

# 不同来源苦荞中芦丁和槲皮素的含量测定

宾婕<sup>1</sup>, 刘洁<sup>1</sup>, 陈克麟<sup>2</sup>, 周劲<sup>3</sup>, 郭荣富<sup>2</sup>, 郭亚东<sup>1</sup>

(1. 昆明医学院药学院, 云南昆明 650500) (2. 云南农业大学动物科技学院, 云南昆明 650201)

(3. 云南侨通包装印刷有限公司, 云南昆明 657000)

**摘要:** 建立了一种苦荞中芦丁和槲皮素含量的测定方法。以超声法进行提取, 并分别以芦丁和槲皮素为标品, 采用岛津 ODS 柱 (4.6 mm×150 mm, 5 μm), 以乙腈-水(含 2%的冰醋酸)为流动相, 梯度洗脱, 流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长: 360 nm。芦丁进样量在 0.023~1.150 μg 范围内 (r=0.9996), 槲皮素进样量在 0.02~0.60 μg 范围内(r=0.9999)线性关系良好。平均加样回收率芦丁为 98.5%, 槲皮素为 95.8%。该方法简便、快速、准确, 可测定苦荞中芦丁和槲皮素的含量。

**关键词:** 苦荞; 芦丁; 槲皮素; 高效液相色谱; 含量测定

文章编号: 1673-9078(2011)1-117-119

## Determination of the Contents of Rutin and Quercetin in Buckwheat from Different Sources

BIN Jie<sup>1</sup>, LIU Jie<sup>1</sup>, CHEN Ke-lin<sup>2</sup>, ZHOU Jing<sup>3</sup>, GUO Rong-fu<sup>2</sup>, GUO Ya-dong<sup>1</sup>

(1.School of Pharmacy, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

(2.Institute of College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

(3.Yunnan Overseas Package Printing Co., Ltd, Kunming 657000, China)

**Abstract:** A new method for determination of rutin and quercetin contents in buckwheat was developed in this paper. The extracts from buckwheat by Ultrasonic extraction was analyzed on a Shimadzu ODS column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) with a mobile phase of acetonitrile - water (containing 2% glacial acetic acid) for gradient elution at 360nm. And the flow rate was 1.0 mL/min. The linear ranges of rutin and quercetin concentrations were found within 0.023~1.150 μg (r = 0.9996) and 0.02~0.60 μg (r = 0.9999), respectively. The average recoveries of rutin and quercetin were 98.5% and 95.8%, respectively. The method was simple, accurate and showed good reproducibility, which was suitable for the determination of rutin and quercetin contents in buckwheat.

**Key words:** buckwheat; rutin; quercetin; HPLC; assaying

苦荞(*Fagopyrum tartaricum* (L.) Gaertn)是蓼科荞麦属草本双子叶植物, 是一种独特的食药两用型经济作物<sup>[1,2]</sup>。现代医学研究表明, 荞麦具有抗氧化、降血糖、降血脂、抗肿瘤等多种药理活性, 其主要活性物质为黄酮类化合物<sup>[3-5]</sup>, 主要是如芦丁、槲皮素等<sup>[6-7]</sup>。有研究表明黄酮具有扩张血管、止咳祛痰、抗菌消炎等多重功效, 可做为保健食品和药品主要原料<sup>[8-9]</sup>, 因此苦荞中芦丁与槲皮素含量是评价苦荞功能性优劣的重要指标之一, 且建立一种快速、准确的测定方法对于苦荞研究和开发尤为必要。

本实验采用高效液相色谱梯度洗脱法, 超声波是

收稿日期: 2010-09-08

基金项目: 云南侨通包装印刷有限公司资助项目 (kx140564)

作者简介: 宾婕 (1986-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事药物分析研究

通讯作者: 郭亚东 (1960-), 男, 教授, 从事药物分析研究

一种频率很高(105~108 Hz)的声波<sup>[10]</sup>, 用超声波处理, 具有作用时间短、效率高的优点。用高效液相色谱法梯度洗脱, 以乙腈-2%冰醋酸水溶液为流动相, 同时测定苦荞粉中芦丁和槲皮素的含量, 实验表明, 在该色谱条件下此二组分的色谱峰峰形良好、具有较高的理论塔板数。该方法准确、快速、可靠, 可为苦荞的质量控制提供依据。

### 1 材料、试剂与仪器

#### 1.1 材料与试剂

材料: 苦荞样品分别取自云南和四川。

芦丁对照品(批号: 09072231, 上海同田生物技术有限公司), 槲皮素对照品(09120411, 上海同田生物技术有限公司)。

试剂: 乙腈(色谱纯, 美国Mallinckrodt Baker公司),

水(哇哈哈饮用纯净水),其余试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器

日本岛津 LC-2010 型高效液相色谱仪,包括四元梯度泵,自动进样器,柱温箱,紫外检测器和色谱工作站,岛津 ODS 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm),超声提取器(上海仪器制造厂, SK3200H),电子天平(德国赛多利斯 CP-224S)。

