

計畫編號：DOH90-TD-1077

行政院衛生署九十年度科技研究發展計畫

市售不同黃豆產品中異黃酮素之質與量的評估

研究報告

執行機構：台北醫學大學

計畫主持人：林士祥

執行期間：90年1月1日至90年12月31日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見

目錄

一、前言.....	4
A. 研究背景.....	4
B. 研究現況.....	4
C. 研究目的.....	9
二、材料與方法.....	11
A. 黃豆產品.....	11
B. 樣品處理.....	11
C. Isoflavone 的萃取及分析.....	11
D. 實驗設計及統計分析.....	12
E. 標準樣品.....	12
F. 薄膜色層分析 (TLC).....	13
G. 高效能液相層析 (HPLC) 分析步驟.....	13
H. 抗氧化力試驗.....	14
三、結果.....	17
A. 水分含量.....	17
B. 高效能液相層析 (HPLC) 分析.....	18
C. 體外抗氧化力評估.....	18
四、討論.....	20
五、結論與建議.....	23
六、參考文獻.....	24
表一、本研究所採集之黃豆產品及廠商.....	28
表二、產品之水分含量 (%濕重).....	29
表三、黃豆產品中主要異黃酮素含量分佈及總量(ppm).....	30
表四、黃豆產品之體外硫氰酸鐵測定.....	31

摘要

關鍵字：黃豆、異黃酮素、抗氧化

亞洲人罹患某些慢性病的機率遠比西方人為低。歸究其原因，發現飲食種類之不同為一影響因素。在過去幾年的研究裡，黃豆中的異黃酮素(isoflavone)是受矚目的其中一種。然而，許多食品加工過程可能會對黃豆中所含之異黃酮素有所影響。因此，本實驗探討不同黃豆產品中異黃酮素之含量及其抗氧化性質。主要利用高效能液相層析(HPLC)法來測定黃豆產品中異黃酮素之含量及成分分佈情形，再以硫氰酸鐵法來測定其體外之抗氧化能力。本實驗結果得知黃豆產品均含有異黃酮素但含量及分佈差異極大。豆漿、豆腐、及黃豆蛋白食品為異黃酮素之豐富來源。加工方式會影響異黃酮素之成分分佈比例。未經發酵之產品中之異黃酮素多以 genistin 為主，而發酵過之產品如豆腐乳則以 genistein 為主要之異黃酮素。在體外抗氧化力方面，未經發酵之產品具有較高之抗氧化力。惟對人體之功效實應以人體或動物實驗之結果為準，故仍須做進一步之評估。

Abstract

Asian people have lower rates in getting many chronic diseases, which may result from different types of food consumed. Soybean products are popular in Asian countries but not in western countries. It has been pointed out that soy foods contain the ingredients that can prevent chronic diseases. Among those ingredients, isoflavones are the ones that have drawn much attention. However, due to various processing methods, isoflavones in soybean products may encounter different losses. The purpose of this study was to investigate the isoflavone content and the *in vitro* antioxidant ability of various traditional soybean products that can be found easily in supermarkets. We utilized HPLC to analyze the distribution and content of four major isoflavones, daidzein, daidzin, genistein, and genistin. The *in vitro* antioxidant ability was carried out by using “ferric thiocyanate” method to investigate the inhibition percentage of linoleic acid. The results showed that the distribution and content of isoflavones differed in different products. Genistin was the major isoflavone in unfermented products while genistin dominated in fermented bean curd but not in miso. The unfermented products had better antioxidant ability according to the results from *in vitro* test. However, the *in vivo* antioxidant is needed for further investigation.

Key words: soybean, isoflavone, antioxidant ability

一、前言

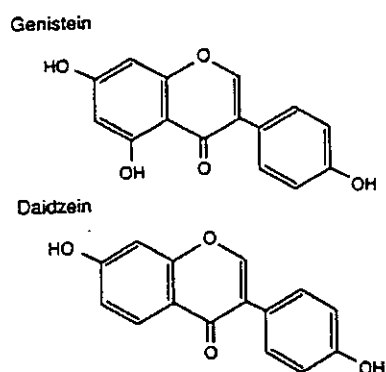
A. 研究背景

根據研究指出，亞洲人罹患某些癌症或慢性病的機率遠比西方人為低 (Elkins, 1998)，歸究其原因，發現飲食種類之不同可能是導致這種結果的原因之一。黃豆富含異黃酮素。東方人的飲食有多種黃豆產品，故可能攝取較多的異黃酮素(isoflavone)。但一些研究者 (Fleury 等, 1992) 發現 isoflavone 在攝氏 100 度以上的溫度時其活性會消失或減低。而在豆類加工食品中一些食品都經過高於攝氏 100 度之過程，故其中 isoflavone 之含量或結構可能已被改變。除了熱加工之外，異黃酮素也可能在其他處理流程中流失或改變。

