

大豆及 3 种豆制品中大豆异黄酮组分的含量研究

潘妍, 贾红亮, 汪长钢, 李凌燕 (北京农业职业学院食品与生物工程系, 北京 102442)

摘要 [目的]建立高效液相色谱法测定大豆及 3 种豆制品中大豆异黄酮组分和含量的方法,研究其大豆异黄酮组分的差异。[方法]将供试样品用 80% 甲醇溶解提取,净化后用 WondaSil C₁₈ WR(4.6×250 mm, 5 μm) 色谱柱分离,以乙腈和磷酸水溶液 (pH 3.0) 作为流动相,流速 1 mL/min,柱温为 40 ℃,用二极管阵列检测器在波长 260 nm 检测大豆异黄酮组分,用外标法进行定量。[结果]大豆及 3 种豆制品中大豆异黄酮的含量,大豆最高,其次是豆芽、豆腐、豆浆。供试样品的大豆异黄酮组分中大豆苷相关系数为 0.997 2, 黄豆苷相关系数为 0.999 6, 大豆苷元相关系数为 0.994 7, 黄豆黄素相关系数为 0.999 1, 染料木素相关系数为 0.994 2, 平行测定结果之差均低于算术平均值的 10%。[结论]高效液相色谱法可用于豆制品中大豆异黄酮组分和含量检测。

关键词 高效液相色谱;大豆异黄酮;豆制品

中图分类号 S41-33 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)09-119-03

Study on the Content of Soybean Isoflavone Components in Soybean and Three Soybean Products

PAN Yan, JIA Hong-liang, WANG Chang-gang et al (Food and Bioengineering Department, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442)

Abstract [Objective] A HPLC method for determining the components and content of soybean isoflavone in four soybean products was established. [Method] Samples were extracted with 80% methanol. The HPLC separation was performed on a WondaSil C₁₈ WR(4.6×250 mm, 5 μm) by isocratic elution with acetonitrile and phosphoric acid water solution (pH 3.0) as mobile phase, flow rate 1 mL/min, column temperature 40 ℃, and 260 nm was detected by diode array detector. [Result] The order of soybean isoflavone content was soybean > bean sprouts > tofu and soy milk. The correlation coefficients of the Daidzin, Glycitin, Daidzein, Glycitin, Genistein were 0.997 2, 0.999 6, 0.994 7, 0.999 1, 0.994 2, respectively. The difference of the parallel test results was lower than that of the arithmetic mean as 10%. [Conclusion] The HPLC method can be used for the detection of soybean isoflavone components and contents in soybean products.

Key words HPLC; Soybean isoflavone; Soybean products

大豆异黄酮是大豆生长过程中形成的次级代谢产物,是黄酮类化合物,因其结构与雌激素相似,又称植物雌激素。大豆中大豆异黄酮 97% 以上以糖苷形式存在,苷元仅占总量的 2%~3%,其中组成成分有:染料木苷、大豆苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素、黄豆苷^[1-3]。目前,国内检测大豆异黄酮的方法主要有紫外分光光度法、气相色谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法等,其中高效液相色谱法具有样品处理简单、操作容易、分离度好、定量准确、可进行组分检测等优点^[4-6]。笔者建立了高效液相色谱法测定大豆及 3 种豆制品中大豆异黄酮组分和含量的方法,并研究了其大豆异黄酮组分的差异。

1 材料与与方法

1.1 材料 大豆,市购;豆腐,市购;豆芽,自制;豆浆(料液比 120:1 g/L),豆浆机打浆。主要试剂:大豆苷、黄豆苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素中药对照样品,成都曼思特生物科技有限公司;石油醚、甲醇、乙醇,均为分析纯;其他为常规试剂。

主要仪器:小熊 DYJ-S6365 豆芽机,广东小熊电器有限公司;DJ12B-A10 豆浆机,九阳股份有限公司;高效液相色谱仪(LC-20A)配二极管阵列检测器(SPD-M20A),日本岛津。

