

## 基于 UPLC-ESI-MS/MS 技术黑豆种皮的化学成分分析

吴志华<sup>1,2</sup>, 马 丽<sup>2,①</sup>, 陈 剑<sup>2</sup>, 周佳宇<sup>2</sup>

[1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210023; 2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园)  
江苏省植物资源研究与利用重点实验室 江苏省抗糖尿病药物筛选技术服务中心, 江苏 南京 210014]

**摘要:** 采用超高效液相色谱-电喷雾-串联质谱(UPLC-ESI-MS/MS)技术对黑豆种皮体积分数 70%乙醇提取物中的化合物进行分析。结果表明:黑豆种皮体积分数 70%乙醇提取物中 32 个化合物主要为多酚类,其中,酚酸类化合物的相对含量为 13.38%,黄酮类化合物的相对含量为 39.59%。儿茶素的相对含量最高(10.15%),反式阿魏酸的相对含量次之(7.86%),二氢黄豆苷元和原花青素 B<sub>1</sub>的相对含量也较高(分别为 5.52%和 5.36%)。黑豆种皮中主要的多酚类物质为酚酸类和黄酮类化合物,具有进一步开发利用的价值。

**关键词:** 黑豆种皮; 化学成分; UPLC-ESI-MS/MS

中图分类号: Q946.8; S567.21<sup>+</sup>9; R284.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)01-0111-03  
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.01.12

**Analysis on chemical components in seed coat of black soybean based on UPLC-ESI-MS/MS technology** WU Zhihua<sup>1,2</sup>, MA Li<sup>2,①</sup>, CHEN Jian<sup>2</sup>, ZHOU Jiayu<sup>2</sup> [1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Jiangsu Provincial Service Center for Anti-diabetic Drugs Screening, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(1): 111-113

**Abstract:** The compounds in the volume fraction of 70% ethanol extracts from seed coat of black soybean were analyzed by using ultra-high performance liquid chromatography-electrospray-tandem mass spectrometry (UPLC-ESI-MS/MS) technology. The results show that 32 compounds in the volume fraction of 70% ethanol extracts from seed coat of black soybean are mainly polyphenols, in which, the relative content of phenolic acids is 13.38%, and that of flavonoids is 39.59%. The relative content of catechin is the highest (10.15%), followed by *trans*-ferulic acid (7.86%), and the contents of dihydrodaidzein and procyanidin B<sub>1</sub> are also relatively high (which are 5.52% and 5.36% respectively). The main polyphenols in seed coat of black soybean are phenolic acids and flavonoids, which have valuable potential for further development and utilization.

**Key words:** seed coat of black soybean; chemical component; UPLC-ESI-MS/MS

黑豆是豆科(Fabaceae)大豆属(*Glycine* Willd.)药食同源植物大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.)的成熟干燥种子,又称黑大豆、乌豆、枝仔豆和槽豆等。据《中华人民共和国药典:2020年版》记载,黑豆有益精明目、养血祛风、利水、解毒之功效,主治阴虚烦渴、头晕目昏、体虚多汗、肾虚腰痛、水肿尿少、痹痛拘挛、手足麻木和药食中毒<sup>[1]</sup>。黑豆中发挥作用的化合物多数为多酚类,而多酚类化合物集中于黑豆种皮。黑豆种皮中的多酚类化合物具有广泛的药用价值,在抗氧化、抗炎、抗糖尿病和治疗心血管疾病方面有显著的效果<sup>[2-8]</sup>。研究黑豆种皮中的化学成分,对新药开发有一定的积极作用。

