

毛细管电泳紫外检测苦荞中的 D-手性肌醇

刘晓燕¹, 肖梦月²

(1. 西昌学院 农业科学学院, 四川省苦荞麦重点实验室, 四川 西昌 615000;

2. 四川理工学院 生物工程学院, 四川 自贡 643000)

摘要:采用高效毛细管电泳-紫外检测法,对苦荞籽粒中D-手性肌醇进行检测。在100 mmol/L的硼砂缓冲液,分离电压10 kV,检测波长195 nm条件下进行紫外检测。结果表明:标准曲线线性范围在0.1~150 mg/mL之间($R^2 > 0.999$),检出限均低于0.02 mg/mL,加标回收率为96%~108%,相对标准偏差4.3%。该方法简便快捷、准确可靠,而且采用水溶液作为流动相,可为企业大量测定苦荞样品中D-手性肌醇降低检测成本,提高检测效率,减少环境污染。

关键词:苦荞;D-手性肌醇;高效毛细管电泳仪;紫外检测

中图分类号:TS 207.3 文献标识码:A 文章编号:1007-7561(2018)01-0057-04

Determination of D-chiro-inositol in buckwheat by high performance capillary electrophoresis with indirect ultraviolet detection

LIU Xiao-yan¹, XIAO Meng-yue²

(1. College of Agriculture Science, Xichang University, Xichang Key Laboratory of Buckwheat,

Xichang Sichuan 615000; 2. College of Biological Engineering, Sichuan University of

Science and Engineering, Zigong Sichuan 643000)

Abstract: D-chiro-inositol in buckwheat was determined by high performance capillary electrophoresis (HPCE) with ultraviolet detector, with 100 mmol/L borate buffer, voltage 10 kV and detection wavelength 195 nm. The results showed that the linear range was 0.1~150 mg/mL with correlation coefficients more than 0.999 and the detection limit less than 0.02 mg/mL ($R_{S/N} = 3$). The average recoveries were in the range of 96%~108%, with the relative standard deviation (RSD) 4.3%. This method is convenient, accurate and reliable, which can decrease the cost and pollution, increase the efficiency with aqueous solution as moving phase.

Key words: buckwheat; d-chiro-inositol; high performance capillary electrophoresis; ultraviolet detection

苦荞(*Fagopyrum tataricum* L. Gaertn.)是一种较好的药食两用双子叶谷类作物^[1-2],是蓼科荞麦属(*Fagopyrum* Mill.)。其药性和药效作用在药学名典《本草纲目》、《齐民要术》中都有记载^[3],荞麦的降血压^[4]、降血脂^[5]、降血糖^[5-6]、抗敏^[7]、抗氧化^[8-9]、抗肿瘤^[1]、抑菌^[10-11]、抗衰老、清除自由基^[12]等多

种药理活性^[13]在现代医学的研究中都有充分体现。同时研究还表明荞麦中含有大量的结合态^[14]、游离态^[15]的结构类似于pH 210型胰岛素调节介体^[16-17],具有胰岛素增敏作用和促进肝脏脂肪代谢功能,能明显降低血糖含量^[17-18],此介体叫做D-手性肌醇(D-chiro-inositol, DCI)^[19],肌醇的9种立体异构体之一^[20]。目前研究结果显示苦荞茶的降血糖、降血压等功能可能与DCI活性有关^[21]。对

收稿日期:2017-08-04

基金项目:四川省教育厅项目(14ZB0227)

作者简介:刘晓燕,1983年出生,女,讲师。

2.1.3 分离电压的选择

保持其他条件不变,考察不同分离电压(8、9、10、11、12、13、14 kV)对苦荞中 DCI 测定效果的影响。结果表明,电压越低,样品峰与杂质峰分离效果越好(见图4);电压越高,分析时间越短(21.3 min 缩短至 15.3 min),但电压过高,容易出现焦耳热效应造成基线噪音较大,检测结果的重现性较差,且电流容易断掉。综合考虑,选择 10 kV 为分离电压。

