

黄腐酚的研究现状及啤酒酿造应用前景

王超群¹,谷方红²,王德良²,段开红¹,江伟²

(1.内蒙古农业大学生物工程学院,内蒙古 呼和浩特 010018;2.中国食品发酵工业研究院,北京 100027)

摘要: 黄腐酚是由酒花所分泌产生的,属于异戊烯类黄酮化合物(Xanthohumol,简称 Xn)。黄腐酚具有抗癌、预防和治疗糖尿病、抗氧化等多种生理活性。黄腐酚的提取方法主要有:有机溶剂提取、大孔树脂吸附、超声技术提取、高速逆流色谱提取法。饮用啤酒是人体吸收黄腐酚的唯一方法,通过提高啤酒中黄腐酚的含量,可提高人体对黄腐酚的摄入量,可采用在啤酒酿造工艺过程提高啤酒的黄腐酚含量。(孙悟)

关键词: 啤酒; 酒花; 黄腐酚; 提取

中图分类号:TS262.5;TS261.4

文献标识码:B

文章编号:1001-9286(2009)11-0108-03

Research Advance in and Application Prospects of Xanthohumol in Beer Production

WANG Chao-qun¹,GU Fang-hong²,WANG De-liang²,DUAN Kai-hong¹ and JIANG Wei²

(1. Bioengineering College of Inner Mongolia Agriculture University,Huhhot, Inner Mongolia 010018;

2. China National Research Institute of Food & Fermentation Industry, Beijing 100027, China)

Abstract: Xanthohumol is one of main flavonoids in *Humulus lupulus L* and produced by hop secretion. It has multiple physiological functions including anti-cancer, prevention and treatment of diabetes, anti-oxidation etc. The main extraction methods of xanthohumol cover organic solvent extraction, macroporous resin absorption, ultrasonic technology extraction, and supercritical fluid extraction. With the rapid development of supercritical fluid extraction internationally, such method is widely used. Compared with organic solvent extraction, supercritical fluid extraction has the advantages such as high extraction efficiency, no solvent residual, and no decomposition of active components and heat-labile components. High-speed countercurrent chromatography extraction method could be used to realize selective extraction and separation and purification through the control of temperature and pressure and the adjustment of modifier use level and modifier types. Drinking beer is the only way for xanthohumol absorption by people. In order to enhance the intake of xanthohumol for people, we could increase xanthohumol content in beer by use of proper techniques.

Key words: beer; hop; xanthohumol; extraction

黄腐酚(Xanthohumol,简称 Xn)是于 1913 年首次在酒花中被发现的,1950 年开始对其分子结构进行研究。黄腐酚是一种结构简单的含异戊二烯基的查耳酮。在树脂中至少存在 13 种相关的查耳酮,其含量比黄腐酚低得多。所有的查耳酮都有一个自由的 2'-羟基,可以异构成相应的黄烷酮。在自然界,黄腐酚是酒花(*Humulus lupulus L.*)中的特有成分,是酒花中主要的含异戊二烯基类黄酮,属于酒花硬树脂的一部分,其含量仅占啤酒花干重的 0.1%~1%。且酒花是目前发现的天然含异戊二烯基类黄酮的唯一真正来源。

1 黄腐酚的生物活性

1.1 抗癌作用

黄腐酚具有抗癌作用,主要表现在:①通过调节肿瘤形成的途径来达到预防效果。在致癌前体物向致癌物转

化的过程中,是一些诱导酶在发挥着作用。对黄腐酚的研究发现,它主要通过抑制这些诱导酶的活性,来阻止癌细胞在早期的生长^[1-2]。从而起到有效预防癌症的作用。②它有抑制癌细胞增殖的作用。在人类乳腺癌、结肠癌和卵巢癌的体外实验中,黄腐酚在癌症细胞系中显抗增殖活性^[3]。Miranda 等^[4]利用分离出的黄腐酚等 6 种黄酮,对某些癌细胞进行体外抗增殖实验。结果表明,黄腐酚对这些癌细胞的增殖都有明显的抑制作用,而且比其他 6 种黄酮抑制作用更为强烈。另外,随着癌细胞增殖时间的延长,黄腐酚的抑制浓度也需要随之增大。进一步研究表明,黄腐酚抑制癌细胞增殖的机理就在于它抑制了癌细胞 DNA 的合成,使其无法复制和表达。而对于正常细胞的生长和繁殖没有任何影响。

