

利用大孔树脂从大豆糖蜜中回收大豆异黄酮

孟 雷,袁其朋

(北京化工大学生命科学与技术学院,北京 100029)

摘要 以大豆糖蜜为原料,以 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 为絮凝剂去除大豆蛋白质,利用大孔树脂分离大豆异黄酮。测定了大豆异黄酮在 ADS-7 型树脂上的吸附饱和曲线,并研究了大豆异黄酮的洗脱条件。结果表明,用浓度为 70% 的乙醇洗脱大豆异黄酮,得到产品的纯度最高为 63.51%,收率为 93.40%。

关键词 大豆糖蜜;大豆异黄酮;大孔树脂;吸附

中图分类号 TQ655 **文献标识码** A **文章编号** 1000-9841(2007)03-0435-04

RECOVERY OF ISOFLAVONE FROM SOY MOLASSES BY MACROPOROUS RESIN

MENG Lei, YUAN Qi-peng

(College of Life Science and Technology, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029)

Abstract Recovery of isoflavone from soy molasses by macroporous resin was studied. The protein was flocculated from the soy molasses using $\text{Ca}(\text{OH})_2$ at room temperature. The break through curve of isoflavone on ADS-7 resin column and the condition of desorption were also investigated. The results showed that the highest purity was obtained when the soy isoflavone was eluted by 70% (V:V) ethanol. The purity and the recovery of the isoflavone were 63.51% and 93.40%, respectively.

Key words Soy molasses; Isoflavone; Macroporous resin; Adsorption

大豆异黄酮由于具有类雌激素及抗真菌的生理活性,能够抑制酪氨酸蛋白激酶活性及诱发癌细胞凋亡的作用^[1],已经受到越来越广泛的关注。异黄酮能降低患心血管疾病、乳腺癌、前列腺癌等症的几率^[2],还能够预防骨质疏松,改善女性更年期综合症等。药理学研究表明:大豆异黄酮可作为雌性激素治疗的代替品,同时异黄酮也具有较强的抗氧化活性^[3]。

工业中生产大豆浓缩蛋白剩余的大豆糖蜜中含有大豆异黄酮,大豆糖蜜粘度高,价格低廉,主要用作牲畜的饲料,造成了资源的浪费。本研究

主要从利用工业废料及降低异黄酮生产成本的角度考虑,对大豆糖蜜进行处理,利用加入 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 絮凝的方法,并结合大孔树脂分离技术提取大豆异黄酮^[4,5]。

1 材料与方法

1.1 仪器

HITACHI 高效液相色谱系统(包括 HITACHI UV-VIS DETECTOR L-7420、HITACHI PUMP L-7100、L-7300 控温系统和 Diamonsil C_{18} , 5, 150 mm

收稿日期:2006-11-12

基金项目:企业合作

作者简介:孟雷(1981-),男,硕士研究生,研究方向制药工程。

通讯作者:袁其朋, Tel:010-64437610, E-mail: yuangp@mail.buct.edu.cn

×4.6 nm 分析柱)。TH-1000 梯度混合器(上海沪西分析仪器厂),PB-10 型 pH 计(德国赛多利斯公司)。

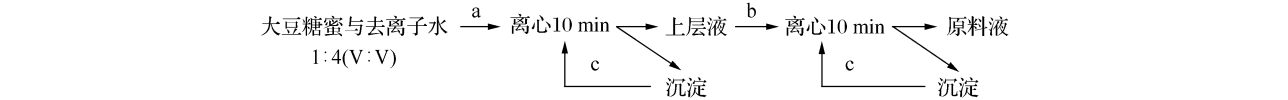
1.2 试剂

ADS-7 (天津南开合成技术有限公司),乙醇、

NaOH、盐酸(分析纯,北京化工厂),Ca(OH)₂(北京益利精细化学品有限公司),大豆糖蜜(秦皇岛金海食品科技有限公司)。

1.3 方法

大豆糖蜜预处理工艺如下:



a. 调 pH 值至 7.0,加入 Ca(OH)₂,搅拌 30 min,静置 15 min。

b. 调 pH 值至 7.0,搅拌 30 min,静置 15 min。

c. 分别用 2 倍于原料体积的水洗沉淀两次,搅拌 30 min,静置 15 min。

通过上述工艺,即得到处理后的原料液,总异黄酮的收率可达到 70% 左右,浓度约为 600 mg/L 左右。

1.4 分析方法

表1 大豆糖蜜各组份名称及含量
Table1 Composition of soy molasses

组分名称 Composition	水份 Liquid	蛋白质 Protein	油份 Oil	灰份 Ash	碳水化合物 Carbohydrate	大豆异黄酮 Isoflavone
含量(mg/mL) Content	306	43.5	24.3	35.2	579	12

