

# 发酵处理对大豆中总异黄酮含量的影响

崔力剑, 黄芸<sup>2</sup>, 詹文红<sup>2</sup>, 窦玉红<sup>1</sup>, 魏春娥<sup>1</sup>

(1. 河北医科大学中医学院, 石家庄 050091; 2. 河北医科大学生药学教研室, 石家庄 050017)

**摘要** 以大豆及其发酵制品——淡豆豉为试验对象, 总黄酮含量为指标, 染料木素为对照品, 利用染料木素与氢氧化钠产生反应, 在 271 nm 波长处有最大吸收峰, 采用紫外分光光度法测定豆豉中总异黄酮的含量。大豆与淡豆豉中总异黄酮的含量分别为 4.784 mg/g、9.884 mg/g, 结果表明发酵处理使淡豆豉中总异黄酮相对含量增加。

**关键词** 大豆; 淡豆豉; 氢氧化钠; 异黄酮; 分光光度法; 含量测定

**中图分类号** Q815 S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)04-0588-03

## EFFECT OF FERMENTATION PROCESS ON TOTAL CONTENT OF ISOFLAVONES IN SOYBEAN

CUI Li-jian<sup>1</sup>, HUANG Yun<sup>2</sup>, ZHAN Wen-hong<sup>2</sup>, DOU Yu-hong<sup>1</sup>, WEI Chun-e<sup>1</sup>

(1. *Department of Traditional Chinese Medicine, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050091;*  
2. *Department of Pharmaceutics, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017*)

**Abstract** Using Genistein as the reference substance, and based on the reaction of genistein and NaOH, which has the maxium absorption in 271nm wavelength, spectrophotometry method was used for determination of isoflavones in soybean and Semen Sojæ Preparatum. Results showed that fermentation process had much effect on the total content of isoflavones in soybean. The total content of isoflavones in soybean and Semen Sojæ Preparatum extracts was 4.784mg/g and 9.884mg/g, respectively.

**Key words** Soybean; Semen Sojæ Preparatum; NaOH; Isoflavones; Spectrophotometry; Quantitative determination

大豆是豆科植物大豆 (*Glycine max* (L.) Merr.) 的成熟种子, 淡豆豉是大豆的成熟种子和青蒿 (*Artemisia apiacea* Hance)、桑 (*Morus alba* L.) 叶等中药经发酵加工而成的制品。淡豆豉自古入药, 历版中国药典均有记载。因炮制方法的不同, 淡豆豉有的性寒, 有的微热, 具有解毒清热, 透疹解毒之功效, 适用于风热头疼, 胸闷呕吐, 痰多虚烦等症。

大豆及其发酵制品中含有的异黄酮是一类重要

的生理活性物质, 具有多种生理功能, 如降低血糖浓度调节脂代谢、抗肿瘤作用、对血管的防护作用、雌激素双向调节作用、预防骨质疏松症、较强的抗氧化活性和抗真菌活性等<sup>[1~3]</sup>。大豆及其发酵制品中有有效成分以大豆黄素 (Daidzein) 和染料木素 (Genistein) 等异黄酮类化合物为主<sup>[4,5]</sup>。但大豆发酵前后总异黄酮含量变化比较报道较少。本实验使用一种新的处理方法——利用染料木素与氢氧化钠

产生反应,溶解度增加,并在 271 nm 波长处产生最大吸收峰的特性<sup>[6]</sup>,采用紫外分光光度法在 271 nm 波长处测定大豆及淡豆豉中异黄酮的含量,并比较两者含量变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

大豆(*Glycine max* (L.) Merr.)购自石家庄市乐仁堂药店,经河北医科大学中医学院药用植物教研室严玉萍副教授鉴定为正品,留样凭证存放于河北医科大学中医学院药用植物教研室。淡豆豉(*Semen Sojae preparatum*)依照《中华人民共和国药典》一部(2005 年版)制法自制。

染料木素对照品(含量约为 98%),购自 Sigma 公司。正己烷(A. R),天津化学试剂厂;无水乙醇(A. R),天津化学试剂厂;氢氧化钠(A. R),河北辛集化工厂。

