

荞麦和商品苦荞茶中芦丁含量的测定

黄艳菲¹, 彭镰心^{2,§}, 丁玲¹, 李艳丹¹, 左旭¹, 刘圆¹, 赵钢²

(1. 西南民族大学民族医药研究院, 四川成都 610041) (2. 成都大学生物产业学院, 四川成都 610106)

摘要: 采用 RP-HPLC 法测定不同种荞麦、不同商品苦荞茶中芦丁的含量。以回流法提取, 采用 DIKMA diamonsil (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水, 柱温 20 °C, 流速为 1 mL/min, 检测波长为 255 nm, 在该色谱条件下, 芦丁分离效果好, 线性范围为 0.003976~0.5964 mg/mL (r=0.9999)。平均回收率为 96.93% (n=6), RSD 为 2.72%。结果表明: 苦荞中芦丁含量远高于甜荞; 不同生产地的苦荞茶中芦丁含量差异较大, 可能与原料产地及制作工艺不同有关; 不同类型苦荞茶商品中以全胚茶中芦丁含量最高。

关键词: 荞麦; 芦丁; 苦荞茶

文章编号: 1673-9078(2012)9-1219-1222

Determination of Rutin of *Fagopyrum* and its Commodities

HUANG Yan-Fei¹, PENG Lian-Xin^{2,§}, DING Ling¹, LI Yan-dan¹, ZUO Xu¹, LIU Yuan¹, ZHAO Gang²

(1. Ethnic Medicine Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, People's Republic of China)

(2. College of Biotechnology Industries, Chengdu University, Chengdu 610106, People's Republic of China)

Abstract: A high-performance liquid chromatography method was established for the determination of rutin of buckwheat and its commodities. The extraction method was heat reflux, and rutin was separated on DIKMA diamonsil (4.6 mm × 250 mm, 5 μm). The mobile phase was acetonitrile-0.1% phosphoric acid solution at the flow rate of 1.0 mL/min. The column temperature was 20 °C and the detection wavelength was set at 255 nm. The results indicated that rutin was basically isolated. The linear ranges was of 0.003976-0.5964 mg/mL (r=0.9999). The average recoveries was 96.93 % (n=6) with a RSD of 2.72 %. The results showed that the concentration of rutin of *F. tataricum* (L.) Gaertn. was more higher than that of *F. esculentum* Moench. The concentration of rutin of different producing area and preparation technique of buckwheat tea was also significantly different and the highest concentration of rutin was found in the whole embryo tea.

Key words: buckwheat; rutin; buckwheat tea

荞麦为蓼科 Polygonaceae 荞麦属 *Fagopyrum* 植物, 起源于中国, 早在公元前3~5世纪, 《神农本草经》中就有关于荞麦生长发育的记载^[1]。荞麦作为小宗杂粮, 其生长几乎遍布所有种植有粒作物的国家^[2], 目前全世界共发现15个种和2个变种, 其中在中国就有10个种和2个变种^[3]。其中栽培种有2个: 苦荞 *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn. 和甜荞 *F. esculentum* Moench^[1-3]。荞麦作为药食同源植物, 具有很高的营养价值和药理活性。现代研究表明: 荞麦营养丰富, 其中蛋白质、脂肪、维生素和微量元素 (K, Cu, Mg, Zn, Se) 普遍高于大米、小麦、玉米等作物, 并且其蛋白质氨基

收稿日期: 2012-05-10

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2012BAI27B07); 四川省科技支撑计划 (2011SZ0233); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助 (GARS-08-D-3); 四川中医药管理局课题 (2010-78)