2 结果与讨论

2.1 蛋白质的去除

由于大豆糖蜜中含有水溶性蛋白,因此需要尽量去除,否则会影响最后异黄酮产品的纯度及收率。大豆异黄酮在酸性的条件下溶解度低,而等电点法去除蛋白质为酸性条件,较易沉淀溶液中的异黄酮,影响收率;相反,异黄酮在碱性条件下溶解度较高,因此通过加入 Ca(OH)₂作为絮凝剂的方法,使得整个絮凝过程在碱性条件下进行,从而增大异黄酮的溶解度,降低损失。

2.2 絮凝剂加入量的影响

选取 25 mL 大豆糖蜜,与 100 mL 去离子水混合,考察 Ca(OH)₂的加入量对絮凝效果的影响。实验中选择 Ca(OH)₂的加入量分别为 1、2、3、4、5、10、15 g。当加入量小于 3 g 时,沉淀为淤泥状,上层液极其浑浊,絮凝效果不理想;当 Ca(OH)₂的加入量大于 3 g 时,所得沉淀和上层液分离效果较好,絮凝效果与加入 3 g 时基本一样。但是从图 1 中可以看

高效液相色谱法(HPLC)。色谱条件为:色谱柱,Diamonsil C₁₈ 5 μm 150 mm×4.6 nm 分析柱;柱温:50 ℃;流动相,甲醇和 1.8% 冰醋酸的体积比为 27: 73;流速,1.0 mL/min;检测波长,254 nm^[6]。

1.5 大豆糖蜜的物化特性

大豆糖蜜购于河北省秦皇岛金海食品工业有限公司,其组分含量如表 1 所示。

出,随着加入的 Ca(OH)₂量的增加,异黄酮总量先升高后降低,这是因为 Ca(OH)₂的加入量较少时,絮凝效果不理想,达不到絮凝要求,直接影响工艺的收率和效率;而 Ca(OH)₂的加入量过多反而引起收率的降低,这可能是由于 Ca(OH)₂在沉降过程中本身吸附了异黄酮,从而引起含量下降,所以对于每 25 mL 糖蜜来说,Ca(OH)₂的加入量在 3 g 时为宜。

2.4 精制实验

大豆异黄酮的精制方法主要有超滤膜法、吸附法、重结晶和溶剂萃取等多种方法。其中生产的成熟工艺主要是溶剂萃取法。近年来以大孔树脂作为固相萃取介质的吸附法在工业上得到广泛应用,具有吸附、富集、分离不同母核结构药物的功能,目前主要应用于废水处理、医药工业、化学工业、分析化学等领域。而大孔树脂作为吸附介质分离大豆异黄酮具有较好的分离效果,且有处理量大,操作简便等优点,容易实现工业化生产。

2.4.1 异黄酮吸附条件的确定 大孔树脂对于异黄酮具有较好的吸附分离效果,树脂的极性是影响吸附性能的重要因素。在极性、弱极性、非极性 3 种

乙醇为最佳的洗脱液参数。

图1 絮凝剂对异黄酮总量的影响

Fig.1 Effect of flocculation on the isoflavone mass

树脂中,弱极性和非极性的树脂对大豆异黄酮的吸附量较大。ADS-7 属弱极性大孔吸附树脂,是一种双功能选择性吸附树脂,兼具表面吸附与基团吸附功能。提取洗脱时,树脂上会有部分色素物质未被洗脱下来,但树脂可以继续使用,且该树脂再生性较好,用于酚类、黄酮类物质的吸附分离可得到纯度较高的产品。

经过实验确定以 300 mg/L 左右浓度的原料液进行上样。因为低浓度上样会导致操作时间过长,会引起树脂柱上发生多层吸附解析,影响收率;而上样浓度过高会引起树脂利用率不高,收率也会有所降低。从图 2 的上样穿透曲线可以看出,当上样量为 320 mL 时,树脂柱出口浓度为进样浓度的 10%,所以最佳上样量应为 320 mL 左右。在实验过程中发现,上样流速为 2 BV/h、3 BV/h、4 BV/h 上样差别不是很大,因此选择 4 BV/h 上样,这样既节省了上样时间又保证了树脂的吸附效率。

