

**NY**

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1252—2006

---

## 大豆异黄酮

Soybean isoflavone

2006-12-06 发布

2007-02-01 实施

---



中华人民共和国农业部 发布

## 前 言

本标准的附录 A、附录 B 和附录 C 都是规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：上海市农业科学院、国家大豆工程技术研究中心上海研发中心、上海唯依大豆科技有限公司。

本标准主要起草人：胡传璞、顾晓君、胡涛、张丽蓉、陈俊兰、王楠。

# 大豆异黄酮

## 1 范围

本标准规定了大豆异黄酮基本组分的名称、大豆异黄酮的产品定义、分类、技术要求、检验方法、检验规则和标签、标志、包装、运输、贮存。

本标准适用于以食用大豆粕为主要原料生产的、主要成分为大豆异黄酮的粉状物产品。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB 191 包装储运图示标志

GB 2761 食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 允许量标准

GB/T 4789.2 食品卫生微生物学检验 菌落总数测定

GB/T 4789.3 食品卫生微生物学检验 大肠菌群测定

GB/T 4789.4 食品卫生微生物学检验 沙门氏菌检验

GB/T 4789.5 食品卫生微生物学检验 志贺氏菌检验

GB/T 4789.10 食品卫生微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

GB/T 4789.11 食品卫生微生物学检验 溶血性链球菌检验

GB/T 4789.15 食品卫生微生物学检验 霉菌和酵母计数

GB/T 5009.3 食品中水分的测定方法

GB/T 5009.4 食品中灰分的测定方法

GB/T 5009.11 食品中总砷的测定方法

GB/T 5009.12 食品中铅的测定方法

GB/T 5009.22 食品中黄曲霉毒素 B<sub>1</sub> 测定方法

GB 7718 预包装食品标签通则

GB 9683 复合食品包装袋卫生标准

GB 14932.1 食用大豆粕卫生标准

GB 16740 保健(功能)食品通用标准

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

### 3.1

**大豆异黄酮** soybean isoflavone

大豆异黄酮是大豆生长过程中形成的一类次生代谢产物,属天然黄酮类物质,具有异黄酮类化合物的典型结构。

#### 3.1.1 大豆异黄酮苷

本标准中的大豆异黄酮苷,是大豆苷(daidzin)、大豆黄苷(glycitin)以及染料木苷(genistin)三种苷的统称。

#### 3.1.2 大豆异黄酮[苷]

产品大豆异黄酮[苷],是大豆苷(daidzin)、大豆黄苷(glycitin)以及染料木苷(genistin)三种苷的总和。

### 3.1.3 大豆异黄酮苷元

大豆异黄酮苷元,是大豆素(daidzein)、大豆黄素(glycitein)以及染料木素(genistein)三种苷元的统称。

### 3.1.4 大豆异黄酮[苷元]

产品大豆异黄酮[苷元],是大豆素(daidzein)、大豆黄素(glycitein)以及染料木素(genistein)三种苷元的总和。

## 3.2

### 大豆皂苷 soybean saponin

大豆皂苷是大豆生长过程中形成的另一类次生代谢产物,往往存在于大豆异黄酮产品中。它是由糖中的羟基与齐墩果稀缩合而成的一类结构复杂的天然皂苷化合物。

## 4 产品分类

产品按大豆异黄酮组分化学结构分为大豆异黄酮苷(glucosides)和大豆异黄酮苷元(aglycones)两大类,每类又按各自成分组成成分四个产品。

### 4.1 大豆异黄酮苷

#### 4.1.1 大豆异黄酮[苷]

#### 4.1.2 大豆异黄酮[大豆苷]

#### 4.1.3 大豆异黄酮[大豆黄苷]

#### 4.1.4 大豆异黄酮[染料木苷]

### 4.2 大豆异黄酮苷元

#### 4.2.1 大豆异黄酮[苷元]

#### 4.2.2 大豆异黄酮[大豆素]

#### 4.2.3 大豆异黄酮[大豆黄素]

#### 4.2.4 大豆异黄酮[染料木素]

## 5 要求

原料大豆粕应符合 GB 14932.1 的规定。

### 5.1 感官指标

应符合表 1 的规定。

表 1 大豆异黄酮感官指标

| 项 目   | 指 标                 |
|-------|---------------------|
| 形态    | 呈粉末状,无结块现象          |
| 色泽    | 淡黄色或黄色              |
| 滋味与气味 | 具有该产品的特殊香气,入口味苦,无异味 |
| 杂质    | 无肉眼可见的杂质            |

