

# 大豆异黄酮

## ——活性研究与应用

崔洪斌 主编



科学出版社

[www.sciencep.com](http://www.sciencep.com)

# 大豆异黄酮

——活性研究与应用

崔洪斌 主编

科学出版社

北京

## 内 容 简 介

大豆异黄酮是存在于大豆中对人体有益的一种生物活性物质,对其基础理论、生理活性、开发及应用的研究已成为国内外研究的热点。本书主要介绍了大豆异黄酮的基本物理化学性质、研究现状、生物学活性作用,以及提取、纯化、检测、分析等工艺方法,同时对其在国内外的应用情况进行了描述,使读者对大豆异黄酮有比较全面的了解和认识。

本书涉及的内容较新,范围较广,可供相关专业的研究生以及科研人员参考,也可作为相关市场营销人员和生产厂家的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

大豆异黄酮:活性研究与应用/崔洪斌主编. —北京:科学出版社, 2005

ISBN 7-03-014639-5

I. 大… II. 崔… III. 大豆-异黄酮-研究 IV. Q74

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 134518 号

责任编辑: 庞在堂 李 悦/责任校对: 钟 洋

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 王 浩

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷有限责任公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2005 年 4 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2005 年 4 月第一次印刷 印张: 14

印数: 1—1 200 字数: 282 000

定价: 58.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换〈环伟〉)

# 编写人员

主 编 崔洪斌

副主编 那晓琳 张 牧 李笑梅

编 者 (按姓氏笔画排序)

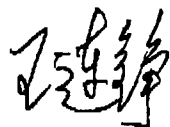
|     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|
| 王 璐 | 车运河 | 刘 颖 | 孙丽艳 |
| 那晓琳 | 张 牧 | 张 涛 | 李笑梅 |
| 迟晓星 | 林 杨 | 金滨峰 | 贾 宏 |
| 高志辉 | 崔洪斌 | 崔健梅 |     |

# 序

我以非常欣喜的心情阅读了崔洪斌同志的新著《大豆异黄酮——活性研究与应用》。我与崔洪斌同志的相识、熟知、交厚也是与大豆异黄酮有关的。几年前我在进行高异黄酮含量大豆育种研究工作中，很想结识在大豆异黄酮活性及应用方面有造诣的科学家，经黑龙江省农业科学院介绍认识了崔洪斌同志，在以后交往中逐渐了解到崔洪斌同志不仅在大豆异黄酮的生物学活性方面有较多的研究，而且在产品研发方面也有较多的成绩。

大豆异黄酮是近几年才颇受重视的诸多植物化学物中的一种，它具有雌激素样生理学活性，有预防骨质疏松、降低血脂、抗氧化、减轻妇女更年期综合征等多种生理功能，而且毒副作用小，是备受青睐、极具开发应用前途的植物化学物质。美国、日本等国家在理论研究及产品研发上都有很大成绩，我国在此方面还只是初步研究。崔洪斌同志等人对大豆异黄酮研究较早，几年前著有《大豆生物活性物质的开发与应用》一书，其中对大豆异黄酮曾有论述。本次编写的《大豆异黄酮——活性研究与应用》是总结、归纳近几年国内外研究成果并结合课题的研究成绩从活性、制备、产品研发等不同角度阐述大豆异黄酮，本书既有精辟的理论阐述，又具有操作性强、实用价值高的产品开发性内容。据我所知，在国内尚无一部这样内容全面、理论深入的同类图书。这本书的问世无论是对大豆异黄酮的活性研究、提取制备技术还是产品研发工作都具有有益的参考价值。

本书的主编崔洪斌同志具有广博的知识，他早年毕业于东北农业大学农业化学专业，又攻读哈尔滨医科大学营养学硕士研究生学位，20世纪90年代曾赴日本静冈县立大学学习了两年药物化学，在教学、科研工作中特别注重于研究成果的推广，曾研发了数种保健食品。他的知识全面、结构合理，故能组织撰写这样一部多学科交叉、理论与实践结合、理论深、实用性强的书籍。在此向崔洪斌同志及其课题组表示衷心地祝贺，也希望本书对国内、外同行有所帮助，使大豆异黄酮这种具有特殊生物活性的物质的研究开发更加科学化、规范化，更多更好地发挥大豆异黄酮的作用，为人类健康服务。



