



电磁裂解法提取的黑豆和黄豆异黄酮含量研究

杨 晶, 肖春萍, 胡冬华, 于 澎

(长春中医药大学 药学院, 吉林 长春 130117)

摘 要: 为获得一种提取大豆异黄酮的简易环保方法, 将水浸泡的黑豆或黄豆加入到电磁裂解装置中, 通过变频变压正弦交流电作用于大豆, 对其进行电磁裂解, 分析不同裂解时间对黑豆和黄豆中各异黄酮类含量的影响, 探讨电磁裂解法的提取效果。结果显示: 电磁裂解处理后豆类异黄酮含量明显高于未经电磁裂解处理。电磁裂解处理时间不同, 大豆异黄酮含量不同。电磁裂解时间约为 80 min, 黑豆异黄酮含量最高, 黄豆苷元类异黄酮含量最高; 电磁裂解约 130 min 黄豆葡萄糖结合型苷含量最高。且在相同的电磁裂解时间, 黑豆各异黄酮类含量明显高于黄豆。研究结果表明电磁裂解法在提取黄豆和黑豆中的苷元类异黄酮方面有很大的优势, 且提取效果因电磁裂解时间的不同而有所差异。电磁裂解时间约为 80 min 时, 黑豆和黄豆中苷元类异黄酮的提取效果最好。

关键词: 电磁裂解法; 黑豆; 黄豆; 异黄酮

Study on the Contents of Isoflavones of Black Beans and Soybean Extracted by Electromagnetic Cracking Method

YANG Jing, XIAO Chun-ping, HU Dong-hua, YU Peng

(School of Pharmaceutical Sciences, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

Abstract: In order to obtain a simple and environmentally friendly method of extracting soybean isoflavone, the work used an electromagnetic cracking device. The soaked black and yellow beans were added to the device, respectively, and were electromagnetically cracked by variable-frequency and variable pressure sinusoidal alternating current. The effects of the electromagnetic cracking time on the content of isoflavones in the black and yellow beans were studied. The results showed that the isoflavone contents of soybean processed by electromagnetic cracking were considerably higher than those of soybean processed without electromagnetic cracking. The contents of isoflavones were different for the samples which were electromagnetically cracked for different time. Around 80 min, the isoflavones of the black bean reached the maximum contents. For the yellow bean, the aglycone isoflavones reached the maximum contents around 80 min and the glycoside isoflavones reached the maximum contents around 130 min. The contents of the isoflavones of black bean were considerably higher than those of the yellow bean at the same time of electromagnetic cracking. The results indicated that the electromagnetic cracking method could extract the aglycone isoflavones effectively. The electromagnetic cracking time had an effect on the content of isoflavones. Around 80 min, the aglycone isoflavones reached the maximum contents for the black and yellow beans.

Keywords: Electromagnetic cracking method; Black bean; Soybean; Isoflavone

豆类是我国传统的药食兼用的农产品资源之一, 它有黑、白、黄、褐、青、斑数色, 其中黑豆与黄豆在我国各地均有栽培, 资源优势明显, 用途广泛^[1]。黑豆与黄豆均含有大豆蛋白、大豆异黄酮、维生素以及人体必需的微量元素等营养物质^[2]。具有“植物雌激素”之称的大豆异黄酮在豆类中占有极其重要的作用, 黑豆是食药两用的物质, 但黄豆目前仍只作为普通食品未曾入药, 因此我们对黑豆与黄豆中大豆异黄酮成分进行研究。大豆异黄酮具有抗氧化^[3]、预防癌症^[4]、抗癌^[5]等药理学活性, 其中包括 12 种成分, 按结构可分为苷元、 β -葡萄糖结合型苷、乙酰化葡萄糖苷以及丙二酰基葡萄糖苷四大类^[6-7]。研究发现仅苷元类异黄酮能特异性抑制癌

细胞的增殖, 是大豆异黄酮中最有效的抗癌成分, 但 β -葡萄糖结合型苷的成分可以通过在体内转化成苷元形式后发挥作用^[8]。苷元类大豆异黄酮包括染料木素、大豆苷元、黄豆黄素 3 种, β -葡萄糖结合型苷包括染料木苷、大豆苷、黄豆黄苷 3 种。