B. 研究現況

近年來，由於心血管疾病之比例日漸提高。除了因為生活節奏的改變之外，飲食習慣及種類也被列入檢討的原因之內。黃豆富含蛋白質，而其中某些成份如 trypsin inhibitors, phytic acid, saponins, and isoflavones 在過被認為對健康無益，但最近幾年來的研就究發現這些成份對目前的文明病及癌症有抑制的效果 (Anderson and Wolf,

1995; Kennedy, 1995)。黃豆產品在健康上的益處已廣泛的被報導及研究。其用途包括了嬰兒食品，健康食品，並且是素食者之重要蛋白質來源。黃豆成分中之異黃酮素 (isoflavone) 已被提出具有許多保健之功效。其主要結構如下所示：



異黃酮素降低癌症發生率和心血管疾病(Barnes, 1998)，及抗菌、造骨等功能(Kitada 等, 1986)上之功能都已被發現。已有研究指出黃豆類食品之攝取量與荷爾蒙相關(Song 等, 1998)之疾病如女性乳癌及男性前列腺癌之發生率成負相關的關係(Nguyenle 等, 1995)。據前人之研究，isoflavone 的有效劑量為每日 1.5-2.0 mg/kg(Wang 與 Murphy, 1994)。Isoflavone 對細胞之生長及管制均有影響，故對癌症治療頗具潛力(Molteni 等, 1995)。Isoflavones 吸收主要是藉由腸道中之微生物來之分解(Xu 等, 1995)。但研究指出高纖維飲食會降低其吸收率 (Tew 等, 1996)。Messina 與 Barnes (1991) 於報告中提出黃豆食品與降低不同種癌症發生率的關係。此外，isoflavone 可以說是一種弱性的動情激素(Molteni 等, 1995)，

因此許多研究針對其治療乳癌之功效加以探討。Cassidy 等 (1994) 提出 isoflavone 會藉由類似動情激素之效果影響女性之月經週期。而後 Cassidy 等於 1995 年又發現若每日服用約 60 mg 之 isoflavone 在降低停經前女性之膽固醇有顯著的效果，並且可能有修飾正常女性之荷爾蒙之功能。據觀察結果顯示，乳癌在東方女性中之發生率遠較於在西方女性之發生率為低。而東方女性攝取較多量之黃豆類食品乃被認為是主要因素 (Messina 與 Barnes, 1991)。Isoflavone 已被研究出對於骨質之流失 (bone resorption) 有抑制作用 (Song 等, 1998)。研究發現，低密度脂蛋白 (LDL) 之氧化可能是造成血管硬化的主因。根據 Kapiotis 等人於 1997 年的研究發現，isoflavone 中之 genistein，在有銅離子或超氧化物的出現下有效地防止了 LDL 的氧化。而 genistin 的效果則較小。此研究並證明黃豆食品可以防止慢性血管疾病。另外，研究並發現 genistein 有比 genistin 更強之防止 LDL 氧化之能力，而且不但防止 LDL 氧化，並且保護血管細胞不被以氧化之 LDL 損害。

不同形式之 isoflavone 具有不同抗氧化活性。根據 Riuz-Larrea MB 等人之研究 (1997)，其活性依大至小順序排列為：
genistein > daidzein = genistin = daidzin > formononetin = ononin. 食

品中之 isoflavone 會因原料成分及加工方法之不同而有所變異。Anderson 等人(1995)列舉了一些西方常見之黃豆類食品中 isoflavone 之含量。黃豆因品種不同，其 isoflavone 含量從 1200 到 4200 $\mu\text{g/g}$ 。在黃豆粉中，isoflavone 與黃豆中的含量和結構均相近，主要以 β -glucoside 的形式出現。而經加工處理之後，如組織化大豆蛋白，因加熱的關係，isoflavone 會以 6-O''-acetyl derivatives 的形式存在。加熱的作用是去羧基作用。在製造分離大豆蛋白(soy protein isolate)中，因有加水過程，會失去部分的 isoflavone。而若是用乙醇萃取之黃豆蛋白濃縮(soy protein concentrate)則會失去大部分之 isoflavone。黃豆飲料含有與黃豆相當含量之 isoflavon，而豆腐則視水分之流失多寡而異。Coward 等(1998)研究發現未受熱之黃豆粉富含 6''-O-malonyl-beta-glucoside 形式之 isoflavone。而烤過的黃豆粉則富含 6''-O-acetyl-beta-glucoside 之 isoflavone。此外，以酒精萃取出來之黃豆蛋白濃縮則含極少量之 isoflavone。本研究也指出在油炸溫度下(190) isoflavone 總量並不會有太大改變，但許多研究則有相反的結果(Fleury 等，1992)。且此研究未詳述個成分 isoflavone 是否會改變。

