

國立臺灣大學生物資源暨農學院農業化學系

碩士論文

Department of Agricultural Chemistry

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis



韃靼蕎麥粗萃取液機能成分之研究

Study of bioactive compounds in  
crude extracts of Tartary buckwheat

黎章欣

Wai Ian Lai

指導教授：賴喜美 博士

Advisor: Hsi-Mei Lai, Ph.D.

中華民國 103 年 7 月

July 2014

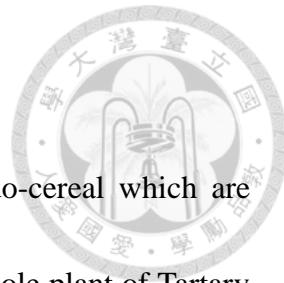


## 中文摘要

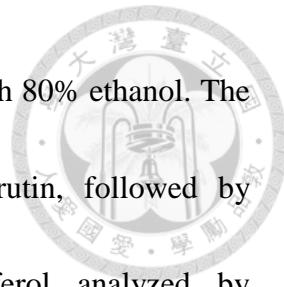
韃靼蕎麥(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn)於台灣屬小量栽種的類穀物(pseudo-cereal)，全植株均含有豐富的類黃酮成分，如蘆丁(rutin)、槲皮素(quercetin)、山柰酚(kaempferol)等。本試驗中擬以國產韃靼蕎麥為試驗材料，分別於幼苗期(seedling)、莖生長期(stem elongation)、乳熟期(milky)、開花期(flowering)及成熟期(matured)採收，並依植株部位分為葉、莖、花、種實(成熟或未熟)作樣本。清潔後，進行熱風乾燥( $60^{\circ}\text{C}$ )和凍乾處理並磨碎成粉末，以 80% 乙醇萃取後測定其總類黃酮與總酚含量。結果顯示，韃靼蕎麥開花期之花以熱風乾燥後有最高的總類黃酮含量( $157.27 \pm 3.01 \text{ mg rutin eq./g powder, d.b.}$ )及總酚含量( $121.60 \pm 3.20 \text{ mg gallic acid eq./g powder, d.b.}$ )，其次為成熟期的葉子；而各個時期中均以莖部位的總酚和總類黃酮含量為最低。花雖然含有豐富的機能性成分，但其僅占新鮮植株之重量百分比 0.3%，且樣品收集困難，故後續機能成分分析及應用之樣品以成熟期的葉子及日常用作糧食之成熟期種實為主。韃靼蕎麥熱風乾燥的成熟期葉子與種實之 80% 乙醇粗萃取液，以 HPLC-PDA 分析後得知，葉子和種實乙醇粗萃取液之主要成分為蘆丁，其次為山柰酚-3-O-芸香糖苷(kaempferol-3-O- rutioside)，再者為槲皮素、異槲皮素(isoquercetin)和山柰酚。韃靼蕎麥葉子和種實之乙醇粗萃取液於  $1000 \mu\text{g/mL}$  亞鐵離子螯合能力分別為 40 和 89%，而清除 DPPH 自由基的  $\text{IC}_{50}$  分別為  $63.51 \pm 2.15$  和  $85.73 \pm 4.60 \mu\text{g/mL}$ 。韃靼蕎麥葉子和種實粗萃液之醣類消化酵素  $\alpha$ -葡萄糖苷酶( $\alpha$ -glucosidase)活性抑制試驗結果得知，其  $\text{IC}_{50}$  分別為  $283.38 \pm 10.62$  和  $180.63 \pm 13.52 \mu\text{g/mL}$ ，與正控制組阿卡波糖(acarbose，為目前治療第二型糖尿病藥物)之  $\text{IC}_{50}$  ( $670.78 \pm 66.29 \mu\text{g/mL}$ )相較，有較佳的效果。本試驗研究結果顯示，韃靼蕎麥植株與種實具有良好抗氧化力以及抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性，甚至比市售藥物阿卡波糖效果更佳，應可作多方面的生產利用。

關鍵詞：韃靼蕎麥粗萃取液、機能性成分、抗氧化、抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶

## Abstract



Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) is a pseudo-cereal which are planted with a small area in Taiwan. It has been reported that the whole plant of Tartary buckwheat contains abundant flavonoids, such as rutin, quercetin, kaempferol, etc. In this study the contents of total flavonoids and total phenolics at different growth stages of Tartary buckwheat plant were determined. The growth stages of Tartary buckwheat plant for investigation includes seedling, stem elongation, milky, flowering and matured stages. Each stage, the plant was separated into four parts, including leaf, stem, flower and grain (immature and matured). After sample collecting, hot-air drying (60°C) and lyophilized were applied to dry the sample. The dried sample was then milled into fine powders. The flower part contained the highest amount of total flavonoids and total phenolics than other parts, which were  $157.27 \pm 3.01$  mg rutin eq./g powder, d.b. and  $121.60 \pm 3.20$  mg gallic acid eq./g powder, d.b., respectively. Following the flower, high amount of total flavonoids and total phenolics could be found in leaf. The stem contained the lowest amount of total flavonoids and total phenolics compared to other parts at all growth stages. Although the flower had the highest amount of bioactive compounds, it is impractical to use the flower due little amount of flower (0.3 w/w% of whole plant) and difficulty of sample collection. Therefore, the matured seed and its plant parts were chosen as the samples for this study. Tartary buckwheat leaf and grain



at matured stage were dried by hot-air (60°C) and then extracted with 80% ethanol. The major components of 80% ethanol crude extraction included rutin, followed by kaempferol-3-O-rutinoside, quercetin, isoquercetin and kaempferol analyzed by HPLC-PDA. The chelated ferrous ion ability of ethanol crude extraction from leaf and grain were 40 and 89% at 1000 µg/mL, respectively. The IC<sub>50</sub> of scavenging DPPH radicals were 63.51±2.15 and 85.73±4.60 µg/mL for the ethanol crude extraction from leaf and grain, respectively. The inhibition of α-glucosidase activity expressed as IC<sub>50</sub> were 283.38±10.62 and 180.63±13.52 µg/mL for the ethanol crude extraction from leaf and grain, respectively. However, the IC<sub>50</sub> of the inhibition of α-glucosidase activity of acarbose, a medical for type II diabetes, was 670.78±66.29 µg/mL. The ethanol crude extraction from matured Tartary buckwheat shows a better inhibition effect than acarbose. The ethanol crude extraction of Tartary buckwheat leaf and grain at matured stage had good antioxidative ability and superior α-glucosidase activity inhibition with great potential for the prevention of type II diabetes.

Keywords: Tartary buckwheat crude extraction, functional compounds, antioxidant, inhibit α-glucosidase

## 目 錄



口試委員會審定書.....	I
誌謝.....	II
中文摘要.....	III
英文摘要.....	IV
目錄.....	VI
圖目錄.....	VIII
表目錄.....	IX
第一章、前言.....	1
第二章、文獻回顧.....	3
一、韃靼蕎麥之簡介.....	3
二、韃靼蕎麥之化學組成.....	5
三、韃靼蕎麥之安全評估.....	14
四、韃靼蕎麥之生理活性.....	14
五、韃靼蕎麥之藥理活性.....	16
第三章、材料與方法.....	23
一、試驗架構.....	23
二、試驗材料.....	24
三、試驗方法.....	26



第四章、結果與討論.....	31
一、不同生長時期韃靼蕎麥植株之變化.....	31
1. 不同生長時期各部位之水分含量.....	31
2. 乾燥方式對植株粉末色澤之影響.....	33
3. 植株不同生長時期熱風乾燥和凍乾各部位之機能性成分.....	34
二、韃靼蕎麥之一般成分分析.....	38
三、韃靼蕎麥粗萃取液之化學成分分析.....	39
1. 韃靼蕎麥葉和種實之萃取率.....	39
2. 韃靼蕎麥葉和種實乙醇粗萃取液之主要機能性成分.....	39
四、韃靼蕎麥粗萃取液之抗氧化能力分析.....	44
1. 清除 DPPH 自由基能力.....	44
2. 亞鐵離子螯合能力.....	46
五、韃靼蕎麥粗萃取液抑制糖解酵素活性之分析.....	47
第五章、結論.....	52
第六章、參考文獻.....	53



## 圖目錄

圖一、三種食用蕎麥之外觀.....	3
圖二、類黃酮化合物基本結構圖.....	5
圖三、蘆丁、槲皮素、異槲皮素和山柰酚 3-O-芸香糖苷之結構圖.....	8
圖四、異槲皮素與蘆丁被黃酮醇 3-葡萄糖苷酵素(F3G)水解成槲皮素之路徑.....	10
圖五、二型糖尿病之治療藥物阿卡波糖、伏格列波糖和米格列醇結構圖.....	17
圖六、成熟期韃靼蕎麥全植株、葉子和種實.....	25
圖七、韃靼蕎麥葉與莖於熱風乾燥和凍乾之色澤變化.....	33
圖八、不同生長時期總酚和總類黃酮之含量變化.....	37
圖九、韃靼蕎麥葉、種實乙醇粗萃取液及標準品之高效能液相層析圖.....	41
圖十、質譜儀於正電模式下分析山柰酚-3-O-芸香糖苷分子之斷裂片段.....	42
圖十一、韃靼蕎麥粗萃取液和標準品於不同濃度下清除 DPPH 自由基之能力.....	45
圖十二、韃靼蕎麥粗萃取液與標準品於 1000 μg/mL 融合亞鐵離子之能力 .....	47
圖十三、韃靼蕎麥粗萃取液、標準品與市售藥物阿卡波糖於不同濃度下抑制 α-葡萄糖苷酶之能力 .....	49



## 表目錄

表一、各種類黃酮之分類及結構.....	6
表二、韃靼蕎麥植株之試驗原料.....	24
表三、HPLC-PDA 流洗梯度之條件.....	29
表四、新鮮植株不同生長時期各部位之水分含量百分比.....	32
表五、韃靼蕎麥葉與種實於熱風乾燥和凍乾處理後之主要機能性成分含量.....	35
表六、韃靼蕎麥葉與種實之一般成分分析.....	39
表七、韃靼蕎麥葉和種實乙醇粗萃取液之主要機能性成分.....	43
表八、韃靼蕎麥粗萃取液和標準品清除 50% DPPH 自由基所需之濃度.....	46
表九、韃靼蕎麥粗萃取液和標準品抑制 50% $\alpha$ -葡萄糖苷酶所需之濃度.....	51



## 第一章、前言

韃靼蕎麥(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn) 於台灣屬小量栽種的類穀物，主要的栽種地點有台中大雅及彰化二林，具有耐寒、耐蟲害、生长期短等優點，從播種到收成只需要 85 天，故傳統上被視為救荒作物。韃靼蕎麥全植株富含類黃酮(flavonoids)成分，種實亦具有均衡的胺基酸、高含量膳食纖維、維生素、礦物質和抗性澱粉等，其中之類黃酮蘆丁(rutin)，並未存在主要的糧食作物中，卻是韃靼蕎麥中主要的機能性成分。韃靼蕎麥富含穀類的第一限制胺基酸(first limiting amino acid)—離胺酸(lysine)，因此，非常適合加以利用並推廣發展成保健產品。目前韃靼蕎麥之種實收割後，會進行精白、磨粉以供加工使用，但因其麩質(gluten)含量低，故只能以混摻方式添加於麵粉以製做麵食製品。此外，種實經脫殼、烘焙後雖可製成茶飲，然而對韃靼蕎麥之利用及產品應用範圍不夠廣泛，故韃靼蕎麥於台灣市場中一直無法被大量推廣。除可塑性低導致難以普及外，蕎麥進口價格遠低於國內生產價格亦阻礙應用與推廣之原因。韃靼蕎麥產品因帶有些許苦味，即使營養價值遠高於普通種蕎麥，但仍無法廣泛被接受。

目前用來控制血糖濃度者多為化學合成藥物，對個別患者服用後會引起不同程度之副作用，故許多研究藉由天然植物來源尋找替代的治療物，以減緩其副作用。已知，植物體二次代謝產物之部分多酚類化合物(polyphenolic compounds)被證實對人體有多種保健功效，包括抗氧化、清除自由基、抗菌及抑制醣類消化酵素  $\alpha$ -葡萄糖苷酶( $\alpha$ -glucosidase)和  $\alpha$ -澱粉酶( $\alpha$ -amylase)之活性，以達到延緩餐後高血糖(postprandial hyperglycemia) 的功效。韃靼蕎麥萃取物富含類黃酮，也已被證實能有效減少高血脂大鼠中血清和肝臟之總三酸甘油脂和總膽固醇之含量，同時具有降血糖和血壓功效(Wang et al., 2009)。因此，韃靼蕎麥萃取物應可提供良好保健效果，具有作為第二型糖尿病食療之潛力。



本試驗探討韃靼蕎麥植株於不同生長時期之不同部位，分別以熱風乾燥和凍乾處理以作為機能成分之萃取樣品。除分析樣品之一般成分(包括蛋白質、脂肪、及灰分)外，總酚和總類黃酮含量測定為機能成分之粗篩分指標，續由高效能液相層析儀(High performance liquid chromatography, HPLC)進行成分之定性與定量確認。韃靼蕎麥乙醇粗萃取液之抗氧化能力、抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的能力亦將予以評估。本試驗之成果將可提供韃靼蕎麥之應用參考，以提升韃靼蕎麥之附加價值。

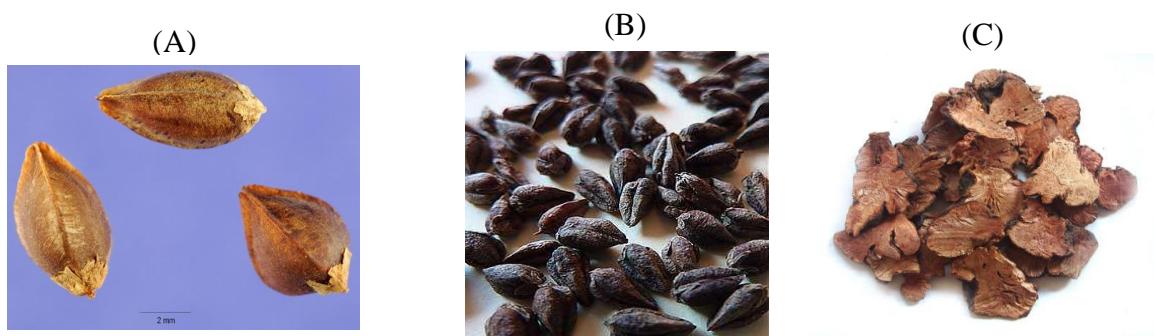
## 第二章、文獻回顧



### 一、韃靼蕎麥之介紹

#### 1. 簡介與產地

韃靼蕎麥(*Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn) 是蓼科(*Polygonaceae*)蕎麥屬(*Fagopyrum*)品種，為一年生草本的雙子葉植物，目前已被發現之蓼科蕎麥屬共有19種，農業上蕎麥因不屬禾本科(*Poaceae*)植物而被分類成類穀物。蕎麥於中國的種植歷史十分悠久，公元前五世紀的《神農書》中就有記載蕎麥為當時栽培的八穀之一。現今被用作食用之蕎麥有三種，分別是韃靼蕎麥、普通蕎麥(*Fagopyrum esculentum*)和金蕎麥(*Fagopyrum dibotrys*)三種(圖一)，其中韃靼蕎麥之種實味苦而俗稱苦蕎，於加工食用時帶有漂亮的金黃色又稱作為黃金蕎麥，可脫殼烘焙製作成茶飲或磨粉後作加工使用；普通蕎麥為多數國家所栽培，種實磨粉後可跟麵粉一同混合製作成蕎麥麵，而日本著名的蕎麥麵(soba)亦以普通蕎麥作原料，跟韃靼蕎麥的苦味相較，有甜蕎之俗稱；金蕎麥之乾燥根莖於中國被用作中藥材入藥，其可治療咽喉痛、清熱解毒等功效。韃靼蕎麥與普通蕎麥於世界不同國家中均屬非主要之糧食作物。



圖一、三種食用蕎麥之外觀。

Figure 1. The appearance of eating buckwheat (A) *F. esculentum*; (B) *F. tataricum* and (C) *F. dibotrys*.



韃靼蕎麥為自花授粉作物，本身具有耐寒、耐蟲害、生長期短等優點，因此種植容易，栽種的收獲期約 85 天，適宜冷涼季節進行栽種，栽種範圍從溫帶到寒帶(黃等，1989)，全球種植韃靼蕎麥的地區包括中國、印度、波蘭、韓國和日本等國家。台灣從日據時代將蕎麥引入栽培，於台灣農產品中為小面積栽種作物，產地包含彰化二林、台中大雅和台南佳里等地。蕎麥於台灣之栽種面積最多曾高達 350 公頃，但因受競爭作物影響，導致種植面積逐年減少，目前僅剩 35 至 74 公頃，而國產蕎麥單位面積產量為 100 公斤/公頃，實屬偏低(曾，2009)。於台中農改場的育種和推廣下，台灣蕎麥之栽種品種有普通種的台中一、三、五號，還有韃靼種的台中二號。韃靼蕎麥種實因麩質含量低，不能提供麵筋之結構使得其加工可塑性低，目前主要之產品僅有麵食和茶飲兩種，加上國內生產量與成本問題不符合出口市場的需求，韃靼蕎麥因此受到嚴重限制。

## 2. 苦味成分

韃靼蕎麥種實受限於其獨特的苦味成分，使韃靼蕎麥於市場上難以被廣泛接受。構成苦味之成分分別為槲皮素(quercetin)、未知成分 F3 及未知成分 F4 (Kawakami et al., 1995)三種化合物。當中槲皮素和 F3 是由於酵素反應所產生，以 80°C 加熱 30 分鐘後能使酵素失活，減少苦味成分的生成(Yasuda & Nakagawa, 1994)，目前市場上所販售的苦蕎茶即利用加熱過程使酵素失活，大幅降低苦味。

## 3. 韃靼蕎麥加工產品

韃靼蕎麥受到注目的機能性成分為蘆丁，其屬於類黃酮化合物，且相較於其他蕎麥種類，恰好為韃靼蕎麥中含量最豐富(廖等，2011)，亦被證實對人體具有多種保健功效。常見之加工產品為苦蕎茶，其以韃靼蕎麥種實作原料，製作過程包括浸泡、蒸煮、乾燥、脫殼、烘焙五步驟，如下：韃靼蕎麥首先浸泡於水中使外殼(hull)柔軟、胚乳韌化而易於在後續步驟中去除，接著進行蒸氣處理使酵素失活和澱粉糊化，乾燥並脫殼去麩，最後進行短時間烘焙，賦予苦蕎茶獨特的風味。



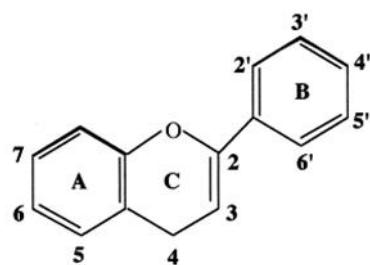
Qin 等人 (2013) 之研究指出，韃靼蕎麥於浸泡過程中，會促使蘆丁被黃酮醇 3-葡萄糖苷酶(flavonol 3-glucosidase, F3G)水解，因而降解流失，同時產生槲皮素使其含量增加；接著於蒸氣處理過程中 F3G 會因高溫失活，而蘆丁此時經由 3-O-葡萄糖基轉移酶 (3-O-glucosyltransferase, 3GT) 和鼠李糖基轉移酶 (rhamnosyltransferase, RT)二種合成酵素的作用，重新合成使其含量上升。

苦蕎茶以健康茶飲為其銷售特色，飲用時帶有明顯的麥香氣味，以 GC/MS 進行定性分析後，發現苦蕎茶貢獻其獨特的揮發性芳香成分主要為酮(ketone)、醛(aldehyde)、吡嗪(pyrazine)及麥芽酚(maltol)等化合物，此外還有亞油酸(linoleic acid)、菸酸(niacin)、香草酸(vanillic acid)等機能性成分存在(Qin et al., 2011)。

## 二、韃靼蕎麥之化學組成

### 1. 類黃酮 (Flavonoids)

簡單定義類黃酮化合物泛指有 15 個碳原子的多元酚化合物，其結構是兩個芳香烴環(A、B)之間以一個三碳鏈(C 環)作相連，C6-C3-C6 為基本碳架構的一系列化合物，如圖二所示。



圖二、類黃酮化合物基本結構圖 (Harborne et al., 1999)。

Figure 2. The skeleton structure of flavonoid, with rings named and positions numbered.