关于大豆异黄酮的提取方法, 主要包括溶剂浸渍法、微波辅助提取法、超声辅助提取法、加速溶剂提取法、索氏提取法等^[9-12]。考虑到现有的提取方法都需加入有机化学试剂作溶剂, 不利于环保, 本文采用一种新型的电磁裂解装置, 其基本原理是将变频变压正弦交流电作用于大豆来提取异黄酮, 该电磁裂解方法不添加任何化学物质, 只需加水浸泡大豆, 具有简单易行, 成本低和易于应用的优点。

收稿日期: 2018-05-06

基金项目: 吉林省中医药科技项目 (2017150); 吉林省科技厅项目 (201603094YY, 20150311034YY)。

第一作者简介: 杨晶 (1979 -), 女, 博士, 副教授, 主要从事中药药剂学和保健品研究。E-mail: 764130589@qq.com。

通讯作者: 于澎 (1978 -), 男, 硕士, 副教授, 主要从事中药药剂学和炮制学研究。E-mail: 40309698@qq.com。

本文将电磁裂解技术应用于黑豆和黄豆来提取异黄酮,分析电磁裂解处理的黑豆与黄豆各异黄酮含量的差别,电磁裂解时间对异黄酮含量的影响,以期为大豆异黄酮的提取与开发应用研究提供科学依据和奠定理论基础。

1 材料与方法

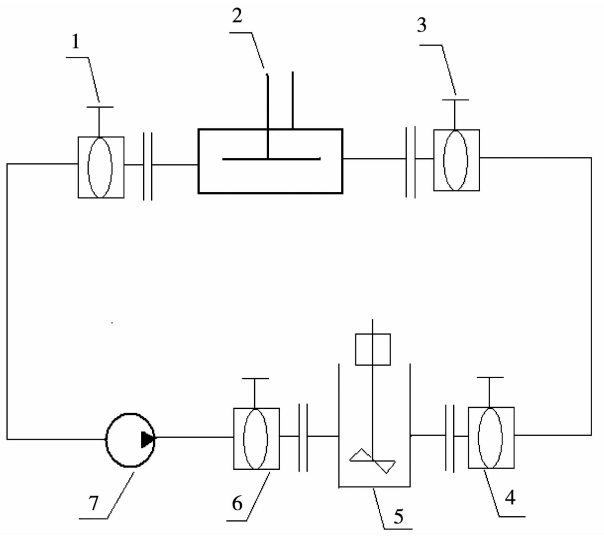
1.1 材料

1.1.1 材料 黑豆、黄豆来源于黑龙江省大豆种植基地;二甲基亚砜(天津市福晨化学试剂厂);色谱级冰乙酸(天津市光复科技发展有限公司);色谱级甲醇、乙腈(Fisher);荧光素(天津市光复精细化工研究所);大豆苷元(中国食品药品检定研究所);大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、黄豆黄素、染料木素(提取自源叶生物)。

1.1.2 仪器 电磁裂解装置由实验室自主研发制备;1220 高效液相色谱仪(安捷伦);EL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);TGL-16B 高速离心机(上海安亭科学仪器厂);KQ-500B 超声波清洗器(昆山美美超声仪器有限公司);减压旋转蒸发装置(上海申顺生物科技有限公司);冷冻干燥机(日本东京理化);色谱柱(5020-02746 Inertsil ODS-SP 5 μm , 4.6 mm \times 250 mm, S/N 7F192658, GL Sciences Inc.)。

