

· 研究报告 ·

啤酒花中黄酮类成分的含量分析

李常惠^{1,3}, 许月明^{2,3}, 张巧艳³, 韩婷^{1,3}, 辛海量³ (1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007; 3. 第二军医大学药学院, 上海 200433)

[摘要] **目的** 建立啤酒花中总黄酮和黄腐酚含量测定方法, 对来自不同产地和品种的 29 个啤酒花样品中的总黄酮和黄腐酚进行测定。**方法** 用芦丁- AlCl_3 分光光度法测定总黄酮的含量; 用 HPLC-UV 法测定黄腐酚的含量。色谱条件: 色谱柱为 Dikma Technologies Diamonsil C_{18} 柱 (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-1% 冰醋酸梯度洗脱, 流速为 1.0 ml/min; 柱温为 25 $^\circ\text{C}$; 检测波长为 370 nm。**结果** 总黄酮回归方程为 $A = 30.345C + 0.0168$, $r = 0.9999$; 黄腐酚回归方程为 $A = 55.446C + 9.0405$, $r = 0.9999$, 表明总黄酮在 20.2~404.0 $\mu\text{g/ml}$, 黄腐酚在 2.152~43.040 $\mu\text{g/ml}$ 范围内, 线性关系良好, 两者精密度和重复性 RSD 均 $< 2\%$, 平均加样回收率分别为 102.71% 和 100.21%。**结论** 不同种类的啤酒花之间, 总黄酮和黄腐酚含量存在巨大差异, 进口啤酒花优于国产。

[关键词] 啤酒花; 总黄酮; 黄腐酚

[中图分类号] R284.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2018)01-0064-04

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2018.01.013

Analysis of flavonoids contents of hops

LI Changhui^{1,3}, XU Yueying^{2,3}, ZHANG Qiaoyan³, HAN Ting^{1,3}, XIN Hailiang³ (1. School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250355, China; 2. School of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China; 3. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective** To determine the contents of total flavonoids and xanthohumol in hop from 29 different countries and regions. **Methods** Rutin colorimetric method was used to determine the content of total flavonoids. HPLC-UV method was established for the determination of xanthohumol in hops. HPLC method was performed by Dikma Technologies Diamonsil C_{18} (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase acetonitrile-1% glacial acetic acid solution at the flow rate of 1.0 ml/min. The column temperature was 25 $^\circ\text{C}$. The detection wavelength was 370 nm. **Results** The equation of linear regression of total flavonoids was $A = 30.345C + 0.0168$, $r = 0.9999$. The equation of linear regression of xanthohumol was $A = 55.446C + 9.0405$, $r = 0.9999$. Their linear ranges were respectively 20.2-404.0 $\mu\text{g/ml}$, 2.152-43.040 $\mu\text{g/ml}$, which indicated a good linear relationship. The RSDs of precision and repeatability were less than 2%. The average recoveries of flavonoids and xanthohumol were respectively 102.71% and 100.21%. **Conclusion** The contents of total flavonoids and xanthohumol in different hops varieties are significantly different and the import hops was better than the domestic hops in this study.

[Key words] *Humulus lupulus* L.; total flavonoids; xanthohumol

啤酒花 (*Humulus lupulus* L.) 为桑科葎草属多年生草质蔓生藤本植物, 在全世界广为栽培^[1]。新疆地区光照充足, 昼夜温差大, 是野生啤酒花在我国的主要分布地区^[2]。其雌性球穗花序不仅是酿造啤酒的添加原料, 还在全球广泛作为药物应用。啤

酒花具有健胃、消食、利尿、安神、止咳化痰之功效, 可用于治疗食欲不振、腹胀、肺结核、胸膜炎、失眠、瘰疬、浮肿、膀胱炎等^[3], 在我国被作为民族药 (中药) 收录于多种典籍, 是药食兼用的新疆特色资源植物。啤酒花中含有丰富的黄腐酚、去甲基黄腐酚和黄奎芹素等黄酮类成分, 其中黄腐酚为啤酒花的特有成分, 含量占啤酒花干重的 0.1%~1%, 为啤酒花总黄酮的代表成分, 具有较高的开发价值^[4]。本实验分别使用分光光度法测定啤酒花中总黄酮成分含量, 用 HPLC 法测定黄腐酚含量, 并对来自不同国家和地区的 29 个啤酒花样品中的总黄酮和黄腐酚含量进行分析, 以期对啤酒花质量评价提供参考。

