

## 实验技术与方法

## 热处理与大豆异黄酮苷元的转化分析

韩 慧 张加玲

(山西医科大学公共卫生学院,山西太原 030001)

**摘要:**目的 研究不同加热处理后大豆异黄酮苷元的含量和比例变化情况。方法 大豆样品经烘箱50、100和150℃烘干,微波加热5 min和炒熟等热处理后,由80%乙醇溶液超声提取,经高效液相色谱SB-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)分离,0.2%冰乙酸+甲醇溶液梯度洗脱,紫外检测器260 nm检测苷元和β-葡萄糖苷型大豆异黄酮含量。结果 黄豆中检测出黄豆苷元、染料木素2种苷元和黄豆苷、黄豆黄苷2种β-葡萄糖苷。随烘箱加热温度升高,黄豆苷元含量增加1~5倍;染料木素增加3~15倍。炒豆中苷元和β-葡萄糖苷增加量最多。微波加热与50℃烘箱加热结果基本相同。青豆、黑豆与黄豆结果相近。结论 加热使豆粉中部分糖苷型大豆异黄酮分解转化为苷元,活性成分增多,营养保健价值提高。

**关键词:**大豆异黄酮; 苷元; 高效液相色谱; 热处理

中图分类号:R151.3;R153.1;O657.72 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2010)03-0250-04

## Heat Treated Soybean and the Transformation of Soy Isoflavone Aglycone

HAN Hui, ZHANG Jia-ling

(School of Public Health, Shanxi Medical University, Shanxi Taiyuan 030001, China)

**Abstract: Objective** To analyze the change of content and ratio of isoflavone aglycones in soybeans treated by drying in oven at 50, 100 and 150 °C, microwave heating for 5 min and frying to be ripen. **Method** Extracting samples in 80% ethanol with ultrasonic wave. Soybean isoflavones were separated on an Agilent SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) and gradient eluted with a mobile phase of methanol plus 0.2% ice acetic acid. Aglycones and β-glycosides were determined by high performance liquid chromatography with ultraviolet-visible detector at 260 nm. **Results** Two kinds of aglycone (daidzein and genistein) and two kinds of β-glycoside were detected. The content of daidzein increased 1- to 5-fold, and genistein increased 3- to 15-fold when the temperature in oven was increased from 50 to 150 °C. The increase of β-glycosides and aglycones in fried soybeans was the most. The result of heating in microwave was the same as drying in oven at 50 °C. The results for green bean and black bean were similar to soybean. **Conclusion** Parts of isoflavone glycoside in soybean were transformed into aglycone by heating, and the active components were then increased and more valuable for human nutrition and health.

**Key words:** Soybean Isoflavones; Aglycone; High Performance Liquid Chromatography; Heating

大豆异黄酮是大豆中具有重要生理活性的多酚类化合物,被称为植物雌激素。因其具有多种保健功能,受到人们越来越多的关注。研究表明大豆异黄酮具有预防和改善更年期综合症、防癌抗癌(尤其与激素相关的乳腺癌和前列腺癌)、降低胆固醇、增加骨密度、抗氧化、延缓衰老和提高机体非特异性免疫等多种功能<sup>[1-4]</sup>。

大豆异黄酮分为12种<sup>[5]</sup>:3种游离型苷元(黄豆苷元、黄豆黄素和染料木素),以及对应的β-葡萄糖苷、乙酰基葡萄糖苷和丙二酰基葡萄糖苷9种结合型糖苷。大豆中大豆异黄酮含量约为千分之几<sup>[6-8]</sup>,其中易被人体吸收的活性功能成分是游离

型苷元<sup>[9,10]</sup>,仅占大豆异黄酮的2%~3%,其余的糖苷型占97%~98%,但不易被人体吸收利用。糖苷中乙酰基和丙二酰基葡萄糖苷不稳定<sup>[11]</sup>,加热后会发生转化,使大豆异黄酮苷元含量增加,大豆的营养保健价值提高。所以,研究不同温度加热及不同加热条件下大豆异黄酮苷元的转化情况,对于指导人们科学食用及充分利用大豆异黄酮具有重要意义。