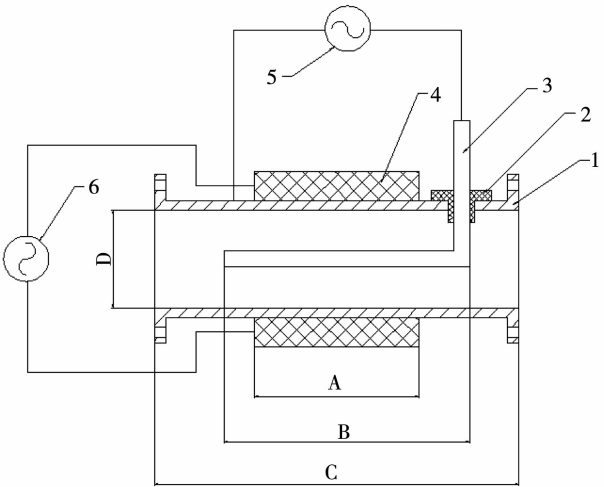
1.1.3 电磁裂解装置的原理结构 采用自主研制的电磁裂解装置包括粉碎机、可变速循环泵和电场处理器,每一部件均为可拆卸安装,结构如图 1 所示。粉碎机借助管道连接可变速循环泵,连接管道上设有阀门,循环泵将裂解物输送至电场处理器以引发裂解反应,可控制时间将裂解物从一端连续循环输送至另一端。

电场处理器为电磁裂解装置的核心部件,为正弦交流电,由固定于电场处理器储料罐外壁的电极和储料罐内中央的条状电极组成,结构如图 2 所示。待裂解物流过筒体 1 时受到电极 3 和筒体及电源 5 构成的电场作用,以及由电源 6 和线圈 4 构成的磁场作用。电源 5 为频率可变的交流电,其频率范围为 $3 \times 10^3 \sim 3 \times 10^9$ Hz,电源 6 的频率是电源 5 的 10%,电源 6 的电压是电源 5 的 10%,且频率和电压随着电源 5 变化而改变。电源 5 的频率从 $3 \times 10^3 \sim 3 \times 10^9$ Hz 分成 9 个频段,即频率 $f_i = 3 \times 10^3, 3 \times 10^4, 3 \times 10^5, 3 \times 10^6, \dots, 3 \times 10^9$ 。电源不同频段作用时间不同,每个频段的作用时间 $t_i = 10^{-2} \times f_i$,从低频到高频循环。电源 5 有 3 个电压,分别是 $1 \times 10^4, 3 \times 10^4$ 和 6×10^4 循环变换,循环周期与频率相同。



1、3、4 和 6: 阀门; 2: 电场处理器; 5: 粉碎机; 7: 可变速循环泵。
1, 3, 4 and 6: Valve; 2: Electric field processor; 5: Mill; 7: Circulating pump with variable velocity.

图 1 电磁裂解装置的结构示意图
Fig. 1 Schematic diagram of theelectromagnetic cracking device



1: 筒体; 2: 绝缘密封座; 3: 电极; 4: 线圈; 5 和 6: 电源; A, B, C, D 分别为电场处理器中线圈、电极、筒体纵向和筒体横向的相对长度。
1: Cylinder; 2: Insulated seating; 3: Electrode; 4: Coil; 5 and 6: Power supplies; A, B, C, D are the relative lengths of the coil, the electrode, the coil longitudinal and the coil transverse of the electric field processor, respectively.

图 2 电场处理器的结构示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the electric field processor

1.2 方法

1.2.1 试验设计 黄豆和黑豆分别取 7 份(各 300 g),再分别加入 880 mL 水浸泡 15 h,并依次将豆子和水倒入电磁裂解装置加水至 14 L,其中一份不电磁裂解仅粉碎 2 min,其余 6 份分别电磁裂解 2, 10, 20, 40 min、1 和 2 h,将 7 份电磁裂解后的样品分别冷冻干燥待测大豆异黄酮含量。

1.2.2 异黄酮的提取和检测

(1)异黄酮的提取

分别准确称取上述 7 份冻干的电磁裂解样品,依次放在棕色小瓶中,加入荧光素溶液($0.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),再加入 80% 甲醇,封口。加冰袋控制温度稳定在(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,超声 1 h。将以上 7 个样品分别以 $7\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,将上清液转移至圆底烧瓶,低压旋转蒸发至 2 mL 左右,转移至 5 mL 容量瓶,加入 80% 甲醇定容混匀。用 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 针式滤器过滤后进高效液相分析。

