

文章编号:1009-038X(2004)01-0036-04

竹沥组分分析及抑菌作用

许小平, 李忠琴, 欧敏锐, 周训胜

(福州大学 化学化工学院, 福建 福州 350002)

摘要: 采用气相色谱-质谱联用方法分析了福建建瓯产竹沥成分, 共分离鉴定有机物 46 种, 其中主要成分 18 种, 占出峰总面积的 98%。研究了竹沥对不同类型腐败菌的抑制效果, 结果显示, 竹沥对细菌和真菌均具有较强的抑制作用, 其中金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径为 26 mm, 大肠杆菌为 24 mm, 黑曲霉为 23 mm。表明竹沥是一种良好的天然抑菌剂。

关键词: 竹沥; 成分分析; 色谱-质谱; 腐败菌; 抑菌作用

中图分类号: TQ 041⁺. 7

文献标识码: A

Analysis of Bamboo Vinegar and its antimicrobial actions

XU Xiao-ping, LI Zhong-qin, OU Min-ru, ZHOU Xun-sheng

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Fuzhou University, Fuzhou, 350002, China)

Abstract: The components of bamboo vinegar produced in JianOu, Fujian, were analyzed with GC-MS. From bamboo vinegar 46 kinds of organic compounds has been seperated and identified. The result showed that the major 18 components of bamboo vinegar occupied 98.38% of the total apex area. Moreover, antimicrobial actions of the distillate of bamboo acid were investigated in this paper. The results demonstrated that the bamboo acid has obvious antibacterial and anti-fungal actions. The antimicrobial dosage to putrefy microbes was determined as follows: *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis* 26 mm, *Escherichia coli* 24 mm, *Aspergillus niger* 23 mm. The results indicate that the bamboo vinegar is a good antimicrobial agent.

Key words: *Succus bambusae*; components analysis; GC-MS; putrefied microbes; antimicrobial action

竹沥(*Succus bambusae*)是竹类热处理过程中回收的青黄色或黄棕色液体^[1,2],用途十分广泛。在中医临床中常用于清热祛痰、镇咳平喘、镇惊利窍^[3~6]。在饲料中添加竹沥,可以增加动物肠道乳酸菌的繁殖,减少肠道内的异常发酵,改善动物的消化吸收,促进其生长发育^[7]。由于竹沥中醇类、醛类、酮类等小分子能很好地渗透到作物的叶根组织中,因而在农药中添加竹沥将更好地发挥其药效作

用,减少农药用量^[8]。同时,竹沥中含有大量醋酸、丙酸和 5-甲基-2-咪喃-甲醛等有机防腐物质,国内外的研究都表明其具有广谱的抑菌、消毒功能^[9~11]。这也是竹子能够抵御各种病虫侵袭、竹林保持清洁自净的主要原因。但关于竹沥的抑菌效果和抑菌体积分数,目前认识并不一致。并且竹沥是一种含多种复杂成分的混合物,其组分随竹材的产地、种类和制备工艺的不同差异较大。本实验以福

收稿日期:2003-05-29; 修回日期:2003-09-23.

作者简介:许小平(1962-),男,江西上饶人,副教授,工学博士。
万方数据

建瓯产竹沥为对象,采用气相色谱-质谱联用技术分析鉴定了其组成,并测定了竹沥对不同类型腐败菌的抑制效果,为竹沥的进一步开发利用提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 竹沥原液由福建建瓯竹业有限公司提供。大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、啤酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、黑曲霉(*Aspergillus niger*)、桔青霉菌(*Penicillium citrinum*)、白曲霉(*A. candidus*)、毛霉(*Mucor racemosus*)、根霉(*Rhizopus sp*)等供试菌种,由福州大学微生物教研室提供。实验用蒸馏水自制。

1.1.2 仪器 气质联用仪(Agilent6890-5973N型):美国安捷伦公司生产;GC-MS系统(Agilent Technologies, Palo Alto, CA);色谱柱 DB-35MS, (J&W Scientific, Folsom, CA);台式酸度计(Thermo Orion Model 868型):美国奥立龙公司生产;紫外可见分光光度计(Spectro UV-Vis auto, Labomed, USA);电子天平(Sartorius BP221S型, Max 220 g, d=0.000 1 g):德国赛多利斯公司生产;移液枪(Transferpette®型, Dig. 2~20 μ L):德国 BRAND 公司生产。