## 2 试验方法与结果

### 2.1 对照品和样品制备

#### 2.1.1 对照品溶液的配制

精密称取芦丁对照品 4.6 mg,槲皮素对照品 4.0 mg,分别置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,再分别取 1 mL 至 10 mL 的容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得芦丁和槲皮素对照品溶液浓度分别为 0.046 mg/mL 和 0.04 mg/mL。

分别精密量取芦丁和槲皮素的对照品溶液各 1 mL 混匀,即得芦丁和槲皮素的对照品混合溶液。

#### 2.1.2 供试品溶液的配制

芦丁样品制备:取苦荞粉末(过 60 目筛)约 100 mg,精密称定,置于 25 mL 容量瓶中,加入 80%乙醇 5 mL,在常温下超声提取 30 min,用乙醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。进样前取适量溶液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

槲皮素样品制备:取苦荞粉末(过 60 目筛)约 100 mg,精密称定,置于 25 mL 容量瓶中,加入 50%乙醇 4 mL,在常温下超声提取 30 min,用乙醇稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。进样前取适量溶液用 0.45 μm 微孔滤膜过滤。

### 2.2 方法学验证

#### 2.2.1 色谱条件

色谱柱:岛津 ODS 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm),以乙腈-水(含 2%的冰醋酸)为流动相,梯度洗脱(表 1),流速:1 mL/min,柱温:25℃,检测波长:360 nm。对照品及样品的色谱图如图 1 所示。

表 1 洗脱程序

Table 1 Elution program

| 时间/min | 乙腈/% | 水(含 2%的冰醋酸) |
|--------|------|-------------|
| 0      | 17   | 83          |
| 18     | 40   | 60          |

#### 2.2.2 线性关系考察

分别精密吸取 2.1.1 项下的芦丁和槲皮素对照品溶液 0.5、1、5、10、15、20、25 μL 和 0.5、1、5、10、15 μL,注入高效液相色谱仪,记录色谱图,测定

其峰面积,以进样量 X (μg)为横坐标,色谱峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线,芦丁和槲皮素的回归方程和相关系数分别为:

$$Y=1703415X+9229.6; r=0.9996$$

$$Y=3833824X-11994.2; r=0.9999$$

结果表明芦丁进样量在 0.023~1.150 μg 范围内,槲皮素进样量在 0.02~0.60 μg 范围内线性关系良好。

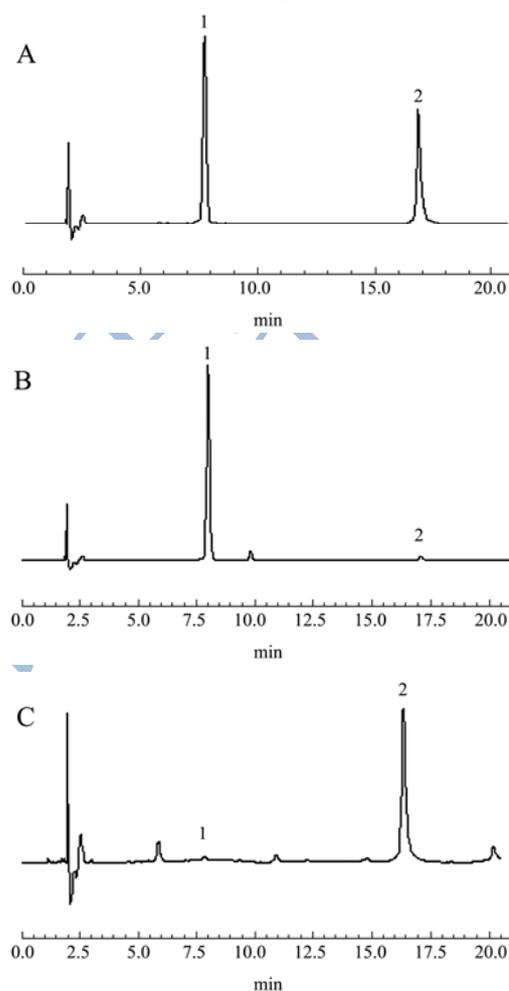


图 1 苦荞 HPLC 图谱

Fig.1 HPLC chromatography of Buckwheat

注: A. 混合对照品 B. 芦丁样品制备法样品 C. 槲皮素样品制备法样品; 1. 芦丁 2. 槲皮素。

#### 2.2.3 精密度试验

分别精密吸取 2.1.1 项下的芦丁和槲皮素对照品溶液 10 μL,连续进样 5 次,记录色谱图,计算芦丁和槲皮素的峰面积和相对标准偏差(RSD),结果芦丁的 RSD 为 1.11%,槲皮素的 RSD 为 0.74%。

#### 2.2.4 稳定性试验

分别精密吸取芦丁和槲皮素的同一供试品溶液 10 μL,分别于 0、2、4、6、8 h 进样,记录色谱图,计算芦丁和槲皮素的峰面积和相对标准偏差(RSD),

结果芦丁的RSD为0.49%，槲皮素的RSD为1.38%。

### 2.2.5 重复性试验

分别取同一批样品(样品3)6份,精密称定,按2.1.2项下方法制备芦丁和槲皮素供试品溶液,进样测定,计算芦丁和槲皮素的峰面积和相对标准偏差(RSD),结果芦丁的RSD为0.39%,槲皮素的RSD为1.53%。

