

不同品种大豆中的生物活性成分及其抗氧化活性的比较分析

周萌, 马玉荣, 黄惠华

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文以华南地区广泛种植的十种大豆作为研究对象, 大豆制粉后测定了其总酚、总黄酮、异黄酮含量及抗氧化活性(DPPH、FRAP、ORAC), 并对生物活性成分含量与抗氧化活性之间进行相关性分析。研究结果表明大豆基因型显著影响其生物活性物质含量及抗氧化活性: 品种间的总酚含量为 3.18~4.47 mg GAE/g, 其中品种 HC5 与 HC6 具有最高和最低含量; 总黄酮含量为 0.27~0.39 mg CE/g, 其中 HC3 与 HC2 具有最高和最低含量; 总异黄酮含量为 720.24~1285.47 μ g/g, 其中 HX3 和 HC6 具有最高和最低含量; 对于 DPPH 和 FRAP 值, HX1 和 GXD2 分别具有最高和最低值, 而品种 HX5 与 HX9 的 ORAC 值分别最高与最低。DPPH、FRAP 与 TPC、TFC 之间存在正相关性, 而 ORAC 与异黄酮含量之间显著负相关。综合比较发现 HC5、HX1、HX9 等具有较丰富的生物活性物质, 而 HX1、HX5 等的抗氧化活性相对较好, 是生产优质大豆食品的原料。

关键词: 总酚; 总黄酮; 异黄酮; 抗氧化性

文章编号: 1673-9078(2015)4-137-143

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.4.022

Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Different Varieties of Soybean Cultivars

ZHOU Meng, MA Yu-rong, HUANG Hui-hua

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The characteristics of ten soybean cultivars that are widely grown in South China were examined. Soy flours were prepared, and the total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), isoflavone content, and antioxidant activity (based on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl [DPPH] radical scavenging capacity, ferric ion reducing antioxidant power [FRAP], and oxygen radical absorbance capacity [ORAC]) were measured. The correlations between bioactive compound contents and antioxidant activity were analyzed. Bioactive compound contents and antioxidant activity were significantly influenced by soybean genotype. The TPCs of soybean cultivars ranged from 3.18 to 4.47 mg GAE/g, and the highest and lowest contents were detected in cultivars HC5 and HC6, respectively. The TFCs ranged from 0.27 to 0.39 mg CE/g, and the highest and lowest contents were detected in cultivars HC3 and HC2, respectively. The isoflavone contents ranged from 720.24 to 1,285.47 μ g/g, and the highest and lowest contents were detected in cultivars HX3 and HC6. Cultivars HX1 and GXD2 exhibited the highest DPPH and lowest FRAP values, respectively, while the highest and lowest ORAC values were observed in cultivars HX5 and HX9, respectively. DPPH and FRAP were positively correlated with TPC and TFC, respectively, while ORAC was negatively correlated with isoflavone content. Based on this comprehensive evaluation, HC5, HX1, and HX9 were much richer in bioactive compounds than the other cultivars, while HX1 and HX5 had higher antioxidant activity and can be used as raw materials for the production of high-quality soy-based foods.

Key words: total phenolics; total flavonoids; isoflavones; antioxidant activity

收稿日期: 2014-06-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31271978)以及教育部博士点基金项目(20120172110017)

作者简介: 周萌, 女, 硕士在读研究生, 研究方向农产品加工及贮藏工程; 马玉荣, 并列第一作者

通讯作者: 黄惠华, 男, 博士生导师, 研究方向农产品加工与贮藏, 食品科学与工程, 天然活性产物的分离, 食品生物技术等

中国的大豆产量及消费均居于世界前列, 大豆作为一种优质的营养源, 其本身及豆制品含有独特而丰富的生物活性物质。大豆及豆制品具有的健康促进作用与其抗氧化作用有关^[1], 而其抗氧化活性与其含有的生物活性物质密切相关。Lee 等发现总酚含量与豆科作物的抗氧化作用之间呈现良好的相关性, 而其它的一些非酚类物质, 包括抗坏血酸、植酸、皂甙等也

能共同促进这一抗氧化活性^[2]。而且从酚类、黄酮类等的结构上看,酚类发挥其抗氧化作用与其供氢体的结构密切相关,而黄酮类具有多酚类和吡喃环的结构组成,具有显著的抗氧化活性^[3]。大豆异黄酮作为一类特殊的黄酮类物质,也具有显著的抗氧化活性^[5],目前被研究人员广泛关注。这三大类物质是目前大豆研究中被认为与其抗氧化性密切相关的生物活性物质。而从国内到国外,大豆品种来源广泛,品种各异。

