

竹叶特种氨基酸的存在及其生物学意义

张 英

霄霖

王树英

(浙江农业大学食品科技系, 杭州, 310029) (无锡轻工大学食品学院, 无锡, 214036)

摘要 在竹叶及其提取物中检出了相当含量的一种羟化赖氨酸— δ -OH-Lys, 主要以游离单体和小肽的形式存在。从桂竹和金毛竹叶样分别测得其含量占干叶氨基酸总量的 1.33% 和 1.40%, 约相当于其中 Lys 含量的 1/4。醇-水提取的过程有富集 δ -OH-Lys 的作用, 其在提取物中的含量远远高于 Lys。这一特殊的非蛋白氨基酸以相当含量存在于竹叶中, 可能有着特殊的生物学意义。

关键词 竹叶; 提取物; 羟化赖氨酸

中图分类号 Q946

0 前 言

竹子是大熊猫的专一食料, 同时竹叶和竹沥也是中医一味传统的清热解毒药。据载, 毛竹叶中氨基酸总量占干基的 14.12%, 为海岸松针叶的 2.65 倍, 必需氨基酸大多高出松针 1.3 倍以上^[1], 是一优质的叶蛋白资源。我们在考察竹叶保健功能因子的过程中, 发现氨基酸和短肽也是竹叶的有效成分之一^[2]。对竹叶及其提取物中氨基酸组成、含量和性质的研究, 是竹叶保健功能因子研究的重要一环。在分析桂竹(刚竹属的代表种)叶样经有机溶剂分级浸提后的水分级相的氨基酸组成时, 发现其中含有相当数量的 δ -OH-Lys, 主要以游离单体和小肽的形式存在, 接着又在原叶中检出。为了确证竹叶中这一特种氨基酸的发现, 特订购了 Sigma 的羟基赖氨酸标样, 对金毛竹叶及其粗提物和水分级相作了进一步的分析测试, 肯定了竹叶中该种氨基酸的存在。现将研究结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 竹叶试样的制备

桂竹(*Phyllostachy bambusoides*) 和金毛竹(*Phyllostachy nigra* Var. *henonis*) 叶样 1993 年 5 月 6 日采于杭州植物园, 鲜叶采摘后稍加清洗, 风干保存, 使用前破碎过筛。

竹叶提取物试样的制备过程如下

桂竹叶 → 70% 乙醇渗漉提取(50) → 石油醚脱脂 → 乙酸乙酯萃取 → 正丁醇萃取 → 水分级相

金毛竹叶→30%乙醇热回流提取(90℃)→粗提物→正丁醇萃取→水分级相
测定氨基酸总量时,试样先行酸水解;测定游离氨基酸含量时,水分级相和粗提物稀释至一定浓度直接进行分析。

1.2 氨基酸标样

18 种氨基酸的混合标样(其中含 δ -OH-Lys·HCl) 日本和光纯药工业株式会社出品;
 δ -OH-Lys·HCl 标样 Sigma 公司出品。

1.3 仪器条件

日立 835-50 型高速氨基酸自动分析仪, 2.6mmID×150mm 柱, 2619# 离子交换树脂;
流动相为柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液, 流速 0.225ml/min; 柱温 53℃, 压力 80~130kg/cm²;
检测波长 570nm 和 440nm. 氨基酸的定性分析由仪器根据标准样品的保留时间自动确定,
定量分析采用外标法, 根据峰面积和响应常数计算含量。

2 结果和分析

2.1 竹叶的氨基酸组成

桂竹和金毛竹叶经全样水解后测得的氨基酸组成见表 1, 并与文献报道的毛竹叶和银杏叶的数据作了比较。

表 1 竹叶氨基酸组成*

氨基酸	桂竹叶		金毛竹叶		毛竹叶 ⁽¹⁾		银杏叶 ⁽²⁾	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Asp	1.30	11.50	1.67	11.67	1.50	10.62	1.12	10.42
Thr	0.57	5.04	0.72	5.03	0.75	5.31	0.54	5.02
Ser	0.60	5.31	0.78	5.45	0.80	5.67	0.59	5.49
Glu	1.65	14.60	2.21	15.44	1.88	13.30	1.35	12.56
Gly	0.67	5.93	0.75	5.24	0.86	6.08	0.76	7.07
Ala	0.85	7.52	1.02	7.13	1.10	7.78	0.76	7.07
Cys	-	-	0.23	1.61	0.14	1.00	0.08	0.70
Val	0.66	5.84	0.85	5.94	0.85	6.02	0.66	6.14
Met	0.17	1.50	0.20	1.40	0.16	1.13	0.11	1.02
Ile	0.55	4.87	0.62	4.33	0.69	4.88	0.56	5.22
Leu	1.02	9.03	1.21	8.46	1.32	9.35	1.06	9.86
Tyr	0.40	3.54	0.28	1.96	0.51	3.60	0.39	3.63
Phe	0.67	5.93	0.69	4.82	0.84	5.95	0.60	5.59
δ -OH-Lys	0.15	1.33	0.20	1.40	-	-	-	-
Lys	0.58	5.13	0.78	5.45	0.84	5.95	0.78	7.26
His	0.20	1.77	0.26	1.82	0.31	2.89	0.25	2.33
Arg	0.60	5.31	0.65	4.54	0.80	5.74	0.63	5.87
Pro	0.66	5.85	1.19	8.31	0.77	5.44	0.51	4.75
合计	11.30	100.0	14.31	100.0	14.12	100.0	10.75	100.0

* 全样水解, 含量以叶干基计: A- 绝对百分含量, B- 相对百分含量

从桂竹和金毛竹叶中均检出了 δ -OH-Lys, 含量约为 Lys 的 1/4.