1.2 方法

1.2.1 材料准备。选取同批市购大豆,加入 2 倍豆重水量,25 ℃下浸泡 8 h 后,放入豆芽机,选取发芽 3 d 的豆芽作为研

究对象。称取同批市购大豆 100 g,加入 1 L 纯净水,用豆浆机打浆,豆浆作为研究对象。

1.2.2 大豆、豆芽样品预处理。大豆用粉碎机粉碎,豆芽用打浆机打碎,用沸点为 30~60 ℃的石油醚,经索氏抽提装置抽提 24 h 除油,将除油后的豆粕放在通风橱中过夜,将残留的石油醚挥发干后,进行再次粉碎,并过 80 目筛。准确称取豆粕 0.5 g,加入 80% 甲醇 50 mL,超声波振荡仪振荡 20 min, 9 000 r/min 离心 5 min,取上清液,过 0.45 μm 膜待测。

1.2.3 豆浆样品预处理。准确量取 5 mL 豆浆于 50 mL 容量瓶中,加入 80% 甲醇溶液至接近刻度。超声波振荡仪振荡 20 min, 9 000 r/min 离心 5 min,取上清液,过 0.45 μm 膜待测。

1.2.4 豆腐样品预处理。准确称取 0.5 g 豆腐于研钵中,加入 80% 甲醇溶液研磨,并转移至 50 mL 容量瓶中,加入 80% 甲醇溶液至接近刻度。超声波振荡仪振荡 20 min, 9 000 r/min 离心 5 min,取上清液,过 0.45 μm 膜待测。

1.2.5 高效液相色谱法检测大豆异黄酮含量。色谱柱:WondaSil C₁₈ WR(5 μm);检测器:二极管阵列检测器(SPD-M20A);检测波长:260 nm;柱温:40 ℃;流动相:乙腈-磷酸水溶液(pH 3.0);流速:1 mL/min;进样量 10 μL。

2 结果与分析

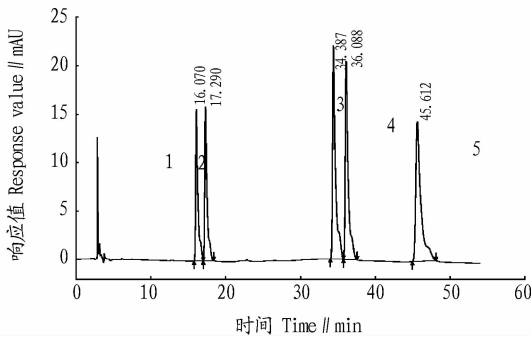
2.1 色谱条件选择 用紫外分光光度计对大豆异黄酮组分混标进行全波长扫描,结果发现,大豆异黄酮在 260 nm 处有最大吸收,因此选择 260 nm 作为检查波长。

研究了不同 pH 的磷酸水溶液和乙腈对大豆异黄酮各组分的分离和保留时间的影响,最终选择 pH 为 3.0 的磷酸水溶液作为流动相,洗脱梯度见表 1。

表1 洗脱梯度
Table 1 Elution gradient

时间 Time//min	乙腈	磷酸
	Acetonitrile//%	Phosphoric acid//%
0	12	88
10	18	82
23	24	76
30	30	70
50	30	70
55	80	20
56	12	88
60	12	88

2.2 大豆异黄酮组分线性关系 采用“1.2.5”色谱条件对单个标品进行分析,确定大豆异黄酮组分保留时间为:大豆苷 16.014 min、黄豆苷 17.228 min、大豆苷元 34.308 min、黄豆苷素 36.013 min、染料木素 45.485 min。配制 8.0、16.0、24.0、32.0、40.0 mg/L 大豆异黄酮混合标准使用液,用 50% 二甲基亚砜定容,用高效液相色谱测定大豆异黄酮混合标准使用液,色谱图如图 1 所示。



注:1. 大豆苷;2. 黄豆苷;3. 大豆苷元;4. 黄豆苷素;5. 染料木素。
Note: 1. Soybean glycosides; 2. Glycitin; 3. Soybean glycosides; 4. Glycitein; 5. Genistein.