(2)异黄酮的检测

1220 高效液相色谱仪(安捷伦),VWD 检测器,色谱柱(5020-02746 Inertsil ODS-SP $5\text{ }\mu\text{m}$, $4.6\times250\text{ mm}$, S/N 7FI92658, GL Sciences Inc.);检测波长:262 nm;柱温: 30°C ;进样量: $10\text{ }\mu\text{L}$;流速: $0.8\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;流动相由 0.1% 乙酸(A)和 0.1% 乙酸的乙腈溶液(B)组成,采用梯度洗脱,洗脱程序为:0~50 min, B:12%;50~52 min, B:12%~17%;52~72 min, B:17%;72~74 min, B:17%~26%;74~96 min,

B:26%~36%;96~110 min, B:36%~45%;110~120 min, B:45%~90%;120~130 min, B:90%;130~131 min, B:90%~12%;131~150 min, B:12%。以荧光素作为内标物,配置 6 种大豆异黄酮溶液并稀释绘制标准曲线,根据样品的峰面积以及内标物峰面积和标准曲线计算每种异黄酮含量。

1.3 数据分析

数据用 Origin 8.0 绘图并分析。

2 结果与分析

2.1 电磁裂解法提取黑豆和黄豆异黄酮含量分析

将黑豆与黄豆进行电磁裂解处理后,进行高效液相分析,从色谱图相应保留时间对照 6 种异黄酮标准品图谱,可看出黑豆与黄豆样品均含有 6 种大豆异黄酮(图 3)。根据高效液相色谱图计算的黄豆与黑豆各大豆异黄酮含量(表 1)。黑豆和黄豆经过不同时间电磁裂解处理,任一种葡萄糖苷型异黄酮或苷元类异黄酮含量均不相同,说明样品中大豆异黄酮的含量随电磁裂解时间的不同而改变。

