

反相高效液相色谱法测定大豆籽粒中异黄酮含量的方法研究

李为喜, 刘 方, 李 燕, 刘三才, 朱志华

(中国农业科学院作物科学研究所, 国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程, 农业部作物品种资源监督检验测试中心, 北京 100081)

摘 要:大豆异黄酮是一类具有特殊生理活性物质。研究并建立了应用反相高效液相色谱法测定大豆籽粒中黄豆苷、黄豆黄素苷和染料木苷 3 种异黄酮成分含量的检测方法。同时, 运用统计学原理对建立的大豆异黄酮测定方法进行了系统、全面的分析和评价。结果表明: 黄豆苷、黄豆黄素苷和染料木苷线性范围分别为 $1.25 \sim 20.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $0.625 \sim 10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $1.25 \sim 20.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 回收率范围为 97.1%~99.5%; 重复性测定的相对相差均低于 5%; 不同实验室对黄豆苷、黄豆黄素苷和染料木苷测定的相对标准偏差分别为 1.15%~3.42%、2.44%~4.84% 和 1.43%~3.06%。上述结果说明该方法的线性、准确度、精密性、同一实验室重复性和多家实验室的再现性评价结果优良, 适合作为国家农业行业标准的制定和实施。

关键词:反相高效液相色谱法; 黄豆苷; 染料木苷; 黄豆黄素苷; 行业标准

中图分类号:S565.1, Q501 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2008)05-0828-05

Determination of Isoflavone Content in Soybean by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography

LI Wei-xi, LIU Fang, LI Yan, LIU San-cai, ZHU Zhi-hua

(The National Key Facilities for Crop Genetic Resources and Improvement, Institute of Crop Science, CAAS, The Supervision and Testing Center for Crop Germplasm Resources, MOA, Beijing 100081, China)

Abstract: Isoflavone is a group of special biofunctional substance. In this paper, a method determining isoflavone including Daidzin, Glycitin and Genistin by Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC) was investigated and erected. Meanwhile, the isoflavone determination method was analysed as well as evaluated wholly and systematically by statistical technique. The results showed that the linear range of Daidzin, Glycitin and Genistin was $1.25 \sim 20.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $0.625 \sim 10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $1.25 \sim 20.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, respectively; the recovery range was 97.1%~99.5%; the relative deviation of repeatable test was below 5%; the relative standard deviation of Daidzin, Glycitin and Genistin among different labs was 1.15%~3.42%, 2.44%~4.84% and 1.43%~3.06%, respectively. It showed from the above analysis that this method possessed good linearity, good quality of accuracy, precision, repeatability in one lab and reproducibility among labs. Therefore, this method was proved to be suitable for erecting and implementing a national agricultural standard.

Key words: RP-HPLC; Daidzin; Genistin; Glycitin; Agricultural standard

大豆籽粒中富含多酚类化合物——异黄酮, 这类化合物是具有特殊生理活性的次生类代谢产物。现已发现的大豆异黄酮有 12 种, 主要包括苷元型 (Aglycon) 和糖苷型 (Glucosides) 两类。研究表明, 大豆籽粒中异黄酮具有弱雌性激素活性、抗氧化活性和抗溶血活性, 异黄酮的这些生理活性特征与人体防治癌症、防治骨质疏松症、防治心血管疾病有着密切的关系^[1-3]。因此, 大豆异黄酮被称为大豆

“软黄金”。国际上特别是美国和日本早已开始了大豆异黄酮的研究开发和生产。美国于 1999 年在加州建立了第一家年产量 180 t 的大豆异黄酮的工厂—ADM 公司, 每年产值 8 000 多万美元, 日本的フヅツユ、不二制油等公司也已经向市场推出了各自的大豆异黄酮的商品。