1.2 预防和治疗糖尿病的作用

糖尿病是一种全身性代谢紊乱性疾病,不仅会影响

收稿日期:2009-08-03

糖类的代谢,导致高血糖,还会影响蛋白质和脂质代谢,导致脂代谢紊乱和高脂血症,进而诱发其他合并症,危及生命。导致糖尿病(Ⅱ型)的原因主要是甘油三酸酯在胰岛中堆积,从而危害胰岛 β 细胞;抑制胰岛素分泌及其作用,产生胰岛素抵抗。因此,有效抑制甘油三酸酯的生物合成是防治糖尿病的关键。Tabata^[5]等人用大白鼠进行试验,研究表明黄腐酚对大白鼠肝脏中的甘油三酸酯的形成以及二酰基甘油酰基转移酶的活性具有很强的抑制作用。此外,黄腐酚对降低胆固醇,预防动脉硬化也有一定的功效。

1.3 抗氧化作用

类黄酮是植物多酚中最大的组成部分。研究发现,日常从水果和蔬菜中摄入的类黄酮能降低心血管疾病的发病率。许多研究表明,食物中的类黄酮有益于健康,并能预防疾病。这主要是由于类黄酮的抗氧化作用。黄烷酮作为一种天然抗氧化剂,已经被广泛研究。由于含异戊二烯基类黄酮食物摄入量相对较少,所以对这类物质的抗氧化作用的研究较少。Miranda等人对12种含异戊二烯基查耳酮的抗氧化能力进行了研究。结果表明,黄腐酚和脱甲基黄腐酚是最有效的。在这些研究中,黄腐酚的抗氧化效果要好于 α -生育酚,而异黄腐酚没有显示抗氧化的活性。

此外,黄腐酚还具有植物雌激素作用,对改善更年期症状有一定效果^[6]。最新的结果显示黄腐酚能有效地抑制HIV-1,且可能作为前驱化合物。它也许能成为HIV-1传染病的新化学治疗药物^[7]。黄腐酚能有效地抑制镰状疟原虫,疟疾的病原体的复制,该结果是由谷光甘肽介导降解的抑制作用和血红素的解毒作用,以及血红蛋白的寄生消化作用共同导致的^[8]。

2 黄腐酚的生产

随着黄腐酚的药理活性研究的深入,人们发现黄腐酚的重要性,黄腐酚作为药物以及食品添加剂被越来越多的人关注,所以生产黄腐酚成为必然。由于黄腐酚是酒花中特有的,从酒花中得到黄腐酚十分困难,许多专家致力于从酒花中分离出黄腐酚。黄腐酚属于黄酮类化合物,提取方法是相似的,主要有以下几种^[9]:

2.1 有机溶剂提取法

利用黄酮与混入的杂质极性不同,选用不同溶剂萃取,可达到精制纯化的目的。这是目前国内使用最广泛的方法,很容易实现工业化生产。常用的有机溶剂有甲醇、乙醇、丙酮等,但由于甲醇、丙酮等存在一定的毒性,因此一般采取乙醇为提取溶剂。

2.2 大孔树脂吸附法^[10]

吸附树脂是近10年来发展起来的一类有机高分子聚合物吸附剂,它具有物理化学稳定性高、吸附选择性独特、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、宜于构成闭路循环,节省费用等诸多优点,避免了用有机溶剂提取分离而造成的有机溶剂回收难、损耗大、成本高、易燃易爆、对环境污染严重等缺点,现被广泛用于黄酮类物质的提取。不同型号的树脂对黄酮的精制效果有较大的差异,这是因为吸附树脂理化性质不同。吸附作用的本质是吸附剂与吸附树脂分子间的范德华力。

2.3 超声技术提取法

超声技术提取是目前比较新的提取方法。近年来,超声技术已应用于提取植物中的生物碱、苷类、生物活性物质等研究。与有机溶剂提取法相比,能够有效地提高黄酮的浸出率。

2.4 高速逆流色谱提取技术

高速逆流色谱技术是一种不用任何载体或支撑体的液液分配色谱技术,由美国医学院Yiochi rolto博士于20世纪60年代末首创,该技术建立在单向性流体动力平衡体系之上,利用相对移动的互不溶解的两相溶剂,在处于动态平衡的两相中将具有不同分配比的样品组分分离。目前,已成功开发出分析型和制备型高速逆流色谱仪。HSCCC既可用于类黄酮的制备分离,又可定量,进样量可从毫克级到克级,进样体积可从1毫升到几十毫升,不但适用于弱极性类黄酮的分离,也适用于强极性的类黄酮的分离,还可用于类黄酮粗提取物中各组分的分离,也可用于进一步精制,甚至直接从精提取物一步纯化到纯品。