類黃酮廣泛存在於植物中，是植物的二次代謝物，屬於多酚化合物的一種，且為酚類化合物中最大的一類，大部分以配糖體(glycosides)和配糖基(aglycones)形



式分佈，而存在的形式與含量會依照食品來源、種植季節、地理環境或不同的植株部位等多種因素而有所不同。類黃酮存在於植物中可提供基本的顏色及特殊香氣，同時具有保護植物免於受紫外線的傷害、作訊息傳遞因子等功能，過去文獻之結果曾指出類黃酮對人體有抗氧化、抗癌、預防心血管疾病等保健功效，且無法於體內自行合成，需藉由食物的攝取而獲得(Cook & Samman, 1996)。

依中間三碳鏈的飽和程度、4號碳上是否與氧原子形成酮基、B環之連結位置(2-或3-位置)等特性，可將類黃酮化合物分為(表一)：

- (1) 黃酮(flavones)
- (2) 黃烷酮(flavonones)
- (3) 黃酮醇(flavonols)
- (4) 異黃酮(isoflavones)
- (5) 花青素(anthocyanidins)

表一、各種類黃酮之分類及結構 (Smith & Yang, 1994)

Table 1. Classification of flavonoids and their related structure

類別	基本結構
Flavones	
Flavanones	
Flavonols	
Isoflavones	
Anthocyanidins	



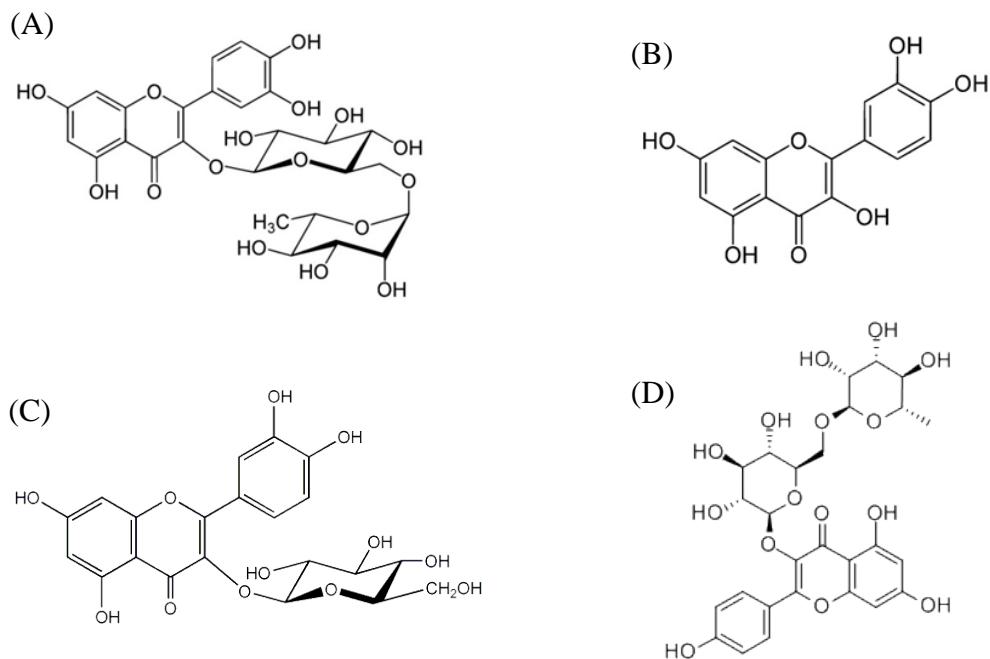
Fabjan 等人(2003)曾針對三種不同品種的韃靼蕎麥種實作研究，樣品有來自中國的 China 1、China 2 和來自盧森堡的 Lux，種植於不同季節、海拔、國家和不同收獲時期，採收其種實後磨粉，以溶劑甲醇作超音波(ultrasound)萃取，過濾後以高效能液相層析儀搭配 UV/VIS 偵測器於 360 nm 下分析萃取液的組成成分。結果顯示於春天播種後第 50 和第 56 天的三種未熟種實均含有最高量之蘆丁，其含量可達種實乾重的 2.5 至 3%，槲皮苷(quercitrin)佔韃靼蕎麥成熟種實 0.01 至 0.05% 乾重，而槲皮素沒有存在於三個品種中且其含量十分微量。比較韃靼蕎麥和普通蕎麥中蘆丁的含量，分別占 0.8 至 1.7% 和 0.01% 的乾重，槲皮苷與槲皮素沒有在普通蕎麥中發現，故韃靼蕎麥之營養價值高於普通蕎麥。一般而言，高海拔的種植地點會與紫外線的照射量成正比，而當植株受紫外線刺激後會合成更多的次級代謝物以保護植株，但此篇研究中並沒有因種植地點的海拔不同而獲得上述之結果，原因可能是植株在生長過程中的複雜性所致，再者植株生長的地理環境也會有所影響，如光照、溫度及土壤成分等。通過研究可知，透過食用韃靼蕎麥，可從其中獲得豐富的蘆丁和槲皮素等機能性成分，附加韃靼蕎麥的保健價值。

### 1.1.1 蘆丁 (Rutin)

蘆丁( $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranose)是類黃酮中黃酮醇的一種，又稱為芸香苷(圖三 A)，為黃酮醇槲皮素與芸香糖形成的糖苷，多存在於蕎麥、蘆筍、柑橘類水果、桑葚等蔬果中，最早於 1842 年被 Wesis 自芸香(*Rue, Ruta graveolens*)中分離並鑑定。蘆丁是韃靼蕎麥中最主要的類黃酮成分，同時分布於韃靼蕎麥全植株中，如根、莖、葉、花、種實之部位，於種實之含量為 34.4 至 45.9 mg/100g，比普通種蕎麥平均高出 8.3 倍之多(曾等，2004)。蘆丁於韃靼蕎麥中之含量會隨著品種、地理環境、氣候和植株部位而有所不同，其為韃靼蕎麥中最注目的機能性成分，因它不存在於穀類作物和其他雜糧，卻於韃靼蕎麥中被發現且含量豐富，在加工上賦予透亮的金黃色而受到消費者所喜愛。



蘆丁已被證實具有抗發炎(Guardia et al., 2001)、抗氧化(Holasova et al., 2002)、抑制血小板凝集(Navarro-Nunez et al., 2008)、強化毛細血管(Kumamoto et al., 1985)、減低高血壓風險(Lee, 2000)和預防糖尿病(Lee et al., 1994)等多種保健功效，因此被列為韃靼蕎麥中最重要的機能性成分。



圖三、蘆丁(A)、槲皮素(B)、異槲皮素(C)和山柰酚 3-O-芸香糖苷(D)之結構圖。

Figure 3. The structure of (A) rutin; (B) quercetin; (C) isoquercetin; (D) kaempferol-3-O-rutinoside.

#### 1.1.2 槲皮素 (Quercetin)

槲皮素(圖三 B)屬類黃酮中的黃酮醇，廣泛存在於水果、蔬菜、藥用植物和穀物中的類黃酮，如蘋果、洋蔥、銀杏和茶葉等，且其含量豐富。槲皮素是蘆丁、槲皮苷、異槲皮素(isoquercetin)、金絲桃苷(hyperoside)和番石榴苷(guaijaverin)的配醣基。槲皮素於韃靼蕎麥中含量為 12.10 至 15.52 mg/100g，比普通種蕎麥高出 7.2 倍(曾等，2004)。

根據不同之研究指出，槲皮素對人體具多種生理作用，包括抗過敏(Trnovsky et

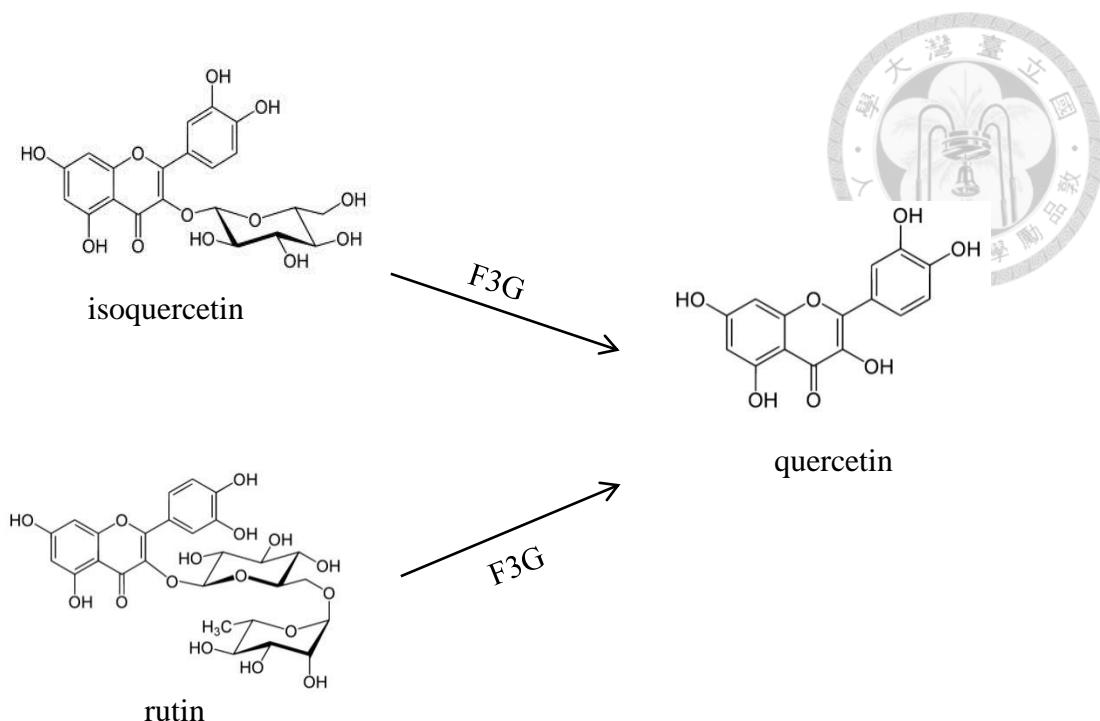


al., 1993)、抗發炎(Stewart et al., 2008)、抗病毒(Kaul et al., 1985)、預防心血管疾病(Knek et al., 2002)、降低高血壓(Edwards et al., 2007)等效果，亦有抑制腫瘤細胞增生的效果，因槲皮素可有效干擾腫瘤細胞的細胞週期，減慢腫瘤細胞的增生，從而達到消滅腫瘤的功效(Deschner et al., 1991；Agullo et al., 1994；Wei et al., 1994；Kuo, 1996；Kawai et al., 1999)。

#### 1.1.2.1 蘆丁與槲皮素之轉換機制

一般而言韃靼蕎麥的種實粉末多被用作澱粉之加工製品如麵食與麵包，在麵食的製作過程中會加入水使其與麵粉混合成麵團，然而韃靼蕎麥中含有蘆丁降解酶(rutin-degrading enzyme, RDE)，亦稱作蘆丁 3-葡萄糖苷酶(rutin 3-glucosidase)，其為黃酮醇 3-葡萄糖苷酶(flavonol 3-glucosidase, F3G)的一種，會水解配糖基與醣體間的醣苷鍵(glycosidic bond)，如圖四所示。當蘆丁被蘆丁降解酶所水解後(Yasuda & Nakagawa, 1994)，將生成帶有苦味之槲皮素(Li, et al., 2008；Yasuda, 2001)，苦味之形成會影響消費者對韃靼蕎麥產品之喜好性(Kawakami et al., 1995)。

韃靼蕎麥種實中，蘆丁和蘆丁降解酶存在於不同的部位，前者主要分布於胚乳內，而後者分布於麩皮，故未經磨粉之種實，並不會造成蘆丁降解，且進行六年的儲藏實驗後，仍沒有觀察到蘆丁含量之減少(Suzuki et al., 2002)。但當韃靼蕎麥粉加入水後，便能明顯觀察到蘆丁含量減少與槲皮素含量增加之現象，原因為蘆丁受蘆丁降解酶之作用所造成(Yoo et al., 2012)。Yasuda & Nakagawa (1994)從韃靼蕎麥種實中分離出蘆丁降解酶 I 和 II (RDE I, RDE II)的同功酶(isozymes)，其最適反應之 pH 值為 5，兩同功酶以 80°C 加熱 30 分鐘後皆失去酵素活性。Yoo 等人(2012)利用韃靼蕎麥粉和麵粉以 3:7 之比例製作麵條，韃靼蕎麥粉若於製作麵條前先經過濕熱處理(蒸氣或殺菌釜加熱)，其蘆丁含量為 0.83 g/100g，比未經處理之蕎麥麵高出三倍。故利用韃靼蕎麥當原料作加工產品時，可先針對原料粉進行加熱處理，以減少蘆丁之降解及苦味生成，增加消費者對產品的喜好性。



圖四、異槲皮素與蘆丁被黃酮醇 3-葡萄糖苷酵素(F3G)水解成槲皮素之路徑。

Figure 4. The pathway of isoquercetin and rutin hydrolyse to quercetin by flavonol 3-glucosidase (F3G).

### 1.1.3 異槲皮素 (Isoquercetin)

異槲皮素(quercetin 3-O- $\beta$ -D-glucopyranoside)為槲皮素與葡萄糖以糖苷鍵形成的糖苷，亦稱作 isoquercitrin (圖三 C)，多被發現存在於中草藥植物中如辣木 (*Moringa oleifera* Lam.)和羅布麻(*Apocynum venetum* (L.))。異槲皮素已被證實具有抗病毒(Kim et al., 2010)、抗氧化(Juang et al., 2010)、抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶(Li et al., 2009)、預防糖尿病(Zhang et al., 2011)及抗過敏(Rogerio et al., 2007)等功效，其存在韃靼蕎麥中，於麩皮萃取物之含量為 9.33 mg/g extract (Wang et al., 2013)。

### 1.1.4 山柰酚-3-O-芸香糖苷 (Kaempferol 3-O-rutinoside)

山柰酚-3-O-芸香糖苷(kaempferol 3-O- $\beta$ -rutinoside)為山柰酚(kaempferol)與芸香糖以糖苷鍵形成的糖苷，亦稱作 nicotiflorine (圖三 D)，其帶有苦味，多於植株中存在如梨果仙人掌(*Opuntia ficus indica* (L.))、薺菜(*Capsella bursa-pastoris* (L.))、



銀杏葉(*Ginkgo biloba*)、杏仁(Almonds)和韃靼蕎麥。機能性方面曾被指出山柰酚-3-O-芸香糖昔能有效抑制  $\alpha$ -葡萄糖昔酶活性(Habtemariam, 2011)、抗氧化(Montoro et al., 2005)和降血壓(Ahmad et al., 1993)等功能，且於韃靼蕎麥中含量為 161.12 mg/100g (Li et al., 2010)。

## 1.2 韃靼蕎麥植株不同部位於生長期間類黃酮成分之變化

已知韃靼蕎麥全植株含有豐富的類黃酮成分，於不同部位中類黃酮存在之含量不一，以韃靼蕎麥中含量最高之蘆丁作比較，可發現其含量由大至小分別為花、葉和莖，且含量跟抗氧化能力呈正相關性；種實於成熟過程中之變化為未熟種實(62 天播種期)比成熟種實(100 天播種期)含有較多的蘆丁成分。除發現蘆丁存在於韃靼蕎麥全植株外，槲皮素亦被發現於各部位中，然而其含量極低；於未熟種實中含有荭草素(orientin)、異荭草素(homoorientin)、牡荊素(vitexin)和異牡荊昔(isovitexin)，而隨著種實之成熟四種成分的含量則劇烈減少；另外，槲皮昔只存在於韃靼蕎麥之花中(Zielińska et al., 2012)。

## 2. 酚酸 (Phenolic acids)

Guo 等人(2012)分析韃靼蕎麥種實不同部位之酚酸成分，包括外殼、粗麩(coarse bran)、細麩(fine bran)和精白粉(light flour)，萃取後測量它們的游離態酚酸(free phenolic acids)和結合態酚酸(bound phenolic acids)含量。結果顯示種實無論於任何部位，皆以游離態之酚酸形式為主，游離態酚酸、類黃酮含量最高者為細麩；結合態酚酸、類黃酮較多位於外殼。在各個部位中，皆可發現蘆丁、對-羥基苯甲酸(*p*-hydroxybenzoic)、原兒茶酸(protocatechuic acid)、咖啡酸(caffein acid)、綠原酸(chlorogenic acid)、沒食子酸(gallic acid)、阿魏酸(ferulic acid)、對-香豆酸(*p*-coumaric acid)、丁香酸(syringic)和香草酸之存在。各部位中含量最多之成分為蘆丁，於細麩中高達 7.43% 乾重；對-羥基苯甲酸為粗麩、細麩和精白粉主要的游離態酚酸，原兒茶酸則為外殼中之主要游離態酚酸。經統計分析後，得知蘆丁、對-羥基苯甲酸



跟抗氧化性呈正相關性，故二者可作為韃靼蕎麥中抗氧化能力高低之指標成分。

韃靼蕎麥以游離態酚類化合物為當中主要的存在形態，然而日常糧食作物之米和小麥以結合態酚酸形式存在為主(Liyana-Pathirana & Shahidi, 2006 ; Zhou et al., 2004)，結合態酚類化合物常跟細胞壁以酯鍵(ester bond)或醚鍵(ether bond)鍵結，只能被大腸中的微生物所分解利用(Adom & Liu, 2002)；結構簡單之游離態多酚及類黃酮如槲皮素，則可直接由小腸吸收分解(Bravo, 1998)。

### 3. 脂肪

韃靼蕎麥油脂呈黃綠色，於室溫下可固化。Bonafaccia 等人 (2003a) 分析韃靼蕎麥精白種實和麩皮(bran)之脂肪含量，分別占 2.8% 和 7.4% 的乾重。脂肪主要分布於麩皮上，與穀類作物相似，故為了防止穀類作物於販售和存放期間發生油脂酸敗而影響風味，一般會經過精白處理再作販售。精白韃靼蕎麥種實的脂肪酸成分以不飽和脂肪酸(unsaturated fatty acid)如油酸(oleic acid, C18:1)及亞麻油酸(C18:2)為主，亞麻油酸為人體的必需脂肪酸(essential fatty acid)之一，兩者含量占總脂肪酸的 70% 以上，整體而言，種實中所有的不飽和脂肪酸含量是飽和脂肪酸(saturated fatty acid) 的 2.9 倍。從研究結果可知，韃靼蕎麥能作為良好之糧食作物來源，提供不飽和脂肪酸的攝取。

