

文章编号:1673-1689(2008)06-0006-08

## 大豆异黄酮分离检测及保健功效的研究

马兵钢, 郝青南\*, 马超

(石河子大学农学院, 新疆石河子 832003)

**摘要:** 针对近年来国内外大豆异黄酮的保健功能及结构的相关研究, 分析了层析法、高效液相色谱法、高速逆流色谱法分离大豆异黄酮的方法, 讨论了紫外分光光度法、高效液相色谱法、高效液相色谱-质谱法、气相色谱法、毛细管电泳法、薄层扫描色谱法、双向纸层析色谱法及免疫法等检测大豆异黄酮的方法及其这些分离检测方法的特点。

**关键词:** 大豆异黄酮; 分离方法; 检测方法; 保健功效

中图分类号: S 565.1

文献标识码: A

## The Methods of Separation and Detection for Soybean Isoflavones and Hygienical Functions of Soybean Isoflavones

MA Bing-gang, HAO Qing-nan\*, MA Chao

(Agricultural College, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

**Abstract:** The structure and hygienical functions of Soybean isoflavones were summarized in this manuscript, according to the research progress in recent years. And on the basis of reviewing the separation methods of isoflavones from soybean by chromatography and high performance liquid chromatography, the detection methods of isoflavones by ultraviolet-visible spectrophotometry, high performance liquid chromatography, high performance liquid chromatography-Mass spectrometer, gas chromatography, capillary electrophoresis, thin-layer scan chromatography, two-dimensional paper-chromatography and medical immunology were discussed. Furthermore, the characteristic of these separation and detection methods and the main points of operation were reviewed.

**Key words:** soybean isoflavones; method of separation; method of detection; hygienical functions

早在 1986 年, 美国科学家已发现大豆异黄酮有抗癌作用, 对人体可起到与雌激素相似的作用,

但没有药物雌激素的副作用, 故有“天然植物雌激素”的美称。美国食品与药品监督管理局在 1999

收稿日期: 2007-11-22.

基金项目: 国家自然科学基金项目(30460081); 新疆维吾尔自治区高校科研计划资助项目(XJEDU2005S15); 石河子大学青年骨干教师资助项目(NX01012).

作者简介: 马兵钢(1972-), 男, 湖北黄冈人, 农学博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事园艺植物生物技术研究.

Email: mbg\_agr@shzu.edu.cn

\* 通讯作者: 郝青南(1982-), 女(满族), 河北承德人, 果树学硕士研究生. Email: haoqingnan@126.com

年 9 月指出,“大豆异黄酮是从大豆中提取的最具有生物活性的物质,是一种植物雌激素,与女性雌激素结构相似,有助于维持女性激素水平的平衡。关于大豆异黄酮的研究,已成为目前国际上功能性食品成分研究中的一个热点。进一步研究表明,大豆异黄酮还具有抗氧化、抗溶血、抗真菌消炎、抗癌、抗心血管疾病、防治骨质疏松和早老年性痴呆症及妇女更年期综合症等一系列特殊生理功能,从而引起人们的普遍关注。

### 1 大豆异黄酮的结构

大豆异黄酮(soybean isoflavone SIF)主要分布于大豆种子的子叶和胚轴中,但含量极少。大豆异黄酮是多酚类混合物,其组成、存在形式主要包括染料木素(金雀异黄素, genistein)、大豆黄素(daidzein)和黄豆黄素(glycitein)。天然情况下它们大多以  $\beta$ -葡萄糖苷形式存在,近年来发现发生乙酰化、丙二酰化、琥珀酰化转变的异黄酮苷。其中起到生理功效的主要是染料木素、大豆黄素及其苷元。通常,在天然状态下,大豆中只有少量异黄酮以游离苷元形式存在,90%以上是以  $\beta$ -葡萄糖苷的形式存在。现已确证了 3 种 SIF 苷元和 9 种 SIF 葡萄糖苷,共 12 种。9 种大豆异黄酮葡萄糖苷分别为:(1)7,4-二羟基异黄酮-7-葡萄糖苷;5,7,4-三羟基异黄酮-7-葡萄糖苷;7,4-二羟基-6-甲氧基异黄酮-7-葡萄糖苷;6"-O-乙酰基-7,4,-二羟基异黄酮-7-葡萄糖苷;6"-O-乙酰基-7,4,-二羟基-6-甲氧基异黄酮-7-葡萄糖苷;6"-O-乙酰基-5,7,4-三羟基异黄酮-7-葡萄糖苷;6"-O-丙二酰-7,4,-二羟基异黄酮-7-葡萄糖苷;6"-O-丙二酰-5,7,4-三羟基异黄酮-7-葡萄糖苷;6"-O-丙二酰-7,4,-二羟基-6-甲氧基异黄酮-7-葡萄糖苷。其中部分 SIF 葡萄糖 C6 位上的羟基还可被乙酰基或丙二酰基取代生成酰化 SIF。大豆中不同异黄酮成分的比例以染料木黄酮为主,质量分数约占 50%~60%,黄豆苷元为 30%~35%,大豆黄素质量分数只占 5%~15%。SIF 的结构如图 1、图 2 所示:

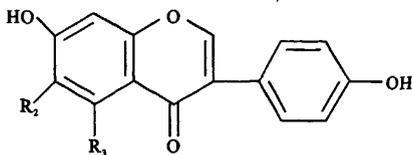


图 1 大豆异黄酮苷元的化学结构式  
Fig. 1 The structure of soybean isoflavone

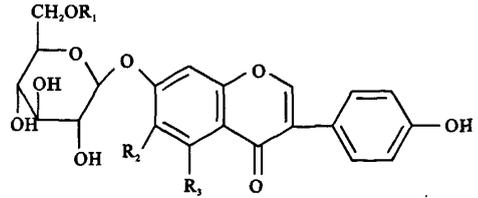


图 2 大豆异黄酮糖苷的化学结构式  
Fig. 2 The structure of soybean isoflavone indicant

表 1 大豆异黄酮结构  
Tab. 1 The structure of soybean isoflavone

名称	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
1 Daidzin	H	H	H
2 Genistin	H	H	OH
3 Glycitin	H	OCH <sub>3</sub>	H
4 6"-O-Acetyldaidzin	COCH <sub>3</sub>	H	H
5 6"-O-Acetygenistin	COCH <sub>3</sub>	H	OH
6 6"-O-Acetyglycitin	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H
7 6"-O-Malonyldaidzin	COCH <sub>2</sub> COOH	H	H
8 6"-O-Malonylgenisti	COCH <sub>2</sub> COOH	H	OH
9 6"-O-Malonyglycitin	COCH <sub>2</sub> COOH	OCH <sub>3</sub>	H

### 2 大豆异黄酮的分离方法

#### 2.1 色谱法

2.1.1 高效液相色谱法(HPLC) 高效液相色谱法是用高压输液泵将具有不同极性的单一溶剂或不同比例的混合溶剂、缓冲液等流动相泵入装有固定相的色谱柱,经进样阀注入供试品,由流动相带人柱内,在柱内各成分被分离,是目前普遍采用的分离方法。主要的常用方法有:紫外探测反相高效液相色谱法(HPLC-UV),气相色谱质量光谱探测(GC-MS)。用于大豆异黄酮分离的是 C18 柱反相高效液相色谱法,经典的方法是 Wang 等<sup>[1]</sup>用 C18 RP-HPLC 分离,UV 色谱条件为:溶剂 A,体积分数 0.1%冰醋酸水溶液,溶剂 B,体积分数 0.1%冰醋酸乙腈溶液,注射 20  $\mu$ L 样品进行梯度洗脱,在 50 min 内溶剂 B 从体积分数 15%增至 35%。并在体积分数 35%下保持 10 min,同时溶剂 A 在 26 min 内体积分数从 85%降至 65%,溶剂体积流量为 1 mL/min,检测波长为 200~350 nm。Zheng 等<sup>[2]</sup>对此方法进行了优化,流动相用来分离 8 种异黄酮,采用了 HCl 程序软件,确定了分离 8 种异黄酮的最佳条件。因此高效液相色谱法作为一种快速,

简便,廉价的方法使多种组分异黄酮的分离在常规实验室里成为可能。

**2.1.2 高速逆流色谱法(HSCCC)** 高速逆流色谱法已发展成为一种备受关注的新型分离纯化技术,已经用于大豆异黄酮组分的分离。它的固定相和流动相都是液体,没有不可逆吸附,具有样品无损失、无污染、高效、快速和大制备量分离等优点。江和源等<sup>[3]</sup>采用高速逆流色谱法分离纯化大豆异黄酮中的大豆苷和染料木苷。溶剂系统为乙酸乙酯-醋酸-水,体积比为5:1:10,上相为固定相,下相为流动相,逆流色谱仪转速为800 r/mm,体积流量为1.5 mL/min。所得大豆苷、染料木苷经高效液相色谱分析测定,纯度分别达到98.2%和99.2%。曲丽萍等<sup>[4]</sup>确定的色谱条件为:色谱柱:Lichrospher C18柱(150 mm×6.0 mm, 5 $\mu$ m),流动相为乙腈-水-冰醋酸(45:55:2),体积流量为1.0 mL/min,检测波长254 nm,柱温为室温,进样量20  $\mu$ L。最终选定V(氯仿):V(甲醇):V(水)=4:3:2为高速逆流色谱分离制备的两相溶剂系统。避免了分配系数太大,分离时间过长,溶剂浪费严重的缺点。因此,高速逆流色谱对保健食品功能成分分离纯化具有广阔的应用前景。在高速逆流色谱法的应用中,关键的问题是溶剂系统的选择,不同的溶剂系统具有不同的上、下相之比,由于粘度、极性、密度等性质的差异,均会对相同的成分产生不同的溶解、分配能力,形成分配系数的差异,对分离效果产生一定的影响。