### 5.2 理化指标

应符合表 2 的规定。

表2 大豆异黄酮理化指标

| 项 目                         | 指 标   |
|-----------------------------|-------|
| 粒度(80目筛下), %                | ≥ 80  |
| 水分, %                       | ≤ 5   |
| 灰分, %                       | ≤ 5   |
| 总砷(以As计), mg/kg             | ≤ 0.3 |
| 铅(以Pb计), mg/kg              | ≤ 0.5 |
| 黄曲霉素 B <sub>1</sub> , μg/kg | ≤ 5   |

## 5.3 主要成分指标

大豆异黄酮苷类产品主要成分应符合表3的规定。

大豆异黄酮苷元类产品主要成分应符合表4的规定。

表3 大豆异黄酮苷类产品主要成分表

| 产品名称                       | 主要成分      | 特级 | I 级 | II 级 | III 级 |
|----------------------------|-----------|----|-----|------|-------|
| 大豆异黄酮[苷]<br>(以干基计), % ≥    | 大豆异黄酮苷    | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆皂苷      | —  | —   | 15   | 30    |
| 大豆异黄酮[大豆苷]<br>(以干基计), % ≥  | 大豆苷       | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆黄苷和染料木苷 | —  | —   | 15   | 30    |
| 大豆异黄酮[大豆黄苷]<br>(以干基计), % ≥ | 大豆黄苷      | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆苷和染料木苷  | —  | —   | 15   | 30    |
| 大豆异黄酮[染料木苷]<br>(以干基计), % ≥ | 染料木苷      | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆苷和大豆黄苷  | —  | —   | 15   | 30    |

表4 大豆异黄酮苷元类产品主要成分表

| 产品名称                       | 主要成分      | 特级 | I 级 | II 级 | III 级 |
|----------------------------|-----------|----|-----|------|-------|
| 大豆异黄酮[苷元]<br>(以干基计), % ≥   | 大豆异黄酮苷元   | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆异黄酮苷    | —  | —   | 15   | 30    |
| 大豆异黄酮[大豆素]<br>(以干基计), % ≥  | 大豆素       | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆黄素和染料木素 | —  | —   | 15   | 30    |
| 大豆异黄酮[大豆黄素]<br>(以干基计), % ≥ | 大豆黄素      | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆素和染料木素  | —  | —   | 15   | 30    |
| 大豆异黄酮[染料木素]<br>(以干基计), % ≥ | 染料木素      | 95 | 90  | 70   | 50    |
|                            | 大豆素和大豆黄素  | —  | —   | 15   | 30    |

## 5.4 微生物学指标

应符合表5的规定。

表5 大豆异黄酮微生物学指标

| 项 目                           | 指 标     |
|-------------------------------|---------|
| 菌落总数, cfu/g                   | ≤ 1 000 |
| 大肠菌群, MPN/100g                | ≤ 40    |
| 霉菌, cfu/g                     | ≤ 25    |
| 酵母菌, cfu/g                    | ≤ 25    |
| 致病菌(指沙门氏菌、志贺氏菌、金色葡萄球菌、溶血性链球菌) | 不得检出    |