关于大豆的抗氧化活性,现有的研究多集中于某些豆制品的工艺优化、豆类抗氧化活性或者大豆中的一类生物活性物质的性质研究,涉及到品种的影响及差异分析较少。本文选取了华南地区广泛种植的10种杂交大豆,定量测定了其中具代表性的生物活性物质-总酚、总黄酮、异黄酮含量,并测定了这10种大豆的抗氧化活性(DPPH, FRAP及ORAC),以期发现品种对抗氧化活性的影响及与生物活性成分充分的相关性,为选择富含生物活性物质且具有较高抗氧化活性的原材料大豆品种,生产优质的大豆及豆制品提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料

由华南农业大学年海教授的研究团队提供。从试验田2011年收获的10种选育出来的非转基因大豆,分别为华春1号(HC1)、华春2号(HC2)、华春3号(HC3)、华春5号(HC5)、华春6号(HC6)、华夏1号(HX1)、华夏3号(HX3)、华夏5号(HX5)、华夏9号(HX9)、桂夏豆2号(GXD2)。剔除原料中坏粒、非整粒及外来杂物。

1.1.2 主要试剂

六种异黄酮标品(黄豆苷元,黄豆甙,染料木黄酮,染料木甙,黄豆黄苷,黄豆黄甙)购自International Laboratory, USA(South San Francisco, CA., USA); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)购自Tokyo Chemical Industry Co., Ltd. (Tokyo, Japan); 三吡啶三吡嗪(TPTZ)购自广州飞博生物科技有限公司; 偶氮二异丁脒盐酸盐(AAPH)及(+)-水合儿茶素购自阿拉丁试剂(上海)有限公司; 水溶性维生素E(Trolox)购自Sigma-Aldrich (St. Louis, MO); 没食子酸单水合物购自国药集团化学试剂上海有限公司

1.1.3 主要仪器设备

岛津分光光度计, UV-1800, Shimadzu, Japan; 荧光酶标仪, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA;

Dionex UltiMate 3000 色谱仪, Dionex 系统, 串联四元液相泵, UltiMate 3000 可变波长检测器; 色谱柱为 Venusil MP-C18 column, 5 μm , 250 \times 4.6 mm i.d., Agela Technologies Inc., USA。

1.2 试验方法

1.2.1 样品制备

异黄酮提取方法参考 Xu and Chang^[6]报道的方法。称取0.5 g 豆粉于10 mL 离心管中,加入5 mL 70%乙醇(用作ORAC检测)或者50%丙酮(用作总酚、总黄酮、异黄酮含量及DPPH、FRAP检测)。将其在室温下以250 r/min的速度在摇床中振荡提取3 h, 4000 r/min离心10 min,吸取上清液,残留物另取5 mL 试剂提取,再次收集上清液,将上清液汇总后备用,4 $^{\circ}\text{C}$ 下避光保存。

1.2.2 总酚含量测定

TPC的检测方法参考 Xu and Chang^[6]的报道。取提取液100 μL ,加入2.95 mL 蒸馏水,250 μL 福林酚试剂,混匀,室温下放置8 min,再加入750 μL Na_2CO_3 溶液(7%)混匀。然后加入950 μL 蒸馏水,将其放在室温下黑暗处2 h后,在765 nm处测吸光值。每个样品设三个平行,以没食子酸为标准品作标曲,实验结果以每克样品中含有的没食子酸当量(GAE)表示(mg GAE/g)。

1.2.3 总黄酮含量测定

TFC的检测在 Dewanto et al.^[7]的比色法上有所改动。取1 mL 提取液,加入150 μL NaNO_2 溶液(5%)摇匀,静置6 min,加入300 μL $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶液(10%),再加入1 mL NaOH (1 mol/L),静置5 min。加入蒸馏水3.5 mL,立即测定510 nm处吸光值。选取(+)-儿茶素为标品作标曲,每个样品设三个平行,实验结果以每克样品中儿茶素当量(CE)的含量表示(mg CE/g)。

1.2.4 异黄酮提取及分析

异黄酮提取方法在 Murphy et al.^[8]的基础上略略改动。取1 g 豆粉在50 mL 带螺旋盖的烧瓶中加3.5 mL 蒸馏水彻底溶解,然后加入1 mL HCl (0.1 mol/L)和5 mL 乙腈。室温下旋转蒸发提取2 h。在34 $^{\circ}\text{C}$ 以下,将提取物过滤,并蒸干,残渣用5 mL 甲醇(80%)溶解。溶液用0.45 μm 针头过滤器过滤后备用。

大豆异黄酮的分析采用HPLC法。流动相A为水(0.1%醋酸),流动相B为乙腈(0.1%醋酸),梯度洗脱设置为:0~5 min, 15% B; 5~36 min, 15%~29% B; 36~44 min, 29%~35% B; 44~46 min, 35%~50% B; 46~56 min, 50% B; 56~58 min, 50%~15% B。在下一组样品进样前用15% B使柱子平衡,以流速1.0

mL/min 冲洗 2 min。前 5 min 流速为 1.0 mL/min, 之后加速, 31 min 时流速增加至 1.5 mL/min, 并保持此速度 20 min, 再减速至 1.0 mL/min。整个 HPLC 运行时间为 60 min。紫外检测波长为 262 nm, 柱温为 34 °C, 进样量为 10 μL。