## 2.2 层析法

**2.2.1 硅胶柱层析法** 硅胶是一种具有较强吸附能力的吸附剂,可用于具有不同极性大豆异黄酮各单体的分离。硅胶柱层析法是一种吸附柱层析法,硅胶吸附能力的强弱与其硅醇基的含量多少有关,硅醇基能够通过氢键吸附水分而丧失吸附力,因此硅胶在使用前必须在高温下除去水分活化。汪海波等<sup>[5]</sup>用硅胶柱层析法分离精制大豆皂苷、大豆异黄酮苷,分离效果不太理想。可能是硅胶本身对有效成分选择性吸附能力较差,也可能是由于洗脱溶剂选用不当所造成。姚开等<sup>[6]</sup>采用300~400目硅胶柱层析法,用V(氯仿):V(甲醇)=5:1洗脱,体积流量为1.0 mL/min,基本可以使大豆异黄酮4种主要单体组分(大豆苷、染料木苷、大豆苷元和染料木黄酮)得到分离,而对大豆异黄酮苷元的分离效果更好。柱层析法是目前获取高纯度天然产物最有效的方法之一,而柱填料的选择是决定其分离效果的关键。

**2.2.2 聚酰胺柱层析法** 聚酰胺对极性物质的吸附作用是由于它能和被分离物之间形成氢键。这种氢键的强弱就决定了被分离物与聚酰胺薄膜之间吸附能力的大小。层析时,展层剂与被分离物在聚酰胺膜表面竞争形成氢键。因此选择适当的展层剂使分离在聚酰胺膜表面发生吸附、解吸附、再吸附、再解吸附的连续过程,就能导致分离物质达到分离目的。贾建波等<sup>[7]</sup>用25 nm×600 nm聚酰胺层析柱将最佳工艺提取的浸提液上柱,分别用乙酸乙酯,体积分数10%~45%甲醇-乙酸乙酯以2 mL/min加入量梯度洗脱上柱样品,在出现吸收峰时收集洗脱液,经压缩处理和真空冷冻干燥后分别得到大豆异黄酮和皂苷,大豆异黄酮和大豆皂苷产品纯度达到38%和94%。姚开等<sup>[6]</sup>采用聚酰胺柱层析法,用甲醇溶液梯度洗脱,体积流量为1.0 mL/min,可以将大豆苷和染料木苷分离,得到质量分数为85.3%的大豆苷和质量分数为87.0%的染料木苷。对大豆异黄酮糖苷的分离效果好。

**2.2.3 葡聚糖凝胶柱层析法** 葡聚糖凝胶柱层析,是使待分离物质通过葡聚糖凝胶层析柱,各个组分由于相对分子质量不相同,在凝胶柱上受到的阻滞作用不同,而在层析柱中以不同的速度移动。若被分离物的相对分子质量介于完全排阻和完全进入网孔物质的分子量之间,而在两者之间从柱中流出,由此就可达到分离目的。适用于纸色谱、薄层色谱、硅胶及聚酰胺色谱中分离得到的异黄酮类化合物中糖苷配基或糖苷的进一步分离。姚开等<sup>[6]</sup>采用葡聚糖凝胶LH-20柱层析法,用体积分数90%甲醇溶液洗脱,体积流量为2.0 mL/min,可以使染料木苷和大豆苷相互分离,其染料木苷质量分数可达95.7%,大豆苷质量分数可达95.1%,可以使大豆异黄酮中的染料木苷和大豆苷得到最好的分离。

## 2.3 毛细管区域电泳法(CZE)

毛细管区域电泳法是基于试样中各个组分间荷质比的差异进行分离的。毛细管区带电泳可以分离小离子,而且能分离那些衍生化或反应生成离子的物质。在大豆异黄酮组分分离中的应用源于1996年。在曼谷举行的第二届国际大豆加工与利用会议上,法国农业中心将毛细管区域电泳(CZE)用于提取几种黄酮醇的分析上,这对大豆异黄酮及配糖体分析方法上有较大突破。吴同等<sup>[8]</sup>把毛细管电泳技术引入到大豆异黄酮提取液的分离分析工作中,建立了相应的定量方法。使用此毛细管电泳方法,在8 min内可将大豆异黄酮提取液分离,

并确定出4种异黄酮类化合物的含量,采用此方法只需要使用少量的廉价无毒的硼砂缓冲溶液,消耗的时间以及分析成本大为降低。同时它具有高效、快速,进样体积小,溶剂消耗少和抗污染能力强等特点,是对大豆异黄酮分离的理想方法之一。

### 3 大豆异黄酮的检测方法

#### 3.1 紫外分光光度法

大豆异黄酮在紫外光区有特征吸收,大豆异黄酮的各组分最大吸收波长相差不大,峰的数目较少。如染料木苷(Genistein)在紫外区有很强的吸收带,最大吸收波长为260 nm,大豆苷元(Daidzein)最大吸收波长为256 nm,在310 nm处有一个很小的肩峰,这使紫外吸收作为评价指标成为可能。紫外分光光度法分为单波长和三波长两种方法。该方法具有所用仪器简单,操作方便,准确度高,重现性好等优点。但该方法检测前需对样品进行纯化处理,操作要求较高,消耗时间长,从而限制了紫外分光光度法在检测大豆异黄酮方面的应用。