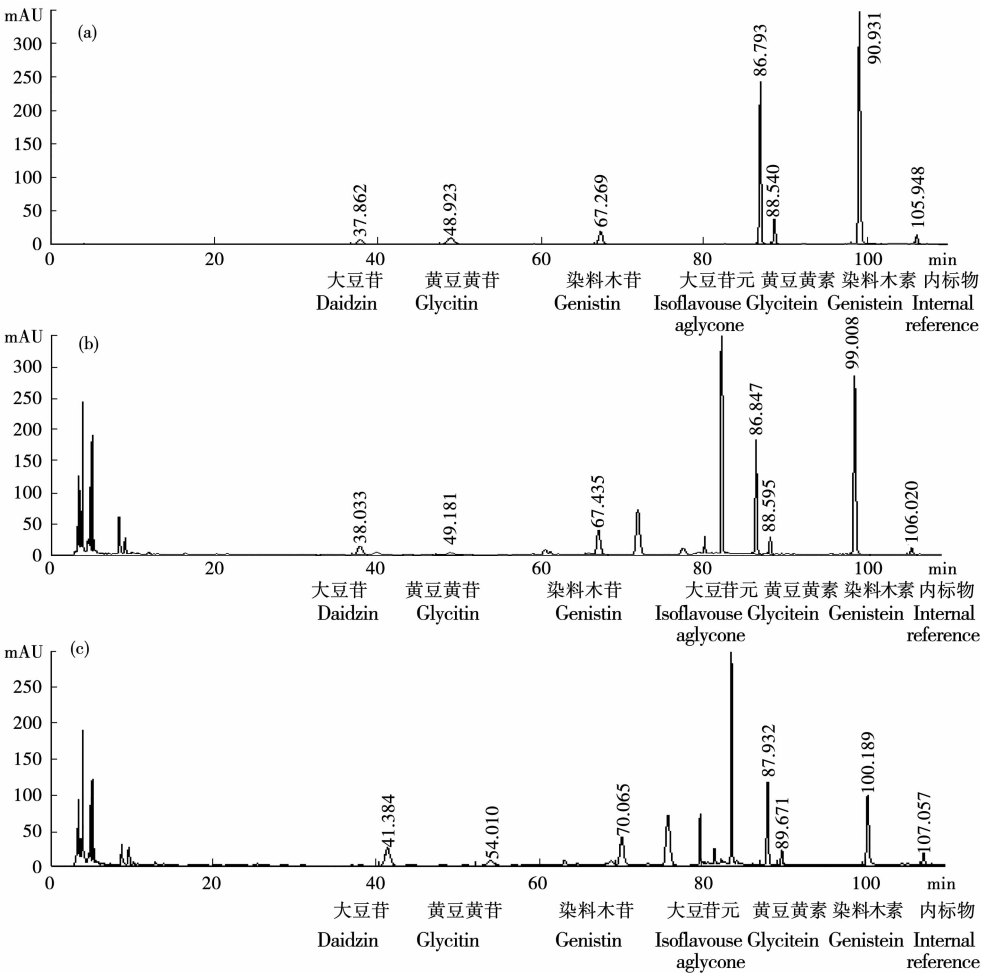


图 3 混合标准品(a)、黄豆(b)和黑豆(c)分别电磁裂解 2 min 所得样品的色谱图

Fig. 3 The chromatograms of the mixed standard solution (a), the soybean sample (b) and the black bean sample (c) which are electromagnetically cracked for 2 min, respectively

表 1 各电磁裂解样品大豆异黄酮含量

Table 1 The content of soybean isoflavones of the electromagnetically cracked beans

($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)

样品 Variety	处理 Treatment	苷元类异黄酮 Aglycone isoflavone			葡萄糖苷型异黄酮 Glycoside isoflavone		
		大豆苷元	黄豆黄苷	染料木苷	大豆苷	黄豆黄素	染料木素
		Isoflavouse aglycone	Glycitin	Genistin	Daidzin	Glycitein	Genistein
黄豆 Soybean	粉碎组 Smashed sample group	85. 2984	28. 1338	135. 2900	169. 6394	23. 8394	203. 7555
	2 min	24. 6533	50. 4922	41. 3015	271. 5007	39. 0624	296. 4824
	10 min	62. 4286	23. 0053	101. 7605	201. 9495	28. 8045	237. 2757
	20 min	57. 4979	21. 6883	95. 2272	217. 9184	31. 4906	261. 3399
	40 min	104. 5095	25. 3408	128. 3781	133. 8996	19. 0313	163. 6131
	1 h	73. 5985	21. 5261	93. 7872	388. 3520	59. 0615	442. 9743
	2 h	144. 2268	26. 5927	196. 4747	432. 7661	69. 2775	402. 8940
黑豆 Black bean	粉碎组 Smashed sample group	98. 3132	43. 2064	170. 1865	144. 3232	63. 5878	243. 3365
	2 min	106. 2263	51. 0303	208. 7332	248. 4159	70. 4019	312. 7653
	10 min	112. 5777	36. 5008	268. 2072	218. 3935	30. 7541	373. 5774
	20 min	88. 9721	31. 2454	173. 7382	98. 6659	30. 2885	133. 5673
	40 min	87. 1650	29. 7065	171. 1305	167. 5792	13. 2158	164. 1916
	1 h	151. 4512	46. 5422	248. 4213	442. 3173	94. 8528	483. 6622
	2 h	147. 0946	41. 8107	214. 1014	417. 3045	64. 4997	453. 2175

经过相同时间电磁裂解处理的黑豆与黄豆,无论是葡萄糖苷型异黄酮含量还是苷元类异黄酮含量,整体上表现为黑豆高于黄豆。经过电磁裂解处理 2 min 的样品大豆苷元类异黄酮含量明显高于粉碎 2 min 的样品,说明该电磁裂解法可有效地提取苷元类异黄酮,同时几乎所有样品中的葡萄糖苷型异黄酮含量均低于对应的苷元类异黄酮含量,这也体现出电磁裂解技术在提取大豆苷元类异黄酮方面的优势。

2.2 不同裂解时间对大豆异黄酮含量的影响

各处理样品中大豆苷元、黄豆黄素、染料木素的量随时间变化情况如图 4 所示,随电磁裂解时间的增长,黑豆与黄豆苷元类异黄酮含量出现先增加后减少的趋势,电磁裂解时间在 80 min 左右,3 种苷元含量均达到最大值,黑豆大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的含量分别为 570,137 和 625 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,黄豆的大豆苷元、黄豆黄素和染料木素的含量分别为 545,90 和 615 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,黑豆的苷元类异黄酮含量的最大值明显高于黄豆。