金毛竹叶的氨基酸总量高达 14.31%, 与文献[1] 报道的毛竹叶非常接近, 桂竹叶中的含量是 11.30%, 也高于银杏叶^[3]. 竹叶中含量最高的氨基酸是 Glu, 其次是 Asp, 必需氨基酸的含量达 40% 左右. 表明竹叶具有丰富的营养价值, 是一种优良的叶蛋白资源。

2.2 竹叶提取物的氨基酸组成

竹叶提取物的总氨基酸含量(蛋白态+ 游离态)和游离态氨基酸的含量详见表 2。

从表 2 可见, 在竹叶提取物的氨基酸组成中, δ -OH-Lys 占有非常特殊的地位。在桂竹水分级相中的含量相当高, 且绝大部分以游离态存在, 占了游离氨基酸总量的 26. 15%, 远远高于 Lys 含量。金毛竹的粗提物和水分级相也有一定量的 δ -OH-Lys, 70% 左右以游离单体的形式存在。

竹叶中酸性氨基酸含量很大, Glu 和 Asp 合计占氨基酸总量的 25% 以上; 侧链带 OH

的氨基酸, 包括 Ser, Thr, δ -OH-Lys 和 Tyr, 合计占 15% 左右。这些氨基酸在提取物中的含量也很高, 总计在 60% 以上。而含硫氨基酸的量极少。

从两种竹叶全样水解的结果看, 叶中 δ -OH-Lys 的含量并不高, 仅相当于 Lys 含量的 25% 左右, 占氨基酸总量的 1. 3 ~ 1. 4%。而在提取物中, 它的含量远远高于 Lys, 在桂竹和金毛竹的水分级相中分别占到游离态氨基酸总量的 26. 15% 和 16. 30%。表明醇- 水体系提取有富集 δ -OH-Lys 的作用。

3 讨 论

δ -OH-Lys 是首次在竹叶中检出的一种非蛋白氨基酸, 以往对竹叶^[1]、竹沥^[4, 5]、和竹叶^[6]等氨基酸检测的文献中均未见报道。

在蛋白质的生物合成中, 基因代码拚出严格的氨基酸序列, 用 20 种氨基酸(包括 1 种亚氨基酸)为材料, 通过肽键的连接形成千差万别的生物蛋白, 在某些蛋白质中所含的特种氨基酸被认为是转录后修饰造成的^[7]。所谓非蛋白氨基酸或称非编码氨基酸(non-protein or non-coding amino acids) 是指除这 20 种基本氨基酸之外的天然存在的氨基酸。一般认为, 非蛋白氨基酸既不构成机体结构, 也不作能源物质, 它以游离或小肽形式存在, 当生物组织用乙醇溶液浸提时, 不会随蛋白质沉淀, 而是留在溶液之中^[8]。植物能够产生形形色色的氨基酸作为次生代谢产物, 目前已知的超过 600 种的非蛋白氨基酸中, 大约 300 种发生在植物界^[9]。近 20 年研究发现, 自然界中存在的不少非蛋白氨基酸显示出独特的生物学功能和应用价值, 它们的主要功能包括: 作为生物体内含氮营养物吸收和转运的形式; 充当神经递质或辅酶成分、参与代谢调节; 作为次生产物的前体; 保持物种的稳定和维持生态平衡等^[8]。

有研究发现, 植物柱头组织中的非蛋白氨基酸可抑制异种花粉的萌发, 可以减少杂种的出现, 起到种间隔离的作用, 有利于物种的稳定。一些非蛋白氨基酸在化学结构上极其类似于某些蛋白氨基酸, 作为类似物参与竞争代谢, 带来了一定的毒性或抗菌活性。实际上, 自然

表 2 竹叶提取物的氨基酸组成(以提取物干基计 %)