王哲等<sup>[9]</sup>用紫外分光光度法测定大豆异黄酮含量,以大豆苷元(Daidzein)作标准品绘制标准曲线,建立回归方程,相关系数 $r=0.9941$ ,方法回收率100.4%,变异系数0.25%,得出紫外分光光度法测定大豆异黄酮含量具有比高效液相色谱法更为简便、快捷等优点,且回收率高、重现性好。标准品溶液在4℃冰箱中保存,可连续使用,节约标准品。黄芸等<sup>[10]</sup>建立了一种测定大豆中异黄酮类成分含量的紫外分光光度法分析方法。以染料木素为对照品,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,用紫外分光光度法测定大豆中总异黄酮的含量。大豆中总异黄酮的质量分数为4.784 mg/g,加样回收率为100.9%,相对标准偏差为2.0%。方法简便、准确、重现性好,可作为检查大豆中异黄酮含量的一种手段,适用于大豆及其保健品的日常分析和质量控制。此外,陈寒青等<sup>[11]</sup>用三波长紫外分光光度法测定红车轴草异黄酮含量,能有效扣除色素和醇溶性蛋白等杂质的干扰,并具有简便、快速、准确等特点,特别适合于红车轴草异黄酮提取分离工艺中大量快速检测异黄酮含量。

因此,该方法能监测生产过程,适用于工艺在线检测,具有省时、省费用。作为实验室研究可与高效液相色谱法相配合,达到理想的测定结果。

#### 3.2 色谱法

##### 3.2.1 高效液相色谱法 高效液相色谱法是目前

测定大豆异黄酮研究工作中应用最为广泛的一种方法,此法具有测定样品范围广、样品制备步骤少、成本低、分离效率高、灵敏度好、测定结果准确等特点,且有多种检测器可供选择。徐德平等<sup>[12]</sup>采用高效液相色谱法测定丹贝异黄酮含量,确定出了灵敏、准确、重现性好的色谱条件。王岙等<sup>[13]</sup>建立了一种可准确、快速测定保健食品中大豆异黄酮含量的高效液相色谱法:通过对流动相的优选,以 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=3:2$ 为流动相,使染料木素、大豆苷元、大豆苷、染料木苷4种大豆异黄酮主要成分达到较好的分离效果,可分别测定4种成分含量及以此4种成分为主要成分的保健食品中大豆异黄酮含量。Yu<sup>[14]</sup>等建立了一种简易、快速、可靠的可同时测定17种黄酮类物质的高效液相色谱与二极管阵列结合的方法HPLC-DAD-ELSD,大大地节省了检测的财力和物力。

此外,采用高效液相色谱法与近年来出现的一种新型检测器-蒸发光散射检测器(简称ELSD)结合为检测手段,流动相在检测器的漂移管中被蒸发,不会进入检测池,能够消除背景干扰以及由此产生的基线漂移。在梯度洗脱的条件下,标准品和样品中的待测组分分离良好,基线无漂移,使检测结果更准确、可靠。巩飏等<sup>[15]</sup>用该方法建立了同时测定保健食品中4种大豆异黄酮大豆苷元、染料木素、大豆苷、染料木苷的反相高效液相色谱法。线性范围宽,重现性好,结果准确,前处理简单,节约分析时间,易于普及,可用于保健食品中的大豆异黄酮的测定。

##### 3.2.2 气相色谱法(GC) 气相色谱法具有分离效能高、灵敏度高、选择性好、分析速度快、用样量少等特点,还可制备高纯物质。但在测定大豆苷和染料木苷时需制备衍生物,样品制备步骤较多,耗时长且仪器较为昂贵,从而限制了该法的推广应用。Adlercreutz等<sup>[16]</sup>采用同位素稀释气质联用法检测了人类尿样中的木脂素类和异黄酮类。孙艳梅等<sup>[17]</sup>确定气相色谱分析条件:毛细管柱(SE-30, 30 m×0.32 mm, 0.25 μm),恒温260℃,气化室温度300℃,检测器温度300℃,高纯氮气和氢气。分流进样,保持分流比恒定,进样量1 μL。检测出了大豆异黄酮苷元。Kuo<sup>[18]</sup>等用气相色谱法示踪检测了牛奶和婴儿奶粉中的大豆苷和染料木素。

##### 3.2.3 双向纸层析色谱法 双向纸层析色谱法是一种设备简单、操作方便的方法,对豆粕中异黄酮成分分析,其结果基本与液-质色谱法(LC-MS)吻合。对从事异黄酮提取工艺研究的科技人员来说,

要了解每一个流程中异黄酮的变化,在没有高压液相色谱仪的条件下,双相纸层析色谱是较为理想的分析方法。彭义交等<sup>[19]</sup>对此进行了验证,判断出豆粕中的黄酮基本是由大豆素、染料木素、双氢黄酮醇及其相应的衍生物组成。