### 2.2.6 回收率试验

分别取已知含量的苦荞粉末(样品3)约100 mg,精密称定,各6份,分别加入芦丁和槲皮素对照品溶液约1.1 mg和0.6 mg,按2.1.2项下方法制备供试品溶液,进样测定,以回归方程计算各自的平均加样回收率,结果芦丁和槲皮素的平均加样回收率分别为98.5%(RSD=1.59%)和95.8%(RSD=2.31%)。

### 2.2.7 样品含量测定

取不同来源的苦荞粉末适量,精密称定,分别按2.1.2项下方法制备供试品溶液,进样10 μL,记录芦丁和槲皮素的峰面积,由线性方程计算各自含量,测定结果见表2。

表2 苦荞中芦丁和槲皮素的含量(%)

Table 2 The detected contents of rutin and quercetin in buckwheat

| 编号 | 来源    | 芦丁   | 槲皮素  |
|----|-------|------|------|
| 1  | 罗平马街  | 1.72 | 0.73 |
| 2  | 罗平老厂  | 1.47 | 0.54 |
| 3  | 会泽火红  | 1.72 | 0.89 |
| 4  | 文山    | 2.55 | 0.71 |
| 5  | 会泽五星  | 1.43 | 0.59 |
| 6  | 云南大山包 | 1.75 | 0.72 |
| 7  | 云南合兴  | 1.53 | 0.52 |
| 8  | 罗平中腊村 | 1.14 | 0.57 |
| 9  | 罗平初纳村 | 1.51 | 0.63 |
| 10 | 会泽野马  | 1.43 | 0.61 |
| 11 | 大理凤仪  | 1.02 | 0.51 |
| 12 | 大理澜剑  | 1.54 | 0.61 |
| 13 | 永善连峰  | 1.45 | 0.6  |
| 14 | 永善园苦荞 | 1.58 | 0.63 |
| 15 | 四川凉山  | 1.51 | 0.55 |
| 16 | 罗平牛街  | 1.64 | 0.12 |

## 3 讨论

### 3.1 样品处理方法的选择

本实验分别考察了提取溶剂,料液比及提取时间等因素对苦荞中芦丁和槲皮素含量的影响,并进行了

单因素和正交实验。由单因素实验可以看出,在任一提取条件下,芦丁含量高的槲皮素含量就少,反之亦然,即在同一条件下不能同时提取出高含量的芦丁和槲皮素,故本试验将芦丁和槲皮素分开提取。结果表明:在80%乙醇,1:50料液比,超声提取30min的条件下,芦丁的含量最高。在50%乙醇,1:40料液比,超声提取30 min的条件下,槲皮素的含量最高。

### 3.2 流动相的选择

用乙腈-水二元系统进行等度洗脱,芦丁和槲皮素的保留时间过长,改用梯度洗脱程序,保留时间缩短且峰形得到较大的改善。由于芦丁和槲皮素的结构式中含有羟基,故在流动相中加入冰醋酸,从而使其峰形得到较好的改善。实验证明,在此条件下能得到较好的结果。

### 3.3 检测波长的选择

经紫外扫描,芦丁和槲皮素在360 nm处有最大吸收,故本试验采用360 nm的检测波长对芦丁和槲皮素的含量进行检测。

3.4 用高效液相色谱法能准确地测定苦荞粉中芦丁和槲皮素两种黄酮类化合物的含量,方法简便可靠。

## 参考文献

- [1] Sun T, Ho C T. Antioxidant activities of buckwheat extracts[J]. Food Chemistry, 2005, 90: 743-749
- [2] 祁学忠,吉锁兴,王晓燕,等.苦荞黄酮及其降血糖作用的研究[J].科技情报开发与经济,2003,13(8):111-112
- [3] 王敏,魏益民,高锦明.荞麦油中脂肪酸和不皂化物的成分分析[J].营养学报,2004,26(1):40-43
- [4] Sun L K, Sung K K, Cheol H P. Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable[J]. Food Research International, 2004, 37 (4): 319-327
- [5] Bonafaccia G, Marocchini M, Krefl I. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat[J]. Food Chemistry, 2003, 80 (1): 9-15
- [6] 候建霞,汪云,程宏英,等.毛细管电泳检测苦荞芽中的黄酮类化合物[J].食品与生物技术学报,2003,26(2):12-15
- [7] 朱瑞,卞庆亚,林宏英,等.苦荞麦种子化学成分研究[J].中药药信息,2003,20(3):17-19
- [8] 王元颖,郝再彬,等.不同花中总黄酮的提取及其抗氧化强度的比较[J].现代食品科技,2008,24(11):1145-1147
- [9] Peter C H, Michael G L, Martiin B, et al. Analysis and health effects of flavonoids[J]. Food chemistry, 1996, 57 (1): 43-46
- [10] 王敏妮,罗志刚,涂雅俊,等.超声处理对玉米淀粉颗粒性质的影响[J].现代食品科技,2010,26(5):448