### 1.2 主要仪器

λ-2 紫外分光光度仪,美国 PE 公司;BP-190S 电子天平,德国 Sartorius 公司;RE-52A 旋转蒸发仪,上海亚荣生化仪器厂;KQ-250E 医用超声波清洗器,昆山超声仪器有限公司;QZ-2BC 真空干燥箱,天津泰斯特仪器有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 淡豆豉制备方法 淡豆豉制备方法参照文献[6]。取青蒿、桑叶各 70 g,加水煎煮,滤过,煎液拌入净大豆 1 000 g 中,待吸尽药液后,蒸透,取出稍凉,再置容器内,用煎过的桑叶、青蒿渣覆盖,闷使发酵至黄衣上遍时,取出,除去药渣,洗净,置容器内在闷 15~20 d,至充分发酵、香气溢出时,取出,略蒸,干燥,即得成品淡豆豉。

1.3.2 样品溶液制备 样品溶液制备方法参照文献[7]。取符合实验要求的大豆或淡豆豉,粉碎,过 10 目筛,精密称取 5 g。加正己烷 40 mL 超声震荡脱脂 25 min,弃去正己烷,重复一次。残渣加入 50 mL 70%乙醇溶液,85℃热回流提取 3 次,每次 1 h,收集提取液。减压回收溶剂至干,加 NaOH (0.01 mol/L)溶液溶解,定容为 250 mL,作为供试品液。精密移取供试品液 2 mL 置 100 mL 量瓶中,加 NaOH(0.01 mol/L)溶液定容至刻度,摇匀。平行操作 3 份。

1.3.3 标准曲线绘制 精密称取 120℃干燥至恒重的染料木素 10.2 mg,置 50 mL 容量瓶中,加 0.01 mol/L NaOH 溶液定容至刻度,摇匀。精密吸取此溶液 0.5,1.0,2.0,3.0,4.0 mL 分别置于 100 mL 容量瓶中,加 0.01 mol/L NaOH 定容至刻度,摇匀,以 0.01 mol/L NaOH 溶液为空白溶液,在 271 nm 处测吸收度。以吸收度(Y)为纵坐标,染料木素浓度(μg/mL)(X)为横坐标绘制标准曲线,结果表明染料木素浓度与吸收度呈良好线性关系。回归方程为  $Y = 0.1698X + 0.0059$ ,  $r = 1.0000$ 。

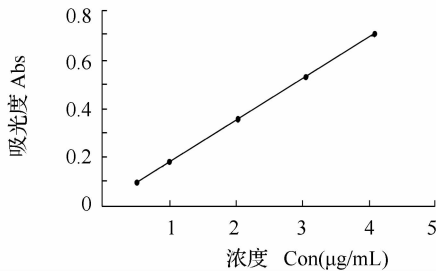


图 1 染料木素标准曲线

Fig. 1 Standard curve of genistein

1.3.4 样品测定 以 0.01 mol/L NaOH 溶液为空白溶液,在 271 nm 处测吸收度。每个样品重复测定 2 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 溶剂的选择

染料木素具有强疏水性,难溶于水、稀盐酸等,微溶于甲醇、乙醇。根据染料木素及异黄酮类化合物(结构中含有酚羟基呈现弱酸性,易溶于稀碱)的特性,选择稀氢氧化钠(0.01mol/L)溶液溶解大豆提取物中异黄酮类化合物,是简便可行的。

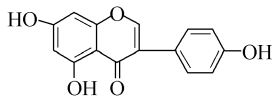


图 2 染料木素化学结构式

Fig. 2 Chemical structural formula of genistein

### 2.2 波长选择

经过对照品紫外扫描图谱得知,最大吸收峰在 271 nm,且最大吸收峰周围干扰较小,将 271 nm 作为测定波长。染料木素在 0.01 mol/L NaOH 溶液中紫外扫描图见图 3。