**3.2.4 薄层扫描色谱法** 薄层扫描法具有取样量少、操作简便、分离效果好等优点,但其薄层显色剂用量难以准确控制,人为误差较大。潘妮婕等<sup>[20]</sup>在硅胶 G 薄层色谱板上,采用双波长薄层扫描法建立了测定槐角、槐角丸中的染料木苷和总染料木素的分析方法。染料木苷和染料木素的薄层展开剂分别为  $V(\text{三氟甲烷}) : V(\text{甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 25 : 7 : 4$  和  $V(\text{三氟甲烷}) : V(\text{甲醇}) : V(\text{冰乙酸}) = 15 : 1 : 0.1$ ,染料木苷和染料木素分别在  $0.5 \sim 3.0 \mu\text{g}$  和  $0.9 \sim 5.0 \mu\text{g}$  范围内呈良好线性。王亚娟等<sup>[21]</sup>应用双波长薄层色谱扫描法,以芦丁为对照品,测定波长  $\lambda_s = 278 \text{ nm}$ ,参比波长  $\lambda_R = 356 \text{ nm}$ ,测定蒲公英中总黄酮的含量,操作简便,结果可靠,重复性好。

### 3.3 毛细管电泳法

毛细管电泳技术发展迅速,是色谱最活跃的领域之一。突出优点是所需样品量少,仪器简单,操作简便,分析速度快,分离效率高,分辨率高,灵敏度高,操作模式多,开发分析方法容易,实验成本低,消耗少,应用范围极广。黎波涛等<sup>[22]</sup>研究优化出了检测大豆籽粒中异黄酮含量的毛细管电泳法。其具体电泳条件为:以含有体积分数为 5% 甲醇的 40 mmol/L 硼砂溶液 ( $\text{pH} = 10.0$ ) 为电泳缓冲液,压力进样 20 s,在 25 °C、16.5 kV 恒压下进行电泳分离,并在 254 nm 波长处检测。该方法简单快速、操作简便、线性关系和重现性好、准确度高,可作为大豆籽粒中异黄酮成分测定的一种较理想的检测方法,适合于大豆异黄酮种质资源的筛选和育种材料的鉴定。侯建霞等<sup>[23]</sup>用毛细管电泳-电化学检测的方法分析了苦荞麦芽中的黄酮类物质,对表儿茶素、芦丁、槲皮素 3 组分的分离检测条件进行优化研究。在优化条件下,3 组分可在 12 min 内完全分离。Peng 等<sup>[24]</sup>也检测出了红三叶草中的大豆苷和染料木素,得到了很好的效果。

### 3.4 免疫检测法

在医学上还有通过免疫法对大豆异黄酮进行测定。该法具有检测灵敏度高、检测速度快的优点。该法包括酶联免疫吸附法 (ELISA)<sup>[25]</sup> 间接分辨荧光免疫分析法 (TR-FIA)<sup>[26]</sup>。多用于生物体血液及尿样中大豆异黄酮的检测。张振亚等<sup>[27]</sup>介绍

了高效液相色谱和免疫分析法的联用,不但可以提高检测的灵敏度,而且还能增加检测方法的选择性。比单独应用荧光免疫分析更进一步。

## 4 大豆异黄酮的保健功效

### 4.1 预防癌症

据流行病学调查,西方发达国家居民的乳腺癌、前列腺癌和直肠癌的发病率明显高于发展中国家,其发病率是亚洲人的 4~10 倍,显示居民摄入豆制品量与癌症发病率呈负相关。近年来大量体外实验证实,大豆异黄酮能够抑制乳腺癌、胃癌及前列腺癌等细胞系的生长繁殖,具有显著的抗癌和防癌效果。Qin 等<sup>[28]</sup>研究进一步表明食用豆类食品可以减少乳腺癌的发病率,原因是豆类中含有大豆异黄酮。Oba 等<sup>[29]</sup>研究表明多摄入豆类食品对妇女预防直肠癌效果显著,男性直肠癌的发病率与摄入豆制品量没有明显相关性。恶性肿瘤在孕育时需要生成新的血管来供应氧气和养料,体外试验则发现:染料木素可有效地阻止血管增生;此外,体外试验还发现:染料木素可提高某些药物的抗癌效果。因此大豆异黄酮不但具有防癌功能,而且还可能具有治疗癌症的作用。张义等<sup>[30]</sup>的实验结果证明,高纯度大豆异黄酮(纯度  $\geq 90\%$ 、染料木素质量分数  $\geq 80\%$ 、 $G : D \geq 8 : 1$ ) 对小鼠肝癌、乳腺癌有明显的抑制作用,并且对乳腺癌的抑制作用强于肝癌。

### 4.2 抗氧化和心血管防护

心血管疾病随着人类生活水平的提高,已成为危害人类生命的高发性疾病,尤其是冠心病和心肌梗塞,而造成这些心血管疾病的初始阶段就是动脉粥样硬化。人体中的活性氧和自由基是引发衰老、癌变和细胞损伤的重要原因。三羟基异黄酮 (genistein) 强烈地抑制促癌剂 TPA 诱发的多形核细胞及 HL-60 细胞中过氧化氢的形成,并中等强度地抑制 HL-60 细胞中超氧阴离子自由基的产生。黄豆苷元 (daidzein) 也能抑制 TPA 诱发的过氧化氢形成和黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶系统中的超氧阴离子自由基,效果比三羟基异黄酮稍弱。Andrea 等<sup>[31]</sup>人让 8 个健康的绝经后的妇女每天服用一定量的大豆异黄酮及维生素 C,并定期测定脂质过氧化物总量、血浆维生素 C 及血压值,观察发现大豆异黄酮是通过减少脂质过氧化物的形成而实现抗氧化的。Nestel<sup>[32]</sup>研究表明服用异黄酮后形成了一种代谢物,一般来讲可以减少高血压及动脉硬化等心血管病的发生。此外,陈瑞娇等<sup>[33]</sup>从辣木叶中

