

哈尔滨市售几种大豆制品中大豆总皂甙含量的调查*

张玉梅¹ 邱 隽 宋丹凤 崔洪斌

(哈尔滨医科大学公共卫生学院,黑龙江 哈尔滨 150001)

大豆皂苷(soy saponin 以下简称 SS)是存在于大豆及其制品中的活性成分,近年来关于大豆皂苷的生理活性研究日趋成为热点,研究表明大豆皂苷具有抗过氧化损伤、降脂减肥、抗病毒、免疫调节、抗动脉粥样硬化、抗肿瘤等生理作用。^[1~4]中国作为最早生产大豆的国家,食用大豆已经有几千年的历史,并且由于地域因素,造成了大豆制品种类繁多且不同地域差异较大的现状,如腐乳就有广味腐乳、京味腐乳等。大豆及其制品和东方人的日常饮食关系密切,日本 1996 年的国家膳食普查结果表明,日本平均每人食用 70 g 的大豆,^[5]与之相比较,中国人饮食中的大豆含量较之相似或更高。

据报道,大豆制品中的大豆皂苷的含量受其加工方式的影响,^[6]滕燕平等建立了用齐墩果酸作为标准品,采用分光光度法测定大豆皂苷的含量的方法,^[7]方法简单,操作方便,灵敏度和重现性较好,我们利用这一方法对哈尔滨市售的几种豆制品中的大豆皂苷含量进行了测定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Novalypho - NL2000 型冷冻干燥机 Savant 公司
DU - 600 型可见 - 紫外分光光度仪 BECKMAN 公司

电子恒温水浴锅 北京市光明医疗仪器厂

齐墩果酸标准品 中国药品生物检定所提供

所用试剂均为分析纯

1.2 调查试样及试样处理

1.2.1 豆腐、干豆腐、黄豆芽购自哈尔滨市市场,其中干豆腐自然干燥,豆腐、黄豆芽经适当物理破碎后,冷冻干燥,分别称重。

1.2.2 腐乳(北京王致和腐乳厂)、广味腐乳(桂林

腐乳厂)、臭豆腐(北京王致和腐乳厂)、内脂豆腐(哈尔滨市荣华豆制品厂)、日本豆腐(哈尔滨市荣华豆制品厂),均以物理方法破碎后冷冻干燥,分别称重。

1.3 实验过程及方法

1.3.1 校正曲线的绘制

标准品溶液的配制 称取齐墩果酸标准品 27.60 mg,加甲醇溶解,定容至 100 mL,得浓度为 0.276 μg/mL 的标准溶液。

校正曲线的制备 精密吸取齐墩果酸标准溶液 100、200、300、400、500、600 μL 于具塞试管中,70 °C 干燥箱内烘干,取出冷却后,于每个试管中加新配制的 5%香草醛 - 冰醋酸溶液 0.2 mL,高氯酸 0.8 mL,置 60 °C 水浴上加热 15 min,流水冷却,加冰醋酸 5 mL,摇匀,以分光光度计在 560 nm 波长处测量吸光度值 A,将结果作统计分析得到回归方程。

1.3.2 精密度试验 连续测定齐墩果酸标准品溶液 200 μL,方法同上,共 5 次,得出相对标准偏差(RSD)。

1.3.2 试样中大豆皂苷含量的测定

试样溶液的制备

脱脂 精密称取各大豆制品 20 g,置于 250 mL 具塞三角瓶中,加入环己烷 100 mL,放置 24 h 脱脂,过滤,滤液合并,回收环己烷,脱脂后的残渣常温干燥,称重,记为脱脂后的大豆制品。

提取 精密称取脱脂后的大豆制品一定量(各为 3 g 左右),装入预先做好的滤纸和筒内,置于索氏提取器中,用甲醇提取 24 h,具体各种试样的提取时间以 Liberman - Burchard 反应阴性为度,提取结束后回收甲醇至干。

纯化 将甲醇提取浓缩后的残渣以 50% 的温水溶解混悬,上经过予处理的大孔吸附树脂 D - 101 柱,以蒸馏水洗脱至 Molish 反应阴性为止,弃去水洗脱液,更换洗脱溶剂,以 75% 乙醇洗脱至取柱端洗脱液 1 滴,在比色板上进行 Liberman - burchard 反应,反应呈阴性为止。