[基金项目] 国家自然科学基金 (U1603283)

[作者简介] 李常惠, 硕士研究生, Tel: 13262677537, Email: 1121998662@qq.com

[通讯作者] 韩婷, 硕士生导师, 副教授, 研究方向: 中药资源及品质评价, Tel: (021) 81871306, Email: than917@163.com; 辛海量, 硕士生导师, 副教授, 研究方向: 中药资源、抗骨质疏松药理学, Tel: (021) 81871300, Email: hailiangxin@163.com

1 仪器与试剂

1.1 仪器

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); DL-1000B 智能超声波清洗机(上海之信仪器有限公司); AG285 型电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); 岛津 LC-20AD 高效液相色谱仪(配有四元梯度系统, DAD 检测器); 色谱柱 Dikma Technologies Diamonsil C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm); LC-solution 色谱工作站。

1.2 药材和试剂

啤酒花样品于 2017 年 3 月至 4 月收集于不同国家和地区(表 1), 并经第二军医大学药学院生药教研室辛海量副教授鉴定。对照标准品: 芦丁(CAS:153-18-4, 纯度≥97%, 上海源叶生物科技有限公司); 黄腐酚(CAS:6754-58-1, 纯度≥98%, 上海历鼎生物技术有限公司); 纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司); 色谱纯乙腈(国药集团化学试剂有限公司), 色谱纯甲醇(阿达玛斯试剂有限公司), 氯化铝(AlCl₃, 上海泰坦科技股份有限公司); 其余试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 啤酒花总黄酮含量测定

2.1.1 溶液的制备

对照品溶液: 精确称取 5.60 mg 芦丁对照品, 用甲醇溶解并定容至 25 ml, 得 0.224 mg/ml 的对照品标准液。

供试品溶液: 取粉碎干燥后的啤酒花样品 1.0 g, 用石油醚回流加热 1 h, 除去色素及酯类, 过滤后将啤酒花中残留的石油醚挥干, 用 50 ml 体积分数为 70% 的甲醇 30 °C 超声提取 1 h, 离心得上清液, 按上述条件重复超声提取 1 h, 合并 2 次上清液, 用体积分数为 70% 甲醇定容至 100 ml, 即得供试品溶液。

2.1.2 标准曲线的建立

分别精密吸取芦丁对照品溶液 0.1、0.25、0.5、1.0、1.5、2.0 ml, 置于 10 ml 容量瓶中, 各加入 0.1 mol/L AlCl₃ 溶液 3 ml, 静置 3 min 后加入 1 mol/L 乙酸钾溶液 5 ml, 再放置 45 min 后于 420 nm 处测定吸光度值。以芦丁质量浓度(C)为横坐标, 吸光度值(A)为纵坐标, 绘制标准曲线, 得到回归方程: $A = 30.345C + 0.0168$, $r = 0.9999$, 线性范围: 20.2~404.0 μg/ml。

2.1.3 精密度试验

精密吸取芦丁对照品溶液 1.0 ml, 共 6 份, 按“2.1.2”项下方法测定吸光度值, 计算 RSD 为 0.30% ($n=6$), 表明方法精密度良好。

2.1.4 加样回收率试验

精密吸取供试品溶液 1.0 ml, 共 6 份, 分别加入芦丁对照品溶液 0.2、0.4、0.6 ml, 按“2.1.2”项下的比色条件, 测定吸光度值, 计算平均回收率为 102.71%, RSD 为 1.29% ($n=6$), 表明方法加样回收率良好。

2.1.5 稳定性试验

精密吸取供试品溶液 1.0 ml, 按“2.1.2”项下的比色条件, 每 10 min 测定一次吸光度值, 共 6 次, RSD 为 1.40% ($n=6$), 说明供试品溶液在 60 min 内稳定。

