

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2014.10.033

HPLC 法测定商品苦荞茶中 槲皮素和山柰酚含量^①

夏清^{1,2}, 黄艳菲², 杨正明², 李波², 刘圆²

1. 四川中医药高等专科学校, 四川 绵阳 621000; 2. 西南民族大学 民族医药研究院, 成都 610041

摘要: 目的: 采用高效液相色谱法测定商品苦荞茶中槲皮素和山柰酚的含量. 方法: 回流提取法, 色谱柱为 DIKMA diamonsil(4.6 mm×250 mm, 5 μm), 检测波长 260 nm, 柱温 25 ℃, 流动相为乙腈-0.1%磷酸水, 梯度洗脱, 流速为 1 mL/min. 结果: 不同类型苦荞茶中黑苦荞全胚茶的槲皮素和山柰酚含量最低(0.704~1.089 mg/g), 不同产地苦荞茶中槲皮素和山柰酚含量差异较大. 结论: 本试验可为苦荞茶的研究和质量标准建立提供科学依据.

关键词: 苦荞茶; 槲皮素; 山柰酚; HPLC

中图分类号: R284

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)10-0200-05

苦荞 *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn 为蓼科荞麦属植物, 除含有丰富的蛋白质、氨基酸、膳食纤维和微量元素等营养成分, 还含有其它谷类作物不含的黄酮类化合物, 使苦荞具有降糖、降脂、降压、抗氧化、抗炎、镇痛、抑菌等药理作用^[1-6]. 由于苦荞的食用价值、营养价值和药用价值较高, 以苦荞根、茎、叶、籽壳等为原料制成了多种食品和保健品, 以苦荞茶最为普遍, 市面上已有多多个种类的苦荞茶商品. 目前, 苦荞茶的质量标准仅颁布了地方标准, 还未颁布国家标准. 地方标准以总黄酮(以芦丁计)含量作为评价指标, 但是, 由于植物化学成分的复杂性, 药效的发挥, 不能由一种化学成分所体现, 因此, 仅以一大类化学成分为指标并不能客观评价苦荞茶的质量, 以多个主要化学成分为指标才能更综合地评价苦荞茶的质量. 苦荞中黄酮类成分除了芦丁还有槲皮素和山柰酚. 有研究表明, 由于制作工艺不同, 苦荞茶中芦丁和槲皮素的质量分数有明显差异, 苦荞茶的主要两种制作工艺(种子茶和节节茶)见图 1^[7-8]. 为研究不同制作工艺对苦荞茶中主要化学成分的影响以及对苦荞茶进行质量评价, 在课题组前期对芦丁含量测定的基础上, 采用高效液相色谱法测定不同制作工艺的不同类型苦荞茶、不同产地苦荞茶中槲皮素和山柰酚含量, 以期对苦荞茶的研究及质量标准建立提供科学依据.

① 收稿日期: 2014-02-14

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAI27B07); 西南民族大学国家外国专家项目(2014).

作者简介: 夏清(1982-), 男, 四川北川人, 讲师, 主要从事中药药剂的教学与科研工作.

通信作者: 刘圆.

