

不同光照条件对啤酒花中黄腐酚异构化影响

艾丽娜·艾力, 努尔阿米乃·麦麦提, 曾卫军, 赵惠新*

(新疆师范大学新疆特殊环境物种保护与调控生物学实验室, 干旱区植物逆境生物学实验室, 乌鲁木齐 830054)

摘要: **目的** 研究不同光照条件, 如光照强度、光照时间、处理光的波长等因素对啤酒花中黄腐酚(xanthohumol, Xn)光异构化的影响。**方法** 啤酒花样品在不同光照强度、光照时间、波长和不同颜色玻璃瓶储藏条件下处理后, 于 OD_{370} 处测量 Xn 含量。**结果** 相同功率光源的紫外光引起 Xn 异构化较白光显著 ($P < 0.05$), 白光照射 Xn 样品随着光照时间和光照强度的增大, Xn 光异构化程度提高; 相同功率光源及光照时间条件下, 红光[(625±5) nm]、黄光[(590±5) nm]、绿光[(555±5) nm]、蓝光[(450±5) nm]处理引起的 Xn 异构化速度差异极显著 ($P < 0.01$), 其中蓝光最强, 其次是绿光、红光、黄光; 白光光源光照条件下, 深棕色玻璃瓶储存对 Xn 的稳定性显著优于绿色、蓝色、无色玻璃瓶等 ($P < 0.05$), 并且深棕色玻璃瓶长期储存 Xn 显著优于绿色玻璃瓶 ($P < 0.05$)。**结论** 光照时间、波长及储存条件对 Xn 光异构化有显著的影响, 且避光储存利于 Xn 稳定, 这为含有 Xn 的饮品、食品、保健品等的光照或包装条件的选择提供了依据。

关键词: 光照条件; 啤酒花; 黄腐酚; 光异构化

Effect of different light conditions on the photoisomerization of xanthohumol in hops

AILINA Ai-Li, NUERAMINAI Mai-Mai-Ti, ZENG Wei-Jun, ZHAO Hui-Xin*

(Xinjiang Key Laboratory of Special Species Conservation and Regulatory Biology, Key Laboratory of Plant Stress Biology in Arid Land, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China)

ABSTRACT: Objective To study the effects of different light conditions, like light intensity, time and wavelength on the photoisomerization of xanthohumol (Xn) in hops. **Methods** The Xn content of beer pattern was measured at OD_{370} after being treated in glass bottles with different light intensity, light time, wavelength and color. **Results** Xn isomerization induced by ultraviolet light with the same power source was more significant than that caused by white light ($P < 0.05$), and the degree of Xn isomerization increased with the increase of illumination time and intensity. Under the same power source and illumination time, the differences of Xn isomerization rate caused by red light [(625±5) nm], yellow light[(590±5) nm], green light [(555±5) nm] and blue light[(450±5) nm] were highly significant ($P < 0.01$), among which blue light was the strongest, followed by green light, red light and yellow light. Under the condition of white light source, the stability of Xn stored in dark brown glass bottles was significantly better than that in green, blue and colorless glass bottles ($P < 0.05$), and the long-term storage of Xn in dark brown glass bottle was significantly better than that in green glass bottle ($P < 0.05$). **Conclusion** The light time, wavelength and storage

基金项目: 新疆师范大学重点实验室项目(XJNUSYS112017B07)、国家自然科学基金项目(No.U1703112)

Fund: Supported by the Key laboratory Project of Xinjiang Normal University (XJNUSYS112017B07), and the National Natural Science Foundation of China (No.U1703112)

*通讯作者: 赵惠新, 副教授, 主要研究方向为生物化学与分子生物学研究。E-mail: zhaohuixin101@sina.com

*Corresponding author: ZHAO Hui-Xin, Associate Professor, School of Life Science, Xinjiang Normal University, Urumqi 830054, China. E-mail: zhaohuixin101@sina.com

conditions have significant effects on Xn photoisomerization and storage away from light is good for Xn stability, which provides experimental basis for the selection of lighting or packaging conditions for drinks, food, health products containing Xn.

