

高效液相色谱测定豆制品中大豆异黄酮的含量

No.LC-035

摘要： 本文建立了一种同时测定豆制品中的4种大豆异黄酮的高效液相色谱法。经色谱条件优化，四种样品的相关系数在0.999以上，峰面积相对标准偏差为0.328%~0.989%之间，最低检测限在0.002~0.004 $\mu\text{g/mL}$ 之间，添加回收率在80.2~94.2%之间。

关键词： 大豆异黄酮 高效液相色谱

随着人类生活水平的提高，人们对自身的保健也越加重视，近年来对大豆保健作用的研究成为热门。研究证明，从大豆中提取的大豆异黄酮是一种新兴的备受人们青睐的天然植物雌激素，它有很好的生物功能，具有抗肿瘤作用，心血管保护作用，抗氧化作用和雌激素样作用。由于大豆异黄酮在保健中所起的独特作用，现在市面上出现了许多以大豆异黄酮为主要功能成分的食品，如大豆粉，豆浆等等。目前发现的大豆异黄酮共有12种，分为游离型甙元(aglycon)和结合型糖甙(glucoside)两类，其中糖甙形式的占异黄酮总量的97%~98%，甙元形式的占2%~3%。大豆异黄酮中起主要作用的是大豆甙元(daidein, De)，染料木素(genistein, Ge)，以及它们的葡萄糖苷：大豆甙(daidzin, D)和染料木甙(genistin, G)（结构式见图1）。本文建立了同时测定豆制品中4种大豆异黄酮D、De、G、Ge的反相高效液相色谱法。

实验部分

1、仪器

本实验使用岛津ProminenceLC-20A高效液相色谱仪系统。具体配置为LC-20AD输液泵（2台），DGU-20A₃在线脱气机，SIL-20A自动进样器，CTO-20AC柱温箱，SPD-20A紫外可见检测器，CBM-20Alite控制器和LCsolution色谱工作站。

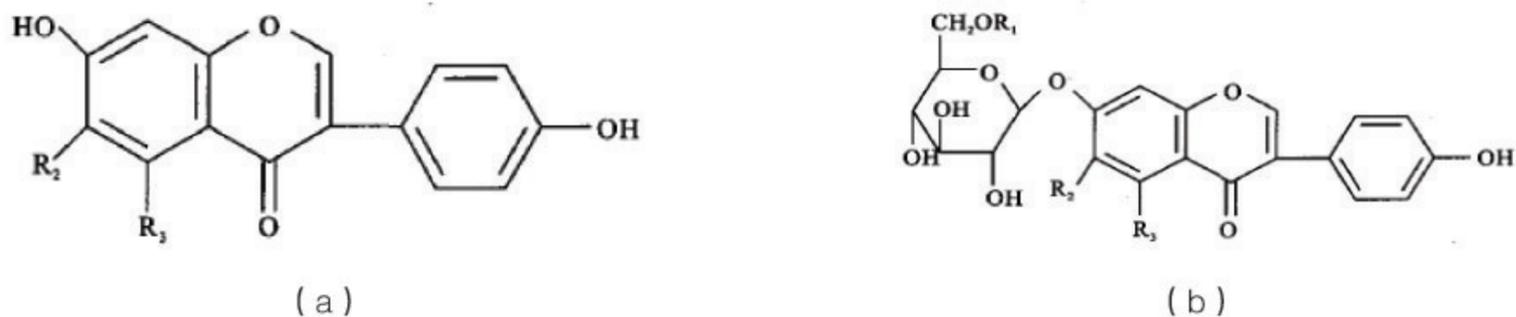


图1 大豆异黄酮甙元的化学结构式 (a)
大豆异黄酮糖甙的化学结构式 (b)

2、分析条件

色谱柱: Shimadzu VP-ODS 4.6 × 150 mm, 5 μm

检测波长: 260 nm

初始流动相: 乙腈/水=20/80 (v/v) 梯度洗脱

Time(min)	Module	Action	Value(%)
5.00	Pumps	B.Conc	20
13.00	Pumps	B.Conc	85
17.00	Pumps	B.Conc	85
17.01	Pumps	B.Conc	20
25.00	Controller	stop	

流速: 1 mL/min

柱温: 40 °C

进样量: 10 μL

3、标准品溶液的配制及样品前处理

分别称取大豆甙元, 染料木素, 大豆甙和染料木甙10mg, 用乙腈定容至10mL, 配置成1mg/mL的混标溶液, 再用初始流动相稀释成浓度为0.2, 1, 2, 10, 20 μg/mL的混标溶液。

样品前处理步骤如下图所示:

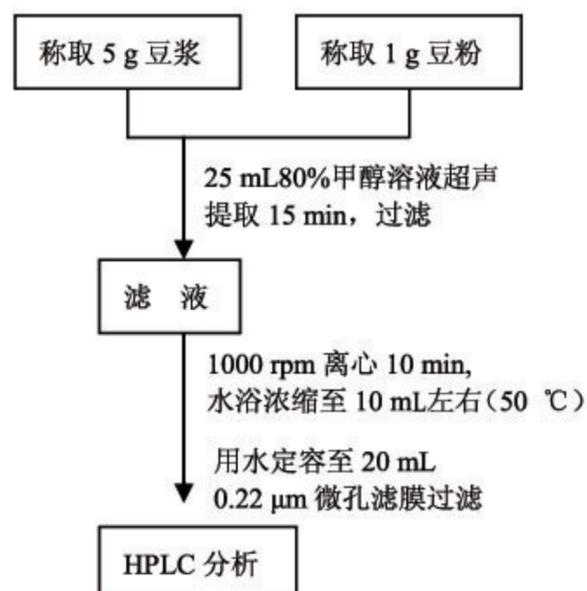


图2 样品前处理步骤

结果与讨论

1、大豆异黄酮标样的色谱图

四种大豆异黄酮标样的色谱图如图3所示。

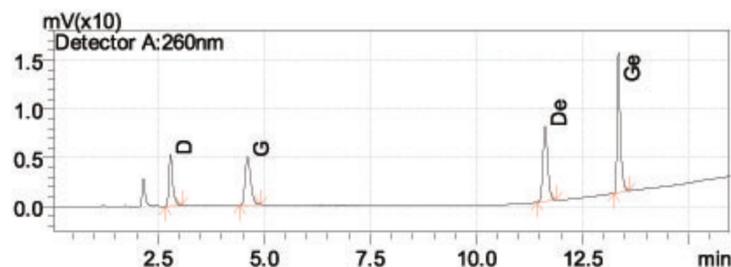
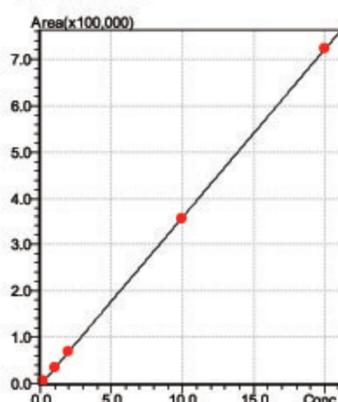


图3 1 μg/mL的标准品色谱图

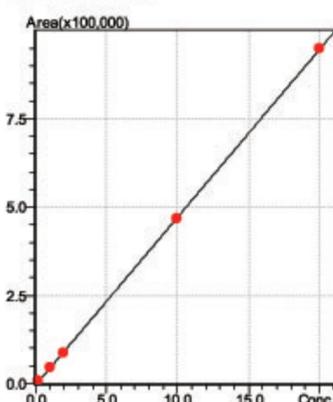
2、线性范围及检出限

将配置浓度为0.2, 1, 2, 10, 20 μg/mL的混标溶液按上述分析条件进行测定, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标绘制工作曲线, 各组标准曲线和相关系数见图4。结果表明: 在此范围内, 线性关系良好, R^2 均达到了0.999以上。

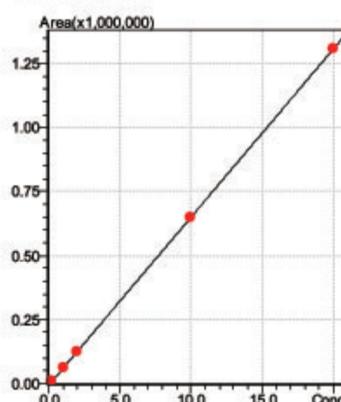
大豆甙 (D)
 $R^2 = .09999$



染料木甙 (G)
 $R^2 = .09999$



大豆甙元 (De)
 $R^2 = .09999$



染料木素 (Ge)
 $R^2 = .09998$

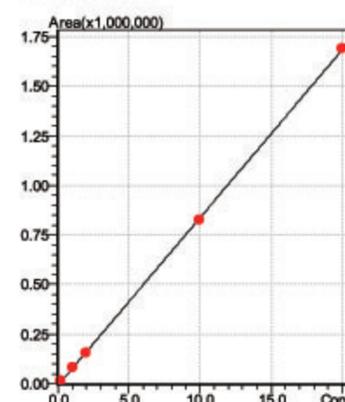


图4 四种大豆异黄酮样品的标准曲线及相关系数