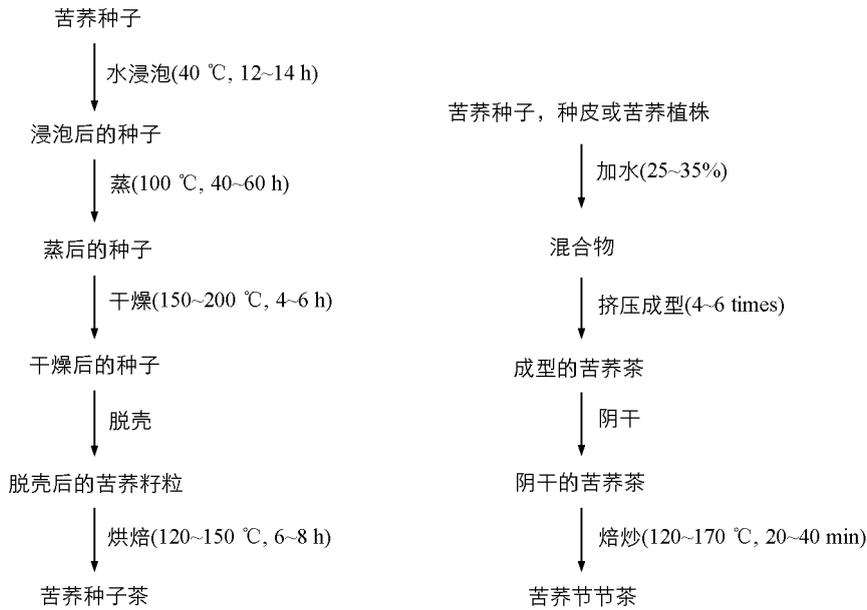


图 1 苦荞种子茶和苦荞节节茶生产工艺流程图

1 材料与方 法

1.1 材 料

不同类型、不同产地苦荞茶样品均购于成都市超市和网络店铺。

1.2 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 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。

槲皮素对照品(批号: 100081-200907, 中国药品生物制品检定所); 山柰酚对照品(批号: MUST-11041101, 成都杰锐科技有限公司); HPLC 乙腈(迪马公司); 水为超纯水; 甲醇、磷酸为分析纯。

1.3 样品测定方法

1.3.1 色谱条件

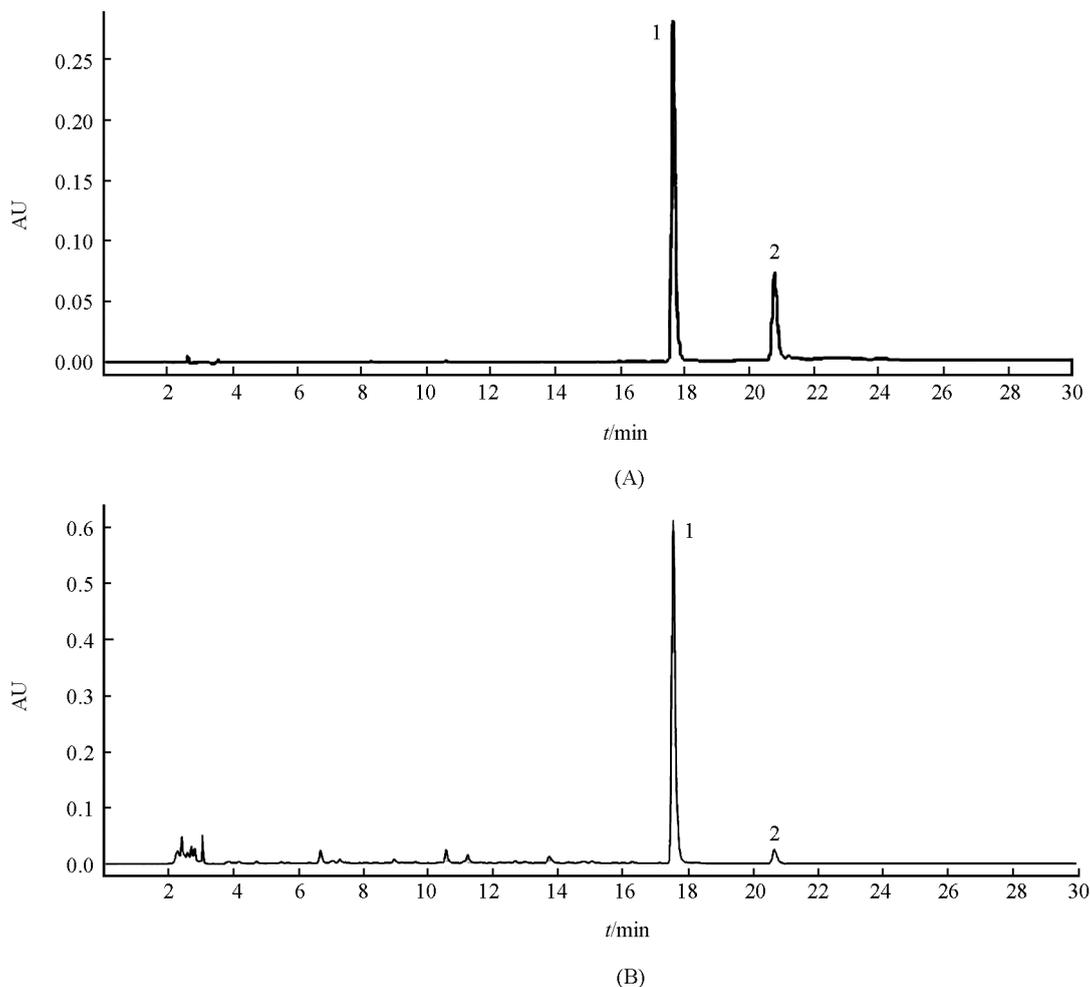
色谱柱: DIKMA diamondsil(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 柱温: 25 °C; 进样量: 10 μL; 流动相: 乙腈(A)-0.1%磷酸水(B), 梯度洗脱: 0~15 min 10%(A)~40%(A), 15~30 min 40%(A)~50%(A); 检测波长: 260 nm; 流速: 1 mL/min. HPLC 图见图 2

