357页)

- 1996,23(5):553-560.
- [11] Freeman C P, Jack E L, Smith L M. Intramolecular fatty acid distribution in milk fat triglycerides of several species [J]. J Dairy Sci,1965,48:853-858.
- [12] Tomarelli R M, Meyers B J, Weaver J R, et al. Effect of positional distribution on the absorption of the fatty acids of human milk[J]. J Nutr,1968,95:583-590.
- [13] Lien E L, Yuhas R J, Boyle FG, et al. Corandomization of fats improves absorption in rats[J]. J Nutr,1993,123:1859-1867.
- [14] Kennedy K, Fewtrell M S, Morley R, et al. Double-blind, randomized trial of a synthetic triacylglycerol in formula-fed term infants:Effects on stool biochemistry, stool characteristics, and bone mineralization[J]. Am J Clin Nutr,1999,70:920-927.
- [15] Lucas A, Quinlan P, Abrams S, et al. Randomised controlled trial of a synthetic triglyceride milk formula for preterm infants [J]. Arch Dis Child,1997,77:178-184.
- [16] Winston W K Koo, Hockman E M, et al. Palm Olein in the Fat Blend of Infant Formulas:Effect on the Intestinal Absorption of Calcium and fat, and bone mineralization[J]. Am Coll Nutr, 2006,25(2):117-122.
- [17] Lopez-Lopez A, Castellote-Bargallo A I, et al. The influence of dietary palmitic acid triacylglyceride position on the fatty acid, calcium and magnesium contents of at term newborn faeces [J]. Early Hum Dev 65 Suppl,2001:S83-S94.
- [18] GB/T 24894-2010动植物油脂 甘三酯分子2-位脂肪酸组分的测定[S].
- [19] GB 5413.27-2010婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定[S].
- [20] Samur G, Topcu A, Turan S. Trans fatty acids and fatty acid composition of mature breast milk in turkish women and their association with maternal diet's[J]. Lipids,2009,44:405-413.
- [21] GB 5413.21-2010婴幼儿食品和乳品中钙、铁、锌、钠、钾、镁、铜和锰的测定[S].