文章编号:1673-1689(2007)02-0012-04

毛细管电泳检测苦荞芽中的黄酮类化合物

侯建霞, 汪 云, 程宏英, 龚立冬, 曹玉华
(江南大学 化学与材料工程学院,江苏 无锡 214122)

摘 要: 用毛细管电泳-电化学检测的方法分析了苦荞麦芽中黄酮类物质,测定了表儿茶素、芦丁、槲皮素的含量。以直径为 300 μm 的碳圆盘电极为工作电极,50 mmol/L 硼砂溶液(pH=8.5)为运行缓冲液,对上述 3 组分的分离检测条件进行优化研究。在优化条件下,3 组分可在 12 min 内完全分离,检出限分别为 1.83×10^{-7},2.9×10^{-8},1.00×10^{-7} g/L。并运用此法对自助生产的两种苦荞麦芽样品中的黄酮类物质进行跟踪测定,研究了萌发时间对其中营养成分的影响。

关键词: 毛细管电泳;电化学检测;苦荞芽;黄酮;表儿茶素;芦丁;槲皮素
中图分类号:O 657.1 **文献标识码**: A

Detemination of Phenolic Compounds in Buckwheat Sprout by Capillary Electrophoresis

HOU Jian-xia, WANG Yun, CHENG Hong-ying, GONG Li-dong, CAO Yu-hua
(School of Chemical and Material Engineering, Southern Yangze Universitry, Wuxi 214122, China)

Abstract: In this manuscript, the determination of phenolic compounds: epicatechin, rutin and quercetin in buckwheat sprout by capillary electrophoresis with electrochemical detection (CE-ED) was reported. A 300 μm diameter carbon disk electrode was used as the working electrode and 50 mmol/L borax solution (pH=8.5) as buffer. The separation and examination condition were investigated. Three compounds could be base—line separated within12 min under optimum conditions. The detection limits (S/N=3) were 1.83 10^{-7}g/L, 2.9 10^{-8}g/L, 1.00 10^{-7}g/L for epicatechin, rutin and quercetin, respectively. This method was sensitively and the result was confident. As the seeding days progressed, phenolic compounds in buckwheat sprouts was examined in this method.

Key words: capillary electrophoresis; electrochemical detection; buckwheat; phenolic; epicatechin; rutin; quercetin

苦荞麦属于蓼科荞麦属草本双子叶植物[1],是一独特的食药两用型经济作物[2-3],富含维生素、生物多酚类物质,具有抗氧化[4-5]、降血糖[6]、降血脂[7]等作用。苦荞(勒靶荞麦)黄酮已获得美国FDA 认证[8]。苦荞芽菜作为一种新型食品,口感好,营养成分与荞麦籽粒相比更为丰富[9],且易于人体消化吸收[10]。目前,对苦荞芽菜营养成分的研究还较少,陈鹏等对荞麦芽中蛋白质、氨基酸等营

收稿日期:2006-05-08.
基金项目:国家自然科学基金项目(20676052).
作者简介: 侯建霞(1980-),女,河南濮阳人,分析化学硕士研究生.
通讯作者: 汪云(1964-),女,江苏无锡人,副教授,工学硕士,主要从事分析化学研究. Email: wangyun813@126.com

万方数据

养进行了研究评价[10]，国外曾有文献报道各类营养物质在芽菜生长过程中的变化情况[11]。作者采用毛细管电泳－电化学检测法(CE－ED)，以萌发的苦荞籽粒为研究对象，跟踪检测了芽菜中黄酮类化合物(芦丁、槲皮素、表儿茶素)含量随萌发时间的变化，实验发现，苦荞芽菜中所含的黄酮化合物的种类和量较籽粒都有所变化。芦丁、表儿茶素的含量明显高于荞苦籽粒。芽菜生长 7 d 时，各物质含量达到最大。

1　材料与方法

1.1　仪器和试剂

毛细管电泳－电化学检测系统(CE－ED)为作者所在课题组组装[12]，其中±30 kV 高压电源为上海原子核研究所产品；三电极工作系统(直径为 300 μm 的碳圆盘电极为检测电极、铂丝为辅助电极、Hg/ Hg_2Cl_2 为参比电极)；三维定位调节器：上海联谊光纤激光器械厂产品；BAS LC-3D 安培检测器：Bioanalytical Systems 公司产品；HW 色谱工作站：上海千谱软件有限公司产品；熔融石英毛细管(D 25 μm×60 cm)：河北永年光导纤维厂产品；超声波清洗器、毛细管清洗器：上海医科大学仪器厂产品。

表儿茶素：Sigma 公司产品；芦丁：上海化学试剂有限公司产品；槲皮素：上海同田生化技术有限公司产品；苦荞样品(样品 1，样品 2)：四川西昌滋元食品厂提供；其他试剂均为分析纯。