除此之外,还有微波辅助提取法、酶工程技术、超滤提取法、高速离心分离技术、碱液提取法以及系统溶剂提取法等。

到目前为止,已经有许多成功制备黄腐酚的工艺。山西大学的杨小兰、毛立新等发明了一项专利——一种从啤酒花中提取黄腐酚的方法,首先将啤酒花粉碎,加入石油醚充分脱脂后用乙醇进行提取,过滤,所得滤液经减压浓缩为稠膏,将此稠膏用乙酸乙酯/水进行分配,取酯相进行减压浓缩,真空干燥,获得啤酒花黄腐酚粗提取物,将啤酒花黄腐酚粗提取物用两步高速逆流色谱法进一步分离纯化,最终得到高纯度的黄腐酚,纯度高达98%以上。桂林莱茵生物科技股份有限公司的孙步祥等人发明的一项专利——一种生产含黄腐酚的啤酒花提取物的方法,获得了色泽淡黄,具有啤酒花特有气味的粉末,其黄腐酚的含量达90%以上,其制备方法为:将原料采用乙醇或甲醇水溶液提取、浓缩、大孔树脂吸附、洗脱、干燥后即可得到含黄腐酚的啤酒花提取物,含量90%以上,所得到的产品中,黄腐酚的含量高,异黄腐酚的含量少。

本课题组使用的提取方法以甲醇作为提取剂,用超声波进行提取。所使用的原料是经超临界二氧化碳萃取过的酒花残渣—酒花萃余物。提取流程是:对酒花萃余物进行超声波提取;提取液经过浓缩,与硅藻土混合均匀,先后经2种洗脱液洗脱,将收集到的洗脱液经过过滤、低

温浓缩干燥处理后,即可得到黄腐酚纯品。该黄腐酚提取工艺操作简单,降低了获得黄腐酚的成本。获得黄腐酚可广泛用于医药、化工、食品等领域。

3 黄腐酚的应用

基于黄腐酚越来越健康的特性,以及黄腐酚只存在于酒花中,所以目前来说,饮用啤酒是人们吸收黄腐酚的唯一来源。酿酒师们就想通过提高黄腐酚在啤酒中的含量,来提高人体对黄腐酚的摄入量。但是在啤酒酿造过程中,黄腐酚出现了一系列的变化:

①在麦汁煮沸过程中, α -酸能使黄腐酚同分异构化,而形成异黄腐酚(Inxanthohumol,简称Ixn)^[11]。②在麦汁煮沸时,黄腐酚大部分被氧化了,形成了异黄腐酚(图1)。③吸附作用。在麦汁煮沸阶段,部分黄腐酚吸附到热凝物中,形成沉淀被除去;在发酵过程中,部分黄腐酚吸附于酵母细胞中^[12]。④啤酒经过滤后,导致其中黄腐酚大量损失^[12]。因此,在成品啤酒中黄腐酚的含量很低,大约0.1 mg/L或更低;而异黄腐酚的含量较高,为0.04~3.44 mg/L。尽管异黄腐酚在体外测试实验中也显示了积极的效果,但与黄腐酚的活性相比要弱很多。

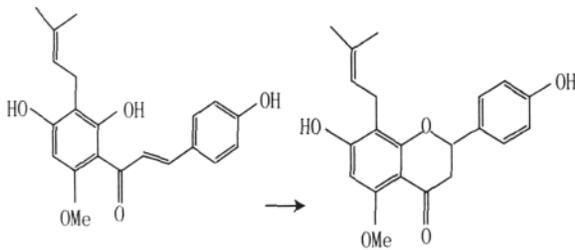


图1 黄腐酚和异黄腐酚分子结构

因此,人们通过改变酿造工艺来提高啤酒中黄腐酚的含量,主要方法有:

①通过添加富含黄腐酚的酒花产品,并采用后添加工艺,以及多次添加酵母来实现。在煮沸结束前5 min添加黄腐酚(或富含黄腐酚的酒花制品),用冷酿造水使麦汁冷却低于80℃,来抑制异构化。利用该工艺,在淡色啤酒中测出黄腐酚含量约1 mg/L。