KEY WORDS: light conditions; hop; xanthohumol; photoisomerization

1 引言

黄腐酚(xanthohumol, 简称 Xn)是啤酒花中的一种黄酮类物质,由酒花蛇麻腺分泌产生,其含量约占酒花干重的 0.1% ~ 1.2%^[1]。Xn 特殊的异戊二烯基结构赋予它独特的生物活性,如抗癌^[2,3]、抗病毒^[4,5]、抗炎^[6]、抗氧化^[7], Xn 降脂及药理活性在小鼠体内实验中已被证实^[8]。另外 Xn 还有治疗糖尿病^[9]和神经保护^[10]的作用。因此 Xn 在食品、保健品、制药业中具有广阔的应用前景。

由于 Xn 唯一的天然来源是啤酒花,啤酒便成为了人类摄取 Xn 的主要途径。然而, Xn 在高温^[11]、碱性^[12]及长期储存^[13]条件下容易异构化形成异黄腐酚(isoxanthohumol, 简称 IX),而 IX 的活性远远低于 Xn^[14],因此在成品啤酒中 Xn 含量较低,约 0.1 mg/L 或更低,达不到保健需要的浓度,而 IX 含量较高,约为 0.04 ~ 3.44 mg/mL^[15]。

朱晓建等^[16]研究发现年代较早、存放时间较长的酒花中 Xn 含量会有所损失。雅梅等^[17]提出直接在啤酒中添加成品 Xn 从而提高啤酒中 Xn 含量的方法,然而随着储存时间不断增加,啤酒中的 Xn 含量逐渐减少。S.Wunderlich^[18]提到利用深色麦芽酿酒,啤酒中的 Xn 含量较高。前期研究表明不同啤酒中 Xn 含量不同是由于酿造过程及储存过程造成的,并通过实验验证了较低色度的浅色啤酒,高色度的黑色啤酒对光传播阻碍作用更大,使得黑色啤酒中 Xn 含量高于浅色啤酒^[19]。本研究进一步探讨不同光照条件,如光照强度、光照时间、处理光的波长以及储存条件等因素对 Xn 稳定性的影响,初步明确 Xn 异构化与光照的关系,为啤酒及其他 Xn 制品的储存条件选择提供更明确的建议。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

啤酒花采自奇台农场酒花生产基地的札一香花。

无水乙醇、甲醇(分析纯,天津市致远化学试剂有限公司);硅藻土(宜兴市君联硅藻土有限公司);实验室用水为 Milli-Q 超纯水。

2.2 仪器与设备

FDU-1200 型冷冻干燥器(东京理化器械株式会社); KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); UV-2800 型紫外分光光度计(尤尼柯仪器有限公司); HZ-2029 型隔水式恒温培养箱(乌鲁木齐齐祥生仪器有限公

司); RE-52AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); HEAL FORCE EASY 15 超纯水仪(新疆致远科创生物科技有限公司); 20、40、60、80 W 白色光源 LED 灯、紫外灯、红色、黄色、绿色、蓝色 LED 灯管(欧普商城); 不同颜色玻璃瓶[不同玻璃瓶厚度均为(3±0.3) mm,同一玻璃瓶侧面不同部位的厚度也为(3±0.3) mm,天猫商城]。

2.3 实验方法

2.3.1 Xn 样品的提取

参照文献^[19]的方法进行操作。啤酒花样品用 45%(V/V)乙醇进行有机溶剂浸泡,超声浸提,浸提液经过滤除渣并用旋转蒸发器低温浓缩。浓缩液加入硅藻土吸附除去色素,用洗脱液(甲醇:去离子水)洗脱纯化并用旋转蒸发器低温浓缩后冷冻干燥,低温、避光保存。前期研究表明 Xn 样品在 OD₃₇₀ 有特异吸收峰,因此后续实验以 OD₃₇₀ 的值检测样品 Xn 含量。