作者简介: 黄艳菲(1986-), 女, 硕士研究生, 研究方向为民族药物; 彭镰心 (1981-), 男, 硕士, 研究方向为食品质量评价; § 并列第一作者

通讯作者: 刘圆 (1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向为民族药物

酸组成平衡、生物价值高, 有研究报道从荞麦粉中检测出19种氨基酸, 含量丰富, 其中包括谷禾类作物中稀缺的赖氨酸、组氨酸和精氨酸, 非常适合人类的营养^[2-4]。苦荞含有其他谷物中所不含的黄酮类化合物, 其中已知的黄酮类物质有芦丁、槲皮素、山奈酚和山奈酚-3-O-芸香糖苷等, 以芦丁含量为最高。现代药理研究表明: 荞麦黄酮具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗衰老及防治心脑血管系统疾病等作用, 更有学者认为, 荞麦中的镁、硒等元素具有抗癌作用^[5-6]。近年来, 由于人们对天然保健食品及食疗作用的重视, 荞麦的开发利用也越来越受到人们的重视, 学者们也对荞麦开展了多方面的研究, 特别对于苦荞中总黄酮的提取工艺的优化和总黄酮的含量测定^[7-10], 及苦荞种子及其部分食品中芦丁、槲皮素和手性肌醇的含量测定^[11-14]等进行了大量研究。虽然芦丁公认为是荞麦中的主要活性成分之一, 国家、省 (自治区) 或者企业对荞麦和商品苦荞茶中有效成分的质量控制却没有可以执行的标准。因此, 有必要系统地对荞麦及其商品苦荞茶

中芦丁的含量进行测定,为荞麦的开发利用和苦荞茶的质量检测提供参考。本试验在课题组前期试验-芦丁提取工艺优化的基础上^[15],对种植于成都大学荞麦试验田中的苦荞、甜荞的16个农业栽培品种,以及国内不同生产地的苦荞茶、不同类型苦荞茶商品中的芦丁含量进行测定。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

荞麦种子均采自四川省成都市成都大学的荞麦试验田,商品苦荞茶购于四川成都市的超市和国内网购。

甲醇,无水乙醇,磷酸为分析纯:成都市科龙化工试剂厂;乙腈为色谱纯:美国迪马公司;水为超纯水;芦丁对照品:中国药品生物制品检定所(批号:100080-200707)。

Agilent 1200 高效液相色谱仪(配DAD检测器):美国Agilent公司;METTLER AE240电子分析天平:梅特勒-托利多上海仪器有限公司;Milli-Q超纯水机:美国Millipore公司;W201B恒温水浴锅:上海申顺生物科技有限公司。

1.2 方法^[15]

1.2.1 检测方法

1.2.1.1 色谱条件

色谱柱: DIKMA diamondsil (4.6 mm×250 mm, 5 μm),柱温: 20 °C,流速: 1 mL/min,检测波长: 255 nm,进样量: 10 μL,流动相: 乙腈-0.1%磷酸水。梯度洗脱程序为: 0~5 min,乙腈浓度为10%~20%,5~15 min,乙腈浓度为20%~25%,15~25 min,乙腈浓度为25%~40%。对照品及样品的色谱图如图1所示。

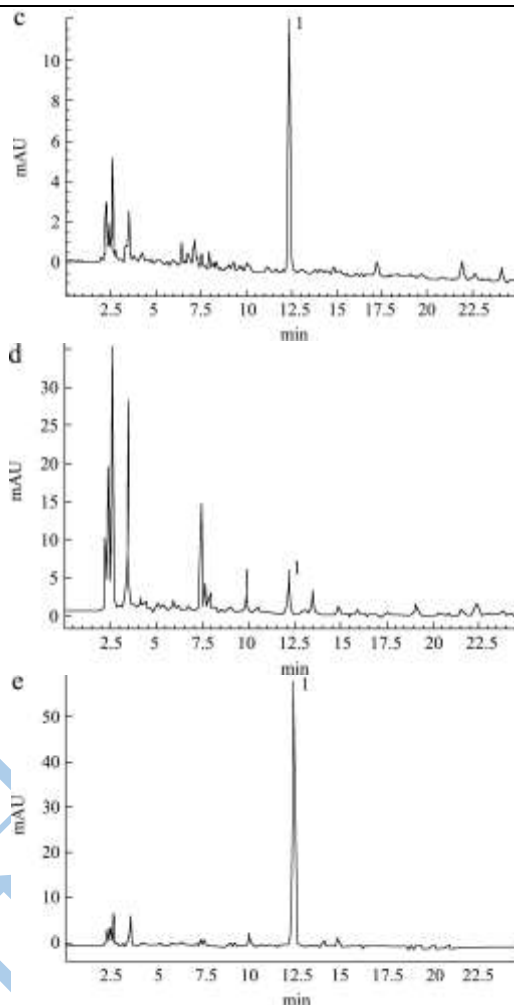
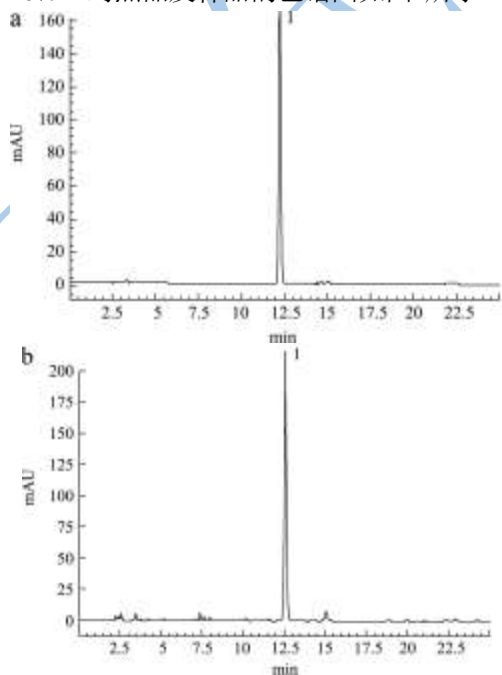