## 6 检验方法

### 6.1 感官检验

#### 6.1.1 形态、色泽、杂质

称取 10 g 样品散放在白色平盘中,在自然光下,用肉眼直接观察。

#### 6.1.2 滋味与气味

嗅其气味、品尝其滋味。

### 6.2 理化检验

#### 6.2.1 粒度

称取 10 g 大豆异黄酮粉,用 80 目筛网筛过。

#### 6.2.2 水分

按 GB/T 5009.3 规定的方法测定。

#### 6.2.3 灰分

按 GB/T 5009.4 规定的方法测定。

#### 6.2.4 大豆异黄酮苷

按附录 A 规定的方法测定。

#### 6.2.5 大豆异黄酮苷元

按附录 B 规定的方法测定。

#### 6.2.6 大豆皂苷

按附录 C 规定的方法测定。

#### 6.2.7 总砷

按 GB/T 5009.11 规定的方法测定。

#### 6.2.8 铅

按 GB/T 5009.12 规定的方法测定。

#### 6.2.9 黄曲霉素 B<sub>1</sub> 的测定

按 GB/T 5009.22 规定的方法测定。

### 6.3 微生物检验

#### 6.3.1 菌落总数

按 GB/T 4789.2 规定的方法检验。

#### 6.3.2 大肠菌群

按 GB/T 4789.3 规定的方法检验。

#### 6.3.3 霉菌和酵母

按 GB/T 4789.15 规定的方法检验。

#### 6.3.4 致病菌

按 GB/T 4789.4、GB/T 4789.5、GB/T 4789.10、GB/T 4789.11 规定的方法检验。

### 7 检验规则

#### 7.1 检验分类

##### 7.1.1 出厂检验

出厂检验项目包括：感官、水分、菌落总数、大肠菌群，以及表 3、表 4 相应产品组分的第一项指标。

##### 7.1.2 型式检验

常年生产的产品，每年进行一次型式检验，有下列情况之一时应进行型式检验。

- a) 新产品投产时；
- b) 正常产品如原料、工艺有较大改变，可能影响产品质量时；
- c) 长期停产后恢复生产时；
- d) 国家质量监督机构提出型式检验要求时。

型式检验项目包括本标准的全部项目。

#### 7.2 抽样

##### 7.2.1 组批

同一班次生产的同一类型产品为一批次。

##### 7.2.2 抽样方法和数量

从每批产品中随机抽取不少于 3 个最小包装单位样品。然后，用取样工具伸入每袋的 3/4 处取样，所取试样不应少于 10g。

将选取的试样混匀，装入清洁、干燥带磨口玻璃瓶中。瓶上粘贴标签，并注明：生产班组、产品名称、批号及取样日期和地点。

微生物取样检验按无菌操作取样。

#### 7.3 判定规则

7.3.1 检验结果全部符合某一类型和等级时，判定为相应类型和等级。

7.3.2 检验结果全部符合本规定的产品判定为合格品。

7.3.3 检验结果中，微生物指标不符合本标准规定，判定为不合格品。

### 8 标签、标志、包装、运输、贮存

#### 8.1 标签

标签、标注内容应符合 GB 7718 规定，还应根据本标准 4 及 5.3 的相应规定标注产品的名称和等级。

#### 8.2 标志

产品外包装储运图示标志应符合 GB 191 的规定。

#### 8.3 包装

内包装材料应符合 GB 9683 规定，且密封保存。外包装应采用耐压、耐碰的材料制成。

#### 8.4 运输

产品在运输时应轻拿轻放，严禁日晒、雨淋，不能与有毒、有害、有污染和不良气味的物品混运。

#### 8.5 贮存

产品应存放在阴凉干燥处，不能与有毒、有害、有污染和不良气味的物品混放，严禁日晒、雨淋。

附 录 A  
(规范性附录)  
大豆异黄酮苷的检测方法  
(高效液相色谱法)

A.1 方法内容与适用范围

本方法规定了大豆提取物中大豆异黄酮苷的检测方法。

本方法适用于大豆提取物中大豆异黄酮苷的检测。

A.2 方法提要

大豆异黄酮的 HPLC 法检测是利用异黄酮各种待分离组分、流动相和 C<sub>18</sub> 填料之间的吸附、分配及平衡值之差异,使各组分在色谱柱中滞留时间不同而进行分离的,然后用紫外检测器按时间顺序及峰面积进行定性、定量分析。