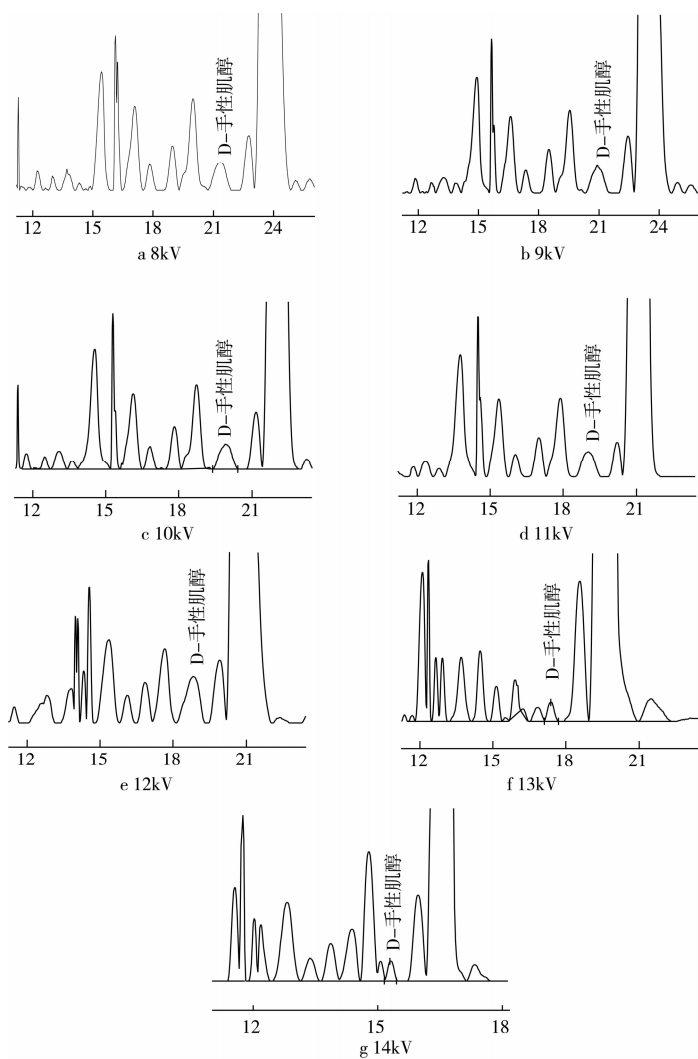


图4 分离电压对 DCI 分离效果的影响

2.2 方法考察

取适量 DCI 标准贮备液,稀释成梯度浓度溶液,测定系列 DCI 标准溶液,考察选定方法的线性方程及适用范围,并求出检出限(3 倍信噪比 S/N = 3)。每种浓度重复进样 3 次。各参数测定结果如表 1。

表1 方法的线性关系、精密度和检出限

回归方程	R ²	线性范围 / (mg/mL)	RSD / %	检出限 / (mg/mL)
Y = 20 656x - 579.5	0.999 3	0.1 ~ 15	4.89	0.02

由表 1 可见,在本实验条件下,DCI 的线性范围较广,R² 达 0.999 3,线性关系良好。且 2 mg/mL 的 DCI 的标准溶液连续进样 5 次,峰面积值的相对标准偏差(RSD)为 4.26%,迁移时间的 RSD 为 4.50%,说明重现性较好。

2.3 实际样品检测

准确称取 10 份苦荞粉末(60 目)约 0.5 g,其中 5 份加入 DCI 标准品,另 5 份不加作为参照,然后用纯水提取,重复提取 3 次,合并提取液,定容至 10.0 mL。每个样品重复测定 3 次,得到苦荞样品的毛细管电泳-紫外检测色谱图(见图 5),测定结果见表 2。

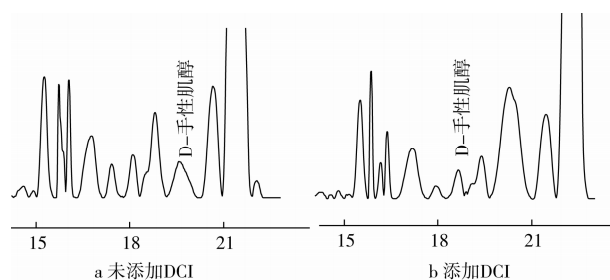


图5 苦荞样品的电泳色谱图

表2 苦荞样品中 DCI 的含量、精密度和加标回收率测定结果

样品序号	苦荞样品中 DCI 含量 / mg	DCI 加入量 / mg	测得 DCI 含量 / mg	回收率 / %	平均 RSD / %
1	2.8	5.0	7.9	97	—
2	3.0	5.0	8.2	103	—
3	2.8	5.0	7.5	96	—
4	2.9	5.0	8.0	101	—
5	2.7	5.0	8.3	108	—
均值	2.8	—	7.9	—	4.3

如图 5 所示,在 19.4 min 处是 DCI 的色谱峰,测定未添加标样的 5 份苦荞样品的相对标准偏差为 4.0%,添加标样苦荞样品的 RSD 为 4.5%,添加回收率分别为 96% ~ 108%。说明本法适用于苦荞中 DCI 的测定,精密度良好,数据准确可靠。测得苦荞中 DCI 含量平均值(n=5)为 2.8 mg/g。