图1 HPLC 分析不同种荞麦及不同商品苦荞茶中的芦丁图谱
Fig. 1 HPLC profile of rutin in different buckwheat and commodities of buckwheat tea

注: a.芦丁对照品图; b.九江苦荞样品图; c.晋荞1号样品图; d.三匠黑苦荞茶样品图; e.三匠黑苦荞全胚芽茶样品图; 1.芦丁。

1.2.1.2 对照品溶液的制备

准确称取芦丁对照品19.88 mg,用90%甲醇溶解,定容于25 mL容量瓶中,摇匀,制成质量浓度为0.7952 mg/mL对照品储备液。

1.2.1.3 标准曲线的绘制

精密量取芦丁对照品储备液,用体积分数90%的甲醇稀释并定容,摇匀,得系列质量浓度对照品溶液0.5964 mg/mL,0.3976 mg/mL,0.2982 mg/mL,0.1988 mg/mL,0.0994 mg/mL,0.003976 mg/mL,分别吸取上述溶液10 μL注入高效液相色谱仪,记录峰面积,以峰面积A对进样质量浓度(mg/mL)进行线性回归,得芦丁回归方程: $y=6224.4x+40.664$, $R^2=0.9999$ 。结果表明,芦丁在0.003976~0.5964 mg/mL范围内呈良好线性关系。

1.2.2 供试品溶液的制备

称取样品粉末(过 50 目筛) 0.5 g, 加入体积分数 91% 的甲醇 16 mL, 于 77 °C 水浴回流 93 min, 提取 2 次, 回收溶剂, 将样品定容于 25 mL 容量瓶, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 备用。

2 结果与讨论

2.1 结果

2.1.1 精密度试验

以质量浓度为 0.2982 mg/mL 的芦丁对照品溶液重复进样 5 次, 记录峰面积, 其峰面积相对标准偏差为 1.47%, 结果见表 1。

表 1 精密度试验结果

Table 1 Precision of the method

试验号	1	2	3	4	5	平均值	RSD/%
峰面积	1829.7	1830.7	1865.9	1867.2	1894.3	1857.56	1.47

2.1.2 重复性试验

取同一品种荞麦粉末 5 份, 按样品制备方法和色谱条件对芦丁峰面积进行分析, 芦丁峰面积 RSD 为 1.89%, 结果见表 2。

表 2 重复性试验结果

Table 2 Reproducibility of the method

试验号	1	2	3	4	5	平均值	RSD/%
芦丁峰面积	2244.1	2256.6	2205.3	2188.2	2295.2	2237.88	1.89

2.1.3 稳定性试验

取供试品溶液, 室温放置, 分别于 1.5、3、5、7、12 h 按上述色谱条件进行测定, 芦丁峰面积 RSD 为 1.96%, 结果见表 3。

表 3 稳定性试验结果

Table 3 Stability of the method

试验号	1	2	3	4	5	平均值	RSD/%
芦丁峰面积	2185.1	2285.3	2263.2	2198.2	2260.6	2238.48	1.96

2.1.4 加样回收率试验

表 4 加样回收试验结果

Table 4 Recovery rates of rutin from buckwheat samples

样品中芦丁含量/mg	加入芦丁质量/mg	测得总质量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
7.24	8.82	16.19	101.47		
7.24	8.94	16.03	98.32		
7.24	7.41	14.4	96.63	96.93	2.72
7.24	7.45	14.28	94.50		
7.24	5.85	12.77	94.53		
7.24	5.96	12.97	96.14		