A.3 仪器与设备

- a) 高效液相色谱仪,配有紫外检测器、柱温箱和色谱工作站;
- b) 超声波振荡器;
- c) 分析天平:感量 0.000 1 g。

A.4 试剂与标准品

- a) 95%乙醇:分析纯;
- b) 乙腈:纯度 99.9%,色谱纯;
- c) 冰醋酸:纯度≥99.5%,分析纯;
- d) 水:用 0.45 μm 微孔过滤器滤过的双蒸水;
- e) 大豆苷标准品:含量 99%;
- f) 大豆黄苷标准品:含量 99%;
- g) 染料木苷标准品:含量 99%。

A.5 色谱条件与系统适应性实验

- a) 色谱柱:C<sub>18</sub>, Φ4.6 mm×250 mm, 5 μm;
- b) 流动相:乙腈:水:乙酸, 11:89:0.1(体积比);
- c) 检测波长:UV254 nm;
- d) 流速:2.0 mL/min;
- e) 柱温:40℃;
- f) 进样量:20 μL。

为使系统符合检测要求,规定在上述色谱条件下,大豆苷和大豆黄苷以及染料木苷、丙二酰大豆苷(6"-O-malonyldaidzin)各自组分的色谱峰不得彼此重叠,且在上述四个色谱峰之间不应有其他杂峰明显出现。

在丙二酰大豆苷峰出现后,使用 B.5 b) 流动相洗柱 15 min,然后恢复 A.5 b) 流动相平衡柱 15 min,



再进行上样。

#### A.6 异黄酮标准溶液的配制

- a) 称取大豆苷、大豆黄苷、染料木苷各  $10\text{ mg} \pm 0.1\text{ mg}$ , 置于  $25\text{ mL}$  容量瓶中, 用  $80\%$  的乙醇溶解后定容。此标准溶液中大豆异黄酮总浓度为  $1.2\text{ mg/mL}$ , 作为母液备用。
- b) 精密吸取母液  $1.0$ 、 $2.0$ 、 $3.0$ 、 $4.0$  和  $5.0\text{ mL}$  溶液分别移至 5 只  $25\text{ mL}$  容量瓶中, 然后用  $80\%$  乙醇定容。5 个梯度标准液中上述 3 种组分标样的浓度分别为  $0.016$ 、 $0.032$ 、 $0.048$ 、 $0.064$  和  $0.080\text{ mg/mL}$ 。

#### A.7 样品制备

- a) 大豆提取物样品混匀后取  $5\text{ g}$  放入干燥器内真空干燥  $24\text{ h}$  备用。
- b) 称取上述绝干大豆提取物样品  $25\text{ mg} \pm 0.1\text{ mg}$ , 置于  $25\text{ mL}$  容量瓶中, 加  $80\%$  乙醇约  $20\text{ mL}$  完全溶解后定容。然后取  $3\text{ mL} \sim 5\text{ mL}$ , 再用  $80\%$  乙醇定容于  $25\text{ mL}$  容量瓶中。吸取  $1\text{ mL}$  溶液于离心管中, 以  $10\,000\text{ rpm}$  离心  $10\text{ min}$ , 取上层清液作为试样溶液备用。

#### A.8 测定及结果计算

- a) 按照 A.5 色谱条件, 对 A.6 b) 5 个梯度标准液进行分析, 并将相应数据输入色谱工作站。
- b) 将 A.7 制备的样品溶液按 A.5 色谱条件进行分析, 然后由色谱工作站对样品及标准样的色谱数据进行计算, 即可得出样品中苷的含量  $G_0^1(\%)$ 。
- c) 计算结果保留小数点后一位数字。
- d) 平行测定结果以算术平均值表示, 相对偏差  $\leq 2.5\%$ 。