提取了总黄酮,并证实具有降血糖的作用。

#### 4.3 预防骨质疏松

女性停经后骨质疏松症,是指停经后妇女由于卵巢功能衰退、雌性荷尔蒙浓度下降,继发甲状腺素功能亢进,钙泌素分泌不足,从而导致骨质代谢大于骨质形成,出现以低骨密度和骨骼组织的显微结构退化质变特征,临床表现呈骨脆性和骨折易感性增加,是一种代谢性疾病。大豆异黄酮具有植物雌激素活性,可以与破骨细胞上的ER结合,降低破骨细胞的活性,从而达到抑制作用,有利于停经后骨质疏松症的预防和治疗。Bruce等<sup>[34]</sup>人作了相关研究,从切除卵巢的雌性小鼠试验得出大豆异黄酮可以预防骨物质减少的结论。Vatanparast等<sup>[35]</sup>也作了相关调查,得出大豆异黄酮对绝经后妇女的骨骼有保护作用。

#### 4.4 减轻妇女更年期综合症

妇女更年期综合症是由于妇女绝经后卵巢分泌的雌激素减少而造成的,大豆异黄酮具有弱雌激素活性,可弥补更年期妇女因停经而减少的雌激

素,从而减轻或避免引起更年期症候群。澳大利亚的科学家研究发现,更年期妇女如果每天食用45g大豆,其更年期综合症的发病率就会降低40%。Cassidy等<sup>[36]</sup>人综述了大豆异黄酮对更年期妇女的健康的影响,充分证明了大豆异黄酮可以减轻或者避免妇女更年期综合症。

#### 4.5 其它

大豆异黄酮可以改善皮肤质量,使女性皮肤柔滑、富有弹性,具有抗衰老、防老年性痴呆、改善产后精神状态等功能。此外,大豆异黄酮还具有抗菌消炎和提高机体免疫力,增强记忆力等作用。

### 5 结 语

以上介绍的大豆异黄酮的分离及检测方法虽然在一些方面得到了较好的效果,但也存在一些缺点,且不同样品中大豆异黄酮组分的分离和检测要求方法各不相同,因此必须寻求一种快速、方便、省时及操作费用更低的分析方法,以指导大豆异黄酮的研发。

### 参考文献(References):

- [1] Wang G, Kuan, Francis O J, et al. A simplified HPLC method for the determination of phytoestrogens in soybean and its processed products[J]. *Agri Food Chem*, 1990, 38: 185-190.
- [2] Zheng J Z, Kyungho R. Optimum of mobile phase condition for resolving isoflavones in RP-HPLC[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2007, 15(2): 291-295.
- [3] 江和源, 台建祥, 吕飞杰. 高速逆流色谱法分离制备大豆异黄酮中的大豆苷和染料木苷[J]. *食品科学*, 2004, 25(1): 85-88.  
JIANG He-yuan, TAI Jian-xiang, LV Fei-jie. Separation of daidzin and genistin from soybean isoflavones by high speed countercurrent chromatography[J]. *Food Science*, 2004, 25(1): 85-88. (in Chinese)
- [4] 曲丽萍, 宓鹤鸣, 范国荣, 等. 高速逆流色谱法分离制备淡豆豉中大豆素和染料木素[J]. *中草药*, 2006, 37(3): 375-377.  
QU Li-ping, MI He-ming, FAN Guo-rong, et al. Separation of genistein and daidzein from dandouchi by high speed countercurrent chromatography[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2006, 37(3): 375-377. (in Chinese)
- [5] 汪海波, 刘大川. 大豆胚芽甲醇提取物中大豆皂甙、大豆异黄酮分离纯化工艺研究[J]. *食品科学*, 2001, 22(4): 40-44.  
WANG Hai-bo, LIU Da-chuan. The study of isolation and purifying methods for soyasaponin and isoflavone from the substances extracted by methanol from soybean germ[J]. *Food Science*, 2001, 22(4): 40-44. (in Chinese)
- [6] 姚开, 贾冬英, 何强, 等. 大豆异黄酮主要单体组分的分离方法[J]. *四川大学学报: 工程科学版*, 2004, 36(3): 77-80.  
YAO Kai, JIA Dong-ying, HE Qiang, et al. Separation of main monomers from soybean isoflavone by column chromatography[J]. *Journal of Sichuan University (Engineering Science Edition)*, 2004, 36(3): 77-80. (in Chinese)
- [7] 贾建波, 李东. 大豆胚芽中提纯皂甙和异黄酮的研究[J]. *粮油食品科技*, 2005, 13(1): 40-41.  
JIA Jian-bo, LI Dong. Studies on purification of isoflavone and soyasaponin from soybean germ by microwave and ultrasound[J]. *Science and Technology of Cereals, oils and Foods*, 2005, 13(1): 40-41. (in Chinese)
- [8] 吴同, 梁明. 毛细管电泳分离四种大豆异黄酮类化合物[J]. *宜宾学院学报*, 2003, 3(3): 82-84.  
WU Tong, LIANG Ming. Isolation of four kinds isoflavones soybean by capillary electrophoresis[J]. *Journal of Yibin Teachers College*, 2003, 3(3): 82-84. (in Chinese)
- [9] 王哲, 白志明, 田娟娟, 等. 紫外分光光度法测定大豆异黄酮含量[J]. *中国油脂*, 2005, 30(1): 52-54.  
WANG Zhe, BAI Zhi-ming, TIAN Juan-juan, et al. Determination of soybean isoflavone by UV spectrophotometry[J]. *China Oils and Fats*, 2005, 30(1): 52-54. (in Chinese)

