

淡豆豉炮制工艺中加入人参对大豆异黄酮含量的影响

张德花,王淑敏,谢兆莉,赵向国,张啸环

(长春中医药大学 药学院,吉林 长春 130117)

摘要:通过比较在传统的淡豆豉(黑豆、黄豆)发酵工艺中加入人参后大豆异黄酮的含量变化,考察人参在淡豆豉发酵过程中对大豆异黄酮含量的影响。以大豆苷、染料木苷和染料木素为测定指标,采用高效液相色谱法进行含量测定。色谱柱为 Agilent C₁₈ (150 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-水-冰醋酸(40:60:0.5);流速 0.5 mL·min⁻¹;检测波长 260 nm。结果以黄豆为原料发酵的淡豆豉,加入人参后大豆苷和染料木素的含量显著升高,染料木苷显著降低;以黑豆为原料发酵的淡豆豉,加入人参后大豆苷的含量显著降低,染料木苷和染料木素的含量显著升高。因此,淡豆豉传统发酵工艺中加入人参后,大豆异黄酮含量变化因原料不同而异。

关键词:淡豆豉;人参;大豆;高效液相;大豆苷;染料木苷;染料木素

中图分类号:R283.2

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2012)02-0288-03

Influence of Adding Ginseng to Semen Sojæ Preparatum on Content of Soybean Isoflavones

ZHANG De-hua, WANG Shu-min, XIE Zhao-li, ZHAO Xiang-guo, ZHANG Xiao-huan

(College of Pharmacy, Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130117, Jilin, China)

Abstract: To study the influence of ginseng on the content of soybean isoflavones in Semen Sojæ Preparatum during fermentation, HPLC was applied to detect daidzin, genistin and genistein on the Agilent C₁₈ column (150 mm × 4.6 mm, 5 μm) at 260 nm. The mobile phase was methanol-water-acetic acid (40:60:0.5) with flow rate of 0.5 mL·min⁻¹. Results showed that the content of daidzin, genistin and genistein increased and that of genistein decreased significantly after ginseng was added when the fermentation was carried out with yellow soybean. Whereas the content of daidzin decreased and that of genistin and genistein increased significantly after ginseng was added when the fermentation was carried out with black soybean. It could be concluded that the content of soybean isoflavones varied with soybean seed color when they were fermented with ginseng addition.

Key words: Semen Sojæ Preparatum; Ginseng; Soybean; HPLC; Daidzin; Genistin; Genistein

淡豆豉为豆科植物大豆 [*Glycine max* (L.) Merr.] 成熟种子的发酵加工品。具有解表除烦、宣发郁热之功效,可用于缓解感冒、寒热、头痛、烦躁、胸闷、虚烦不眠等症^[1]。现代研究表明淡豆豉中含有的大豆异黄酮是一类重要的生理活性物质,是苯丙烷类代谢途径的一种次生代谢产物,被称为“健康促进剂”^[2]。并具有多种生理功能,如降血糖、抗肿瘤、预防骨质疏松等^[3]。大豆异黄酮还具有类雌激素作用以及抗激素等药理作用,在医药上运用十分广泛^[4]。适当的摄入大豆异黄酮能减少患乳腺癌、结肠癌、冠心病等的发病几率^[5]。

人参为五加科植物人参 (*Panax ginseng* C. A. Mey.) 的根或根茎,具有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津养血和安神益智之功效^[1]。现代研究表

明,人参能够提高机体免疫力,预防和治疗心脑血管疾病,具有抗心肌缺血和抗休克作用,并可明显降低血糖和血脂等。淡豆豉原有发酵条件下异黄酮含量较少,该实验研究目的是通过比较在传统的淡豆豉(黑豆、黄豆)发酵工艺中加入人参后,大豆异黄酮的含量变化,考察人参在淡豆豉发酵过程中对大豆异黄酮含量的影响。为深入研究淡豆豉的发酵工艺及开发具有新功效的淡豆豉药材提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