Isoflavone 之萃取及分析方法會影響其定性定量之準確性，其重要性已逐漸被重視。Tahara 等人在 1991 年利用 ^1H NMR 來分析 isoflavone 上之第六位取代基及第二位之 hydroxylation。而 7-hydroxy-6'-methoxy-3', 4'-methylenedioxyisoflavone 7-O- β -glucoside、genistein 7-O-glucoside 及 daidzein 7-O- β -glucoside 之化學位移已由 Lazaro 等人定出 (1998)。Nguyenle 等人 (1995) 評估了數種萃取黃豆產品中 isoflavone 的方法並找出其中簡單又有效的一種。此方法所用的高效能液相層析 (HPLC) 管柱為一 Phenomenex Hypersil ODS(250x4.6mm i.d.)，而移動相則是 MeOH-0.1M NH_4OAc (35:65 v/v)。此方法與過去所用之 HPLC 方法不同處為 "isocratic" 而非 "gradient" elution。而在分離解析度上與其它結果相較是有過之而無不及。此外，於此篇報告中，各成分之回收率也都已評估，故為一可靠又簡便之方法。就 internal standard 而言，其結構最好與目標物類似且有相近但不重疊的滯留時間 (retention time)。Song 等 (1998) 評估了不同類之 standard (internal and external) 在多種黃豆食品中的回收率以得知何種 standard 最適宜用來定性及定量。被評估之 internal standard 為 2,4,4'-trihydroxydeoxybenzoin (THB) 而 external standards 為 daidzein, genistein, 及 genistin。與氣相層析 (GC) 比較起來，HPLC

在鑑別複合(conjugated)或非複合(nonconjugated)的 isoflavone 時來得簡易，因不須做任何再處理(Barnes et al., 1998)。逆向 HPLC 管柱已被利用於血清/血漿中 isoflavone 之定量。而在食品科技方面，UV detector 已被利用來定量黃豆中之 isoflavone。但對於其它含少量 isoflavone 之食品，必須有敏銳度更高之偵測儀方可達到目標。Aussenac 等人 (1998) 研究萃取條件對定量黃豆中各種 isoflavone 之影響。於此篇文獻中並針對三個萃取溫度(20, 60, 80°C) 加以分析。結果發現 20°C 是最好之 isoflavone 萃取溫度。高於此溫度則會對 isoflavone 之結構會有些影響；例如將以 malonyl 存在之形式的 isoflavone 轉化成以 glycosides 存在。此篇報告也指出 pH 值會影響分析所須時間；pH 值越高則分析所須時間越久。Franke 等 (1998) 的實驗指出利用 diode-array HPLC 來分析食品或體液中之 isoflavone 是非常有幫助的。在萃取食品中 isoflavone 時，食品的結構以及加工方法(加熱、水解、發酵等)將會影響萃取效率及回收率。因此，萃取 isoflavone 之方法也必須針對特定食品而加以考慮 (Song 等, 1998)。

C. 研究目的

故本研究將以東方傳統黃豆食品為對象，探討經食品加工（酸、

熱、發酵、擠壓等處理)後之市售黃豆產品對 isoflavones 之含量及體外抗氧化力的影響，以作為黃豆類食品之異黃酮素的質與量的參考。

二、材料與方法

A. 黃豆產品

黃豆、大豆蛋白分離、豆漿、嫩豆腐、擠壓產品、味增、豆腐乳。

每種產品除黃豆及黃豆蛋白分離外均取三種廠牌或產品。

B. 樣品處理

樣品在進行萃取之前均先進行水分測定 (AOAC, 1980): 固體類樣品須先磨碎。精稱定量樣品 (S), 置於預先恆重的秤量瓶中 (W_0), 放入攝氏 105 度烘箱, 經 12-16 小時, 取出冷卻並秤重後, 在加熱 2 小時候冷卻秤重, 反覆操作至恆重 (W_1) 為止。將減少的重量除以原重量, 以百分率表示, 及為樣品的水分含量。

C. Isoflavone 的萃取及分析

Isoflavone 各成分之萃取, 將大致採用 Wang 於 1994 及 Nguyenle 等人於 1995 年所發展的方法。

萃取步驟

樣品精取 2 克磨細，再以 10 ml ACN 及 2 ml 0.1 N HCl 於室溫中萃取 2 小時。萃取液以 Whatman No 42 濾紙過濾之。濾液經減壓濃縮除去溶劑後以 10 ml 80% HPLC 及之甲醇再溶解，並於 3000 g，0°C 離心 20 分鐘。