2.3.2 白光和紫外光对 Xn 光异构化的影响

取 3 个 50 mL 烧杯,各加入 25 mL 的 Xn 样品,置于恒温箱中分别进行避光、40 W LED 白光、40 W 紫外光照射。12 h 后,检测各样品 370 nm 处的吸光度值。设 4 个重复实验。

2.3.3 光照强度对 Xn 光异构化的影响

取 5 个 50 mL 烧杯,各加入 25 mL 的 Xn 样品,置于恒温箱中分别进行避光 20、40、60、80 W LED 白光照射。12 h 后,检测各样品 370 nm 处的吸光度值。设 4 个重复实验。

2.3.4 光照时间对 Xn 光异构化的影响

取 5 个 50 mL 烧杯,各加入 25 mL 的 Xn 样品,置于恒温箱中进行 40 W LED 白光照射。分别 0、12、24、36 h 后,检测各样品 370 nm 处的吸光度值。设 4 个重复实验。

2.3.5 波长对 Xn 光异构化的影响

取 5 个 50 mL 烧杯,各加入 25 mL 的 Xn 样品,置于恒温箱中分别进行避光 40 W LED 白光(对照组)、红光[(625±5) nm]、黄光[(590±5) nm]、绿光[(555±5) nm]、蓝光[(450±5) nm]照射。12 h 后,检测各样品 370 nm 处的吸光度值。设 4 个重复实验。

2.3.6 不同颜色玻璃瓶储存条件对 Xn 光异构化的影响

分别取深棕色、红色、橙黄色、绿色、蓝色、无色玻璃瓶,各加入 25 mL 的 Xn 样品,置于恒温箱中进行 80 W LED 白光照射。12 h 后,检测各样品 370 nm 处的吸光度值。设 4 个重复实验。

2.3.7 深棕色与绿色玻璃瓶长期储存条件对 Xn 光异构化的影响

取深棕色和绿色玻璃瓶各 2 组, 每组 3 个, 分别加入 25 mL 的 Xn 样品。2 组分别进行自然光照射和避光处理。每组样品分别处理 30、90、180 d 后, 检测各样品 370 nm 处的吸光度值。设 3 个重复实验。

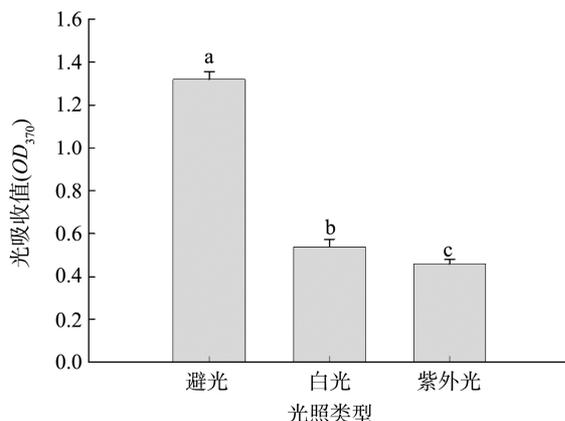
2.4 数据统计分析

采用 SPSS 21.0 统计软件对实验数据进行统计学处理, 数据处理图标均有 Sigma plot12.0 软件完成。组间比较采用 *t* 检验, 显著性水平 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为极显著。

3 结果与分析

3.1 白光和紫外光对 Xn 光异构化的影响

Xn 样品经白光和紫外光照射 12 h 后, OD_{370} 均显著降低(图 1), 即紫外光和白光照射均能极显著 ($P < 0.01$) 引起 Xn 样品异构化, 且紫外光照射引起异构化强于白光, 表明 Xn 在紫外光照射下较白光更易发生异构化, 间接表明相同的光强条件下, 波长不同引起 Xn 异构化程度不同。



注: 不同字母代表具有显著性差异($P < 0.05$)。

图 1 白光和紫外光对 Xn 光异构化的影响($n=4$)