## 1 材料与方法

## 1.1 仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪,紫外检测器,

收稿日期:2010-01-18

作者简介:韩 慧 女 硕士生 研究方向为卫生检验 E-mail: hanhui405@163.com

通信作者:张加玲 女 教授 硕士生导师 研究方向为卫生检验教学及研究

Agilent SB-C<sub>18</sub>柱(美国 Agilent 公司);H66025T 超声清洗机(无锡超声电子设备厂);TG332A 微量分析天平(十万分之一,湘仪天平仪器厂)。

## 1.2 试剂和材料

甲醇(色谱纯)、乙醇、冰乙酸(分析纯)、蒸馏水(电导 < 1.0 μS/cm, 0.45 μm 滤膜过滤)。

黄豆、青豆、黑豆从市场上购买。

## 1.3 标准物质

黄豆苷(daidzin)、黄豆苷元(daidzein)、染料木素(genistein)(陕西森弗生物技术有限公司);黄豆黄苷(glycitin)、黄豆黄素(glycitein)、染料木苷(genistin)(南京泽朗医药科技有限公司);含量均大于 98%。

## 1.4 标准溶液制备

分别准确称量 6 种大豆异黄酮标准物质 0.010 00 g,用甲醇溶解并分别定容于 6 个 20 ml 容量瓶中,得 500.0 μg/ml 大豆异黄酮标准储备液。用 80% 甲醇溶液将各标准储备液稀释 5 倍,得 100.0 μg/ml 标准应用液。

分别准确量取 6 种标准应用液各 1.00 ml, 80% 甲醇溶液定容至 10.00 ml, 得 10.0 μg/ml 混合标准溶液。混合标准应用液由 80% 甲醇溶液逐级稀释配制。

## 1.5 大豆异黄酮提取

将黄豆、青豆、黑豆 3 种原粒大豆分别经粉碎机充分磨碎、过筛,取粒径为 80~100 目豆粉,烘箱 50、100 和 150 °C 分别干燥约 60 min 至恒重;将 3 种豆粉于微波炉中高火档加热 5 min 后取出;将黄豆、青豆和黑豆分别加热翻炒约 15 min 至熟,制成炒豆磨碎过筛,取 80~100 目豆粉。准确称量样品 0.200 0 g 于 25 ml 容量瓶中,加入 80% 乙醇溶液 10.00 ml,震荡混匀,50 °C 超声提取 30 min,然后 3 000 r/min 离心 15 min,取上清液 1.00 ml, 80% 甲醇稀释 5 倍, 0.45 μm 滤膜过滤后进样。

## 1.6 高效液相色谱条件

色谱柱:SB-C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);柱温:35 °C;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl;紫外检测器波长:260 nm;流动相:0.2% 冰乙酸 + 甲醇;梯度洗脱程序:0~5 min, 甲醇由 20% 至 25%;5~25 min, 甲醇由 25% 至 80%;25~30 min, 甲醇由 80% 降为 20%, 结束洗脱程序。

# 2 结果

## 2.1 混合标准溶液回归方程

取 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 和 5.0 μg/ml 混合标准应用液分别进样,得大豆异黄酮标准品色谱图

(见图 1-e)。以保留时间( $t_R$ )定性、色谱峰面积定量,得各标准品回归方程,见表 1。

## 2.2 精密度与准确度

精密度实验:准确称量 0.200 0 g 黄豆粉 6 份,按方法 1.5 提取测定,4 种检测到的大豆异黄酮相对标准偏差为 1.4%~4.8%。

表 1 6 种大豆异黄酮标准品回归方程

标准品	回归方程	相关系数
黄豆苷	$y = 101.70x - 7.71$	0.9999
黄豆苷元	$y = 135.28x + 14.10$	0.9998
黄豆黄苷	$y = 75.34x - 2.08$	0.9996
黄豆黄素	$y = 132.13x + 0.04$	0.9998
染料木苷	$y = 92.79x + 2.07$	0.9999
染料木素	$y = 145.24x + 4.34$	0.9998