### 4. 蛋白質

Guo & Yao (2006) 研究韃靼蕎麥種實之蛋白質成分，分析前先以正己烷去脂，再根據韃靼蕎麥蛋白質不同之溶解度作劃分，收集過程可依序得到水溶性蛋白(albumin) 43.8%、鹽溶性蛋白(globulin) 7.82%、醇溶性蛋白(prolamin) 10.5% 及鹼溶性蛋白(glutelin) 14.6%。結果顯示韃靼蕎麥大部分之蛋白質來源為水溶性蛋白，故於加工過程中，不能提供麵筋之網狀結構，減少其加工可利用性。

Bonafaccia 等人 (2003a) 研究中發現韃靼蕎麥種實無論於麩皮或胚乳內，均



含有 17 種胺基酸(amino acids)成分，離胺酸(lysine)為穀類作物中的第一限制胺基酸(limiting amino acid)，然而於韃靼蕎麥中離胺酸之含量高達 6.18 g/100 g protein，故以韃靼蕎麥作糧食來源，可均衡攝取各種胺基酸成分，不需靠額外之補充。

## 5. 膳食纖維

膳食纖維可分成可溶性膳食纖維(soluble dietary fiber, SDF)跟水不溶性膳食纖維(insoluble dietary fiber, IDF)兩種，當中前者能減少人體血液中的膽固醇含量、減低患上心臟相關疾病和遲緩餐後血糖(postprandial glucose)上升等效果，後者能促進腸道蠕動、結合腸道中部分的水和膽酸以增加膽酸的排出。攝取膳食纖維的多寡跟肥胖、動脈粥狀硬化和大腸癌等疾病有一定的相關性存在(Esposito et al., 2005；Górecka et al., 2005；Mehta, 2005)。台灣衛生福利部提倡成人每日應攝取 25 至 30 克膳食纖維，但普遍民眾均有攝取不足之問題存在。

Bonafaccia 等人 (2003a) 分析韃靼蕎麥全顆種實、麩皮和精白粉的膳食纖維含量，總膳食纖維分別各占乾重的 26、24.8 和 6.3%，其中各部位之水不溶性膳食纖維占總膳食纖維的 90% 以上，可知韃靼蕎麥以水不溶性膳食纖維為主，且全顆韃靼蕎麥種實含有超過四分之一乾重的高纖維量，若經常食用韃靼蕎麥全顆種實所製作之加工產品，即可增加膳食纖維的攝取量。

## 6. 微量元素 (Trace elements)

微量元素為人體必需從飲食中攝取的成分，身體無法自行製造，其參與了人體重要的生理代謝作用，而每種元素都有它們獨特的功能。Bonafaccia 等人 (2003b) 利用  $\gamma$  光譜搭配高純度鋅偵測器，分析韃靼蕎麥種實和開花期葉片中的微量元素，結果顯示韃靼蕎麥種實和葉子中皆有硒(Se)、鉻(Cr)、鈦(Rb)、鋅(Zn)、鐵(Fe)、鈷(Co)、锑(Sb)、鎢(Ba)、鎳(Ni)、銀(Ag)和錫(Sn)之存在。種實中，除鉻於胚乳之含量最高，其餘微量元素均主要分佈在麩皮上；另外韃靼蕎麥葉中只有鋅的含量較



種實為少，其餘各種微量元素皆以葉子較高。故無論以韃靼蕎麥種實或葉子作飲食，均可提供豐富之微量元素作為日常補充身體所需。

## 7. 維生素 (Vitamins)

Bonafaccia 等人 (2003a) 研究中，得知韃靼蕎麥種實含有豐富的維生素 B1 (thiamine)、維生素 B2 (riboflavin)和維生素 B6 (pyridoxine)，主要分佈在麩皮上。維生素 B1 和體內的能量代謝有關，每天需要攝取 0.4 mg/kcal (Commission, 1993)，若以成人每天攝取 2000 kcal 計算，則進食含有韃靼蕎麥種實約 200 克的食品，可滿足身體一天對維生素 B1 的所需。另外加以比較韃靼蕎麥種實跟普通蕎麥種實的維生素 B1、B2 和 B6，韃靼蕎麥的三種維生素含量均顯著高於普通種。

## 三、韃靼蕎麥之安全評估

林等人 (2001) 對韃靼蕎麥種實萃取物之毒理學作一系列的安全性評估，於動物實驗中以小鼠和 Wistar 大鼠作試驗之研究對象。經口服致死劑量( $LD_{50}$ )試驗大於 10 g/kg，在  $LD_{50}$  分級標準屬實際無毒。經 Ames 試驗、小鼠骨髓噬多染紅細胞微核試驗、小鼠精子畸形試驗後，以上檢測結果與控制組相較沒顯著差異 ( $p>0.05$ )，證實韃靼蕎麥種實萃取物無細胞毒性且對生殖細胞無致突變作用。在大鼠 90 天餵食試驗中發現，韃靼蕎麥種實萃取物對大鼠的生長發育、血清學、生化與病理指標均無明顯的不良影響。因此，經二階段毒性試驗證明可知，韃靼蕎麥種實萃取物為安全無害。

## 四、韃靼蕎麥之生理活性

### 1. 抗氧化能力

#### 1.1 自由基清除能力

因類黃酮化合物之化學結構具有清除自由基之能力，一般認為類黃酮含量跟



其所提供之抗氧化能力成正相關。有研究指出普通種蕎麥種實之抗氧化能力高於大麥、小麥和燕麥的糧食作物(Zielinski & Kozlowska, 2000)，而韃靼蕎麥種實之抗氧化力又高於普通蕎麥(Morishita et al., 2007)，故韃靼蕎麥可作為提供最佳抗氧化能力的糧食作物。韃靼蕎麥含量最豐富之類黃酮成分為蘆丁，蘆丁提供了顯著的抗氧化能力，且於清除 DPPH 自由基試驗中貢獻了超過 85% 的總抗氧化能力 (Morishita et al., 2007)。

## 1.2 抗油脂過氧化

油脂及富含油脂食品中的不飽和脂肪酸，易受存放環境中的氧氣、光照、助氧化劑及酵素的作用而進行自氧化反應，引起食品的酸敗。Li 等人 (2010) 以韃靼蕎麥種實甲醇萃取物與新鮮豬油混合並在高溫下以 20 L/hr 之空氣催化反應，利用不同濃度之萃取物測定脂肪自氧化的誘導期(induction period)時間。結果指出油脂誘導自氧化之時間隨萃取物濃度增加而增加，亦跟萃取物中類黃酮含量呈正相關，所以韃靼蕎麥甲醇萃取物能有效對抗油脂自氧化反應之進行，增加油脂安定性，延緩酸敗的發生。

## 2. 抗菌能力

Wang 等人 (2013) 研究韃靼蕎麥麩皮之乙醇萃取液是否具有抗菌效果，針對臉上大量繁殖並導致痤瘡產生之菌株 *Propionibacterium* 和 *Staphylococci*，韃靼蕎麥麩皮之乙醇萃取液對 *Propionibacterium acnes* (ATCC11827)、*Propionibacterium acnes* (ATCC6919)、*Staphylococcus epidermidis* (ATCC12228) 和 *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) 之最低抑菌濃度(minimum inhibition concentration, MIC)分別是 1024, 512, 256 和 2048 µg/mL，而韃靼蕎麥乙醇萃取液中存在之槲皮素，對四菌種的最低抑菌濃度分別是 128、32、64 和 128µg/mL，萃取液含量最多的蘆丁只對 *Staphylococcus epidermidis* 有抑菌效果，其最低抑菌濃度為 1024 µg/mL，可從結果中得知去糖基形式的類黃酮有較佳之抗菌效果。



Parkar 等人 (2008) 以日常攝取到之多元酚類化合物作研究，觀察多元酚類化合物(caffeic acid、chlorogenic acid、o-coumaric acid、 $\rho$ -coumaric acid、catechin、epicatechin、phloridzin、rutin、naringenin、daidzein、genistein 和 quercetin)對腸道內菌株之影響，其中存在於韃靼蕎麥中的槲皮素，對四菌種 *Escherichia coli*、*Staphylococcus aureus*、*Salmonella typhimurium*、*Lactobacillus rhamnosus* 的最低抑菌濃度分別是 125、62.5、125 和 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，蘆丁的最低抑菌濃度均大於 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，為上述多種酚類化合物中效果最差，亦再次證實去醣基之類黃酮有較佳的抑菌效果。四菌株中除 *Lactobacillus* 為益生菌外，前三者均為致病菌，從最低抑菌濃度結果可知，槲皮素和其他酚類化合物對革蘭氏陽性菌(gram positive bacteria)之 *Staphylococcus aureus* 抗菌效果較革蘭氏陰性菌為佳。

大部分類黃酮均能提供抗菌之功效，然而韃靼蕎麥中最主要之成分蘆丁的抗菌效果並不理想，另一存在的成分槲皮素之抗菌效果佳，唯其於韃靼蕎麥中含量少，故韃靼蕎麥抗菌之功效存在但並不顯著。

## 五、韃靼蕎麥之藥理活性

### 1. 抑制 $\alpha$ -澱粉酶活性

$\alpha$ -澱粉酶 (EC 3.2.1.1)為內切型澱粉酶，水解  $\alpha$  鍵結的多醣或寡醣類化合物如澱粉，主要存在於人體的胰液和唾液中，進行水解碳水化合物之作用。 $\alpha$ -澱粉酶為人體初步消化碳水化合物的酵素，將大分子的多醣類分解成小分子的寡糖或糊精後，最後經小腸上皮細胞絨毛上的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶水解成葡萄糖而完成醣解作用，使得體內血糖濃度的上升，若能從飲食中攝取到抑制  $\alpha$ -澱粉酶的成分，則能延緩大分子醣類的水解，降低血糖上升的速度。

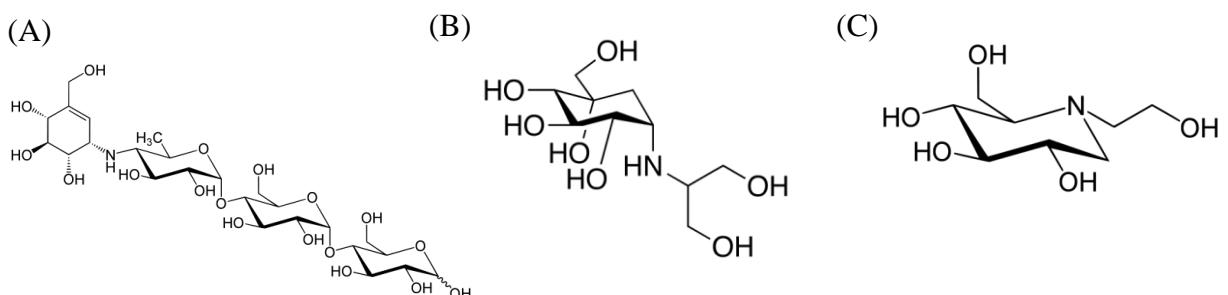
Li 等人(2009a)以螢光光譜法和酵素動力學研究韃靼蕎麥之主要機能性成分蘆丁、異槲皮素和槲皮素對  $\alpha$ -澱粉酶的抑制作用，結果顯示三種成分均能與  $\alpha$ -澱粉酶形成複合物，而結合形式以疏水鍵作驅動，結合常數由大至小分別為異槲皮



素、槲皮素和蘆丁，其抑制  $\alpha$ -澱粉酶機制均為競爭性抑制作用。

## 2. 抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性

$\alpha$ -葡萄糖苷酶 (EC 3.2.1.20) 存在於小腸上皮細胞的絨毛刷緣上，可水解寡醣和糊精非還原末端的  $\alpha$ -1,4 鍵結，水解後釋出 D-葡萄糖分子，為醣解作用中重要的酵素。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性若受到抑制則可減緩人體餐後血糖上升之速度，抑制後並不會使熱量之吸收降低(Manach et al., 1997)。目前已有  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制劑作為二型糖尿病患者的藥物，延緩水解碳水化合物之速率，藥物包括阿卡波糖(acarbose)、伏格列波糖(voglibose)和米格列醇(miglitol)，如圖五所示，但服用後會因人而異的出現脹氣、下瀉、腹痛等副作用(Fujisawa et al., 2005)，為了減少藥物所造成的副作用，已有不少研究找尋植物中能用作抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性成分。有研究指出於酵母菌和大鼠小腸黏膜細胞中，發現類黃酮可抑制其  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性(Tadera et al., 2006)。



圖五、二型糖尿病之治療藥物阿卡波糖(A)、伏格列波糖(B)和米格列醇(C)結構圖。

Figure 5. Drug (A) acarbose; (B) voglibose and (C) miglitol to treat the Type 2 diabetes patients.

類黃酮屬於酚類化合物之一，為植物的次級代謝產物。韃靼蕎麥中含量最多的類黃酮是蘆丁、槲皮素、異槲皮素的黃酮醇類為主。Li 等人 (2009b)以蘆丁、槲皮素、異槲皮素對  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制作用作研究，發現此三種化合物均可跟



$\alpha$ -葡萄糖苷酶結合形成新的複合物，結合位置只有一個，結合常數(binding constants,  $K_A$ )由大至小分別為槲皮素、異槲皮素和蘆丁，故當化合物的極性增加和空間體積增加時，其與酵素之結合機率減少；蘆丁、槲皮素、異槲皮素和治療二型糖尿病的藥物阿卡波糖抑制 50% 酵素活性之  $IC_{50}$  濃度分別是 0.196、0.017、0.185 和 0.091 mmol/L，當中槲皮素的  $IC_{50}$  為阿卡波糖的五倍以上，而蘆丁和異槲皮素也有抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之功效，故韃靼蕎麥種實可望作為治療或預防二型糖尿病的糧食作物。

### 3. 抗腫瘤能力

普通蕎麥種實已由動物實驗證實，其蛋白具有保護大鼠結腸癌的發生，延緩癌細胞增殖的功效(Liu et al., 2001)。對於韃靼蕎麥種實，也有研究指出其水溶性萃取物透過一系列的純化後，分離出名叫 TBWSP31 的單一多肽(polypeptide)，分子量為 57 kDa，利用細胞存活率分析(MTT assay)測試後顯示 TBWSP31 能有效毒殺人類乳腺癌細胞 Bcap37，且其毒殺效果跟反應時間、劑量成正比(Guo et al., 2007)。再進一步分析 TBWSP31 抑制 Bcap37 之機制，以掃描式電子顯微鏡(scanning electron microscopy, SEM)觀察 Bcap37 添加 TBWSP31 培養時之細胞狀態，可發現細胞收縮並產生凋亡小體。從細胞週期分析顯示，TBWSP31 可停滯細胞 G0/G1 到 S 之時期，阻斷細胞增殖生長。最後利用流式細胞儀(flow cytometer)觀察 TBWSP31 誘導細胞凋亡可能跟 Fas 和 bcl-2 有關(Guo et al., 2010)。

### 4. 促進認知及記憶能力

Choi 等人 (2013) 研究以  $A\beta$  25-35 蛋白誘導的阿茲海默 ICR 大鼠，利用韃靼蕎麥種實和普通蕎麥種實的甲醇萃取物餵食，每天以 100 mg/kg body weight 的劑量餵食 7 天後，作 T-maze test、Novel object recognition test 和 the Morris water maze test，研究發現韃靼蕎麥的效果均較普通種蕎麥為佳，證實服用韃靼蕎麥萃取物有顯著增進認知和記憶能力，也有減緩體內臟器的脂質氧化，但其機制尚未得知。

已知韃靼蕎麥中含有豐富的蘆丁成分，Koda 等人 (2008)研究蘆丁對空間記憶的修補功效，利用三甲基錫(trimethyltin) 損害大鼠腦部中的海馬迴，誘導空間記憶障礙和神經退化的發生，CA3 錐體神經元損失的大鼠餵食有或無蘆丁成分之飼料，蘆丁添加量為 0.75% (w/w)，餵食後同樣會進行 the Morris water maze test 及觀察大鼠體內組織之變化。結果顯示餵食額外添加蘆丁的飼料能有效將三甲基錫之誘導作用反向，為蘆丁所提供之抗氧化之功效所致，故蘆丁可保護海馬迴中錐體神經元之損失以達到維持空間記憶功效。無論是萃取物或萃取物中含量豐富之蘆丁，皆可觀察到其對大鼠體內有一定的抗氧化效果，推論修補空間記憶之機制跟延緩氧化有關聯性之存在。

## 5. 抗高血壓能力

血管緊張肽 I 轉化酶抑制劑(ACE inhibitor, ACEI)為目前常用於治療高血壓藥品，ACEI 為抑制非活性血管緊張素 I 向活性血管緊張素 II 的轉換過程而起作用。血管緊張素 II 會令血管造成收縮，增厚血管內壁，使血管之管腔變小從而導致血壓上升。故 ACEI 主要的藥理作用是抑制 ACE 活性，減少血管緊張素 II 的生成，導致血管舒張和血壓下降等功效，ACEI 主要為不同來源具有抑制活性之胜肽。

Li 等人 (2002) 之研究指出，韃靼蕎麥種實被發現有抑制 ACE 活性之功效，其  $IC_{50}$  為 3.0 mg/mL，經胃蛋白酶(pepsin)、胰凝乳酶(chymotrypsin)與胰蛋白酶(trypsin)依序分解後， $IC_{50}$  下降至 0.30 mg/mL，大幅提升抑制 ACE 活性的能力，而韃靼蕎麥中含量最豐富之機能性成分蘆丁則並未發現有抑制效果存在。以分解後之韃靼蕎麥餵食具有自發性高血壓(spontaneously hypertensive)之大鼠，餵食量為 100 mg/kg body weight，結果發現韃靼蕎麥組較控制組能顯著降低大鼠之收縮壓，故經酵素分解後之韃靼蕎麥有潛力作為 ACEI 之天然來源。



## 6. 防止動脈粥狀硬化之能力

血液中的低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)氧化程度跟動脈粥狀硬化有一定相關性(Berliner & Heinecke, 1996；Pryor, 2000)。Jiang 等人(2007)利用韃靼蕎麥種實甲醇萃取物測定其對抑制低密度脂蛋白的抗氧化能力，LDL 分離自白兔麻醉所取得之新鮮血清，將萃取物與 LDL 於 37°C 下反應六小時，系統中加入銅離子作為誘導 LDL 氧化的金屬離子，實驗過程中每三十分鐘測量 LDL 氧化後所產生的雙烯化合物含量，最後與控制組比對萃取物之抑制效果。以不同時間所對應生成的 LDL 吸光強度作圖表示，結果顯示萃取物與 LDL 反應，能使曲線之滯後時間(lag time)增加，曲線下面積(area under the curve, AUC)減少，有顯著抑制 LDL 氧化效果，且抗氧化效果跟萃取物中蘆丁含量呈正相關( $R^2=0.9755$ )。從此體外(in vitro)實驗的研究結果，得知韃靼蕎麥種實萃取物能有效抑制低密度脂蛋白的氧化，對動脈粥狀硬化有一定程度之預防作用。