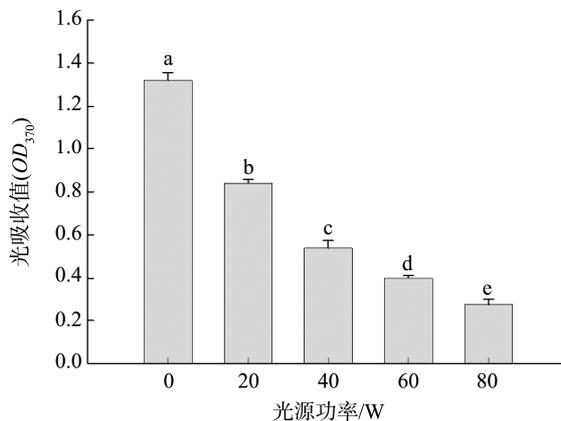
Fig.1 Effect of white light and ultraviolet light on photoisomerization of xanthohumol($n=4$)

3.2 光照强度对 Xn 光异构化的影响

Xn 样品在不同光照强度下处理 12 h 后结果如图 2 所示, 随着光照强度的增强, OD_{370} 逐渐降低, 差异极显著 ($p < 0.01$), 即表明光照强度越大引起 Xn 光异构化更显著。

3.3 光照时间对 Xn 光异构化的影响

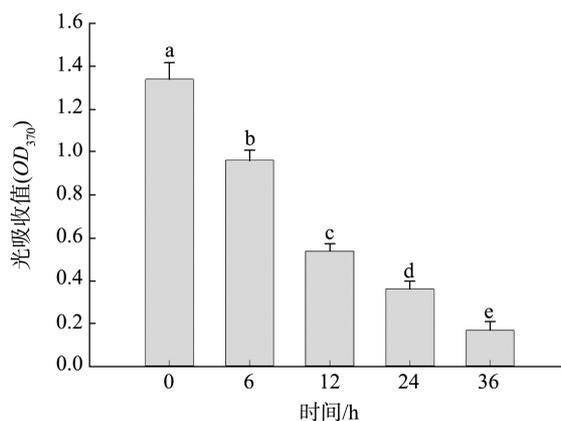
Xn 样品 40 W 白光照射不同时间, 随着时间的延长, OD_{370} 逐渐极显著降低 ($P < 0.01$)(图 3), 表明光照时间越长, Xn 光异构化越显著。



注: 不同字母代表具有显著性差异($P < 0.05$)。

图 2 光照强度对 Xn 光异构化的影响($n=4$)

Fig.2 Effect of light intensity on photoisomerization of xanthohumol($n=4$)



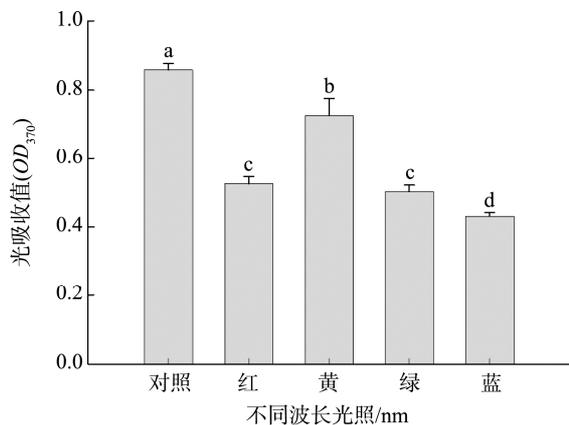
注: 不同字母代表具有显著性差异($P < 0.05$)。

图 3 光照时间对 Xn 光异构化的影响($n=4$)

Fig.3 Effect of light time on photoisomerization of xanthohumol($n=4$)

3.4 波长对 Xn 光异构化的影响

由图 4 可看出, 与对照组比较, 经红光、黄光、绿光、蓝光、处理后的样品在 370 nm 处的吸光度值均有显著降低 ($P < 0.01$), 即光异构化显著。且黄光照射处理的 Xn 样品吸光度值最大, 异构化程度最小; 蓝光照射处理的 Xn 样品吸光度值最小, 样品异构化程度最大; 绿光和红光照射处理后样品的吸光度值介于蓝光和黄光之间, 且两者之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。就黄、绿、蓝 3 种波长的光处理对 Xn 样品异构的影响进行分析, 表现出波长越短, 引起样品光异构化越显著。但这一结论并不适用于红光对 Xn 样品的异构化影响, 虽然红光波长长于黄光, 但其引起 Xn 样品光异构化的程度显著高于黄光。这可能是红光在 Xn 样品中的穿透性强, 到达下层的样品的能力强, 因而综合表现对 Xn 异构化作用强于黄光, 也有可能是红光对 Xn 的异构化较强存在其他的作用机制, 需要进一步研究。