加标回收实验:0.200 0 g 黄豆粉中加入 25.0 μg/ml 混合标准应用液 1.00 ml,再加入 80% 乙醇溶液 9.00 ml,按方法 1.5 提取测定,得 6 种大豆异黄酮加标回收率为 87.5%~104.8%,相对标准偏差(RSD) ≤ 6.5%。

## 2.3 样品测定

样品经不同加热处理后各种大豆异黄酮单体的含量及比例计算结果见表 2。

# 3 讨论

## 3.1 大豆异黄酮苷元含量

由上表可见,黄豆中检测到 3 种苷元中的 2 种(黄豆苷元和染料木素);3 种 β-葡萄糖苷中的 2 种(黄豆苷和黄豆黄苷),未检测到黄豆黄素和染料木苷。

随烘箱加热温度升高,100 和 150 °C 加热的黄豆中黄豆苷元、染料木素含量分别是 50 °C 时的 1.9、5.5 倍和 3.6、6.9 倍;黄豆苷、黄豆黄苷含量无明显改变。

炒黄豆中黄豆苷元、染料木素、黄豆苷和黄豆黄苷含量分别为 50 °C 加热时的 5.7、16.3、1.9 和 2.0 倍,增加量最多。

微波加热与 50 °C 加热结果相近。

## 3.2 苷元与糖苷比例

黄豆的 2 种 β-葡萄糖苷中,黄豆苷含量约为黄豆黄苷的 8 倍,且不随加热温度和加热条件改变而明显变化;2 种苷元中,黄豆苷元含量为染料木素的 10~40 倍,不同加热条件下比值差异明显;50、100、150 °C 加热和炒黄豆中 2 种苷元总含量与 2 种 β-葡萄糖苷总含量的比值分别为 36:64、53:47、76:24 和 65:35,随加热温度升高,苷元比例增大。

