

## 超声波法提取豆渣中大豆异黄酮的工艺研究

何恩铭<sup>1,2</sup>, 李惠华<sup>2</sup>, 常强<sup>2</sup>, 王伟<sup>2</sup>, 徐剑<sup>2</sup>

(1. 厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005; 2. 福建省亚热带植物研究所, 福建省亚热带植物生理生化重点公共实验室, 福建 厦门 361006)

**摘要:**以乙醇为溶剂, 采用超声波提取法, 对豆渣中大豆异黄酮的提取工艺进行研究。结果表明:乙醇浓度、提取温度、超声提取时间、料液比对豆渣中大豆异黄酮的提取均有影响;豆渣中大豆异黄酮的提取工艺为:乙醇浓度 80%, 提取温度 50~60℃, 超声提取时间 30~40 min, 料液比 1:8~1:12。

**关键词:**豆渣;大豆异黄酮;超声波提取

**中图分类号:**TS214.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2011)04-0680-03

## A Preliminary Study on Extraction of Soybean Isoflavones from Soybean Dregs by Ultrasound Method

HE En-ming<sup>1,2</sup>, LI Hui-hua<sup>2</sup>, CHANG Qiang<sup>2</sup>, WANG Wei<sup>2</sup>, XU Jian<sup>2</sup>

(1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005; 2. Fujian Key Laboratory of Physiology and Biochemistry for Subtropical Plant, Fujian Institute of Subtropical Botany, Xiamen 361006, Fujian, China)

**Abstract:** The paper mainly concerned with the extraction of soybean isoflavones from soybean dregs using ultrasonic extraction method, and alcohol was used as solvent. The results showed that ethanol concentration, extraction temperature, ultrasonic extraction time and the ratio of solid to liquid had effects on the extraction of soybean isoflavones in soybean dregs. The extraction technologies of soybean isoflavones from soybean dregs were as follows: 80% ethanol concentration, extraction temperature was 50~60℃, ultrasonic extraction time was 30-40 min, and the solid to liquid ratio was between 1:8 and 1:12.

**Key words:** Soybean dregs; Soybean isoflavones; Ultrasonic extraction

大豆异黄酮(Soybean isoflavone)是大豆生长过程中的一种次级代谢产物,是大豆中主要的生理活性物质,具有很高的药用价值。研究发现大豆异黄酮对人体具有多种生理功能,除其自身具有抗氧化作用外,还可作为雌性激素治疗的替代品用以改善妇女更年期综合症,降低绝经女性的血脂水平,预防骨质疏松症,还具有抗癌、防止心血管疾病、抗菌等多种功能<sup>[14]</sup>,在医药、食品行业中得到广泛的应用。豆渣是大豆加工中的主要副产物,产量极其丰富,多年来基本上都被当成低附加值的饲料或肥料处理掉,有些甚至作为废物被直接丢弃,不仅经济效益低,浪费资源,也造成了环境污染。研究表明,豆渣中同样含有异黄酮,黄晓东<sup>[5]</sup>采用柱层析技术和薄层层析法对豆渣中异黄酮类化合物进行提取、分离,并用紫外光谱法和薄层层析法对豆渣中异黄酮类化合物进行了鉴定,为豆渣中大豆异黄酮的提取奠定了基础。若能把豆渣中的异黄酮类物质提取出来,作为天然的抗氧化剂和具保健功能的食品添加剂使用,对豆渣的综合利用具有重要的意义。

超声提取法利用超声波所产生的热效应、空化效应和机械振动等作用,可以缩短提取时间、提高提取效率,利于有效成分的保护等优点<sup>[6]</sup>,已成为现代天然产物活性成分提取分离研究领域重要的技术之一。该文以乙醇为溶剂,采用超声提取法,对豆渣中大豆异黄酮的提取工艺进行研究,为大豆资源的综合开发利用提供一定的参考依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与仪器

新鲜豆渣(厦门大学后勤集团饮食服务中心提供);染料木素(Genistein)标准品(Sigma公司);石油醚(沸程 60~90℃,AR);95%乙醇(AR)。

UV-9100 紫外可见分光光度计(上海佳胜实验设备有限公司);SB25-12DTD 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);索式提取器;冷却浸提装置;旋转蒸发仪;电热恒温水浴锅;精密电子天平;烘箱;粉碎机等。