2.1.6 样品含量测定

精密吸取各产地样品供试品溶液 1.0 ml, 按“2.1.2”项下方法测定总黄酮含量($n=3$), 结果见表 1。

2.2 啤酒花黄腐酚含量测定

2.2.1 色谱条件

色谱柱 Dikma Technologies Diamonsil (钻石) C₁₈ 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。采用流动相梯度洗脱: 0 min, 乙腈(A):1% 冰醋酸(B)=50:50; 20.1 min, 乙腈(A):1% 冰醋酸(B)=80:20。流速:1.0 ml/min; 进样量 10 μl; 柱温:25 °C; 检测波长:370 nm。

2.2.2 溶液的配制

对照品溶液: 精密称取黄腐酚标准品 5.38 mg 于 25 ml 容量瓶, 用甲醇定容摇匀, 得到黄腐酚含量为 0.215 mg/ml 的对照品溶液, 保存备用。

供试品溶液: 按“2.1.2”项中供试品溶液的制备方法制备。

2.2.3 系统适应性试验

在选定的色谱条件下, 以对照品溶液和供试品溶液分别进样, 测得黄腐酚与相邻色谱峰分离度均>1.5, 理论板数为 46 650.153, 拖尾因子为 0.95~1.05, 黄腐酚的保留时间为 14.85 min。色谱图见图 1。

2.2.4 标准曲线的建立

将对照品原液以甲醇依次稀释为 2.152、4.304、8.608、12.912、17.216、21.520、43.040 μg/ml 7 个梯度的浓度, 摇匀。将各对照品溶液分别用 0.45 μm 滤膜过滤进样。以峰面积(A)为纵坐标, 以溶液浓度(C)为横坐标, 进行线性回

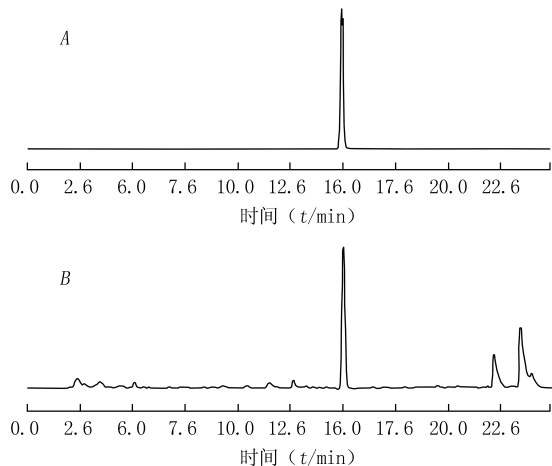


图1 啤酒花的HPLC图
A.对照品溶液;B.供试品溶液

归,得标准曲线方程为: $A = 55\,446\ C + 9\,040.5$,
 $r = 0.999\,9$,线性范围 $2.152 \sim 43.040\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.2.5 精密度试验

精密吸取浓度 $42.200\ \mu\text{g}/\text{ml}$ 的对照品溶液,重复进样6次,平均峰面积为 $2\,189\,660.167$,RSD为 1.09% ,表明精密度良好。

2.2.6 加样回收率试验

精密称取1号啤酒花样品粉末 $1.0\ \text{g}$,共6份,分别加入 $2.026, 2.430, 3.105\ \text{mg}$ 的黄腐酚标准品各3份,制备供试品溶液,吸取 $10\ \mu\text{l}$ 测定,得平均回收率为 100.21% ,RSD为 2.57% ($n=6$),表明加样回收率良好。

2.2.7 稳定性试验

取同一供试品溶液 $1.0\ \text{ml}$,分别于 $0, 1, 2, 4, 8, 12, 24\ \text{h}$ 时进样测定峰面积,RSD为 1.86% ,表明该溶液在 $24\ \text{h}$ 内稳定。

