

# 荞麦籽粒乙醇提取物抗氧化成分的高效液相色谱电喷雾质谱研究

姚亚平<sup>1</sup>, 田呈瑞<sup>1</sup>, 曹 炜<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 西安 710062; <sup>2</sup>西北大学化工学院, 西安 710069)

**摘要:** 【目的】研究甜荞麦和苦荞麦籽粒乙醇提取物中的主要抗氧化成分。【方法】将荞麦籽粒乙醇提取物与二苯基苦基苯肼 (DPPH) 自由基反应, 然后用高效液相色谱仪识别乙醇提取物中的抗氧化成分, 并用电喷雾质谱检测器对抗氧化成分的结构信息进行表征, 以确定荞麦籽粒乙醇提取物中的抗氧化成分。【结果】苦荞麦和甜荞麦籽粒乙醇提取物对 DPPH 自由基均有清除作用; 高效液相色谱分析表明, 甜荞麦和苦荞麦乙醇提取物中均含有两种主要抗氧化峰, 且对应的色谱保留时间和光谱信息相同; 电喷雾质谱分析表明, 荞麦籽粒乙醇提取物中抗氧化成分的分子量和质谱碎裂行为分别与对照品芦丁和槲皮素的相同。【结论】采用 HPLC-MS/MS 法可以快速筛选荞麦籽粒提取物中的抗氧化成分, 荞麦籽粒提取物中的抗氧化成分主要为芦丁和槲皮素, 其中槲皮素的抗氧化活性高于芦丁。

**关键词:** 荞麦; 抗氧化成分; HPLC; MS/MS

## Studies on the Antioxidants of Ethanolic Extracts in Buckwheat by HPLC/ ESI-MS

YAO Ya-ping<sup>1</sup>, TIAN Cheng-rui<sup>1</sup>, CAO wei<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062;

<sup>2</sup>College of Chemical Engineering, Northwest University, Xi'an 710069)

**Abstract:** 【Objective】 Analysis was performed to study the main antioxidants of ethanolic extracts in common buckwheat and tartary buckwheat. 【Method】 Buckwheat ethanol extraction subtracts with the DPPH free radicals reaction was utilized to identify the antioxidants in the extracts with HPLC, to study the structure character of antioxidation compositions by electro spray ionization-mass spectrometry (ESI-MS), and to determine the antioxidant compositions of buckwheat ethanolic extracts. 【Result】 Both the common buckwheat and the tartary buckwheat ethanolic extracts can scavenge free radical. Based on HPLC figure, two main peaks indicated two kinds of antioxidants in the extracts. Meanwhile, the corresponding chromatograph retention time was the same as from the spectrum information. The ESI-MS indicated that the molecular weights and MS fragmentation pattern of the antioxidants in the extracts were similar to the reference material of rutin and quercetin. 【Conclusion】 The method of HPLC-MS/MS can be used to screen the antioxidants in the extraction quickly. Main antioxidants of the buckwheat extracts are rutin and quercetin, while the activity of antioxidant activity of quercetin is higher than those in rutin.

**Key words:** Buckwheat; Antioxidant; HPLC; MS/MS

## 0 引言

【研究意义】自由基生物学研究表明, 人类多种

疾病如癌症、衰老和心脑血管疾病的发生与发展均与人体内过量的自由基有关<sup>[1,2]</sup>。自由基不仅可以损伤组织器官, 而且能够破坏细胞成分, 进而影响细胞的正

收稿日期: 2007-08-12; 接受日期: 2007-10-31

基金项目: 陕西省科技攻关项目 (2004k3-G8)

作者简介: 姚亚平 (1969-), 女, 陕西大荔人, 高级工程师, 博士研究生, 研究方向为功能食品的开发与利用。Tel: 029-85224397; E-mail: yaoyaping2005@126.com。通讯作者田呈瑞 (1955-), 男, 教授, 研究方向为食品加工工艺, 植物资源开发与利用。Tel: 029-85310518; E-mail: chrtian@snnu.edu.cn