收稿日期:2011-05-29

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30970126);福建省重大科技平台建设基金资助项目(2008N2001)。

第一作者简介:何恩铭(1980-),男,博士,助理研究员,主要从事植物生理生化与天然活性物质的开发利用研究。

E-mail:hem1516@yahoo.com.cn。

## 1.2 试验方法

1.2.1 豆渣中大豆异黄酮的提取工艺 新鲜豆渣→烘箱干燥→粉碎→石油醚脱脂→乙醇超声提取→过滤→待测滤液

1.2.2 标准曲线的绘制 以染料木素(Genistein)为标准品,参照文献[7]的方法,精密称取染料木素 1.31 mg,以 95% 乙醇溶解,定容至 10 mL,精密吸取 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9 mL 标准品溶液分置于 10 mL 的容量瓶中,并各加 95% 乙醇 1.0 mL,再加蒸馏水稀释至刻度,摇均匀。以 1.0 mL 95% 乙醇加水至 10 mL 作空白对照,在 260 nm 处测的吸光度。以吸光度( $Y$ )为纵坐标,染料木素浓度( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )( $X$ )为横坐标绘制标准曲线,回归方程为  $Y = 0.1251X + 0.007$ ,  $R^2 = 0.9995$ 。

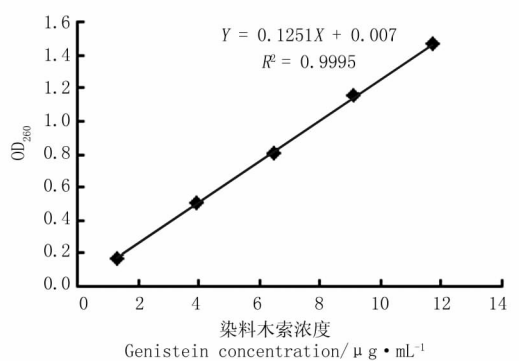


图1 标准曲线

Fig.1 The standard curve

1.2.3 提取液中异黄酮的测定 准确吸取备测提取液 1.0 mL,置于 10 mL 的容量瓶中,用蒸馏水定容至刻度,摇均匀。以 1.0 mL 95% 乙醇加水至 10 mL 作空白对照,在 260 nm 处测的吸光度。根据标准曲线的回归方程,计算出大豆异黄酮的质量和提取率。计算公式如下:

$$\text{豆渣样品中所含大豆异黄酮的质量}(\mu\text{g}) = 10 \cdot X \cdot V$$

$$\text{大豆异黄酮的提取率}(\%) = (10 \cdot X \cdot V \cdot 10^{-6} / W) \cdot 100 = X \cdot V / 1000 W$$

其中: $W$  表示样品的质量(g); $V$  表示提取液的总体积(mL); $X$  表示由回归方程求得的待测样品中的异黄酮含量( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。

1.2.4 提取条件的选择 按照 1.2.1 的提取工艺,称取干燥豆渣 1.0 g,超声功率 240 W,以大豆异黄酮的提取率为考察指标,依次进行了乙醇浓度、提取温度、超声时间和料液比 4 个单因素试验,对豆渣中大豆异黄酮的超声波提取工艺进行研究。每个水平重复 3 次,测定结果取平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 乙醇浓度对大豆异黄酮提取的影响

