

微波辅助提取大豆甾元工艺研究

周泉城^{1,2}, 申德超², 区颖刚¹

(¹ 华南农业大学工程学院, 广东广州 510642; ² 山东理工大学轻工与农业工程学院, 山东淄博 255091)

摘要:大豆甾元是大豆中一种生理活性物质, 挤压技术和微波提取技术对其提取效果影响尚未见报道。本文研究挤压膨化技术对大豆甾元提取的影响, 并确定最佳的微波提取条件。在考察液料比、微波时间等单因素对大豆甾元得率影响的基础上, 选取微波时间、料液比和浸置时间进行三因素三水平的响应曲面试验, 以确定微波辅助提取大豆甾元最佳条件。并以微波辅助提取未经挤压的大豆、挤压处理过的大豆用乙醇作为溶剂提取、未挤压未微波的大豆中大豆甾元得率作为对照。试验结果表明微波辅助提取大豆甾元的最佳条件为乙醇浓度为 90%, 提取时间为 5 min, 微波火力为 0.6, 提取液 pH 为 2, 液料比 (V/W) 为 30, 提取 1 次。得率为 0.26%, 显著高于对照试验。挤压膨化技术处理有利于大豆甾元的提取, 微波技术提取大豆甾元效果优于对照。

关键词:挤压蒸煮; 大豆甾元; 微波; 脱脂饼粕; 提取

Microwave-assisted Extraction of Daidzein from Defatted Soybean Meal after Extrusion

ZHOU Quan-cheng^{1,2}, SHEN De-chao², and QU Ying-gang¹

(¹ College of Engineering, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong; ² College of Lighter Industry and Agricultural Engineering, Shandong University of Technology, Zibo 255091, Shandong, China)

Abstract: Until now, microwave assisted daidzein from extruded soybean still have not been researched. In this paper, effect of extrusion technology on soybean daidzein was studied. The optimal microwave-assisted extraction conditions were confirmed through single factor experiments and response surface methodology experiment. Control experiments were as follows: microwave-assisted extraction daidzein from soybean unextruded, ethanol extraction daidzein from soybean extruded and ethanol extraction daidzein from soybean unextruded. The optimal microwave-assisted extraction condition were as follows: the content of ethanol in solution was 90%, the time and firepower of microwave-assisted extraction were 5 min and 0.6, respectively. The yield of the daidzein under the above optimal extraction conditions was 0.26%, which was significantly different from the yield of the control. Extrusion technology benefits for daidzein extracting, microwave-assisted extracting method is better than ethanol extracting method, and the extraction condition is stable.

Key words: Extrusion; Daidzein; Micro wave; Defatted soybean meal; Extraction

近年来,大豆中含有的生理活性物质,如大豆甾元、大豆低聚糖等成为保健食品行业研究的重点。大豆甾元是多酚类化合物,具有抗肿瘤、抗炎、抗骨质疏松症等作用(杨茂区等,2006;Constantinou et al.,2005)。其生产来源多为浸油后的大豆饼粕。大豆饼粕浸油效果直接影响到大豆甾元等物质加工效果(汪海波等,2006;王万能等,2005)。

挤压膨化过程是一个复杂的物理化学生物反应过程,物料组分所发生的变化主要同挤压前物料的

预处理、挤压加工温度分布、螺杆结构等多方面因素有关(Pilli et al.,2005;魏益民等,2005;徐红华等,2004)。而物料组分的变化直接影响到后续加工效果(杜双奎等,2005)。申德超(2004)研究表明挤压膨化后饼粕中大豆异黄酮提取比常规方法提高15%~100%(申德超,2004.中国专利,CN1631274A)。但挤压膨化-浸油后饼粕中大豆甾元提取效果如何,尚无研究报道。

微波辅助提取的理论依据是不同物质的介电常

收稿日期(Received):2007-08-03;接受日期(Accepted):2007-09-13

基金项目:农业科技成果转化基金(05EFN21370051);山东理工大学创新研究团队支持计划资助项目(CX 0601);山东理工大学科研基金资助项目(2004KJM09)

作者简介:周泉城(1977-),男,副教授,博士,主要研究方向为农产品精深加工。Tel:0533-2786382;E-mail:zhqch04@sohu.com

数不同,其吸收微波能的程度不同(Rostagno et al., 2007; Careri et al., 2007)。在微波场中,吸收微波能力的差异使得基体物质的某些区域或萃取体系中的某些组分被选择性加热,从而使得被萃取物质从基体或体系中分离,进入到介电常数较小、微波吸收能力相对较差的萃取剂中(李扬等, 2006; 张永忠和石冬冬, 2003)。与其他提取方法相比(王万能等, 2005; Araújo et al., 2007; Liggins et al., 1998; Xu and He, 2007),微波辅助提取以高得率、高选择性、快速加热、易于控温及低溶剂消耗等优点,越来越引起人们的重视,并在多个领域得到应用(李扬等, 2006)。