由图 5 可知,黑豆 3 种葡萄糖苷型异黄酮含量

也是随着电磁裂解时间的增长先增加后减小,同样在 80 min 左右,3 种葡萄糖苷型异黄酮含量均达到最大值,黑豆的大豆苷、黄豆黄苷和染料木苷的含量分别为 184,55 和 273 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,而黄豆 3 种葡萄糖苷型异黄酮含量随着电磁裂解时间的增加含量增大,为此将电磁裂解时间延长,又分别做了电磁裂解 3 和 4 h 的电磁裂解处理。如图 5 所示,将电磁裂解时间增加到 4 h 时,黄豆的 3 种葡萄糖苷型异黄酮含量随电磁裂解时间的增加出现先增加后减小的趋势,电磁裂解时间在 130 min 左右,大豆苷、黄豆黄苷和染料木苷的含量均达最大值,分别为 154,27 和 219 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。对于相同的葡萄糖苷型异黄酮来说,黑豆的含量明显高于黄豆。与黄豆不同的是随着电磁裂解时间从 3 h 延长,黑豆中各异黄酮含量未出现增加的趋势,呈现减小的现象。

结合图 4 和 5 以及表 1,可看出随着电磁裂解时间的增加大豆异黄酮含量增加,增加到一定值后随着电磁裂解的延长含量反而下降,很可能是大豆在长时间电磁场作用下生成的某种异黄酮转化为其它类异黄酮而使含量降低。

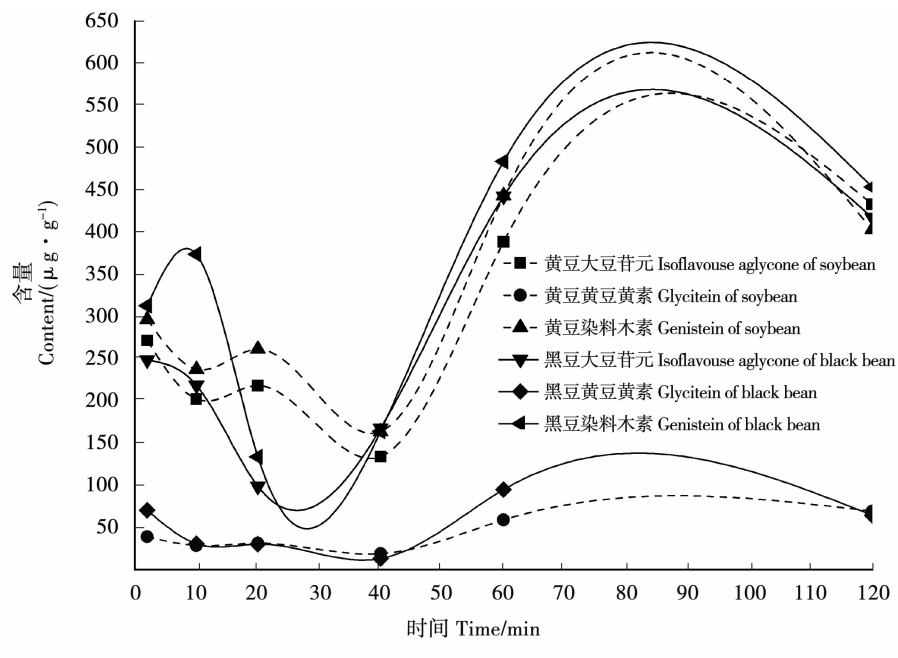


图 4 电磁裂解样品中大豆苷元、黄豆黄素、染料木素的量随时间变化曲线
Fig. 4 Relation curves between the contents of isoflavouse aglycone, glycitein, genistein and the electromagnetic cracking time for the sample