常功能, 导致疾病的发生<sup>[3]</sup>。流行病学研究发现, 人类长期摄入一定量的抗氧化成分可以有效地降低心脑血管疾病和癌症发病率<sup>[4,5]</sup>。由于化学合成的抗氧化剂可能具有一定毒副作用, 因此, 从日常食物中寻找天然氧化剂具有重要意义。【前人研究进展】荞麦为蓼科荞麦属植物, 在中国和世界许多国家广泛种植, 常见的栽培种有甜荞和苦荞<sup>[6]</sup>。近年来研究发现<sup>[7-9]</sup>, 荞麦籽粒提取物具有较强抗氧化活性, 这与其中含有大量的抗氧化成分有关。在研究荞麦的抗氧化活性时, 多采用不同极性的有机溶剂提取, 然后测定提取物的抗氧化活性, 这种方法的主要缺点是不能给出提取物中抗氧化成分的结构信息<sup>[10]</sup>。【本研究切入点】高效液相色谱-电喷雾离子阱质谱技术集色谱分离和质谱定性为一体, 对复杂体系不需要前处理即可获得被测物质的结构信息, 因此在研究复杂体系中的抗氧化成分时有明显的优势<sup>[11-13]</sup>。【拟解决的关键问题】笔者采用高效液相色谱-电喷雾离子阱质谱技术对荞麦中的主要抗氧化成分进行研究, 以期筛选出荞麦中的主要抗氧化成分。

## 1 材料与方 法

### 1.1 样品及处理方法

供试荞麦品种为为‘黔威3号’(苦荞)和‘平荞2号’(甜荞)两个栽培品种, 荞麦籽粒均由宁夏回族自治区固原市农业科学技术研究所提供。

将荞麦籽粒置于植物样品粉碎机粉碎, 过60目筛网, 得到荞麦籽粒粉。准确称取1g荞麦籽粒粉, 用10ml70%乙醇在常温条件下避光提取24h, 提取液用滤纸过滤, 滤渣再用5ml70%乙醇提取24h, 合并两次提取液, 8000r/min离心10min, 将上清液在40℃条件下减压浓缩, 回收乙醇, 残液经冷冻干燥后得到荞麦籽粒粉的乙醇提取物。准确称取10mg乙醇提取物, 用5ml甲醇超声溶解, 0.45μm微膜过滤, 滤液用于抗氧化和液质联用分析。

### 1.2 仪器与试剂

Agilent 1200SL 高效液相色谱电喷雾质谱联用仪(美国安捷伦公司), DAD 二极管阵列检测器。Zorbax SB-C<sub>18</sub> 液相色谱柱(150mm×4.6mm, 5.0μm)。紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)。

二苯基苦基苯肼(DPPH)购自美国Sigma公司; 芦丁和槲皮素对照品购自中国药品生物制品检定研究所; 甲醇为色谱纯, 水为超纯水, 磷酸和乙醇均为分析纯。

### 1.3 荞麦籽粒乙醇提取物对 DPPH 自由基的清除效果研究

参考 Larrauri<sup>[14]</sup>的方法并进行改进。吸取不同体积的荞麦籽粒乙醇提取物, 加入0.025mg·ml<sup>-1</sup>的DPPH甲醇溶液4ml, 用甲醇定容至5ml。室温下避光静置1h后于516nm处测定吸光值。

样品对 DPPH 自由基的清除率用下式表示:

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = [1 - (\text{DPPH}_{\text{样品}} / \text{DPPH}_{\text{空白}})] \times 100$$

式中 DPPH<sub>样品</sub> 为样品管在 517 nm 处的吸光值;