异黄酮标品如黄豆苷元, 黄豆甙, 染料木黄酮, 染料木甙, 黄豆黄甙分别用 40 μL DMSO 溶解, 再用 80% 的甲醇稀释作标液。黄豆黄甙用纯 DMSO 溶解并定容。标准品储备液的浓度为黄豆黄甙 100 μg/mL,

总黄豆苷元类 = 254(黄豆甙/416 + 丙二酰大豆黄甙/502 + 黄豆苷元/254);

总黄豆黄甙类 = 284(黄豆黄甙/446 + 丙二酰黄豆黄甙/532 + 黄豆苷元/284);

总染料木黄酮类 = 270(染料木甙/432 + 丙二酰染料木甙/518 + 染料木黄酮/270);

总异黄酮 = 总黄豆苷元类 + 总黄豆黄甙类 + 总染料木黄酮类

1.2.5 抗氧化活性测定

1.2.5.1 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基清除能力测定

DPPH 自由基清除能力测定参照 Chen and Ho^[9]、Slavin et al.^[10]、Xu and Chang^[6]报道的方法。取 1 mL 待测液, 加入 3 mL DPPH (0.1 mmol/L) 溶液, 摇匀, 室温下于暗处静置 30 min。迅速测定 517 nm 处吸光值。以 Trolox 作为

标品制作标曲。样品空白 (blank) 组添加 3 mL 乙醇至 1 mL 提取物中, 溶剂空白 (control) 组添加 3 mL DPPH 溶液至 1 mL 提取物溶剂 (70% 乙醇或 50% 丙酮) 中, 分别测得吸光值为 A_{blank} 和 A_{control} 。样品 DPPH 清除率计算:

$$\text{自由基清除率} = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

注: A_{sample} , A_{blank} 和 A_{control} 分别代表样品, 样品空白与溶剂空白的吸光值。所有试验组设三个平行, DPPH 自由基清除能力表示为每克样品中含有的 Trolox 当量 (TE) 的微摩尔数 (μmol TE/g)。

1.2.5.2 还原三价铁离子能力 (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP) 测定

FRAP 测定法在 Benzie and Strain^[11] 的方法上有所改动。3 mL 新配的 FRAP 试剂中加入预热至 37 °C 的 100 μL 待测液和 300 μL 蒸馏水后, 37 °C 下反应 4 min, 593 nm 处测吸光值。FRAP 试剂以醋酸缓冲液 (300 μmol/L, pH3.6), TPTZ (10 mmol/L, 溶剂为 40 mmol/L HCl) 及 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mmol/L) 溶液按 10:1:1 的比例配置, 现用现配。反应前所有的溶液均要预热至 37 °C。根据已知浓度的 Fe^{2+} ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 水溶液浓度作标准曲线。所有试验组设三个平行, FRAP 值表示为每 100 g 中 Fe^{2+} 当量 (FE) 的毫摩尔数 (mmol FE/100 g)。

1.2.5.3 氧自由基吸收能力 (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) 测定

其它 400 μg/mL。使用外标法制作标曲。对于缺少标准品的异黄酮, 根据其对应的糖苷型异黄酮分子量的差异 (各自的糖苷配基不同) 进行换算, 制定标准曲线。异黄酮含量表示为每克样品中异黄酮的微克数 (μg/g)。各类异黄酮总黄豆苷元类, 总黄豆黄甙类, 总染料木黄酮类含量和总异黄酮含量计算参考 Murphy et al.^[16] 的方法。

计算方法为:

ORAC 测定在 Prior et al.^[12] 和 Wu et al.^[13] 的方法上略有改动。试验中所有试剂均由磷酸钾盐缓冲液 (75 mmol/L, pH7.4) 配置。将样品提取液用磷酸缓冲液稀释至合适的浓度范围内。在 96 孔微板中加入 20 μL 的缓冲液、Trolox 标品 (6.25~50 μmol/L) 或样品提取液。每孔加入 200 μL 荧光素试剂 (0.956 μmol/L)。振摇 1 min, 37 °C 保温放置 20 min。然后, 用移液器在每孔内加入 20 μL 新配的 AAPH (119.4 mmol/L)。读数前将微孔板振摇 15 s 使试剂混匀。荧光酶标仪在 37 °C 下每 2 min 读数一次, 读数 60 次, 共计 120 min。激发波长和发射波长分别为 485 nm 和 535 nm。ORAC 值通过 Trolox 浓度和荧光衰减曲线下的净面积之间的线性方程计算, 表示为每克中 Trolox 当量 (TE) 微摩尔数 (μmol TE/g)。荧光衰减曲线下的面积 (AUC) 计算公式如下:

$$\text{AUC} = (0.5 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + f_3/f_0 + \dots + f_60/f_0) \times \text{CT}$$