目前, 大豆异黄酮含量测定方法主要包括高效液相色谱法、分光光度法和毛细管电泳法等, 而高效

收稿日期: 2008-05-23

基金项目: 农业部保种项目 (NB05-070401-26-8); 农业行业标准制 (修) 订项目 (05253); 国家植物种质资源共享平台建设资助项目 (2005DKA21001-07); 中央级科研单位基本科研基金资助项目。

作者简介: 李为喜 (1975-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事作物种质资源营养成分及检测技术研究。E-mail: aoccg@ sina.com。

通讯作者: 朱志华, 研究员。E-mail: zhihuazhu@mail.caas.net.cn。

液相色谱法成为近年来大豆异黄酮含量研究广泛采用和重点关注的方法^[4-6],但至今国内尚未建立适用性强、易于大批检测、评价用的大豆籽粒异黄酮含量的测定技术,这在一定程度上限制了大豆异黄酮的研究和产品开发。研究利用高效液相色谱技术对大豆籽粒中黄豆苷、染料木苷和黄豆黄素苷进行定性和定量的分析方法,并对测定方法体系进行了较为系统地考察和评价,从而为制定我国大豆异黄酮检测方法标准提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选取当年种植且推广面积较大的 36 个大豆品种作为试验试样。

1.2 主要仪器

高效液相色谱仪附带紫外检测器(Waters 2695);恒温水浴振荡器;Retsch 粉碎机;康氏振荡器。

1.3 试剂和标准品

试剂:甲醇、冰乙酸,均为色谱纯;氢氧化钠,分析纯。

标准品:黄豆苷(Daidzin)、染料木苷(Genistin)和黄豆黄素苷(Glycitin)(购自Sigma公司)。

1.4 色谱条件

Symmetry C18 反相柱;流动相 A:甲醇+冰乙酸(98+2);流动相 B:水+甲醇+冰乙酸(88+10+2);流速:0.8 mL·min⁻¹;检测波长:260 nm;进样量:20 μL。梯度洗脱程序表见表 1。

表 1 梯度洗脱程序表

Table 1 The schedule of step rinsing program

阶段 Step	时间 Time/min	流速 Velocity/mL	流动相 A Phase A/%	流动相 B Phase B/%
1	0	0.8	5.0	95.0
2	13.0	0.8	5.0	95.0
3	17.0	0.8	40.0	60.0
4	30.0	0.8	40.0	60.0
5	31.0	0.8	95.0	5.0
6	36.0	0.8	95.0	5.0
7	37.0	0.8	5.0	95.0
8	40.0	0.8	5.0	95.0

1.5 样品制备及试样处理

去除大豆籽粒样品中杂质,取 50 g 样品置于样品磨中粉碎,至全部通过 0.5 mm 孔径样品筛。

称取试样 2.0~2.5 g(精确至 0.0001 g),置于

250 mL 具塞三角瓶中,加入 80% 甲醇溶液 40 mL,盖紧瓶塞,用铝箔将瓶口封上,将三角瓶置于(65±2)℃的恒温水浴振荡器中,在(180±10)r·min⁻¹的振荡频率下振摇 2 h。

取出三角瓶放置至室温,加入 2 mol·L⁻¹氢氧化钠溶液 3 mL,盖紧瓶塞,用铝箔将瓶口封上,置于康氏振荡器上,室温下振摇 10 min 后,取下三角瓶,加入 1 mL 冰乙酸并充分混匀,将全部试液转入 50 mL 容量瓶中,用 80% 甲醇溶液稀释至刻度。过滤,量取 2.5 mL 滤液置于 10 mL 容量瓶中,加入 4 mL 水,用甲醇稀释至刻度,摇匀,离心,取上清液置于样品瓶中,待测定。

1.6 标准溶液的配制

标准贮备液的配制:称取 5 mg 黄豆苷、5 mg 染料木苷、5 mg 黄豆黄素苷,精确至 0.01 mg,分别置于 50 mL 容量瓶中,用甲醇溶解,稀释至刻度。

