

不同品种苦荞中的4种活性黄酮含量*

濮生财^{1,2} 鲁璐^{2**} 焦威² 邵华武² 阳小成^{1**}

¹成都理工大学材料与化学化工学院 成都 610059

²中国科学院成都生物研究所 成都 610041

摘要 利用HPLC测定21个不同品种苦荞籽粉和麸皮中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量。采用RP-HPLC,用Damonsil C₁₈色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),以乙腈-0.2%冰醋酸水溶液为流动相进行梯度洗脱,流速为1.0 mL/min,检测波长为354 nm,柱温30 °C。结果显示,在室温状态下,21种不同品种的苦荞种子中水分含量在4.907 3%-6.993 6%之间,恒重状态下,麸皮质量分数为21.84%-30.03%,麸皮重量约占苦荞籽粒质量的1/4。芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的线性范围分别在20-400 μg/mL、2-40 μg/mL、1-20 μg/mL、0.5-10 μg/mL;不同品种苦荞籽粉中,芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量范围分别为12.137 0-20.318 6 mg/g、1.478 7-2.871 9 mg/g、0.014 6- 0.901 5 mg/g、0-0.015 9 mg/g,4种主要黄酮的总含量为14.015 1-22.871 7 mg/g;麸皮中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量范围分别为4.269 0-12.118 9 mg/g、0.258 5-1.014 9 mg/g、0.061 8-0.735 4 mg/g、0-0.026 3 mg/g,4种主要黄酮的总含量为4.651 1-13.148 6 mg/g。本研究表明,无论在籽粉还是麸皮中,芦丁都是含量最高的黄酮,其次为山奈酚-3-芸香糖苷和槲皮素,山奈酚的含量在万分之一以下;本研究可为苦荞籽粉和麸皮中主要黄酮的开发和优良品种的利用提供重要依据。图4表6参22

关键词 苦荞;芦丁;山奈酚-3-芸香糖苷;槲皮素;山奈酚;HPLC

CLC Q948.744.06

Contents of four active flavonoids in different species of buckwheat*

PU Shengcai^{1,2}, LU Lu^{2**}, JIAO Wei², SHAO Huawu² & YANG Xiaocheng^{1**}

¹College of Material Chemistry and Chemical Technology, Chengdu University of Technology, Chengdu 610059, China

²Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract In order to examine the merits of buckwheat, four main flavonoids (rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol) were analyzed by using reversed-phase HPLC in 21 kinds of buckwheat, with chromatography column of Damonsil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of acetonitrile-0.2% acetic acid solution, flow rate of 1.0 mL/min, detection wavelength of 354 nm, and column temperature of 30 °C. The results showed an average moisture content of 4.907 3-6.993 6% in 21 kinds of different species of buckwheat seeds at room temperature; under constant weight state, the bran mass fraction was 21.84-30.03%, accounting for 1/4 of buckwheat seeds quality. The linear ranges of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol were 20-400 μg/mL, 2-40 μg/mL, 1-20 μg/mL, 0.5-10 μg/mL, respectively. In the powder of 21 kinds of buckwheat seeds, the content ranges of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol were 12.137 0-20.318 6 mg/g, 1.478 7-2.871 9 mg/g, 0.014 6-0.901 5 mg/g, 0-0.015 9 mg/g, respectively. The total content of the four main flavonoids was 14.015 1-22.871 7 mg/g. In seeds bran, the content ranges of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol were 4.269 0-12.118 9 mg/g, 0.258 5-1.014 9 mg/g, 0.061 8-0.735 4 mg/g, 0-0.026 3 mg/g, respectively. The total content of the four main flavonoids was 4.651 1-13.148 6 mg/g. The results indicated that whether in seed powder or bran, rutin is the flavonoid of the highest contents, followed by kaempferol-3-rutinoside and quercetin, with kaempferol levels the lowest, less than one in ten thousandth. This study provides some important evidences for the use of certain kinds of buckwheat.

Keywords buckwheat; rutin; kmapferol-3-rutinoside; quercetin; kaempferol; HPLC

苦荞麦俗称苦荞 [*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn], 学名鞑靼荞麦 (Tartarian buckwheat), 属双子叶蓼科荞麦属, 是少

有的亦食亦药粮食作物。我国苦荞麦栽培历史悠久, 主要产区分布在四川、云南、贵州等省^[1]。西南少数民族聚居区是我国最大的产区之一。研究表明苦荞具有很高的营养价值^[2]和多种活性功能^[3], 其所含黄酮类化合物是一类具有生物活性的多酚类化合物^[4], 具有抗氧化、抗炎症、抗癌等生物活性, 适量摄入有助于降低癌症、心血管疾病、炎症等的发病率^[5], 其中最主要的活性成分是芦丁^[6]。芦丁及其母核槲皮素具有抗炎、止咳、祛痰作用, 可用于治疗气管炎, 还具有扩张冠状

收稿日期 Received: 2014-09-21 接受日期 Accepted: 2014-12-02

*中国科学院“西部之光”博士项目(科发人教字2011-1号)和国家自然科学基金项目(21002098)资助 Supported by the ‘Western Light’ Research Program of Chinese Academy of Sciences (2011-1) and the National Natural Science Foundation of China (21002098)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: lulu@cib.ac.cn; yxc39@163.com)