注：王连铮教授为前国家农业部常务副部长、中国农业科学院院长、中国科学技术协会副主席。现为中国种子协会理事长、中国农村专业技术协会理事长。

# 前 言

众所周知,大豆是营养丰富、优质美味的农作物。我国自古以来就以种植大豆、食用大豆及其制品闻名于世界,中华民族的繁衍生存、身体健壮、头脑聪敏与大豆有极其密切的关系。近代科学发展以来,通过化学分析及生物学手段,对大豆的认识是:大豆中含有优质的植物蛋白质和油脂,这是其他植物性食物所无法比拟的。我们食用的豆腐和豆油就是将其蛋白质和油脂加工成的可以直接进入厨房的食物或食物原料。近几年人们又发现和认识到大豆中还含有对人类身体健康更加有益的生物活性物质。一般指的是在植物或食物中存在的、不属于五大营养素之列的、含量极微又对人体机能调节起一定作用的一类植物次级产物。大豆中含有这类物质极多,如大豆皂苷、植酸、大豆异黄酮、磷脂、豆腥味物质、大豆角鲨烯等,过去认为这些物质都是非营养物或者抗营养因子,都曾设法在加工过程中将其去掉,而近几年的研究认为其具有特殊的生物学活性而受到重视。本书编写的大豆异黄酮是大豆中含有的众多生物活性物质中的佼佼者。

大豆异黄酮是自然界中仅在少数几种植物(如葛根、三叶草、豆科作物)存在的一类特殊的化合物,它的化学结构是五环三萜类,含有多个活性强、自由度高的酚羟基( $-OH$ )、酮基( $=O$ ),依不同的苷元与不同的糖苷结合可形成12种。对大豆异黄酮的研究只是近几年的事,现已知其具有雌激素活性、抗氧化、调节血脂、预防骨质疏松、抑制癌症等多种生物学功效。由于其具有诸多的生物学作用,已被应用于保健食品和药品,而且在其提取制造技术上也受到人们的关注,其提取、制造的专利也已达数十种之多。可以说大豆异黄酮的活性、制备、检测、开发等是近年来植物化学物的研究中最受人注目、研究内容最广泛、成绩也最显著的领域之一。

崔洪斌等在20世纪90年代初就开始对大豆生物活性物质进行研究,曾对大豆皂苷、大豆异黄酮、大豆植酸等进行了活性和提取制造技术的研究,并于2000年编写过《大豆生物活性物质的开发与应用》。近几年他和研究组的同事主要进行了大豆异黄酮的研究工作。本书是将近几年的研究成绩归纳、整理,并结合国内外的最新研究现状编写而成。参加编写者都是他的学生和合作研究人员,具有丰富的实践经验和较深的化学、生物学理论知识。本书的编写旨在将大豆异黄酮的研究、开发系统化,以期望我国同行借鉴,取得更好的成绩,让大豆异黄酮这种生物活性物质更好地被利用,为人类健康服务。

本书共分为5章,第一章由孙丽艳、张牧编写;第二章由迟晓星、那晓琳、崔健梅、张涛、金滨峰、刘颖、林杨编写;第三章由王璐、李笑梅、高志辉编

写；第四章由王璐、车运河编写；第五章由崔洪斌、金滨峰、贾宏编写。本书的编写自始至终受到前国家农业部常务副部长、中国农业科学院院长、中国科学技术协会副主席，现任中国种子协会理事长、中国农村专业技术协会理事长王连铮教授的关注和指导，并热情为本书写了序，给予很高的评价，在此一并表示感谢。愿此书的出版为大豆异黄酮研究同行、开发者提供有益的参考，也希望获得批评指正，使此项研发工作更加尽善尽美。