2.2.8 样品含量测定

取不同产地样品的供试品溶液进样测定,进样量 $10\ \mu\text{l}$,以测定的峰面积代入标准曲线,计算黄腐酚的含量($n=3$),结果见表1。

表1 啤酒花中总黄酮和黄腐酚含量测定结果

序号	购买年月	品种	产地	总黄酮(%)				黄腐酚(%)			
				1	2	3	均值	1	2	3	均值
1	2017年4月	马可波罗	新疆维吾尔自治区	1.41	1.42	1.43	1.42	0.29	0.29	0.29	0.29
2	2017年4月	野生	新疆维吾尔自治区	1.07	1.07	1.07	1.07	0.07	0.08	0.09	0.08
3	2017年3月	青岛大花	新疆维吾尔自治区	1.42	1.41	1.40	1.41	0.25	0.25	0.25	0.25
4	2017年3月	青岛大花	新疆维吾尔自治区	1.41	1.41	1.41	1.41	0.33	0.34	0.35	0.34
5	2017年4月	青岛大花	广西省	1.26	1.27	1.25	1.26	0.07	0.07	0.07	0.07
6	2017年4月	青岛大花	山东省	1.24	1.24	1.24	1.24	0.25	0.23	0.24	0.24
7	2017年3月	青岛大花	新疆维吾尔自治区	1.48	1.46	1.47	1.47	0.30	0.28	0.29	0.29
8	2017年4月	青岛大花	陕西省	1.63	1.63	1.63	1.63	0.34	0.33	0.32	0.33
9	2017年4月	Citra 西楚	美国	1.48	1.49	1.47	1.48	0.49	0.51	0.50	0.50
10	2017年3月	Amarillo 亚麻黄	美国	1.59	1.59	1.59	1.59	0.33	0.33	0.33	0.33
11	2017年4月	Vanguard 先锋	美国	2.36	2.35	2.34	2.35	0.49	0.47	0.48	0.48
12	2017年4月	SAAZ 萨兹	捷克共和国	1.93	1.92	1.94	1.93	0.35	0.35	0.35	0.35
13	2017年4月	Golding 金牌	美国	2.08	2.06	2.07	2.07	0.20	0.19	0.21	0.20
14	2017年3月	Palisade 芭乐西	美国	2.17	2.17	2.17	2.17	0.49	0.47	0.48	0.48
15	2017年3月	Hersbrucker 赫兹布鲁克	德国	3.11	3.09	3.10	3.10	0.19	0.19	0.19	0.19
16	2017年4月	Centennial 世纪	美国	1.51	1.51	1.48	1.50	0.27	0.26	0.25	0.26
17	2017年4月	Polaris 北极星	德国	2.34	2.34	2.34	2.34	0.65	0.63	0.64	0.64
18	2017年3月	Willamette 威廉麦特	美国	2.15	2.15	2.15	2.15	0.45	0.45	0.45	0.45
19	2017年4月	Perle 佩勒	美国	2.17	2.16	2.15	2.16	0.59	0.57	0.58	0.58
20	2017年4月	Northern Brewer 北酿	英国	1.64	1.65	1.66	1.65	0.65	0.63	0.64	0.64
21	2017年3月	卡斯卡特	美国	2.66	2.68	2.67	2.67	0.26	0.26	0.26	0.26
22	2017年4月	马革努门	德国	1.42	1.42	1.42	1.42	0.42	0.40	0.41	0.41
23	2017年4月	MT HOOD 胡德峰	美国	1.88	1.89	1.87	1.88	0.26	0.26	0.26	0.26
24	2017年4月	Chinook 奇努克	美国	1.54	1.54	1.54	1.54	0.45	0.45	0.45	0.45
25	2017年4月	Citra 西楚	美国	2.21	2.19	2.20	2.20	0.53	0.52	0.51	0.52
26	2017年3月	Tradition 哈拉道-传统	德国	2.16	2.13	2.16	2.15	0.31	0.31	0.31	0.31
27	2017年4月	Hull Melon 甜瓜	德国	2.26	2.26	2.26	2.26	0.36	0.36	0.36	0.36
28	2017年4月	STERLING 斯特林	美国	1.87	1.87	1.87	1.87	0.39	0.41	0.40	0.40
29	2017年4月	Mosaic 摩西香	美国	1.73	1.73	1.73	1.73	0.35	0.35	0.35	0.35

注:“品种”均为当地的习称

3 讨论

本研究结果表明,不同类型的啤酒花之间总黄酮含量和黄腐酚含量存在很大差异。总黄酮含量最高者为德国的赫兹布鲁克(Hersbrucker, 3.10%),最低者为新疆的野生啤酒花(1.07%),相差近3倍。黄腐酚含量最高者为德国的北极星(Polaris)和英国的北酿(Northern Brewer),含量均为0.64%,最低者为广西的青岛大花(0.07%),最高者与最低者相差了近10倍,与文献报道结果具有一致性^[5]。国外栽培的啤酒花品种中的总黄酮和黄腐酚含量普遍优于国产品种^[6]。目前,我国的啤酒花产业存在品种少、花色单一、根系老化等问题,与国外还存在一定差距。为了丰富我国啤酒花市场,推动我国啤酒花产业的发展,利用我国丰富的野生啤酒花种质资源^[7],培育适合我国生态条件、丰产优质的新品种啤酒花是当务之急。