称取已知含量样品 6 份, 分别精密加入质量分数为已知含量样品中芦丁含量的 120%、100%、80% 芦丁对照品, 按供试品溶液制备方法制备, 在上述色谱

条件下测定峰面积, 计算回收率。结果表明, 平均回收率为 96.93%, RSD 为 2.72%, 结果见表 4。

2.1.5 样品含量测定

表 5 不同种荞麦中芦丁的含量

Table 5 Concentration of rutin in different cultivated species of buckwheat

样品号	样品名称	拉丁名	芦丁含量/(mg/g)
K1	川苦 2 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	11.10
K2	晋荞 4 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	16.37
K3	九江苦荞	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	15.48
K4	川荞 1 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	17.78
K5	滇宁 1 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	13.60
K6	云南旱苦	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	14.52
K7	苦刺荞	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	15.34
K8	黑丰 1 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	15.97
K9	纳林 5 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	11.71
K10	野苦 1 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	12.97
K11	米荞 1 号	<i>F. tataricum</i> (L.) Gaertn.	18.07
K12	川渝 3 号	<i>F. esculentum</i> Moench	0.16
K13	晋荞 1 号	<i>F. esculentum</i> Moench	0.55
K14	正宁	<i>F. esculentum</i> Moench	0.34
K15	甘肃珀姓	<i>F. esculentum</i> Moench	0.16
K16	通渭红花荞	<i>F. esculentum</i> Moench	0.23

表 6 商品苦荞茶中芦丁的含量

Table 6 Concentration of rutin in commodities of buckwheat tea

样品号	品牌	商品名	产地	芦丁含量/(mg/g)
S1	彝乡人	高寒苦荞茶	四川	0.17
S2	彝乡人	黑苦荞全株茶	四川	0.12
S3	彝乡人	黑苦荞全皮茶	四川	0.11
S4	彝乡人	黑苦荞全胚茶	四川	2.14
S5	三匠	苦荞茶	四川	0.52
S6	三匠	黑苦荞全株茶	四川	0.45
S7	三匠	黑苦荞茶	四川	0.48
S8	三匠	黑苦荞全胚芽茶	四川	6.12
S9	乐百味	苦荞茶	甘肃	0.34
S10	本草拾遗	苦荞茶	安徽	8.22
S11	永昌堂	苦荞茶	广东	3.95
S12	几木朵	苦荞茶	云南	14.43
S13	蕾蒙	苦荞茶	江苏	4.58
S14	麦之汤	苦荞茶	北京	7.61
S15	君品苑	苦荞茶	福建	9.17
S16	艺福堂	苦荞茶	浙江	2.36
S17	雁门清高	苦荞茶	山西	3.83

取样品粉末适量, 精密称定, 按 1.2.2 项下方法制

备供试品溶液, 进样10 μL , 记录芦丁峰面积, 由回归方程计算含量, 不同种荞麦中芦丁含量见表5, 不同商品苦荞茶中芦丁含量见表6。

2.2 讨论

2.2.1 荞麦中芦丁含量的测定

芦丁为荞麦的次生代谢产物, 在植物体内的形成受到诸多因素的影响, 包括产地、生长季节、光照量、栽培技术等。本次试验结果表明, 苦荞中芦丁的含量远远高于甜荞中芦丁的含量。试验所测荞麦样品虽然都产于成都大学荞麦试验田, 但是从表5中可以看出, 不同苦荞栽培种或是甜荞栽培种中芦丁含量差异较大。试验中的荞麦样品均在相同生长环境下, 显然, 荞麦中芦丁含量的积累除上述因素外还会受到基因型的影响, 通过测定不同基因型荞麦的芦丁含量, 有利于筛选高芦丁含量的种质。同一产地不同苦荞中芦丁的含量范围为11.10 mg/g~18.07 mg/g, 含量最高的为成都大学新培育品种: 米荞1号; 甜荞中芦丁的含量范围为0.16 mg/g~0.55 mg/g, 含量最高的为晋荞1号。可见, 荞麦中芦丁的产生与积累和荞麦基因型有很大关系。