图1 大豆异黄酮混标谱图

Fig.1 Spectrum of soybean isoflavone

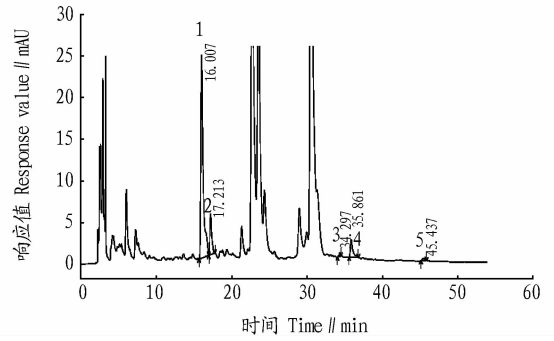
设定大豆异黄酮各组分峰面积为 Y ,混合标准液浓度为 X ,用最小二乘法求得各大豆异黄酮组分标准曲线如表 2 所示。

表2 各标准品的标准曲线(HPLC法)

Table 2 The standard curve of each standard variety

标准品种类	标准曲线	线性关系(R^2)
Standard variety	Standard curve	Linear relationship
大豆苷 Daidzin	$Y = 41\ 157X - 6\ 510.4$	0.997 2
黄豆苷 Glycitin	$Y = 42\ 371X - 10\ 726$	0.999 6
大豆苷元 Daidzein	$Y = 76\ 819X - 15\ 232$	0.994 7
黄豆苷素 Glycitein	$Y = 69\ 403X - 28\ 750$	0.999 1
染料木素 Genistein	$Y = 91\ 110X - 75\ 770$	0.994 2

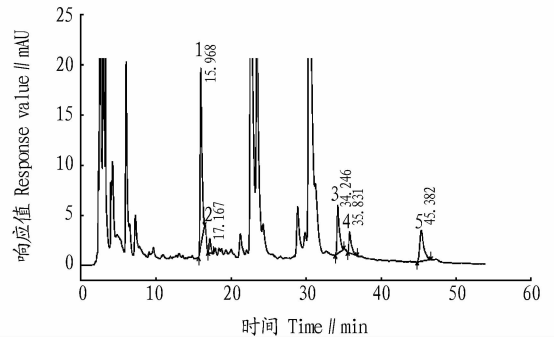
2.3 大豆及 3 种豆制品中大豆异黄酮组分含量 用高效液相色谱法检测大豆、豆芽、豆浆和豆腐中大豆异黄酮组分含量,其色谱图如图 2~5 所示。计算 4 种豆制品中各组分占原料的比重,其结果如表 3 所示。



注:1. 大豆苷;2. 黄豆苷;3. 大豆苷元;4. 黄豆苷素;5. 染料木素。
Note: 1. Soybean glycosides; 2. Glycitin; 3. Soybean glycosides; 4. Glycitein; 5. Genistein.

图2 大豆中大豆异黄酮组分检测谱图

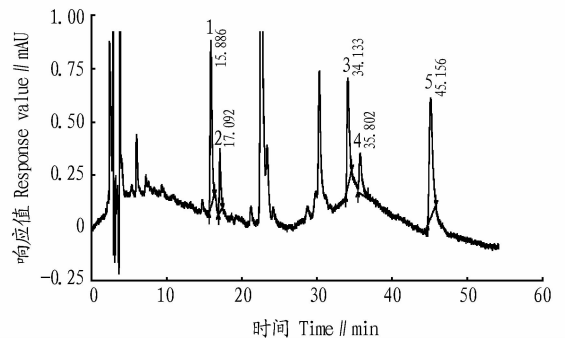
Fig.2 The detection spectrum of soybean isoflavone component in soybean



注:1. 大豆苷;2. 黄豆苷;3. 大豆苷元;4. 黄豆苷素;5. 染料木素。
Note: 1. Soybean glycosides; 2. Glycitin; 3. Soybean glycosides; 4. Glycitein; 5. Genistein.

图3 豆芽中大豆异黄酮组分检测谱图

Fig.3 The detection spectrum of soybean isoflavone component in bean sprouts

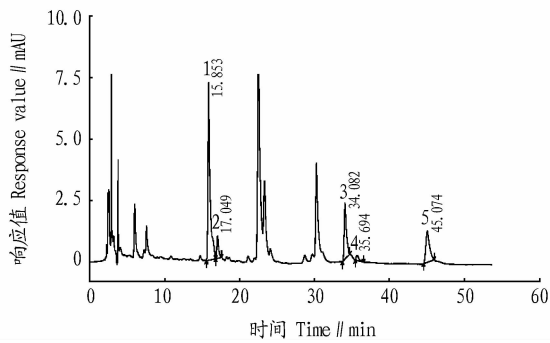


注:1. 大豆苷;2. 黄豆苷;3. 大豆苷元;4. 黄豆苷素;5. 染料木素。
Note: 1. Soybean glycosides; 2. Glycitin; 3. Soybean glycosides; 4. Glycitein; 5. Genistein.