1.1.3 培养基配方 细菌培养基^[11]:蛋白胨 6 g,牛肉膏 2.5 g,酵母膏 3 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 7.0;酵母培养基^[11]:葡萄糖 20 g,蛋白胨 10 g,酵母膏 10 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL, pH 6.5;真菌培养基^[11]:马铃薯 200 g,葡萄糖 20 g,氯化钠 5 g,琼脂 20 g,蒸馏水 1 000 mL,自然 pH 值。

1.2 实验方法

1.2.1 竹沥组分分析 采用气相色谱-质谱联用仪对试样进行分析。气相色谱条件:色谱柱为 DB-35MS(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m)弹性石英毛细管柱。柱温 60 $^{\circ}$ C(保持 2 min),以 60 $^{\circ}$ C/min 升温至 200 $^{\circ}$ C,并保持至分析完毕。进样器温度(INJ)250 $^{\circ}$ C,GC/MS 接口温度 280 $^{\circ}$ C。载气为高纯度氦气(体积分数 99.999%),柱前压 30 kPa,体积流量 1.2 mL/min,进样量 0.1 μ L,分流比 1:100。升压程序为 1 kPa/min 至 66 kPa。样品直接进样。

质谱条件:电子能量 70 eV;电子倍增电压 1.6 kV;离子源温度 230 $^{\circ}$ C;扫描速率 1 000 u,质量扫描范围 20~300。

1.2.2 抑菌测定的方法

1) 菌悬液的制备:供试菌种按文献[11]的培养方法进行培养复活,然后各挑取多环菌苔或孢子,用无菌水分别制成含菌数约 10^9 个/mL 的菌悬液。在 650 nm 处,分光光度计分别测定菌悬液和孢子悬液的 OD 值约为 0.25,备用。

2) 抑菌圈直径测定:制备固体培养基平板后,加入 0.1 mL 供试细胞悬液或孢子悬液,涂布均匀。再等距离、平稳地将 3 个已灭菌的牛津杯放置于含菌的固体平板上,在杯中滴注 100 μ L 竹沥(以无菌水作为对照)。每个处理重复 3 次。最后将各皿放入各种菌适宜的温度培养。细菌 36 $^{\circ}$ C,培养 24 h;霉菌和啤酒酵母 28 $^{\circ}$ C,培养 72 h;取出后,测量其抑菌圈直径的大小,结果见表 1。

表 1 福建产竹沥中的主要成分

Tab. 1 Major components of bamboo vinegar produced in Fujian

峰号	化合物名称	用途	出峰时间/min	相对百分率/%
1	甲醇	溶剂、化工原料	1.21	3.83
2	丙酮	溶剂	1.32	0.21
3	醋酸甲酯	化工原材料	1.35	2.93
4	乙酸	防腐剂、香料	1.54	76.97
5	丙酸甲酯		1.59	1.50
6	丙酸	防腐剂、添加剂等	1.83	4.47
7	2-羟基丙酮		2.05	0.45
8	戊酸	香料	2.43	0.29
9	1-羟基丁酮		3.08	0.32
10	糠醛	化工原料、溶剂、防老剂、调味剂	4.54	2.95
11	1-(2-呋喃)-乙酮		6.25	0.25
12	苯酚	杀菌剂、有机物原料等	7.35	1.15
13	丁内酯	化工原料、医药中间体	7.84	0.97
14	5-甲基-2-呋喃-甲醛	防腐剂	7.92	0.29
15	对甲基苯酚	防老剂原料、染料等	10.13	0.14
16	2-甲氧基苯酚	祛痰剂	11.09	1.13
17	对乙基苯酚	调味剂	12.81	0.28
18	2,6-二甲氧基苯酚	治疗湿疹	19.54	0.25
总计				98.38

3) 最小抑菌体积分数的测定(两倍稀释

法)^[12];将竹沥原液稀释成各种体积分数,在各皿内分别加入 2 mL 不同体积分数的竹沥稀释液,然后每皿倒入 20 mL 已溶化的固体培养基,充分混匀,待冷却凝固后,每皿加入 0.2 mL 菌悬液涂匀、培养.培养方法同上,取出观察结果.以不长菌的竹沥稀释液最低体积分数为最小抑菌体积分数.