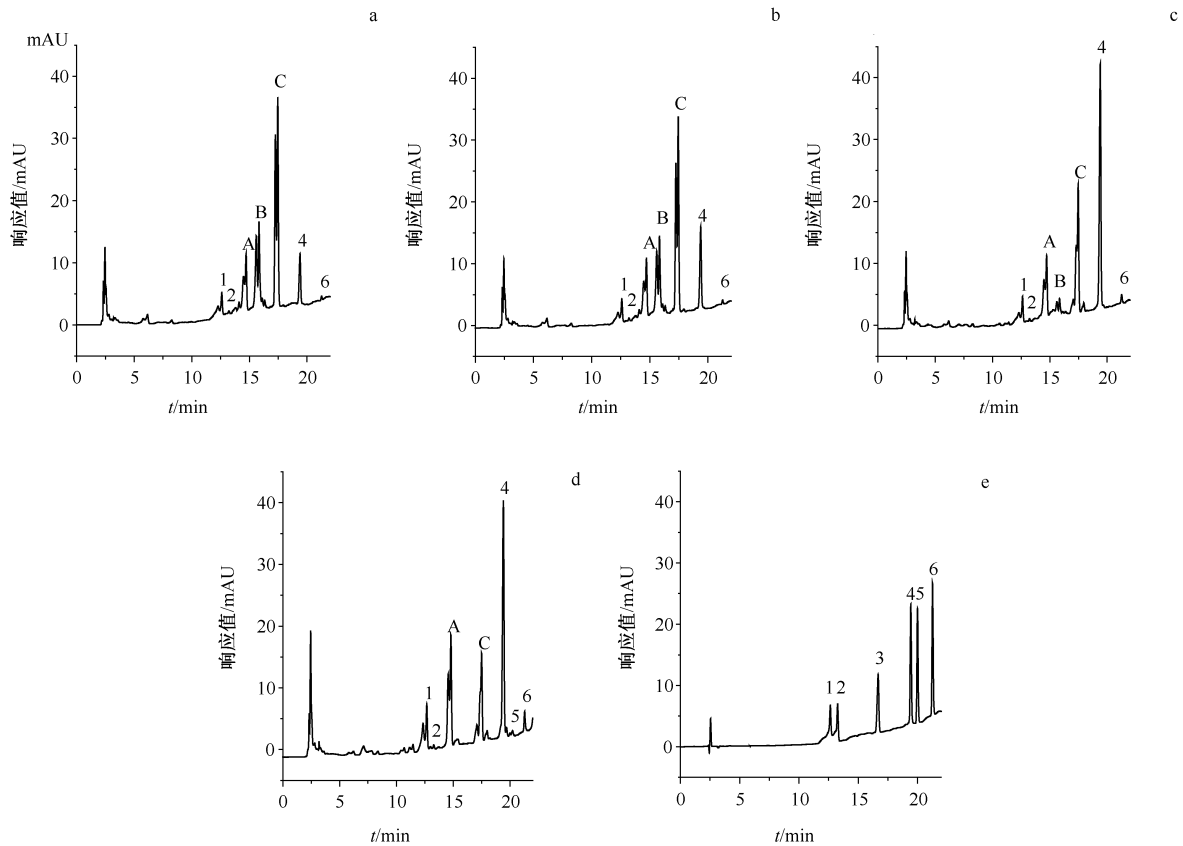
## 3.3 苷元转化来源

加热温度由 50、100 到 150 °C,黄豆苷元成倍增

表2 样品不同加热处理后大豆异黄酮各单体含量及比例结果

名称	加热处理	黄豆苷		黄豆苷元		黄豆黄苷		染料木素		总含量 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/g}$ )
		含量( $\mu\text{g/g}$ )	比例(%)	含量( $\mu\text{g/g}$ )	比例(%)	含量( $\mu\text{g/g}$ )	比例(%)	含量( $\mu\text{g/g}$ )	比例(%)	
黄豆	50 ℃	197.9	56.5	124.7	35.6	24.8	7.1	2.9	0.8	350.3
	100 ℃	190.3	41.8	231.2	50.7	23.8	5.2	10.4	2.3	455.7
	150 ℃	202.4	21.7	685.4	73.6	23.5	2.5	19.9	2.1	931.2
	炒黄豆	369.5	31.3	713.5	60.6	48.7	4.1	47.3	4.0	1179.0
	微波5 min	182.0	50.4	136.6	37.8	28.5	7.9	13.9	3.9	361.0
青豆	50 ℃	211.5	58.5	76.0	21.0	22.4	6.2	51.9	14.3	361.8
	100 ℃	175.1	42.5	145.3	35.2	24.2	5.9	67.2	16.3	411.8
	150 ℃	184.9	28.0	380.5	57.5	23.5	3.6	72.4	10.9	661.3
	炒青豆	281.5	39.3	321.0	44.9	64.7	9.0	48.3	6.8	715.5
	微波5 min	209.0	57.7	73.4	20.2	27.5	7.6	52.6	14.5	362.5
黑豆	50 ℃	156.9	34.4	90.9	19.9	-	0	208.9	45.7	456.7
	100 ℃	160.3	32.4	129.0	26.1	-	0	204.8	41.4	494.1
	150 ℃	150.0	23.6	289.4	45.4	-	0	197.4	31.0	636.8
	炒黑豆	176.1	35.1	179.8	35.8	-	0	145.9	29.1	501.8
	微波5 min	155.7	35.0	82.1	18.5	-	0	207.0	46.5	444.8

注：<sup>a</sup>表示检测到的4种大豆异黄酮含量总和。-表示未检出。



注：a为黄豆粉50 ℃加热色谱图；b为黄豆粉100 ℃加热色谱图；c为黄豆粉150 ℃加热色谱图；d为炒黄豆色谱图；e为6种大豆异黄酮混合标准溶液(1.0  $\mu\text{g/ml}$ )色谱图。色谱峰1为黄豆苷( $t_R = 12.7 \text{ min}$ )；2为黄豆黄苷( $t_R = 13.3 \text{ min}$ )；3为染料木苷( $t_R = 16.7 \text{ min}$ )；4为黄豆苷元( $t_R = 19.5 \text{ min}$ )；5为黄豆黄素( $t_R = 20.0 \text{ min}$ )；6为染料木素( $t_R = 21.3 \text{ min}$ )。