進一步亦有體內(in vivo)實驗之研究結果，Wang 等人(2009)以韃靼蕎麥麩皮的乙醇萃取物(tartary buckwheat bran extract, TBBE)餵食高血脂(hyperlipemic)鼠，餵食劑量包括低(0.2 g/kg body weight)、中(0.5 g/kg body weight)和高(1 g/kg body weight)三種，觀察大鼠體內血中與肝臟脂肪之變化，以及體內氧化程度的相關指標。結果顯示，相較於正控組的高血脂鼠，餵食 TBBE 顯著減少血清中總三酸甘油酯(total triglycerides, TG)和總膽固醇(total cholesterol, TC)含量，於大鼠肝臟中低劑量餵食組跟正控組相比減少了 36.4% TC 和 73.9% TG；另外，TBBE 亦有提升大鼠體內穀胱甘肽過氧化酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)之活性、提升抗粥狀動脈硬化斑塊形成指數(anti-atheromatous plaque formation index, AAI)、減少動脈粥狀硬化指數(artherogenic index, AI)和減少血清中丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量，得知韃靼蕎麥萃取物能有效地減少血清中總三酸甘油酯含量，抗粥狀動脈硬化和抗血中脂質之氧化效果。無論體外或體內實驗，皆觀察到韃靼蕎麥萃取物有一定



抗動脈粥狀硬化之效果，且其作用機制跟抗氧化效果亦有一定相關性存在。

## 7. 調節膽固醇代謝

Tomotake 等人 (2007) 以鹼萃取韃靼蕎麥種實中之蛋白成分(TBP)，調整 pH 至等電點(isoelectric point, pI) 後收集作為動物實驗之樣品，當中所收集之樣品含蛋白質 45.8%，且胺基酸組成與普通種蕎麥所萃取之蛋白質相近。餵食大鼠含 43.7% 韃靼蕎麥蛋白之飼料使淨蛋白(net protein)利用率为 20%，飼料中亦另外加入 0.5% 膽固醇(Cholesterol)和 0.125% 膽酸鈉(sodium cholate)作膽固醇之來源，餵食 13 天後發現血清中膽固醇跟餵食酪蛋白(casein)取代韃靼蕎麥蛋白的控制組比較減少了 25%。另一組實驗則餵食 1% 膽固醇和 0.5% 膽酸鈉，作為高風險患上膽結石之飼料，攝食 27 天後觀察血清中結石指數(lithogenic index)，顯示餵食韃靼蕎麥蛋白跟控制組相較減少了 43%，而結石指數之減少跟糞便中膽酸之排泄有正相關趨勢。綜觀動物實驗之結果，韃靼蕎麥蛋白有調節動物體內膽固醇之代謝。

Kuwabara 等人 (2007) 研究發芽蕎麥加入飼料中餵食大鼠，觀察大鼠在進食一個月後血清之膽固醇變化，發芽蕎麥有三種來源，一為普通蕎麥(Kitawasesoba common buckwheat sprout, KS)，另外兩種為韃靼蕎麥(Hokkai T no. 8, HS-8；Hokkai T no. 9, HS-9)，前者發芽九天而後者發芽十天，經凍乾磨粉後加入飼料中，餵食量均為 5 g/100g diet，控制組以玉米澱粉取代發芽蕎麥。餵食一個月後之結果，顯示各實驗組大鼠於攝食量、體重、肝臟重量和腸道容量沒有顯著差異；餵食 HS-8 和 HS-9 大鼠之血清總膽固醇濃度顯著低於控制組，而餵食 KS 組則沒有顯著差異；大鼠餵食三種發芽蕎麥對於糞便的膽酸(bile acid)排泄和腸道中短鏈脂肪酸(short-chain fatty acid)含量均有明顯增加，另外三組之排泄量也比控制組高。肝臟之膽固醇 7 $\alpha$ -羥化酶(cholesterol 7 alpha-hydroxylase)為體內合成膽酸之重要速率控制酵素，羥甲基戊二酸單醯輔酶 A 還原酶(HMG-CoA reductase)亦為肝臟合成膽固醇和其他類萜(terpenoid)之速率控制酵素，實驗結果顯示餵食三種蕎麥對膽固醇 7 $\alpha$ -



羥化酶之 mRNA 表現量較控制組均明顯增加，另外餵食 HS-9 則對羥甲基戊二酸單醯輔酶 A 還原酶之 mRNA 表現量顯著增加。從以上結果可知，韃靼蕎麥發芽十天的幼苗粉末添加於飼料中能有效調節體內膽固醇之代謝路徑，增加糞便量和膽酸的排出量。

無論是韃靼蕎麥之蛋白質或幼苗粉末，皆提供調節膽固醇代謝之功效，後者研究中並未提及當中餵食蕎麥芽之纖維含量，故未能釐清 Kuwabara et al. (2007) 研究之效果是否為纖維所貢獻，亦未針對蕎麥芽粉末作成分分析，然而膽固醇合成酵素之表現量的確有明顯被韃靼蕎麥幼苗所調節而影響代謝過程，提供一定調節膽固醇的代謝效果。

## 8. 預防肝臟炎症發生

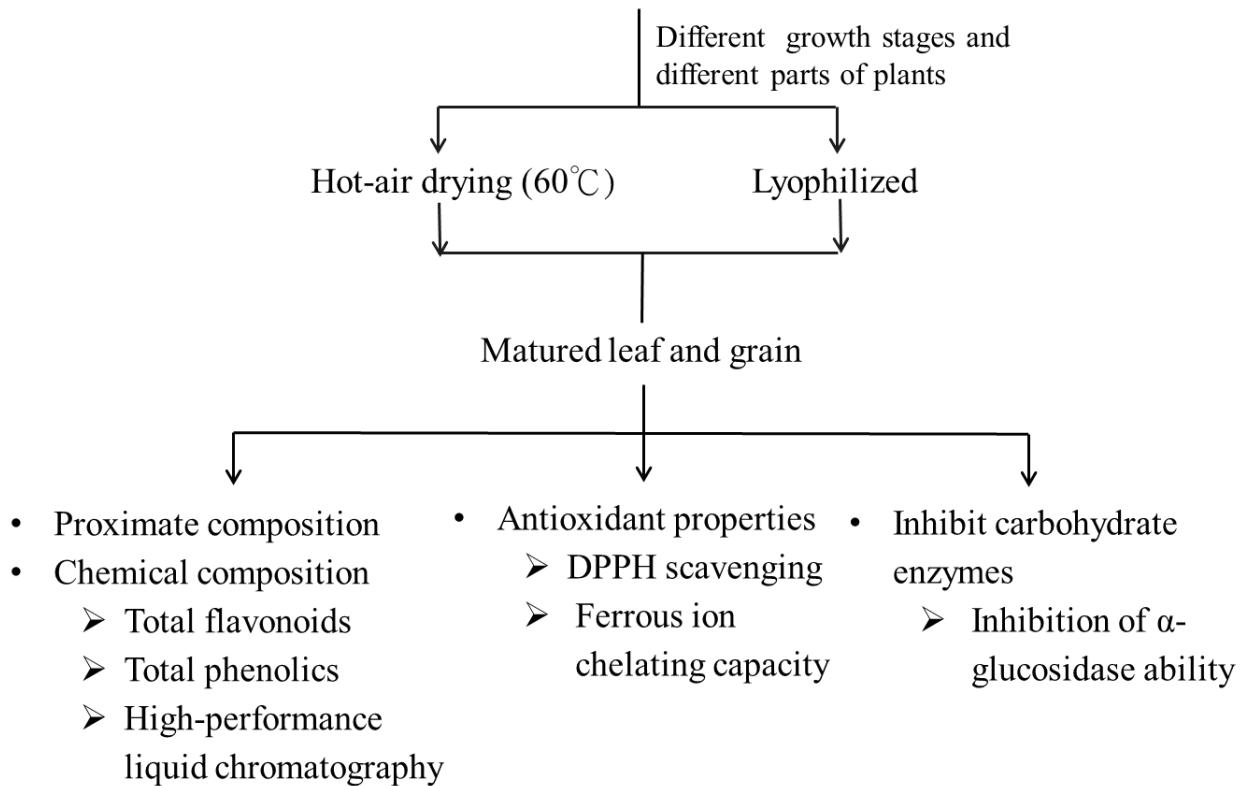
Lee 等人 (2013)以 75% 乙醇萃取韃靼蕎麥種實，將所得之萃取物(EEB) 餵食大鼠，觀察萃取物是否具有護肝功效。分別以乙醇和四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )誘導 C57BL/6 鼠與 Sprague-Dawley(SD) 鼠發生肝損傷，C57BL/6 鼠餵食添加萃取物之飼料四週，而 SD 鼠則餵食八週，兩組動物實驗中 EEB 的餵食量為 50 mg/kg body weight，另外亦餵食萃取物中主要之成分蘆丁和槲皮素作正控組，餵食量分別為 11.5 和 3 mg/kg body weight。結果指出餵食 EEB 的兩組動物實驗中血清之天冬氨酸氨基轉移酶(aspartate transaminase, AST) 谷丙轉氨酶(alanine transaminase, ALT)和鹼性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)均有顯著被抑制，此三種酵素為肝臟損傷之重要指標，值越少表示肝臟功能越佳，另外餵食蘆丁和槲皮素亦觀察到相同趨勢。餵食 EEB 也能顯著提升抗氧化酵素之活性包括過氧化氫酶(catalase, CAT)、穀胱甘肽過氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)、穀胱甘肽還原酶(glutathione reductase, GR) 及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)，從顯微鏡下觀察肝臟之切片圖，直接觀察到攝食 EEB 能有效抑制肝損傷。故透過攝食韃靼蕎麥萃取物能提升抗氧化酵素之活性和抑制肝臟損傷，達到護肝之功效。

### 第三章、材料與方法



#### 一、試驗架構

##### Tartary buckwheat (TB)





## 二、試驗材料

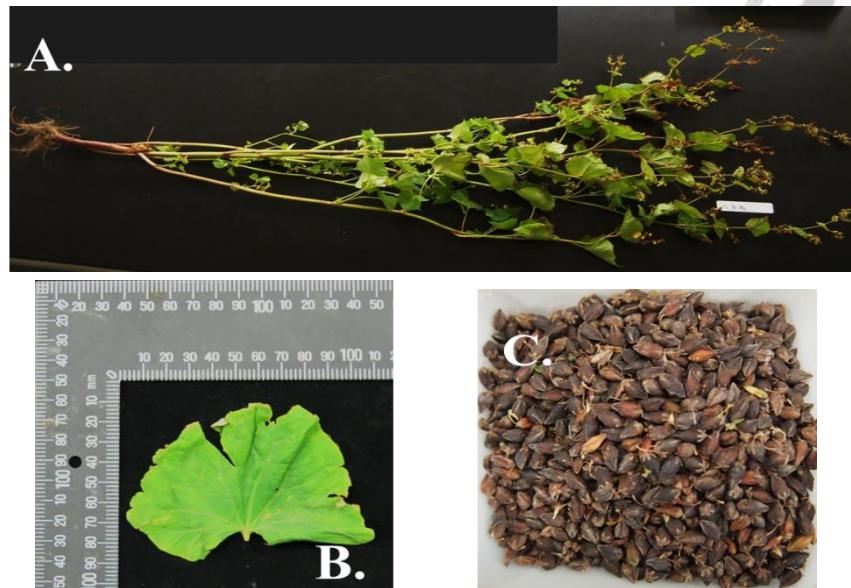
### (一) 韭靼蕎麥原料

本試驗所使用之韗靼蕎麥植株(*Fagopyrum tataricum*)為台中 2 號(TC 2)，種植於臺南市佳里鄉，種植時期為 2013 和 2014 年之初冬，採收於植株不同的生長時期(表二)，不同生長時期植株及不同乾燥方式之機能性成分分析以 2013 年種植的植株作原料，其餘後續分析則以 2014 年成熟期植株為原料。將植株分為葉、莖、花和種實(成熟或未熟)，清洗後分別以 60°C 热風烘乾和凍乾處理，植株以磨粉機(鱸魚牌粉碎機，台北)研磨，續用 40 目篩網過篩；種實則以研鉢研磨，為帶有外殼之粉末。最後將植株和種實之粉末收納於雙層夾鍊袋中，於 4°C 存放備用。

表二、韗靼蕎麥植株之試驗原料

Table 2. Sampling of Tartary buckwheat (TB) plants

Growth stages	Days after sowing	Plant parts
Seedling (幼苗期)	19	Whole
Stem elongation (莖伸長期)	39	Leaf, Stem
Flowering (開花期)	55	Leaf, Flower, Stem
Milky (乳熟期)	75	Leaf, Immature grain, Stem
Matured (成熟期)	84	Leaf, Matured grain, Stem



圖六、成熟期韃靼蕎麥全植株(A)、葉子(B) 和種實(C)。

Figure 6. Pictures of matured Tartary buckwheat plant (A) whole plant; (B) leaf and (C) grains.

## (二) 試藥

$\alpha$ -葡萄糖苷酶(from *Saccharomyces cerevisiae*)試驗之酵素活性為 26.5 U/mL，購自於 Sigma Chemical Co., USA。

Folin-Ciocalteu reagent 購自於 Wako Pure Chemical Industries, LTD.，1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)、4-Nitrophenyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside ( $\rho$ -NPG)、3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine -p,p'-disulfonic acid monosodium salt hydrate (ferrozine)、rutin、quercetin、isoquercetin、kaempferol、kaempferol-3-O-rutinoside、gallic acid 皆購自於 Sigma Chemical Co., USA。其他用於萃取及分析之藥劑皆屬分級。



### 三、試驗方法

#### (一) 一般成分分析

##### 1. 水分含量

參考 AACC Methods 44-15A (moisture air-oven methods)之方法，精稱 1.0 g 樣品粉末置於已乾燥並稱重的鋁製樣品盤中，以 105°C 於烘箱中烘乾 3 小時後，移入乾燥皿中冷卻至恆重，稱重紀錄並計算樣品水分含量，以百分比(%)表示之。

##### 2. 灰分含量

參考 AACC Methods 08-01 (ash content basic methods)之方法，精稱 1.0 g 已烘乾之樣品粉末於預灰化精稱重量之坩堝中，移至 250°C 灰化爐中碳化，直至無氣味產生後，再把溫度升至 525°C 並灰化一天。樣品降溫至 150°C 左右時取出，移至乾燥皿冷卻至恆重，稱重並紀錄，計算樣品的灰分含量，以乾基重量 (g/100 g dry basis) 表示之。

##### 3. 粗脂肪含量

參考 AACC Methods 30-25 (crude fat in wheat, corn, soy flour, feeds and mixed feeds)之方法，精稱 3-5 g 樣品粉末，濾紙包覆後裝入濾紙筒中。於 Soxhlet 抽提器中以乙醚作萃取，用抽提瓶作接收，迴流 16 小時後，抽提瓶於 105°C 烘乾 1 小時，然後置入乾燥皿中冷卻至恆重，稱重且紀錄，計算樣品的粗脂肪含量，以乾基重量 (g/100 g dry basis) 表示之。



#### 4. 粗蛋白含量

參考 AACC Methods 46-12 (Kjeldahl Method)之方法，精稱 0.5 g 樣品粉末與 1 g 催化劑( $\text{CuSO}_4: \text{K}_2\text{SO}_4 = 1:10$ , w/w, 通過 40 網目篩網)，加進 Kjeldahl 蛋白質分解管內，並添加 25 mL 濃硫酸後，於分解爐(Tecator Model 2008 Digestor, Foss Tecator, Hoganas, Sweden)中加熱 360°C 至液體呈澄清透明。冷卻後分解管以蒸餾裝置(Tecator Model 1002 Distillator, Foss Tecator, Hogannas, Sweden)進行蒸餾，以 0.1 N 硫酸作接收蒸餾出之氮氣，接收液使用已標定之氫氧化鈉(以 KHP 標定)作滴定到終點濃度。計算樣品的含氮量，再轉換粗蛋白含量，其係數為 6.31，試驗結果以乾基重量(g/100 g dry basis)表示之。

#### 5. 色澤測定

植株粉末樣品以色差儀(ZE-2000 Colour Meter, Japan)測量粉末顏色，測量前先以標準板進行校正。實驗數值會以 L、a、b 表示，L 值表示樣品的明暗度；a 值表示紅、綠色，正值表示為紅色而負值為綠色；b 值表示黃、藍色，正值表示為黃色而負值為藍色。

### (二) 化學成分分析

#### 1. 機能性成分萃取

參考並修改自 Adom 和 Liu (2002) 及 Sosulski 等人(1982)之方法。精稱 12 g 樣品粉末，加入 480 mL 80% 乙醇，45°C 下攪拌萃取 90 分鐘，離心 10 分鐘(10200 xg)，沉澱物再次加入 240 mL 80% 乙醇，以此重覆萃取 3 次後，合併所有上清液，藉由濾紙(Whatman No.2)過濾，濾液於 45°C 進行減壓濃縮，最後經凍乾取得糙穎麥粗萃取物，4°C 冷藏備用，使用時以 100% 甲醇回溶至所需濃度。



## 2. 總酚含量測定

參考並修改自 Taga 等人(1984)之方法。取適當稀釋之粗萃取液  $100 \mu\text{L}$ ，加入  $2 \text{ mL } 2\% \text{ Na}_2\text{CO}_3$ ，混合均勻靜置 2 分鐘，加入  $100 \mu\text{L } 50\% \text{ Folin-Ciocalteu phenol reagent}$ ，避光 30 分鐘，以  $750 \text{ nm}$  吸光值下量測，沒食子酸 (gallic acid)作為標準品計算樣品中總酚含量。

## 3. 總類黃酮含量測定

參考並修改自 Lee 等人(2003)之方法。取適當稀釋之粗萃取液  $1 \text{ mL}$ ，加入  $1 \text{ mL } 80\% \text{ 乙醇}$ 、 $0.3 \text{ mL } 5\% \text{ NaNO}_2$ ，混合均勻後靜置 6 分鐘，再加入  $0.3 \text{ mL } 10\% \text{ Al}(\text{NO}_3)_3$ ，混合均勻後靜置 6 分鐘，最後加入  $2 \text{ mL } 4\% \text{ NaOH}$ ，混合均勻靜置 10 分鐘後以  $510 \text{ nm}$  測其吸光值，盧丁(rutin) 作為標準品計算總類黃酮含量。

## 4. 機能性成分分析

參考並修改自 Wang 等人(2013)之方法。取適當濃度樣品液經  $0.45 \mu\text{m}$  濾膜過濾，藉由高效能液相層析分析儀進行分離偵測並分析。HPLC 系統以 Hitachi L-6200 幫浦，搭配 Hitachi L-7455 光電二極體陣列(Photo Diode Array, PDA)於  $375 \text{ nm}$  下作檢測，管柱為 YMC-Pack ODS-AQ C18 ( $5 \mu\text{m}, 250 \times 4.6 \text{ mm}$ )。樣品注入量為  $20 \mu\text{L}$ ，流洗液有  $0.05\% \text{ trifluoroacetic acid (TFA)}$  和  $\text{acetonitrile (ACN)}$ ，流洗梯度如表三所示，全程流速為  $1 \text{ mL/min}$ 。以 rutin、quercetin、isoquercetin、kaempferol、kaempferol-3-O- rutinoside 作標準品。