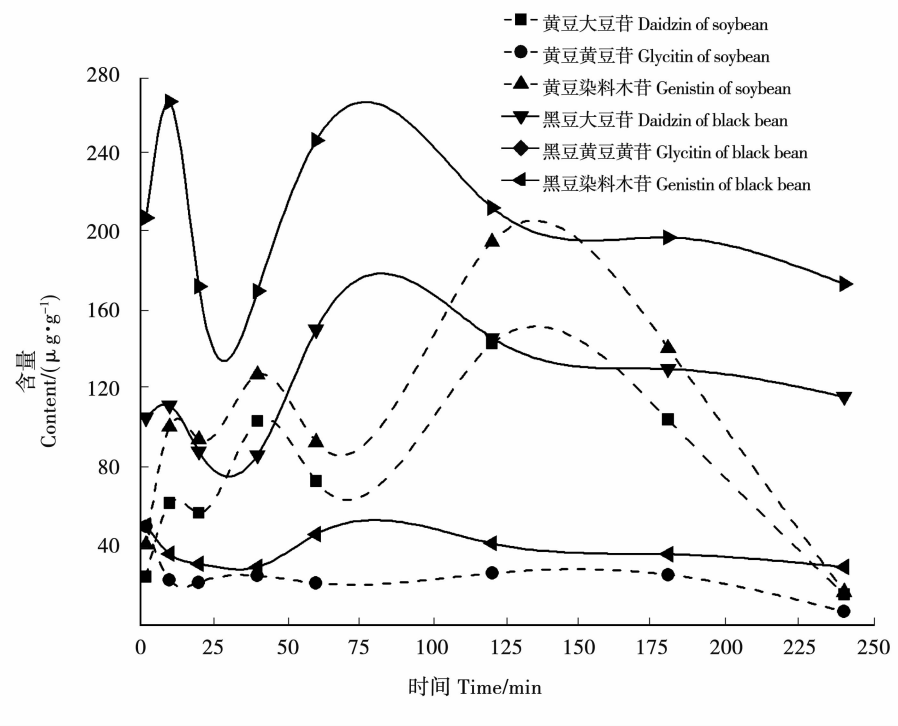


图 5 电磁裂解样品中大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷的量随时间变化曲线
Fig. 5 Relation curves between the contents of daidzin, glycitin, genistin and the electromagnetic cracking time for the sample

3 讨 论

大豆异黄酮具有抗氧化剂、预防癌症、抗癌性能等药理学活性。同时,因其与雌激素结构相似,大豆异黄酮还具有预防骨质疏松、心血管疾病的雌激素活性^[13-16]。目前关于大豆异黄酮的提取方法

中均需加入一定的化学试剂^[17],本文通过电磁裂解技术提取大豆异黄酮,该操作在常温下进行,特别适用于对热不稳定物质的提取;提取过程不添加任何化学物质,绿色环保,无污染;整个过程可连续多次循环进行,易自控、占地面积小。电磁裂解处理的黑豆与黄豆基本每一种葡萄糖苷型异黄酮含量

均低于对应的苷元类异黄酮含量,该电磁裂解技术对于苷元类异黄酮的提取效果较好,可富集大豆苷元类异黄酮。相关研究表明大豆苷元类异黄酮成分是异黄酮发挥药理作用的主要结构,而葡萄糖苷型异黄酮成分在体内转化成苷元形式后才会发挥药理作用^[18],所以在药理学活性方面该电磁裂解法具有一定的优势。

4 结 论

本文采用电磁裂解方法对黑豆与黄豆进行裂解处理,提取大豆异黄酮,结果表明,不论是黑豆还是黄豆,经过电磁裂解的样品大豆苷元类异黄酮含量较未经电磁裂解的样品高,且电磁裂解时间对大豆异黄酮含量影响较大,提取黑豆和黄豆苷元类异黄酮的最佳时间大约均是 80 min,提取黑豆葡萄糖苷结合型异黄酮的最佳时间也是 80 min 左右,而提取黄豆葡萄糖苷结合型异黄酮的最佳时间约是 130 min。黄豆与黑豆虽都含有大豆异黄酮,但二者含量有明显差异,相同电磁裂解时间,黑豆各异黄酮类含量明显高于黄豆。

参考文献

[1] 朱怡霖,张海生,杨淑芳,等. 18 种大豆多酚含量组成及抗氧化活性分析[J]. 食品与发酵工业, 2017, 43(1):241-245. (Zhu Y L, Zhang H S, Yang S F, et al. Comparisons of phenolic composition and antioxidant activity in 18 different varieties of soybean[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(1): 241-245.)