1.3.2 样品溶液的制备

取苦荞茶样品粉末 0.5 g, 精密称定, 加入体积分数 90% 的甲醇 25 mL, 于 80 °C 水浴回流提取 90 min, 放冷, 过滤, 取续滤液备用。

1.3.3 样品含量测定

样品含量测定方法参照课题组前期测定荞麦不同种、不同植物部位槲皮素和山柰酚的含量所建立的方法^[10]。



1. 槲皮素; 2. 山柰酚.

图 2 混合对照品(A)和样品(B)HPLC图

2 结果与分析

2.1 含量测定结果

不同类型及不同产地苦荞茶样品含量测定结果见表 1.

由表 1 可以看出, S1~S8 不同类型苦荞茶样品中, S3 和 S6 黑苦荞全胚茶中槲皮素和山柰酚的含量较其它种类苦荞茶低很多. 这可能是由于苦荞麦籽粒制成种子茶时, 未经打粉和掺水, 苦荞麦中的芦丁未被芦丁降解酶水解成槲皮素和芸香糖, 并且经过蒸煮, 使芦丁降解酶失活, 芦丁保持结合状态, 而使槲皮素含量较低^[7]. 节节茶由于经过加水、混合、造粒的过程, 使大部分芦丁水解为槲皮素, 因此, 节节茶中的槲皮素含量都很高.

不同产地苦荞茶中, 除了 S12 为节节茶槲皮素和山柰酚含量较高外, 其它样品均为种子茶, 槲皮素和山柰酚含量均较低, 差异也较大, 含量在 0.372~1.454 mg/g 之间.

2.2 提取条件的确定

课题组前期对荞麦中槲皮素和山柰酚的提取条件进行了考察, 确定了提取条件, 但通过含量测定发现, 仅超声 20 min 对商品苦荞茶中槲皮素和山柰酚的提取并不充分, 可能是由于苦荞茶经过烘焙、焙炒

之后质地变硬,在短时间及温度较低的提取条件下提取不完全.考虑到苦荞茶经高温处理后,芦丁降解酶已失活,提取溶剂浓度的高低对其已无影响,因此,选择体积分数高的有机溶剂有利于槲皮素和山柰酚的溶出.参考了课题组前期采用水浴回流法提取芦丁的方法^[9],发现该方法对苦荞茶中槲皮素和山柰酚提取效果优于超声法,故本次试验选用水浴回流法,并对提取方法进行了适当改动,甲醇体积分数由 91% 修改为 90%,溶剂体积由 16 mL 增加到 25 mL,提取温度由 77 °C 修改为 80 °C,提取时间由 93 min 修改为 90 min.

表 1 不同类型和不同产地苦荞茶样品含量测定结果(mean±SD, n=3)