【参考文献】

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志第二十三卷第一分册[M].北京:科学出版社,1998,221.
- [2] 徐基平,张霞,刘海英,等.啤酒花的地理分布与中国的野生啤酒花资源[J].干旱区研究,2008,22(1):179-183.
- [3] Zanolli P, Zavatti M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L[J]. J Ethnopharmacol, 2008, 116(3):383-396.
- [4] 李隽,崔承彬,蔡兵,等.啤酒花黄酮的研究进展[J].中草药,2008,39(7):1110-1114.
- [5] 朱晓建,段开红,张五九,等.不同种类啤酒花中黄腐酚含量的研究[J].食品与发酵工业,2008,34(10):137-140.
- [6] 再生斌.甘肃省啤酒花产业发展现状、存在问题及发展对策[J].浙江农业科学,2013,(11):1532-1535.
- [7] 王仿,张霞,刘海英,等.新疆野生啤酒花总黄酮含量的比较研究[J].酿酒科技,2008,(12):27-29.

【收稿日期】 2017-08-14 【修回日期】 2017-10-30

【本文编辑】 李睿旻

(上接第63页)

系列苯环无羟基红景天苷衍生物的抗疲劳活性结果一致。综合以上结果提示,红景天苷及其衍生物苯环4位羟基与其抗疲劳活性可能密切相关。

【参考文献】

- [1] 肖妤,李绍平,王一涛.红景天苷药理研究进展[J].实用医院临床杂志,2006,3(3):98-99.
- [2] 张文生,朱陵群,牛福玲,等.红景天苷对缺氧/缺糖损伤神经细胞的保护作用[J].中国中药杂志,2004,29(5):459-462.
- [3] 宋月英,齐刚,李亚萍,等.红景天苷对全脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织肿瘤坏死因子- α 表达的影响[J].中草药,2006,37(6):907-908.
- [4] 盛长忠,元英进,姜燕.库页红景天的研究进展[J].中草药,2004,35(6):699-702.
- [5] 许建峰,应佩青.高山红景天资源应用与开发研究进展[J].中草药,1998,29(3):202-205.
- [6] 纪淑芳,周亚青.红景天甙的合成[J].沈阳药学院学报,1987,3(4):192-194.
- [7] 郭益冰,郑成,孟颖,等.红景天苷及其类似物的合成[J].南通大学学报(自然科学版),2009,8(4):29-35.

- [8] 徐利锋,曹迪,姜帆,等.红景天苷合成工艺[J].辽宁大学学报(自然科学版),2014,41(1):71-75.
- [9] 张翼轩,张昌浩,赵春晖,等.红景天苷的全合成[J].合成化学,2014,22(6):813-816.
- [10] 陈辉,崔颖,李灵芝.红景天苷类似物的合成[J].第三军医大学学报,2012,34(11):1057-1061.
- [11] 邓梅,吴振刚,刘雪英,等.红景天苷及其类似物的合成[J].第四军医大学学报,2007,28(16):1501-1502.
- [12] Li H, Li Q, Cai MS, *et al.* Synthesis of galactosyl and lactosyl derivatives as potential anti-metastasis compounds[J]. Carbohydr Res, 2000, 328(4): 611-615.
- [13] Kanth J V B, Periasamy M. Selective reduction of carboxylic acids into alcohols using sodium borohydride and iodine[J]. J Organ Chem, 1991, 56(20): 5964-5965.
- [14] 谭兴起,郭良君,孔飞飞,等.络石藤三萜总皂苷抗疲劳作用的实验研究[J].解放军药学报,2011,27(2):128-131.
- [15] 张俊,吴振刚,王庆伟,等.红景天苷系列类似物的设计合成及抗疲劳活性初筛[J].第四军医大学学报,2009,30(19):1916-1918.

【收稿日期】 2017-06-14 【修回日期】 2017-07-17

【本文编辑】 李睿旻