- [10] 黄芸,崔力剑,窦玉红,等.紫外分光光度法测定大豆中异黄酮的含量[J].大豆科学,2007,26(2):273-275.  
HUANG Yun,CUI Li-jian,DOU Yu-hong,et al. Determination of soybean isoflavones with ultra-violet spectrophotometry [J]. *Soybean Science*, 2007,26(2):273-275. (in Chinese)
- [11] 陈寒青,金征宇.三波长紫外分光光度法测定红车轴草异黄酮含量的研究[J].食品科学,2005,26(5):194-197.  
CHEN Han-qing, JIN Zheng-yu. Study on determination of trifolium pratense isoflavones by three-wavelength UV spectrophotometry[J]. *Food Science*, 2005,26(5):194-197. (in Chinese)
- [12] 徐德平,江汉湖.丹贝异黄酮生物活性增强的机理研究[J].食品与生物技术学报,2005,24(3):8-11.  
XU De-ping,JIANG Han-hu. Mechanism of activity enhancement of tempe isoflavone[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005,24(3):8-11. (in Chinese)
- [13] 王岙,于文海,杨明远,等.高效液相色谱法测定保健食品中大豆异黄酮[J].中国卫生检验杂志,2006,16(3):322-324.  
WANGAo,YU Wen-hai,YANG Ming-yuan,et al. Determination of soybean isoflavones in health foods by HPLC[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2006,16(3):322-324. (in Chinese)
- [14] Yu QT, Qi LW, Li P, et al. Determination of seventeen main flavonoids and saponins in the medicinal plant Huang-qi (Radix astragali) by HPLC-DAD-ELSD[J]. *J Sep Sci*, 2007,30(9): 1292-1299.
- [15] 巩彪,邵丽华,李静涛,等.高效液相色谱法-蒸发光散射检测器测定保健食品中大豆异黄酮[J].中国卫生检验杂志,2006,16(4):437-439.  
GONG Biao,SHAO Li-hua,LI Jing-tao,et al. Determination of soybean isoflavones in health foods by HPLC[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2006,16(4):437-439. (in Chinese)
- [16] Adlercreutz H, Fotsis T, Bannwart C, et al. Isotope dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for the determination of lignans and isoflavonoids in human urine, including identification of genistein[J]. *Clin Chim Acta*, 1991,199(3):263-278.
- [17] 孙艳梅 张永忠,王伊强,等.大豆 $\beta$ -葡萄糖苷酶水解大豆异黄酮糖苷的研究[J].中国粮油学报,2006,21(2):86-89.  
SUN Yan-mei,ZHANG Yong-zhong,WANG Yi-qiang,et al. Hydrolysis of soybean isoflavone glucosides by  $\beta$ -glucosidases from soybean[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2006,21(2): 86-89. (in Chinese)
- [18] Kuo H W, Ding W H. Trace determination of bisphenol A and phytoestrogens in infant formula powders by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2004,1027(1-2):67-74.
- [19] 彭义交,刘宗林.大豆异黄酮双向纸层析分析方法的研究[J].食品科学,2004,25(4):141-144.  
PENG Yi-jiao, LIU Zong-lin. Study on two-dimensional paper-chromatography of soybean isoflavone[J]. *Food Science*, 25(4):141-144. (in Chinese)
- [20] 潘妮婕,张尊听,郑俊丽.薄层扫描法测定槐角及槐角丸中的染料木苷和总染料木素[J].分析实验室,2004,23(12):25-27.  
PAN Wei-jie,ZHANG Zun-ting,ZHENG Jun-li. Quantitative determination of genistin and total genistein in the fruit of fructus sophorae and Huai jiao pills by TLC scanning method[J]. *Analytical Laboratory*, 2004,23(12):25-27. (in Chinese)
- [21] 王亚娟,卢敬华,于铃.双波长薄层色谱扫描法测定蒲公英总黄酮含量[J].*Journal of Mathematical Medicine*, 2007,20(3):408-409.  
WANG Ya-juan, LU Jing-hua, YU Ling. Determination of chlorphenamini maleas in with double wavelength TLC scanner [J]. *Journal of Mathematical Medicine*, 2007,20(3):408-409. (in Chinese)
- [22] 黎波涛,韩航如,麻浩,等.毛细管电泳法测定大豆籽粒中异黄酮含量[J].大豆科学,2007,26(2):230-234.  
LI Bo-tao,HAN Hang-ru,MA Hao. Determination of isoflavones content in soybean seeds by capillary electrophoresis[J]. *Soybean Science*, 2007,26(2):230-234. (in Chinese)
- [23] 侯建霞,汪云,程宏英,等.毛细管电泳检测苦荞芽中的黄酮类化合物[J].食品与生物技术学报,2007,26(2):12-15.  
HOU Jian-xia, WANG Yun, CHENG Hong-ying,et al. Determination of phenolic compounds in buckwheat sprout by capillary electrophoresis[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2007,26(2): 12-15. (in Chinese)
- [24] Peng Y Y, Ye J N. Determination of isoflavones in red clover by capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. *Fitoterapia*, 2006,77(3):171-178.
- [25] He J T, Shi Z H, Yan J ,et al. Biotin avidin amplified enzyme-linked immunosorbent assay for determination of isoflavone daidzein[J]. *Talanta*, 2005,65(3):621-626.
- [26] 金晶,赖卫华,涂祖新,等.时间分辨荧光免疫分析技术的研究进展及在食品安全领域中的应用[J].食品科学,2006,27(12):886-889.