在温度为 45℃,料液比为 1:10,超声时间

20 min 的条件下,以不同浓度乙醇作为提取液,考察不同的浓度乙醇对豆渣中大豆异黄酮提取的影响,结果如图 2。

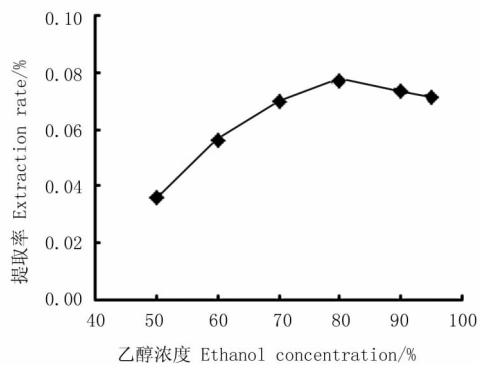


图2 乙醇浓度对提取率的影响

Fig.2 Effect of ethanol concentration on extraction rate

如图 2 所示,不同浓度乙醇溶液对大豆异黄酮的提取率有显著的影响。当乙醇的浓度在 50%~80% 时,大豆异黄酮的提取率随着乙醇浓度的增加而升高,乙醇浓度为 80% 时,大豆异黄酮提取效果最好,而后随着乙醇浓度提高大豆异黄酮的提取率反而下降。可见浓度过低或过高对大豆异黄酮的提取均有不同程度的抑制作用,因为乙醇浓度过高或过低都与异黄酮的极性不一致,不利于大豆异黄酮的溶出。

### 2.2 温度对大豆异黄酮提取的影响

乙醇浓度为 80%,料液比为 1:10 时,在不同温度下超声提取 20 min,浸提豆渣中大豆异黄酮。考察不同温度对大豆异黄酮提取的影响,结果如图 3。

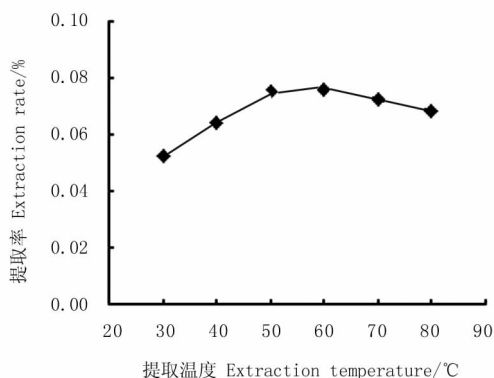


图3 温度对提取率的影响

Fig.3 Effect of temperature on extraction rate

从图 3 可见,随着温度的升高,大豆异黄酮的提取率呈先升高后降低的趋势,可能随着温度的升高,分子渗透、扩散、溶解速度加快,使豆渣颗粒中的大豆异黄酮更易转移到溶剂中。但温度过高,提取液的颜色会逐渐加深,大豆异黄酮被氧化破坏而导致得率不再增加,甚至下降。因此,提取温度以

50~60℃为宜。

### 2.3 超声处理时间对提取大豆异黄酮的影响

在用80%乙醇,料液比为1:10,浸提温度为50℃的条件下,考察不同的超声处理时间对大豆异黄酮提取率的影响,结果如图4。

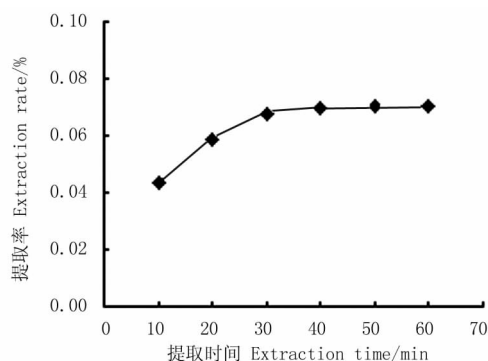


图4 超声提取时间对提取率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic extraction time on extraction rate

由图4可知,随着超声提取时间的延长,豆渣中大豆异黄酮的提取率也随着升高,超声提取时间超过30 min后,大豆异黄酮的提取率升高缓慢。这是由于超声波会导致细胞内产生剧烈的涡流扩散,增大细胞内外有效成分的浓度差,从而加快溶质的传质速率。在40 min左右,豆渣颗粒内部与溶剂中大豆异黄酮物质的浓度基本达到平衡,颗粒内部的大豆异黄酮类物质已基本停止了向周围溶剂扩散,若再延长超声提取时间,对提高大豆异黄酮的提取率作用极为有限,只会增加能耗。考虑到提取效率和能耗问题,超声提取时间应控制在30~40 min。