[2] 周三,关崎春雄,岳旺,等. 野生大豆、黑豆和大豆的异黄酮类成分比较[J]. 大豆科学,2008, 27(2): 315-319. (Zhou S, Guanqi C X, Yue W, et al. Comparison of isoflavones among wild, black and yellow soybeans[J]. Soybean Science, 2008, 27(2): 315-319.)

[3] Naim M, Gestetner B, Bondi A, et al. Antioxidative and antihe-molytic activity of soybean isoflavone[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1976, 22: 806-811.

[4] Caragay A B. Cancer-preventive foods and ingredients[J]. Food Technology, 1992, 46: 65-68.

[5] Weidenborner M, Hindorf H, Jha HC, et al. Antifungal activity of isoflavones in different reduced stages on Rhizoctonia solani and Sclerotium rolfsii[J]. Phytochemistry, 1990, 29: 801-803.

[6] Kao T H, Lu Y F, Hsieh H C, et al. Stability of isoflavone gluco-sides during processing of soymilk and tofu[J]. Food Research In-

ternational, 2004, 37: 891-900.

[7] Wally-Vallim A P, Vanier N L, Zavareze E R, et al. Isoflavone aglycone content and the thermal, functional, and structural prop-erties of soy protein isolates prepared from hydrothermally treated soybeans [J]. Journal of Food Science, 2014, 79 (7): 1351-1358.

[8] 孔书敬,殷丽君,李笑梅,等. 对传统大豆制品种大豆异黄酮生理活性的评价[J]. 哈尔滨商业大学学报, 2002, 18 (1): 107-109. (Kong S J, Yin L J, Li X M, et al. Evaluation on the physiological activity of soybean isoflavone in traditional soybean products[J]. Journal of Harbin University of Commerce Natural Science Edition, 2002, 18 (1): 107-109.)

[9] Borivoj K, Radka M, Vojtech A, et al. Liquid chromatographic-mass spectrometric determination of genistin and daidzin in soy-bean food samples after accelerated solvent extraction with modified content of extraction cell[J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 5 (17): 1-11.

[10] Kao T H, Chen B H. An improved method for determination of isoflavones in soybean powder by liquid chromatography[J]. Chromatographia, 2002, 56: 423-430.

[11] 郭婕,刘中华,袁淑培,等. 黑豆中大豆异黄酮微波提取工艺的优化[J]. 食品工业科技, 2015, 36(5): 255-257. (Guo J, Liu Z H, Yuan S P, et al. Optimization of microwave- assisted ex-traction technology of soybean isoflavones from black soybean[J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(5): 255-257.)

[12] Hemwimon S, Pavasant P, Shotipruk A. Microwave-assisted ex-traction of antioxidative anthraquinones from roots of morinda citri-folia [J]. Separation and Purification Technology, 2007, 54: 44-50.

[13] Naim M, Gestetner B, Bondi A, et al. Antioxidative and antihe-molytic activity of soybean isoflavone[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1976, 22: 806-811.

[14] Caragay A B. Cancer-preventive foods and ingredients[J]. Food Technology, 1992, 46: 65-68 .

[15] Anderson J W, Johnstone B M, Cook-Newell M E. Meta-analysis of the effects of soybean protein intake on serum lipids[J]. The New England Journal of Medicine, 1995, 333: 276-282 .

[16] Yoshiki Y, Kudou S, Okubo K. Relationship between chemical structure and biological activities of triterpenoid saponin from soy-bean[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 1998, 62: 2291-2299.

[17] 王雅洁,陈新,贾艾玲,等. 大豆异黄酮不同处理方法对比研究[J]. 吉林中医药, 2017, 37(6): 617-621. (Wang Y J, Chen X, Jia A L, et al. Comparative study on different treatment meth-ods of soybean isoflavone[J]. Jilin Journal of Chinese Medicine, 2017, 37(06): 617-621.)