

# 苦荞麦不同器官总黄酮含量测定及分析

赵玉平<sup>1</sup>, 肖春玲<sup>2</sup>

(1. 烟台大学 化学生物工程学院, 山东 烟台 264005

2. 山西师范大学生物工程学院, 山西 临汾 041000)

**摘 要:** 通过对苦荞麦各器官中黄酮含量的研究显示, 荞麦根含量为 0.51%, 茎含量为 1.25%, 叶含量为 5.39%, 花含量为 6.28%, 籽含量为 2.13%, 粉含量为 2.31%, 壳含量为 1.06%。使用 C<sub>18</sub> 柱用 (0.45% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) (55:45) 作流动相, 在 260nm 下用紫外检测器, 采用 HPLC 对不同器官及其组织中的芦丁进行定量测定, 结果表明芦丁是苦荞麦中最主要的黄酮。

**关键词:** 苦荞麦; 总黄酮; 芦丁物质; HPLC

## Determination of Total Flavones on Fagopyrum Gaertn of Variety Organs

ZHAO Yu-ping<sup>1</sup>, XIAO Chun-ling<sup>2</sup>

(1. Chemistry Biology College of Science and Engineering, Yantai University, Yantai 264005, China

2. College of Biology Engineering, Shanxi Normal University, Linfen 041000, China)

**Abstract:** Measurement of root, stem, leaves, flowers, hull, flour of the buckwheat. It was result that the buckwheat root content was 0.51%, the stem 1.25%, and the leaves 5.39%, The flowers 6.28, the grains 2.13%, the hull 1.06%, and the powder 2.31%. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the rutin of the organs. The sample was analyzed on a C<sub>18</sub> column with methanol water (0.45% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) (55:45) and assayed by 260nm UV detector. The highest rutin content of buckwheat was in its every Organs.

**Key words:** Fagopyrum tararium Gaertn; flavones; rutin; HPLC

中图分类号 TS251.2

文献标识 A

文章编号 1002-6630(2004)10-0264-03

苦荞麦(*Fagopyrum tararium* Gaertn)属蓼科植物(polygonaceae)荞麦属(*Fagopyrum*), 主要分布在我国北方地区。现代临床医学观察表明: 苦荞麦及其制品具有防治高血压、冠心病的作用。荞麦中含大量的黄酮类化合物, 尤其含芦丁能维持毛细血管的抵抗力, 降低其通透性及脆性, 促进细胞增生和防止血细胞的凝集, 还有降血脂, 增强冠状动脉血流量等作用。而且, 荞麦中还含有一些微量元素, 如镁、铁、铜、钾等这些因素对心血管具有保护作用<sup>[1]</sup>。

山西蒲县位于吕梁山区, 是种植苦荞麦等绿色食品的地区, 目前以作为脱贫致富的项目大量种植, 并有该县苦荞麦开发中心将其开发出了苦荞麦挂面、苦荞麦快餐粥和苦荞麦冲剂, 苦荞麦枕头等多种产品, 但尚有大量的废弃物, 如苦荞麦根、茎(秆)、叶、花等。据当地农民反映苦荞麦收获后所得到的叶、花的混合物在饲养动物如猪、牛时出现不良反应, 因此不能作为

动物饲料。所以对苦荞麦进行综合研究显得很紧迫。

苦荞麦及其各器官组织中的黄酮提取、含量测定有利于研究苦荞麦药理、保健作用, 为苦荞麦资源开发和保健食品的研究打好基础, 也为评价苦荞麦及其制品的质量提供理论依据和检验手段。

本研究以芦丁为标准, 用甲醇-索氏抽提并用比色方法测定了荞麦根、茎、叶、花、壳、粉各器官和组织中的总黄酮的含量, 同时用 HPLC 的方法测定了不同器官及其组织中的芦丁含量, 希望为苦荞麦的开发提供理论依据。

### 1 材料与仪器

**1.1 材料** 苦荞麦根、茎、叶、花、壳、粉均来自山西蒲县苦荞麦开发中心。

芦丁标准品, 中国药品生物制品检定所; 甲醇, 95% 乙醇, 亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠均为分析纯。

收稿日期: 2004-07-28

作者简介: 赵玉平(1964-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品科学。

## 1.2 仪器

756-MC 型可见 - 紫外分光光度计, 上海第三分析仪器厂; 索氏提取器和恒温水浴锅, 天津玻璃仪器厂; LABOROTO 4000 旋转蒸发器, 德国 Heidolph 公司; SCD- II 高纯水制备装置, 军事医学科学院卫生装备研究所; 高效液相色谱仪, 德国 Biotronik 公司; Chrom king 色谱工作站, 北京海淀潮声技术开发公司; 色谱柱: Phenomenex prodigy 5 $\mu$  ODS3 100A 色谱柱(250mm  $\times$  4.6mm i.d, 5 $\mu$ m), 天津色谱科学技术公司。