DPPH<sub>空白</sub> 为空白管在 517 nm 处的吸光值。

### 1.4 荞麦籽粒乙醇提取物中主要抗氧化峰的 HPLC 识别

取 1 ml 荞麦提取液加入 1 ml 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> 的 DPPH 溶液, 37℃反应 1 h, 作为样品反应液, 样品空白液用荞麦提取液和甲醇配制, 将样品空白液和反应液用 0.45 μm 微膜过滤, 滤液直接用于色谱分析, 色谱图中峰面积发生下降的峰确定为抗氧化峰, 对抗氧化峰进行 190~400 nm 全波长扫描, 并根据保留时间的吸收光谱图确定峰纯度。

色谱条件: 流动相 A 为甲醇, B 为 0.1% 甲酸水溶液; 梯度洗脱: 在 0 min 到 40 min 内流动相由 A→B (35:65) 到 A→B (80:20); 流速为 0.3 ml·min<sup>-1</sup>; 检测波长为 360 nm, 并进行 190~400 nm 全波长扫描; 柱温为 25℃。

### 1.5 荞麦籽粒乙醇提取物中主要抗氧化剂的 HPLC - DAD - ESI-MS<sup>n</sup> 分析

质谱条件: ESI 离子源, 离子源喷雾电压为 5 kV, 毛细管温度 350℃, 壳气(N<sub>2</sub>)流速 35 ps, 扫描范围为 m/z 100~800, 负离子模式扫描。

色谱条件同 1.4。

### 1.6 数据处理和统计方法

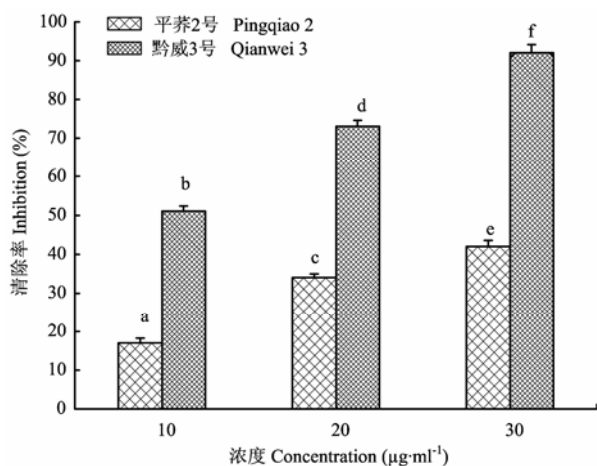
所测数值均以平均值±标准偏差表示, 单因素均数之间的多重比较采用 Duncan 法<sup>[15]</sup>。

P<0.05 表示存在显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 荞麦籽粒乙醇提取物对 DPPH 自由基的清除作用

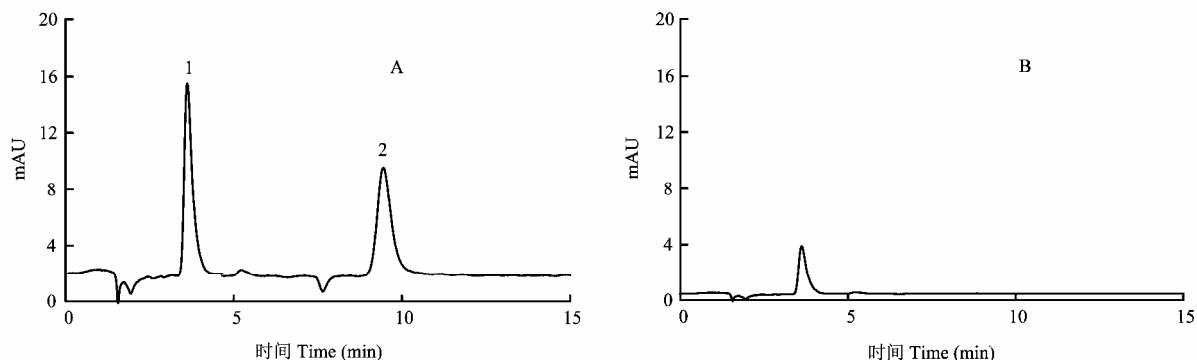
图 1 为不同浓度的荞麦籽粒乙醇提取物对 DPPH 自由基的清除结果。由图 1 可知, 随着荞麦籽粒乙醇提取物浓度的提高, 对 DPPH 自由基的清除率也在逐渐增加, 当反应体系中两种荞麦籽粒乙醇提取物浓度均为 30 μg·ml<sup>-1</sup> 时, 对 DPPH 自由基的清除率分别为 (51±1.5)% (‘平荞 2 号’) 和 (95±2.1)% (‘黔