血管和降低血管脆性、防治高血压和脑溢血、降血糖、抗癌等功能^[7]。山奈酚具有抗氧化、抗炎症、抑制肿瘤生长^[8]及保护肝细胞、抑制血小板聚集和黏附作用等活性^[9-11]。由于苦荞黄酮的多种生理活性,围绕苦荞黄酮成分的提取研究^[12-13]以及苦荞中各部位黄酮含量的测定^[11, 14]、黄酮的含量变化^[15]是当前的热点。但是,已有的研究往往集中于苦荞总黄酮的测定方法分析^[12, 13, 16],或单一黄酮测定^[17],或测定不同产地的部分黄酮含量^[15],无法总体把握我国不同苦荞品种中主要黄酮的情况。通过收集最新的苦荞品种,分别测定籽粉和麸皮中主要活性黄酮含量、测定水分和麸皮含量,从品种黄酮含量的角度分析苦荞品种差异的研究还相当有限。

为全面分析我国现栽培的21个苦荞品种中主要活性黄酮的含量和差异,本研究利用紫外分光光度法测定主要黄酮的最佳吸收波长,优选超声波提取方法,利用反向高效液相色谱法分别测定籽粉和麸皮中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚(图1)等4种主要活性黄酮的含量,并通过统计分析对不同品种苦荞的主要黄酮差异进行评估,以黄酮含量为依据考察种间亲缘关系,旨在为进一步开发优秀的苦荞品种以及从不同部分开发各种苦荞的黄酮产品提供数据参考。

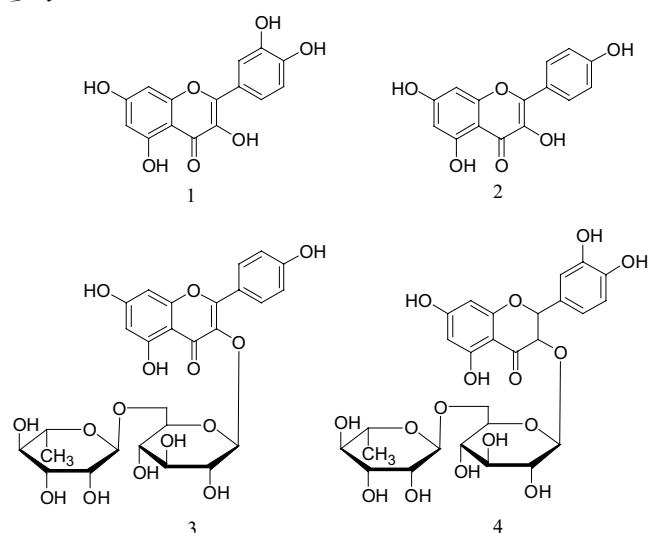


图1 芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的化学结构图。1: 槲皮素; 2: 山奈酚; 3: 山奈酚-3-芸香糖苷; 4: 芦丁。

Fig. 1 Chemical structure of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and Kaempferol. 1. quercetin; 2. kaempferol; 3. kaempferol-3-rutinoside; 4. rutin.

1 实验材料

美国安捷伦公司1200型液相色谱仪(美国安捷伦公司), TU-1810SPC型紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司), METTLER200型电子天平(广州南创电子科技有限公司), DHG-9070A型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司), YM22-600A型超声波仪(上海豫明仪器有限公司)。芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚对照品以及苦荞国1-国13(国1等13份样品是第10轮国家苦荞品种(南方组)区域试验材料,由西北农林科技大学农学院统提供,还未正式公布育种单位及名称)、区I-区VIII(区I等

6个样品由贵州师范大学征集自全国各苦荞主产区产量表现比较好的品种资源,区I为太守苦荞,区II为山西苦荞,区III为川荞2号,区IV为黔威3号,区V为云苦1号,区VI为川荞1号,区VII为云南迪庆苦荞,区VIII为晋荞麦6号)等共计21份苦荞样品,甲醇和乙腈均为色谱纯,水为去离子水。

2 方法

2.1 色谱条件及系统的适应性

使用DamonsilC₁₈(4.6 mm × 250 mm, 5 μm)色谱柱,以0.2%冰醋酸水溶液-乙腈(2:98)为流动相梯度洗脱(表1),检测波长为354 nm,柱温35 °C,流速1.0 mL/min。

表1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间 (t/min)	0.2%醋酸水溶液	乙腈 (φ/%)
Time	Aqueous solution of acetic acid 0.2%	Acetonitrile
0-5	98	2
5-8	90	10
8-12	85	15
12-18	80	20
18-22	70	30
25-30	60	40

2.2 溶液的制备

对照品溶液: 分别精密称取芦丁20 mg、山奈酚-3-芸香糖苷4 mg、槲皮素2 mg和山奈酚1 mg,加甲醇定容在10 mL容量瓶中,精密吸取芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的对照样品2、1、1、0.5 mL,用甲醇定容在10 mL容量瓶中。

供试溶液: 取样品10 g,烘箱中80 °C下干燥6 h至恒重,研钵粉碎,准确称取籽粉2.5 g,麸皮1 g以备提取。将所得的籽粉和麸皮,用90%的甲醇,料液比1:20,浸提温度为60 °C,浸提时间30 min,超声功率600 W,超声频率40 kHz的条件下提取3次,将提取液抽滤、蒸干并称重。用甲醇分别将籽粉和麸皮提取物定容在25 mL、10 mL的容量瓶中,摇匀,过0.22 μm微孔滤膜,取滤液备用。