编 者

2004年9月底

# 目 录

## 序

## 前言

|                                   |     |
|-----------------------------------|-----|
| <b>第一章 大豆异黄酮概况</b> .....          | 1   |
| 第一节 大豆异黄酮的分布、影响因素、食物中含量 .....     | 1   |
| 第二节 大豆异黄酮的结构、性质 .....             | 7   |
| 第三节 大豆异黄酮的吸收、代谢与生物利用度 .....       | 16  |
| 第四节 大豆异黄酮的流行病学研究 .....            | 24  |
| <b>第二章 大豆异黄酮的生物学活性</b> .....      | 33  |
| 第一节 大豆异黄酮的雌激素样作用 .....            | 33  |
| 第二节 大豆异黄酮与骨质疏松症 .....             | 46  |
| 第三节 大豆异黄酮调节血脂及抗动脉粥样硬化的作用 .....    | 61  |
| 第四节 大豆异黄酮的抗癌作用及其机制 .....          | 85  |
| 第五节 大豆异黄酮与前列腺疾病 .....             | 107 |
| 第六节 大豆异黄酮的其他生物学活性 .....           | 113 |
| 第七节 大豆异黄酮负面生物学作用 .....            | 115 |
| <b>第三章 大豆异黄酮的分离、提取、制备技术</b> ..... | 125 |
| 第一节 大豆异黄酮的提取 .....                | 125 |
| 第二节 大豆异黄酮苷元的制备 .....              | 139 |
| 第三节 大豆异黄酮的纯化与精制 .....             | 148 |
| 第四节 大豆异黄酮专利技术进展 .....             | 163 |
| 第五节 化学法合成大豆异黄酮 .....              | 165 |
| <b>第四章 大豆异黄酮的分析、检测方法</b> .....    | 170 |
| 第一节 紫外分光光度法 (UV) .....            | 170 |
| 第二节 色谱法 .....                     | 172 |
| 第三节 毛细管电泳法 .....                  | 180 |
| 第四节 免疫检测法 .....                   | 182 |
| <b>第五章 大豆异黄酮的开发与应用</b> .....      | 186 |
| 第一节 大豆异黄酮的开发、应用现状 .....           | 187 |
| 第二节 大豆异黄酮产品介绍 .....               | 189 |
| 第三节 大豆异黄酮研究开发中存在的问题 .....         | 200 |
| <b>附录 I 有关大豆异黄酮的研究课题</b> .....    | 202 |

|     |                   |     |
|-----|-------------------|-----|
| 附录Ⅱ | 有关大豆异黄酮发表的文章····· | 203 |
| 附录Ⅲ | 中、英文名词对照·····     | 206 |
| 附录Ⅳ | 作者简介·····         | 210 |

# 第一章 大豆异黄酮概况

## 第一节 大豆异黄酮的分布、影响因素、食物中含量

### 一、大豆异黄酮的分布

异黄酮 (isoflavone) 在自然界中的分布只局限于豆科的蝶形花亚科等少数植物中, 其中含量较高的有苜蓿、红三叶草和大豆, 一般苜蓿中异黄酮的含量为 0.5%~3.5%, 红三叶草中的异黄酮含量为 1.5%~2.5%, 大豆中异黄酮含量为 0.1%~0.5%。除此之外, Michigan 大学的 Kaufman 等筛选了八十余种的荚豆类植物, 发现有几种农业种植的可供食用的植物也可作为金雀异黄素和大豆黄素的饮食来源。印度阔根 (*Psorales corylifolia*) 的叶子中含有大于 2g/kg 干重的异黄酮; 蚕豆 (*Vicia faba*) 和野葛藤的根 (即野葛根 *Pueraria lobata*, 中药中作药用) 分别含有 1.0g/kg 和 0.95g/kg 的大豆黄素。

大豆异黄酮主要分布于大豆种子的子叶和胚轴中, 种皮中含量极少。80%~90% 的异黄酮存在于子叶中, 浓度为 0.1%~0.3%。胚轴中所含异黄酮种类较多且浓度较高, 为 1%~2%, 但由于胚轴只占种子总重量的 2%, 因此尽管浓度很高, 但所占大豆种子异黄酮总量的比例仍然很少 (10%~20%), 而大豆子叶中异黄酮的绝对含量远远大于胚轴。大豆种子中各个部位的异黄酮的分布见表 1-1。

表 1-1 大豆种子中大豆异黄酮的分布 (单位:  $\mu\text{g/g}$ )

| 大豆异黄酮种类              | 室温 (提取 24h) |     | 80℃ (提取 15h) |     |
|----------------------|-------------|-----|--------------|-----|
|                      | 胚轴          | 子叶  | 胚轴           | 子叶  |
| 金雀异黄素 (genistein)    | 35          | 48  | 16           | 14  |
| 大豆黄素 (daidzein)      | 102         | 53  | 35           | 11  |
| 黄豆黄素 (glycitein)     | -           | -   | 15           | -   |
| 金雀异黄苷 (genistin)     | 118         | 80  | 246          | 210 |
| 大豆苷 (daidzin)        | 320         | 45  | 838          | 145 |
| 黄豆苷 (glycitin)       | 485         | -   | 1004         | -   |
| 6''-O-acetylgenistin | 105         | 1   | 39           | 1   |
| 6''-O-acetyldaidzin  | 2           | 2   | 57           | 8   |
| 6''-O-acetylglycitin | 6           | -   | 89           | -   |
| 6''-O-malonygenistin | 144         | 117 | 4            | -   |
| 6''-O-malonydaidzin  | 423         | 70  | 8            | 3   |
| 6''-O-malonyglycitin | 445         | -   | 11           | -   |
| 总 量                  | 2185        | 396 | 2362         | 392 |