2 结果与分析

2.1 竹沥的组分

图 1 是竹沥主要成分的总离子流色谱图.经随机计算机程序检索、人工解析及查对有关资料,并采用峰面积归一化法测定各成分的相对百分率,从中共分离鉴定有机物 46 种,其中主要成分 18 种,占出峰总面积的 98.38%(表 1).由表可知,福建建瓯产竹沥的主要成分为有机酸类、酚类、醛类、酮类、醇类、酯类等,与日本学者池嶋^[13,14]所报道的结果基本一致,但各类有机物的成分与含量有一定的差异.这是因为竹沥的组成随竹材的产地、种类、制备工艺,尤其是制备过程温度的不同差异较大.陈放过程的化学反应、微生物生物转化^[11]等原因也影响其组成.因此,不同来源的竹沥应根据其自身特点加以开发,并制定相应的质量控制指标.由表 1 可知,福建建瓯产竹沥中乙酸、丙酸等有机防腐剂的含量明显偏高,并且 pH 值为 1.69,显著低于同类产品(一般 pH 值为 2~3),是一种良好的天然抑菌剂.可用于水果保鲜、食品防腐、饲料添加剂和美容护肤剂.例如,水果、家禽和水产等深加工产品在竹沥中浸蘸后其保鲜期明显增长^[13,14].在饲料中添加少量竹沥,则可增加动物肠道内乳酸菌的繁殖,减少有害菌群的繁殖,增进家畜的食欲,促进其消化吸收和生长发育.此外,竹沥中所含酚类物质有抗氧化作用,醇类物质则能清洁皮肤,起杀菌消毒的作用,可用于美容护肤.

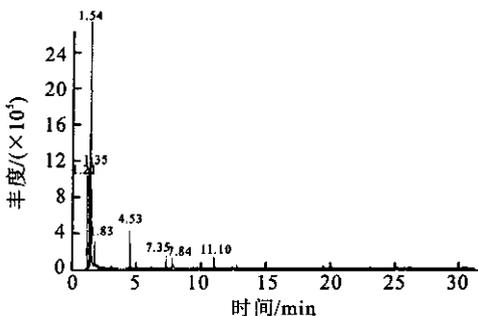


图 1 竹沥主要成分的总离子流色谱图

Fig. 1 The total ion chromatogram of major components in bamboo vinegar

2.2 抑菌效果数据

表 2 中给出了竹沥对各种供试腐败菌的抑菌直径,可见竹沥对各种供试腐败菌均有一定的抑制作用.其中对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和黑曲霉的抑制效果较强烈,而对啤酒酵母、桔青霉菌、白曲霉、毛霉和根霉的抑制作用相对较弱.存在此差异的主要原因有两个:一方面,由于多数真菌是嗜酸的(pH 值为 5.0~6.0),而细菌生长的最适 pH 值范围为 6.5~7.5.竹沥的 pH 值为 1.69,远远低于细菌的耐酸值(3 种细菌生长的最低 pH 值:大肠杆菌 4.4,枯草芽孢杆菌 4.5,金黄色葡萄球菌 4.0),从而强烈抑制了金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌的生长;而霉菌和酵母菌在 pH 值 1.5~2.5 的范围可以生长,具有较强的耐酸性,其生长受 pH 值低的影响程度不如细菌.但是,竹沥对黑曲霉却显示较强的抑制作用.这可能与文献^[15]报道竹沥所含的醛类化合物可直接使黑曲霉菌体蛋白质或酶变性,或破坏菌体细胞结构引起代谢紊乱、降低细胞膜通透性、影响菌体对营养物质的吸收与利用有关. pH 值对腐败菌的抑制主要通过影响细胞酶蛋白的解离度和电荷水平、改变细胞内酶的结构和功能、引起酶活性的改变,以及影响菌体对基质的利用和细胞的结构而起作用,最终影响菌体的生长.另一方面,竹沥组分中含有酚类和醛类等多种杀菌剂.苯酚可以破坏微生物的细胞膜和改变酶蛋白的空间构象,使蛋白质变性;5-甲基-2-咪喃-甲醛通过破坏蛋白质的氢键或氨基,使酶等蛋白质的活性丧失,从而破坏微生物蛋白质的正常代谢,抑制了菌体的生长和繁殖.由于酵母细胞膜类脂含量高于细菌细胞膜,带有极性基团的杀菌剂较难通过细胞膜而发挥抑制作用,因此竹沥对酵母的抑菌强度弱于对细菌的作用.