- JIN Jing, LAI Wei-hua, TU Zu-xin, et al. Research progress and applications in food safety of time-resolved fluoroimmunoassay[J]. *Food Science*, 2006, 27(12): 886-889. (in Chinese)
- [27] 张振亚, 梅兴国. 现代荧光免疫分析技术应用及其新发展[J]. *生物技术通讯*, 2006, 17(4): 677-680  
ZHANG Zhen-ya, MEI Xing-guo. The application and latest developments of modern fluorescence immunoassay [J]. *Letters in Biotechnology*, 2006, 17(4): 677-680. (in Chinese)
- [28] Qin L Q, Xu J Y, Wang P Y, et al. Soy food intake in the prevention of breast cancer risk in women: A meta-analysis of observational epidemiological studies[J]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 2006, 52: 428-436.
- [29] Oba S, Nagata C, Shimizu N, et al. Soy product consumption and the risk of colon cancer: a prospective study in Takayama, Japan[J]. *Nutr Cancer*, 2007, 57(2): 151-157.
- [30] 张义, 赵春燕, 孙亚芹, 等. 大豆异黄酮的抗肿瘤研究[J]. *长春中医药大学学报*, 2006, 22(1): 60.  
ZHANG Yi, ZHAO Chun-yan, SUN Ya-qin, et al. Study on the antitumor of soybean isoflavones[J]. *Journal of Changchun College of Traditional Chinese Medicine*, 2006, 22(1): 60. (in Chinese)
- [31] Andrea M Hutchins, Imogene E. Soy isoflavone and ascorbic acid supplementation alone or in combination minimally affect plasma lipid peroxides in healthy postmenopausal women[J]. *American Dietetic Association*, 2005, 105: 1134-1137.
- [32] Paul Nestel, Akihiko Fujii, Lei Zhang. An isoflavone metabolite reduces arterial stiffness and blood pressure in overweight men and postmenopausal women[J]. *Atherosclerosis*, 2007, 192(1): 184-189.
- [33] 陈瑞娇, 朱必凤, 王玉珍, 等. 辣木叶总黄酮的提取及其降血糖作用[J]. *食品与生物技术学报*, 2007, 26(4): 42-45.  
CHEN Rui-jiao, ZHU Bi-feng, WANG Yu-zhen, et al. Extraction and hypoglycemic effect of the total flavonoid from leaves of moringa oleifera[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2007, 26(4): 42-45. (in Chinese)
- [34] Watkin B A., Reinwald S, Li Yong, et al. Protective actions of soy isoflavones and n-3 PUFAs on bone mass in ovariectomized rats[J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2005, 16: 479-488.
- [35] Vatanparast H, Chilibeck P D. Does the effect of soy phytoestrogens on bone in postmenopausal women depend on the equol-producing phenotype? [J]. *Nutr Rev*, 2007, 65: 294-299.
- [36] Cassidy A, Albertazzi P, Lise Nielsen I, et al. Critical review of health effects of soybean phyto-oestrogens in postmenopausal women[J]. *Proc Nutr Soc*, 2006, 65(1): 76-92.

(责任编辑: 朱明)

## 《创意与设计》征稿启事

《创意与设计》是国家教育部主管, 江南大学主办的基于设计学科及创意领域的专业性期刊, 国内外公开发行。主要刊发产品系统设计及理论、创意与概念设计、造型基础与设计研究等方面的论文; 发表国际、国内专业设计领域最新的研究成果、设计学科发展动态; 有关造型技术、设计评论、设计教育和信息时空的报道; 刊登有影响的设计创意作品。

《创意与设计》采用国际标准 A4 开本, 全彩色铜版纸印刷。

热诚欢迎国内外各设计院校广大师生, 研究院所、企业或专业设计单位等设计师、相关研究人员以及广大设计爱好者投稿。

来稿请寄: 江苏省无锡市蠡湖大道 1800 号, 江南大学 31 号信箱

E-mail: cyysj@jiangnan.edu.cn

电话: 0510-85913523

邮编: 214122