注: - 表示未提取出。

## 二、大豆中异黄酮含量的影响因素

大豆中异黄酮总含量、种类以及分布各不相同,其中总含量变幅为 0.1%~0.5%。这种差异不仅与大豆品种(即种子本身的基因型)有关,还受多种外部因素的综合作用影响,包括光照、温度、水分等综合地理环境、储藏条件以及种子发育等。

### (一) 大豆品种对大豆中异黄酮含量的影响

在众多的因素当中,大豆品种对大豆中异黄酮含量的影响尤为显著。不同品种中大豆异黄酮含量不同的这一问题早已经引起各国学者的关注。日本和巴西的研究人员在一起合作对两国的大豆品种进行了异黄酮含量的初步分析,发现品种间存在着很大差异。日本喜多村(Kitamura)等<sup>[1]</sup>利用高效液相色谱(HPLC)技术分析了 200 份日本栽培的大豆品种,筛选出了一批大豆异黄酮含量较低的春播大豆品种。巴西的 Carro-panizzi<sup>[2]</sup>对 25 份大豆品种进行了筛选,结果发现 LAC-100(抗虫品种)中的大豆异黄酮含量较高,而 BR-36 中含量很低。孙君明等<sup>[3]</sup>对 50 份中国大豆品种进行了研究分析,发现中国大豆品种间也存在很大差异,充分显示了遗传差异的存在。含量低的楚秀(455.7 $\mu\text{g/g}$ )比国外含量低的品种 Higomusume(560.9 $\mu\text{g/g}$ )还要低 105.2 $\mu\text{g/g}$ ;含量高的张家口黑豆(7854.9 $\mu\text{g/g}$ )比大豆异黄酮含量较高的美国品种 Lee(4954.3 $\mu\text{g/g}$ )还要高 2900.6 $\mu\text{g/g}$ 。由此表明,中国大豆种子资源中异黄酮含量的变异更为丰富,变幅比日本和巴西的更大,如果进行大样本的分析,可能还会出现含量更高或更低的品种。孙君明等还证明了大豆种子中异黄酮含量的遗传方式属数量性状基因控制,遗传机制呈累加效应,其遗传受一个主基因和多个微效基因控制。研究选用了 6 个异黄酮含量不同的大豆品种,配置 15 个杂交组合,分析异黄酮含量变化的遗传因素。结果显示:杂种  $F_1$ 、 $F_2$  代为异黄酮含量介于双亲之间的中间型,部分组合表现杂种优势;杂种  $F_2$  代部分组合的广义遗传力较高,可以进行初步的遗传选择;杂种后代与亲本具有一定的相关性,且与中亲值呈显著正相关。研究还发现,大豆异黄酮的含量还与大豆颗粒的大小和大豆种皮的颜色直接相关。大豆异黄酮的含量与颗粒大小呈负相关;绿色种皮的大豆品种含量较低,而黑色、褐色种皮品种含量较高。不同品种的大豆中异黄酮的含量差别具体情况见表 1-2<sup>[4]</sup>。

表 1-2 不同品种大豆中大豆异黄酮的含量比较 (单位:  $\mu\text{g/g}$ )

| 中国品种  | 大豆异黄酮含量 | 国外品种           | 大豆异黄酮含量 |
|-------|---------|----------------|---------|
| 楚 秀   | 455.7   | Higomusume*    | 560.9   |
| 南汇早黑豆 | 845.5   | Kairyousirome* | 1048.9  |

续表

| 中国品种  | 大豆异黄酮含量 | 国外品种         | 大豆异黄酮含量 |
|-------|---------|--------------|---------|
| 荷包豆   | 927.7   | Kogamedaizu* | 1418.9  |
| 吉林3号  | 6155.1  | Suzuyutaka*  | 3614.8  |
| 淮豆1号  | 6676.7  | Lee**        | 4945.9  |
| 张家口黑豆 | 7854.9  |              |         |