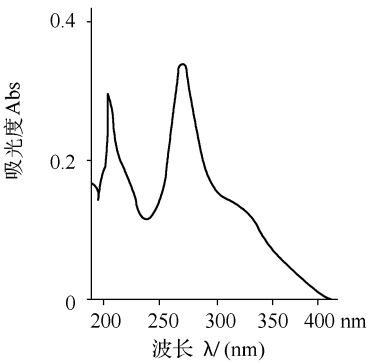


图3 染料木素紫外扫描图  
Fig. 3 UV spectra of genistein

2.3 线性关系考察

染料木素在 0.51—4.08  $\mu\text{g/mL}$  范围呈良好线

性关系(见图 1),相关系数  $r=1.00$ ,测定上限可达  $8.0\ \mu\text{g/mL}$ ,下限为  $0.2\ \mu\text{g/mL}$ 。

2.4 回收率试验

精密吸取标准品溶液 25、50、25、50、25  $\mu\text{L}$ ,分别置 5 只 5 mL 容量瓶中,再分别精密加入大豆供试液 300  $\mu\text{L}$  或淡豆豉供试液 150  $\mu\text{L}$ ,0.01 mol/L NaOH 定容至刻度,摇匀,按“1.3.4”项操作,计算回收率,结果平均回收率见表 1。

2.5 精密度试验

精密吸取标准品溶液 100  $\mu\text{L}$ ,分别置 5 只 5 mL 容量瓶中,加 0.01 mol/L NaOH 定容至刻度,摇匀,按“1.3.4”项操作,测定吸收度,RSD 为 1.9%。

表1 加样回收率  
Table 1 Recovery test

编号 No.	加入量 Added( $\mu\text{g}$ )	大豆 Soybean		淡豆豉 Prepared soybean	
		测定值	回收率	测定值	回收率
		Determined( $\mu\text{g}$ )	Recovery(%)	Determined( $\mu\text{g}$ )	Recovery(%)
1	2.55	2.49	99.2	2.49	97.6
2	5.10	5.21	102.2	5.07	101.2
3	2.55	2.59	101.6	2.47	96.9
4	5.10	5.01	98.2	4.98	99.4
5	2.55	2.63	103.1	2.59	102.0
平均回收率		100.9		99.3	
Average recovery(%)					
RSD(%)		2.0(n=5)		2.1(n=5)	

2.6 样品测定

取已制备好的三份样品溶液测定,每份样品按“1.3.4”项测定 2 次,以染料木素计量异黄酮含量,所得结果如表 2。

表2 样品中总异黄酮含量  
Table 2 The content of isoflavones in samples

编号 No.	大豆 Soybean		淡豆豉 Prepared soybean	
	吸光度 Absorbency	含量 Content(mg/g)	吸光度 Absorbency	含量 Content(mg/g)
1	0.332	4.801	0.679	9.943
2	0.341	4.934	0.661	9.662
3	0.321	4.639	0.682	9.987
4	0.327	4.728	0.691	10.120
5	0.338	4.890	0.682	9.987
6	0.326	4.713	0.656	9.603
平均含量 Averge(mg/g)		4.784	9.884	
RSD(%)		2.4(n=6)	1.9(n=6)	

3 结论

在试验过程中,采用稀碱溶液溶解异黄酮,增加了异黄酮的溶解度,使得豆豉中异黄酮含量测定准确度大大提高。同时由于豆豉中异黄酮与碱发生反应,使得其最大吸收波长发生红移,紫外吸收峰远离末端吸收,也提高了豆豉中异黄酮含量测定准确度。

不同品种、产地、贮存时间等因素对大豆异黄酮的含量有明显影响,因此应选用同一品种同一批次的原料做对比研究,否则实验误差较大。本试验选用购于 2006 年 4 月同一批大豆作为试验材料。

通过对大豆及淡豆豉中总异黄酮含量比较发现,发酵处理能大大增加淡豆豉中总异黄酮相对含量。这可能是大豆在发酵过程中微生物消耗了大豆中部分蛋白质和淀粉,而大豆次生代谢产物损失较

ence,1987,52:128—131.

[4] 唐传核,彭志英. 大豆蛋白水解物的苦肽以及脱出方法进展[J]. 中国油脂,2000,25(6):1673.

[5] 陈海敏,华欲飞. 大豆蛋白产品的功能及在化妆品中的应用[J]. 日用化学工业,2000,12(6):626.

[6] 刘玉环,蒋启海. 耐水性大豆基木材胶粘剂两步法工艺研究[J]. 大豆科学,2006,3:259—264.