## 2 实验方法

### 2.1 黄酮标准曲线制作

精密称取在 105℃ 干燥至恒重的芦丁标准品 100.2mg, 定容于 100ml 容量瓶中。分别吸取 0.0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0、13.0ml 于 100ml 容量瓶中, 加 5%NaNO<sub>2</sub> 溶液 4.0ml, 混匀, 放置 6min; 加 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 溶液 4.0ml, 混匀, 放置 6min; 加 1mol/L NaOH 溶液 20ml, 再加水至刻度, 摇匀, 放置 15min, 3000r/min 离心 10min, 取上清液于 510nm 处测吸光度(A)。用最小二乘法作线性回归, 得芦丁浓度(W)与吸光度(A)的关系曲线的回归方程:  $W=aA+b$ , 并求其相关系数 R<sup>[4]</sup>。

### 2.2 总黄酮的测定

#### 2.2.1 样品制备

10 月份在苦荞麦收获时, 摘其苦荞麦籽及其花序, 干燥后分离花和苦荞麦籽; 苦荞麦籽粉碎得到苦荞麦粉和苦荞麦壳; 拔其植株晒干, 分离苦荞麦的根、茎、叶。将样品在 105℃ 干燥至恒重。

#### 2.2.2 提取

采用甲醇-索氏抽提法<sup>[5]</sup>。准确称取一定重量(mi)的干燥样品, 用滤纸包好, 放入索氏提取器, 乙醚回流提取 5 次, 再用甲醇在 78℃ 的恒温水浴中提取, 直到抽提回流液中无黄酮为止, 一般需提取 5h。将抽提液定容到 100ml 的容量瓶中<sup>[5]</sup>。

#### 2.2.3 总黄酮的测定

取 50ml 抽提液, 回收溶剂, 得到粘稠粗提物, 加水溶解, 定容至 100ml。吸取提取物 1ml, 置于 100ml 容量瓶中, 以下操作同标准曲线, 测得提取物的吸光度(A<sub>i</sub>)<sup>[6]</sup>。

### 2.2.4 计算

$W_i = aA_i + b$  式中: a, b 为系数

样品中的黄酮含量 =  $200W_i / m_i$

每个样品进行三次重复实验, 实验结果求平均值。

### 2.3 芦丁的 HPLC 定量测定

2.3.1 流动相 甲醇-0.5%磷酸水溶液(45:55); 检测波长: 260nm。

#### 2.3.2 线性关系的确定

精密称取芦丁标准品 10.1mg, 于 25ml 容量瓶中, 用甲醇溶液溶解, 定容, 超声溶解, 作为标准液, 分别精密吸取该标准液 1、2、3、4、5ml, 于 10ml 容量瓶中, 以甲醇定容, 即得标准溶液。分别精密吸取上述标准液 10 $\mu$ l 进样, 按上述色谱条件测定, 经过计算得到芦丁标准品含量(y)与芦丁的峰面积(x)之间的回归方程<sup>[7]</sup>。

#### 2.3.3 不同器官及其组织中的芦丁含量的测定

取 1ml 不同样品的索氏提取液, 稀释 4 倍后, 用微量滤膜过滤, 得供试品溶液。精密吸取供试品溶液 10 $\mu$ l, 注入高效色谱仪中, 按上述色谱条件测得峰面积, 根据线性回归方程, 测定其中芦丁含量<sup>[8]</sup>。

## 3 结果与讨论

### 3.1 试验条件选择

#### 3.1.1 显色稳定性

比色溶液显色后, 在 6h 内吸光度的变化必须小于 5%, 要保持黄酮类与铝盐生成络合物的显色是稳定的。

#### 3.1.2 试剂用量的选择

所加入的亚硝酸钠, 硝酸铝和氢氧化钠溶液分别在 26~30ml, 2.6~2.8ml, 18~22ml 范围内测定的吸光度基本不变<sup>[9]</sup>。

#### 3.1.3 干扰试验

在芦丁标准溶液中分别加入芦丁含量 20 倍的葡萄糖、蔗糖、麦芽糖, 测定结果表明, 这些组分不干扰黄酮的比色测定<sup>[10]</sup>。

### 3.2 标准曲线的建立

根据 2.1 的实验方法进行测定, 结果见表 1

用最小二乘法作线性回归, 得芦丁浓度(W)与吸光度(A)的关系曲线的回归方程式为:  $W=9.9763A+0.0367$ , 相关系数  $R=0.9997$ 。

表1 标准芦丁浓度—吸光度

序号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
毫升数	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
样品 mg	0	1.002	2.004	3.006	4.008	5.01	6.012	7.014	8.016	9.018	10.02	11.022	12.024	13.026
A	0	0.096	0.197	0.297	0.398	0.498	0.599	0.7	0.801	0.891	1.018	1.102	1.202	1.202

### 3.3 苦荞麦不同器官及其组织中的黄酮含量

#### 3.3.1 去杂试剂的选择

因大多数糖类不干扰测定, 荞麦杆尤其是荞麦叶, 干扰测定的杂质主要为脂溶性物质, 如叶绿素等, 叶绿素等脂溶性物质除得充分, 黄酮溶解的越少, 说明除杂效果越好, 比较了石油醚、乙醚和丙酮三种常用除脂试剂, 石油醚除杂效果差, 丙酮对黄酮有一定的溶解性, 只有乙醚除杂效果好, 并且不溶解黄酮。