Waters 2695 高效液相色谱仪,二级管阵列检测

收稿日期:2011-12-07

第一作者简介:张德花(1980-),女,在读硕士,研究方向为中药质量控制及标准化研究。

通讯作者:张啸环(1969-)女,副教授,从事中药饮片炮制工艺与炮制前后质量变化研究。E-mail:zxh715624@163.com。

器:美国 Waters 公司。染料木苷对照品,批号[111709-200501],大豆苷对照品,批号[111738-200501],染料木素对照品,批号[111704-200501],购于中国药品生物制品检定所。黄豆、黑豆、桑叶、青蒿和人参均购于吉林大药房。甲醇为色谱纯,水为超纯水,其它试剂均为分析纯。

1.2 淡豆豉中大豆异黄酮的 HPLC 测定方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱:Agilent(150×4.6 mm, 5 μm),安捷伦公司;流动相:甲醇-水-冰醋酸(40:60:0.5);流速:0.5 mL·min⁻¹;检测波长:260 nm;进样量:10 μL,所有样品平行测定2次,求其峰面积的平均值,根据保留时间定性,根据峰面积定量,根据标准品的标准曲线计算样品中各异黄酮成分的含量。

1.2.2 标准品溶液的制备 分别精密称取大豆苷、染料木苷和染料木素标准品,色谱甲醇定容,得标准品溶液储备液:大豆苷 0.05 mg·mL⁻¹、染料木苷 0.10 mg·mL⁻¹、染料木素 0.01 mg·mL⁻¹。

1.2.3 样品溶液的制备 样品分为8组:A,黄豆;B,以黄豆为原料用人参发酵的淡豆豉;C,以黄豆为原料用桑叶、青蒿发酵的淡豆豉;D,以黄豆为原料用人参、桑叶、青蒿发酵的淡豆豉;E,黑豆;F,以黑豆为原料用人参发酵的淡豆豉;G,以黑豆为原料用桑叶、青蒿发酵的淡豆豉;H,以黑豆为原料用人参、桑叶、青蒿发酵的淡豆豉。将各样品 60℃干燥,粉碎,过60目筛。精密称取1.0 g,置具塞试管中加入80%乙醇10 mL,混匀,超声处理10 min,3 000 r·min⁻¹离心5 min,连续提取3次,合并提取液,减压蒸干,80%乙醇定容置10 mL量瓶中,进样前用0.45 μm滤膜过滤,即得样品溶液^[6]。

2 结果与分析

2.1 检测方法的验证

2.1.1 线性关系考察 取标准品储备液1 mL,用甲醇稀释至10 mL,进样前用0.45 μm滤膜过滤,HPLC检测。以峰面积值(Y)为纵坐标,进样量(X)为横坐标,绘制标准曲线,并进行线性回归,得大豆苷、染料木苷、染料木素线性回归方程分别为: $Y = 76.029X + 21.774$, $r = 0.9997$; $Y = 125.18X + 23.666$, $r = 0.9998$; $Y = 169.65X + 33.151$, $r = 0.9999$ 。线性范围分别为0.50~10.00 μg、10.00~35.00 μg和2.00~40.0 μg。

2.1.2 精密度试验 精密吸取标准品溶液10.0 μL,

注入液相色谱仪,连续进样5次,依法测定,HPLC检测结果为:大豆苷 RSD = 0.70%;染料木苷 RSD = 0.51%;染料木素 RSD = 1.38%,表明精密度良好。

2.1.3 重现性试验 取同一批淡豆豉6份,精密称定质量分别为1.0072、1.0084、1.0057、1.0078、1.0071和1.0063 g,按1.2.3方法测定,计算样品含量。结果大豆苷含量平均为353.19 μg·g⁻¹,RSD为1.33%,染料木苷含量平均为185.70 μg·g⁻¹,RSD为1.82%,染料木素含量平均为4.87 μg·g⁻¹,RSD为2.82%,表明方法重现性良好。

2.1.4 稳定性试验 精密吸取同一供试品溶液各10.0 μL,在0、4、8、12、24 h注入液相色谱仪依法测定,大豆苷 RSD = 1.96%;染料木苷 RSD = 1.38%;染料木素 RSD = 1.81%,结果表明,样品在24 h内稳定。