编号	苦荞茶类型	含量/(mg·g ⁻¹)		备注	产地
		槲皮素	山柰酚		
S1	黑苦荞茶	13.043±0.287	0.710±0.011	节节茶	四川
S2	苦荞茶	11.809±0.201	0.665±0.009	节节茶	
S3	黑苦荞全胚茶	0.704±0.022	0.086±0.003	种子茶	
S4	黑苦荞全株茶	14.359±0.172	0.789±0.017	节节茶	
S5	高寒苦荞茶	10.873±0.196	0.605±0.011	节节茶	
S6	黑苦荞全胚茶	1.089±0.028	0.105±0.003	种子茶	
S7	黑苦荞全皮茶	9.473±0.104	0.506±0.012	节节茶	
S8	黑苦荞全株茶	9.872±0.217	0.544±0.017	节节茶	
S9	苦荞茶	0.494±0.015	0.079±0.003	种子茶	安徽
S10	苦荞茶	0.390±0.010	0.074±0.002	种子茶	云南
S11	苦荞茶	0.372±0.009	0.072±0.003	种子茶	福建
S12	苦荞茶	7.056±0.169	0.476±0.012	节节茶	甘肃
S13	苦荞茶	1.387±0.058	0.133±0.003	种子茶	江苏
S14	苦荞茶	0.374±0.015	/	种子茶	北京
S15	苦荞茶	0.462±0.019	/	种子茶	山西
S16	苦荞茶	1.454±0.038	0.209±0.007	种子茶	浙江
S17	苦荞茶	1.060±0.036	0.105±0.004	种子茶	广东

注:“/”表示未检测到.

3 结 论

苦荞茶经不同加工工艺制成苦荞茶后,化学成分发生较大变化,芦丁大量水解生成槲皮素.虽同为黄酮类化合物,但药理活性不尽相同,而目前的四川凉山地方标准仅要求了总黄酮含量,未对具体成分做出要求,因此,建议对不同生产工艺苦荞茶中的主要化学成分进行标识,制定相应质量标准,方便人们购买时根据自身需求选择.

从不同产地苦荞茶中槲皮素和山柰酚含量测定结果可以看出,由于没有可执行的统一标准,不同产地生产的苦荞茶槲皮素和山柰酚的含量差异较大.

参考文献:

- [1] 郭月英,贺银凤.苦荞的营养成分医疗功能及开发现状[J].农产品加工,2004(2):24-25.
- [2] 郭刚军,何美莹,邹建云,等.苦荞黄酮的提取分离及抗氧化活性研究[J].食品科学,2008,29(12):373-376.

- [3] 喻辉辉. 苦荞提取物对大鼠血糖及血脂的影响 [J]. 中医药导报, 2010, 16(7): 122-123.
- [4] 胡一冰, 赵 钢, 彭镰心. 苦荞芽提取物的镇痛抗炎作用 [J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2009, 28(2): 101-103.
- [5] 周小理, 成少宁, 周一鸣, 等. 苦荞芽中黄酮类化合物的抑菌作用研究 [J]. 食品工业, 2010(2): 12-14.
- [6] 王安虎, 夏明忠, 蔡光泽, 任迎虹. 四川野生荞麦资源地理分布的调查研究 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2008, 30(8): 19-123.
- [7] 贾洪锋, 唐 宇, 孙俊秀, 等. 苦荞茶和荞麦面条中芦丁及槲皮素含量分析 [J]. 食品与机械, 2013(1): 57-60.
- [8] 肖诗明, 张 忠, 向忠华. “节节”苦荞麦茶的研制 [J]. 食品科技, 2007(2): 199-201.
- [9] 黄艳菲, 彭镰心, 丁 玲, 等. 荞麦和商品苦荞茶中芦丁含量的测定 [J]. 现代食品科技, 2012, 28(9): 1219-1222.

Determination of Quercetin and Kaempferol in Marketable Buckwheat Tea by HPLC

XIA Qing^{1,2}, HUANG Yan-fei²,
YANG Zheng-ming², LI Bo², LIU Yuan²

1. Sichuan College of Traditional Chinese Medicine, Mianyang Sichuan 621000, China;

2. Ethnic Medicine Institute of Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

Abstract: In order to provide a scientific basis for the establishment of quality standard for the research and quality control of buckwheat tea, HPLC (high-performance liquid chromatography) was performed to determine quercetin and kaempferol in different kinds of buckwheat tea. The chromatographic separation was carried out on a DIKMA diamonsil (4.6 mm×250 mm, 5 μm) chromatographic column. The detection wavelength was set at 260 nm and the column temperature was 25 °C. The mobile phase was acetonitrile and 0.1% phosphoric acid solution at a flow rate of 1.0 mL/min. The results showed that of the samples studied black tarary buckwheat tea with the whole embryo had the lowest quercetin and kaempferol contents (0.704~1.089 mg/g) and that considerable differences existed between buckwheat tea samples of different origins.

Key words: buckwheat tea; quercetin; kaempferol; HPLC

责任编辑 汤振金