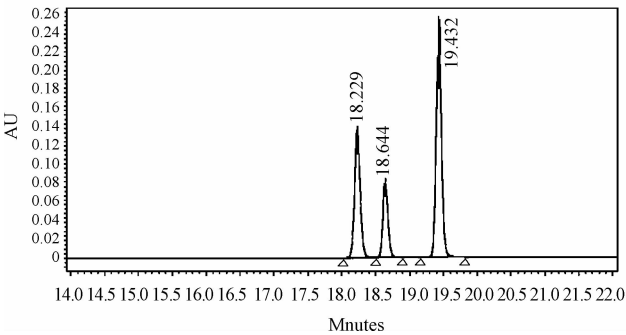
混合标准液配制:分别吸取单个贮备标准溶液 1 mL 置于同一个 100 mL 容量瓶中,加入 50% 的甲醇溶液稀释至刻度。

标准工作液配制:使用前,将混合标准溶液用 50% 甲醇溶液稀释成所需浓度的标准工作液,绘制标准曲线。

2 结果与分析

2.1 标准品和试样色谱图

采用了梯度洗脱的方法,应用上述色谱条件可使黄豆苷、黄豆黄素苷和染料木苷达到基线分离,从而保证了定量分析的准确度。标样和样品中异黄酮组分的色谱图见图 1 和图 2。从所有样品色谱图中



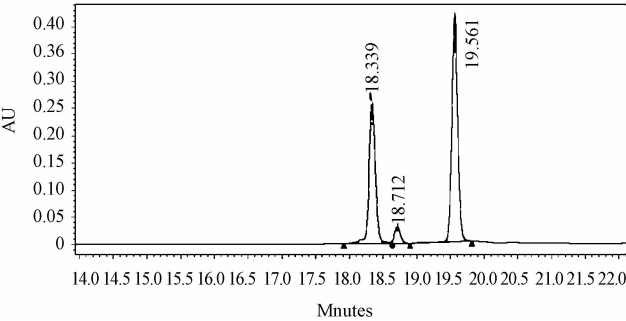
由左起依次为:黄豆苷、黄豆黄素苷、染料木苷。

From left it is Daidzin, Glycitin, Genistin

图 1 异黄酮混合标样色谱图

Fig. 1 The chromatogram of isoflavone mixing standards

可以发现,大豆籽粒中主要包含黄豆苷、黄豆黄素苷、染料木苷三种糖苷型异黄酮成分。



由左起依次为:黄豆苷、黄豆黄素苷、染料木苷
From left it is Daidzin, Glycitin, Genistin
图2 样品中异黄酮各组分色谱图

Fig.2 The chromatogram of isoflavone components in soy sample

2.2 标准曲线的绘制

按照上述色谱条件,将标准工作液注入液相色谱仪,以色谱峰面积为横坐标、异黄酮组分的浓度作为纵坐标绘制标准曲线,计算回归方程。从表2可以看出,三种异黄酮组分线性范围较宽,相关性良好。

表2 标准曲线相关数据

Table 2 The relative results of standard curve

组分 Component	回归方程 Regression equation	线性范围 Linear range	相关系数 Correlative coefficient
黄豆苷 Daidzin	$Y = 1.044 \times 10^{-5} X - 0.5407$	1.25 - 20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.9999
黄豆黄素苷 Glycitin	$Y = 9.586 \times 10^{-6} X - 0.1939$	0.625 - 10.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.9999
染料木苷 Genistin	$Y = 5.561 \times 10^{-6} X + 0.2783$	1.25 - 20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	0.9996

2.3 准确度评价

采用添加回收率验证测定准确度。选定3个大豆样品,每个大豆样品分别加入不同浓度的黄豆苷、黄豆黄素苷和染料木苷,按照上述方法进行提取并进行测定,将黄豆苷、黄豆黄素苷和染料木苷加标后测定的质量减去样品中原有异黄酮的质量,再除以添加标准品的质量即为添加回收率。从表3可以看出,此方法的回收率在97.1%~99.5%之间,满足了色谱分析方法的基本要求,说明此方法测定异黄酮均具有较高的准确度。