表三、HPLC-PDA 流洗梯度之條件

Table 3. The gradient condition of elution with HPLC-PDA

Time (min)	Elution (%)	
	0.05% TFA	ACN
0	82	18
8	82	18
18	72	28
28	72	28
35	50	50
39	50	50
45	10	90
50	82	18

### (三) 抗氧化能力分析

#### 1. 清除 DPPH 自由基能力測定

參考並修改自 Shimada 等人(1992)之方法。配製不同濃度之粗萃取液 1 mL，皆加入現配 5 mL 0.1 mM DPPH 乙醇溶液，混合均勻後，避光靜置 30 分鐘，於 517 nm 測其吸光值，以蘆丁和槲皮素作對照組。計算樣品清除 DPPH 自由基之能力及其 IC<sub>50</sub> 值。其公式如下：

$$\text{Scavenging capacity (\%)} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}] \times 100$$

#### 2. 亞鐵離子螯合能力測定

參考並修改自 Decker 和 Welch (1990)之方法。取 1000 µg/mL 粗萃取液 1 mL，依序加入 0.1 mL 2 mM 氯化亞鐵(FeCl<sub>2</sub>)、0.2 mL 5 mM ferrozine 溶液和 3.7 mL 甲醇 (methanol)，混合均勻後靜置 10 分鐘，於 562 nm 測其吸光值，以蘆丁和槲皮素



作對照組。計算樣品對亞鐵離子螯合之能力。其公式如下：

$$\text{Chelating capacity (\%)} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{blank}}] \times 100$$

#### (四) 抑制醣解酵素活性之分析

##### 1. 抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性之測定

參考並修改自 Matsui 等人(1996)之方法。取 0.3 mL  $\alpha$ -葡萄糖苷酶(0.1 U/mL, from *Saccharomyces cerevisiae*)磷酸鉀緩衝溶液(pH 6.8)，先於 37°C 活化 10 分鐘後，依序加入 0.5 mL 粗萃取液 (以磷酸鉀緩衝溶液序列稀釋之)、1.5 mL 磷酸鉀緩衝溶液和 50  $\mu$ L  $\rho$ -NPG 受質，37°C 下反應 20 分鐘，最後添加 0.3 mL 碳酸鈉( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (0.5 M)終止反應，使用分光光度計於 405 nm 測其吸光值得  $A_1$ ，未加入酵素液之吸光值為  $A_2$ ，而未加入萃取液但有無酵素存在之吸光值分別為  $A_3$  和  $A_4$ 。由公式計算  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率及  $\text{IC}_{50}$  值。公式如下：

$$\text{Inhibition of } \alpha\text{-glucosidase (\%)} = [1 - (A_1 - A_2) / (A_3 - A_4)] \times 100$$

#### (五) 統計分析

本試驗均進行三重複試驗，試驗之結果使用統計軟體 R (version 3.1.0)進行分析，以 ANOVA 及 LSD 檢定比較組間是否具有顯著差異( $p < 0.05$ )。



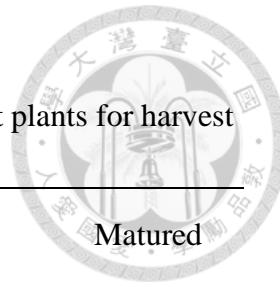
## 第四章、結果與討論

### 一、不同生長時期韃靼蕎麥植株之變化

#### 1. 不同生長時期各部位之水分含量

本試驗所使用之韃靼蕎麥植株於臺南縣佳里鄉種植，品種為台中 2 號，由蘇榮燦先生熱心提供，收集到的植株樣本共有五個生長時期，分別為幼苗期、莖伸長期、開花期、乳熟期及成熟期，幼苗期的分析部位為全植株，莖伸長期分為葉和莖，開花期分為葉、莖和花，乳熟期分為葉、莖和未熟種實，成熟期分為葉、莖和成熟種實各部位分析，經挑選和清洗，分別以 60°C 热風乾燥隔夜和凍乾處理，磨粉及過篩後以雙層夾鍊袋密封，存於 4°C 冰箱。

韃靼蕎麥植株收獲後測量各部位之水分含量(表四)，於開花期(55 天播種日)後，種實之水分隨著種植天數的增加而減少，葉、莖之水分含量同時亦隨著種實之成熟而有下降的趨勢。種實於乳熟期間含水量高，內容物為白色乳汁狀，表面呈淺綠色；於成熟期之種實，穀粒乾燥脫水，內容物呈粉質，外殼堅硬呈黑褐色，且三面外殼均帶有溝，使得其脫殼困難。葉片在幼苗期(19 天播種日)水分含量最高達 88.11%，與 Kim 等(2008)分析韃靼蕎麥芽水分含量為 87% 之結果相似；莖在莖伸長期(39 天播種日)水分含量達最高的 93.22%。



表四、新鮮植株不同生長時期各部位之水分含量百分比

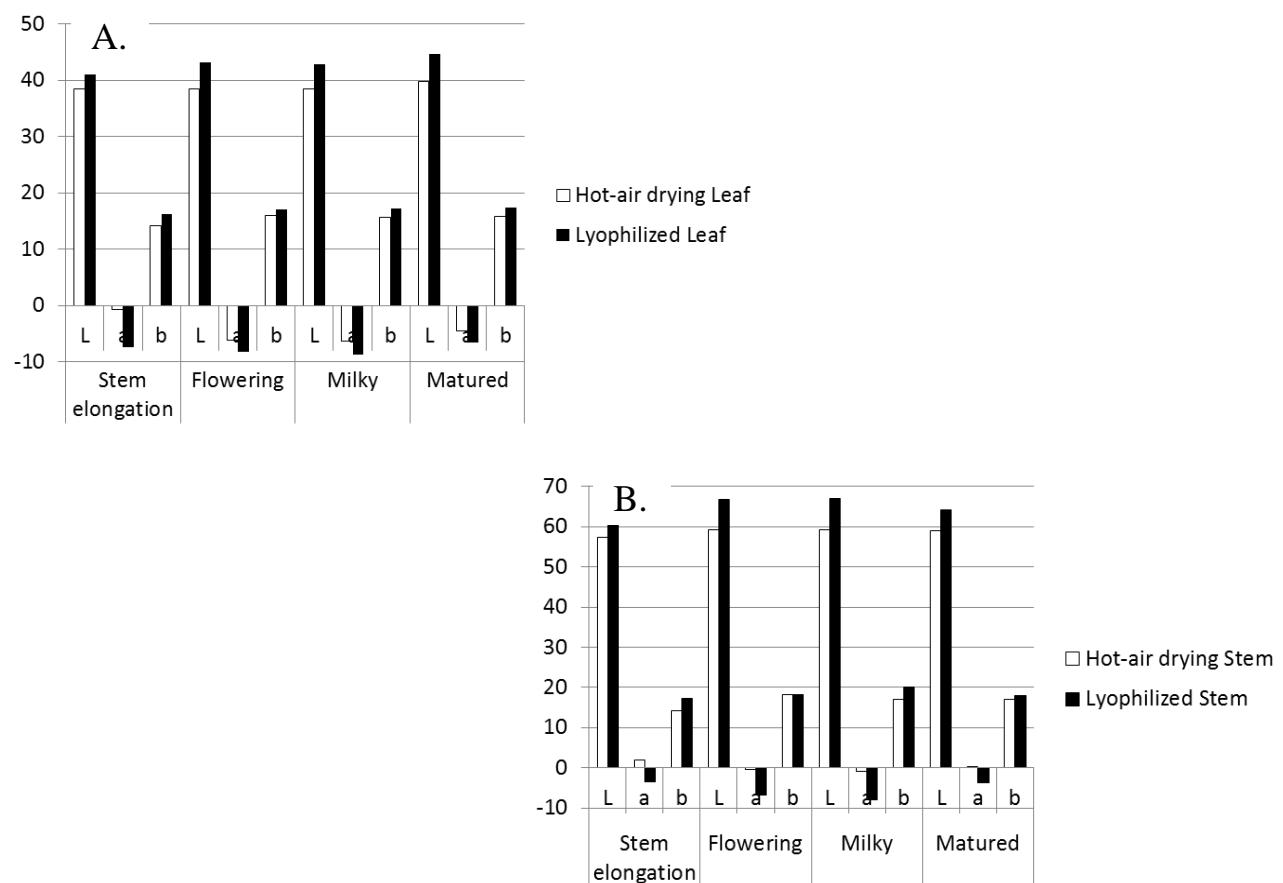
Table 4. Moisture content (%) of different parts of Tartary buckwheat plants for harvest

	Seedling	Stem elongation	Flowering	Milky	Matured
Leaf	88.11±1.28	82.85±1.21	85.17±0.48	81.35±2.52	77.94±2.99
Stem	91.63±1.93	93.22±0.81	92.37±1.03	83.04±3.46	79.19±6.38
Grain	-	-	80.11±0.19	61.04±4.23	31.53±3.00



## 2. 乾燥方式對植株粉末色澤之影響

在製作產品如茶飲時，產品之外觀顏色為消費者購買意欲的一大考量因素，故以色差儀比較韃靼蕎麥經熱風乾燥和凍乾處理後，造成植株粉末色澤的影響。本試驗分別測量莖伸長期、開花期、乳熟期和成熟期之葉和莖(圖七)，可得知四種生長時期的葉和莖經凍乾磨粉後，粉末顏色之L值較烘乾為高，a值較烘乾為低，此結果顯示凍乾粉末帶有明亮綠色之呈現，故凍乾於產品外觀上能有較佳之表現。



圖七、韃靼蕎麥葉(A)、莖(B)於熱風乾燥和凍乾之色澤變化。

Figure 7. The color changing of Tartary buckwheat (A) leaf and (B) stem by hot-air drying and lyophilized.



### 3. 植株不同生長時期熱風乾燥和凍乾各部位之機能性成分

植物體內含有多酚化合物，為植物的二次代謝物，對韃靼蕎麥植株而言，含量最多為酚類化合物中的類黃酮，其已被廣泛證實具有清除自由基、螯合金屬離子之抗氧化能力以防止細胞受氧化傷害等功效(Wang and Lin, 2000; Burns et al., 2000; Palikova et al., 2009)。本試驗中以韃靼蕎麥植株各部位分別經 60°C 熱風乾燥和凍乾作樣品之乾燥處理，磨粉後以 80% 乙醇萃取，測量它們的總類黃酮和總酚含量，瞭解植株於生長過程中機能性成分之含量(圖八)。

幼苗期(19 天播種日)以全植株作分析(圖八 A&B)，熱風乾燥和凍乾對幼苗期植株之機能性成分含量沒顯著性差異( $p>0.05$ )，其中總類黃酮含量分別為 58.85 和 48.79 mg rutin eq./g powder, d.b.，總酚含量分別為 59.08 和 56.89 mg gallic acid eq./g powder, d.b.。以二種乾燥方式之韃靼蕎麥葉作比較(圖八 C&D)，除莖伸長期(39 天播種日)外，開花期(55 天播種日)、乳熟期(75 天播種日)、成熟期(84 天播種日)之總類黃酮和總酚含量相近。韃靼蕎麥莖作比較(圖八 E&F)，除成熟期外，熱風乾燥之莖有較高含量之總酚和總類黃酮。最後以不同乾燥方式之韃靼蕎麥種實(花、未熟和成熟種實)作比較(圖八 G&H)，各時期均以熱風乾燥有較高之機能性成分。進一步利用 HPLC 分析韃靼蕎麥葉和種實於不同乾燥方式處理後其機能性成分之比較(表五)，機能性成分之總含量於熱風乾燥和凍乾葉子中分別為 58.84 和 47.02 mg/g powder, d.b.。結果顯示，葉子以熱風乾燥較凍乾者效果為佳；而種實於熱風乾燥和凍乾機能性成分總含量分別為 15.07 和 18.08 mg/g powder, d.b.，此結果跟分光所測得總酚及總類黃酮之結果相異，推測由於韃靼蕎麥種實中除 HPLC 測定到之黃酮醇的類黃酮外，還有黃酮、花青素、酚酸等其他成分(Suzuki et al., 2009; Zielińska et al., 2012; Guo et al., 2012)之故。綜觀以上結果，熱風乾燥較凍乾能獲得較多之機能性成分，林(2011)同樣以 60°C 熱風乾燥和凍乾對紅心番石榴各部位作乾燥處理，發現以熱風乾燥之總酚含量表現較高，原因可能在熱風乾燥過程中溫度對植物組織造成破壞，使得與組織結合之結合態酚類化合物因此而釋放游離，進一步在萃



取過程中被萃取而測量出，故於本試驗中熱風乾燥對機能性成分之表現較凍乾為佳，而於後續試驗中皆以熱風乾燥之樣品作分析。

表五、韃靼蕎麥葉與種實於熱風乾燥和凍乾處理後之主要機能性成分含量

Table 5. The major bioactive compounds analyzed by HPLC of Tartary buckwheat leaf and grain dried by hot-air (60°C) and lyophilized

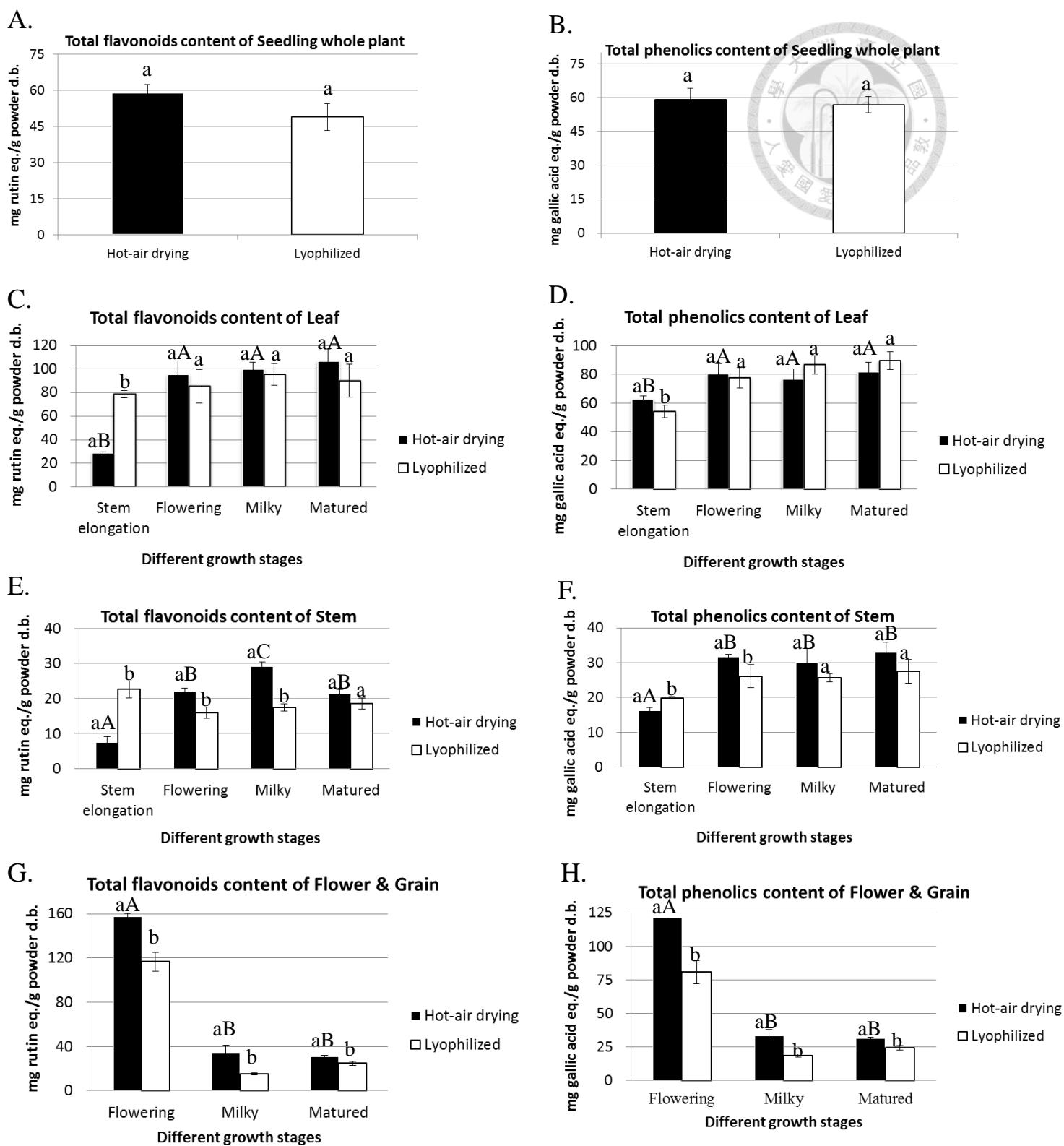
Materials	Drying method	Rutin	Isoquercetin	Quercetin	Kaempferol-3-O-rutinoside
		mg/g powder, d.b.			
Leaf	Hot-air drying	57.0±4.66	0.16±0.00	0.58±0.03	1.10±0.00
	Lyophilized	45.09±4.16	0.12±0.00	1.05±0.04	0.76±0.03
Grain	Hot-air drying	14.24±0.37	0.03±0.00	0.12±0.00	0.68±0.01
	Lyophilized	17.0±0.00	0.03±0.00	0.17±0.00	0.88±0.01

比較韃靼蕎麥植株各部位熱風乾燥之總類黃酮和總酚含量，葉於各時期之平均總類黃酮和總酚含量分別為 82.58 mg rutin eq./g powder, d.b. 和 75.19 mg gallic acid eq./g powder, d.b.；莖於各時期之平均總類黃酮和總酚含量分別為 19.98 mg rutin eq./g powder, d.b. 和 27.80 mg gallic acid eq./g powder, d.b.；花分別為 157.27 mg rutin eq./g powder, d.b. 和 121.60 mg gallic acid eq./g powder, d.b.；未熟種實分別為 34.19 mg rutin eq./g powder, d.b. 和 32.96 mg gallic acid eq./g powder, d.b.；成熟種實分別為 30.72 mg rutin eq./g powder, d.b. 和 31.31 mg gallic acid eq./g powder, d.b.，故以韃靼蕎麥植株各部位作比較，其機能性成分之含量由大至少分別為花、葉、未熟種實、成熟種實和莖。前人以 80% 甲醇超音波萃取不同播種日各部位之機能性成分，其結果與本試驗之結果相同，且各部位之抗氧化能力與機能性成分成正相關(Zieliński et al.,2012)。雖然花之總類黃酮和總酚含量最高，但其於新鮮植株中只占重量百分比的 0.3% 且收集困難，所以於往後試驗中選擇機能性成分次高之葉子



作分析。韃靼蕎麥葉於各生長時期除莖伸長期之機能性成分含量較低外，其餘各時期沒顯著性差異( $p>0.05$ )，故往後試驗中將分析熱風乾燥之成熟期韃靼蕎麥葉，因成熟期植株於種實收割後會淪為田間的廢棄物，若將成熟期之葉子回收加以利用，能達到廢棄物回收再利用，增加韃靼蕎麥的附加價值。