1.2　标准溶液及样品溶液的制备

标准溶液：表儿茶素、芦丁、槲皮素标准储备液：1.000 mg，用无水乙醇配制，再用缓冲液稀释至所需浓度。样品溶液：荞麦籽粒浸泡 24 h 放入培育盘(20 ℃)发芽，从浸泡开始第 3 天采样，连续 6 d；苦荞芽 60 ℃烘干 8 h，用研钵研成细粉，存放－4 ℃冰箱备用；准确称取细粉 1 g 于三角瓶中，加入体积分数 60%乙醇水溶液 25 mL，超声波助溶 1 h(分 3 次进行，每次 20 min)；静置 10 min，取上层清液。

1.3　试验方法

毛细管使用前用 0.1 mol/L 的 NaOH、二次水、缓冲液分别冲洗 5，2，10 min。自制碳圆盘电极使用前要用细砂纸打磨，并用超声波清洗 2 min，使用自组装的 CE-ED 检测系统，通过三维定位调节器使工作电极与毛细管的出口在同一直线上，并尽可能靠近毛细管的末端，以 50 mmol/L 的硼砂-硼酸缓冲液为运行液，采用电动进样，检测池为阴极电泳槽。所有溶液使用前均用 0.22 μm 聚丙烯滤膜过滤。

2　结果与讨论

2.1　电泳条件的选择

2.1.1　*流体动力学伏安图*　由 3 种物质的流体动力学伏安图(图 1)可以看出：0.70～0.95 V 之间随着氧化电位的增加，峰电流都随之增加。0.95 V 以后随着氧化电位增大，峰电流的变化趋势不一致，其中表儿茶素、芦丁的迅速增加，槲皮素的反而有所降低。并且当检测电压高于 0.95 V 时，随着检测电位的增大，基体电流也迅速增加，信噪比变小。综合灵敏度和稳定性因素，选择检测电位为 0.95 V。

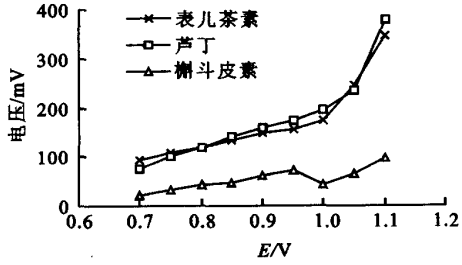

图 1　表儿茶素、芦丁、槲皮素的流体动力学伏安图

Fig. 1　Hydrodynamic voltammogram(HDV) of epicatechin, rutin and quercetin in CE

2.1.2　*缓冲液 pH 值的影响*　试验采用 50 mmol/L 的硼酸-硼砂缓冲液。缓冲液 pH 值对分离效果，迁移速率，灵敏度等都有很大的影响。测定了 pH 在 7.36～9.24 范围内，酸度变化对分离效果及分析灵敏度的影响。

从图 2 中可以看出，3 种物质在该检测系统上，开始随 pH 值的增加，迁移的时间增加，分离度也增加。当 pH 值小于 7.5 或者大于 9.0 时，表儿茶素和芦丁不能很好地分离，而槲皮素在强碱性环境中易氧化。因此，在保证表儿茶素、芦丁完全分离的情况下，应选择 pH 值较小的缓冲液作为实验运行液。综合以上因素，选用 pH 值为 8.5 的硼砂-硼酸缓冲液作为试验运行液。

2.1.3　*分离电压和进样时间的选择*　分离电压对分析速度和实验精度都有影响，试验了分离电压 14～24 kV 范围，考察其对迁移时间及灵敏度的影响。

实验表明，提高分离电压，可以缩短分析物的迁移时间，增加峰电流以提高分析灵敏度。但当电压高于 20 kV 时，随着分离电压的增大，基体电流增大、信噪比降低、分离度降低等对分析不利的影响明显增大。试验选择 20 kV 作为分离电压。