注: 不同字母代表具有显著性差异($P < 0.05$)。

图 4 不同波长的光照对 Xn 光异构化的影响($n=4$)

Fig.4 Effect of different Wavelengths of light on photoisomerization of xanthohumol($n=4$)

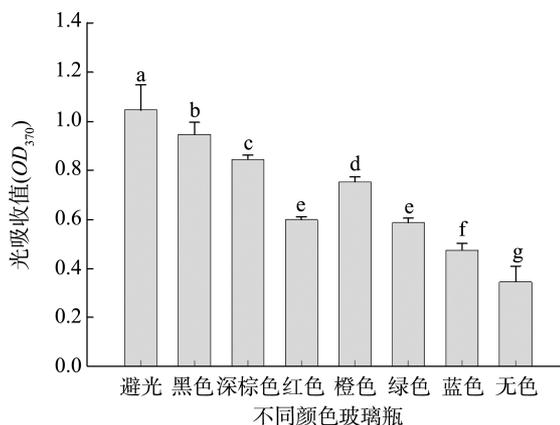
3.5 不同颜色玻璃瓶储存条件对 Xn 光异构化的影响

为了探讨有利于 Xn 稳定的啤酒及其他制品的条件, 进一步对不同颜色的玻璃容器储存效果进行了研究。将 Xn 样品分别储存在深棕色、红色、橙黄色、绿色、蓝色和无色玻璃瓶中, 白光照射处理 12 h 后, Xn 样品异构化结果如图 5 所示。与避光组 Xn 样品相比, 黑色、深棕色、红色、橙黄色、绿色、蓝色、无色玻璃瓶中的 Xn 样品 OD_{370} 分别下降至对照组样品的 90%、80%、57%、71%、56%、46%、33%左右, 与避光组差异显著 ($p < 0.05$)。其中红、绿、蓝色玻璃瓶储存的样品结果与相应颜色的光照引起异构化的结果趋势一致, 橙黄、绿、蓝色玻璃瓶储存的样品异构化结果也与黄、绿、蓝光照的实验结果趋势一致。这可能是由于不同颜色的玻璃瓶透过的光的波长不同引起的。而红色玻璃瓶中 Xn 样品异构化显著高于橙黄色玻璃瓶中的 Xn 样品, 这与不同波长对 Xn 样品异构化的影响实验结果一致。可能是由于红光波长长, 穿透力强, 透过容器及样品后作用于样品有效光强于黄色光; 也可能是 Xn 光异构化的反应有特异性机理, 需要进一步深入研究。

3.6 深棕色与绿色玻璃瓶长期储存条件对 Xn 光异构化的影响

为了分析成品啤酒在长期储存条件下 Xn 样品异构化程度, 选择市场上常用的深棕色和绿色玻璃瓶, 在避光和自然光条件下分别储存 30、90、180 d, 测定各处理样品 OD_{370} , 结果如图 6 所示。在避光条件下, 深棕色和绿色玻璃瓶储存的 Xn 样品 OD_{370} 无显著性差异 ($p > 0.05$), 而在自然光条件下深棕色玻璃瓶 Xn 样品 OD_{370} 极显著高于绿色玻璃瓶 ($p < 0.01$), 即绿色玻璃瓶中 Xn 样品异构化高于深棕色玻璃瓶。且无论是深棕色玻璃瓶还是绿色玻璃瓶, 随着储存时间的延长 OD_{370} 逐渐下降。表明, 比起绿色玻璃瓶, 深棕色玻璃瓶更能完整保存 Xn 样品, 且储存时间越短