2.3 线性关系

精密吸取其中一份贮备液芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚0.5、1、2、5 mL于10 mL的容量瓶中,加甲醇稀释至刻度摇匀,配成芦丁400、200、100、50、20 μg/mL,山奈酚-3-芸香糖苷40、20、10、5、2 μg/mL,槲皮素20、10、5、2、1 μg/mL和山奈酚10、5、2、1、0.5 μg/mL的系列浓度的对照品溶液,分别取20 μL进样后记录峰面积,以峰面积Y对对照品浓度X绘制标准曲线,相关组分的回归系数、线性范围见表2。

2.4 精密度实验

精确吸取芦丁100 μg/mL,槲皮素20 μg/mL,槲皮素10 μg/mL,山奈酚5 μg/mL对照样品20 μL,按照上述的色谱条件,连续进样6次。测得芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的RSD分别为1.27%、1.15%、1.08%、1.29%,结果表明所用仪器精密度良好。

2.5 重复性实验

精密称取苦荞国1号分籽粉和麸皮各6份,按照2.3项的

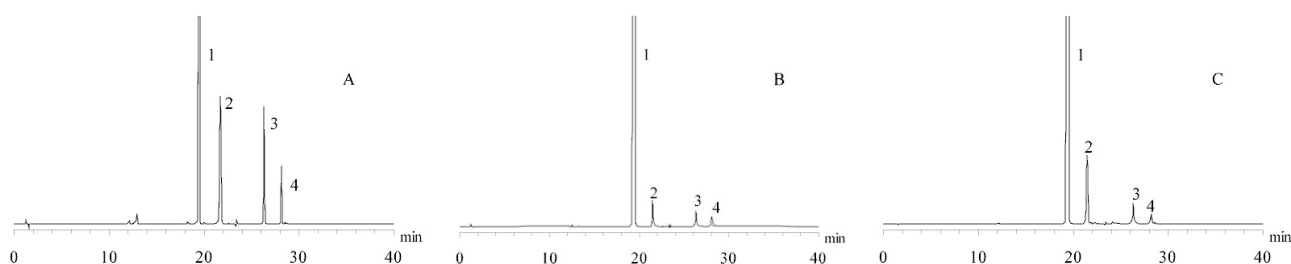


图2 混合对照样品 (A)、国10籽粉 (B)、区IV麸皮 (C) 的色谱图。1: 芦丁; 2: 山奈酚-3-芸香糖苷; 3: 槲皮素; 4: 山奈酚。

Fig. 2 Chromatogram of mixed seed samples (A), powder (B) and bran (C). 1. rutin; 2. kaempferol-3-rutinoside; 3. quercetin; 4. kaempferol.

方法制备供试品溶液,按照上述色谱条件进行分析,测得芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的相对标准偏差 (Relative standard deviation, RSD) 分别为1.13%、1.34%、1.15%、1.11%,结果表明其重复性较好。

表2 芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的回归方程线性范围

Table 2 Regression equations and linear ranges of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol

组分 Constituent	回归方程 Regression equation	R	线性范围 ($\rho/\mu\text{g mL}^{-1}$) Linear range
芦丁 Rutin	$y = 9.97786x + 0.93616$	0.99986	20-400
山奈酚-3-芸香糖苷 Kaempferol-3-rutinoside	$y = 4.58308x - 0.965600$	0.99984	2-40
槲皮素 Quercetin	$y = 6.11567x - 1.71440$	0.99962	1-20
山奈酚 Kaempferol	$y = 17.20512x - 1.46773$	0.99978	0.5-10

2.6 稳定性实验

取供试品溶液,分别于配置后0、2、4、8、16、24、32、48 h进样20 μL ,记录峰面积,测得芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的RSD分别为0.88%、1.36%、1.27%、0.96%,表明供试品溶液在48 h内稳定。

2.7 加样回收率实验

准确称取已知含量的国1号苦荞籽粉和麸皮各5份,分别加入芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚对照样品适量,按照2.3项下方法制备供试样品溶液,测得芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的平均回收率为97.74%、98.68%、96.79%、97.68%,RSD分别为2.43%、2.27%、1.98%、2.43%。

2.8 样品的测定

称取国1、区I等21个样品各5 g,每个样品3份,烘至恒重时称取其重量,研钵粉碎,称取麸皮和籽粉的重量,取籽粉2.5g、麸皮1g按照2.2.2项方法制备供试品溶液,按上述色谱条件,分别进样20 μL ,记录峰面积,分别计算芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量 (图2)。

2.9 检测波长的选择

将依照2.2.1配置的标样进行全波段 (250-500 nm) 的紫外光谱吸收,结果如图3所示,在200-400 nm的区域存在两个主要的紫外吸收带:带I (300-400 nm) 和带II (220-280 nm)。苦荞黄酮类化合物具有类似的基本骨架,在354 nm (带I) 和

256 nm (带II) 有很强的吸收,但是在带I吸收干扰少,专属性强,故选择354 nm 为检测波长。

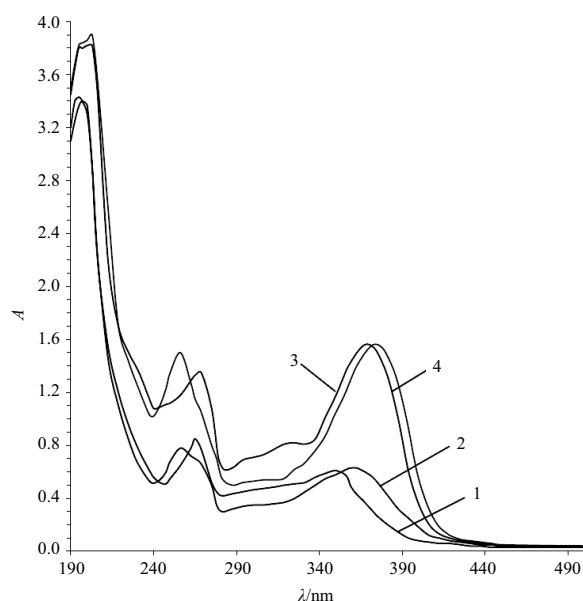


图3 4种黄酮的紫外吸收图 (溶剂为甲醇)。1: 芦丁; 2: 山奈酚-3-芸香糖苷; 3: 槲皮素; 4: 山奈酚。

Fig. 3 UV absorption scan of four flavonoids with methanol as solvent. 1. rutin; 2. kaempferol-3-rutinoside; 3. quercetin; 4. kaempferol.

