

啤酒花总黄酮的超声波提取及含量测定

韩海霞, 包晓玮, 朱金芳, 王颖* (新疆农业大学药学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要 [目的] 对啤酒花总黄酮进行提取和含量测定。[方法] 采用超声波技术辅助乙醇回流法提取啤酒花总黄酮, 用分光光度法进行了含量测定。[结果] 啤酒花总黄酮的含量为42.8 ng/g, 平均回收率为99.5%, RSD=2.4% (n=6), 与传统法相比, 提取率增长了16.3%。[结论] 首次运用超声波技术从啤酒花中提取出总黄酮, 提取纯度较高, 方法简单、易操作, 无任何污染, 是提取啤酒花中黄酮类物质的有效、便捷的方法。

关键词 超声波; 提取; 啤酒花; 总黄酮; 鉴别

中图分类号 S571.9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)15-06362-02

Extraction and Identification of Total Flavanone from *Humulus Lupulus* L.

HAN Hai-xia et al (College of Pharmacology, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052)

Abstract [Objective] The total flavanone of *Humulus Lupulus* L. was extracted and determined in the experiment. [Methods] Total flavanone of *Humulus Lupulus* L. was extracted with ultrasonic wave technique. Its content was determined with spectrophotometry. [Results] The total flavanone content of *Humulus Lupulus* L. was 42.8 ng/g, recovery rate was 99.5% and RSD was 2.4% (n=6). Compared with the orthodox method, more than 16.3% of extraction rate was produced. [Conclusion] Total flavanone of *Humulus Lupulus* L. was extracted with ultrasonic wave technique for the first time, and the method was simple, convenient and no pollution. It can be used for the extraction of the total flavanone of *Humulus Lupulus* L.

Key words Ultrasonic wave; Extraction; *Humulus Lupulus* L.; Total flavanone; Identification

啤酒花(*Humulus Lupulus* L.) 又名蛇麻花、野酒花、酒花等, 为桑科草属多年生草质蔓生藤本植物, 其雌性球穗花序简称酒花, 是啤酒酿造的原料之一。啤酒花中蛇麻酮具有强烈的雌激素样作用^[1], 还含有黄酮苷、黄酮醇及异戊二烯基查儿酮等黄酮类化合物^[2], 具有一定的药用价值。目前国内对啤酒花总黄酮的提取及含量测定的相关文献的报道较少。天然植物总黄酮的提取方法有超声波辅助提取法、热水提取法、醇提法、碱性水或碱性稀醇提取法、其他有机溶剂萃取法、超滤法、树脂法和酶法、超临界流体提取法等, 其中超声波法具有耗能低、效率高、不破坏有效成分的特点。但应用超声波技术提取啤酒花总黄酮的研究尚未见报道, 为此, 笔者采用超声波法进行了啤酒花中总黄酮的提取、鉴别及含量测定, 提取率高, 方法简便可行。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 啤酒花。摘自新疆昌吉农田, 经鉴定为青岛大花, 室温阴干, 置鼓风干燥箱中于70℃烘干2 h, 用小型粉碎机粉碎, 过60目网筛, 藏于阴暗处, 备用。

1.1.2 试剂。芦丁对照品(购于中国药品生物制品检定所); 亚硝酸钠, 硝酸铝, 氢氧化钠, 石油醚, 无水乙醇, 均为分析纯。

1.1.3 仪器设备。RE52B 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); DZF-6090 真空干燥箱(上海-恒科学仪器有限公司); KQ5200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 721 可见分光光度计(上海欣茂仪器有限公司); 电子分析天平(上海明桥精密科学仪器有限公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的制定^[3]。精密称取干燥至恒重的芦丁对照品10 mg, 加60%热乙醇使其溶解, 用60%乙醇定容至100 mL, 摇匀, 得芦丁对照品溶液。分别精密吸取0.05、1.0、2.0、

3.0、4.0、5.0 mL 芦丁对照品溶液, 置于10 mL 容量瓶中, 加5%亚硝酸钠溶液0.3 mL, 摇匀, 静置6 min; 再加10%硝酸铝溶液0.3 mL, 摇匀, 静置6 min; 再加4%氢氧化钠溶液4.0 mL, 以试剂为空白, 于508 nm 处测其吸光度。