注: f_0 为 0 min 时的初始荧光强度, f_i 时间 i min 时的荧光强度, CT 为计数时间内的循环次数。荧光衰减净面积 (AUC_{net}) 的计算为样品或标准品的面积减去空白面积, 即 $\text{AUC}_{\text{net}} = \text{AUC}_{\text{sample/Trolox}} - \text{AUC}_{\text{blank}}$ 。

2 结果与分析

2.1 品种对大豆总酚含量的影响

如图 1 所示, 十个品种大豆的总酚含量为 3.18~4.47 mg GAE/g。品种 HC5 (4.47 mg GAE/g) 总酚含量最高, 品种 HC6 (3.19 mg GAE/g) 含量最低。Xu and Chang^[6] 发现黄豆中总酚含量为 2.07~2.90 mg GAE/g, 黑豆品种则为 8.75~9.01 mg GAE/g。Lee 等^[7] 检测发现大豆总酚含量为 1.13 mg GAE/g, 而绿豆总酚含量为 2.03 mg GAE/g。各文献报道的 TPC 含量范围相差不大, 但也存在一定的差异, 可能主要是因为

样品以及样品处理方法与检测方法的不同而引起的，大豆中酚类的组成也会影响总酚含量。本文的结果说明大豆品种基因型显著影响到大豆中总酚的含量。

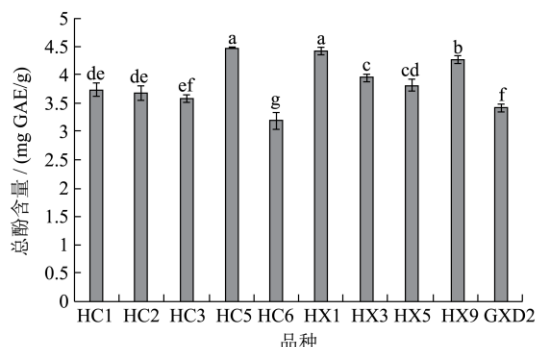


图1 品种对大豆总酚含量的影响

Fig.1 Influence of soy cultivars on the TPC in soy flour

2.2 品种对大豆总黄酮的影响

如图2所示，品种对大豆中总黄酮含量具有较大

的影响。品种 HC3 (0.39 mg CE/g) 和品种 HC2 (0.27 mg CE/g) 分别具有最高和最低的总黄酮含量，而不同品种豆粉中总黄酮含量在 0.27~0.39 mg CE/g 之间波动。前人的研究发现黄豆品种中总黄酮含量为 0.18~0.59 mg CE/g，而黑豆中总黄酮含量为 5.34~5.95 mg CE/g^[6]。而 Amarowicz 等^[3]在研究中发现六种豆类种子（青豌豆，黄豌豆，鹰嘴豆，兵豆，红腰豆及黑豆）的总黄酮含量为 0.08~3.21 mg CE/g。这些数值表明豆类的种类和基因型对其总黄酮含量存在显著影响，且不同的处理方法及检测方法也会造成检测含量的不同。相关性分析发现 TFC 与 TPC 之间不存在相关性。可能是因为黄酮类与酚类虽均可归入多酚类，但二者的结构存在着一定的差异，黄酮类是从黄酮环的普通分子框架衍生而来的，而酚类则是由一个六碳（芳香环或轮状环）组成的化合物。

2.3 品种对大豆总黄酮的影响

表1 品种对异黄酮含量的影响 (μg/g)

Table 1 Influence of soy cultivars on isoflavone content in soy flour (μg/g)