2.1.5 加样回收率试验 精密称取已知含量的淡豆豉粉末6份,分别加入一定量对照品贮备液,按1.2.3方法测定,计算加样回收率。结果表明,大豆苷回收率平均为99.6%,RSD为0.83%;染料木苷回收率平均为99.5%,RSD为0.99%;染料木素回收率平均为99.1%,RSD为0.59%。

2.2 样品的测定

分别称取8种样品按1.2.3方法测定,结果见表1。HPLC分离色谱图见图1。试验结果表明,黄豆及其发酵的淡豆豉中大豆苷的含量:A>B>C>D,染料木苷的含量:A>C>B>D,染料木素的含量:A>D>C>B;黑豆其发酵的淡豆豉中大豆苷的含量:G>E>H>F,染料木苷的含量:E>G>H>F,染料木素的含量:H>E>F>G。

3 结论

2种原料(黄豆、黑豆)发酵的淡豆豉中大豆总异黄酮含量变化各不相同。在发酵工艺中加入人参,淡豆豉中大豆总异黄酮的含量变化与原料大豆的种类有关。

黄豆为原料发酵的淡豆豉,以目标产物大豆苷为指标时可选用人参发酵的淡豆豉;以染料木苷为指标时可选用桑叶、青蒿发酵的淡豆豉;以染料木素为指标时可选用桑叶、青蒿、人参发酵的淡豆豉。

黑豆为原料发酵的淡豆豉,以目标产物大豆苷为指标时可选用桑叶、青蒿发酵的淡豆豉;以染料木苷、染料木素为指标时可选用桑叶、青蒿、人参发酵的淡豆豉。

表 1 样品中大豆异黄酮的含量测定结果

Table 1 Determination results of soybean isoflavones content in samples

| 样品 Samples | 称量值 The weight value/g | 大豆苷 Daidzin/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ | 染料木苷 Genistin/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ | 染料木素 Genistein/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ |
|-----------------|---------------------------|---|---|--|
| A 黄豆 | 1.0365 | 610.27 | 472.67 | 19.45 |
| B 人参 (黄豆) | 1.0072 | 359.60 | 64.03 | 4.14 |
| C 桑叶、青蒿 (黄豆) | 1.0284 | 325.47 | 187.81 | 4.79 |
| D 桑叶、青蒿、人参 (黄豆) | 1.0473 | 129.69 | 58.54 | 8.09 |
| E 黑豆 | 1.0244 | 173.49 | 194.14 | 25.37 |
| F 人参 (黑豆) | 1.0084 | 149.52 | 18.57 | 5.62 |
| G 桑叶、青蒿 + (黑豆) | 1.0071 | 325.45 | 66.49 | 2.30 |
| H 桑叶、青蒿、人参 (黑豆) | 1.0312 | 153.52 | 97.04 | 32.40 |