表3 方法添加回收率试验结果

Table 3 The results of fortified recovery test

编号 Code	组分 Component	原有质量 Original mass/mg	添加质量 Fortified mass/mg	加标测定结果 Mass after fortification/mg	回收率 Recovery /%
8	黄豆苷 Daidzin	1.776	1.70	3.311	90.3
	黄豆黄素苷 Glycitin	0.3522	0.350	0.6658	89.6
	染料木苷 Genistin	1.813	1.80	3.564	97.3
14	黄豆苷 Daidzin	2.774	2.70	5.431	98.4
	黄豆黄素苷 Glycitin	0.4398	0.40	0.8226	95.7
	染料木苷 Genistin	2.673	2.60	5.086	92.8
25	黄豆苷 Daidzin	4.721	4.70	9.275	96.9
	黄豆黄素苷 Glycitin	0.8015	0.80	1.546	93.1
	染料木苷 Genistin	4.782	4.70	9.741	105.5

2.4 精密度评价

通过多次重复实验验证此方法的精密度。安排同一实验员按照上述方法对选定的3个试样(每个试样3个组分)进行7次平行测定,并通过狄克逊(Dixon)准则检验是否存在异常值^[7]。从表4统计分析结果可以看出,统计分量 f_0 和 f_7 的数值均小于Dixon准则的查表值 $f_{(0.05,7)}$,说明3个试样中的所有异黄酮组分的测定值通过Dixon准则检验均为非异常值,表明该方法的精密度较好。

2.5 重复性评价

为了验证此方法的重复性,选定不同操作人员对相同的3个试样(每个试样3个组分)进行测定并比较试验结果,从而验证该方法在同一个实验室的重复性,结果见表5。

从表5可以看出,3个试样中黄豆苷相对相差从0.71%~3.22%不等;黄豆黄素苷相对相差从1.30%~4.02%不等;染料木苷相对相差从1.35%~4.14%不等;相对相差均低于5%,说明此方法的重复性良好。

表 4 精密度结果
Table 4 The results of precision test

编号 Code	组分 Component	测定结果 Test results/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			平均值 Average $/\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	极差 Exe. Aver. $/\mu \cdot \text{g}^{-1}$	狄克逊检验 Statistics	狄克逊判定 Statistic results
33	黄豆苷 Daidzin	1481.09	1485.79	1480.12	1483.32	7.88	$f_0 = 0.083$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		1485.01	1480.78	1482.46			$f_7 = 0.280$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		1488.00					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
	黄豆黄素苷 Glycitin	144.14	142.71	143.83	143.55	1.50	$f_0 = 0.054$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		142.64	143.79	144.05			$f_7 = 0.008$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		143.69					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
	染料木苷 Genistin	1477.16	1480.18	1485.36	1482.94	10.68	$f_0 = 0.267$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		1487.32	1480.01	1487.84			$f_7 = 0.048$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		1482.70					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
34	黄豆苷 Daidzin	1180.28	1181.15	1181.63	1181.26	3.21	$f_0 = 0.115$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		1179.91	1181.18	1181.55			$f_7 = 0.462$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		1183.12					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
	黄豆黄素苷 Glycitin	167.92	167.13	168.26	168.01	1.62	$f_0 = 0.440$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		167.84	168.17	167.96			$f_7 = 0.301$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		168.75					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
	染料木苷 Genistin	1202.13	1198.14	1201.57	1204.65	12.86	$f_0 = 0.267$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		1209.89	1203.43	1211.00			$f_7 = 0.086$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		1206.41					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
35	黄豆苷 Daidzin	1081.95	1079.31	1079.29	1079.33	5.82	$f_0 = 0.215$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		1081.36	1079.93	1077.38			$f_7 = 0.101$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		1076.13					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
	黄豆黄素苷 Glycitin	187.97	188.54		188.26	0.65	$f_0 = 0.124$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		188.54	187.89	188.17			$f_7 = 0.001$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		188.19					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	
	染料木苷 Genistin	1239.52	1237.78	1237.09	1236.27	5.43	$f_0 = 0.037$	$f_0 < f_{(0.05,7)}$
		1234.09	1236.02	1234.29			$f_7 = 0.320$	$f_7 < f_{(0.05,7)}$
		1235.08					$f_{(0.05,7)} = 0.569$	