品种	黄豆苷元	染料木黄酮	黄豆黄苷	黄豆甙	染料木甙	黄豆黄甙	乙酰黄豆甙	乙酰染料木甙
HC1	35.08±1.14 ^e	20.05±2.65 ^f	12.36±0.28 ^c	183.68±14.12 ^c	159.10±4.25 ^c	98.84±8.72 ^b	67.12±3.28 ^{bc}	ND
HC2	31.26±1.99 ^f	14.81±0.40 ^g	23.52±0.75 ^a	155.61±6.13 ^f	138.09±7.28 ^c	111.28±2.29 ^a	61.63±4.48 ^c	ND
HC3	31.25±2.33 ^f	14.92±0.36 ^g	20.44±1.19 ^b	143.84±6.79 ^f	141.58±2.66 ^c	83.03±3.15 ^c	42.45±1.43 ^d	ND
HC5	42.32±2.58 ^d	32.24±0.52 ^{cd}	11.56±0.35 ^e	198.36±5.89 ^{db}	112.40±4.30 ^d	23.48±2.12 ^f	63.48±3.38 ^c	ND
HC6	61.42±0.90 ^b	41.05±2.17 ^b	17.26±1.84 ^c	186.60±6.76 ^c	148.91±1.92 ^c	68.23±2.30 ^d	23.76±2.79 ^f	ND
HX1	132.20±5.27 ^a	101.26±4.54 ^d	14.82±0.69 ^d	359.10±21.66 ^a	292.63±21.28 ^a	47.49±2.16 ^e	29.49±2.65 ^e	ND
HX3	61.33±6.46 ^b	34.36±1.40 ^c	7.46±0.28 ^g	294.34±19.16 ^b	266.07±21.39 ^b	ND	79.96±3.12 ^a	ND
HX5	23.41±1.87 ^f	26.29±2.28 ^c	15.45±0.58 ^d	92.70±2.92 ^g	90.00±4.56 ^e	63.74±1.27 ^d	42.93±1.18 ^d	ND
HX9	33.14±1.85 ^f	29.40±2.90 ^{db}	9.63±0.75 ^f	207.92±8.77 ^d	139.08±15.22 ^c	67.07±3.34 ^d	62.43±3.54 ^c	ND
GXD2	48.73±1.65 ^c	30.30±2.22 ^{cd}	15.59±0.35 ^d	265.30±1.07 ^c	252.45±6.86 ^b	4.94±1.43 ^g	70.87±3.70 ^b	ND

品种	乙酰黄 豆黄甙	丙二酰 黄豆甙	丙二酰染 料木甙	丙二酰黄 豆黄甙	总黄豆苷元	总染料木黄酮	总黄豆黄苷	总异黄酮
HC1	ND	625.02±23.56 ^f	663.59±32.28 ^{bc}	153.51±7.11 ^b	500.70±22.49 ^e	465.37±18.65 ^c	157.24±9.28 ^b	1123.31±48.09 ^{cd}
HC2	9.66±0.77 ^a	646.38±14.66 ^{de}	623.47±31.04 ^c	183.57±2.62 ^a	487.51±14.81 ^e	426.09±20.16 ^d	197.99±3.7 ^a	1111.58±38.13 ^{de}
HC3	5.92±0.4 ^b	417.63±10.09 ^f	395.75±31.61 ^e	123.22±3.27 ^c	353.93±1.18 ^f	309.68±15.19 ^e	142.53±4.74 ^c	806.14±30.00 ^f
HC5	ND	968.69±17.33 ^a	662.99±35.93 ^{bc}	46.22±2.95 ^e	688.77±16.20 ^a	448.06±9.17 ^{cd}	51.18±2.65 ^g	1188.01±36.23 ^{bc}
HC6	1.92±0.23 ^d	308.67±10.61 ^h	269.56±16.92 ^f	73.21±1.93 ^d	344.72±10.07 ^f	274.62±18.24 ^f	100.90±2.79 ^e	720.24±29.29 ^g
HX1	ND	349.52±14.17 ^g	309.11±15.60 ^f	38.03±2.19 ^f	544.66±26.99 ^d	445.28±25.93 ^{cd}	65.36±3.11 ^f	1055.30±55.61 ^e
HX3	ND	784.44±25.36 ^c	757.91±13.18 ^a	ND	682.30±17.66 ^a	595.71±21.15 ^a	7.46±0.28 ⁱ	1285.47±7.45 ^a
HX5	6.63±0.43 ^b	412.1±26.21 ^f	457.75±18.68 ^d	127.48±5.22 ^e	312.33±16.88 ^g	321.14±8.34 ^e	127.94±4.03 ^d	761.41±29.14 ^g
HX9	4.32±0.39 ^c	844.17±36.64 ^b	678.27±31.67 ^b	125.96±5.78 ^e	621.84±27.4 ^b	469.86±23.67 ^c	122.10±4.94 ^d	1213.80±48.80 ^b
GXD2	2.6±0.78 ^d	668.87±5.69 ^d	673.10±8.28 ^b	6.61±1.06 ^g	588.45±6.44 ^c	538.93±10.67 ^b	23.78±2.01 ^h	1151.16±17.17 ^{bcd}

注：最左列分别代表10种大豆品种，详细请见前面的原料部分；小写字母代表显著性，具有相同字母标注的表示在这一类型异黄酮含量上这两个品种为不显著；ND, not detected, 未检测到。