D. 實驗設計及統計分析

每種產品將分別做三重複之萃取，而每次之萃取物將做二重複之 HPLC 分析。從 HPLC 分出各 isoflavone 將作變異數分析 (ANOVA) 以知異黃酮素含量是否因不同產品而易。每種產品之抗氧化實驗將做三重複檢測，1-way ANOVA。

E. 標準樣品

四種標準樣品：Daidzein, genistein, daidzin, genistin, 及亞麻油酸 (linoleic acid) 從藥商購買 (Sigma)。

F. 薄膜色層分析 (TLC)

步驟：

1. 將 TLC(Kiesel F254)片至入 105 度烘箱中半小時
2. 將配好之移動向置於 TLC chamber 中，蓋上蓋子，置 10 分鐘
3. 將 TLC 片至於 TLC chamber 中平衡約 10 分鐘
4. 取出 TLC 板，待溶劑揮發後以毛細管將樣品點於 TLC 板上
5. TLC 分析
6. 待乾後，噴上硫酸溶液，放入 120 度烘箱中十分鐘後觀察初步結果

移動相：

CHCl_3 : MeOH:2% acetic acid (7:3:1)

硫酸溶液 (顯色)：

10% H_2SO_4 in 95% EtOH

G. 高效能液相層析 (HPLC) 分析步驟

標準溶液

利用甲醇將已知量之 Isoflavone 之標準物及 internal standard (acetophenone) 溶入。偵測器為 UV 偵測器，測量光波長為 254 nm。

所用的管柱為 Phenomenex Hypersil ODS (316 m, 250*4.6 nm i.d.) 5 μ m 不鏽鋼管。移動相為 0.1 M NH₄OAc 與甲醇 (65 : 35), 未校正 pH 值之混合溶液。樣品配製乃是將緩衝液、萃取液或標準液、及 internal standard 以 1 : 1 : 1 混合。圖譜之結果將比對標準品以確認異黃酮素及排除其他之類黃酮。

萃取回收率

每種產品中，另加入已知之標準含量的 isoflavone 成分做萃取。在經由上述 HPLC 分析之後計算所得之量，與未加任何已知含量之標準品萃取所得量做比較，其比例即為回收率。

H. 抗氧化力試驗

本實驗於現階段採體外抗氧化實驗，藉以評估樣品在加工後所保留之抗氧化能力。從各種食品中萃取出來之 isoflavone 將會用氫過氧化物之測定(POV; Ferric thiocyanate 硫氰酸鐵法，中華民國保健營養學會，1999)法來測量其體外抗氧化活性。

1. 試藥與儀器

儀器：分光光度計

試藥：0.02 M linoleic acid

0.2 M potassium phosphate buffer (pH 7.0)

75% ethanol

30% ammonium thiocyanate

0.02 M iron(II) chloride tetrahydrate

2. 樣品處理

樣品溶解於水、酒精、DMSO 或其他溶劑，若有不溶現象，需再經超音波震盪的處理，使樣品成均勻狀態的待測液。

3. 實驗步驟

取 0.02 M 之 linoleic acid emulsion 2.5 ml，作 (1) 空白組 (不加入樣品或抗氧化劑)，(2) 三種濃度之樣品，(3) 不加入 linoleic acid。加入 0.2 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 2 ml。混勻後置於 37°C。取上述之樣品混合液 0.1 ml，分別依序加入 75% 之乙醇溶液 4.7 ml，30% ammonium thiocyanate 0.1 ml 及 0.02 M iron(II) chloride tetrahydrate 溶液 0.1 ml，振盪使其混合均勻。

靜置 3 分鐘後，以分光光度計測其在 500 nm 波長下之吸光值

Linoleic acid emulsion (pH 7.0) 之配置：

50 ml 之 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0) 加入 0.2804 g 之 linoleic acid 及 0.2804 g 之 Tween 20，以均質機均質成乳化液即可。此乳化液愈新鮮配製愈佳。

4. 結果判定

此抗氧化實驗將三重複試驗。抑制過氧化率 (Inhibition of peroxidation %, IP%) (抑制亞麻油酸過氧化物形成的能力) = $[1 - (\text{樣品於 } 500 \text{ nm 的吸光值}) / (\text{未添加樣品之控制組於 } 500 \text{ nm 的吸光值})] \times 100$ 。