1.2.2 供试品溶液的制备。精密称取啤酒花粉末1 g, 加50 mL 60%乙醇, 于60℃下超声波提取30 min, 趁热抽滤。滤渣再用25 mL 60%乙醇超声提取20 min, 抽滤, 合并两次滤液, 分别用石油醚反复萃取3次, 每次10 min, 分出石油醚留待回收。乙醇提取液减压蒸馏回收乙醇, 烧瓶内溶液浓缩至30 mL 左右时, 将浓缩液移置100 mL 容量瓶中, 用60%乙醇稀释至刻度, 得啤酒花总黄酮供试液。

1.2.3 总黄酮含量的测定。精密吸取总黄酮供试液, 共3份, 分别按“1.2.1”方法加入显色剂, 静置, 以试剂为空白, 于508 nm 处测得吸光度, 代入回归方程计算。

1.2.4 精密度试验。取同一批啤酒花粉末, 精密称取6份, 按“1.2.2”方法制备供试品溶液, 并照“1.2.1”方法测定。

1.2.5 回收率试验。精密称取已知含量的本品, 共9份, 每份约0.5 g, 分3个等级, 每个等级3份, 分别精密加入0.1 ng/mL 的芦丁对照品溶液2.0、4.0、6.0 mL, 按“1.2.2”方法制备供试品溶液, 并照“1.2.1”方法于508 nm 波长处分别测定吸光度, 最终得低、中、高3种加入量的回收率(n=3)。

1.2.6 稳定性试验。精密吸取供试品溶液, 按照“1.2.1”方法, 自显色后, 以试剂为空白, 于508 nm 处, 室温条件下, 每隔10 min 测1次吸光度, 共测6次。

1.2.7 与传统法的比较。精密称取啤酒花粉末, 加50 mL 60%乙醇, 于60℃下, 回流提取30 min, 趁热抽滤。滤渣再用25 mL 60%乙醇回流提取20 min, 照“1.2.2”方法操作, 得啤酒花总黄酮提取液, 精密吸取总黄酮提取液, 共3份, 分别按“1.2.1”方法操作, 得其平均吸光度, 代入回归方程计算含量。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的制作 用芦丁对照品溶液所得的浓度与吸光度数据进行回归, 得回归方程: $y = 13.529x + 0.0059$, $R = 0.9996$, 在0~0.05 ng/mL 浓度范围内具有良好的线性关系。

作者简介 韩海霞(1979-), 女, 甘肃定西人, 在读硕士, 助教, 从事药物化学与药物分析研究。* 通讯作者, 教授, E-mail: vy2028@yahoo.com.cn。

收稿日期 2008-03-19

2.2 啤酒花总黄酮的提取 由表1可知,超声波辅助提取法与传统法相比,总黄酮的提取率提高了16.3%。

表1 超声波辅助提取法对总黄酮提取率的影响

Table 1 Effects of supersonic assisted method on the extration rate of total flavonoids

方法 Method	提取时间 min Extration time		平均含量 ng/g Average content
	50 ml 乙醇 50 ml alcohol	25 ml 乙醇 25 ml alcohol	
	超声波提取 Supersonic extraction	30	
传统法提取 Tradition extraction	30	20	36.8

2.3 试验精密度 试验结果表明,1~6份样品中总黄酮以浓度求得RSD为2.4%(n=6),表明该方法重复性良好。

2.4 试验回收率 由表2可知,3个等级的样品中芦丁回收率分别为99.3%、99.4%和99.8%,平均回收率为99.5%(n=9),RSD=1.2%,表明该方法回收率较高,方法可行。

表2 回收率试验

Table 2 Test on recovery rate

样品 g Sample	加标量 ng Addition amount	测得量 ng Measured content	回收率 % Recovery rate
0.5046	0.2	21.789	99.5
0.4989	0.2	21.546	97.0
0.5012	0.2	21.654	101.4
0.5051	0.4	22.015	99.2
0.4973	0.4	21.685	100.1
0.5008	0.4	21.829	98.8
0.5059	0.6	22.249	99.5
0.5079	0.6	22.339	100.2
0.4998	0.6	21.989	99.7
平均回收率 % Average recovery rate	99.5		
RSD %	1.2		

2.5 试验稳定性 试验结果表明,啤酒花总黄酮显色液以吸光度计算RSD为0.3%,说明显色液在60min内基本稳定。

(上接第6355页)