從本試驗所得之結果，可知熱風乾燥較凍乾為佳，植株各部位能表現出較多的總酚和總類黃酮，故後續試驗之分析，以熱風乾燥之樣品作研究對象，植株生長時期則為成熟期植株，方便農民之種植與收獲；研究之植株部位為葉子和種實，因葉子含有豐富的機能性成分，而種實則為日常作糧食食用之類穀物。



圖八、不同生長時期總酚和總類黃酮之含量變化。

Figure 8. Total flavonoids and total phenolics of different growth stages and plant parts of Tartary buckwheat.

a,b mean the difference between hot-air drying and lyophilized. ( $p<0.05$ )

A,B mean the difference between growth periods among hot-air drying. ( $p<0.05$ )

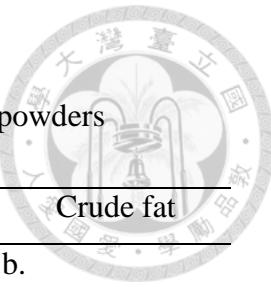


## 二、韃靼蕎麥之一般成分分析

表五所示為成熟期(84 天播種日)以熱風乾燥的葉片與種實之一般成分分析。新鮮韃靼蕎麥葉和種實之水分含量分別為 77.94 和 31.53% (以濕基表示)，葉片和種實經烘乾、磨粉和過篩後其粉末之水分含量分別為 7.33 和 7.68%。

成熟期韃靼蕎麥葉之灰分含量為 19.58% (以乾基表示)，相較於涂(2011)分析韃靼蕎麥台中 2 號之 90 天播種日葉子含 16.15% 灰分有較高之結果，可能跟種植氣候、地點的土壤成分不同而造成灰分含量之差異；Bonafaccia 等人(2003b)分析開花期葉子的礦物質種類與含量時，發現葉子含量最高之礦物質為鐵，達 1607 mg/kg d.b.，其次為鉻 (Rb)。葉子粗蛋白含量為 18.02% (以乾基表示)，接近於涂(2011)分析之台中 2 號 90 天播種日葉片含 17.58% 蛋白質，且前人更進一步分析葉片中的胺基酸組成，發現葉片中富含 17 種胺基酸，其中主要存在之胺基酸成分為谷胺酸(glutamate)、白胺酸(leucine)和天門冬胺酸(aspartate)，且含有禾本科植物所缺乏的離胺酸。

成熟期韃靼蕎麥種實之灰分含量為 2.15% (以乾基表示)，與前人研究台中 2 號種實之灰分含量相近(曾和陳，2007)。粗蛋白含有 11.4% (以乾基表示)，Bonafaccia 等人(2003a)研究韃靼蕎麥種實的化學組成成分，顯示其含有 17 種胺基酸，而主要存在的胺基酸為谷胺酸、天門冬胺酸和精胺酸(arginine)，而於韃靼蕎麥葉中谷胺酸、天門冬胺酸亦為其主要存在之胺基酸成分，所以無論韃靼蕎麥葉或種實，均可作為均衡攝取各種胺基酸之來源。粗脂肪含量為 2.78%，當中主要存在的為不飽和脂肪酸，占總脂肪酸的 74.5% (Bonafaccia et al., 2003a)。



表六、韃靼蕎麥葉與種實之一般成分分析

Table 6. Proximate compositions of Tartary buckwheat leaf and grain powders

Materials	Moisture	Ash	Crude protein	Crude fat
	(%)	g/100 g powders, d.b.		
Leaf	7.33±0.00	19.58±0.63	18.02±1.16	5.96±0.56
Grain	7.68±0.01	2.15±0.01	11.40±1.80	2.78±0.19

### 三、韃靼蕎麥粗萃取液之化學成分分析

#### 1. 韃靼蕎麥葉和種實之萃取率

韃靼蕎麥中含量豐富且主要存在之類黃酮成分為蘆丁，已有多篇研究指出韃靼蕎麥含有蘆丁降解酶(Yasuda & Nakagawa, 1994; Suzuki et al., 2002; Cui & Wang, 2012)，蘆丁降解酶為兩種同工酶 RDE I 和 RDE II 所共同作用，使蘆丁降解成槲皮素，前人研究指出當乙醇濃度高於 60% 時，能有效抑制酵素活性(Yasuda & Shinoyama, 1996)，所以於預試驗中以 70、80、90% 乙醇所萃取出之總類黃酮含量作比較，分別為 80.34、85.92 和 77.15 mg rutin eq./g powder, d.b.，從結果中選用總類黃酮含量最高之 80% 乙醇作為本試驗之萃取溶劑。萃取溶劑確定後，進一步探討樣品的萃取比例、萃取溫度、萃取時間及萃取次數，得到萃取之最佳條件為 80% 乙醇於 45°C 下以 1:40 之比例萃取一次，後以 1:20 之比例重覆萃取三次，離心過濾後得到萃取液。

成熟期韃靼蕎麥葉與種實之萃取率分別為 23.97 和 5.49%，葉子之萃取率為種實的 4 倍。另外，成熟期熱風乾燥葉子與種實之總類黃酮含量分別為 106.58 和 30.72 mg rutin eq./g powder, d.b.，相差約 3.5 倍，在相同乾重下葉子所含有的類黃酮較種實高，故使韃靼蕎麥葉之萃取率為種實的 4 倍。

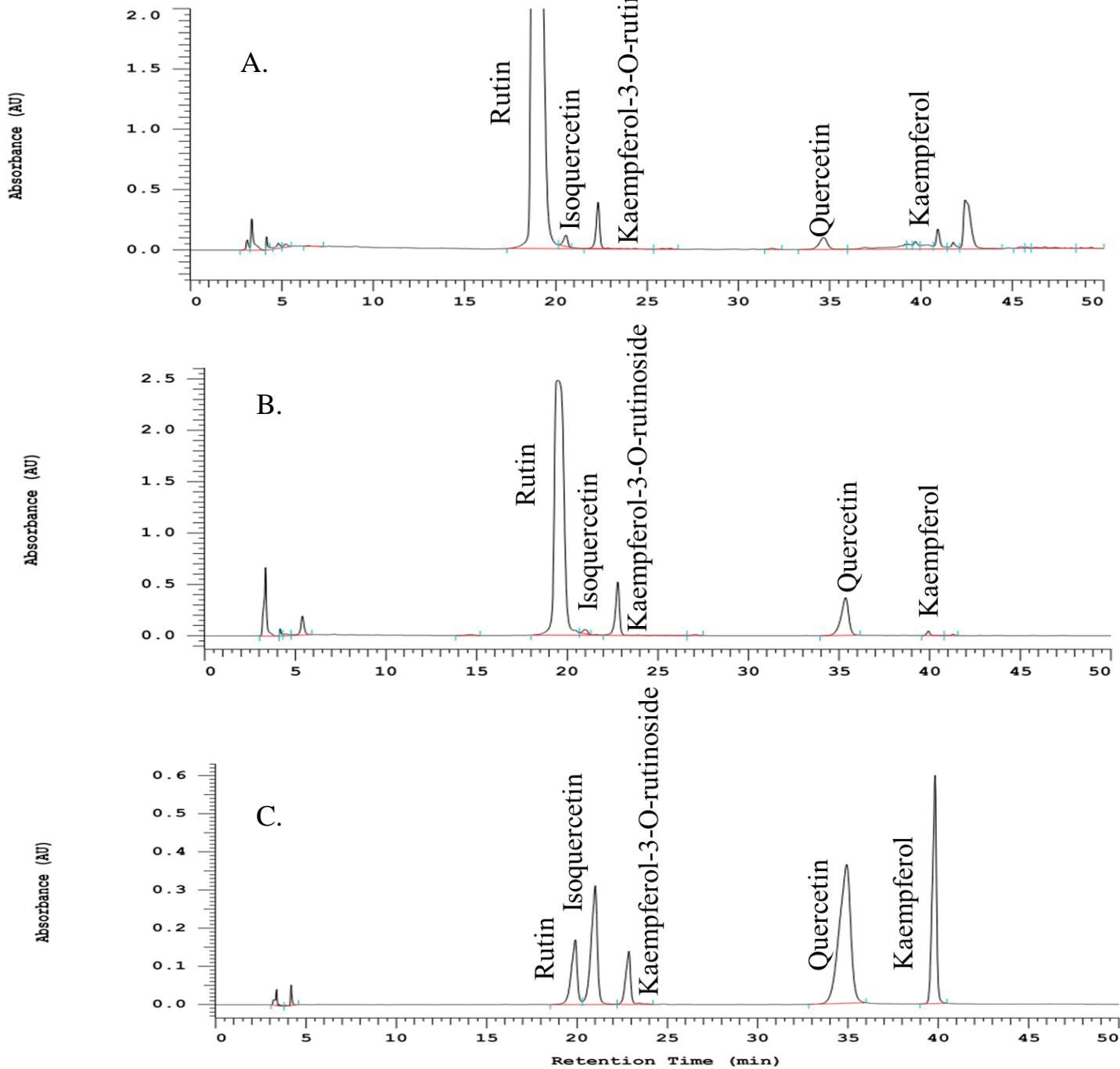
#### 2. 韃靼蕎麥葉和種實乙醇粗萃取液之主要機能性成分

韃靼蕎麥全植株蘊含豐富的類黃酮成分，其中主要以黃酮醇類為主，如蘆丁、



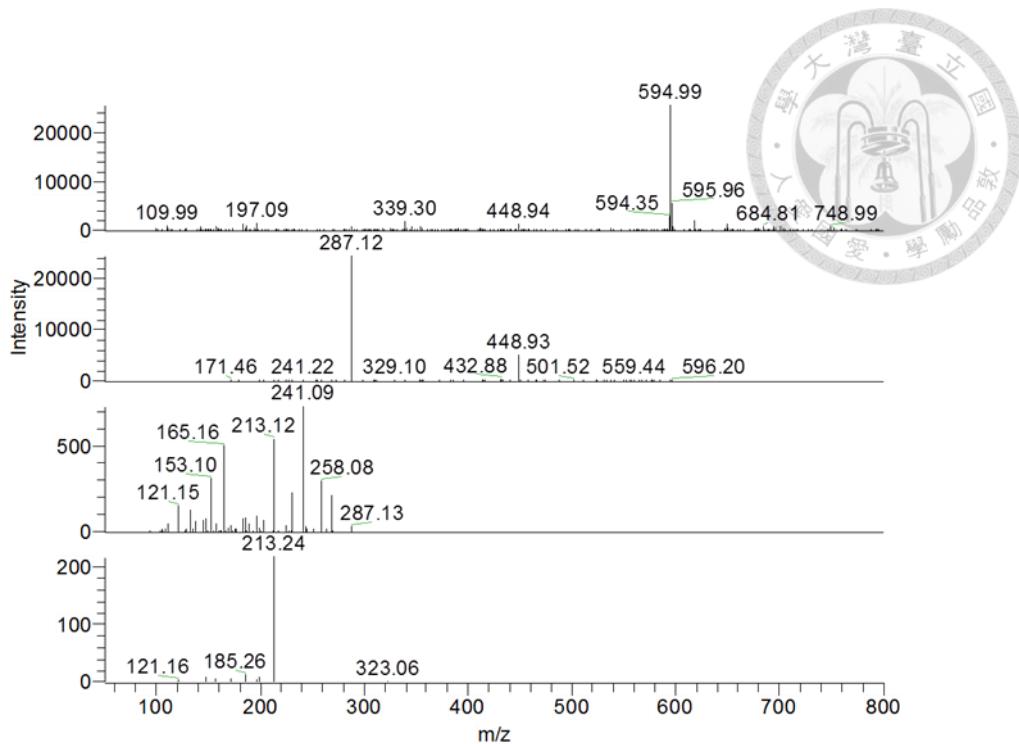
槲皮素和山柰酚(kaempferol)等成分，使韃靼蕎麥具有各種保健之功效。本試驗以 80% 乙醇萃取四次後所得之濾液經過濾及減壓濃縮，以 100% 甲醇回溶至適當濃度，利用  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  濾膜過濾萃取液，取其中  $20\text{ }\mu\text{L}$  至高效能液相層析儀搭配光電二極體陣列偵測器於  $375\text{ nm}$  下分析萃取液之機能性成分。從高效能液相層析圖(圖九)之結果，可得知無論韃靼蕎麥葉或種實，當中的類黃酮組成成分大致相同，而於此分析系統中顯示韃靼蕎麥的乙醇粗萃取液含有蘆丁、異槲皮素、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素和山柰酚之主要成分，其中山柰酚-3-O-芸香糖苷為透過質譜儀所鑑定，其分子之斷裂模式如圖十所示。

山柰酚-3-O-芸香糖苷於正電模式下  $\text{m/z}$  為  $595^+$ ，負電模式為  $593^-$ ，可知其分子量為 594，化合物具有  $\text{m/z } 287^+$  片段，斷裂模式與山柰酚標準品( $\text{m/z } 287^+$ )相同，故化合物應帶有山柰酚結構，而化合物有質量  $\Delta 146$ ,  $\Delta 308$  斷片，與蘆丁的斷裂模式類似，故化合物可能具有芸香糖結構，或鼠李糖(rhamnose)與其他六碳醣組合的結構，經比對文獻推測並以標準品比對後，以判定出化合物為山柰酚-3-O-芸香糖苷。



圖九、韃靼蕎麥葉(A)、種實(B)乙醇粗萃取液及標準品(C)之高效能液相層析圖。

Figure 9. HPLC chromatograms of Tartary buckwheat crude extraction from (A) leaf; (B) grain and (C) standard compounds.



圖十、質譜儀於正電模式下分析山柰酚-3-O-芸香糖苷分子之斷裂片段。

Figure 10. Fragment pattern of kaempferol-3-O-rutinoside by mass spectrometer at positive mode.

鑑定出之成分經標準品比對後，計算出它們於韃靼蕎麥葉與種實中乾重之含量(表六)，機能性成分含量最多的為蘆丁，再依序為山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、異槲皮素和山柰酚，於葉子中含量分別為 70.62 mg/g powder, d.b.、1.55 mg/g powder, d.b.、0.25 mg/g powder, d.b.、0.18 mg/g powder, d.b.和微量存在，於種實中含量分別為 16.19、0.70、0.18、0.02、0.019 mg/g powder, d.b.。若表示單位以 1 克萃取物作表示時，蘆丁、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、異槲皮素於葉子中含量分別為 271.60、5.96、0.96 和 0.69 mg/g extract，被檢測出之機能性成分共 279.21 mg/g extract；而蘆丁、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、異槲皮素和山柰酚於種實中含量分別為 294.37、12.73、3.27、0.36 和 0.35 mg/g extract，被檢測出之機能性成分共 311.08 mg/g extract，故萃取液在相同濃度下，種實萃取液比葉子有較高含量之機能性成分存在。雖然在相同濃度下種實萃取液含有較高之機能性成分，但種實之萃取率為葉子的四分之一，所以當原料在相同乾重下，葉子含有較高的機能性成分，值得被加以



開發利用。

表七、韃靼蕎麥葉和種實乙醇粗萃取液之主要機能性成分

Table 7. The main components of Tartary buckwheat crude extraction from leaf and grain analyzed by HPLC

Materials	Rutin	Isoquercetin	Quercetin	Kaempferol	Kaempferol-3-O-rutinoside
mg/g powder, d.b.					
Leaf	70.6±2.51	0.18±0.01	0.25±0.02	trace	1.55±0.03
Grain	16.2±1.70	0.02±0.00	0.18±0.01	0.019±0.003	0.70±0.08

韃靼蕎麥葉之乙醇萃取物富含蘆丁，高達 70.62 mg/g, powder d.b.。根據前人之研究收集七個國家所種植不同品種的韃靼蕎麥，以甲醇於 80°C 萃取一次後利用高效能液相層析儀，分析葉子中蘆丁之含量，結果顯示蘆丁含量介於 23.31-53.20 mg/g，平均含量為 38.75 mg/g (Park et al., 2004)，約本試驗結果的一半，推測本試驗除萃取方法不同所造成含量較高外，韃靼蕎麥品種的不同亦為原因之一。從此結果顯示，韃靼蕎麥葉含有豐富之蘆丁成分，使其極具潛力開發成產品提供保健之功效。

韃靼蕎麥種實同樣富含蘆丁，占 1.6% 的乾重含量，而槲皮素則占乾重的 0.018%。Fabjan 等人(2003)研究中國和盧森堡之韃靼蕎麥品種，分別種植於二個不同緯度的地方，以甲醇溶劑作超音波萃取，利用高效能液相層析儀分析其機能性成分之含量，發現蘆丁占樣品乾重的 0.81-1.66%，與本試驗之結果相似，槲皮素只在某一中國的品種中被發現，含量為 0.03% 之乾重，比本試驗之結果為高，故國產台中二號韃靼蕎麥種實其蘆丁之含量與它國品種相接近。另外，李(2010)以台中二號之韃靼蕎麥作研究對象，以 75% 乙醇進行超音波萃取後，使用高效能液相層析儀分析蘆丁和槲皮素之含量分別為 14.18 和 3.63 mg/g powder, d.b.，其中蘆丁之含量與本試



驗結果相近，然而槲皮素為本試驗結果之 20 倍，推測為萃取方法不同所造成之差異，利用 75% 乙醇之超音波萃取其萃取率為 6.2%，高於本試驗之 5.5% 萃取率，可能造成槲皮素含量較前人為少的原因。

#### 四、韃靼蕎麥粗萃取液之抗氧化能力分析

韃靼蕎麥含有豐富之蘆丁、槲皮素、異槲皮素等類黃酮成分，已知類黃酮能提供顯著的抗氧化功效(Rice-Evans et al., 1996；Erlejman et al., 2004)，而當中含量最高之蘆丁亦被各種體外抗氧化試驗證實其亦具有良好之抗氧化能力(Yang et al., 2008)。於本試驗中，利用 DPPH 自由基清除能力和亞鐵離子螯合能力以分析韃靼蕎麥之抗氧化功效。

##### 1. 清除 DPPH 自由基能力

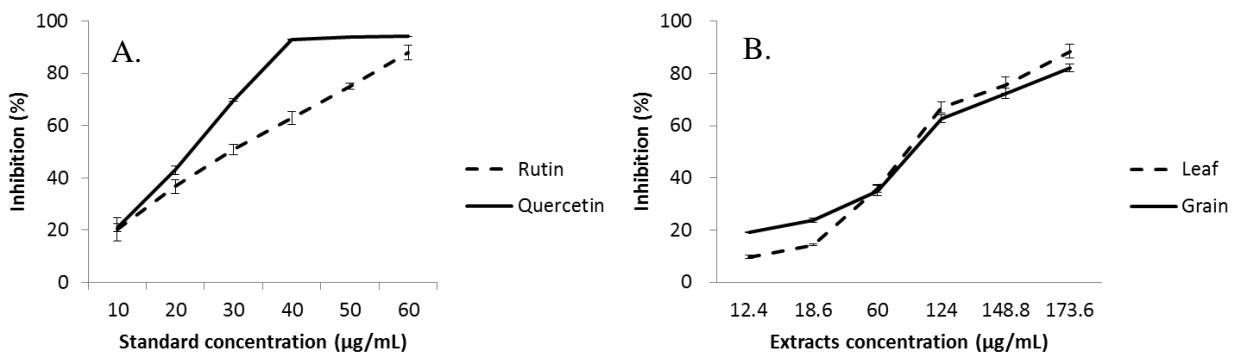
DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 為一種結構穩定的自由基，因其結構帶有三個苯環的共振作用和空間障礙，使得位於中間未配位的氮原子能提供穩定的自由基，DPPH 自由基溶液於 517 nm 具有最大吸收峰。利用 DPPH 自由基測量抗氧化力之原理為當 DPPH 自由基被所加入之樣品還原得到氫離子使自由基形成穩定之電子對時，可於結構上形成穩定的共振，溶液顏色亦隨著電子對之穩定而轉變成無色或黃色(Brand-Williams et al., 1995)，故可藉由測量吸光值之變化而判斷樣品提供氫離子之抗氧化能力(Shimada et al., 1992)。