三、結果

A. 水分含量

本計畫針對大豆、大豆蛋白分離、豆漿、嫩豆腐、擠壓產品（素肉、素火腿、素香腸）、味增、豆腐乳等七種產品做異黃酮素之含量檢測及其體外抗氧化力之分析。所取樣之產品及廠家地址如表一。這些樣品均可在超市取得。所有樣品均以最新鮮之狀態分析，即採購後馬上進行分析及萃取步驟。各樣品之水分含量則列於表二。水分最多者為豆漿產品而水分最低者為 SPI。同類產品間水分差異不大。素肉為需要復水前處理之樣品，而素火腿及素香腸則不需再復水，其水分約在 62%。

過多水分之存在對異黃酮素之萃取有所阻礙，因此豆漿產品均先以冷凍乾燥處理後在再萃取。而其他產品則以原始之形式來作分析。以防因前處理所導致之誤差。在以高效能液相層析法（HPLC）測定異黃酮素之前，萃取出來的樣品先以薄膜色層分析（TLC）做初步檢定，結果均顯示有異黃酮素之正反應。但其無定量功能，故 TLC 結果在此不予呈現。

B. 高效能液相層析 (HPLC) 分析

於利用 HPLC 鑑別異黃酮素方面，採用了四種主要異黃酮素之標準品，daidzin, genistin, daidzein, 及 genistein。各樣品均以三重複萃取，且每一重複以三次 HPLC 定量。各產品之主要異黃酮素個別量、總量及標準差列於表三。Genistin 與 daidzin 則於 HPLC 分析時因兩者在管柱中之滯留時間非常接近，故結果將其兩者合併計算。表三中之異黃酮素含量除豆漿外均以產品之原來形式計算。結果顯示異黃酮素之總含量隨樣品不同而有差異 ($p < 0.0001$)。豆腐、味增、黃豆蛋白等均含豐富之異黃酮素。由結果可知未經發酵產品中的異黃酮素以含有糖基者為主。而發酵的產品如豆腐乳則以 genistein 為主 (約 50%)，但味增中仍以 genistin 為主要之異黃酮素。此結果與先前國外之研究相符 (Wang 與 Murphy, 1994)。Daidzein 於各黃豆產品中均是較少的一種。

C. 體外抗氧化力評估

表四中之數據乃由每 2 g 之產品經 ACN—HCl 萃取後再溶於 10 ml 之溶劑 (80% methanol) 中之含異黃酮素溶液，後再經 1:99 稀釋之結果。表中之負值顯示該產品具有促氧化之效果。結果顯示氧化抑

制率與隨樣品不同而有顯著差異 ($p < 0.001$)。黃豆、豆腐乳、豆漿產品於此實驗中顯示促氧化之效果。而大豆蛋白，豆腐及素肉產品均顯現抗油脂氧化的能力。

四、討論

本實驗所採用之萃取溶劑雖含有 0.1N 之鹽酸，但其酸度並不足以將 glycosidic bond 打斷。與用 80% 甲醇水溶液萃取之樣品經 HPLC 分析比對後發現成分分佈並無太大差異，但解析度較高（圖譜未示出）。

目前異黃酮素之主要功效著重於其雌激素之功能(Song 等, 1998)，而其抗氧化能力則居於其次。但因其具有多酚類之結構，故仍可能具有抗氧化力。異黃酮素中之 genistein 比具有配糖體之 genistin 有較高之生物利用率(Riuz-Larrea 等, 1997)。但 genistin 之糖基部分於人體中仍會被酵素或胃酸所分解而成 genistein，故仍是具有生物活性。人體攝入異黃酮素之含量則與飲食習慣有關。嫩豆腐含多量之 genistin 及少量之 daidzein 與 genistein。而一般攝取量若以 70 克計，則約可攝入 22 mg 之異黃酮素。豆漿 2 克之異黃酮素含量雖被水稀釋，但飲用量大。若以一般飲用量 250 克來計算，則可攝入約 64 mg 之總異黃酮素。黃豆蛋白分離因經過酸水洗之加工過程，故含有部份異黃酮素單體。黃豆蛋白粉及其產品如素肉（乾品，需復水後始可食用）均是異黃酮素之良好來源；其異黃酮素含量約在 1 mg/g 之範圍。在未經發酵的食品中，異黃酮素以其含糖基的形式

存在較多。而在經過發酵的食品，如味增及豆腐乳，則有部份之含醣機之異黃酮素被轉化成不含醣機之單體。Wang (1994) 之也發現類似之結果。味增及豆腐乳中雖含有較高比例之 genistein，但攝取量及頻率都很低，且水含量在 45-65%，故並非一豐富之異黃酮素的來源。