表 5 不同操作人员之间重复性试验结果
Table 5 The results of repetitive test by different operators

编号 code	组分 Component	测定结果 Contents/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$			相对相差 Relative deviation/%
		A	B	平均值 Average	
10	黄豆苷 Daidzin	661.68	640.70	651.19	3.22
	黄豆黄素苷 Glycitin	130.21	135.55	132.88	4.02
	染料木苷 Genistin	711.38	721.02	716.20	1.35
11	黄豆苷 Daidzin	532.77	544.66	538.72	2.21
	黄豆黄素苷 Glycitin	158.88	154.05	156.46	3.09
	染料木苷 Genistin	627.88	636.60	632.24	1.38
12	黄豆苷 Daidzin	1338.64	1329.20	1333.92	0.71
	黄豆黄素苷 Glycitin	175.08	177.37	176.23	1.30
	染料木苷 Genistin	1313.23	1368.76	1340.99	4.14

2.6 再现性评价

随机选定 5 个试样分发给 5 家实验室,进行试验
室内间比对试验,考察此方法在不同实验室的再现性

(表 6)。参加比对的实验室(A-E)分别为:农业部作
物品种资源监督检验测试中心、农业部蔬菜品质监督
检验测试中心(北京)、中国农科院饲料研究所分析

测试中心、农业部蜂产品质量监督检验测试中心(北京)、中国农科院质量标准与检测技术研究所。

表6 不同实验室间再现性结果

Table 6 The results of reproductive test among different Labs

编号 Code	组分 Component	测定结果 Contents/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$					平均值 Average	相对标准偏差 RSD/%
		A	B	C	D	E		
8	黄豆苷 Daidzin	895.94	840.62	878.62	924.03	886.75	885.19	3.42
	黄豆黄素苷 Glycitin	169.88	175.40	176.11	165.87	172.33	171.92	2.44
	染料木苷 Genistin	936.37	967.40	987.33	960.45	940.19	958.35	2.18
12	黄豆苷 Daidzin	1340.46	1378.71	1369.86	1342.58	1352.35	1356.79	1.24
	黄豆黄素苷 Glycitin	176.87	170.66	185.32	172.48	183.53	177.77	3.66
	染料木苷 Genistin	1383.23	1354.13	1375.65	1409.10	1322.18	1368.86	2.39
14	黄豆苷 Daidzin	1387.55	1392.48	1413.37	1425.09	1385.93	1400.88	1.34
	黄豆黄素苷 Glycitin	197.24	204.75	219.19	194.79	210.35	205.26	4.84
	染料木苷 Genistin	1303.98	1299.39	1231.70	1222.27	1286.52	1268.77	3.06
24	黄豆苷 Daidzin	1678.84	1649.53	1643.73	1659.56	1688.76	1664.08	1.15
	黄豆黄素苷 Glycitin	284.48	274.5	259.61	265.45	279.62	272.73	3.73
	染料木苷 Genistin	1854.47	1873.63	1835.84	1815.62	1884.95	1852.90	1.51
25	黄豆苷 Daidzin	2289.78	2243.64	2264.54	2213.58	2223.36	2246.98	1.38
	黄豆黄素苷 Glycitin	365.67	396.38	400.76	367.93	366.52	379.45	4.62
	染料木苷 Genistin	2384.74	2314.24	2350.56	2397.08	2339.90	2357.30	1.43