注：\*：日本品种；\*\*：美国品种。

## (二) 种植环境对大豆中异黄酮含量的影响

种植环境对大豆中异黄酮总含量和种类分布的影响主要通过种植年份、种植季节和种植地区来反映，其中种植年份对异黄酮总含量和种类分布的影响最为显著。有研究者分别在1989年、1990年和1991年种植了同一品种（Vinton81）大豆，发现1989年种植的大豆收获豆品中异黄酮总含量为1991年的3倍，这很可能是由不同年份气候变化所致。对其他的一些品种如Kcburi、Kurodiazu、Raiden等的研究结果也证明了种植年份对大豆中异黄酮含量有很大影响。与此同时，不同种植地区对大豆中大豆异黄酮的含量和种类也有一定的影响。来源于不同国家的大豆，由于生长环境、存储条件和时间差异使金雀异黄素、大豆黄素含量有一定变化，总体上金雀异黄素与大豆黄素、黄豆黄素的平均比值为1:1:0.2。Wang等<sup>[5]</sup>利用C<sub>18</sub>色谱柱RP-HPLC法测定了不同种植地区、不同种植年份的美国豆种和日本豆种的总异黄酮的含量，结果发现，种植年份比种植地区对大豆异黄酮含量的影响更大，而且与美国豆种相比，日本豆种中丙二酰异黄酮苷的浓度更高，这表明大豆中异黄酮的种类分布在受到种植年份、种植地区影响的同时也受到大豆遗传因素的影响。近年来又有研究者提出，种植年份与种植地区的相互作用是影响大豆中异黄酮总含量的最主要因素<sup>[3]</sup>。

孙君明等<sup>[3]</sup>研究了异黄酮含量与栽培地的经纬度和海拔的关系，发现大豆异黄酮的含量随着纬度和海拔高度的增加而逐渐增加，随着经度的增加而逐渐减少，但在不同品种中所表现的作用不一致。研究还发现，光照对大豆中异黄酮的积累有促进作用，而高温和充足的水分可以显著降低异黄酮的含量。也就是说，纬度越高，日照时间越长，降水量越少，大豆中异黄酮的含量越高。纬度高的温带地区生长的大豆收获后要比在热带地区生长的大豆异黄酮含量高。从我国的地带分布上看，南方地区的大豆品种异黄酮含量比黄淮夏大豆和东北及北方春大豆低。Wang等对Vinton81品种进行了不同生长地的试验，测得其异黄酮含量的变幅为1176~1749 $\mu\text{g/g}$ 。与此同时，Kitamura指出种子发育中的环境温度是决定异黄酮含量的主要因子。Tsukamoto对两个不同纬度条件下的大豆品种的异黄酮含量变化进行了研究，发现在种子发育过程中，高温显著降低异黄酮的含量。国

内学者也分析了春、夏播大豆的异黄酮含量的差异, 得出同样的结论。温度对同一品种大豆种子不同部位异黄酮含量的影响也有显著差异。子叶中异黄酮的含量受生长温度的影响较大, 而胚轴对温度的反应不是很敏感, 异黄酮含量始终保持在较高的水平, 为子叶浓度的 5~10 倍。

### (三) 肥料、土壤水分以及储藏条件对大豆中异黄酮含量的影响

不同的大豆品种对肥料的反应不同。901-5024 和灌县穿心绿两个大豆品种在高氮肥条件下比正常氮肥(全氮)的异黄酮含量偏低, 而在半量氮肥和根瘤菌条件下, 两个品种表现有所不同, 灌县穿心绿在半量氮肥条件下异黄酮含量明显升高, 接种根瘤菌后含量却降低, 901-5024 却恰恰相反。另外, 土壤水分对大豆中异黄酮含量也有一定的影响, 但差异不显著。与此同时, 大豆中异黄酮的含量因为储藏条件的不同也会发生变化。有研究发现, 大豆中异黄酮含量与储存时间呈负相关, 储存 2 年后平均降低 57.1%, 但各品种降低幅度不同。具体情况见表 1-3<sup>[3]</sup>。

表 1-3 不同储藏时间和温度对不同品种中大豆异黄酮含量的影响 (单位:  $\mu\text{g/g}$ )

| 品种或品系    | 储藏前    | 储藏半年   |        |        | 储藏一年   |        |        |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
|          | 常温     | 常温     | 4℃     | -10℃   | 常温     | 4℃     | -10℃   |
| 楚 秀      | 3686.3 | 3610.6 | 3477.0 | 3353.9 | 1581.8 | 1384.5 | 1593.4 |
| 南汇早黑豆    | 2512.2 | 2564.7 | 1746.4 | 2204.9 | 856.1  | 929.0  | 1372.9 |
| 灌县穿心绿    | 2172.6 | 1684.9 | 1593.8 | 1841.3 | 981.6  | 838.7  | 916.4  |
| 张家口黑豆    | 5771.3 | 4091.9 | 3470.8 | 3980.4 | 2563.3 | 2144.7 | 2213.7 |
| 901-5024 | 5368.8 | 3550.3 | 3903.9 | 3709.4 | 2430.6 | 2191.4 | 1919.7 |
| 鲁黑豆 2 号  | 6750.2 | 6125.6 | 5526.2 | 5503.2 | 3095.5 | 3512.1 | 2963.2 |