[7] Dong QZ, You—Lo Hsieh. Acrylonitrile graft copolymerization of casein proteins for enhanced solubility and thermal properties [J]. Journal of Applied Polymer Science,2000,77: 2543—2551.

[8] Bhalchandra S, Lele, Hironobu Murata, Krzysztof Matyjaszewski. Synthesis of uniform protein—polymer conjugates [J]. Biomacromolecules,2005,6:3380—3387.

[9] Dong LX, Yang C, Liu XY. Graft polymerization of styrene on soy protein isolate [J]. Journal of Applied Polymer Science,2005, 98:1457.

[10] 徐玉兰,杨成,刘晓亚,等. 大豆分离蛋白的酶水解[J]. 应用化学,2005,22:557—559.

(上接 590 页)

少,从而发酵豆制品总异黄酮相对含量增加。大豆中总异黄酮具有增强免疫、抗氧化、延缓衰老、改善心功能状态、抗癌等广泛的药理作用。所以加强对大豆发酵制品的开发与研究,有较强的现实意义。

参 考 文 献

[1] 牛丽颖,王鑫国,葛喜珍,等. 淡豆豉提取物降糖有效部位研究[J]. 中药药理与临床,2002,20(5):21—22.

[2] 王鑫国,葛喜珍,白霞,等. 淡豆豉对去卵巢大鼠脂代谢的影响[J]. 中药材,26(9),652—654.

[3] C. Lee Holder, Mona I. Churchwell, Daniel R. Doerge. Quantification of Soy Isoflavones, Genistein and Conjugates in Rat Blood Using LC/ES—MS[J]. Agric Food Chem.,1999,47:3764—3770.

[4] 崔力剑,黄芸,杜淑娟,等. 紫外分光光度法测定淡豆豉中异黄酮的含量[J]. 河北中医药学报,2004,19(3):32—33.

[5] 袁金斌,卢建中. 紫外分光光度法测定大豆总异黄酮的含量[J]. 大豆科学,2004,23 (2):147—150.

[6] 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:化学工业出版社,2005:230.

[7] 窦玉红,崔力剑,黄芸,等. 正交设计优选淡豆豉中总异黄酮的提取工艺[J]. 河北中医药学报,2006,21(2):33—35.

中国农技推广网.cn 重点推荐技术

黑龙江、吉林省和高寒地区,大豆收获可提早 20 日以上  
防病虫,抗低温、干旱、水涝、抗早衰,无瘪荚虫荚

增强大豆授粉受精超常规增产

用奇农素 1 袋(10 克)+赤霉素 1/4 袋(0.25 克)+硼肥 100 克(二两)或硼砂 50 克(一两)+尿素 50 克(一两),加水 15 公斤左右(约一喷雾器)喷苗。同时应加杀虫药。该混合液应从初开花期开始,每 10 天左右一次,连喷 2—3 次,喷时要将枝梢花朵全喷到,不能只喷上部叶面。使荚果饱满肥大,无干枯荚,无瘪荚,无虫荚,无虫粒。能抗御高温干旱和低温冷害对授粉的影响,大豆荚无瘪荚虫荚,籽粒饱满,产量可翻番,甚至更多。在黑龙江省、吉林省和高寒地区,显著促早熟,早收获 20 天以上。

玉米、水稻和土豆

增强抗干旱、低温、水涝,增强授粉受精,可提早收获 15 日以上。玉米几乎无秃尖,水稻、小麦几乎无秕壳,增产 100~150 公斤/667 m<sup>2</sup>。土豆产量可翻番,个大且均匀。

轻松防治各种病害、虫害和草害

轻松解除肥料、农药和除草剂的残毒

可节约肥料、农药和人工 60%以上

感兴趣者来电话或来信,本公司免费赠送少量试验样品和技术资料,以验证其效果,希望合作愉快。

重庆神农科技开发有限公司

地址:重庆市高新区渝州路 50 号                      邮编:400039

电话:023—68636321 68699972                      技术咨询电话:0916—5515214(晚上)

节假日电话:023—68601660                      网址:重庆神农.cn 或 www.cqsnt.com