黑豆种皮又称乌衣和料豆衣,其含有多酚类成分可分为黄酮类、芪类、木脂素类和酚酸类,其中黄酮类又可分为黄酮、异黄酮、黄酮醇、黄烷酮、黄烷醇、花青素和查耳酮,已报道的

黄酮类化合物主要包括矢车菊素-3-*O*-葡萄糖苷、飞燕草素-3-*O*-葡萄糖苷、山柰酚、槲皮素、杨梅素、大豆苷和染料木素等<sup>[6]</sup>。在黑豆的工业化生产中,通常对黑豆进行脱皮处理,因此黑豆种皮为黑豆制品工业的副产品。黑豆种皮中富含花色苷,花色苷易溶于水,味香甜,色泽鲜艳,原料易得,生产工艺简单<sup>[3-4]</sup>。本研究采用超高效液相色谱-电喷雾-串联质谱(UPLC-ESI-MS/MS)技术分析黑豆种皮中的化学成分,以期黑豆种皮的开发利用提供基础资料。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

供试黑豆种皮产自内蒙古自治区通辽市科尔沁区,由江

收稿日期: 2023-04-16

基金项目: 江苏省植物资源研究与利用重点实验室开放基金项目(JSPKLB202201)

作者简介: 吴志华(1997—),女,河南许昌人,硕士研究生,主要从事药用植物开发与利用方面的研究。

①通信作者 E-mail: mariecurie@126.com

引用格式: 吴志华, 马 丽, 陈 剑, 等. 基于 UPLC-ESI-MS/MS 技术黑豆种皮的化学成分分析[J]. 植物资源与环境学报, 2024, 33(1): 111-113.

苏省中国科学院植物研究所马丽副研究员鉴定。

主要试剂:甲醇(色谱纯,美国 TEDIA 公司);甲酸(分析纯,上海久亿化学试剂有限公司);甲醇和无水乙醇(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);体积分数 95%乙醇(分析纯,镇江久亿化学试剂有限公司)。

## 1.2 方法

称取 9.5 kg 黑豆种皮在 50 L 体积分数 70%乙醇(甲酸调节酸碱度约为 pH 3)中避光浸泡 2 周,过滤,取滤液,重复操作 1 次。合并 2 次滤液,于 60 °C 减压浓缩至 3 L,即为黑豆种皮总提取物。

色谱条件:色谱柱 Phenomenex Hypersil 5  $\mu\text{m}$  ODS ( $\text{C}_{18}$ ) 120  $\text{\AA}$ (250 mm $\times$ 4.60 mm)(美国 Phenomenex 公司);以甲醇为流动相 A、体积分数 0.5%甲酸-水溶液为流动相 B 进行梯度洗脱,洗脱程序如下:0~70 min,体积分数 5%~45%A;70~80 min,体积分数 100%A。柱温 25 °C,流速 1 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ,进样量 5  $\mu\text{L}$ ,DAD 检测波长 254 和 520 nm。

质谱条件:质谱检测器 ESI 离子源,负离子模式,质量扫描范围  $m/z$  100~1 700;雾化器压力 206.85 kPa;干燥气流速 10 mL $\cdot$ min $^{-1}$ ;干燥气温度 350 °C;毛细管电压 4 000 V;Fragmentor 电压 130 V;碰撞能量 20 V。利用 Agilent MassHunter B.05.00 工作站处理相关实验数据,采用峰面积归一化法<sup>[9]</sup>计算各化合物的相对含量。

## 1.3 数据统计

利用 EXCEL 2010 软件对实验数据进行统计。

## 2 结 果

黑豆种皮乙醇提取物中的化学成分见表 1。由表 1 可以看出:黑豆种皮乙醇提取物中 32 个化合物主要为多酚类,其中,酚酸类化合物的相对含量为 13.38%,黄酮类化合物的相对含量为 39.59%。相对含量较高(大于 1%)的化合物分别为儿茶素(10.15%)、反式阿魏酸(7.86%)、二氢黄豆苷元(5.52%)、原花青素 B<sub>1</sub>(5.36%)、3-O-甲基没食子酸(3.20%)、白藜芦醇(2.35%)、奎宁酸(2.32%)、花旗松素(2.31%)、圣草酚(2.06%)、二氢杨梅素(1.39%)、山柰素(1.37%)和异鼠李素(1.14%)。