2.4.2 异黄酮解析条件的确定 解析过程主要考查了乙醇浓度对解析过程中收率及纯度的影响^[7],从表 2 中可以看出,当乙醇浓度为 70% (V:V) 时,得到的异黄酮纯度最高,达到 63.51%;随着乙醇浓度的升高,总异黄酮的收率也在升高,除了 60% 乙醇洗脱外,其余洗脱过程得到的收率都在 90% 以上。如表 3 所示,实验过程中还采用了三种不同乙醇浓度的梯度进行洗脱,分别为 50% ~ 70%, 50% ~ 80%, 50% ~ 90%。其中 50% ~ 80% 浓度的乙醇溶液洗脱下的异黄酮纯度比其它两组实验的结果高,为 50.32%,但没有达到固定浓度为 70% 乙醇溶液洗脱得到的纯度高,因此确定固定浓度为 70% 的

图2 ADS-7 柱异黄酮吸附曲线

Fig.2 The penetration curve of soybean isoflavone adsorbed by ADS-7 column

表2 固定浓度得到的大豆异黄酮的纯度及收率

Table 2 Purity and yield of isoflavone gained using unchangeable concentration

实验号 Sample	洗脱液浓度 (%) Eluate concentration	纯度 (%) Purity	收率 (%) Yield (%)
1	60	32.39	81.02
2	70	63.51	93.40
3	80	40.74	94.56
4	90	38.16	96.33

表3 梯度洗脱得到的大豆异黄酮的纯度及收率

Table 3 Purity and yield of isoflavone gained using changeable concentration

实验号 Sample	洗脱液浓度 (%) Eluate concentration	纯度 (%) Purity	收率 (%) Yield (%)
1	50 ~ 70	43.59	94.03
2	50 ~ 80	50.32	93.50
3	50 ~ 90	29.25	95.88

3 结论

- 3.1 大豆糖蜜是生产醇法大豆浓缩蛋白过程中的副产品,过去多是作饲料或者生物发酵用,其中含有大豆异黄酮、皂甙、低聚糖等活性物质。本研究重在利用回收废料,提取异黄酮,得到了较好的结果。
- 3.2 以 Ca(OH)₂ 作为絮凝剂絮凝蛋白质,大豆糖蜜与水的体积比为 1: 4 (V/V),沉淀分别水洗两次,收率达到了 70% 左右。
- 3.3 大豆糖蜜制取大豆异黄酮的分离、精制工艺

为:大豆糖蜜经调 pH 值中性后,经加入 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 絮凝、离心、沉淀分别两次水洗,将 pH 调至值中性后离心,合并清液后上柱,再以 4BV 的水洗脱糖、盐以及部分水溶性色素等,最后用 70% 乙醇水溶液洗脱得到纯度为 63.51% 的大豆异黄酮,整套工艺收率为 63% 左右。已报到的大多数文献,主要以豆粕或乳清废水为原料,利用大孔树脂回收异黄酮^[7]。本方法较之比较,纯度高出约 13% 左右,整套工艺收率为 63% 左右。

参 考 文 献

[1] Tetsu. Akiyama, Junko Ishida. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine – specific protein kinases[J]. The Journal of Biological Chemistry. 1987,262(12):5592 – 5595.

[2] Shaw Watanabe, Sayo Uesugi, Yuriko Kikuchi. Isoflavones for prevention of cancer, cardiovascular diseases, gynecological problems and possible immune potentiation[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2002,56:302 – 312.

[3] P. Foti, D. Erba, P. Riso, et al. Comparison between daidzein and genistein antioxidant activity in primary and cancer lymphocytes [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2005,433:421 – 427.

[4] 胡卫新, 王晓磊, 张洁. 大豆异黄酮提取条件和大豆蛋白质分离工艺研究[J]. 大豆科学, 2005, 24(1): 26 – 29.

[5] 刘国庆, 朱翠萍, 王占生. 大孔树脂对大豆乳清废水中异黄酮的吸附特性研究[J]. 离子交换与吸附, 2003, 19(3): 229 – 234.

[6] 贾乃堃, 袁其朋. 高纯度大豆黄苷及大豆黄素的制备[J]. 大豆科学, 2004, 23(1): 11 – 14.

[7] 于阿娟, 谷克仁, 冶保献. 大豆异黄酮的精制工艺研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(4): 29 – 31.



大豆科学 访问用户来源统计表

2006 – 2007 年

地域名称	下载频次	浏览数	访问量
亚洲	33751	45852	79603
欧洲	116	33	149
北美洲	107	40	147
大洋洲	4	2	6