本試驗以不同濃度萃取液和對照組之標準品(蘆丁、槲皮素)作清除 DPPH 自由基能力分析，經計算可得到不同濃度所對應之清除率(圖十一)，進一步求得清除率為 50% 時所對應樣品之濃度，表示為  $IC_{50}$ (表七)，其值越少時即所需之樣品濃度越低就能達到 50% 的清除率，故  $IC_{50}$  的值越低效果越顯著。標準品槲皮素(圖十一 A)於 40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  濃度時已達到超過 90% 清除 DPPH 自由基之效果，蘆丁於相同濃度下只有 60% 的清除率；從蘆丁和槲皮素  $IC_{50}$  之結果分別為 25.87 和 20.10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，也可看出槲皮素對抑制 DPPH 自由基有較佳之作用，與 Iacopini 等人(2008)觀察到



的結果相同，去醣基之槲皮素對 DPPH 自由基有較佳的清除效果，大部分類黃酮分子以去醣基形式存在其抗氧化力較帶醣基者的類黃酮為高(Heim et al., 2002)。判斷類黃酮的抗氧化能力高低，主要以其結構作分析，如 B 環上的雙羥基基團(dihydroxy group)、C 環 2-3 號碳雙鍵之存在、C 環 4 號碳是否接上羰基(carbonyl group)、C 環上 3 號碳是否接上羥基和 A 環上五號碳是否接上羥基作提供抗氧化能力之相關結構(Cao & Prior, 1997)。

萃取液清除 DPPH 自由基之結果中(圖十一 B)，可得知葉子與種實抗氧化之趨勢相近，進一步以  $IC_{50}$  之結果比較，葉子和種實之  $IC_{50}$  分別為 63.51 和 85.73  $\mu\text{g/mL}$ ，雖然於相同濃度下種實粗萃取液具有較多的機能性成分，理應種實粗萃取液  $IC_{50}$  之值較葉子為少，但本試驗結果顯示葉子對清除 DPPH 自由基有較佳之效果。推測原因可能是因為粗萃取液所萃取出之葉綠素(chlorophyll)增加韃靼蕎麥葉抗氧化之能力，Ferruzzi 等人(2002)研究發現葉綠素於清除 DPPH 自由基的抗氧化試驗有其清除效果，故於本試驗中葉子清除 DPPH 自由基效果較種實為佳。



圖十一、韃靼蕎麥粗萃取液和標準品於不同濃度下清除 DPPH 自由基之能力。

Figure 11. Inhibition of DPPH radicals by Tartary buckwheat crude extraction from leaf and grain, and standard compounds with various concentrations.



表八、韃靼蕎麥粗萃取液和標準品清除 50% DPPH 自由基所需之濃度

Table 8. IC<sub>50</sub> of scavenging DPPH radicals ability of Tartary buckwheat crude extraction from leaf and grain, compared with the standard compounds (rutin & quercetin)

Materials	DPPH scavenging ability
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
Leaf extract	63.51 $\pm$ 2.15 <sup>a1</sup>
Grain extract	85.73 $\pm$ 4.60 <sup>b</sup>
Rutin standard	25.87 $\pm$ 1.70 <sup>c</sup>
Quercetin standard	20.10 $\pm$ 0.32 <sup>d</sup>

<sup>1</sup>Different small letters on the same column indicated there were significant differences of IC<sub>50</sub> value ( $p<0.05$ ).

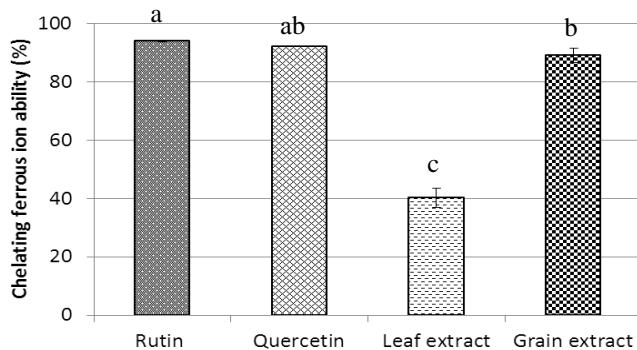
## 2. 亞鐵離子螯合能力

在脂質過氧化過程中，反應物過氧化氫在金屬離子存在下，會藉由芬頓反應 (fenton reaction) 產生氫氧自由基而導致脂質氧化，在過渡金屬元素中鐵與銅的高反應性使它們成為主要的助氧化劑，若提供抗氧化物質將金屬離子螯合，則可減少體內脂質過氧化所造成的危害。本試驗中所使用之 ferrozine 對亞鐵離子具有特異性的結合力，所形成之複合物呈紫色，其於 562 nm 下有最大吸收光，利用吸光值的變化，可得知樣品對亞鐵離子的螯合能力，判斷樣品抗氧化能力之高低。

本試驗樣品以 1000 $\mu\text{g/mL}$  的固定濃度下比較亞鐵離子螯合能力(圖十二)，結果顯示標準品蘆丁與槲皮素的螯合能力均超過 90% 以上，而韃靼蕎麥葉和種實之螯合率分別為 40 和 89%，以種實粗萃取液之效果為佳，且達到接近標準品之螯合能力，因在同濃度下種實粗萃取液具有較高機能性成分所致。粗萃取液中的蘆丁、槲皮素和異槲皮素之共同結構為 B 環上之 3'、4' 號碳位置接上羧基及 C 環具有酮基，如此結構可使得它們經螯合方式與鐵或其他離子結合(Afanas' ev et al., 1989)，中斷體內需要金屬離子之之氧化作用，達到螯合離子之抗氧化效果。



綜觀上述兩種之抗氧化試驗，可知成熟期韃靼蕎麥植株無論葉或種實，均有顯著的抗氧化能力，應多加利用作機能性食品之推廣。



圖十二、韃靼蕎麥粗萃取液與標準品於 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  艋合亞鐵離子之能力。

Figure 12. Chelating ferrous ion ability of 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of Tartary buckwheat crude extraction from leaf and grain, compared with the standard compounds.

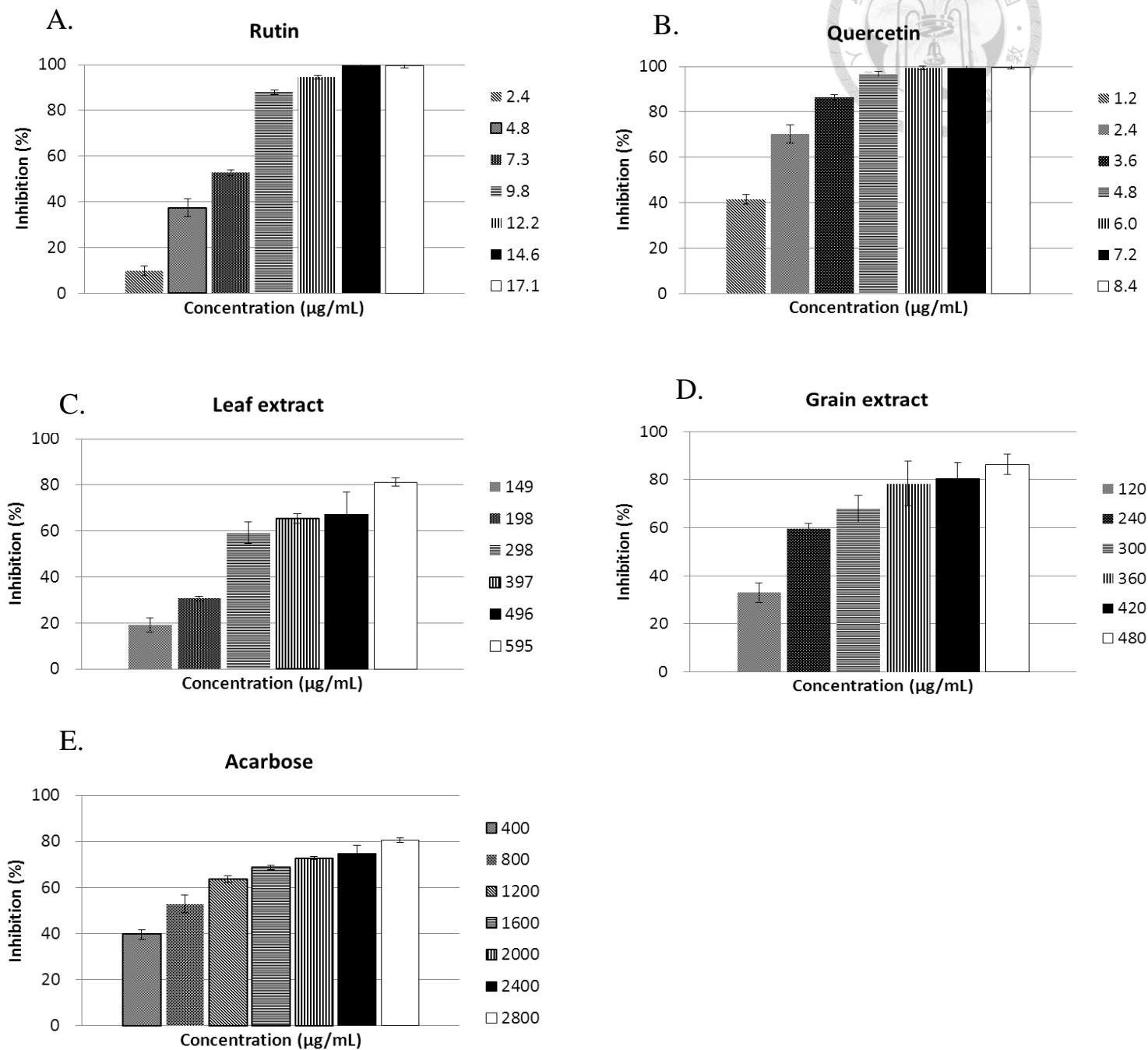
Different small letters on the figure indicated there were significant differences of chelating ferrous ion ability ( $p<0.05$ ).

##### 五、韃靼蕎麥粗萃取液抑制醣解酵素活性之分析

人體於進食後會經過體內各種酵素的消化分解，而食物中含有的碳水化合物則經醣解酵素之作用轉變成葡萄糖，使得人體中血糖濃度之上升並達到最高值(Stuart et al., 2004)。目前所知  $\alpha$ -澱粉酶與  $\alpha$ -葡萄糖苷酶為醣解過程中重要的水解酵素，前者可水解多醣或寡醣，釋出糊精或麥芽糖，後者存在於小腸上皮細胞的絨毛刷緣上，作最後水解小分子糖類之功用，產生可被體內細胞所利用之葡萄糖(Stuart et al., 2004 ; Shobana et al., 2009)。人體會將水解後之葡萄糖進行吸收，或是將葡萄糖以肝糖和三酸甘油酯的形式儲藏，然而當體內無法有效去代謝葡萄糖時，過多的葡萄糖便會於血液中流動造成餐後高血糖(postprandial hyperglycemia)的症狀(Tadera et al., 2006)，若是能有效調控重要的醣類酵素之活性，則能減緩餐後血糖之上升，避免胰島素產生抗性，預防二型糖尿病之發生(Baron, 1998)。



本試驗以  $\rho$ -NPG 作反應之受質，測試樣品是否具有抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性。受質  $\rho$ -NPG 會受到  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的水解而生成  $\rho$ -nitrophenol，此化合物呈黃色於 405 nm 有最大吸收光，故測量吸光值之變化可得知樣品對  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制能力。試驗之樣品有標準品(蘆丁、槲皮素)作對照組、韃靼蕎麥葉與種實之粗萃取液、市售藥物阿卡波糖作正控組，於不同濃度下測試各自對  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制能力(圖十三)。從圖十三之結果可看出阿卡波糖(圖十三 E)需要較高濃度才有抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之效果，標準品蘆丁(圖十三 A)於 12.2  $\mu\text{g/mL}$  濃度下有高於 90% 的抑制率，槲皮素(圖十三 B)則於濃度 4.8  $\mu\text{g/mL}$  抑制超過 90%  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性，顯示去醣基形式具有較佳之抑制效果，因槲皮素與  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之結合常數大於蘆丁(Li et al., 2009b)，使得槲皮素於較低濃度下具有高抑制率之表現。



圖十三、韃靼蕎麥粗萃取液、標準品與市售藥物阿卡波糖於不同濃度下抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之能力。

Figure 13. Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase activity of Tartary buckwheat crude extraction from leaf and grain, the standard compounds, and acarbose.

因韃靼蕎麥葉與種實中含有豐富的類黃酮蘆丁存在，所以在確定對照組之標準品有抑制效果後，可得知韃靼蕎麥粗萃取液也應有抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之功效(圖十三 C&D)，從結果可得知韃靼蕎麥粗萃取液對抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶所需之濃度較標準品為高，而較市售藥物為少。進一步藉不同濃度所對應之抑制率求得各樣品之  $IC_{50}$  (表八)。

從表八之結果，觀察到市售藥物阿卡波糖  $IC_{50}$  之值最高，為 670.78  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，而蘆丁、槲皮素、韃靼蕎麥葉和種實之  $IC_{50}$  分別為 5.80、1.42、283.38 和 180.63  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，種實粗萃取液之抑制效果較葉子為佳，因為於相同濃度下種實粗萃取液含有較多的機能性成分。本試驗結果中阿卡波糖  $IC_{50}$  之值約為韃靼蕎麥葉與種實的 2.4 和 3.7 倍，故植物來源之韃靼蕎麥可盼望作為取代目前廣泛治療二型糖尿病之藥物阿卡波糖，以減輕藥物所帶來的副作用如脹氣、腹瀉、腸胃不適等症狀之發生 (Fujisawa et al., 2005)。Yao 等人(2010)研究中國有色穀物對抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶之效果，樣品均來自於中國國家基因庫，紅米、紫米、黑米、紫玉米、黑大麥、黑豆和黑豆種皮經酸化乙醇的萃取後作測試，得到各自抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶  $IC_{50}$  之值為  $>1000$ 、475.14、13.56、833.33、 $>1000$ 、 $>1000$  和 111.11  $\text{mg}/\text{mL}$ ，從此結果可看出，屬於類穀物之韃靼蕎麥抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶較有色穀物更為顯著，有色穀物中效果最佳的黑米跟韃靼蕎麥種實相比，韃靼蕎麥種實之抑制效果為黑米的 75 倍，此為韃靼蕎麥中含量豐富之類黃酮所貢獻的效果。類黃酮已被證實能抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶的活性(Tadera et al., 2006)，且韃靼蕎麥含量豐富之蘆丁、槲皮素和異槲皮素亦被研究指出能有效抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性(Li et al., 2009b)，故韃靼蕎麥可作為預防或治療二型糖尿病之植物來源，應多被推廣普及，增加農民種植之意願。



表九、韃靼蕎麥粗萃取液和標準品抑制 50%  $\alpha$ -葡萄糖苷酶所需之濃度

Table 9. IC<sub>50</sub> of inhibit  $\alpha$ -glucosidase ability with Tartary buckwheat

crude extraction from leaf and grain, the standard compounds,  
and Acarbose

Materials	Inhibition of $\alpha$ -glucosidase activity
	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/mL)
Leaf extract	283.38±10.62
Grain extract	180.63±13.52
Rutin standard	5.80±0.06
Quercetin standard	1.42±0.02
Acarbose	670.78±66.29



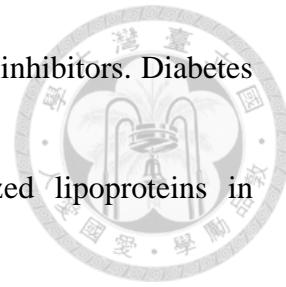
## 第五章、結論

1. 韥靼蕎麥植株以熱風乾燥較凍乾能表現出較高之機能性成分，故於後續試驗皆以熱風乾燥作樣品的處理。
2. 韥靼蕎麥植株各部位之機能性含量由高至低分別為花、葉、未熟種實、成熟種實和莖，雖然花含有豐富之總酚和總類黃酮，但其於新鮮植株中的重量百分僅占 0.3%，所以後續試驗中選擇機能性成分次高的韥靼蕎麥葉。韥靼蕎麥葉除莖伸長期含量最低外，在開花期、乳熟期和成熟期之含量沒顯著差異，為達到廢棄物回收再利用之目的，選擇以成熟期的葉子部分作進一步分析；另外亦會分析韥靼蕎麥種實，因其為日常糧食作物之一。
3. 韥靼蕎麥葉和種實以 80% 乙醇萃取，經高效能液相層析儀搭配光電二極體陣列偵測器作分析，結果顯示無論於葉或種實的粗萃取液中，類黃酮組分主要為蘆丁、山柰酚-3-O-芸香糖苷、槲皮素、異槲皮素和山柰酚，當中含量最高者為蘆丁。
4. 韥靼蕎麥葉和種實的粗萃取液於清除 DPPH 自由基和亞鐵離子螯合之抗氧化試驗中，皆有良好之表現，故韥靼蕎麥植株對人體具有保健的功效。
5. 韥靼蕎麥葉和種實的粗萃取液能有效抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性，且抑制效果比治療二型糖尿病藥物之阿卡波糖佳，抑制效果分別為阿卡波糖的 2.4 和 3.7 倍，所以韥靼蕎麥粗萃取液能有效延緩餐後血糖之上升。

## 第六章、參考文獻



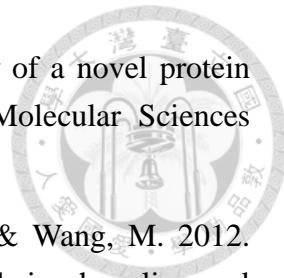
- 李佳珍。2010。韃靼蕎麥抗氧化及護肝功效評估。國立嘉義大學食品科學系研究所碩士論文。
- 林汝法、王瑞、周運寧。2001。苦蕎提取物的毒理學安全性。華北農學報 16:116-121。
- 林鈺珊。2011。紅心番石榴茶製程開發中抗氧化與抑制  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性之探討。國立宜蘭大學食品科學系研究所碩士論文。
- 涂淑茹。2011。不同生長期韃靼蕎麥葉機能性成分及抗氧化活性之研究。國立嘉義大學食品科學系研究所碩士論文。
- 曾勝雄。2009。蕎麥新品種「台中 5 號」簡介。農政與農情：202。
- 曾勝雄、陳裕星。2007。蕎麥臺中 2 號之育成。臺中區農業改良場研究彙報 95：49-59。
- 黃宏隆、謝玉坤、蔡育仁。1989。蕎麥、蕎麥粉與蕎麥麵製法研究。烘焙工業 25：53-60。
- 曾正雄、張正英、蘇慧美。2004。蕎麥組成分及保健成分分析。臺中區農業改良場研究彙報 82：61-69。
- 廖宜倫、林汶鑫、林訓仕、陳鑑斌、陳裕星。2011。蕎麥芸香苷及槲皮素含量之研究。臺中區農業改良場一〇〇年度科技計畫研究成果發表會論文輯 114-117。
- AACC 2000. Approved Method of the American Association of Cereal Chemists. AACC Inc., MN. USA.
- Adom, K. K. & Liu, R. H. 2002. Antioxidant activity of grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 6182-6187.
- Afanas' ev, I. B., Dcrozhko, A. I., Brodskii, A. V., Kostyuk, V. A., & Potapovitch, A. I. 1989. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. Biochemical Pharmacology 38:1763-1769.
- Agullo, G., Gamet, L., Besson, C., Demigne, C. & Remesy, C. 1994. Quercetin exerts a preferential cytotoxic effect on active dividing colon carcinoma HT29 and Caco-2 cells. Cancer Lett 87: 55-63.
- Ahmad, M., Gilani, A. U. H., Aftab, K. & Ahmad, V. U. 1993. Effects of kaempferol-3-O-rutinoside on rat blood pressure. Phytotherapy Research 7:314-316.