低含量水平的 3 个大豆品种降低幅度相对较大, 尤以南汇早黑豆降低得最大 (65.9%, 常温储藏一年); 高含量水平的 3 个大豆品种降低相对较小, 其中鲁黑豆 2 号降低得最小 (54.1%, 常温储藏一年)。储藏时间不同, 异黄酮含量降低的速度也不同, 常温储藏半年大豆异黄酮含量降低较小, 平均仅为 12.9%, 且以低含量水平的降低最少; 而常温储藏一年的大豆, 异黄酮含量平均降低达 57.1%, 达到了显著水平。另外, 不同储藏温度对大豆种子中异黄酮含量的影响差别不大。从总体上看, 常温条件下储藏大豆种子异黄酮含量偏高, 但均未达到显著水平。储存湿度的影响也很关键, 湿度大, 大豆容易发生霉变, 影响其营养价值。

### (四) 种子发育对大豆中异黄酮含量的影响

大豆种子发育过程中异黄酮含量也有变化, 随着种子的发育, 大豆种子中异

黄酮含量稳步增加。开花后 30~58 天, 异黄酮含量开始提高, 特别是在种子发育的最后一周内, 其异黄酮积累相当迅速, 约占总量的 76.1%。这种快速积累一方面是由于种子本身积累异黄酮的增加, 另一方面是因种子成熟过程中的迅速失水所致。孙君明等的研究表明, 南汇早黑豆中异黄酮含量与发育天数相关程度最高 ( $R^2=0.856$ ), 901-5024 的相关程度最低 ( $R^2=0.578$ ), 但均达到显著或极显著水平。另外, 高异黄酮含量的大豆品系 901-5024 在种子发育的各个时期与含量较低的南汇早黑豆和灌县穿心绿相比, 其异黄酮含量基本保持较高水平。这说明在一定的条件下, 种子中异黄酮的积累受基因型控制, 因而导致不同大豆品种异黄酮含量变化的差异。

### 三、食物中大豆异黄酮的含量

在日常生活中, 大豆制品是人们摄入大豆异黄酮的主要膳食来源。各种大豆制品中异黄酮含量和种类分布不同, 不仅与前文所述的各种影响因素有关, 还与大豆制品的加工工艺密切相关。研究表明, 加工过程会造成大豆异黄酮的显著损失 ( $p<0.05$ , 有统计学意义)。各种加工环节和方法, 如水处理、热处理、凝固、发酵等显著地影响了大豆制品中异黄酮的含量和种类, 现分述如下。

#### 1. 凝固

在豆腐制作过程中, 凝固使一部分异黄酮丢失于乳清中, 丢失率约为 44%。

#### 2. 加热

热处理可显著改变大豆制品中异黄酮的成分, 如经过热处理的大豆分离蛋白、组织蛋白等制品中乙酰基葡萄糖苷型异黄酮含量较高, 约占总异黄酮含量的 30%~50%, 这是因为丙二酰基葡萄糖苷异黄酮对热不稳定, 加热处理可使其转化为乙酰基葡萄糖苷异黄酮, 同时热处理也使  $\beta$ -葡萄糖苷酶的活性增强, 使糖苷型异黄酮水解为苷元, 所以经过热处理的大豆制品中苷元的含量比原料大豆有所增加。

#### 3. 水处理

浸泡使 12% 的大豆异黄酮流失于浸泡水中。水处理后的大豆中乙酰异黄酮糖苷和苷元的含量增加, 这是因为大豆自身存在的内源性  $\beta$ -葡萄糖苷酶水解丙二酰异黄酮糖苷的结果。大豆在水泡 24h 后, 糖苷含量下降 7%, 而苷元含量上升, 但苷元的增加量小于糖苷的减少量, 这是由于异黄酮糖苷可溶于水, 水煮加热增加了异黄酮向外渗透速率, 使大量异黄酮因渗入加热水中而丢失。

#### 4. 加工提取方法

提取方法对大豆浓缩蛋白和大豆分离蛋白中异黄酮含量的影响非常大。如用湿热水洗法去除可溶性碳水化合物所得浓缩蛋白的异黄酮含量与原料豆中异黄酮的含量相近, 而用 60%~65% 的乙醇水溶液洗涤浓缩法提取的大豆浓缩蛋白的异黄酮含量仅为原料中的 5%~10% 或更低; 大豆分离蛋白若以碱溶酸沉法提取, 大豆中异黄酮可损失 53%~80%, 流失率较高; 用 0.25% 的  $\text{NaHCO}_3$  溶液煮沸豆粉 30min, 可以显著减少苷元的产生。