加工過程方面，由擠壓加工所製成之素肉產品是經過超過 100 °C 之高溫而得，但是擠壓加工屬於高溫短時 (HTST) 之方法 (Mercier et al., 1989)，物料停留在擠壓機中的時間很短 (2-3 分鐘)，並不會對異黃酮素造成破壞。因此仍可發現素肉中含有高含量之異黃酮素。豆漿在製造過程中因將豆渣分離，但因異黃酮素難溶於水，故豆漿中所含者應是隨著水溶性蛋白乳化析出。而且有部分異黃酮素流失於殘渣中。殘留於豆渣中的異黃酮素應可再萃取回收。

魚體外抗氧化力方面，大豆蛋白及其產品有較顯著的抗氧化性可能在於其高含量之蛋白質，而有助於整體之體外抗氧化力的呈現。豆腐乳雖含較高比例之 genistein，但其體外抗氧化力反而很低，甚至有促氧化的趨勢，其因可能是因在醃製過程中添加油脂如麻油或沙拉油等而使得本身抗氧化力降低。生黃豆則可能因其本身所含之 lipoxygenase 並未被去活化而導致抗氧化力很低。另外，本實驗在抗氧化分析上所得之結果並不是很穩定。探究其原因可能在於此法主要是測定油脂氧化初期所形成之氫過氧化物。此物質並不十分穩性，

因此數值有些有跳動的現象。因此，利用動物來評估體內之抗氧化力
乃是對此課題更進一步的認知。

五、結論與建議

黃豆產品均含有異黃酮素。加工方式會影響異黃酮素之成分分佈比例。未經發酵之產品中之異黃酮素多以 genistin 為主，而發酵過之產品則以 genistein 為主要之異黃酮素。嫩豆腐、豆漿及黃豆蛋白加工品都是異黃酮素來源。在體外抗氧化力方面，雖然顯示未經發酵之產品具有較高之抗氧化力，惟對人體之抗氧化功效實應以人體或動物實驗之結果為準，故仍須做進一步之評估。

六、參考文獻

中文：

中華民國保健營養學會，1999。健康食品之抗氧化功能評估方法(草案)。

黃敏雄，吳敬誠，林鳳瑞，2000。健康食品暨保健智慧。華香園出版社。

英文：

Anderson R and Wolf W: Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. *J Nutri* 1995; 581S-588S.

Arora A, Valcic S, Cornejo S, Nair MG, Timmermann BN, Liebler DC: Reactions of Genistein with alkylperoxyl radicals. *Chemical Research in Toxicology* 2000; 13(7):638-45.

Barnes S: Evolution of the benefits of soy isoflavones. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1998; 217: 386-392.

Barnes S, Coward L, Kirk M, and Sfakianos J: HPLC-Mass spectrometry analysis of isoflavones. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1998; 254: 254-262.

Cassidy A, Bingham S, and Setchell K: Biological effects of a diet of soy protein rich in isoflavones on the menstrual cycle of premenopausal women. *Am J Clin Nutri* 1994; 60: 333-340.

Cassidy A, Bingham S, and Setchell K: Biological effects of isoflavones in young women: Importance of the chemical composition of soyabean products. *British J Nutri* 1995; 74: 587-601.

Coward L, Smith M, Kirk M, and Barnes S: Chemical modification of

isoflavones in soyfoods during cooking and processing. *Am J Clin Nutri* 1998; 68(6 Suppl):1486S-1491S.

Cruz, M, Wong W, Minouni F, Hachey D, Setchell K, Klein P, and Tsang R: Effects of infant nutrition on cholesterol synthesis rates. *Pediatric Research* 1994; 35(2): 135-140.

Divi R, Chang H, and Doerge D: Anti-thyroid isoflavones from soybean: isolation, characterization, and mechanisms of action. *Biochemical Pharmacology* 1997; 54: 1087-1096.

Elkins R: Genistein: potent soy isoflavone. *Woodland Publishing. Pleasant Grove* 1998. Utah.

Fleury Y, Welti DH, Philipposian G and Magnolato D: Soybean (malonyl) isoflavones characterization and anti-oxidant properties. In *Phenolic compounds in food and their effects on health*. Huang, M-T, Ho, C-T, and Lee, C.Y., Eds; *American Chemical Society* 1992. Washington, DC. Vol. II: 98-113.

Franke A, Custer L, Wang W, and Shi C: HPLC analysis of isoflavonoids and other phenolic agents from foods and from human fluids. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1998; 254: 263-273.

Hodgson JM, Puddey IB, Croft K D, Mori T A, Rivera J and Beilin LJ: Isoflavonoids do not inhibit in vivo lipid peroxidation in subjects with high-normal blood pressure. *Atherosclerosis* 1999; 145(1):167-72.