* 本题目为黑龙江省自然科学基金“大豆中的活性物质研究”的一部分。

¹ 张玉梅 哈尔滨医科大学九八级博士研究生

定容 合并乙醇洗脱液,减压回收丙酮,残渣以甲醇定容至 10 mL。

试样的测定 精密吸取各种试样一定体积的溶液,按校正曲线制备项下进行操作,测得 A 值,每个试样做 3 个平行样,测定。

1.2.3 加样回收率试验

分别吸取内脂豆腐、豆腐、干豆腐试样溶液 60、30、30 μL 于 3 只具塞试管中,加入精密吸取的齐墩果酸标准液 100 μL ,按校正曲线制备项下操作,测得在 560 nm 波长处的吸光度 A 值,计算回收率及相对标准偏差 RSD。

2 结果

2.1 齐墩果酸校正曲线的测定结果见表 1。

回归方程为: $y = 0.02071 + 0.00706x \quad t < 0.05$

相关系数 $r = 0.9978$

2.2 精密度试验结果为 3.34 %。

2.3 各种试样中大豆皂苷的含量测定

按文献^[6]方法计算大豆制品中大豆总皂苷的含量,其中试样中总量相当于齐墩果酸的含量,计算百分含量时乘以换算系数 2.2,结果见表 2。

2.4 加样回收率结果见表 3

表 1 齐墩果酸校正曲线的测定结果

	0	1	2	3	4	5	6	7
取样量 μL	0	100	200	300	400	500	600	700
齐墩果酸量 μg	0.0	27.6	55.2	82.8	110.4	138.0	165.6	193.2
A 值	空白	0.204	0.376	0.634	0.828	1.025	1.175	1.360

表 2 试样中大豆皂苷的含量测定结果

	臭豆腐	内脂豆腐	豆芽	豆腐	干豆腐	腐乳	广味腐乳	腐竹	日本豆腐
测定试样中齐墩果酸量 μg	300.06	96.46	91.92	120.35	81.27	83.90	105.50	79.38	68.73
试样相当于齐墩果酸量 mg	10.00	1.61	0.31	2.00	1.35	2.80	3.52	1.32	0.69
试样干燥重量 mg	3877	4502	3097	3517	3981	3174	3681	3192	3720
试样中大豆皂苷百分含量 %	0.57	0.82	0.22	1.25	0.75	1.94	2.10	0.91	0.41

表 3 加样回收率

	内脂豆腐 60 μL			豆腐 30 μL			干豆腐 30 μL		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
试样中SS量	192.92	192.92	192.92	264.77	264.77	264.77	178.79	178.79	178.79
相当 OA 量	96.46	96.46	96.46	120.35	120.35	120.35	81.27	81.27	81.27
加入 OA 量	27.60	27.60	27.60	41.40	41.40	41.40	55.20	55.20	55.20
测得 OA 量	124.01	123.03	124.70	161.41	161.06	161.26	136.02	135.72	137.19
测定加样 OA 量	27.55	26.57	28.40	41.06	40.71	40.91	54.75	54.45	55.92
回收率 %	99.81	96.27	102.90	99.18	98.33	98.34	99.18	98.64	101.30
平均回收率 %				99.33					
平均 RSD %				1.89					

4 讨论

4.1 由分析结果可见,相近的加工工艺制成的大豆制品如豆腐、干豆腐,含水量高者大豆皂苷含量较高,大豆豆腐的含量为 1.2546 %,而干豆腐的含量为 0.7485 %,二者含量相比具有明显的差异 ($P < 0.01$)。内脂豆腐中的含量也比干豆腐高,这与其中含水量高也有一定关系,而日本豆腐由于在生产中加入了其他物质,尽管其含水量高于干豆腐,但总皂苷含量却较低。

大豆皂苷易于溶解于水,加工过程中过多的漂洗、挤干会造成大豆皂苷的流失。

4.2 文献报道,发酵、发芽后的大豆制品中总皂苷的含量降低,原因在于霉菌发酵过程中使大豆皂苷发生水解作用,但我们的实验结果中臭豆腐、豆芽的含量较低,而腐乳、广味腐乳的皂苷含量较高,与报道不完全一致。

4.3 大孔吸附树脂的预处理:取大孔吸附树脂一定量,以滤纸筒包裹,置索氏提取器中,以丙酮为溶剂回流,至大孔吸附树脂洗脱液滴入蒸馏水中不再变浑浊为止,取出滤纸筒,将大孔吸附树脂以蒸馏水混悬装柱。

Lieberman - Burchard 反应:即为醋酐 - 浓硫酸反

应。取柱端滴出液 2~3 滴,滴入磁质比色板上,水浴蒸干,滴入醋酐 1~2 滴,再滴入浓硫酸 2~3 滴,阳性反应为呈现黄—红—蓝—紫的变化,阴性反应仅变为黄色。

Molish 反应:取柱端滴出液 1~2 mL 放入试管中,滴入 10% - 萘酚乙醇溶液,倾斜试管,沿管壁缓缓滴入浓硫酸约 1 mL,直立试管,在两液面交界处,阳性反应为紫色环,阴性反应则仅见浅黄色。

参考文献:

[1] T Kitagawa, et al. Histochemistry V soysaponins in soybeans [J]. Chem Pharm Bull, 1985, 33(9):1039.