进一步的分析结果显示:黑豆种皮中,飞燕草素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、芍药素-3-O-葡萄糖苷和万寿菊素-3-O-葡萄糖苷 4 个呈色花色苷类化合物的相对含量为 2.88%;儿茶素及其为前体形成的 6 个原花青素衍生物类化合物(包括原花青素 B<sub>1</sub>、原花青素 B<sub>2</sub>、原花青素 B<sub>3</sub>、原花青素 C<sub>1</sub>、原花青素 C<sub>2</sub>和 B 型原花青素四聚体)的相对含量为 18.83%;奎宁酸、3-O-甲基没食子酸和反式阿魏酸 3 个酚酸类化合物的相对含量为 13.38%;异鼠李素、山柰素、花旗松素、牡荆苷、异槲皮苷、圣草酚、二氢杨梅素、异鼠李素-3-O-葡萄糖苷、紫云英苷、金合欢素和桔皮素 11 个黄酮类化合物的相对含量为 11.31%;二氢黄豆苷元、黄豆黄苷和染料木素 3 个异黄酮类化合物的相对含量为 7.13%。

表 1 黑豆种皮乙醇提取物中的化学成分

Table 1 Chemical components in ethanol extract from seed coat of black soybean

编号 No.	保留时间/min Retention time	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量/% Relative content
1	3.825	奎宁酸 Quinic acid	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	2.32
2	9.462	异鼠李素 Isorhamnetin	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	1.14
3	10.396	二氢黄豆苷元 Dihydrodaidzein	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>	5.52
4	11.339	香兰素 Vanillin	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	0.17
5	12.206	3-O-甲基没食子酸 3,4-dihydroxy-5-methoxybenzoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>5</sub>	3.20
6	15.149	3,4-二羟基苯甲醛 3,4-dihydroxybenzaldehyde	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	0.49
7	16.967	山柰素 Kaempferide	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	1.37
8	18.868	花旗松素 Taxifolin	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	2.31
9	19.861	牡荆苷 Vitexin	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>	0.50
10	20.744	飞燕草素-3-O-葡萄糖苷 Delphinidin-3-O-glucoside	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>12</sub>	0.49
11	21.462	异槲皮苷 Isoquercitrin	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub>	0.52
12	24.130	原花青素 C <sub>2</sub> Procyanidin C <sub>2</sub>	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	0.90
13	24.580	(-)-没食子儿茶素(-)-gallocatechin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	0.47
14	26.106	反式阿魏酸 trans-ferulic acid	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	7.86
15	26.698	原花青素 B <sub>1</sub> Procyanidin B <sub>1</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	5.36
16	30.551	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷 Cyanidin-3-O-glucoside	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>11</sub>	0.78
17	32.719	儿茶素 Catechin	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	10.15
18	34.161	原花青素 C <sub>1</sub> Procyanidin C <sub>1</sub>	C <sub>45</sub> H <sub>38</sub> O <sub>18</sub>	0.94
19	35.521	B 型原花青素四聚体 Procyanidin type B tetramer	C <sub>60</sub> H <sub>48</sub> O <sub>24</sub>	0.31
20	38.414	原花青素 B <sub>2</sub> Procyanidin B <sub>2</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	0.56

续表1 Table 1 (Continued)