#### 5. 发酵

发酵不影响异黄酮的含量, 但改变了异黄酮种类的分布。发酵后的产品以苷元为主要存在形式, 发酵豆制品丹贝、味噌中苷元含量可占总量的 40%~90%。如在丹贝发酵过程中总异黄酮变化的趋势是: 随着发酵时间的延长, 异黄酮糖苷含量逐渐降低, 苷元含量上升, 在发酵最终产物中异黄酮主要以金雀异黄素和大豆黄素的形式存在。在发酵 24h 内大部分异黄酮糖苷转化成苷元, 这是因为在这段时间真菌的菌丝体生长最旺盛, 到 24h 接近最大值。在菌丝体生长时需要大量营养, 作为碳源的糖分消耗量最大, 而大豆中可利用的游离单糖较少, 微生物必须分泌大量的酶来分解各种含糖底物以获取需要的糖分。在发酵豆制品的制作中, 微生物主要分泌的是  $\beta$ -葡萄糖苷水解酶, 使得异黄酮糖苷中的糖分子被分解利用, 产生了不能被微生物继续利用的苷元。随着发酵时间的延长以及真菌菌丝体生长停止或消减, 对糖的利用下降, 酶分泌能力减弱, 异黄酮的转化率相应降低, 到达一定时间几乎不再变化, 同时作为酶反应底物的异黄酮糖苷浓度已下降到  $1 \times 10^{-7} \text{mol/g}$ , 在此低浓度下酶反应已处于动态平衡之中。因此, 发酵后的产品以苷元为主要存在形式。有研究表明, 苷元在许多生理活性方面比糖苷的活性要高, 大豆异黄酮的主要活性成分为苷元及其代谢物<sup>[7]</sup>。国内最近也有研究表明, 金雀异黄素和大豆黄素均可降低去卵巢大鼠血清总胆固醇和肝组织中胆固醇水平, 但作用途径不同, 作用效果大豆黄素优于金雀异黄素<sup>[8]</sup>。所以发酵型的大豆制品在保健功能方面很有意义。

综上所述, 采用不同的加工工艺所制得的大豆制品中异黄酮含量也各不相同, 具体情况见表 1-4<sup>[8]</sup>。

大豆粉、大豆饮料中的大豆异黄酮与天然大豆中异黄酮的结构类似, 主要以糖苷的形式存在, 苷元的含量均在 20% 以下。分离大豆蛋白、炒大豆由于其加工工艺的作用, 大豆异黄酮的种类与大豆有所不同, 苷元的含量有所增加, 并且含有一定量的大豆苷和金雀异苷的乙酰衍生物, 这是由于加工热处理脱去了相应的丙二酰葡萄糖苷的羧基。在多种发酵的豆制品如豆酱、腐乳、豆豉、味噌(miso)、丹贝中, 总异黄酮含量虽然不高, 平均含量为 0.6~1.4mg/g, 但由于

微生物的发酵作用,使得苷元成为主要存在形式,占异黄酮总量的40%以上。目前研究表明,苷元是大豆异黄酮中的主要活性成分,所以,发酵豆制品中大豆异黄酮比未发酵豆制品中的大豆异黄酮有更高的生物利用率。异黄酮糖苷具有较高的极性,在非极性的豆油以及豆油浸出剂中溶解度低,豆油中基本上没有大豆异黄酮糖苷的存在。

表 1-4 各种大豆制品中异黄酮含量

(单位:  $\mu\text{g/g}$ )

| 豆制品名称       | 总异黄酮含量 | 大豆异黄酮苷元 |      |      | 大豆异黄酮糖苷 |          |           |
|-------------|--------|---------|------|------|---------|----------|-----------|
|             |        | 金雀异黄素   | 大豆黄素 | 黄豆黄素 | 异黄酮糖苷   | 乙酰基异黄酮糖苷 | 丙二酰基异黄酮糖苷 |
| 大豆粉 A*      | 2014   | 31.9    | 9.1  | 3.2  | 594.1   | 32.2     | 1341.3    |
| 大豆粉 B**     | 2404   | 30.7    | 22.9 | 6.6  | 1728.5  | 254.8    | 358.2     |
| 大豆饮料        | 1918   | 57.2    | 35.3 | 9.1  | 1344.5  | 166.9    | 400.9     |
| 炒大豆         | 2661   | 85.6    | 56.5 | 17.6 | 1077.7  | 1242.7   | 180.9     |
| 分离大豆蛋白      | 621    | 151.5   | 36.1 | 64.5 | 170.8   | 39.1     | 159       |
| 豆腐          | 531    | 50.7    | 49.2 | 12   | 116.8   | 37.2     | 267.1     |
| 丹贝酸奶        | 386    | 96      | 34   | 18   | 212     | 1        | 25        |
| 味噌 (miso)   | 647    | 183     | 271  | 54   | 117     | 3.2      | 18.8      |
| 丹贝 (tempeh) | 865    | 193     | 137  | 24   | 81      | 11       | 419       |
| 发酵豆凝乳       | 389    | 223     | 143  | 23   | -       | -        | -         |
| 腐乳          | 538    | 288     | 250  | -    | -       | -        | -         |
| 豆豉          | 1131   | 434     | 298  | -    | 399     | -        | -         |
| 豆酱          | 1379   | 745     | 516  | -    | 118     | -        | -         |