#### 3.3.2 样品中黄酮含量

根据 2.2 对苦荞麦及其各器官和组织中的总黄酮进行测定结果见表 2。

表2 苦荞麦不同样品中黄酮含量

样品	样品(g)	ABS	样品总黄酮(mg)	黄酮含量(%)
根	30.27	0.075	154.3	0.51
茎	46.12	0.287	576.5	1.25
叶	10.4	0.279	560.6	5.39
花	10.21	0.319	641.2	6.28
籽	30.02	0.318	639.4	2.13
粉	30.07	0.346	694.6	2.31
壳	20.5	0.109	217.3	1.06

据测定分析可知: 苦荞麦根、茎、叶、花、及籽、粉中都含有大量的黄酮类化合物。荞麦根含量为 0.51%, 茎含量为 1.25%, 叶含量为 5.39%, 花含量为 6.28%, 籽含量为 2.13%, 粉含量为 2.31%, 壳含量 1.06%。含量依次为: 花>叶>粉>籽>茎>壳>根。

### 3.4 苦荞麦不同器官和组织中芦丁含量的测定

#### 3.4.1 芦丁标准曲线的制作

采用 2.3 的方法制作标准色谱图, 如图 1。

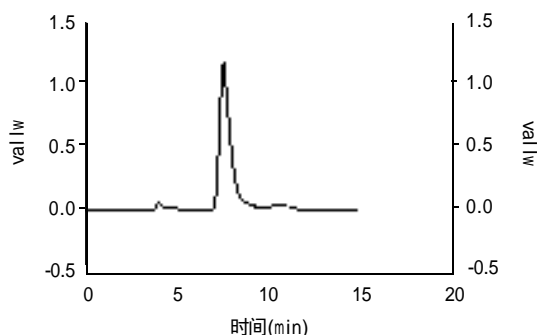


图1 标准芦丁色谱图

芦丁的峰面积和进样量之间的关系如表 3 所示。

芦丁的保留时间 7.361min, 进样量与面积之间的回归方程:  $Y=1 \times 10^{-7}X+0.1295$ , 相关系数为  $R=0.9995$ 。

#### 3.4.2 苦荞麦不同器官和组织中芦丁含量

表3 芦丁进样量和相对峰面积

含量(μg)	0.404	0.808	1.212	1.616	2.020
峰面积	2343546	5102019	7860018	10800019	14616019

表4 苦荞麦不同器官和组织中芦丁含量

样品	峰面积	样品芦丁含量(mg)	芦丁占总黄酮量(%)	芦丁占样品含量(%)
根	1289786	104.3	67.6	0.344
茎	9845865	532.1	77.3	0.967
叶	10813965	484.4	86.4	4.657
花	11529709	514.2	80.2	5.024
籽	10533918	476.4	74.5	1.576
粉	8603050	401.5	57.8	1.337
壳	2996654	172.5	79.4	0.844

由表 4 可以看出苦荞麦在秋季收获后其不同的器官及其组织中最主要的黄酮是芦丁, 不同器官及其组织中的芦丁的含量有差异, 含芦丁最多的器官是苦荞麦的叶。

## 4 结 论

结果表明: 荞麦根含量为 0.51%, 茎含量为 1.25%, 叶含量为 5.39%, 花含量为 6.28%, 籽含量为 2.13%, 粉含量为 2.31%, 壳含量为 1.06%。芦丁是苦荞麦中最主要的黄酮。

## 参考文献:

- [1] 郎桂常. 苦荞麦营养价值及其开发应用[J]. 中国粮油学报, 1996, 11(3): 9-14.
- [2] 唐宇. 荞麦中总黄酮和芦丁含量的变化[J]. 植物生理学报, 1999, 33-35.
- [3] 贾冬英, 耿磊. 苦荞麦茎及籽壳中黄酮类化合物(芦丁)的提取及其鉴定[J]. 1998, 19(9): 46-48.
- [4] 贾冬英, 乔玉兰. 用正交法探讨苦荞麦茎及籽壳中总黄酮(芦丁)的提取工艺[J]. 食品科学, 1997, 18(6): 22-25.
- [5] 廖亮. 银杏叶总黄酮提取方法研究[J]. 食品科学, 1994, 15(8): 33-35.
- [6] 石红旗. 银杏叶提取物中总黄酮测定方法的研究[J]. 食品科学, 2002, (4): 105-107.
- [7] 张琪, 刘慧灵, 朱瑞, 等. 苦荞麦中总黄酮和芦丁的含量测定方法的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(7): 113-116.
- [8] 陈运中. 苦荞麦黄酮含量的测定[J]. 食品科学, 1998, 19(3): 54-56.
- [9] 唐宇, 赵刚. 荞麦中黄酮含量的研究[J]. 四川农业大学, 2001, 19(4): 352-354.
- [10] 尹礼国, 曾凡坤, 钟耕, 等. 荞麦生物类黄酮研究现状[J]. 粮食与油脂, 2002, (12): 22-24.