2.10 流动相的选择

分别以甲醇-0.1%磷酸^[18]、乙腈-0.2%醋酸水溶液^[19]作为流动相,进行流动相条件筛选,乙腈-0.2%醋酸水溶液作为流动相,基线平稳,峰形较好,无拖尾现象,分离效果更优,故选择乙腈-0.2%醋酸水溶液为流动相。

2.11 提取方法的选择

对文献报道的苦荞4种提取方法——索氏提取法、浸渍法、回流提取法、超声波提取法^[15-17]进行了考察,相对于其他方法,超声波提取法所需时间最短,且提取效率高,故选择超声波提取法。

2.12 亲缘分析

聚类分析 (Cluster analysis) 是研究“物以类聚”的一种数理统计法,特别适用于样品类别归属不清楚的情况。系统聚类是目前应用较为广泛的一种聚类方法,它是将一批样品或变量,按照它们在性质上的亲疏程度进行分类。通过测定4种黄酮的含量,依据含量关系系统聚类,分析21种苦荞的亲缘关系。

3 结果与分析

3.1 样品测定结果

表3、表4的测定结果显示, 21个不同品种苦荞中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷槲皮素和山奈酚的含量存在较大的差异。在国1、区VI、区VII、区VIII的籽粉和区VIII的麸皮中没有检测到山奈酚信号。

对21个不同品种苦荞中芦丁的含量进行了对比: 籽粉中, 国12的芦丁的含量最高, 其含量大小排列顺序为国12>国11>国2>国8>国6>区VIII>区I>国7>国10>国5>国3>区IV>区II>区VII>区III>国1>国9>区V>区VI>国13>国4

(表3); 麸皮中, 国10的芦丁含量最高, 其含量大小排列顺序为国9>国7>国11>国10>区III>国5>区I>国12>国2>区V>国4>国1>国13>国6>区VII>国3>国8>区VIII>区VI>区IV>区II(表3)。

对21个不同品种苦荞中山奈酚-3-芸香糖苷的含量进行了对比: 籽粉中区VIII>国11>国6>国2>国5>国8>区V>国10>国3>国12>国4>国7>国9V区I>区IV>区II>区VI>区VII>区III>国13>国1(表3); 麸皮中国11>区III>国5>国9>国12>区V>国10>国7>国2>国13>区I>国6>区VII>区VIII>国4>国8>区VI>区IV>国1>国3>区II(表4)。

表3 不同品种苦荞籽粉中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量

Table 3 Contents of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol in seed powder of different species of buckwheat

名称 Name	芦丁(w/mg g ⁻¹) Rutin	山奈酚-3-芸香糖苷(w/mg g ⁻¹) Kaempferol-3-rutinoside	槲皮素(w/mg g ⁻¹) Quercetin	山奈酚(w/mg g ⁻¹) Kaempferol	总量(w/mg g ⁻¹) Total	总黄酮含量(w%) Total content of flavonoids
国1 State 1	14.4787	1.47868	0.04829	—	16.0057	1.6005
国2 State 2	18.8782	2.17142	0.13792	0.00566	21.1932	2.1193
国3 State 3	16.6518	1.93707	0.49225	0.01121	19.0924	1.9092
国4 State 4	12.1370	1.86789	0.18666	0.00310	14.1947	1.4194
国5 State 5	17.3221	2.11416	0.24411	0.00741	19.6878	1.9688
国6 State 6	18.8289	2.20976	0.17100	0.01049	21.2202	2.1220
国7 State 7	18.0203	1.84161	0.06661	0.00124	19.9297	1.9930
国8 State 8	18.8328	2.09548	0.08203	0.00745	21.0178	2.1018
国9 State 9	14.1977	1.82589	0.41233	0.00702	16.4429	1.6443
国10 State 10	17.6331	1.97989	0.90146	0.01242	20.5269	2.0527
国11 State 11	18.9285	2.76352	0.04456	0.00194	21.7385	2.1739
国12 State 12	20.3186	1.89972	0.64172	0.01165	22.8717	2.2871
国13 State 13	12.4330	1.56312	0.01459	0.00437	14.0151	1.4146
区I Area I	18.2112	1.81733	0.04336	0.00640	20.0783	2.0078
区II Area II	16.2011	1.74419	0.83092	0.01159	18.7878	1.8789
区III Area III	15.9779	1.56455	0.72248	0.00882	18.2738	1.8274
区IV Area IV	16.4982	1.79392	0.08606	0.00247	18.3807	1.8403
区V Area V	14.1302	2.04218	0.18027	0.01587	16.3685	1.6369
区VI Area VI	13.2136	1.71880	0.06288	—	14.9953	1.4995
区VII Area VII	16.0082	1.61380	0.23498	—	17.8570	1.7857
区VIII Area VIII	18.5865	2.87191	0.03360	—	21.4920	2.1492