编号 No.	保留时间/min Retention time	化合物 Compound	分子式 Molecular formula	相对含量/% Relative content
21	40.507	白藜芦醇 Resveratrol	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	2.35
22	43.893	圣草酚 Eriodictyol	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	2.06
23	48.412	二氢杨梅素 Dihydromyricetin	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>8</sub>	1.39
24	51.606	黄豆黄苷 Glycitin	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub>	0.93
25	54.333	原花青素 B <sub>3</sub> Procyanidin B <sub>3</sub>	C <sub>30</sub> H <sub>26</sub> O <sub>12</sub>	0.61
26	55.925	异鼠李素-3-O-葡萄糖苷 Isorhamnetin-3-O-glucoside	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>12</sub>	0.19
27	57.610	芍药素-3-O-葡萄糖苷 Peonidin-3-O-glucoside	C <sub>22</sub> H <sub>23</sub> O <sub>11</sub>	0.62
28	60.028	万寿菊素-3-O-葡萄糖苷 Patuletin-3-O-glucoside	C <sub>22</sub> H <sub>22</sub> O <sub>13</sub>	0.99
29	60.787	紫云英苷 Astragalin	C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub>	0.81
30	67.591	金合欢素 Acacetin	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub>	0.51
31	70.034	桔皮素 Tangeretin	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>7</sub>	0.51
32	72.361	染料木素 Genistein	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	0.68

黑豆种皮中的主要成分为多酚类,多酚类化合物具有较好的抗炎<sup>[10-11]</sup>、抗癌<sup>[12-14]</sup>及抗氧化<sup>[15]</sup>作用。本研究结果有利于黑豆种皮的药理研究和开发利用。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2020年版(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 359-360.
- [2] OOMAH B D, CORBÉ A, BALASUBRAMANIAN P. Antioxidant and anti-inflammatory activities of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hulls [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(14): 8225-8230.
- [3] MATSUKAWA T, INAGUMA T, HAN J, et al. Cyanidin-3-glucoside derived from black soybeans ameliorate type 2 diabetes through the induction of differentiation of preadipocytes into smaller and insulin-sensitive adipocytes [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2015, 26(8): 860-867.
- [4] KIM H J, XU L, CHANG K C, et al. Anti-inflammatory effects of anthocyanins from black soybean seed coat on the keratinocytes and ischemia-reperfusion injury in rat skin flaps [J]. Microsurgery, 2012, 32(7): 563-570.
- [5] CARDADOR-MARTÍNEZ A, LOARCA-PIÑA G, OOMAH B D. Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. Journal of Agricultural and of Food Chemistry, 2002, 50(24): 6975-6980.
- [6] GANESAN K, XU B. A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans[J]. Nutrients, 2017, 9(5): 455.
- [7] XIAO J. Dietary flavonoid aglycones and their glycosides: which show better biological significance? [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(9): 1874-1905.
- [8] 裴玲, 张海霞, 张岩. 没食子酸及其衍生物抗氧化活性的理论研究[J]. 井冈山大学学报(自然科学版), 2015, 36(4): 27-33.
- [9] 张睿胤, 张誉湘, 章瑶, 等. HS-SPME-GS-MS法测定不同时期七叶一枝花中挥发性成分[J]. 中药材, 2022, 45(2): 374-378.
- [10] SERAFINI M, PELUSO I, RAGUZZINI A. Flavonoids as anti-inflammatory agents [J]. Proceedings of the Nutrition Society, 2010, 69(3): 273-278.
- [11] YI Y S. Regulatory roles of flavonoids on inflammasome activation during inflammatory responses [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2018, 62(13): e1800147.
- [12] SUN Q, LIU Q, ZHOU X, et al. Flavonoids regulate tumor-associated macrophages: from structure-activity relationship to clinical potential (review) [J]. Pharmacological Research, 2022, 184: 106419.
- [13] ROMAGNOLO D F, SELMIN O I. Flavonoids and cancer prevention: a review of the evidence [J]. Journal of Nutrition in Gerontology and Geriatrics, 2012, 31(3): 206-238.
- [14] 乔如颖, 李明, 郑新强, 等. 茶叶及其儿茶素类对乳腺癌的抑制作用[J]. 茶叶科学, 2016, 36(6): 557-566.
- [15] BERNATONIENE J, KOPUSTINSKIENE D M. The role of catechins in cellular responses to oxidative stress [J]. Molecules, 2018, 23(4): 965.

(责任编辑: 张明霞)