RSD;Relative standard deviation

从表6可以看出,5个试样中的黄豆苷含量的相对标准偏差在1.15%~3.42%之间;黄豆黄素苷含量的相对标准偏差在2.44%~4.84%之间;染料木苷含量的相对标准偏差在1.43%~3.06%之间。结果表明,不同实验室对大豆试样中异黄酮组分测定的再现性良好。

3 讨论

3.1 大豆异黄酮成分组成和含量变化

在已发现的12种大豆异黄酮成分中,糖苷的总量占有绝对的比例^[8]。但是,当大豆经过不同途径加工制成各类制品后,大豆异黄酮各种组分比例变化较大,以大豆发酵食品为例,加工后的制品中苷元总量增加几十倍^[9]。对36个大豆推广品种异黄酮含量的研究发现,大豆籽粒中主要包含黄豆苷、黄豆黄素苷、染料木苷3种糖苷型异黄酮成分;黄豆苷、黄豆黄素苷、染料木苷含量范围分别为421.3~2396.2 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 68.9~398.1 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 599.1~3181.4 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。此方法最低检出限为20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$,这与国外学者报道一致^[5]。

3.2 大豆异黄酮测定方法标准的制定

建立反相高效液相色谱技术测定大豆籽粒中异黄酮含量的分析方法,同时,运用统计学基本原理较

为系统地考察和评价了大豆籽粒中异黄酮测定方法的准确度、精密度、重复性和再现性等。所有评价结果和统计数据表明,该方法具备了科学性、适用性和广泛性的特点,能够制定行业标准方法实施,从而为大豆异黄酮研究和产品研发提供技术标准支撑。

致 谢:感谢以下单位在试验材料提供和实验室比对试验中提供了热情的帮助:农业部大豆及大豆制品质量监督检验测试中心;中国农科院质量标准与检测技术研究所;农业部蔬菜品质监督检验测试中心(北京);农业部蜂产品质量监督检验测试中心(北京);中国农科院饲料研究所分析测试中心。

参考文献

[1] 谢明杰,高爽,邹翠霞,等.大豆异黄酮生理功能研究进展[J].食品与发酵工业,2004,30(5):94-98. (Xie M J, Gao S, Zou CX, et al. The physiology functions of soybean isoflavones[J]. Food and Fermentation Industries, 2004, 30(5): 94-98.)

[2] Guo Y, Wang S, Hoot D R, et al. Suppression of VEGF-mediated autocrine and paracrine interactions between prostate cancer cells and vascular endothelial cells by soy isoflavones[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18(6): 408-417.

[3] Nestel P, Fuji A, Zhang L. An isoflavone metabolite reduces arterial stiffness and blood pressure in overweight men and postmenopausal women[J]. Atherosclerosis, 2007, 192(1): 184-189.