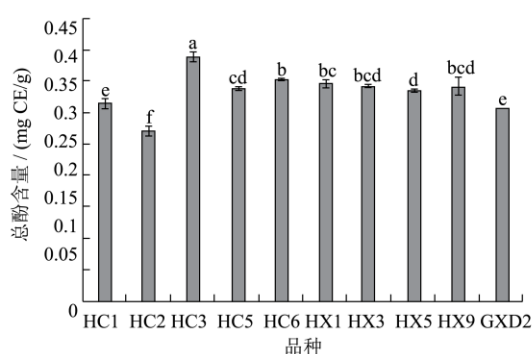


图2 品种对大豆总黄酮含量的影响

Fig.2 Influence of soy cultivars on the TFC in soy flour

如表 1 所示, 不同品种大豆中总异黄酮含量在 720.24~1285.47 $\mu\text{g/g}$ 之间波动, 其中品种 HX3 的含量最高, 而品种 HC6 最低。表 1 中数据显示丙二酰黄酮苷和丙二酰染料木苷是待测液中主要的异黄酮, 其含量是其它几种的几倍至几十倍。黄豆苷元类异黄酮含量高于染料木黄酮类和黄豆黄酮类异黄酮。总异黄酮含量最低的品种 HC6 中, 异黄酮各组分与其它品种相比, 大多数的含量处于较低水平, 而品种 HC2、HX1 与 HX3 这些异黄酮总量较高的品种在异黄酮各组分含量上, 部分水平相对较高。而 Charron 等所检测品种总异黄酮含量在 3531~7716 $\mu\text{g/g}$ 之间^[4]。Hoeck 等的研究发现品种 Kenwood 94、Vinton 81、IA2011、IA2012、IA2013 和 IA2016 (美国爱荷华州种植品种) 的总异黄酮含量和单个异黄酮含量显著不同^[5]。由此可见, 尽管样品处理方法与计算公式不同可能导致不同研究中异黄酮含量存在较大差异, 但之前的研究数据与本文中的数据都表明, 种植地域、年份、品种基因型等对大豆品种中大豆异黄酮含量及组成存在不同程度的影响, 且这些因素之间可能存在着交互作用。不同品种间异黄酮总量及其各组分含量之间存在着显著差异, 且不同组分的异黄酮在人体内的代谢也存在着差异, 因而筛选出相对含量较高的品种十分重要。本研究结果表明, HX3 和 HX9 中总异黄酮含量较高, 在挑选生产优质大豆食品的原料的时候可提供参考。

2.4 品种对大豆抗氧化活性的影响

2.4.1 大豆品种间 DPPH 自由基清除能力的变化及与活性成分的相关性

DPPH 自由基清除能力被广泛应用于检测样品抗氧化能力, 通过自由基与氢供体如酚类物质反应, 从而使试剂褪色。由表 2 可知, 豆粉中 DPPH 自由基清除能力受大豆品种的影响, 其中品种 HX1 表现出较高的 DPPH 自由基清除能力 (1.74 $\mu\text{mol TE/g}$), 而品种 GXD2 能力最低 (1.63 $\mu\text{mol TE/g}$)。实验结果表明不

同品种豆粉提取物的 DPPH 自由基清除能力不同, 在 1.63~1.74 $\mu\text{mol TE/g}$ 之间波动。Xu and Chang^[6]的研究表明 28 种黄豆品种有显著不同的 DPPH 值, 而其中有 3 个样品中未检出, 其它样品的值在 0.21~1.16 $\mu\text{mol TE/g}$ 之间, 且黄豆的 DPPH 值明显低于黑豆。Chung 等^[14]的研究表明 Virginia 种植的受试大豆 DPPH 值在 2.9~4.9 $\mu\text{mol TE/g}$ 之间。这些数据之间的差异说明豆类品种、大豆的种植地域与环境等均会影响其 DPPH 自由基清除能力。

酚类和黄酮被认为是大豆具有自由基清除能力的原因。然而, Xu and Chang^[6]报道称黄豆中 DPPH 和 TPC、TFC 之间无相关性, 而黑豆中则存在显著线性相关。Chung 等^[14]表明 DPPH 和 TPC 之间无相关性。这一争论大概是因为大豆基因型和萃取溶剂的不同造成的。本研究对 DPPH 和 TPC、TFC 进行相关性分析, 发现 DPPH 和 TPC ($R^2=0.60$, $P<0.005$) 呈现正相关性, 而 DPPH 和 TFC 不相关, 即酚类含量高的品种 DPPH 自由基清除能力较强。目前普遍认为异黄酮是有效的抗氧化物质。但是从相关性分析的结果来看, 异黄酮含量与 DPPH、FRAP 之间均无相关性, 本文研究发现 HX1 与 HC5 的 DPPH 自由基清除能力较强, 分析比较表 1 中这两个品种的各类异黄酮含量, 除了未检测到的及总染料木黄酮含量, 每一列均为显著, 可认为它们的异黄酮含量有较大差异, 从而进一步推测异黄酮与自由基清除能力之间无正相关关系。这一结果与表 3 中对三大类异黄酮含量及总异黄酮含量进行相关性分析的结果基本相符。