Xn 样品异构化越低。因此, 避光储存更利于啤酒及其他制品中 Xn 的稳定性, 如易拉罐储存。



注: 不同字母代表具有显著性差异($P < 0.05$)。

图 5 不同颜色玻璃瓶储存条件对 Xn 光异构化的影响($n=4$)

Fig.5 Effect of storage conditions of glass bottles with different colors on photoisomerization of xanthohumol($n=4$)

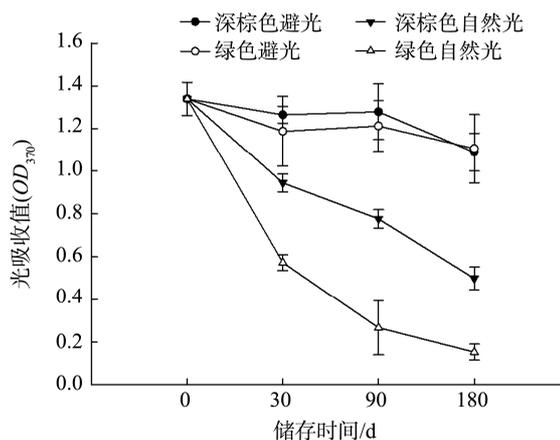


图 6 深棕色与绿色玻璃瓶长期储存条件对 Xn 光异构化的影响 ($n=3$)

Fig.6 Effect of long-term storage conditions of dark coffee and green glass bottles on the photoisomerization of xanthohumol($n=3$)

4 结论与讨论

本研究以避光为对照, 通过比较相同功率的白光与紫外光、以及红[(625±5) nm]、黄[(590±5) nm]、绿[(555±5) nm]、蓝[(450±5) nm] 4 种波长光照处理对 Xn 异构化影响, 发现照射光的波长对 Xn 光异构化影响显著, 除红光外, 另外几种光源均表现出短波长的光更易引起 Xn 光异构化, 不利于 Xn 稳定。而红光不完全遵循这一规律, 可能与其穿透性有关, 也可能有特殊的诱导光异构化机制。研究结果可以为 Xn 储存或制备过程的光照条件选择提供参考。

通过实验, 也明确了 Xn 样品在相同的储存条件下, 储存时间越长, 异构化程度越高, 因此成品啤酒储藏方式

尤其重要。本研究通过比较不同颜色玻璃瓶储存 Xn 样品的光稳定性, 表明玻璃瓶的颜色对 Xn 的异构化有显著的影响, 整体上看, 深色优于浅色, 橙黄色优于红色, 绿色仅优于无色。这为啤酒及其他 Xn 制品的包装及储存条件选择提供了依据, 深棕色玻璃瓶或易拉罐(不透光)更有助于 Xn 样品的保存。目前, 市场上最常见的绿色玻璃瓶装的啤酒是不利于 Xn 稳定性的。另外, 本实验中, 未对玻璃瓶的透光度进行精确地测量, 因此透光度产生的误差对实验结果的影响需进一步研究。