本文旨在探讨挤压膨化处理对大豆饼粕中大豆甾元提取的影响,确定微波辅助提取大豆甾元的机理和动力学模型,并确定提取的最佳工艺,为大豆甾元的提取提供一种新型高效的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

大豆购自市场,经测定其大豆甾元含量为 0.28% 左右。大豆甾元标准品为中国药品生物制品检定所产品。所用其他试剂均为国产分析纯。

1.2 试验设备

挤压设备为自制剖分式单螺杆挤压机。微波设备型号 WG900DSL23-K6,购自顺德市格兰仕电器实业有限公司,微波输出功率 900 W。紫外-可见分析仪为岛津 UV-1700。植物粉碎机 FZ102 型购自天津泰斯特仪器公司。油脂浸出器为自制设备。

1.3 试验操作

粉碎为粒度 1.5 ~ 2.0 mm 的大豆按如下条件挤压:挤压温度 85℃,转速 160 r min⁻¹,四孔模口 Φ10 mm。大豆挤压膨化物放入自制油脂浸出器进行油脂浸出试验。溶剂为 6 号溶剂油,浸出器的溶剂油温度为 (56 ± 1)℃,浸出时间 120 min。

微波提取试验操作:称取定量浸油后大豆挤压膨化物于烧瓶中,加入定量溶剂,静置一定时间后,按设定的微波火力、微波时间等条件下进行试验。试验结束后,抽滤,滤液定容,取样测定。

对照试验:未经挤压的大豆采用微波最佳提取条件提取(对照试验 1),挤压过大豆 80% 乙醇浸提,未微波辅助提取(对照试验 2)和未挤压大豆 80% 乙醇浸提(对照试验 3),分别测定大豆甾元得率。对照试验 1 的目的是比较挤压对大豆甾元提取的影响;对照试验 2 的目的是微波对大豆甾元提取

的影响;对照试验 3 的目的则是比较此试验工艺对大豆甾元提取的影响。

1.4 样品中大豆甾元得率计算

1.4.1 标准曲线绘制 精确称取大豆甾元标准品 20.0 mg,置于 25 mL 容量瓶中,以甲醇溶解并定容至刻线,摇匀。分别精密吸取标准品溶液 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.2、1.6 mL,置于 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻线,摇匀。以甲醇为空白,在 249 nm 的波长处测定大豆甾元的 A 值。以浓度 X 为横坐标, A 值为纵坐标绘制标准曲线,得大豆甾元回归方程 $A = 6.51X - 0.1007$, $R^2 = 0.999$,两者线性范围均为 0.008 ~ 0.128 mg mL⁻¹。

1.4.2 得率计算 精确取样品提取液 50 μL,甲醇定容到 10 mL,在波长 249 nm 处测定大豆甾元 A 值。重复 3 次,取平均值。根据标准曲线方程求出提取物中大豆甾元的含量,按下面公式计算大豆甾元得率。大豆甾元得率(%) = 大豆甾元质量/浸油后大豆挤压膨化物质量 × 100。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

由图 1 可知,乙醇浓度低于 80% 时,乙醇浓度越高,大豆甾元得率越高。当乙醇浓度为 80% 时,大豆甾元得率最高。乙醇浓度进一步提高,大豆甾元的得率开始下降。以上变化规律是因为在提取条件下,乙醇浓度越高,提取液极性越小,则微波能获得越少,而细胞内大豆甾元获能相对较多,两者因能量的差异而产生的热应力,随乙醇浓度增加而增大,从而大豆甾元得率增加。此外,另一方面原因是乙醇浓度增加,提取液极性和大豆甾元极性差异减少的关系。

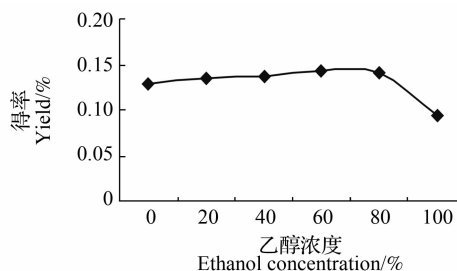


图 1 乙醇含量对大豆甾元得率的影响

Fig. 1 Effect of the content of ethanol on the yield of daidzein

由图 2 微波提取时间对大豆甾元得率的影响可知,在试验范围内,提取时间越长,大豆甾元得率越高。当提取时间为 5 min 时,大豆甾元得率最高。

不同时间段,大豆甙元得率增加幅度不同,在 2~4 min 时间段,增幅最大。此现象是由于随着微波作用时间延长,大豆细胞破碎程度增加,大豆甙元溶出增多,得率开始上升。