表 2 品种对大豆抗氧化活性的影响

Table 2 Effects of soy cultivars on soybean antioxidant activity

品种	DPPH/ ($\mu\text{mol TE/g}$)	FRAP/ ($\text{mmol FE}/100\text{g}$)	ORAC/ ($\mu\text{mol TE/g}$)
HC1	1.63±0.029 ^d	1.94±0.048 ^f	157.99±6.06 ^c
HC2	1.64±0.031 ^d	1.92±0.036 ^f	138.91±1.61 ^d
HC3	1.64±0.017 ^d	2.42±0.061 ^b	169.89±2.60 ^b
HC5	1.73±0.0035 ^{ab}	1.98±0.040 ^{df}	171.19±2.94 ^b
HC6	1.68±0.043 ^c	2.04±0.061 ^{cd}	172.56±3.17 ^b
HX1	1.74±0.035 ^a	3.66±0.029 ^a	126.18±2.31 ^e
HX3	1.63±0.019 ^d	1.97±0.043 ^{df}	130.77±8.43 ^c
HX5	1.72±0.0047 ^{abc}	2.01±0.015 ^{de}	202.68±3.64 ^a
HX9	1.70±0.0018 ^{bc}	2.10±0.025 ^c	125.50±5.90 ^e
GXD2	1.63±0.010 ^d	1.80±0.036 ^e	150.28 ±6.09 ^e

2.4.2 大豆品种间 FRAP 活性的变化及与活性成分的相关性

FRAP 也是常用的检测样品抗氧化活性的指标, 用来表示 Fe^{3+} -TPTZ 络合物被还原的能力。在 pH 较

低时, Fe^{3+} -TPTZ 络合物被还原剂(如抗氧化剂或其它还原剂)还原为二价铁(Fe^{2+})的形式,而二价铁(Fe^{2+})具有鲜艳的蓝色,在 593nm 处有最大吸光值^[11]。如表 2 所示,十个品种大豆提取物的 FRAP 值呈现明显的差异性,FRAP 值在 1.79~3.66 mmol FE/100 g 之间。品种 HX1 (3.66 mmol FE/100 g) 值最高,约两倍于品种 GXD2 (1.80 mmol FE/100 g)。Xu and Chang⁶等的研究表明,不同品种大豆的 FRAP 值在 0.83~1.34 mmol FE/100 g 之间。这些差异可能主要来源于样品处理方法、豆类品种、种植环境等。相关性分析发现,FRAP 和 TPC ($R^2=0.41$),FRAP 和 TFC 之间不存在显著相关性,即酚类与黄酮类含量高的大豆并不一定具有较高的 FRAP 值。而 DPPH 自由基清除能力与 FRAP 之间也呈正相关 ($R^2=0.50$, $P>0.05$),表明具有相似反应机理的抗氧化法测得的抗氧化性具有一定的相关性。

2.4.3 大豆品种间 ORAC 活性的变化及与活性成分的相关性

ORAC 用于检测样品清除反应溶液中氢过氧自由基的能力,也是常见的抗氧化活性指标。如表 2 所示,十个品种豆粉的 ORAC 值在 125.49~202.68 $\mu\text{mol TE/g}$ 之间波动,其中品种 HX5 (202.68 $\mu\text{mol TE/g}$) 最高,而 HX9 (125.50 $\mu\text{mol TE/g}$) 号最低。Xu and Chang⁶发现黄豆的 ORAC 值在 21.2~91.3 $\mu\text{mol TE/g}$ 之间波动,而 Chung 等^[14]报道称 Virginia 种植的大豆品种 ORAC 值在 115.7~228.6 $\mu\text{mol TE/g}$ 之间变化。各研究检测的 ORAC 值波动范围很大,表明了大豆品种基因型、种植环境和样品处理方式等对其的影响很大。

DPPH 自由基清除能力,FRAP, ORAC 是广泛

表 3 豆粉生物活性物质含量与抗氧化活性之间的相关性

Table 3 Correlations between bioactive compounds and antioxidant activity of soy flour

	相关系数							
	FRAP	ORAC	TPC	TFC	总黄豆苷元	总染料木黄酮	总黄豆黄苷	总异黄酮
DPPH	0.50	0.14	0.60*	0.19	0.092	-0.17	-0.36	-0.12
FRAP		-0.36	0.41	0.33	0.005	-0.019	-0.24	-0.071
ORAC			-0.40	0.20	-0.65	-0.70*	0.19	-0.72*
TPC				-0.014	0.74*	0.57	-0.45	0.65
TFC					-0.18	-0.31	-0.43	-0.38
总黄豆苷元						0.88**	-0.56	0.94**
总染料木黄酮							-0.46	0.95**
总黄豆黄苷								-0.32