柱顶不同小写字母表示差异达到 0.05 的显著水平  
Means above the columns with different small letters represent significant difference at  $P < 0.05$

图 1 荞麦籽粒乙醇提取物对 DPPH 自由基的清除作用

Fig. 1 Scavenging DPPH radical activities of buckwheat ethanolic extracts



A: 甜荞麦籽粒乙醇提取物的色谱图; B: 甜荞麦籽粒乙醇提取物与 DPPH 自由基反应后的色谱图  
A: Chromatogram of common buckwheat extract; B: Chromatogram of common buckwheat extract +DPPH

图 2 甜荞麦籽粒乙醇提取物与 DPPH 自由基反应前后的色谱图 (360 nm)

Fig. 2 Chromatograms of common buckwheat extract and reaction solution of extract and DPPH

的主要抗氧化成分。

在苦荞麦籽粒乙醇提取物中加入 DPPH 自由基后 (图 3), 保留时间为 3.65 min 的色谱峰面积显著降低 (化合物 3), 保留时间为 9.48 min 的色谱峰几乎消失 (化合物 4), 表明苦荞麦籽粒乙醇提取物中至少含有两种能与 DPPH 自由基发生反应的主要抗氧化成分, 其抗氧化能力存在差异。

### 2.3 荞麦籽粒乙醇提取物中主要抗氧化剂的 HPLC - DAD - ESI-MS<sup>n</sup> 分析

威 3 号'), 即在相同浓度下, 苦荞麦籽粒乙醇提取物对 DPPH 自由基的清除率显著高于甜荞麦 ( $P < 0.05$ ), 这与苦荞麦籽粒乙醇提取物的总酚含量高于甜荞麦有关<sup>[16,17]</sup>。

本试验结果显示, 即使在低浓度条件下 ( $10 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), 苦荞麦籽粒乙醇提取物对 DPPH 自由基仍有较高的清除作用, 表明苦荞麦籽粒乙醇提取物中含有高效自由基清除剂。

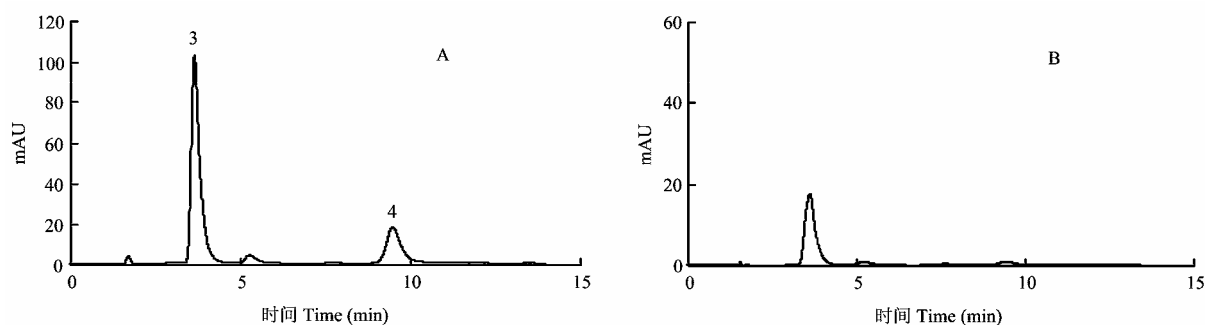
### 2.2 荞麦籽粒乙醇提取物中主要抗氧化成分的 HPLC 识别

将甜荞麦籽粒乙醇提取物和苦荞麦籽粒乙醇提取物与 DPPH 溶液混合反应液分别进行高效液相色谱分析, 结果见图 2 和图 3。

由图 2 可知, 在甜荞麦籽粒乙醇提取物中加入 DPPH 自由基后, 有 2 个色谱峰的面积发生了下降, 其保留时间分别为 3.64 min 和 9.50 min, 其中化合物 2 对应的色谱峰消失, 表明这些化合物与 DPPH 自由基发生了化学反应, 它们是甜荞麦籽粒乙醇提取物中