表 2 竹沥的抑菌效果

Tab. 2 Antimicrobial Results of Distilled Bamboo acid

供试菌种	抑菌圈直径/ mm	无菌水对照
大肠杆菌	24.3	—
金黄色葡萄球菌	26.4	—
枯草芽孢杆菌	26.3	—
啤酒酵母	16.2	—
黑曲霉	22.9	—
桔青霉菌	17.2	—
白曲霉	14.5	—
毛霉	14.3	—
根霉	15.0	—

注:“—”为无抑制效果.

表 3 给出了竹沥对供试菌的最小抑制体积分

数. 结果表明:在稀释 30 倍以下时,竹沥对各类腐败菌仍具有较高的抑菌作用. 其中对细菌类的抑制效果更好,稀释 100 倍后仍然能够抑制金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌和大肠杆菌的生长.

表 3 竹沥对供试菌的最小抑制体积分数

Tab. 3 The Minimum Inhibitory Consistency of Distillated Bamboo acid

供试菌种	最小抑制体积分数/%	培养基 pH 值
大肠杆菌	0.08	7.0
金黄色葡萄球菌	0.04	7.0
枯草芽孢杆菌	0.04	7.0
啤酒酵母	0.32	6.5
黑曲霉	0.08	6.5
桔青霉菌	0.16	6.5
白曲霉	0.32	6.5
毛霉	0.32	6.5
根霉	0.16	6.5

图 2 为不同体积分数的竹沥对细菌和酵母的抑制曲线. 如图所示,当竹沥原液分别稀释 1,2,4 倍时,抑菌圈直径的大小变化不大,表明竹沥的有效抑菌体积分数为竹沥原液稀释 1/4 后的体积分数;随着稀释度的进一步增大,抑菌圈直径迅速变小,其抑菌作用显著降低. 在实验体积分数范围内,各曲线形态相似,抑菌效果呈抛物线向上增长. 并且从图上可以看出,竹沥对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的抑制效果最强,大肠杆菌次之,对啤酒酵母的抑制效果一般.

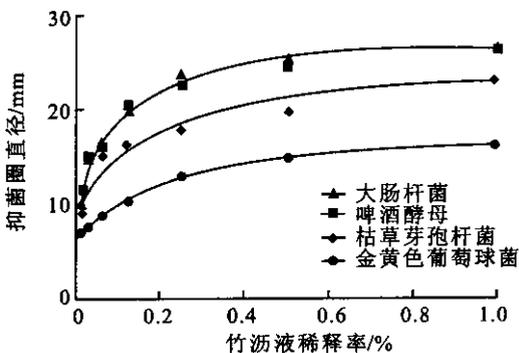


图 2 竹沥体积分数对细菌和酵母抑制作用的影响

Fig. 2 Effect of Concentration of Bamboo acid on the antibacterial actions

图 3 是不同体积分数的竹沥对霉菌的抑菌曲线. 其中对黑曲霉的抑制效果最强,且其抑菌圈直径随竹沥体积分数的降低有较显著的变化;对桔青曲霉、白曲霉、毛霉和根霉,抑制效果一般(见图 3).

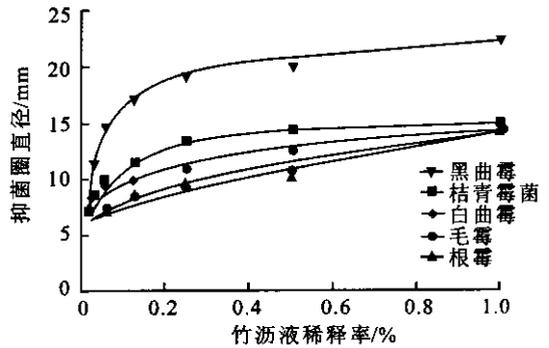


图 3 竹沥体积分数对霉菌抑制作用的影响

Fig. 3 Effect of Concentration of Bamboo acid on the antifungal actions

3 结 论

利用气相色谱-质谱联用仪分析了福建建瓯产竹沥成分. 结果表明,建瓯产竹沥共有有机物 46 种,其中主要成分 18 种,占出峰总面积的 98%. 与文献报道的结果基本一致,但各类有机物的成分与含量有一定的差异. 主要因为竹沥的组成随竹材的产地、种类、制备工艺不同而差异较大. 陈放过程的化学反应、微生物生物转化等原因也影响其组成. 研究了竹沥对细菌、霉菌和酵母的抑菌效果,实验显示,竹沥对各种腐败菌均具有较强的抑制作用,表明竹沥具有广谱的抗菌活性. 当竹沥原液分别稀释 1,2,4 倍时,抑菌圈直径的大小变化不大;随着稀释度的进一步增大,抑菌圈直径迅速变小,其抑菌作用显著降低. 由于细菌和真菌对 pH 值的耐受程度不同以及竹沥组分中不同杀菌剂对各类供试腐败菌作用强弱的差别,造成了竹沥对 9 种腐败菌的抑制效果存在差异,其中对金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和黑曲霉的抑制效果最为明显.