分离电压为 20 kV，pH 为 8.5，试验了 2～12 s 进样时间范围内进样时间与峰高的关系。随着进

万方数据

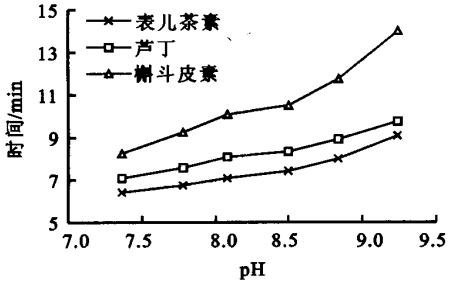

图2 缓冲液的pH值对迁移时间的影响

Fig. 2 Effects of pH on migration time of three analytes

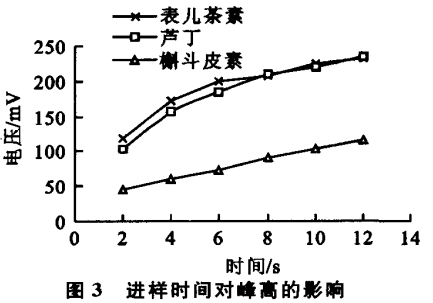

图3 进样时间对峰高的影响

Fig. 3 Effect of injection time on the peak current

样时间的增加，峰高也随之增加；进样时间超过6 s后，峰高的变化减慢，结果见图3。另外实验中发现进样时间超过6 s后会引起峰展宽，峰拖尾等负面影响，因此选择进样时间6 s。优化条件下得到混合标准溶液的电泳谱图，见图4(A)。

2.2 线性范围、检出限，精密度试验

配制一系列不同浓度的表儿茶素、芦丁、槲皮素的混合标准溶液，在上述优化试验条件下，进行分析测定，试验了各组分的线性范围，计算回归方程、相关系数。以噪音信号3倍值对应的质量浓度估算了检测限，结果如表1。

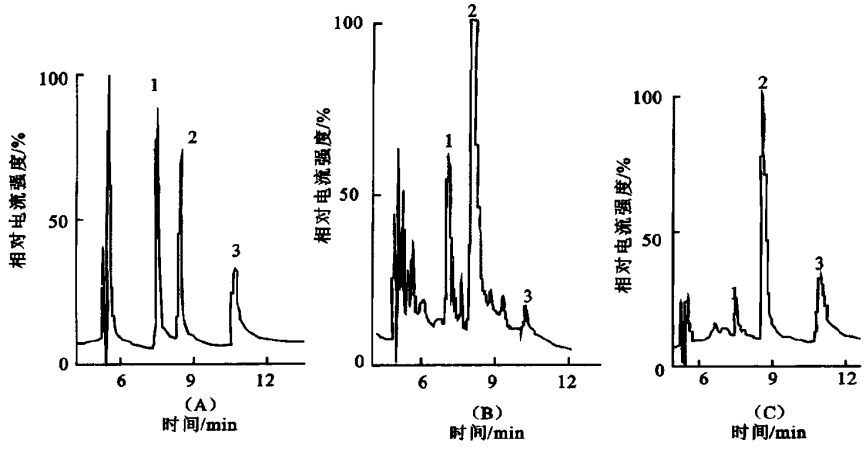

图4 标样 (1×10^{-5} g/L)(A)、芽菜样品(B)和籽粒样品(C)的毛细管电泳图

Fig. 4 Electropherogram of standard solution containing 1×10^{-5} g/L analytes(A), Buckwheat sprout (B) and buckwheat(C) under the optimum conditions

表1 回归方程，线性范围，检测限

Tab. 1 The regression equations and detection limits

化合物	回归方程	r	线性范围 c/(g/L)	检测极限 c/(10^{-7}g/L)
表儿茶素	$y=2.02\times10^5x-1.92\times10^5$	0.998 9	$5.0\times10^{-7}\sim1.0\times10^{-4}$	1.83
芦丁	$y=2.17\times10^5x-6.54\times10^5$	0.999 8	$1.0\times10^{-6}\sim1.0\times10^{-4}$	0.29
槲皮素	$y=2.07\times10^5x-3.62\times10^5$	0.9980	$1.0\times10^{-6}\sim1.0\times10^{-4}$	1.00

以质量浓度为20 μg/L的表儿茶素、芦丁、槲皮素混合标准溶液连续进样7次，重现性良好。峰面积的相对标准偏差(RSD)为2.5%、1.3%、1.4%，迁移时间的相对标准偏差(RSD)为0.92%、0.96%、1.1%。

2.3 样品跟踪测定及回收率实验

取100 μL样品滤液，加运行液定容到1.00 mL，混匀后立即进样。得到了样品苦荞芽菜和苦荞籽粒的毛细管电泳图，见图4(B)和(C)。跟踪检测了随芽生长时间的变化芽菜中3种物质的质量分数，结果见图5。