利用 HPLC 中的 DAD 检测器对每一个抗氧化色谱峰进行光谱扫描分析, 发现化合物 1~4 的光谱图和槲皮素的非常相似, 其中化合物 2 和 4 的光谱图与槲皮素的完全相同, 化合物 1 和 3 的光谱图与芦丁的完全相同, 表明荞麦籽粒乙醇提取物中的抗氧化成分可能是槲皮素和芦丁。为了进一步确定其结构信息, 试验选择负离子模式扫描, 对荞麦籽粒乙醇提取物中 4 个抗氧化成分进行了 HPLC-MS 分析。

表、图 4 和图 5 分别给出了两种荞麦籽粒乙醇提



A: 苦荞麦籽粒乙醇提取物的色谱图; B: 苦荞麦籽粒乙醇提取物与 DPPH 自由基反应后的色谱图  
A: Chromatogram of tartary buckwheat extract; B: Chromatogram of tartary buckwheat extract +DPPH

图 3 苦荞麦籽粒提取物与 DPPH 自由基反应前后的色谱图 (360 nm)

Fig. 3 Chromatograms of tartary buckwheat extract and reaction solution of tartary buckwheat extract and DPPH

表 荞麦籽粒乙醇提取物中 4 种主要抗氧化成分的负离子模式下质谱数据

Table ESI-MS<sup>n</sup> spectra of four kinds of antioxidants in buckwheat ethanolic extracts

| 样品<br>Samples        | 化合物编号<br>No. Compounds | 化合物<br>Compounds | [MS-1] <sup>-</sup> | MS <sup>2</sup>                        | MS <sup>3</sup>                        |
|----------------------|------------------------|------------------|---------------------|--|--|
| 平荞 2 号<br>Pingqiao 2 | 1                      | 芦丁 Rutin         | 609                 | 301                                    | 273, 257, 229, 193, 179, 151, 121, 107 |
| 黔威 3 号<br>Qianwei 3  | 3                      | 芦丁 Rutin         | 609                 | 301                                    | 273, 257, 229, 193, 179, 151, 121, 107 |
| 平荞 2 号<br>Pingqiao 2 | 2                      | 槲皮素 Quercetin    | 301                 | 273, 257, 229, 193, 179, 151, 121, 107 |  |
| 黔威 3 号<br>Qianwei 3  | 4                      | 槲皮素 Quercetin    | 301                 | 273, 257, 229, 193, 179, 151, 121, 107 |  |

取物中抗氧化成分在电喷雾条件下的质谱数据和二级质谱图。由表可知, 在一级质谱中, 化合物 1 和 3 均以[M-1]<sup>-</sup>离子形式存在, 生成质核比(m/z)为 609 的负离子。为了进一步研究化合物 1 和 3 的结构, 本文对 m/z 609 离子进行了多极质谱分析。在二级质谱中(图 4), m/z 609 离子在碰撞能量作用下, 失去一个质量数为 308 的中性分子, 生成 m/z 为 301 离子, 与化合物 2 和 4 一级质谱裂解生成的离子相同。在三级

质谱中, m/z 301 离子继续发生碎裂, 生成 m/z 分别为 273、257、229、193、179、151、121 和 107 的离子, 与槲皮素的二级质谱相同, 由此可知化合物 1 和 3 为槲皮素的衍生物, 通过与对照品芦丁的色谱保留时间、光谱信息和二级质谱图比较, 可以确定化合物 1 和 3 均为芦丁<sup>[18]</sup>。