Hwang J, Sevanian A, Hodis HN and Ursini F: Synergistic inhibition of LDL oxidation by phytoestrogens and ascorbic acid. *Free Radical Biology & Medicin* 2000; 29(1):79-89.

Irvine C, Fitzpatrick M, and Alexander S: Phytoestrogens in soy-based infant foods: concentrations, daily intake, and possible biological effects. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 1998; 254: 247-253.

Jenkins DJ, Kendall CW, Garsetti M, Rosenberg-Zand RS, Jackson CJ, Agarwal S, Rao AV, Diamandis EP, Parker T, Faulkner D, Vuksan V, and Vidgen E: Effect of soy protein foods on low-density lipoprotein oxidation and ex vivo sex hormone receptor activity--a controlled crossover trial. *Metabolism: Clinical & Experimental* 2000; 49(4):537-43.

Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C, Ehringer H and Gmeiner BM: Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 1997; 17(11): 2868-2874.

Kerry N, Abbey M: The isoflavone genistein inhibits copper and peroxy radical mediated low density lipoprotein oxidation in vitro. *Atherosclerosis* 1998; 140(2):341-7.

Kitada Y, Ueda Y, Yamamoto M, Ishikawa M, Nakazawa H, and Fujita M: Determination of isoflavones in soy bean by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. *J Chromatography* 1986; 366: 403-406.

Meng QH, Lewis P, Wahala K, Adlercreutz H, and Tikkanen MJ: Incorporation of esterified soybean isoflavones with antioxidant activity into low density lipoprotein. *Biochimica et Biophysica Acta* 1999; 1438(3):369-76.

Mercier C, Linko P, and Harper JM: Extrusion cooking. *Am Asso Cereal Chemists* 1989; MN USA.

Messina M, and Barnes S: The Role of Soy Products in Reducing Risk of Cancer. *J National Cancer Institute* 1991; 83(8): 541-546.

Ruiz-Larrea MB, Mohan AR, Paganga G, Miller NJ, Bolwell GP, Rice-Evans CA: Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones. *Free Radical Research* 1997; 26(1):63-70.

Tew B, Xu X, Wang H, Murphy P, and Hendrich S: A diet high in wheat

fiber decreases the bioavailability of soybean isoflavones in a single meal fed to women. *J Nutri* 1996; 126: 871-877.

Tikkanen MJ, and Adlercreutz H: Dietary soy-derived isoflavone phytoestrogens. Could they have a role in coronary heart disease prevention? [Review] [38 refs] *Biochemical Pharmacology* 2000; 60(1):1-5.

Tikkanen MJ, Wahala K, Ojala S, Vihma V, and Adlercreutz H: Effect of soybean phytoestrogen intake on low density lipoprotein oxidation resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1998; 95(6):3106-10.

Toda S, and Shiratake Y: Inhibitory effects of isoflavone on lipid peroxidation by reactive oxygen species. *Phytother Res* 1999; 13: 163-165.

Wang H-J and Murphy PA: Isoflavone content in commercial soybean foods. *J Agric Food Chem* 1994; 42:1666-1673.

Wei H, Bowen R, Cai Q, Barnes S, and Wang Y: Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1995; 208: 124-130.

Wiseman H, O'Reilly JD, Adlercreutz H, Mallet AI, Bowey EA, Rowland IR, and Sanders TA: Isoflavone phytoestrogens consumed in soy decrease F(2)-isoprostane concentrations and increase resistance of low-density lipoprotein to oxidation in humans. *Am J Clin Nutri* 2000; 72(2):395-400.

Xu X, Harris K, Wang H, Murphy A, and Hendrich S: Bioavailability of soybean isoflavones depends upon gut microflora in women. *J Nutri* 1995; 125:2307-2315.

Yamakoshi J, Piskula MK, Izumi T, Tobe K, Saito M, Kataoka S, Obata A, and Kikuchi M: Isoflavone aglycone-rich extract without soy protein attenuates atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbits. *J Nutri* 2000; 130(8):1887-93.