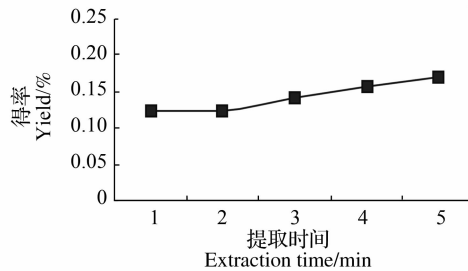


图2 提取时间对大豆甙元得率的影响

Fig. 2 Effect of the time of extraction on the yield of daidzein

一般来说,微波的火力越高越容易获得较大的声强,超声强度对得率的影响却不能一概而论,要考虑微波与介质相互作用的程度和提取物的性质。由图 4 可知微波火力 0.2~1.0 范围之内时,随着火力提高,大豆甙元得率上升,且火力越大,得率增幅越高。火力为 1 时大豆甙元得率最高。这是因为在所选试验条件下,微波声强与大豆甙元相互作用,导致其溶出量随微波火力的增加而增加。

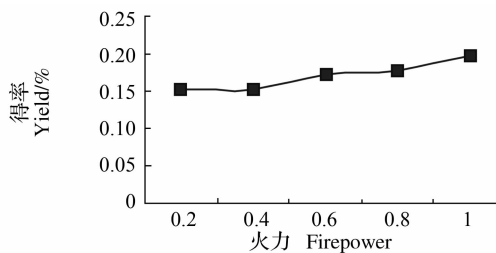


图3 微波火力对大豆甙元得率的影响

Fig. 3 Effect of the power of microwave on the yield of daidzein

2.2 响应曲面试验

由单因素试验结果确定响应曲面试验设计方案,见表 1,优化提取工艺,其他条件为经过大量预试验确定的提取液 H^+ 浓度为 2 mol L^{-1} ,提取 1 次,液料比(V/W)为 30。试验结果见表 2。

从表 2 方差分析可知, $P = 0.0001 < 0.01$,大豆甙元得率回归方程达极显著水平,即试验数据与所采用的二次数学模型符合,拟合情况良好。

大豆甙元得率回归模型方程为: $Y = 0.10146 - 0.00296X_1 + 0.05812X_2 + 0.39375X_3 + 0.00000576X_1^2 - 0.00646X_2^2 - 0.27083X_3^2 + 0.00013889X_1X_2 + 0.00055556X_1X_3 - 0.03437X_2X_3$ 。

利用 matlab 解方程得最佳条件为乙醇浓度为 0.0014%,提取时间为 0.0902 mol L^{-1} ,微波火力 1.3589。这不符合实际试验条件,因此选用响应曲面试验大豆甙元得率最高的试验条件,即乙醇浓度为 90%,提取时间为 5 min,微波火力为 0.6,提取液 H^+ 浓度为 2 mol L^{-1} ,液料比(V/W)为 30,提取 1 次。

表 1 试验方案及试验结果

Table 1 Experiment schemes and experiment results

编号 No.	乙醇浓度 Concentration of ethanol /%	提取时间 Extraction time /min	微波火力 Firepower	大豆甙元得率 Yield/%
1	-1(0)	-1(1)	0(0.6)	0.09
2	-1	0(3)	-1(0.2)	0.09
3	-1	0	1(1)	0.11
4	-1	1(5)	0	0.14
5	0(45)	-1	-1	0.11
6	0	-1	1	0.15
7	0	1	-1	0.18
8	0	1	1	0.11
9	1(90)	-1	0	0.27
10	1	0	-1	0.26
11	1	0	1	0.24
12	1	1	0	0.27
13	0	0	0	0.21
14	0	0	0	0.20
15	0	0	0	0.21

表 2 方差分析

Table 2 Analysis of variance

方差来源 Source	自由度 DF	平方和 SS	均方差 MS	F 值 F value	概率 P
回归 Model	9	0.06132	0.00681	140.96	<0.0001
残差 Error	5	0.00024167	0.00004833		
总离差 Corrected total	14	0.06156			

2.3 验证试验

按大豆甙元最佳提取条件随机取样进行 3 次验证试验,经测定大豆甙元得率 0.26%。回归模型方程预测值为 0.27%。经方差分析知 $P = 0.2662$,表明实测平均值和预测值之间无显著差别,模型拟合良好,预测准确。