- Baron, A. D. 1998. Postprandial hyperglycaemia and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. *Diabetes Research and Clinical Practice* 40:51-55.
- Berliner, J. A., & Heinecke, J. W. 1996. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radical Biology and Medicine* 20:707-727.
- Bonafaccia, G., Gambelli, L., Fabjan, N., & Kreft, I. 2003a. Composition and technological properties of the flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry* 80:9-15.
- Bonafaccia, G., Gambelli, L., Fabjan, N., & Kreft, I. 2003b. Trace elements in flour and bran from common and tartary buckwheat. *Food Chemistry* 83:1-5.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 28:25-30.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56:317-333.
- Burns, J., Gardner, P. T., O'Neil, J., Crawford, S., Morecroft, I., McPhail, D. B., Lister, C., Matthews, D., MacLean, M. R., Lean, M. E. J., Duthie, G. & Crozier, A. 2000. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity and phenolic content of red wines. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 48:220-230.
- Cao, G., Sofic, E., & Prior, R. L. 1997. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. *Free Radical Biology and Medicine*, 22:749-760.
- Choi, J. Y., Cho, E. J., Lee, H. S., Lee, J. M., Yoon, Y. H., & Lee, S. 2013. Tartary buckwheat improves cognition and memory function in an *in vivo* amyloid- $\beta$ -induced Alzheimer model. *Food and Chemical Toxicology* 53:105-111.
- Commission of the European Communities. 1993. Nutrient and energy, reports of the scientific committee for food (Thirty-first series). Luxemburg: Office for Official Publications of the European Communities.
- Cook, N. C., & Samman, S. 1996. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Journal of Nutritional Biochemistry* 7:66-76.
- Cui, X. D., & Wang, Z. H. 2012. Preparation and properties of rutin-hydrolyzing enzyme from tartary buckwheat seeds. *Food Chemistry* 132:60-66.
- Decker, E. A. & B, Welch. 1990. Role of ferritin as lipid oxidation catalyst in muscle



- food. Journal of Agricultural and Food Chemistry 38:674-677.
- Deschner, E. E., Ruperto, J., Wong, G. & Newmark, H. L. 1991. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. Carcinogenesis 12: 1193-1196.
- Edwards, R. L., Lyon, T., Litwin, S. E., Rabovsky, A., Symons, J. D., & Jalili, T. 2007. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. Journal of Nutrition 137:2405–2411.
- Erlejman, A. G., Verstraeten, S. V., Fraga, C. G., & Oteiza, P. I. 2004. The interaction of flavonoids with membranes: potential determinant of flavonoid antioxidant effects. Free radical research 38:1311-1320.
- Fabjan, N., Rode, J., Košir, I. J., Wang, Z., Zhang, Z., & Kreft, I. 2003. Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) as a source of dietary rutin and quercitrin. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51:6452-6455.
- Ferruzzi, M. G., Böhm, V., Courtney, P. D., & Schwartz, S. J. 2002. Antioxidant and antimutagenic activity of dietary chlorophyll derivatives determined by radical scavenging and bacterial reverse mutagenesis assays. Journal of Food Science 67:2589-2595.
- Fujisawa, T., Ikegami, H., Inoue, K., Kawabata, Y. & Ogihara, T. 2005. Effect of two  $\alpha$ -glucosidase inhibitors, voglibose and acarbose, on postprandial hyperglycemia correlates with subjective abdominal symptoms. Metabolism-Clinical and Experimental 54: 387-390.
- Gao, H., Huang, Y. N., Xu, P. Y. & Kawabata, J. 2007. Inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase by the fruits of *Terminalia chebula* Retz. Food chemistry 105: 628-634.
- Guardia, T., Rotelli, A. E., Juarez, A. O., & Pelzer, L. E. 2001. Anti-inflammatory properties of plant flavonoids. Effects of rutin, quercetin and hesperidin on adjuvant arthritis in rat. Il Farmaco 56:683-687.
- Guo, X., & Yao, H. 2006. Fractionation and characterization of tartary buckwheat flour proteins. Food chemistry 98:90-94.
- Guo, X., Zhu, K., Zhang, H., & Yao, H. 2007. Purification and characterization of the antitumor protein from Chinese tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) water-soluble extracts. Journal of Agricultural and food chemistry 55:6958-6961.



- Guo, X., Zhu, K., Zhang, H., & Yao, H. 2010. Anti-tumor activity of a novel protein obtained from tartary buckwheat. *International Journal of Molecular Sciences* 11:5201-5211.
- Guo, X. D., Wu, C. S., Ma, Y. J., Parry, J., Xu, Y. Y., Liu, H., & Wang, M. 2012. Comparison of milling fractions of tartary buckwheat for their phenolics and antioxidant properties. *Food Research International* 49:53-59.
- Habtemariam, S. 2011.  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of kaempferol-3-O-rutinoside. *Natural Product Communications* 6:201-203.
- Hansawasdi, C. & Kawabata, J. 2006.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory effect of mulberry (*Morus alba*) leaves on Caco-2. *Fitoterapia* 77:568-573.
- Harborne, J. B. & Baxter, H. 1999. *The handbook of natural flavonoids*, Vols 1 & 2. John Wiley and Sons: Chichester, UK.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationship. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13:572-584.
- Holasova, M., Fiedlerova, V., Smrcinova, H., Orsak, M., Lachman, J., & Vavreinova, S. 2002. Buckwheat-the source of antioxidant activity in functional foods. *Food Research International* 35:207-211.
- Iacopini, P., Baldi, M., Storchi, P., & Sebastiani, L. 2008. Catechin, epicatechin, quercetin, rutin and resveratrol in red grape: Content, *in vitro* antioxidant activity and interactions. *Journal of Food Composition and Analysis* 21:589-598.
- Jung, S. H., Kim, B. J., Lee, E. H., & Osborne, N. N. 2010. Isoquercitrin is the most effective antioxidant in the plant *Thuja orientalis* and able to counteract oxidative-induced damage to a transformed cell line (RGC-5 cells). *Neurochemistry international* 57:713-721.
- Kaul, T. N., Middleton, E., & Ogra, P.L. 1985. Antiviral effect of flavonoids on human viruses. *Journal Medicine Virol* 15:71-79.
- Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K. & Yano, M. 1999. Antiproliferative activity of flavonoids on several cancer cell lines. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 63: 896-899.
- Kawakmi, A., Kayahara, H., & Ujihara, A. 1995. Properties and elimination of bitter components derived from tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) flour. *Journal*

of Japanese Society of Food Science and Technology 42:892-898.

Kim, S. J., Zaidul, I. S. M., Suzuki, T., Mukasa, Y., Hashimoto, N., Takigawa, S., ... & Yamauchi, H. 2008. Comparison of phenolic compositions between common and tartary buckwheat (*Fagopyrum*) sprouts. Food chemistry 110: 814-820.

Kim, Y., Narayanan, S., & Chang, K. O. 2010. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. Antiviral Research 88:227-235.

Kim, Y. M., Wang, M. H., Rhee, H. I. 2004. A novel  $\alpha$ -glucosidase inhibitor from pine bark. Carbohydrate Research 339: 715-717.

Knekt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanan, A., Hakulinen, T., & Aromaa, A. 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. American Society for Clinical Nutrition 76:560-568.

Koda, T., Kuroda, Y., Imai, H. 2008. Protective effect of rutin against spatial memory impairment induced by trimethyltin in rats. Nutrition Research 28:629-634.

Kreft, I., Fabjan, N., & Yasumoto, K. 2006. Rutin content in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) food materials and products. Food Chemistry 98:508-512.

Kumamoto, H., Matsubara, Y., Iizuka, Y., Okamoto, K., & Yokoi, K. 1985. Structure and hypotensive effect of flavonoid glycosides in *Kinkan* (*fortunella japonica*) peelings. Agricultural and Biological Chemistry 49:2613–2618.

Kuo, S.M. 1996. Antiproliferative potency of structurally distinct dietary flavonoids on human colon cancer cells. Cancer Lett 110: 41-48.

Kuwabara, T., Han, K. H., Hashimoto, N., Yamauchi, H., Shimada, K. I., Sekikawa, M., & Fukushima, M. 2007. Tartary buckwheat sprout powder lowers plasma cholesterol level in rats. Journal of Nutritional Science and Vitaminology 53:501-507.

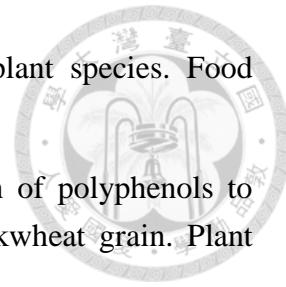
Lee, K. W., Kim, Y. J., Lee, H. J. & Lee, C. Y. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. Journal of Agriculture and Food Chemistry 51:7292-7295.

Lee, J. S. 2000. Effects of germinated-buckwheat on blood pressure, plasma glucose and lipid levels of spontaneously hypertensive rats. Korean Journal of Food Science and Technology 32:206-211.

Lee, J. S., Son, H. S., Maeng, Y. S., Chang, Y. K., & Ju, J. S. 1994. Effects of buckwheat on organ weight, glucose and lipid metabolism in streptozotocin-induced diabetic



- rats. Korean Journal of Nutrition 27:819-827.
- Li, C. H., Matsui, T., Matsumoto, K., Yamasaki, R., & Kawasaki, T. 2002. Latent production of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from buckwheat protein. Journal of Peptide Science 8:267-274.
- Li, D., Li, X., & Ding, X. 2010. Composition and antioxidative properties of the flavonoid-rich fractions from tartary buckwheat grains. Food Science and Biotechnology 19:711-716.
- Li, D., Li, X., Ding, X., & Park, K. 2008. A process for preventing enzymatic degradation of rutin in tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn) flour. Food Science and Biotechnology 17:118-122.
- Li, Y., Gao, F., Shan, F., Bian, J., & Zhao, C. 2009a. Study on the Interaction between 3 Flavonoid Compounds and  $\alpha$ -Amylase by Fluorescence Spectroscopy and Enzymatic Kinetics. Journal of Food Science 74:199-203.
- Li, Y. Q., Zhou, F. C., Gao, F., Bian, J. S., & Shan, F. 2009b. Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57:11463-11468.
- Liu, Z., Ishikawa, W., Huang, X., Tomotake, H., Kayashita, J., Watanabe, H., Nakajoh, M. & Kato, N. 2001. A buckwheat protein product suppresses 1,2-dimethyhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats by reducing cell proliferation. Journal of Nutrition 131:1850-1853.
- Liyana-Pathirana, C. M., & Shahidi, F. 2006. Importance of insoluble-bound phenolics to antioxidant properties of wheat. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54:1256-1264.
- Manach, C., Morand, C., Demigné, C., Texier, O., Régérat, F., & Rémesy, C. 1997. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. FEBS letters 409:12-16.
- Matsui, T., Yoshimoto, C., Osajima, K., Oki, T. & Osajima, Y. 1996. In vitro survey of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory food components. Bioscience Biotechnology and Biochemistry 60:2019-2022.
- Mbaze, L.M., Poumale, H.M.P., Wansi, J.P., Lado, J.A., Khan, S.N., Iqbal, M.C., Ngadjui, B.T. & Laatsch, H. 2007.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory pentacyclic triterpenes from the stem bark of *Fagara tessmannii* (Rutaceae). Phytochemistry 68: 591-595.
- Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., & De-Tommasi, N. 2005. Structure–antioxidant



activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. *Food Chemistry* 92:349-355.

Morishita, T., Yamaguchi, H., & Degi, K. 2007. The contribution of polyphenols to antioxidative activity in common buckwheat and tartary buckwheat grain. *Plant Production Science* 10:99-104.

Navarro-Nunez, L., Lozano, M. L., Palomo, M., Martinez, C., Vicente, V., Castillo, J., & Rivera, J. 2008. Apigenin inhibits platelet adhesion and thrombus formation and synergizes with aspirin in the suppression of the arachidonic acid pathway. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56:2970-2976.

Palikova, I., Valentova, K., Oborna, I. & Ulrichova, J. 2009. Protectivity of blue honeysuckle extract against oxidative human endothelial cells and rat hepatocyte damage. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 57: 6584-6589.

Park, B. J., Park, J. I., Chang, K. J., & Park, C. H. 2004. Comparison in rutin content in seed and plant of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). In Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat: Advances in Buckwheat Research, RICP, Prague, Czech Republic, August18-22: 626-629.

Parkar, S. G., Stevenson, D. E., & Skinner, M. A. 2008. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. *International Journal of Food Microbiology* 124:295-298.

Pryor, W. A. 2000. Oxidation and arthrosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine* 28:1681-1682.

Qin, P., Ma, T., Wu, L., Shan, F., & Ren, G. 2011. Identification of Tartary buckwheat tea aroma compounds with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Food Science* 76:S401-S407.

Qin, P., Wu, L., Yao, Y., & Ren, G. 2013. Changes in phytochemical compositions, antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities during the processing of tartary buckwheat tea. *Food Research International* 50:562-567.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine* 20:933-956.

Rogerio, A. P., Kanashiro, A., Fontanari, C., Da Silva, E. V. G., Lucisano-Valim, Y. M., Soares, E. G., & Faccioli, L. H. 2007. Anti-inflammatory activity of quercetin and isoquercitrin in experimental murine allergic asthma. *Inflammation Research*

56:402-408.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., & Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40:945-948.

Shobana, S., Sreerama, Y. N. & Malleshi, N. G. 2009. Composition and enzyme inhibitory properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) seed coat phenolics: Mode of inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic amylase. *Food Chemistry* 115: 1268-1273.

Smith, T. J., & Yang, C. S. 1994. Phenolic compounds in food and their effects on health I: Fruits and vegetables. American Chemical Society Washington.

Sosulski, F., Krygier, K., & Hogge, L. 1982. Free, esterified and insoluble-bound phenolic acids. 3. Composition of phenolic acids in cereal and potato flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 30:337–340.

Stewart, L. K., Soileau, J. L., Ribnicky, D., Wang, Z. Q., Raskin, I., Poulev, A., Majewski, M., Cefalu W. T., & Gettys, T. W. 2008. Quercetin transiently increases energy expenditure but persistently decreases circulating markers of inflammation in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. *Metabolism* 57:S39-S46.

Stuart, A. R., Gulve, E. A., & Wang, M. 2004. Chemistry and biochemistry of type 2 diabetes. *Chemical Reviews* 104:1255-1282.

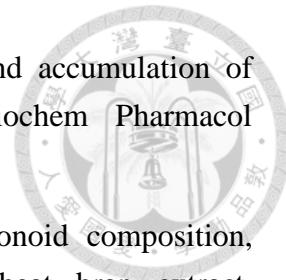
Suzuki, T., Honda, Y., Funatsuki, W., & Nakatsuka, K. 2002. Purification and characterization of flavonol 3-glucosidase, and its activity during ripening in tartary buckwheat seeds. *Plant Science* 163:417-423.

Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. 2006. Inhibition of  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 52:149-153.

Taga, M.S., Miller, E. E. & Pratt, D.E.1984. Chia seeds as a source of natural antioxidants. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 61:928-931.

Tomotake, H., Yamamoto, N., Kitabayashi, H., Kawakami, A., Kayashita, J., Ohinata, H., ... & Kato, N. 2007. Preparation of Tartary Buckwheat Protein Product and Its Improving Effect on Cholesterol Metabolism in Rats and Mice Fed Cholesterol-Enriched Diet. *Journal of Food Science* 72: S528-S533.

Trnovsky, J., Letourneau, R., Haggag, E., Boucher, W., & Theoharides T. C. 1993.



- Quercetin-induced expression of rat mast cell protease II and accumulation of secretory granules in rat basophilic leukemia cells. *Biochem Pharmacol* 46:2315-2326.
- Wang, L., Yang, X., Qin, P., Shan, F., & Ren, G. 2013. Flavonoid composition, antibacterial and antioxidant properties of tartary buckwheat bran extract. *Industrial Crops and Products* 49:312-317.
- Wang, S. Y. & Lin, H. S. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 48: 140-146.
- Wei, Y. Q., Zhao, X., Kariya, Y., Fukata, H. Teshigawara, K. & Uchida, A. 1994. Induction of apoptosis by quercetin: involvement of heat shock protein. *Cancer Research* 54:4952-4957.
- Yang, J., Guo, J., & Yuan, J. 2008. In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Science and Technology* 41:1060-1066.
- Yasuda, T. 2001. Development of tartary buckwheat noodles through research on rutin-degrading enzymes and its effect on blood fluidity. In The proceeding of the 8th international symposium on buckwheat :488-502. Chunchon, Korea.
- Yasuda, T., & Nakagawa, H. 1994. Purification and characterization of the rutin-degrading enzymes in tartary buckwheat seeds. *Phytochemistry* 37:133-136.
- Yasuda, T., & Shinoyama, H. 1996. The synthesis of ethyl beta-rutinoside with rutin-degrading enzyme from tartary buckwheat seeds. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology* 43:1299-1304.
- Yoo, J., Kim, Y., Yoo, S. H., Inglett, G. E., & Lee, S. 2012. Reduction of rutin loss in buckwheat noodles and their physicochemical characterisation. *Food Chemistry* 132:2107-2111.
- Zhang, R., Yao, Y., Wang, Y., & Ren, G. 2011. Antidiabetic activity of isoquercetin in diabetic KK-A<sub>y</sub> mice. *Nutrition and Metabolism* 8:1-6.
- Zhang, Z. L., Zhou, M. L., Tang, Y., Li, F. L., Tang, Y. X., Shao, J. R., Xue, W. T., & Wu, Y. M. 2012. Bioactive compounds in functional buckwheat food. *Food Research International* 49:389-395.
- Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., & Blanchard, C. 2004. The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chemistry* 87:401-406.

Zielińska, D., Turemko, M., Kwiatkowski, J., & Zieliński, H. 2012. Evaluation of flavonoid contents and antioxidant capacity of the aerial parts of common and tartary buckwheat plants. *Molecules* 17:9668-9682.

Zielinski, H., & Kozlowska, H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:2008-2016.