表一、本研究所採集之黃豆產品及廠商

產品	廠商	地址
大漢嫩豆腐	華上食品實業有限公司	桃縣大園鄉大觀路 548 號
中華嫩豆腐	恆義食品實業有限公司	高縣大樹鄉龍目路 110-6 號
惠陽超市傳統豆腐	惠陽超市	
統一豆漿	統一食品	南縣新市鄉大營村 7 號
義美古早味豆漿	義美食品	桃縣南崁南工路 1 段 11 號
光泉豆漿	光泉食品	桃縣大園鄉南港村 92 號
工研營養味增	大醇食品股份有限公司	北縣淡水鎮埤塢里 51-11 號
十全味增	特好食品股份有限公司	竹北市鳳岡路 3 段 398 號
貴品為增	泉發食品廠	彰縣埤頭鄉丰崙村光復東路 45 巷 40 號
六福辣豆腐乳	秀才食品股份有限公司	北市新明路 246 巷五號
四川白腐乳	四川土產食品股份有限公司	北縣中和市永和路 289 號
黃日香甜酒腐乳	黃日香食品股份有限公司	桃縣大溪鎮信義路 493 巷 6 號
素肉		
素火腿	富克國際企業有限公司	北市長安東路 2 段 112 號 2F 之 3
素香腸		
妙鷹黃豆	實驗農場股份有限公司	北市新明路 122-6 號
日正黃豆	日正食品股份有限公司	南投市自強三路 28 號
大豆蛋白分離 (SPI)	Protein Technology International	St. Louis USA

表二、產品之水分含量 (%濕重)

產品	廠商	水分含量 (wet basis %)
嫩豆腐	大漢	90.36±0.22
	中華	89.33±0.33
	惠陽超市	82.03±0.47
豆漿	統一	88.44±0.03
	義美	88.34±0.10
	光泉	87.56±0.00
味增	工研營養	44.03±0.41
	十全	46.12±0.21
	貴品	45.19±0.19
豆腐乳	六福辣	67.41±0.41
	四川土產	69.95±1.77
	黃日香甘酒	56.63±0.01
擠壓產品	素肉	10±0.63
	素火腿	64±2.33
	素香腸	63±1.46
黃豆	妙鷹	9.25±0.08
	日正	8.43±0.04
大豆蛋白分離	Protein Technology International	3.77±0.08

表三、黃豆產品中主要異黃酮素含量分佈及總量(ppm)

產品 [※]	廠商	Genistin + daidzin	daidzein	Genistein	Total
嫩豆腐	大漢	129.8±3.3	1.1±0.3	1.1±0.3	132.1±3.3
	中華	76.4±22.3	0.3±0.5	0.2±0.5	76.9±23.1
	惠陽超市	61.5±34.0	1.8±1.6	1.9±1.8	65.2±33.8
豆漿 (dry powder) 味增	統一	417.1±25.9	6.1±0.2	5.3±0.3	429.1±26.4
	義美	334.2±23.8	5.2±0.5	4.6±0.4	344.2±24.7
	光泉	272.6±18.5	6.9±0.7	7.4±0.5	286.9±20.0
	工研營養	180.1±4.5	7.6±0.6	9.6±0.6	197.3±5.7
	十全	173.3±37.8	2.2±2.0	3.4±3.1	178.9±42.3
	貴品	202.6±28.3	7.4±0.8	6.4±0.8	216.5±29.6
擠壓產 品	素肉(dry)	181.1±17	10.3±0.9	9.7±1.0	201.1±15.2
	素火腿 (wet)	33.3±0.2	0.2±0.2	0.2±0.1	33.6±0.4
	素香腸 (wet)	30.3±0.2	0.2±0.1	0.3±0.1	30.8±0.2
	豆腐乳	16.2±3.4	1.20±0.6	2.9±1.0	20.3±3.2
黃豆	六福辣	1.2±1.2	22.9±2.4	27.4±1.5	58.4±12.3
	四川土產	10.2±4.8	18.5±3.6	24.3±3.9	51.5±5.5
	黃日香甘 酒	172.3±21.7	2.2±1.2	7.9±0.8	198.1±20.9
SPI	妙鷹	260.6±96.3	3.8±1.2	2.2±1.0	266.6±98.5
	PTI	260.7±65.7	9.9±3.1	11.2±4.1	281.7±73.0

※ 產品除豆漿經冷凍乾燥外，其餘均以原產品形式作萃取及分析。

表四、黃豆產品之體外硫氰酸鐵測定

樣品	抑制率(%)	標準差
大豆蛋白	31.6	5.3
大漢豆腐	22.9	6.6
惠陽傳統豆腐	27.7	0.7
中華嫩豆腐	37.0	21.0
妙鷹黃豆	-8.6	2.3
日正黃豆	-11.7	8.4
貴品味增	7.9	0.1
工研味增	-16.7	9.1
十全味增	-4.1	3.5
光泉豆漿	-15.3	6.7
統一豆漿	-16.3	3.7
義美豆漿	-23.4	8.3
素肉	4.4	8.7
素火腿	5.4	2.5
素香腸	1.5	4.0
黃日香豆乳	-20.9	2.6
六福豆乳	-13.4	7.5
麻油豆腐乳	-14.7	7.5