[2] Philip A, Ireland, et al. Saponins content of soya and some commercial soya products by means of HPLC of the saponins[J]. J. Sci Food Agric, 1986, 37:694—698.
 [3] 卫永第,等.大豆总皂苷的部分药理作用,白求恩医科大学学报. 1996, 22(4):350—352.
 [4] 王银平,等.大豆皂苷与人参茎叶皂苷对糖尿病大鼠血 SOD 和 LPO 的影响[J]. 白求恩医科大学学报, 1994, 20(2):118—119.
 [5] Watanabe S, et al. Uptake of flavonoids and isoflavonoids from food by Japanese[C]. 16th International Congress of Nutrition, 118.
 [6] 滕燕平,张玉梅,孙学斌,等.分光光度法测定大豆总皂苷含量[J]. 中国食品卫生杂志, 2000, 4:6—10.

中图分类号:R15;TS214 文献标识码:C 文章编号:1004-8456(2001)05-0024-03

莆田市 O157 大肠杆菌的调查分析

郑荔红¹ 姚正富² 程法稷²

(1. 莆田市卫生防疫站,福建 莆田 351100;2. 莆田市城厢区卫生防疫站,福建 莆田 351100)

O157 大肠杆菌在美国、日本等发达国家多次暴发流行后,引起全球广泛重视。我们于 1997 年起采集莆田市城厢区健康畜、禽与腹泻患者粪便进行检测,先后检出 3 种类型的 O157 大肠杆菌。现报道如下。

1 材料与与方法

1.1 培养基 标本保存基采用 C-B 运送培养基,分离培养基采用山梨醇麦康凯琼脂,上述培养基及常规生化培养基等均按配方自行配制。

1.2 O157 和 H7 大肠杆菌诊断血清购自中国药品生物制品检定所及省防疫站赠送的 O157 诊断血清。

1.3 用肛拭法采集奶牛、猪、羊、鸡、鸭、鸽等粪便标本,用棉拭采集猪肉及砧板标本,用肛拭法采集腹泻患者粪便标本,置 C-B 保存基中,1~2 h 送至实验室直接划线接种于山梨醇麦康凯琼脂平板上,于 37℃ 培养 18~24 h 后,每皿挑选 3~5 个无色半透明菌落,分别与 O157 及 H7 诊断血清进行玻片凝集,对凝集阳性的菌株,再行氧化酶试验和革兰氏染色镜检以及大肠杆菌常规生化项目试验等,确定为大肠杆菌后,留种送省卫生防疫站进一步确证鉴定。

2 结果

2.1 O157 大肠杆菌的检出率 共采集各种动物标

本(含猪肉及砧板)911 份,检出 O157 大肠杆菌 24 株,平均检出率为 2.63% (表 1)。采集腹泻患者标本 118 份,检出 O157 大肠杆菌 2 株,检出率为 1.69%。

表 1 畜、禽中检出 O157 大肠杆菌情况

	猪	鸡	鸭	羊	鸽	猪肉及砧板	奶牛	合计
标本数	151	195	185	120	80	110	70	911
检出数	9	8	2	1	1	3	0	24
%	5.96	4.10	1.08	0.83	1.25	2.97	0.00	2.63

2.2 血清学鉴定结果 此次检出的 O157 大肠杆菌分为 3 种类型即:分别与 O157 及 H7 诊断血清呈强凝集阳性的有动力株“O157:H7”,O157 阳性 H7 阴性无动力株“O157:NM”,O157 阳性 H7 阴性有动力株“O157:H?”。分布情况见表 2。此外腹泻患者检出菌属 O157:H? 大肠杆菌。

表 2 3 类 O157 大肠杆菌在不同来源标本中的检出结果

	猪	鸡	鸭	羊	猪肉及砧板	合计
O157:H7	7	1				8
O157:NM	2		7		1	10
O157:H?			1	2	1	2
合计	9	1	8	2	1	24

3 讨论与小结 本调查初步反映出 O157 大肠杆菌