2.4 对照试验

未挤压,微波提取(对照试验 1)的大豆甙元得率为 0.12%,挤压后,乙醇提取(对照试验 2)的大豆甙元得率为 0.15%,未挤压、未微波提取(对照试验 3)的大豆甙元得率为 0.09%。经方差分析多重比较表明,各组试验之间有明显差别。这表明无

论是采用挤压技术,还是微波提取技术,或两者都采用,都可以显著提高大豆甙元得率,而两种技术相结合,与单独采用一种技术相比,得率有显著提高。

3 讨论

大豆在挤压机内受到混合、压缩、捏合和剪切等综合作用而被塑化和蒸煮。当大豆通过挤压模孔的一瞬间,高压急剧释放,大豆水分迅速蒸发,使大豆被膨化成内部产生许多细小孔隙的组织疏松体,使组织细胞受到破坏,从而有利于细胞内大豆甙元的浸出。此外,高温短时的挤压膨化过程使大豆甙元受热破坏的程度降低到最低点。因此,挤压过的大豆中大豆甙元不仅含量损失少,而且易被提取(Pilli et al.,2005;魏益民等,2005)。本研究结果证明从挤压过大豆中提取的大豆甙元得率高于未挤压大豆甙元得率。

与对照试验相比,微波辅助萃取大豆甙元得率显著提高。而且,提取时间缩短了15倍,大大降低了生产成本。此外,大豆经挤压处理后,微波辅助提取方法中大豆甙元得率显著提高。整体来讲,大豆甙元在微波场中吸收大量的能量,而周围的乙醇水提取剂则少吸收微波能,从而在大豆细胞内部产生热应力,大豆细胞结构因细胞内部产生的热应力而破裂。细胞内部的大豆甙元因细胞的破裂直接与相对冷的乙醇提取剂相接触,因内外的温度差加速了大豆甙元由细胞内部转移到乙醇提取剂中,从而强化了提取过程。

本研究创新点其一表现在原料为挤压过的大豆饼粕;其二提取方法采用微波辅助提取,提取溶剂为具有一定酸度的乙醇水溶液,此种溶剂提取方法结合了乙醇水溶液提取和酸解提取大豆甙元的优点。本试验结果证明了这点,即相比于微波辅助乙醇提取大豆甙元,微波时间缩短,微波温度下降,大豆甙元得率上升,缩短了大豆甙元生产成本,提高了大豆甙元生产得率。

4 结论

大豆甙元得率回归模型方程为: $Y = 0.10146 - 0.00296X_1 + 0.05812X_2 + 0.39375X_3 + 0.00000576X_1^2 - 0.00646X_2^2 - 0.27083X_3^2 + 0.00013889X_1X_2 + 0.00055556X_1X_3 - 0.03437X_2X_3$ 。大豆甙元最佳的微波提取条件为乙醇浓度为90%,

提取时间为5 min,微波火力为0.6,得率为0.26%,显著高于对照试验。

References

- Araújo J M A, Silva M V, and Chaves J B P. 2007. Supercritical fluid extraction of daidzein and genistein isoflavones from soybean hypocotyl after hydrolysis with endogenous β -glucosidases. *Food chemistry*, 105:266-272
- Careri M, Corradini C, Elviri L, and Mangia A. 2007. Optimization of a rapid microwave assisted extraction method for the liquid chromatography electrospray-tandem mass spectrometry determination of isoflavonoid aglycones in soybeans. *Journal of Chromatography A*, 1152(1):274-279
- Constantinou A I, White B E, Tonetti D, Yang Y, Liang W, Li W, and van Breemen R B. 2005. The soy isoflavone daidzein improves the capacity of tamoxifen to prevent mammary tumours. *European Journal of Cancer*, 41(4):647-654
- Du S K, Wei Y M, and Zhang B. 2005. Changes of Material Components during Extrusion. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 20(3):39-43, 47 (杜双奎, 魏益民, 张波. 2005. 挤压膨化过程中物料组分的变化分析. *中国粮油学报*, 20(3):39-43, 47)
- Liggins J, Bluck L J C, Coward W A, and Bingham S A. 1998. Extraction and quantification of daidzein and genistein in Food. *Analytical Biochemistry*, 264(1):1-7
- Li Y, Zhao S F, Li T, Hou X D, and Shi R C. 2006. The application of microwave-assisted extraction technique in food industry. *China Brewing*, (9):5-8 (李扬, 赵树法, 李婷, 侯晓东, 施瑞城. 2006. 微波辅助萃取技术在食品工业中的研究进展. *中国酿造*, (9):5-8)
- Pilli T De, Severini C, Baiano A, Derossi A, Arhaliass A, and Legrand J. 2005. Effects of operating conditions on oil loss and properties of products obtained by co-rotating twin-screw extrusion of fatty meal: preliminary study. *Journal of Food Engineering*, 70:109-116
- Rostagno M A, Palma M, and Barroso C G. 2007. Microwave assisted extraction of soy isoflavones. *Analytica Chimica Acta*, 588(2):274-282
- Wang H B, Liu D C, Li Y M, and Wang H Y. 2006. Study on the Processing of Extracting Soy Isoflavone Aglycone by Acid Hydrolysis. *Food Science*, 24(4):98-101 (汪海波, 刘大川, 李永明, 汪海婴. 2006. 酸水解法提取大豆异黄酮甙元工艺研究. *食品科学*, 24(4):98-101)
- Wang W N, Quan X J, and Lu T J. 2005. Study on extracting isoflavones circularly from soy residue with uniform design. *Soybean Science*, 24(1):75-77 (王万能, 全学军, 陆天健. 2005. 均匀设计超声波循环提取豆粕异黄酮的研究. *大豆科学*, 24(1):75-77)
- Wei Y M, Jiang C X, and Zhang B. 2005. Effects of processing parameters on extrudant qualities. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 20(2):33-36, 40 (魏益民, 蒋长兴, 张波. 2005. 挤压膨化工艺参数对产品质量影响概述. *中国粮油学报*, 20(2):33-36, 40)