#### A.9 结果表述

本测定结果表述为每  $100\text{ g}$  绝干样品中含有大豆异黄酮的克数。

## 附录 B

### (规范性附录)

#### 大豆异黄酮苷元的检测方法

##### (高效液相色谱法)

### B.1 方法内容与适用范围

本方法规定了大豆提取物中大豆异黄酮苷元的检测方法。

本方法适用于大豆提取物中大豆异黄酮苷元的检测。

### B.2 方法提要

大豆异黄酮的 HPLC 法检测是利用异黄酮各种待分离组分、流动相和  $C_{18}$  填料之间的吸附、分配及平衡值之差异,使各组分在色谱柱中滞留时间不同而进行分离的,然后用紫外检测器按时间顺序及峰面积进行定性、定量分析。

### B.3 仪器与设备

- a) 高效液相色谱仪,配有紫外检测器、柱温箱和色谱工作站;
- b) 超声波振荡器;
- c) 分析天平:感量 0.000 1 g。

### B.4 试剂与标准品

- a) 95%乙醇:分析纯;
- b) 乙腈:纯度 99.9%,色谱纯;
- c) 冰醋酸:纯度 $\geq 99.5\%$ ,分析纯;
- d) 水:用 0.45  $\mu\text{m}$  微孔过滤器滤过的双蒸水;
- e) 大豆素标准品:含量 99%;
- f) 大豆黄素标准品:含量 99%;
- g) 染料木素标准品:含量 99%。

### B.5 色谱条件与系统适应性实验

- a) 色谱柱: $C_{18}$ ,  $\Phi 4.6\text{ mm} \times 250\text{ mm}$ , 5  $\mu\text{m}$ ;
- b) 流动相:乙腈:水:乙酸, 20:80:0.1 (体积比);
- c) 检测波长:UV254 nm;
- d) 流速:2.0 mL/min;
- e) 柱温:40℃;
- f) 进样量:20  $\mu\text{L}$ 。

为使系统符合检测要求,规定在上述色谱条件下,乙酰大豆黄苷(6"-O-acetylglycitin)、大豆素、大豆黄素、乙酰染料木苷(6"-O-acetylgenistin)和染料木素各自组分的色谱峰不得彼此重叠,且在上述五个色谱峰之间不应有其他杂峰出现。

### B.6 异黄酮标准溶液的配制

- 称取大豆素、大豆黄素、染料木素各  $10\text{ mg} \pm 0.1\text{ mg}$ ，置于  $25\text{ mL}$  容量瓶中，用  $80\%$  的乙醇溶解后定容。此标准溶液中大豆异黄酮总浓度为  $1.2\text{ mg/mL}$ ，作为母液备用。
- 精密吸取母液  $1.0$ 、 $2.0$ 、 $3.0$ 、 $4.0$  和  $5.0\text{ mL}$  溶液分别移至 5 只  $25\text{ mL}$  容量瓶中，然后用  $80\%$  乙醇定容。5 个梯度标准液中上述 3 种组分标样的浓度分别为  $0.016$ 、 $0.032$ 、 $0.048$ 、 $0.064$  和  $0.080\text{ mg/mL}$ 。

### B.7 样品制备

- 大豆提取物样品混匀后取  $5\text{ g}$  放入干燥器内真空干燥  $24\text{ h}$  备用。
- 称取上述绝干大豆提取物样品  $25\text{ mg} \pm 0.1\text{ mg}$ ，置于  $25\text{ mL}$  容量瓶中，加  $80\%$  乙醇约  $20\text{ mL}$  完全溶解后定容。然后取  $3\text{ mL} \sim 5\text{ mL}$ ，再用  $80\%$  乙醇定容于  $25\text{ mL}$  容量瓶中。吸取  $1\text{ mL}$  溶液于离心管中，以  $10\ 000\text{ rpm}$  离心  $10\text{ min}$ ，取上层清液作为试样溶液备用。