参考文献

- [1] 邱丽娟,常汝镇.大豆种质资源描述规范和数据标准[M].北京:中国农业出版社,2006. (Qiu L J, Chang R Z. Descriptors and data standard for soybean (*Glycine* spp.) [M]. Beijing: Agricultural Press, 2006.)
- [2] 李卫东,张孟臣.黄淮海夏大豆及品种参数[M].北京:中国农业科学技术出版社,2006. (Li W D, Zhang M C. Summer soybean variation in Huanghuaihai distinct [M]. Beijing: China Agricultural Science Press, 2006.)
- [3] Xu Y B, Crouch J H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publications to practice [J]. Crop Science, 2008, 48: 391-407.
- [4] Li Z K, Fu B Y, Gao Y M, et al. Genome-wide introgression lines and their use in genetic and molecular dissection of complex phenotypes in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Molecular Biology, 2005, 59: 33-52.
- [5] Blanco M, Villarroya I. NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2002, 21 (4): 240-250.
- [6] 刘晓庚.近红外光谱技术在粮油储藏及其品质分析中的应用[J].粮食储藏,2007(1):29-35. (Liu X G. Application of the near infrared spectroscopy (NIRS) in food and oil storage and its quality analysis [J]. Food Storage, 2007(1): 29-35.)
- [7] 姚鑫淼,张瑞英,李霞辉,等.近红外透射光谱法(NITS)分析大豆品质的研究[J].大豆科学,2006,25(4):417-424. (Yao X M, Zhang R Y, Li X H, et al. Study on analysis of soybean quality by near infrared transmittance spectroscopy [J]. Soybean Science, 2006, 25(4): 417-424.)
- [8] 李君霞,张洪亮,严衍禄,等.水稻蛋白质近红外定量模型的创建及在育种中的应用[J].中国农业科学,2006,39:836-841. (Li J X, Zhang H L, Yan Y L, et al. Establishment of math models of NIRS analysis for protein contents in seed and its application in rice breeding [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39: 836-841.)
- [9] Delwiche S R. Protein content of single kernels of wheat by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. Journal of Cereal Science, 1998, 27: 241-254.
- [10] 魏良明,严衍禄,戴景瑞.近红外反射光谱测定玉米完整籽粒蛋白质和淀粉含量的研究[J].中国农业科学,2004,37:630-633. (Wei L M, Yan Y L, Dai J R. Determining protein and starch content of whole maize kernel by NIRS [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37: 630-633.)
- [11] 吴金红,张洪江,梅捍卫,等.水稻蛋白质含量 NIR 模型适配范围的研究[J].中国农业科学,2006,39(12):2435-2440. (Wu J H, Zhang H J, Mei H W, et al. Study on adaptability of NIR models of protein content in rice [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39: 2435-2440.)
- [12] 方彦,王汉宁.利用近红外光谱法测定玉米籽粒含油量的研究[J].西北农业学报,2007,16(1):111-113. (Fang Y, Wan H N. Studies on the determining of oil contents for maize kernels using near infrared spectroscopy [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2007, 16(1): 111-113.)
-
- (上接第 832 页)
- [4] 胡晓娟,黄晓书,李卫华,等.高效液相色谱法测定保健食品中的大豆异黄酮[J].分析实验室,2008,27(1):103-106. (Hu X J, Huang X S, Li W H, et al. Determination of soybean isoflavone in health food by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2008, 27(1): 103-106.)
- [5] Stephen P, Klump J. Determination of isoflavones in soy and selected foods containing soy by extraction, saponification, and liquid chromatography: collaborative study [J]. Journal of AOAC International, 2001, 84(6): 1865-1883.
- [6] 李淑云,赵福芹,李月雄.高效液相色谱法测定大豆异黄酮粉中大豆苷和染料木苷的含量[J].中国现代应用药学杂志,2007,24(8):716-717. (Li S Y, Zhao F Q, Li Y X. Determination of daidzin and genistin in soybean isoflavone flour by HPLC [J]. The Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2007, 24 (8): 716-717.)
- [7] 蒋子刚,顾雪梅.分析测试中的数理统计与质量保证[M].上海:华东化学学院出版社,1991. (Jiang Z G, Gu X M. Statistics and quality assurance in analytical testing [M]. Shanghai: East China University of Science and Technology Press, 1991.)
- [8] 郝青南,马超,马兵钢.大豆异黄酮的生理功能及其分离检测方法研究进展[J].中国医药生物技术,2007,2(5):383-386. (Hao Q N, Ma C, Ma B G. Progress of physiological function as well as separation and testing method of soybean isoflavone [J]. Chinese Medicinal Biotechnology, 2007, 2(5): 383-386.)
- [9] 潘志芬,潘开文.大豆及大豆制品中异黄酮的研究现状[J].四川农业大学学报,1999,17(2):217-223. (Pan Z F, Pan K W. Current researches on isoflavones in soybean and soybean products [J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 1999, 17 (2): 217-223.)