表4 不同品种苦荞麸皮中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量

Table 4 Contents of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol in the bran of different species of buckwheat

名称 Name	芦丁(w/mg g ⁻¹) Rutin	山奈酚-3-芸香糖苷(w/mg g ⁻¹) Kaempferol-3-rutinoside	槲皮素(w/mg g ⁻¹) Quercetin	山奈酚(w/mg g ⁻¹) Kaempferol	总量(w/mg g ⁻¹) Total	总黄酮含量(w%) Total content of flavonoids
国1 State 1	7.61749	0.40395	0.06184	0.02630	8.10958	0.8110
国2 State 2	8.19905	0.69511	0.60587	0.00695	9.50698	0.9507
国3 State 3	6.32467	0.37927	0.13006	0.00339	6.83739	0.6837
国4 State 4	7.94604	0.49279	0.22216	0.01101	8.67212	0.8672
国5 State 5	8.75181	0.84267	0.27594	0.00969	9.88011	0.9880
国6 State 6	7.10635	0.56497	0.29176	0.00963	7.97271	0.7973
国7 State 7	11.7358	0.70220	0.16219	0.00824	12.6084	1.2601
国8 State 8	6.23928	0.41350	0.11364	0.01052	6.77694	0.677
国9 State 9	12.1189	0.82175	0.20361	0.00432	13.1486	1.3149
国10 State 10	9.6569	0.74414	0.73543	0.01325	11.1497	1.1150
国11 State 11	11.1998	1.01492	0.51450	0.00659	12.7358	1.2736
国12 State 12	8.21451	0.81552	0.48458	0.00950	9.52411	0.9524
国13 State 13	7.18576	0.63657	0.37534	0.01346	8.21113	0.8211
区I Area I	8.38267	0.57480	0.19367	0.00960	9.16074	0.9161
区II Area II	4.26903	0.25846	0.11550	0.00812	4.65111	0.4651
区III Area III	9.06749	1.01151	0.24682	0.00982	10.3356	1.0336
区IV Area IV	4.83830	0.40844	0.10419	0.00601	5.35694	0.5357
区V Area V	7.98848	0.78333	0.36264	0.00530	9.13975	0.9140
区VI Area VI	6.02774	0.41170	0.17161	0.00642	6.61747	0.6617
区VII Area VII	6.53255	0.54624	0.18590	0.00706	7.27175	0.7271
区VIII Area VIII	6.11039	0.54585	0.34194	—	6.99818	0.6998

对21个不同品种苦荞中槲皮素的含量进行了对比: 籽粉中国10>区II>区III>国12>国3>国9>国5>区VII>国4>区V>国6>国2>区IV>国8>国7>区VI>国1>国11>区I>区VIII>国13(表3); 麸皮中国10>国2>国11>国12>国13>区V>区VIII>国6>国5>区III>国4>国9>区I>区VII>区VI>国7>国3>区II>国8>区IV>国1(表4)。

对21个不同品种苦荞中山奈酚的含量进行了对比: 籽粉中区VII、国7、区VI、国1、国11、区VIII中没有检测到山奈酚的信号, 区V>国10>国12>区II>国3>国6>区III>国8>国5>国9>区I>国2>国13>国4>区IV(表3); 麸皮中区VIII没有

检测到山奈酚的信号, 国1>国13>国10>国4>国8>区III>国5>国6>区I>国12>国7>区II>区VII>国2>国11>区VI>区IV>区V>国9>国3(表4)。

综合表3-6可以看出, 无论在籽粉还是麸皮中, 芦丁都是含量最高的活性黄酮, 其次为山奈酚-3-芸香糖苷和槲皮素, 测定结果与研究结果^[6, 15, 20]相似, 槲皮素和山奈酚在苦荞中含量为微量. 籽粉和麸皮中4种黄酮含量有较大差别, 相对于麸皮, 籽粉总黄酮含量较高, 特别是芦丁和山奈酚-3-芸香糖苷, 但是槲皮素和山奈酚含量相近, 甚至有些品种中, 这两种黄酮含量麸皮高于籽粉, 例如国11、国13和区VI, 有的品

表5 不同品种苦荞籽粒中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量

Table 5 Contents of rutin, kaempferol-3-rutinoside, quercetin and kaempferol in seeds of different species of buckwheat