### 2.4 料液比对大豆异黄酮提取的影响

用80%的乙醇,提取温度50℃,选取不同的料液比进行超声提取30 min,考察料液比对大豆异黄酮提取的影响,结果如图5。

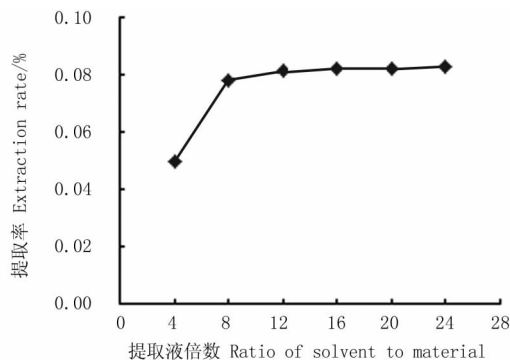


图5 料液比对提取率的影响

Fig. 5 Effect of material to solvent ratio on extraction rate

图5显示,随着乙醇用量的增加,大豆异黄酮的提取率升高,但当料液比增加到1:12后,大豆异黄酮的提取率升高不明显,可能是随着溶剂的增加豆渣中含有的大豆异黄酮基本被提取出来。考虑

到乙醇的耗费及后期提取液的浓缩问题,溶剂用量不宜过多,料液比应在1:8至1:12之间为宜。

## 3 结论与讨论

试验结果表明,乙醇浓度、提取温度、超声提取时间和料液比对大豆异黄酮的提取均有影响,初步得出超声波法提取豆渣中大豆异黄酮的工艺为:乙醇浓度为80%,提取温度50~60℃,超声提取时间为30~40 min,料液比在1:8至1:12之间。用超声波提取豆渣中大豆异黄酮的方法与传统的乙醇提取方法<sup>[8]</sup>相比,能缩短提取时间,减少溶剂的用量,可以提高乙醇的提取效率;在较低的温度下提取,可减少大豆异黄酮活性物质的氧化破坏;无任何的污染,工艺过程简单,该方法能提高豆渣的综合利用率,具有广阔的应用前景。

## 参考文献

- [1] 徐春华,张治广,谢明杰. 大豆异黄酮的抗氧化和抗肿瘤活性研究[J]. 大豆科学,2010,29(5):870-873. (Xu C H, Zhang Z G, Xie M J. Research on antioxygenic and antitumor activities of soybean isoflavones[J]. Soybean Science,2010,29(5):870-873.)
- [2] Shim H Y, Park J H, Paik H D, et al. Genistein-induced apoptosis of human breast cancer MCF-7 cells involves calpain-caspase and apoptosis signaling kinase 1-p38 mitogen-activated protein kinase activation cascades[J]. Anticancer Drugs,2007,18:649-657.
- [3] 李俏俏,王清路,薛金艳. 大豆异黄酮对绝经女性血清中脂类物质的影响[J]. 大豆科学,2009,28(1):172-174. (Li Q Q, Wang Q L, Xue J Y, et al. Effect of soy isoflavone on the serum lipid level of postmenopausal women[J]. Soybean Science,2009,28(1):172-174.)
- [4] 高荣海,张春红,赵秀红,等. 大豆异黄酮研究进展[J]. 粮食与油脂,2009,22(05):1-4. (Gao R H, Zhang C H, Zhao X H, et al. Research progress on soybean isoflavone[J]. Cereals and Oils,2009,22(5):1-4.)
- [5] 黄晓东. 大豆豆渣中黄酮类化合物的分离与鉴定[J]. 山西食品工业,2003,28(2):17-18. (Huang X D. Isolation and identification of isoflavones from soybean residue[J]. Shanxi Food Industry,2003,28(2):17-18.)
- [6] 徐春龙,林书玉. 超声提取中草药成分研究进展[J]. 药物分析杂志,2007,27(6):933-937. (Xu C L, Lin S Y. Research development in ultrasonic extraction constituents of traditional Chinese herb[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis,2007,27(6):933-937.)
- [7] 宋冰,王丕武,张秀艳,等. 大豆异黄酮提取工艺的优化[J]. 大豆科学,2008,27(2):343-346. (Song B, Wang P W, Zhang X Y. Optimization of the extraction technique of soybean isoflavones[J]. Soybean Science,2008,27(2):343-346.)
- [8] 何恩铭,齐香君,魏丽娜. 大豆豆渣中大豆异黄酮的提取工艺研究[J]. 西北农业学报,2006,15(4):160-162. (He E M, Qi X J, Wei L N. Research on extraction of soybean isoflavones from soybean residue[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica,2006,15(4):160-162.)