参考文献:

[1] 贾红慧. 竹沥的制备与药理[J]. 四川中医,1998,16(10):14.
 [2] 王介庆,胡晓梅. 烧制竹沥最佳时间的探讨[J]. 中成药,1998,(11):20.
 [3] 艾俊,田浪,戎军. 三清神鲜竹沥口服液治疗咳嗽 182 例[J]. 湖南中医杂志,1997,13(6):26.
 [4] 黄世德,夏景林,张安国,等. 慈竹沥的药理和临床实验研究[J]. 中医药学报,1995,(4):20-22. (下转第 44 页)

3 结 论

真空油炸过程中,胡萝卜片中的水分质量分数、破碎力随油炸温度、真空度以及油炸时间的延长而下降。响应面分析表明:油炸温度、真空度以及

油炸时间显著地影响胡萝卜片中水分、脂肪质量分数及破碎力($P \leq 0.05$)。以胡萝卜片的脆度和脂肪质量分数作为品质评价的主要指标,其最佳油炸工艺为温度 $100 \sim 110 \text{ }^\circ\text{C}$,真空度 $0.08 \sim 0.09 \text{ MPa}$,时间为 15 min 。

参考文献:

- [1] Rice P, Gamble M H. Modelling moisture loss during potato slice frying[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 1989,(24): 183-187.
- [2] Gamble M H, Rice P, Selman J D. Relationship between oil uptake and moisture loss during frying of potato slices from c. v. Record U. K. tubers[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 1987,(22): 233-241.
- [3] Krokida M K, Oreopoulou V. Water loss and oil uptake as a function of frying time[J]. *Journal of Food Engineering*, 2000,44: 39-46.
- [4] 王肇慈. 粮油食品品质分析[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999.
- [5] 沈泽洞, 黄键豪. 鲢鱼低温真空油炸的研究[J]. 食品工业科技, 2001,22:26-29.
- [6] 刘勤生, 蔡振群. 果蔬脆片生产中冷冻及油炸条件对脆片质量的影响[J]. 食品科学, 1998,19:19-23.
- [7] 高建华, 梁宇. 真空油炸甘薯脆片的研究[J]. 食品工业科技, 1999, 20:30-33.

(责任编辑:朱 明)

(上接第 39 页)

- [5] 毛友昌, 彭旦明. 2 种工艺制备的鲜竹沥药效学比较[J]. 江西中医学院学报, 2000,12(1):38-40.
- [6] 黄河. 浅谈竹沥的临床用法[J]. 湖北中医杂志, 1999,21(增刊):81.
- [7] 中村和善. 竹——魅力与市场开拓[M]. 东京:番株式会社, 1996. 16-23.
- [8] 黄健屏, 林亲雄, 宋贤聚. 竹醋 4 种分馏物的抑菌试验[J]. 中南林学院学报, 1999,19(3):82-84.
- [9] 渡部勋. 论竹炭、竹醋液的生产与销售[A]. 福冈县水产林务部林政课. 第 36 届日本全国竹子大会专集[C]. 福冈:全日本竹产业联合会福冈县特用林产振兴会, 1995. 1-2.
- [10] 张文标, 叶良明, 刘力德, 等. 竹醋液的组分分析[J]. 竹子研究汇刊, 2001,20(4):72-77.
- [11] 周德庆. 微生物学实验[M]. 上海:科学技术出版社, 1999.
- [12] 张伟, 袁耀武, 檀建新, 等. 竹叶防腐剂研究[J]. 添加剂与检测, 1999,6(2):37.
- [13] 池嶋 庸元. 竹炭・竹酢液のつくり方と使い[M]. 东京都:农山鱼村文化协会发行所, 1999. 1-102.
- [14] 池嶋 庸元. 竹炭は效く[M]. 东京都:致知出版社, 1999. 1-100.
- [15] 战广琴, 黄有凯, 李耀亭. 香茅醛对黑曲霉有关形态及结构影响的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2003,30(2):220-223.

(责任编辑:杨 勇)