2.5 质量验证结果 大棚遮阴处理的4个样品经过山东中烟工业公司技术中心济南研究所(国内4个雪茄烟研究中心之一)质量验证,在外观质量方面世纪一号身份最薄、四川包皮身份最厚,弹性和油分均较好,软尖杆的支脉较粗且不够平直,其余3个支脉较细而平直。在内在质量方面,4个品种之间的差异不大。整体评价4个品种都可作为低档雪茄内包烟,世纪一号相对稍好,还可作为中档雪茄的内包烟。

3 讨论

(1)研究表明,桐乡地区的晒红烟经过遮阴等科学栽培和调制,其烟叶外观和内在质量基本达到国内中低档雪茄包

3 结论与讨论

(1)试验结果表明,该方法工艺简单,回收率为99.5%,利用超声波法提取到的啤酒花总黄酮含量为42.8ng/g,与传统法相比,总黄酮的提取率提高了16.3%。超声波能促使植物细胞破壁,使植物中有效成分充分与有机溶剂接触,既能增高提取效率,缩短提取时间,又达到节能的目的,此方法采用全物理过程,无任何污染,是理想的提取黄酮类物质的途径,具有广阔的应用前景。

(2)在提取的过程中,啤酒花中的色素同时被提取出来,影响总黄酮含量测定结果,使结果偏高,该试验用石油醚对总黄酮提取液萃取3次,去除色素后再进行含量测定,效果较好。

(3)黄酮类化合物为亲水性极性化合物,提取过程中应选择合适的溶剂,以保证其最大提取率,因此,该试验以甲醇、乙醇、水为溶剂进行提取,比较了三者的提取率,结果表明乙醇的提取效果好,所以最终选择了超声波辅助乙醇回流法。由于黄酮类化合物在高温时易发生水解,因此控制适宜的温度也是关键因素之一,且从节省能源的角度考虑,应该筛选提取溶剂乙醇的最佳浓度,结合药化实验室的筛选结果,该试验采用60%乙醇作为提取溶剂,提取温度为60℃,在低温条件下,采用水-乙醇溶剂系统可大大降低总黄酮的水解,保证了提取率。

(4)近年来,世界上掀起了植物药开发的热潮,植物药以其天然低毒的特点备受青睐,而黄酮类化合物以其广谱的药理作用倍受关注。啤酒花中含有较为丰富的总黄酮,我国啤酒花资源丰富,种植面积和产量均居世界前列,但啤酒花制作啤酒后回收利用较少,与发达国家相比,我国啤酒花资源的开发和利用程度还相距甚远,并未形成产业优势。因此,综合利用啤酒花产物的功能成分,提高其经济效益应是啤酒花资源开发的重要方向。

参考文献

- [1] 王春阳,罗正东,赵丽. 中药啤酒花的生药鉴定[J]. 中医药信息,1997(3):20.
- [2] STEVENS J F, MIRANDA C L, BUHLER D R, et al. Chemistry and biology of hop flavonoids[J]. J Am Soc Brew Chem,1998,56:136.
- [3] 阳文辉,李卫彬,黄锁义,等. 超声波提取花生壳总黄酮及鉴别[J]. 微量元素与健康,2006,23(5):28-30.

皮烟的要求,而离高档次的雪茄包皮烟尤其是外包皮烟尚有一定差距。还需继续引进优良品种或者进一步开展雪茄烟品种的改良,以达到或接近优质雪茄包皮烟的质量要求。

(2)雪茄包皮烟的开发成功,与传统的晒烟相比,经济效益明显提高,市场前景良好,但由于生产投入较大,要进一步扩大栽培面积需要政府和行业公司给予扶持。

参考文献

- [1] 黄一兰,李文卿,陈顺辉,等. 移栽期对烟株生长、各部位烟叶比例及产、质量的影响[J]. 烟草科技,2001(11):38-40.
- [2] 赵铭钦,刘国顺. 香料烟陈化过程中烟叶化学成分与品质变化的研究[J]. 中国烟草学报,2006,12(2):29-34.
- [3] 刘国顺,刘韶松,贾新成,等. 烟田施用有机肥对土壤理化性状和烟叶香气成分含量的影响[J]. 中国烟草学报,2005,11(3):29-33.