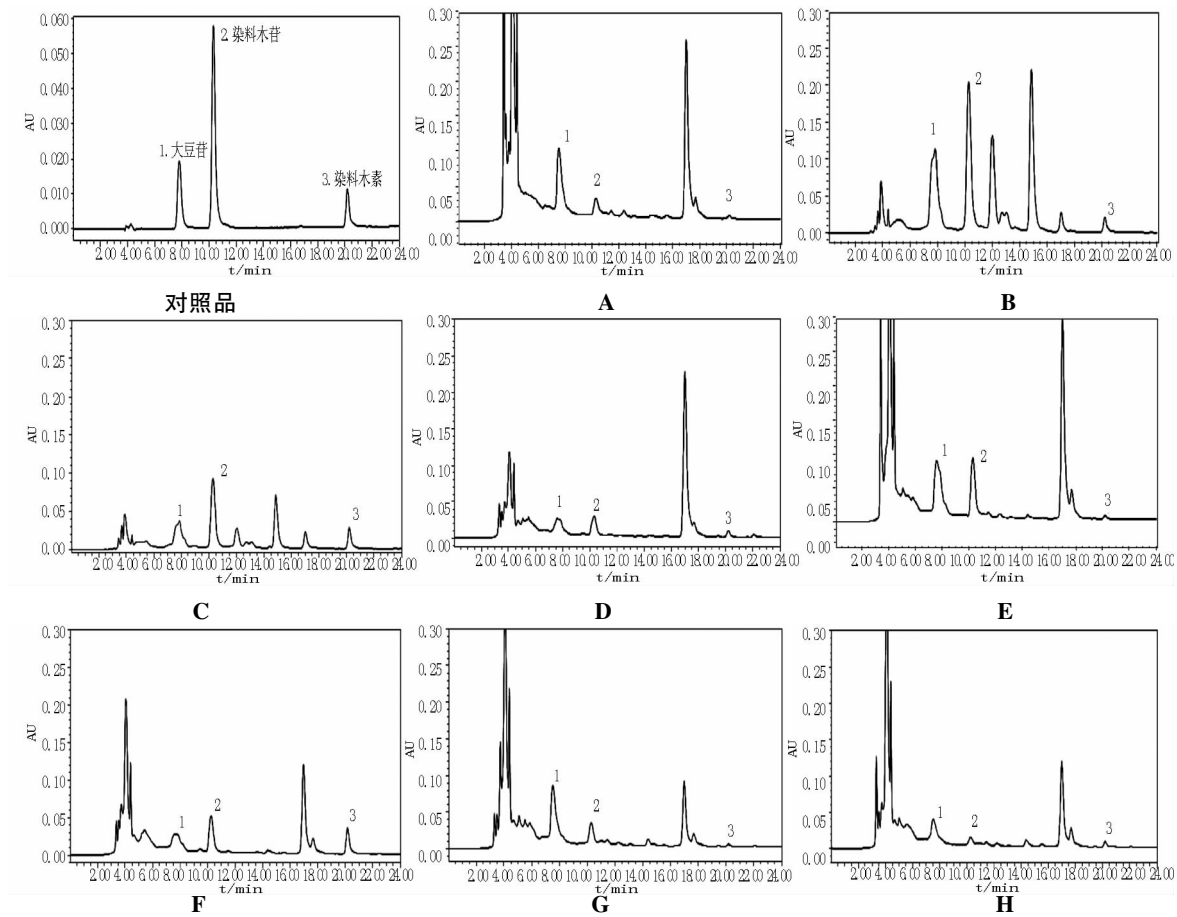


图 1 大豆异黄酮对照品与样品色谱图

Fig.1 HPLC chromatograms of soybean isoflavone refrence substances and sample

参考文献

[1] 国家药典委员会编.《中华人民共和国药典》(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2010:308. (National Pharmacopoeia Committee. The Peoples Republic of China Pharmacopoeia [M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 2010:308.)

[2] Yu O, Shi J, Hession A O, et al. Metabolic engineering of isoflavone biosynthesis in soybean seed [J]. Phytochemistry, 2003, 63: 753-763.

[3] Adlercreutz H, Höckerstedt K, Bannwart C, et al. Effects of dietary components including lignans and phytoestrogens on enterohepatic circulation and livermetabolism of estrogens and on sex hormone binding globulin [J]. Journal of Steroid Biochemistry, 1987, 27:

1135-1141.

[4] 史琳娜, 苏宜香. 大豆异黄酮类对去卵巢大鼠骨丢失的影响 [J]. 营养学报, 2000, 22(2): 113-118. (Shi L N, Su Y X. The influence of soybean isoflavones on bone loss in ovariectomized female rats [J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2000, 22(2): 113-118.)

[5] 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, 2003, 26(9): 652-654. (Wang X G, Ge X Z, Bai X, et al. Effects of Semen Sojae Preparatum on lipid metabolism in ovariectomized rat [J]. Journal of Chinese medicine materials, 2003, 26(9): 652-654.)

[6] 毛俊琴, 黄晓瑾, 周月芬, 等. 高效液相色谱法测定淡豆豉药材中异黄酮的含量 [J]. 药物分析杂志, 2004, 24(6): 587 (Mao J Q, Huang X J, Zhou Y F, et al. HPLC determination of isoflavones contents in Semen Sojae Preparatum [J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2004, 24(6): 587.)