图 5 为化合物 2 和 4 的二级质谱图, 在负离子模式下化合物 2 和 4 均生成 m/z 301 准分子离子, 在二

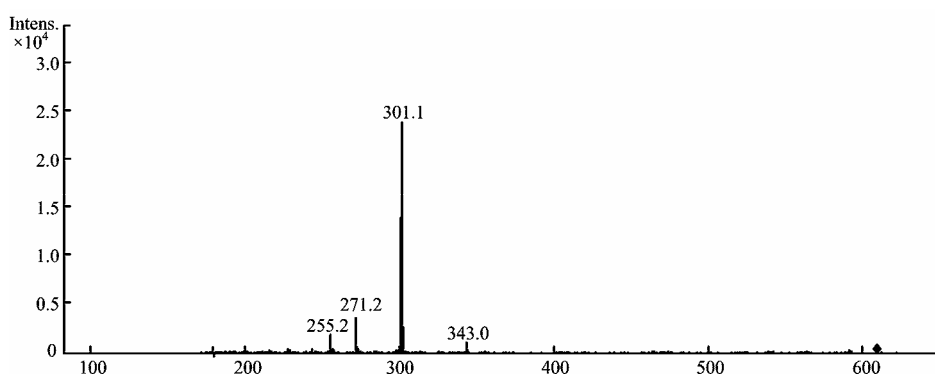


图 4 化合物 1 和 3 的二级质谱图

Fig. 4 MS<sup>2</sup> spectra of compounds 1 and 3 at negative mode

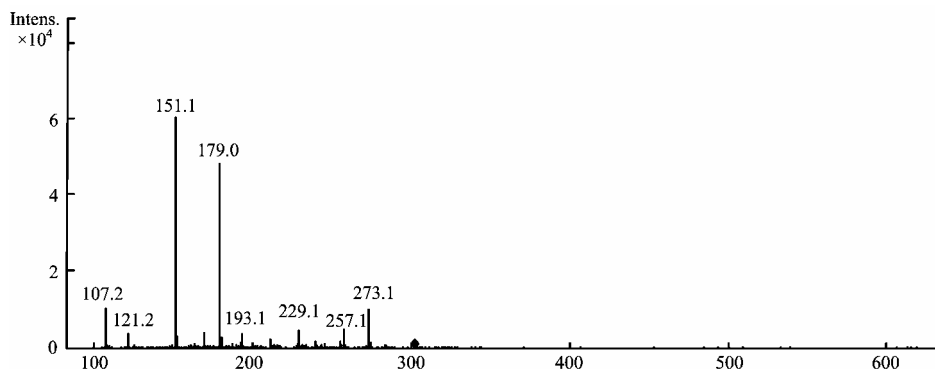


图 5 化合物 2 和 4 的二级质谱图

Fig. 5 MS<sup>2</sup> spectra of compounds 2 and 4 at negative mode

级质谱中,  $m/z$  301 离子继续发生碎裂, 生成的离子碎片与文献报道槲皮素的完全相同<sup>[19]</sup>, 经与对照品槲皮素的二级质谱图比较, 两者完全相同, 因此可以确定化合物 2 和 4 为槲皮素。

### 3 讨论

由于合成抗氧化剂可能具有毒副作用, 因此从天然食物中筛选高活性的抗氧化剂越来越受到普遍的关注。目前, 从天然提取物中筛选抗氧化剂最常用的方法是提取、分离和纯化其中的抗氧化剂, 然后对其活性进行评价<sup>[20]</sup>, 该法不仅费时费力, 在提取过程中抗氧化剂可能会发生降解, 影响结果的准确性。