②使用深色麦芽,可以提高啤酒中的黄腐酚含量,这是由于在深色麦芽中存在一种分子量小于3000 D的物质能够抑制黄腐酚异构化^[12]。目前,国外对富含黄腐酚的黑啤酒的研究较多,用深色麦芽(焦香麦芽、烘烤麦芽和烘烤麦芽提取物)及富含黄腐酚的酒花提取物替代酒花产品(超临界二氧化碳提取物、乙醇提取物或颗粒)结合麦汁煮沸结束的最后酒花添加工艺,极有可能生产出一种富含黄腐酚的黑啤酒。实际上,深色麦芽的使用显示出对黄腐酚的热异构化作用强大,且积极的影响。从现有文献来看,用这种方法生产出的黑啤酒中黄腐酚含量高达3.5 mg/L,而且在感官品评方面,这种啤酒的评价较好。

③在啤酒过滤后添加富含黄腐酚的酒花制品,这一工艺正处于研究阶段。初步试验表明:滤酒后添加黄腐酚,使啤酒中的黄腐酚含量增加,抗氧化能力增强,但是还存在一些问题没有解决,如啤酒的风味、浊度等。

由于黄腐酚的生物活性,它在食品和制药业中一定会有广阔的应用前景。目前,啤酒作为人们摄入黄腐酚的唯一来源,采用合适的生产工艺来提高啤酒中的黄腐酚含量是当前研究的重点。当然,每种啤酒根据加工工艺的不同,其中所含的黄腐酚,以及口感也是不同的。因此,要开发这种特殊的保健啤酒,采用哪种工艺最适合、黄腐酚的含量多少合适,是否影响风味、黄腐酚在啤酒中的稳定性等等都有待于进一步的研究。

参考文献:

- GERHAUSER C, ALTA HEISSE, et al. Cancer chemopreventive activity of xanthohumol, a natural product deprived from hop[J]. Mol Cancer Ther, 2002, 11(1): 959-969.
- HENDERSON MC, MIRANDA CL, STEVENS F, et al. In vitro inhibition of human 50 enzymes by prenylated flavonoids from hops, *Humulus lupulus* [J]. Xenobiotica, 2000, 30(3): 235-251.
- Gerhauser, C., Alt, A., Heisse, E., Gamal-Eldeen, A., Klimo, K., Knauff, J., Neumann, J., Scherf, H.R., Frank, N., Bartsch, H., Becker, H. Cancer chemopreventive activity of xanthohumol, a natural product derived from hop[J]. Cancer Ther. 2002, 1: 959-969.
- MIRANDA CL, STEVENS JF, HENDERSON MC, et al. Antiproliferative and cytotoxic effects of prenylated flavonoids from hops (*Humulus lupulus*) in human cancer cell lines[J]. Food and Chemical Toxicology, 1999, 37: 271-285.
- TABATA N, ITO M, TOMODA H, et al. Xanthohumols, diacylglycerol acyl transferase inhibitors, from *Humulus lupulus* [J]. Photochemistry, 1997, 46: 683-687.
- Jan F Stevens, Jonathan E. Xanthohumol and related prenylated flavonoids from hops and beer to your good health! [J]. Phytochemistry, 2004, 65: 1317-1330.
- Q. Wang, Z.H. Ding, J.K. Liu, Y.T. Zheng [J]. Antiviral Res. 2004, (64): 189.
- C. Gerhauser, [J]. Mol. Nutr. Food Res. 2005, (49): 827.
- 欧阳平, 张高勇, 康保安. 类黄酮的新兴提取技术原理、应用及前景[J]. 天然产物研究与开发, 2003, (6): 563-566.
- 向大雄, 李焕德, 等. 大孔吸附树脂分离纯化葛根总黄酮的研究[J]. 中国药学杂志, 2003, (1): 35-37.
- Walker, C. J., Lence, C. F. and Biendl, M., Studies on xanthohumol levels in stout/porter beer [J]. Brauwelt Int. 2003, 143: 1709-1712.
- Paulo J. Magalhães, Pavel Dostalek, José M. Cruz, Luís F. Guido, Aquiles A. Barros. The impact of a xanthohumol-enriched hop product on the behavior of xanthohumol and isoxanthohumol in Pale and Dark Beers: A Pilot Scale Approach [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2008, (3): 246-256.