名称 Name	芦丁(w/mg g ⁻¹) Rutin	山奈酚-3-芸香糖苷(w/mg g ⁻¹) Kaempferol-3-rutinoside	槲皮素(w/mg g ⁻¹) Quercetin	山奈酚(w/mg g ⁻¹) Kaempferol	总量(w/mg g ⁻¹) Total	总黄酮含量(w%) Total content of flavonoids
国1 State 1	12.7987	1.21553	0.05161	0.00644	14.0723	1.40723
国2 State 2	15.8779	1.75887	0.26452	0.00598	17.9073	1.79073
国3 State 3	13.7585	1.50353	0.39124	0.00903	15.6623	1.56623
国4 State 4	11.0214	1.49455	0.19711	0.00530	12.7183	1.27183
国5 State 5	15.0148	1.77028	0.25374	0.00807	17.0469	1.70469
国6 State 6	15.9272	1.80737	0.19688	0.01018	17.9417	1.79417
国7 State 7	16.3776	1.55945	0.08785	0.00284	18.0278	1.80278
国8 State 8	15.8618	1.69673	0.09009	0.00823	17.6569	1.76569
国9 State 9	13.7589	1.59051	0.36356	0.00640	15.7194	1.57194
国10 State 10	15.3744	1.62545	0.85765	0.01274	17.8702	1.78702
国11 State 11	16.7509	2.26175	0.18413	0.00333	19.2001	1.92001
国12 State 12	17.7024	1.66548	0.60826	0.01120	19.9873	1.99873
国13 State 13	11.3037	1.36286	0.09340	0.00636	12.7663	1.27663
区I Area I	15.6073	1.48772	0.08347	0.00726	17.1858	1.71858
区II Area II	13.0347	1.34968	0.64094	0.01068	15.0360	1.50360
区III Area III	14.1662	1.42036	0.59672	0.00911	16.1924	1.61924
区IV Area IV	13.4121	1.42675	0.09117	0.00343	14.9335	1.49335
区V Area V	12.4729	1.69978	0.23139	0.01299	14.4171	1.44171
区VI Area VI	11.2641	1.36200	0.09321	0.00178	12.7210	1.27210
区VII Area VII	13.2799	1.30516	0.22186	0.00211	14.8090	1.48090
区VIII Area VIII	14.9778	2.19517	0.12605	—	17.2990	1.72990

表6 21个苦荞品种水分、麸皮、籽粉含量数据特征

Table 6 Contents of water, bran and seed powder in the 21 species buckwheat

名称 Name	常温水分含量(w%) Moisture content	籽粉质量分数(w%) Mass fraction of seed powder	麸皮质量分数(w%) Mass fraction of bran	得膏率(r%) The ratio of mixture
国1 State 1	5.90312	0.73416	0.26863	0.08278
国2 State 2	6.36955	0.72603	0.27715	0.06799
国3 State 3	6.04867	0.70751	0.29911	0.08285
国4 State 4	5.97792	0.71048	0.29223	0.08011
国5 State 5	5.58147	0.75039	0.25985	0.08151
国6 State 6	6.46339	0.76057	0.24449	0.07640
国7 State 7	6.44891	0.77303	0.23011	0.08382
国8 State 8	6.75727	0.75363	0.25889	0.07188
国9 State 9	4.93071	0.69469	0.30026	0.08016
国10 State 10	6.72051	0.74754	0.25026	0.08295
国11 State 11	6.08347	0.75106	0.25942	0.08629
国12 State 12	5.52478	0.73794	0.25732	0.08746
国13 State 13	5.96159	0.70039	0.29436	0.09561
区I Area I	6.40887	0.75515	0.24485	0.08072
区II Area II	5.80428	0.72293	0.27203	0.09682
区III Area III	6.74231	0.72726	0.27619	0.09400
区IV Area IV	6.31596	0.75913	0.22988	0.07441
区V Area V	6.49457	0.76178	0.24287	0.07505
区VI Area VI	6.99365	0.70957	0.29642	0.08153
区VII Area VII	6.41438	0.78294	0.21840	0.09163
区VIII Area VIII	6.35746	0.73431	0.26658	0.07762

种麸皮中含有山奈酚,然而籽粉中却未检测到,例如国1、区VI、区VII,这一实验结果确证了麸皮在开发苦荞黄酮中的价值.不同品种苦荞中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚的含量也存在较大的差异.

3.2 聚类分析结果

依据测定结果,考察苦荞品种间的黄酮含量关系,以相对含量为指标,在聚类方法上采用最近邻元素,欧氏距离测量,进行系统聚类分析,绘出树状图(图4).

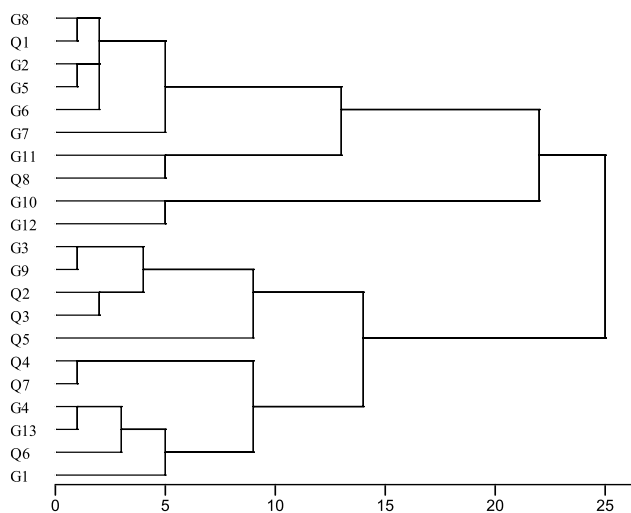


图4 苦荞籽粒聚类分析树状图. G1: 国1; G2: 国2; G3: 国3; G4: 国4; G5: 国5; G6: 国6; G7: 国7; G8: 国8; G9: 国9; G10: 国10; G11: 国11; G12: 国12; G13: 国13. Q1: 区1; Q2: 区2; Q3: 区3; Q4: 区4; Q5: 区5; Q6: 区6; Q7: 区7; Q8: 区8.

Fig. 4 Clustering dendrogram of tartary buckwheat seeds. G1: State 1; G2: State 2; G3: State 3; G4: State 4; G5: State 5; G6: State 6; G7: State 7; G8: State 8; G9: State 9; G10: State 10; G11: State 11; G12: State 12; G13: State 13. Q1: Area 1; Q2: Area 2; Q3: Area 3; Q4: Area 4; Q5: Area 5; Q6: Area 6; Q7: Area 7; Q8: Area 8.