参考文献

- [1] Rudolf H, Schulz J. Desmethylxanthohumol: isolierung aus hopfen und cyclisierung zu flavanonon [J]. Arch Pharm, 1988, 321(1): 37-40.
- [2] Jorge SS, Youssff A, Pilar R. Xanthohumol, a hop-derived prenylflavonoid present in beer, impairs mitochondrial functionality of SW620 colon cancer cells [J]. Int J Food Sci Nutr, 2018, 70(4): 1-9.
- [3] Sun Z, Zhou C, Liu F, et al. Inhibition of breast cancer cell survival by Xanthohumol via modulation of the Notch signaling pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. Oncol Lett, 2018, 15(16): 908-916.
- [4] Wang Q, Ding ZH, Liu JK, et al. Xanthohumol, a novel anti-HIV-1 agent purified from hops *Humulus lupulus* [J]. Antiviral Res, 2004, 64(3): 189-194.
- [5] Yang M, Li N, Li F, et al. Xanthohumol, a main prenylated chalcone from hops, reduces liver damage and modulates oxidative reaction and apoptosis in hepatitis C virus infected *Tupaia belangeri* [J]. Int Immunopharm, 2013, 16(4): 466-474.
- [6] Cho JM, Yun SM, Choi YH, et al. Xanthohumol prevents dextran sulfate sodium-induced colitis via inhibition of IKK β /NF- κ B signaling in mice [J]. Oncotarget, 2017, 9(1): 866-880.
- [7] Zolnierczyk AK, Baczynaska D, Potaniec B, et al. Antiproliferative and antioxidant activity of xanthohumol acyl derivatives [J]. Med Chem Res, 2017, 26(8): 1764-1771.
- [8] Miranda CL, Elias VD, Hay JJ, et al. Xanthohumol improves dysfunctional glucose and lipid metabolism in diet-induced obese C57BL/6J mice [J]. Arch Biochem Biophys, 2016, (599): 22-30.
- [9] Costa R, Rodrigues I, Guardo, et al. Modulation of VEGF signaling in a mouse model of diabetes by xanthohumol and 8-prenylnaringenin: Unveiling the angiogenic paradox and metabolism interplay [J]. Mol Nutr Food Res, 2017, 61(4): 1600488.
- [10] Yao J, Zhang B, Ge C, et al. Xanthohumol, a polyphenol chalcone present in hops, activating Nrf2 enzymes to confer protection against oxidative damage in PC12 cells [J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(5): 1521-1531.
- [11] 刘泽畅, 刘玉梅. 啤酒苦味与啤酒花苦味物质[J]. 中国酿造, 2019, 38(1): 20-26.
- Liu ZC, Liu YM. Bitterness of beer and bitterness substance in hops [J].

Chin Brew, 2019, 38(1): 20-26.

- [12] Kaminski DM, Gaweda K, Arczewska M, et al. A kinetic study of xanthohumol cyclization to isoxanthohumol—A role of water [J]. J Mol Struct, 2017, (1139): 10-16.
- [13] Gagnon D, Wendakoon C, Smith R, et al. Stability of active constituents of hops (*Humulus lupulus*) strobiles and their ethanolic extracts during storage [J]. Eur J Med Plants, 2014, (4): 1302-1312.
- [14] Stevens JF, Taylor AW, Clawson JE, et al. Fate of xanthohumol and related prenylflavonoids from hops to beer [J]. J Agric Food Chem, 1999, 47(6): 2421-2428.
- [15] 王超群, 谷方红, 王德良, 等. 黄腐酚的研究现状及啤酒酿造应用前景 [J]. 酿酒科技, 2009, 185(11): 108-110.
- Wang CQ, Gu FH, Wang DL, et al. Research advance in and application prospects of xanthohumol in beer production [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2009, 185(11): 108-110.
- [16] 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): 141-144.
- Zhu XJ, Duan KH, Zhang WJ, et al. Study on the content of xanthohumol in different hop varieties [J]. Food Ferment Ind, 2008, 34(10): 141-144.
- [17] 雅梅, 王超群, 段开红. 富含黄腐酚啤酒的研究与制备[J]. 中国酿造, 2011, 30(10): 147-149.
- Ya M, Wang CQ, Duan KH. Research and development of xanthohumol-enriched beer [J]. Chin Brew, 2011, 30(10): 147-149.
- [18] Wunderlich S, Wurzbacher M, Back W. Roasting of malt and xanthohumol enrichment in beer [J]. Eur Food Res Technol, 2013, 237(2): 137-148.
- [19] 赵惠新, 周茜, 曾卫军, 等. 不同品种啤酒中黄腐酚含量差异性成因的研究 [J]. 生物学杂志, 2019, 36(3): 70-82.
- Zhao HX, Zhou Q, Zeng WJ, et al. The reasons for the difference of xanthohumol content in different kinds of beer [J]. J Biol, 2019, 36(3): 70-82.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



艾丽娜·艾力, 硕士研究生, 主要研究方向为生物化学与分子生物学。
E-mail: 435328210@qq.com



赵惠新, 教授, 博士, 主要研究方向为生物化学与分子生物学。
E-mail: zhaohuixin101@sina.com