图4 豆腐中大豆异黄酮组分检测谱图

Fig.4 The detection spectrum of soybean isoflavone component in bean curd

试验表明,大豆及 3 种豆制品中大豆异黄酮组分各不一样,其中大豆中大豆异黄酮含量最高;其次是豆芽、豆腐;豆浆中大豆异黄酮含量最少,推断是豆浆制作过程中对大豆中



注:1. 大豆苷;2. 黄豆黄苷;3. 大豆苷元;4. 黄豆黄素;5. 染料木素。

Note: 1. Soybean glycosides; 2. Glycitin; 3. Soybean glycosides; 4. Glycitein; 5. Genistein.

图 5 豆浆中大豆异黄酮组分检测谱图

Fig. 5 The detection spectrum of soybean isoflavone component in soybean milk

表 3 大豆及 3 种豆制品中大豆异黄酮组分研究结果

Table 3 Research results of soybean isoflavone component in soybean and three kinds of soybean products

μg/g

样品 Samples	大豆苷 Soybean glycosides	黄豆黄苷 Glycitin	大豆苷元 Soybean glycosides	黄豆黄素 Glycitein	染料木素 Genistein	大豆异黄酮含量 Soybean isoflavone content
大豆 Soybean	256.70	45.10	4.51	20.98	17.92	345.21
豆芽 Bean sprouts	153.33	16.12	32.00	21.79	41.80	265.04
豆浆 Soy milk	9.39	7.12	6.67	9.78	20.39	53.35
豆腐 Tofu	74.46	11.87	16.42	9.36	26.47	138.58

民合理选择食用大豆及其制品有指导意义,同时也对我国大豆异黄酮及其深加工产品的开发有重要意义。

参考文献

- [1] 张永忠,孙艳梅. 大豆异黄酮研究中的名词术语[J]. 中国粮油学报, 2004,19(4):50-52.
- [2] 刘志胜,李里特,辰巳英三. 大豆异黄酮及其生理功能研究进展[J]. 食品工业科技,2000(1):78-80.

- [3] 马丽娟. 大豆异黄酮对心肌的保护作用及其机制研究[D]. 长春:吉林大学,2006.
- [4] 胡斌,邓放明,唐春江. 大豆异黄酮的生理功能及检测方法研究进展[J]. 农产品加工(学刊),2008(5):82-85.
- [5] 井乐刚,张永忠. 高效液相色谱法测定大豆乳清提取物中大豆异黄酮的含量[J]. 植物研究,2006,26(5):629-632.
- [6] 旷勇,卢成瑛,龚竹琼,等. 固相萃取-高效液相色谱法同时测定发酵豆制品中 4 种大豆异黄酮[J]. 安徽农业科学,2014(4):1178-1180.

(上接第 118 页)

备了一定的规模,市场上已开发出玉竹胶囊、玉竹芦花茶、玉竹茯苓片等产品,经济效益显著,发展前景广阔。

参考文献

- [1] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京:人民卫生出版社,1978:84.
- [2] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社,1977:1156.
- [3] 袁昌齐. 玉竹的本草论证和种类鉴定[J]. 中国野生植物资源,2006,20(3):6.

- [4] 彭秧锡,刘士军,郭军,等. 玉竹的研究开发现状与展望[J]. 食品研究与开发,2005,26(6):120-122.
- [5] 杨勇杰,姜瑞芝,陈英红. 苯酚-硫酸法测定杂多糖含量的研究[J]. 中成药,2005,27(6):706-708.
- [6] 陈双,段玉峰. 小麦麸皮黄酮的微波提取及抗氧化作用研究[J]. 粮油加工,2009(3):71-74.
- [7] CHOW S T, CHAO W W, CHUNG Y C. Antioxidative activity and safety of 50% ethalolic red extract [J]. Journal of food science, 2003, 68 (1): 21-25.