图1 黄豆样品热处理色谱图及标准混合溶液色谱图

### 3 结论

实验室间比对是目前评价实验室检测能力的重要措施,是检测、校准报告质量控制和改进的有效手段,是计量认证和实验室认可现场评审、监督评审和复评审的重要补充形式<sup>[3]</sup>。质量控制考核是实验室间比对的常用形式之一,通过对果脯中二氧化硫和色素(柠檬黄、胭脂红、日落黄、苋菜红)的含量测定结果分析来看,测定结果满意率较好,各省级检验机构仪器设备配置较为先进,检测人员素质水平较高,具有较高的检测能力和分析水平。但从可疑和不满意结果中发现,个别检测机构存在一些问题,检测结果出现较大偏差,应采取一定的整改措施,有计

划地开展机构内部质量控制工作,对整个测定环节进行监控,尤其是关键环节,鼓励检验人员定期进行质量控制方法有效性评定,不断完善质量控制体系,从而保证检测结果具有较高的准确性和可靠性。

### 参考文献

- [1] 刘培忠,王建敏,孙力. 对9个实验室质量控制考核结果的评价与分析[J]. 中国卫生质量管理,2004,11(1):43-44.
- [2] 中国实验室国家认可委员会. GB/T 15483.1—1999 利用实验室间比对的能力验证 第一部分:能力验证计划的建立和运作[S]. 北京:中国标准出版社,1999.
- [3] 董燕. 实验室间比对综述——一种有效的实验室质量监控手段[J]. 现代测量与实验室管理,2009(4):41-43.

## 监督管理

### 中国食品工业用加工助剂使用存在的问题及建议

王华丽 张俭波

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所,北京 100021)

**摘要:**目的 完善中国食品工业用加工助剂使用规定,加强对加工助剂使用的管理。方法 开展对食品加工过程中使用的加工助剂(不包括酶制剂)名称、功能、使用范围、使用量和残留量等内容的调查。结果 对调查结果进行分析,发现目前中国食品工业用加工助剂定义不够明确、纳入原则不完善和缺乏明确的使用范围和最大使用量(或残留量)等问题。结论 结合食品工业用加工助剂的调查结果,参考其他国家的管理法规,进一步完善中国食品工业用加工助剂的管理规定。

**关键词:**食品添加剂;加工助剂;问题;建议

中图分类号:TS202.3 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2010)03-0268-03

### Recommendations and Problems on Using Processing Aids in Food Industries in China

WANG Hua-li, ZHANG Jian-bo

(National Institute of Nutrition and Food Safety, China CDC, Beijing 100021, China)

**Abstract: Objective** To improve the regulations of using processing aids in food industries; and to strengthen the management of using processing aids. **Method** Carrying out investigations on processing aids (excluding enzymes) used in food industries, including the name, function, scope of application, level in use and residues etc. **Results** The problems on processing aids used in China were not clarifying in definitions, imperfection on principles of incorporation, lack of clear scope of application and the maximum level for use (or the allowed level for residues) etc. **Conclusion** Regulations for processing aids in China need to be further improved in combining the surveyed results of using processing aids in food industry with referring the regulations used in other countries.

**Key words:** Food Additives; Processing Aids; Problems; Suggestions

食品工业用加工助剂作为食品添加剂中的一

类,一般在食品加工过程中使用,且在食品终产品中基本无残留,有特殊规定的除外。在中国 GB 2760—2007《食品添加剂使用卫生标准》<sup>[1]</sup>(以下简称 GB 2760—2007)中,对加工助剂实行允许使用的

收稿日期:2009-11-20

作者简介:王华丽 女 实习研究员 研究方向为食品添加剂标准化 E-mail:whl8208@sina.com.cn