2.2.2 商品苦荞茶中苦丁的含量测定

本次试验结果表明, 苦荞麦种子经加工制成苦荞茶后芦丁的含量明显降低, 10个产地的苦荞茶只有S12的芦丁含量最高且与苦荞种子中芦丁含量相当。样品S1~S8为同一产地不同生产厂家的不同类型商品苦荞茶, 两个厂家生产的茶中均以全胚芽茶中芦丁的含量最高, 其它则含量较低。苦荞茶的生产工艺流程大致为: 苦荞麦原料精选→清洗→浸泡→蒸熟→干燥→脱壳→烘炒→冷却→包装→成品, 其中浸泡时间长短、蒸熟时间长短和烘炒温度的高低都有可能使苦荞茶中的芦丁损失。最新获准的四川凉山苦荞茶地方标准对苦荞茶中的总黄酮含量(以芦丁计)做了要求: 全麦苦荞茶芦丁含量不低于1.0%, 造粒成型苦荞茶芦丁含量不低于2.0%, 苦荞叶芽茶芦丁含量不低于3.0%, 并建议当地苦荞茶生产企业通过改进苦荞茶生产工艺流程, 提高技术水平来获得更高质量的苦荞茶。

2.2.3 分析方法的确

课题组在前期试验条件考察时发现, 芦丁与槲皮素、山奈酚等黄酮苷元不宜同时提取测定。试验中发现, 甲醇体积分数增加时, 有利于芦丁的提取, 甲醇体积分数降低时有利于黄酮苷元的提取, 可能是由于槲皮素、山奈酚等黄酮苷元酚羟基数目较多, 使亲水性增强, 水溶性增大, 而芦丁虽然极性较大, 但或许母核上羟基被芸香糖基所取代, 致使其水溶性低于槲

皮素、山奈酚等黄酮醇类苷元; 同时, 甲醇浓度较低时可能不至于使芦丁降解酶失活, 使芦丁被分解。考虑到更客观切实地评价荞麦及其商品中黄酮类化合物的含量, 故将芦丁与其它黄酮苷元分开测定。

3 结论

苦荞中芦丁含量远远高于甜荞; 不同生产地的苦荞茶中芦丁含量差异较大, 可能与原料产地及制作工艺不同有关; 不同类型苦荞茶商品中以全胚茶中芦丁含量最高。

参考文献

- [1] 张宏志, 管正学, 刘湘元. 荞麦资源在我国的开发利用[J]. 自然资源, 1996, 4: 38-44
- [2] 张以忠, 陈庆富. 荞麦的研究现状与展望[J]. 种子, 2004, 23(3): 39-42
- [3] 赵钢, 唐宇, 王安虎. 中国荞麦的育种现状及展望[J]. 种子世界, 2002, 7: 3-4
- [4] 万丽英, 穆建稳. 贵州苦荞的营养保健功能与开发利用价值[J]. 贵州农业科学, 2004, 32(2): 74-75
- [5] 张万明, 谭盛春. 苦荞的营养与食疗作用[J]. 西昌农业高等专科学校学报, 2004, 18(2): 16-17
- [6] 尹礼国, 钟耕. 荞麦营养特性、生理功能和药用价值研究进展[J]. 粮食与油脂, 2002, 5: 32-34
- [7] 田龙. 苦荞黄酮的水浸提工艺优化[J]. 粮食与饲料工业, 2008, 9: 29-33
- [8] 杨红叶, 柴岩, 黄忠民, 等. 溶剂与提取方式对苦荞提取液抗氧化性能的影响[J]. 中国食品学报, 2011, 11(1): 28-32
- [9] 王敏, 高锦明, 王军. 苦荞茎叶粉中总黄酮酶法提取工艺研究[J]. 中草药, 2006, 31(11): 1645-1648
- [10] 欧阳平, 张高勇, 康保安. 苦荞麦黄酮类化合物提取的工艺参数优化及数学模型研究[J]. 食品科学, 2005, 26(1): 107-111
- [11] 宾婕, 刘洁, 张春勇, 等. 正交设计优选苦荞中芦丁和槲皮素的提取工艺研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(4): 437-439
- [12] 雷菲, 李再贵, 李璐, 等. 苦荞醋发酵和熏醋过程中芦丁与槲皮素含量变化的检测[J]. 农产品加工, 2010, 11: 100-106
- [13] 宾婕, 刘洁, 陈克麟, 等. 不同来源苦荞中芦丁和槲皮素的含量测定[J]. 现代食品科技, 2011, 27(1): 117-119
- [14] Nan Yang, Guixing Ren. Determination of d-chiro-Inositol in Tartary Buckwheat Using High-Performance Liquid Chromatography with an Evaporative Light-Scattering Detector[J]. Agric Food Chem., 2008, 56(3): 757-760
- [15] 黄艳菲, 彭镰心, 丁玲, 等. 荞麦中芦丁的提取工艺优化[J]. 现代食品科技【已录用】