注: \*: 室温提取 24h; \*\*: 80℃ 提取 15h; - 代表未测出。

## 第二节 大豆异黄酮的结构、性质

### 一、大豆异黄酮的结构

大豆异黄酮是属于黄酮类化合物中的异黄酮类。黄酮类化合物泛指两个苯环(A和B)通过三碳链相互联结而成的一系列化合物,母核为2-苯基色原酮。

依据C环的饱和度及B环的连接位置又可将黄酮类化合物分为黄酮类、黄酮醇、二氢黄酮、二氢黄酮醇、异黄酮、橙酮等几类物质。其中大豆异黄酮(isoflavone of soybean)属于黄酮类,主要指以3-苯并吡喃酮为母核的一系列化合物(其基本结构如图1-1所示),人体自身不能合成,却对人体的生理健康有着不可忽视的作用。迄今为止,科学工作者从大豆中分离出的大豆异黄酮共有

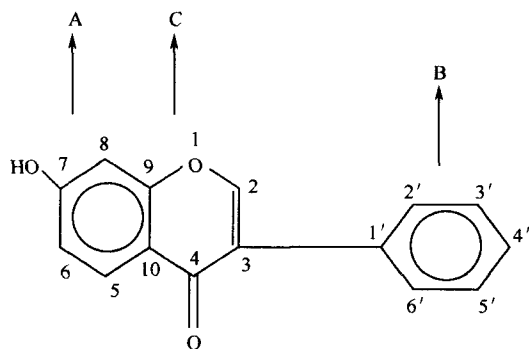


图 1-1 大豆异黄酮的基本结构

12 种，分为游离型的苷元 (aglycone) 和结合型的糖苷 (glucosides) 两大类。苷元共有 3 种，仅占大豆异黄酮总量的 2% ~ 3%，包括金雀异黄素 (又称染料木黄酮，5, 7, 4'-三羟异黄酮，genistein，简称 Gen、GST)、大豆黄素 (又称大豆素，7, 4'-二羟异黄酮，daidzein，简称 Dai、DDZ) 和发现较晚、含量较少、研究不多的黄豆黄素 (7, 4'-二羟基-6-甲氧基异黄酮，glycitein，简称 Gly)。结合型糖苷约占大豆异黄酮总量的 97% ~ 98%，主要以葡萄糖苷、乙酰基葡萄糖苷、丙二酰基葡萄糖苷形式存在，共有 9 种。结合型糖苷大部分以金雀异黄苷 (genistin) 和大豆苷 (daidzin) 及丙二酰金雀异黄苷 (6''-O-malonygenistin) 和丙二酰大豆苷 (6''-O-malonydaidzin) 4 种形式存在，这 4 种结合型糖苷约占总黄酮的 95%。研究者利用紫外光谱、质谱、核磁共振谱等方法，分析确定了大豆异黄酮 (12 种) 的基本结构和各种单体的结构，如图 1-2 所示。

## 二、大豆异黄酮的性质

### (一) 大豆异黄酮的理化性质

大豆异黄酮为淡黄色粉末，具有苦味、收敛性和干涩感觉，是产生大豆苦涩味的因子之一。大豆异黄酮苷元比糖苷具有更强的不愉快风味，尤其是金雀异黄素和大豆黄素。豆制品中的风味与大豆异黄酮的味道相关，但同时也受到加工条件的影响。大豆异黄酮作为异黄酮类化合物，具有异黄酮类化合物所共有的理化性质。

#### 1. 显色

异黄酮类化合物与其他黄酮类化合物相比，由于 A、B、C 环共轭程度较小，因此呈微黄色、灰白色或无色，紫外线下多显紫色，如大豆异黄酮中的金雀异