### B.8 测定及结果计算

- 按照 B.5 色谱条件，对 B.6 b) 5 个梯度标准液进行分析，并将相应数据输入色谱工作站。
- 将 B.7 制备的样品溶液按 B.5 色谱条件进行分析，然后由色谱工作站对样品及标准样的色谱数据进行计算，即可得出样品中苷元的含量  $G_0^2(\%)$ 。
- 计算结果保留小数点后一位数字。
- 平行测定结果以算术平均值表示，相对偏差  $\leq 2.5\%$ 。

### B.9 结果表述

本测定结果表述为每  $100\text{ g}$  绝干样品中含有大豆异黄酮的克数。

附录 C  
(规范性附录)  
大豆皂苷的检测方法  
(减差法)

C.1 方法内容与适用范围

本方法规定了用减差法作为测定大豆皂苷的方法。

本方法适用于大豆提取物中大豆皂苷的测定。

C.2 方法提要

用水饱和的正丁醇液萃取大豆提取物的水溶液,正丁醇萃取液干燥后可得大豆皂苷和大豆异黄酮的总量,然后用高效液相色谱法测定此总量中的大豆异黄酮的重量,再用减差法即可获得此总量中的大豆皂苷的重量。据此,可算出大豆提取物中大豆皂苷的含量。

C.3 仪器设备

- a) 真空旋转蒸发仪;
- b) 天平:感量为 0.001 g;
- c) 超声波振荡器;
- d) 恒温烘箱:105℃。

C.4 试剂与材料

- a) 正丁醇:分析纯,≥99.0%;
- b) 重蒸水。

C.5 测定步骤

- a) 将真空旋转蒸发仪的蒸发瓶置于 105℃烘箱中,干燥 2 h 后取出,放入干燥器内冷却至室温后用天平称重( $G_1$ ),精确至 0.001 g。
- b) 称取样品 5.0 g 左右,置于真空干燥器中真空过夜。充分混合后,取样品( $G_2$ ) $0.20\text{ g} \pm 0.001\text{ g}$ ,置于 250 mL 烧杯中备用。
- c) 取 200 mL 蒸馏水稀释上述备用样品,用超声波振荡器充分混合溶解后备用。
- d) 将上述水溶解后备用样品转入 500 mL 梨形分液瓶中,再将 200 mL 用水饱和过的正丁醇溶液分两次清洗烧杯后再转入梨形分液瓶中。剧烈振摇分液瓶 3 min 后静置,使正丁醇相和水相明显分离。
- e) 收集梨形分液瓶下层的水相和上层正丁醇相各约 200 mL 于烧杯中。然后,将烧杯中的水相倒回梨形分液瓶中,再取 200 mL 水饱和正丁醇液分两次充分洗涤此烧杯,将二次正丁醇洗液并入上述梨形分液瓶内。相同方法萃取上述所得水相两次,合并三次正丁醇相于真空旋转蒸发仪的蒸发瓶中蒸干备用。
- f) 将上述蒸发瓶连同蒸干物一起置于 105℃烘箱中,2 h 后取出,放入干燥器内冷却至室温后用天平称重( $G_3$ ),精确至 0.001 g,蒸发瓶中的蒸干物重量为( $G_3 - G_1$ )。

- g) 取按附录 A 测定的大豆提取物中的大豆异黄酮苷的含量  $G_0^1$  以及按附录 B 测定的大豆提取物中大豆异黄酮苷元的含量  $G_0^2$  数据备用。

### C.6 结果计算

- a) 计算公式:

$$\text{大豆皂苷}(\%) = \frac{G_3 - G_1 - G_2 \times (G_0^1 + G_0^2)}{G_2} \times 100$$

式中:  $G_0^1$ ——大豆异黄酮苷的含量, %;

$G_0^2$ ——大豆异黄酮苷元的含量, %;

$G_1$ ——蒸发瓶重量, g;

$G_2$ ——样品重量, g;

$G_3$ ——蒸发瓶与蒸干物总重量, g。

- b) 计算结果保留小数点后一位数字。

- c) 平行结果测定以算术平均值表示, 相对偏差  $\leq 2.5\%$ 。

### C.7 结果表述

此测定结果表述为每 100 g 绝干样品中大豆皂苷所含克数。