3 小结

高效毛细管电泳分离法的主要优点有:柱效高(105 ~ 106 /m);分离速度快;没有高压泵;仪器成本比 HPLC 低。紫外检测器既有较高的灵敏度,也有很广泛的应用范围。常见有机物质和部分无机物质大都具有较强的紫外或可见光吸收能力。高效毛细管电泳仪和紫外检测器联合使用测定 DCI 目前还没有文献报道,本文所创建检测苦荞中的 DCI 方法,测定条件为外加电压 10 kV,100 mmol/L 硼砂作为缓冲溶液,检测波长 196 nm,该方法的添加回收率为 96% ~ 108%,相对标准偏差小于 4.3%。不仅简便快速、准确可靠,而且使用水溶液作为流动相,经济环保。因此相对于其他方法可以为苦荞企业降低检测成本,提高检测效率,减少环境污染。

参考文献:

[1]李富华,刘冬,明建.苦荞麸皮黄酮抗氧化剂肿瘤活性[J].食品科学,2014,35(7):58-63.

[2]Holasova M, Fiedlerova V, Smrcinova H, Orsak M, Lachman J, Vavrejinova S. Buckwheat: the source of antioxidant activity in functional foods [J]. Food Research International, 2002, 35 (23): 207 - 211

[3]侯建霞,汪云,程宏英,等.毛细管电泳电化学检测分离测定苦荞中手性肌醇和肌醇[J].分析测试学报,2007,26(4):526-529.

[4]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.

[5]张瑞.苦荞黄酮及降血糖活性研究[D].北京:中国农业科学院,2008:4

[6]吴秀华.苦荞黄酮微胶囊的制备及其血糖调节功效的研究[D].长春:吉林农业大学,2008:2.

[7]尹超彦.苦荞黄酮对实验性大鼠预防性调节血脂和血流变作用及毒理学评价[D].太原:山西医科大学,2004.

[8]许效群,刘志芳,霍乃蕊,等.苦荞糠皮总黄酮的抗氧化活性及免疫调节活性[J].中国食品学报,2012,12(6):42-47.

[9]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):22-24.

[10]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.

[11]罗光宏,陈天仁,祖廷勋,等.苦荞生物类黄酮及其测定方法研究进展[J].食品科学,2005,26(9):542-545.

[12]张泽生,梁辰,刁琢,等.肌醇与 D-手性肌醇抗氧化作用的研究[J].中国食品添加剂,2015(5):110-113.

[13]周元成.关于荞麦生物类黄酮的研究进展[J].山西农业大学学报,2006,26(6):131-133.

[14]Kathryn J. Steadman, David J. Fuller, Ralph L Obendorf. Purification and molecular structure of two digalactosyl - chiro - inositols and two trigalactosyl - chiro - inositols from buckwheat seeds[J]. Carbohydrate Research, 2001, 331 : 19 - 25.

[15]徐宝才,肖刚,丁霄霖.色谱法分析检测苦荞籽粒中的可溶性糖(醇)[J].色谱,2003,21(4):410-413.

[16]彭镰心,勾秋芬,邹亮等. HPLC 法测定不同品种苦荞麦中的手性肌醇[J].中草药,2009,40(增刊):279-281.

[17]Steadman K J, Burgoon M S, Schuster R L, et al. Fagopyritols, D - chiro - inositol, and other soluble carbohydrates in buckwheat seed milling fractions [J]. Journal of agricultural and Food Chemistry, 2000, 48 (7): 2843 - 2847.

[18]陕方,李文德,林汝法,等.提取物对糖尿病模型大鼠血糖的影响[J].中国食品学报,2006,6(1):208-211.

[19]胡园园,易若琨,王仲明,等.苦荞中 D-手性肌醇的纯化及其抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2017,38(14):82-86.

[20]张泽生,裴雅,高云峰,等. D-手性肌醇的研究与开发[J].中国食品添加剂,2013(3):77-82.

[21]LU C, XU J. Proceedings of the 5th International Symposium on Buckwheat[C]. Beijing: Agriculture Publishing House, 1992.

[22]宋雨,邹亮,赵江林,等.苦荞萌发过程中 D-手性肌醇含量变化的探究[J].食品科技,2016,41(2):80-83.

[23]胡俊君,蒋梅峰,林勤保,等.苦荞麸皮中 D-手性肌醇的分离纯化[J].食品工业科技,2009,30(4):197-199.

[24]王咏梅,金晓英,袁东星,等.高效液相色谱法直接测定肌醇样品中肌醇的含量[J].食品科学,2001(8):71-72.

[25]张楚富,林清华,梁会,等.高碘酸钠氧化法测定肌醇含量[J].武汉大学学报(自然科学版),1996,42(2):255-257.

[26]刘亚攀,陈璐莹,张静,等.毛细管电泳-紫外检测法同时测定食品中的葡萄糖和多种糖醇[J].分析实验室,2014,33(9):1034-1037.

[27]陈义.毛细管电泳技术及应用[M].北京:化学工业出版社,2000:173. 完