由图4含量聚类树状图可见:以21个品种苦荞籽粒为研究对象,以4种黄酮含量为考察依据,经聚类分析后可分为5小类,含量的差异在聚类分析中得到体现.从聚类图中可以得出:(1)国10和国12虽然在芦丁的含量有差异,但是其槲皮素和山奈酚的含量相近合并为一类;(2)国11和区VIII两个品种的山奈酚-3-芸香糖苷含量最多,都在2%以上,较为接近,合并为一类;(3)国3和国9芦丁、槲皮素和总含量相近,与区II、区III、区V合为一类;(4)槲皮素、总黄酮含量相近的国2、国5、国6与芦丁、黄酮总含量相近的国8、区I、国7合为一类;(5)芦丁和总黄酮含量相近的国4、国13、区VI与芦丁和总黄酮含量相近的区IV、区VII、国1合并为一类.聚类结果将不同品种依照含量的差异性区分开,通过以含量为目的聚类分析,反映了各个不同样品的差异性,以及种选育培养不同品种时其黄酮含量的相似性.

4 讨论

综合籽粉和麸皮中4种主要黄酮的含量测定结果,在苦荞黄酮开发中,国11、国10、区III这三个品种具有较高的优势,

国11的籽粉中山奈酚-3-芸香糖苷和芦丁含量较高,其麸皮中芦丁、槲皮素和山奈酚-3-芸香糖苷含量也很高,可以作为山奈酚-3-芸香糖苷选育、提取的优势品种,国10的籽粉、麸皮中槲皮素和山奈酚的含量较高,可作为以山奈酚和槲皮素为目标物的优势品种,区III的籽粉中槲皮素含量较高可作为后期引种和推广的优选品种.芦丁是黄酮的主要活性成分,如何降低其苦涩味道,又保持黄酮类化合物在食品中的功效是当前面临的难题^[21].单从提高苦荞产品口感来看,区VIII、国11是择优选育、开发食品的最佳选择,其具有较多的黄酮总含量,但芦丁占总黄酮含量比例最低,而其他3种黄酮的含量相对最高,占总黄酮含量分别占13.52%、12.93%,槲皮素和山奈酚的含量均在万分之一或十万分之一左右,难以检测,与研究结果^[8, 21]相似,而山奈酚-3-芸香糖苷含量适中,在千分之一左右,且这个含量用高效液相色谱法和薄层色谱法测定很方便,故定为苦荞特征性成分^[22].从多元统计分析结果可以看出,不同品种苦荞黄酮含量具有较大的差异性,这些差异一方面来源于品种选育中的差异,如抗倒伏、抗病、抗旱、耐瘠适应性、生物类黄酮含量高、符合市场需求的优良苦荞品种等选育要求,混合选育发展成为优质品种;另一方面也受到种植条件以及引种后期管理、天气等因素变化的影响而产生变化.本文研究测定了4种主要的活性黄酮含量,还有两种黄酮因含量低,以本实验设计条件无法检测到,若要测定其含量分数,还需要确定更合适的检测条件如质谱^[6]测定,国1、区VI、区VIII、区VII的籽粉和区VII的麸皮均未检测到山奈酚的信号,若要准确测定它们的含量还需要改进实验条件和实验方法.本研究采用RP-HPLC法分别测定了苦荞籽粉和麸皮中芦丁、山奈酚-3-芸香糖苷、槲皮素和山奈酚4种成分的含量,可为综合和高效利用荞麦植物资源提供一定的科学依据,为苦荞籽粉和麸皮中主要黄酮的开发和优良品种的利用提供详实的数据支持.

参考文献 [References]

- 1 赵佐成,周明德,罗定泽,李发良,曹吉祥.中国苦荞麦原生境保存可行性的民族植物学调查[J].应用与环境生物学报,1998,4(4):320-326 [Zhao ZC, Zhou MD, Luo DZ, Li FL, Cao JX. Ethnobotanical investigation of in-situ conservation of tartary buckwheat in China [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 1998, 4(4): 320-326]
- 2 林汝法,周小理,任贵兴,边俊生,陕方.中国荞麦的生产与贸易、营养与食品[J].食品科学,2005,26(1):259-263 [Lin RF, Zhou XL, Ren GX, Bian SS, Shan F. Chinese buckwheat production and trade, nutrition and food [J]. *Food Sci*, 2005, 26(1): 259-263]
- 3 Liu BG, Zhu YY. Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids [J]. *J Food Eng*, 2005, 78: 584-587
- 4 Janeš D, Kantar D, Kreft S, Prosen H. Identification of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) aroma compounds with GC-MS [J]. *Food Chem*, 2009, 112: 120-124
- 5 Zhang ZL, Zhou ML, Tang Y, Li FL, Tang YX, Shao JR, Xue WT, Wu YM. Bioactive compounds in functional buckwheat food [J]. *Food Res Intern*, 2012, 49: 389-395
- 6 李丹,丁霄霖.苦荞黄酮抗氧化作用的研究[J].食品科学,2001,22(4):