(下转 133 页)

- Nishino H, and Aoiike A. 1993. Genistein arrests cell cycle progression at G2-M. *Cancer Research*, 53(6):1328-1331
- Murkies A L, Lombard C, Strauss B J, Wilcox G, Burger H G, and Morton M S. 1995. Dietary flour supplementation decreases post-menopausal hot flushes: effect of soy and wheat. *Maturitas*, 21(3):189-195
- Peterson C, and Barnes S. 1991. Genistein inhibition of the growth of human breast cancer cells: Independence from estrogen receptors and the multi-drug resistance gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 179(1):661-667
- Raines E W, and Ross R. 1995. Biology of atherosclerotic plaque formation: possible role of growth factors in lesion development and the potential impact of soy. *The Journal of Nutrition*, 125:624-630
- Setchell K D, Borriello S P, Hulme P, Kirk D N, and Axelson M. 1984. Nonsteroidal estrogens of dietary origin: possible roles in hormone-dependent disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40:569-578
- Wang H, and Murphy P A. 1994. Isoflavone content in commercial soybean foods. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42(8):1666-1673
- Wei H, Bowen R, Cai Q, Barnes S, and Wang Y. 1995. Antioxidant and antipromotional effects of the soybean isoflavone genistein. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 208(1):124-130
- Wei H, Cai Q, and Rahn R O. 1996. Inhibition of UV light and fenton reaction induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. *Carcinogenesis*, 17(1):73-77
- Yanagihara K, Ito A, Toge T, and Numoto M. 1993. Antiproliferative effects of isoflavones on human cancer cell lines established from the gastrointestinal tract. *Cancer Research*, 53(23):5815-5821
- Yu D Q, Yang J S, and Xie J X eds. 1985. *Analytical chemistry manual, the fifth Fascicule*. Chemical Industry Press, China, Beijing, pp. 742-743 (于德泉, 杨峻山, 谢晶曦, 著. 1985. 分析化学手册, 第五分册. 化学工业出版社, 中国, 北京, pp. 742-743)
- (上接 127 页)
- Xu H H, Shen D C, and Xu Y. 2004. Influence of soybean oil and meal qualities produced by extruding- expelling. *Journal of Agricultural Mechanization Research*, 6:60-62 (徐红华, 申德超, 许岩. 2004, 挤压膨化技术对大豆油脂及豆粕质量的影响. 农机化研究, 6:60-62)
- Xu H N, and He C H. 2007. Extraction of isoflavones from stem of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi using n-butanol/water two-phase solvent system and separation of daidzein. *Separation and Purification Technology*, 56(1):85-89
- Yang M Q, Chen W, and Feng L. 2006. Research progress of biological functions of soybean isoflavone. *Soybean Science*, 25(3):320-324 (杨茂区, 陈伟, 冯磊. 2006. 大豆异黄酮的生理功能研究进展. 大豆科学, 25(3):320-324)
- Zhang Y Z, and Shi D D. 2003. The research on extract isoflavone through microwave pretreatment. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 11(3):8-10 (张永忠, 石冬冬. 2003. 微波法预处理提取大豆异黄酮的研究. 粮油食品科技, 11(3):8-10)