氨基酸	桂竹提取物水分级相		金毛竹粗提物		金毛竹提取物水分级相	
	总含量	游离态	总含量	游离态	总含量	游离态
Asp	1. 54	0. 22	1. 01	0. 21	1. 19	0. 27
Thr	0. 34	0. 33	0. 22	0. 13	0. 25	0. 14
Ser	0. 66	0. 52	0. 74	0. 54	0. 81	0. 58
Glu	1. 84	0. 26	1. 24	0. 26	1. 46	0. 33
Gly	0. 54	0. 18	0. 36	0. 07	0. 37	0. 08
Ala	1. 34	0. 94	0. 72	0. 42	0. 74	0. 40
Val	0. 36	0. 22	0. 34	0. 18	0. 27	0. 12
Met	0. 05	0. 04	-	-	0. 02	-
Ile	0. 30	0. 24	0. 26	0. 19	0. 18	0. 08
Leu	0. 24	0. 14	0. 21	0. 09	0. 14	0. 03
Tyr	0. 14	0. 13	0. 14	0. 12	0. 09	0. 04
Phe	0. 23	0. 13	0. 24	0. 14	0. 09	0. 03
δ -OH-Lys	1. 71	1. 36	0. 56	0. 41	0. 62	0. 45
Lys	0. 19	0. 06	0. 15	0. 04	0. 19	0. 05
His	0. 05	0. 02	0. 05	0. 02	0. 06	0. 02
Arg	0. 12	0. 06	0. 15	0. 08	0. 20	0. 11
Pro	0. 32	0. 28	0. 07	0. 04	0. 07	0. 03
合计	9. 97	5. 13	6. 46	2. 94	6. 75	2. 76

界中具有抗菌活性的物质不少都属于氨基酸和肽类。非蛋白氨基酸对生物保持自身稳定和生物之间错综复杂关系中的生态平衡具有重要意义。同时,以非蛋白氨基酸作指标,在分类学上也是一种十分有价值的手段。

中药的成分分析还发现,不少中药材中有效成分均为游离的非蛋白氨基酸,560种中草药中已列入药典的非蛋白氨基酸有16种以上^[8]。对竹沥成分和功效研究的结果也充分显示了其中所含的氨基酸与祛痰止咳作用有关^[4,5,10]。动物界的活化石——大熊猫如何以竹叶为生、而使其物种得以长期的保留,同样是一个令人感兴趣的话题。此外,我们还用化学发光法和电子自旋共振法对 Lys 和 δ -OH-Lys 的抗活性氧自由基效能作了专项的比较研究,表明赖氨酸羟化以后其清 O₂⁻ 活力显著增强(另见专文报道)。

竹叶及其提取物中相当含量的特种氨基酸—— δ -OH-Lys 的存在和检出,并且具有显著高于 Lys 的生物抗氧化活性,这一发现在理论和实践上都有一定的价值,对其生物学意义有待进一步的研究和探讨。

参 考 文 献

- 1 王传槐,陈锐. 竹叶氨基酸及生物转化的研究. 竹类研究, 1987, (3): 16~19
- 2 张英,丁霄霖. 竹叶有效成分和抗活性氧自由基效能的研究. 竹子研究汇刊, 1996, 15(3): 17~24
- 3 赵忠杰等. 银杏和银杏叶中氨基酸含量的测定. 北京中医学院学报, 1991, 14(4): 41~42
- 4 乔章星等. 竹沥中氨基酸成分的研究. 中国药学杂志, 1993, 28(1): 18~19
- 5 李平等. 鲜竹沥的化学成分研究. 中草药, 1984, 15(4): 3~4
- 6 李炎,叶秀娇. 竹汁中有机锗、多糖和氨基酸的研究测定. 食品科学, 1995, 16(11): 55~60
- 7 Radha G K, Finn W. Post-translational modifications: Unique amino acids in proteins, Proceedings of the First Biennial International Conference on Amino Acid Research: Frontiers and New Horizons, Kyoto, August. 1991. 183~195
- 8 范镇基. 非蛋白氨基酸的功能与应用. 氨基酸杂志, 1990, (1): 25~34
- 9 Lambein F, et al. Toxic non-coding amino acids in the genus Lathyrus, Proceedings of the First Biennial International Conference on Amino Acid Research: Frontiers and New Horizons, Kyoto, August. 1991. 99~107
- 10 邹积平等. 七种竹沥镇咳祛痰作用比较. 中草药, 1981, 12(4): 27~28

Existence of in Specific Amino Acid Bamboo Leaves and Its Biological Significance

Zhang Ying (Dept. of Food Sci. and Tech., Zhejiang Agricultural University, Hangzhou, 310029)

Ding Xiaolin Wang Shuying (School of Food Science & Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi, 214036)

Abstract A specific hydroxyl lysine- δ -OH-Lys, which exists mostly as a free amino acid and small peptide, was detected out in Bamboo leaves and their extracts at first. The values of δ -OH-Lys in the leaves of *Phyllostachy bambusoides* and *Phyllostachy nigra* Var. *henonis* were respectively 1.33% and 1.40% of the total amino acids amount, equaling about a quarter of Lys. However, its content in extracts was obviously above Lys. It showed that the extract processing by ethanol~water system has a concentration effect on δ -OH-Lys. This particular non-protein amino acid which presents a considerable fraction in bamboo leaves of fraction, may be of special biological significance.

Key words bamboo leaf; extract; hydroxyl lysine

Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>