- 22-23 [Li D, Ding XL. Study on antioxidant effect of tartary buckwheat flavonoid [J]. *Food Sci*, 2001, **22** (4): 22-23]
- 7 刘淑梅, 韩淑英, 霍国金, 朱丽莎, 吕华. 甜荞麦叶总黄酮降糖降脂作用及机制[J]. 第四军医大学学报, 2003, **24** (19): 1815-1817 [Liu SM, Han SY, Huo JG, Zhu LS, Lü H. Effects and mechanism of total flavones of buckwheat leaf in lowering serum glucose and lipid [J]. *J Fourth Military Med Univ*, 2003, **24** (19): 1815-1817]
- 8 张燕玲, 薛小平. 山萘酚的作用机理研究[J]. 化学与生物工程, 2011, **28** (12): 1-3 [Zhang YL, Xue XP. Study on mechanisms of kaempferol [J]. *Chem Bioeng*, 2011, **28** (12): 1-3]
- 9 王建华, 郑丽, 冀国荣, 李连怀. 山萘酚对大鼠成骨细胞增殖与分化的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2008, **20** (6): 997-999 [Wang JH, Zhen L, Yi GR, Li LH. Effects of kaempferol on proliferation and differentiation of cultured osteoblasts *in vitro* [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2008, **20** (6): 997-999]
- 10 何煜舟, 汪云开, 祝晨, 蒋旭宏, 张徽, 黄小民, 吴丽娟. 山萘酚抗氧化作用研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2012, **22** (6): 499-501 [He LZ, Wang YK, Zhu C, Jiang XH, Zhang W, Hang XM, Wu LG. Progress of kaempferol antioxidant effects [J]. *Zhejiang J Integr Trad Chin Western Med*, 2012, **22** (6): 499-501]
- 11 黄兴富, 黎其万, 刘宏程, 王继良, 孙浩岩, 邵金良. 高效液相色谱法同时测定苦荞中芦丁、槲皮素和山萘酚的含量[J]. 中成药, 2011, **33** (2): 345-347 [Huang XF, Li WQ, Liu HC, Wang JL, Sun HY, Shao JL. Simultaneous determination of buckwheat's rutin, quercetin and kaempferol by HPLC [J]. *Chin Trad Patent Med*, 2011, **33** (2): 345-347]
- 12 刘春花, 高金锋, 王鹏科, 冯佰利, 柴岩. 超声波法提取苦荞黄酮的工艺研究[J]. 西北农业学报, 2009, **18** (1): 281-284 [Liu CH, Gao JF, Wang PK, Feng BL, Chai Y. Research on ultrasonic wave extraction of flavones from tartary buckwheat [J]. *Acta Agric Bor-occid Sin*, 2009, **18** (1): 281-284]
- 13 陈国安, 周桃英. 超声波辅助提取苦荞黄酮工艺的优化[J]. 湖北农业科学, 2012, **51** (22): 5144-5146 [Chen GA, Zhou TY. Optimization of ultrasonic-assisted extraction technology of flavonoids from tartary buckwheat [J]. *Hubei Agric Sci*, 2012, **51** (22): 5144-5146]
- 14 刘娥, 郭鹏. 高效液相色谱法测定钟祥苦荞茶中芦丁的含量[J]. 中国医院药学杂志, 2013, **33** (13): 1110-1111 [Liu E, State P. Determination of rutin in Zhongxiang buckwheat tea by HPLC [J]. *Chin J Hospital Pharm*, 2013, **33** (13): 1110-1111]
- 15 徐宝才, 肖刚, 丁霄霖, 李丹. 液质联用分析测定苦荞黄酮[J]. 食品科学, 2003, **24** (6): 113-117 [Xu BC, Xiao G, Ding XL, Li D. Determination on flavonoids of tartary buckwheat by LC-MS [J]. *Food Sci*, 2003, **24** (6): 113-117]
- 16 王斯慧, 黄琬凌, 李馨倩, 曾里, 曾凡骏. 超声辅助提取苦荞黄酮的工艺优化[J]. 食品与饲料工业, 2012 (1): 28-34 [Wang SH, Huang WL, Li QQ, Zeng L, Zeng FJ. Research on ultrasonic-assisted extraction technology of buckwheat flavonoids [J]. *Cereal & Food Ind*, 2012 (1): 28-34]
- 17 王九峰, 万忠民, 濮生财, 焦威, 阳小成, 邵华武. 减压内沸腾和响应面分析优化苦荞总黄酮提取工艺[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20** (4): 633-638 [Extraction of total flavonoids from *Fagopyrum esculentum* seeds by decompressing inner ebullition extraction method and response surface analysis [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (4): 633-638]
- 18 Kalinova J, Triska J, Vrchotova N. Distribution of vitamin E, squalene, epicatechin, and rutin in common buckwheat plants (*Fagopyrum esculentum* Moench) [J]. *Agric Food Chem*, 2006, **54**: 5300-5335
- 19 Stojilkovski K, Glavac NK, Kreft S, Kreft I. Fagopyrin and flavonoid contents in common, tartary, and cymosum buckwheat [J]. *J Food Composition Anal*, 2013, **32**: 126-130
- 20 Zhao G, Peng LX, Wang S, Hu YB, Zou L. HPLC Fingerprint-antioxidant properties study of buckwheat [J]. *J Integr Agric*, 2012, **11** (7): 1111-1118
- 21 赵佐成, 李伯刚, 周明德. 中国苦荞麦及其近缘野生种资源[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2007: 151-169 [Zhao ZC, Li BG, Zhou MD. Chinese bitterbuckwheat and wild relatives resources [M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Press, 2007: 151-169]
- 22 朱瑞, 卞庆亚, 林宏英, 陈建民. 苦荞麦种子化学成分研究[J]. 中医药信息, 2003, **20** (3): 17-18 [Zhu R, Bian QY, Lin HY, Chen JM. Studies on chemical constituents of the seeds of *Fagopyrum tataricum* Gaertn [J]. *Inform Trad Chin Med*, 2003, **20** (3): 17-18]