3 结论

3.1 研究发现,品种显著影响大豆中的生物活性物质如酚类、黄酮类、异黄酮的含量。通过 DPPH、

用来检测样品的抗氧化活性的方法。本研究发现,品种 HX1 具有较高的 DPPH 和 FRAP 值,而其 ORAC 值却较低。相似的情况也出现在品种 HX9 上。同时,研究还发现品种 HX9 和 HX5 的 DPPH 和 FRAP 值差异较小,但是二者的 ORAC 值差异异常明显。HX5 的 ORAC 值远高于 HX9。这说明,样品的 DPPH 和 FRAP 值较高,其 ORAC 值不一定高。同样,相关性分析也表明 DPPH 与 FRAP ($R^2=0.50$) 显著相关,而 ORAC 与 DPPH 和 FRAP 却无相关性。这也进一步证明具有高 DPPH 和 FRAP 的样品不一定有高 ORAC 值。这一结果可能是由于其抗氧化机理的差异造成的。DPPH 自由基清除反应和 FRAP 的反应属于单电子转移反应,其测定过程中不包含活性氧,而是主要反映样品对高价态离子的还原能力。

对 ORAC 与豆粉中活性化合物进行相关性分析发现,ORAC 和 TFC 为负相关 ($R^2=-0.40$, $P<0.05$),而 ORAC 与 TPC 之间无相关性。Chung 等^[14]的研究得也发现 ORAC 与 TPC 之间无相关性,但是, Xu and Chang^[6]报道称 ORAC 与 TPC 之间呈良好相关性。这一差异性的产生可能是因为实验过程中样品处理方式不同、原材料大豆品种差异等。本文中,总异黄酮含量与抗氧化活性之间的相关性分析发现,ORAC 和总黄豆苷元 ($R^2=-0.65$, $P<0.05$)、总染料木黄酮 ($R^2=-0.70$, $P<0.01$)、总异黄酮含量 ($R^2=-0.72$, $P<0.01$) 呈显著负相关。另外,在处理样品时,并未特异对样品进行脱脂或去蛋白等处理,这些物质对于检测指标可能存在一定的促进或抑制作用,可能会影响实验结果,这一点有待进一步论证。

FRAP 和 ORAC 进行的抗氧化性分析发现,大豆抗氧化性随品种的不同而不同。相关性分析发现,大豆的抗氧化活性与其生物活性物质含量之间存在一定的相关性,DPPH、FRAP 与总酚、总黄酮含量之间呈正相

关, 而 ORAC 与异黄酮含量呈显著负相关。

3.2 本研究结果表明, 品种 HC5、HX1、HX9 等具有较丰富的生物活性物质, 而 HX1、HX5 等的抗氧化活性相对较好, 这些品种可广泛种植用于生产高品质大豆。

致谢: 衷心感谢华南农业大学年海教授及其团队无私提供本实验所用的全部大豆品种原料。

参考文献

- [1] Fernandez-Pancho M S, Villano D, Troncoso A M, et al. Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48: 649-671
- [2] Lee J H, Jeon J K, Kim S G, et al. Comparative analyses of total phenols, flavonoids, saponins and antioxidant activity in yellow soy beans and mung beans [J]. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 2011, 46: 2513-2519
- [3] Amarowicz R, Pegg R B. Legumes as a source of natural antioxidants [J]. *Eur. J. Lipid Sci. Tech.*, 2008, 110: 865-878
- [4] Charron C S, Allen F L, Johnson R D, et al. Correlations of oil and protein with isoflavone concentration in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. *Agric. Food Chem.*, 2005, 53: 7128-7135
- [5] Hoeck J A, Fehr W R, Murphy P A, et al. Influence of genotype and environment on isoflavone contents of soybean [J]. *Crop Sci.*, 2000, 40: 48-51
- [6] Xu B J, Chang S K C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents [J]. *Food Sci.*, 2007, 72: S159-S166
- [7] Dewanto V, Wu X, Adom K K, et al. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity [J]. *Agric. Food Chem.*, 2002, 50: 3010-3014
- [8] Murphy P A, Song T, Buseman G, et al. Isoflavones in soy-based infant formulas [J]. *Agric. Food Chem.*, 1997, 45: 4635-4638
- [9] Chen C W, Ho C T. Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas [J]. *Food Lipids*, 1995, 2: 35-46
- [10] Slavin M, Cheng Z H, Luther M, et al. Antioxidant properties and phenolic, isoflavone, tocopherol and carotenoid composition of Maryland-grown soybean lines with altered fatty acid profiles [J]. *Food Chem.*, 2009, 114: 20-27
- [11] Benzie I F F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay [J]. *Anal. Biochem.*, 1996, 239: 70-76
- [12] Prior R L, Hoang H, Gu L, et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of plasma and other biological and food samples [J]. *Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 3273-3279
- [13] Wu X, Beecher G R, Holden J M, et al. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States [J]. *Agric. Food Chem.*, 2004, 52: 4026-4037
- [14] Chung H, Hogan S, Zhang L, et al. Characterization and comparison of antioxidant properties and bioactive components of Virginia soybeans [J]. *Agric. Food Chem.*, 2008, 56: 11515-11519