由图5可知，芽菜从萌发开始，第7天各物质质量分数达到最大。对生长期为7 d的苦荞芽菜的两个样品进行测定，每个样品平行测定4次，取平均

万方数据

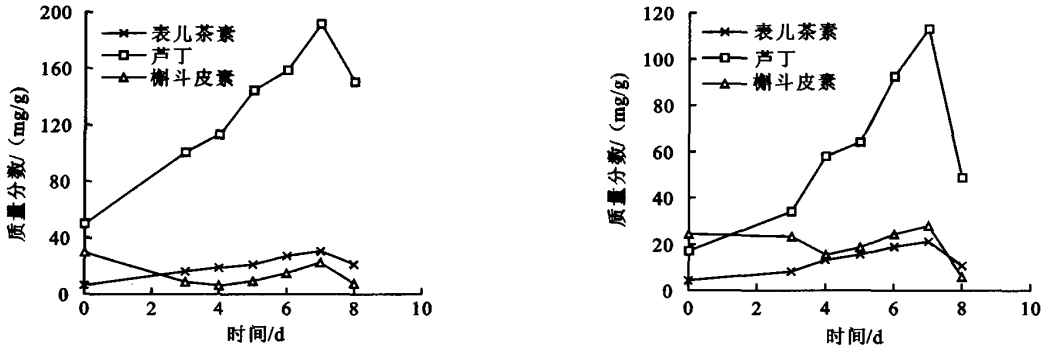

图 5　3 种物质质量分数随芽菜生长时间的变化

Fig. 5　The change of three compound contents in buckwheat sprouts according to days after seeding

值得:样品 1 中表儿茶素 30.3 mg/g,芦丁 191.3 mg/g,槲皮素 22.4 mg/g;样品 2 中表儿茶素 21.1 mg/g,芦丁 113.2 mg/g,槲皮素 27.9 mg/g(比籽粒相表儿茶素、芦丁的含量提高了 6～7 倍左右),加样回收率分别为 100.6%,99.1%,101.1%。

3　结　论

本试验方法(CE-ED)灵敏度高,操作简单快速,样品处理简单,试剂用量少,成本低。可望作为一种快速准确的测定方法,应用于苦荞芽菜及荞麦其他附加产品的开发利用及品质鉴定方面的研究。

参考文献:

[1] Holasova M, Fiedlerova V, Smrcinova H, et al. Buckwheat —the source of antioxidant activity in functional foods[J]. **Food Research International**, 2002, 35: 207—211.

[2] Sun T, Ho C T. Antioxidant activities of buckwheat extracts[J]. **Food Chemistry**,2005,90: 743—749.

[3] 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.
QI Xue-zhong, JI Suo-xing, WANG Xiao-yan, et al. Study on flavone of fagopyrum tataricum and its reduction of the blood sugar[J]. **Sci-Tech Information Development & Economy**,2003,13 (8):111—112. (in Chinese)

[4] 李洁,梁月琴,郝一彬. 苦荞类黄酮降血脂作用的实验研究[J]. 山西医科大学学报,2004,35 (6):570—571.
LI Jie, LIANG Yue-qin, HAO Yi-bin. Lowering blood lipid effect of flavonoids of tatary buckwheat[J]. **Journal of Shanxi Medical University**,2004,35 (6):570—571. (in Chinese)

[5] 朱瑞,高南南,陈建民. 苦荞麦的化学成分和药理作用[J]. 中国野生植物资源,2003,22(2):7—9.
ZHU Rui, GAO Nan-nan, CHEN Jian-min. The Chemic components and pharmacological action of tatary buckwheat[J]. **Chinese Wild Plant Resources**, 2003, 22(2):7—9. (in Chinese)

[6] Bernadetta K, Zuzana M. Prophylactic Components of Buckwheat [J]. **Food Research International**, 2005,38:561—568.

[7] 徐保才,肖刚,丁霄霖,等. 液质联用分析测定苦荞黄酮[J]. 食品科学,2003,24(6):113—116.
XU Bao-cai, XIAO Gang, DING Xiao-lin, et al. Determination of tatary buckwheat flavonoids by RP-HPLC-MS [J]. **Food Science.**, 2003, 24 (6):113—11. (in Chinese)

[8] 张超,黄卫宁,卢艳. 荞麦芽营养及生产研究进展[J]. 粮食与油脂,2005(5):9—11.
ZHANG Chao, HUANG Wei-ning, LU Yan. Research progress in nutrition and mass production of buckwheat sprout [J]. **Cereal & Oils**,2005(5):9—11. (in Chinese)

[9] 陈鹏,李玉红,刘春梅,等. 荞麦芽菜营养成分分析评价[J]. 园艺学报,2003,30(6):739—741.
CHEN Peng LI Yuhong, LIU Chunmei, et al. Nutrient evaluation of buckwheat seeding[J]. **Acta Horticulture Sinica**, 2003,30 (6):739—741. (in Chinese)

[10] Kim S L, Kim S K, Park C H. Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sports as a new vegetable [J]. **Food Research international**, 2004, 37:319—327.

[12] 曹玉华,汪云. 毛细管电泳电化学检测法测定胡黄连中的香草酸和阿魏酸的含量[J]. 分析测试学报,2003,22(6):95—97.

(责任编辑:朱明)

万方数据