由图 1 可知, 荞麦籽粒乙醇提取物能够有效地清除 DPPH 自由基, 并呈现剂量与效应关系, 在相同浓度下, 苦荞麦籽粒乙醇提取物的清除率明显高于甜荞麦, 这可能与苦荞麦籽粒乙醇提取物中抗氧化剂的浓度有关(数据未列出)。但由于荞麦籽粒乙醇提取物成分复杂, 抗氧化剂的种类和含量未知, 因此, DPPH 自由基评价法只能得到混合提取物抗氧化活性的大小, 不能够反映混合物抗氧化剂的数量和抗氧化能力的相对高低。由 HPLC-DAD 分析表明, 在荞麦籽粒乙醇提取物中加入 DPPH 自由基后, 一些色谱峰的面积发生明显下降甚至消失, 该现象表明, 这些峰所对应的化合物与 DPPH 自由基发生了化学反应, 生成新的化合物, 从而导致其峰面积发生下降或消失。有趣的是苦荞麦和甜荞麦的色谱峰保留时间和色谱图的轮廓非常相似(图 2 和图 3), 表明苦荞麦和甜荞麦籽粒乙醇提取物中含有的抗氧化成分具有一定的相似性, 可能属于同类化合物, 这与二者同属蓼科荞麦属植物有关。

电喷雾质谱分析表明, 荞麦籽粒乙醇提取物中的抗氧化成分主要为芦丁和槲皮素, 该结果与文献报道结果相符<sup>[21~23]</sup>, 虽然荞麦中含有大量的黄酮类化合物, 但芦丁和槲皮素是其中最主要的黄酮类化合物, 其中槲皮素的抗氧化活性大于芦丁, 这与芦丁 C 环上的 C<sub>3</sub> 羟基被芸香糖取代有关, 因为 C 环上的 C<sub>3</sub> 羟基对提高黄酮类化合物的抗氧化能力起着十分重要的作用<sup>[24~26]</sup>。本文仅研究了荞麦籽粒乙醇提取物中的主要抗氧化成分, 然而, 荞麦籽粒中抗氧化成分的极性大小存在差异, 在不同的溶剂中溶解性也不相同, 因此, 有必要采用现代分析方法深入研究其中的抗氧化活性成分, 为荞麦资源的开发利用提供依据。

### 4 结论

本文采用高效液相色谱电喷雾质谱法, 建立了一种筛选荞麦籽粒乙醇提取物中抗氧化成分的新方法。结果表明, 无论是苦荞麦还是甜荞麦, 其乙醇提取物的主要抗氧化成分均为芦丁和槲皮素, 该法在研究食品中的抗氧化成分时具有快速、方便和高通量等特点。

### References

- [1] Kaliora A C, Dedoussis G V Z. Natural antioxidant compounds in risk factors for CVD. *Pharmacological Research*, 2007, 56: 99-109.
- [2] Valko M, Leibfritz D, Moncola J, Cronin Mark T D, Mazura M, Telsler J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2007, 39: 44-84.
- [3] Ramarathnam N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Science and Technology*, 1995, 6: 75-82.

- [4] Muller F L, Lustgarten M S, Jang Y, Richardson A, van Remmen H. Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology and Medicine*, 2007, 43: 477-503.
- [5] Machlin L J. Critical assessment of the epidemiological data concerning the impact of antioxidant nutrients on cancer and cardiovascular disease. *Critical Review in Food Science and Nutrition*, 1995, 35: 41-50.
- [6] Jayaprakasha G K, Mandadi K K, Poulouse S M, Jadegoud Y, Nagana Gowda G A, Patil B S. Inhibition of colon cancer cell growth and antioxidant activity of bioactive compounds from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 2007, 15: 4923-4932.
- [7] 林汝发, 柴岩, 廖琴. 中国小杂粮. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2002: 27-64.  
Lin R F, Chai Y, Liao Q. *Minor Grain Crops in China*. Beijing: China Agricultural Science Press, 2002: 27-64. (in Chinese)
- [8] Oomah B D, Mazza G. Flavonoids and antioxidative activities in buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44: 1746-1750.
- [9] Watanabe M. Catechins as antioxidants from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) groats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46: 839-845.
- [10] Quettier-Deleu C, Gressier B, Vasseurs J, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Cazin M, Cazin J C, Bailleul F, Trotin F. Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 72: 35-42.
- [11] Sun T, Ho C T. Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chemistry*, 2005, 90: 743-749.
- [12] Toyo'oka T, Kashiwazaki T, Kato M. On-line screening methods for antioxidants scavenging superoxide anion radical and hydrogen peroxide by liquid chromatography with indirect chemiluminescence detection. *Talanta*, 2003, 60: 467-475.
- [13] Koleva I I, Niederlander H A G, van Beek T A. An on-line HPLC method for detection of radical scavenging compounds in complex mixtures. *Analytical Chemistry*, 2000, 72: 2323-2328.
- [14] Shui G H, Peng L L. An improved method for the analysis of major antioxidants of *Hibiscus esculentus* Linn. *Journal of Chromatography A*, 2004, 1048: 17-24.
- [15] Larrauri J A, Sánchez-Moreno C, Saura-Calixto F. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, 46(7): 2694-2697.
- [16] 莫惠栋. 农业试验统计分析. 北京: 农业出版社, 1989: 80-98.  
Mo H D. *Agriculture Experiment Statistical Analysis*. Beijing: China Agriculture Press, 1989: 80-98. (in Chinese)
- [17] Cao W, Chen W J, Yao Y P. The protection of buckwheat groats extracts on DNA damage caused by hydroxyl radical. *The 1st International Forum on Cereal Science*, Wuxi, China, 2006: 46.
- [18] 姚亚平, 曹炜, 陈卫军, 李钰金, 田呈瑞. 不同品种荞麦提取物抗氧化作用的研究. 食品科学, 2006, 27(11): 49-52.  
Yao Y P, Cao W, Chen W J, Li Y J, Tian C R. Antioxidant activities of ethanol extracts of different buckwheat. *Food Science*, 2006, 27(11): 49-52. (in Chinese)
- [19] Villaño D, Fernández-Pachón M S, Moyá M L, Troncoso A M, García-Parrilla M C. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 2007, 71: 230-235.
- [20] Fabre N, Rustan I, de Hoffmann E, Quetin-Leclercq J. Determination of flavone, flavonol, and flavanone aglycones by negative ion liquid chromatography electrospray ion trap mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 2001, 12: 707-715.
- [21] Yen G C, Wu S C, Duh P D. Extraction and identification of antioxidant components from the leaves of mulberry (*Morus alba* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1996, 44: 1687-1690.
- [22] 郭玉蓉, 韩舜愈, 刘鹏, 毕阳, 王汉宁, 牛黎莉. 荞麦黄酮类化合物的提取分离及结构鉴定. 食品科学, 2004, 25(11): 131-135.  
Guo Y R, Han S Y, Liu P, Bi Y, Wang H N, Niu L L. The extracting conditions, separation and identification of flavonoids of buckwheat. *Food Science*, 2004, 25(11): 131-135. (in Chinese)
- [23] 张琪, 刘慧灵, 朱瑞, 陈建民. 苦荞麦中总黄酮和芦丁的含量测定方法的研究. 食品科学, 2003, 24(7): 113-116.  
Zhang Q, Liu H L, Zhu R, Chen J M. The determination method of total flavones in *Fagopyrum tatarium* Gaertn. *Food Science*, 2003, 24(7): 113-116. (in Chinese)
- [24] Liu B G, Zhu Y Y. Extraction of flavonoids from flavonoid-rich parts in tartary buckwheat and identification of the main flavonoids. *Journal of Food Engineering*, 2007, 78(2): 584-587.
- [25] Heim K E, Tagliaferro A R, Bobilya D J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2002, 13: 572-584.
- [26] Lien E J, Ren S J, Bui H H, Wan R B. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(3/4): 285-294.