



大豆异黄酮提取方法研究进展

石文茜, 孔凡江, 刘宝辉, 芦思佳

(广州大学 生命科学院, 广东 广州 510006)

摘要:大豆异黄酮是大豆生长过程中的次级代谢产物,属于多酚类化合物,主要分布在籽粒中,具有天然性和安全性,能够预防及治疗癌症、糖尿病、心血管疾病、骨质疏松等疾病,受到营养学、医学、食品科学等领域研究者的广泛关注。提取方法是影响大豆异黄酮含量和组成研究的关键因素,目前常用的提取方法包括溶剂浸提法、超声波辅助提取法、微波辅助提取法、酶解制备法、超临界流体萃取法等。随着工业化进程的加快,进一步开发绿色无污染、低成本、高效高产的大豆异黄酮提取工艺成为亟待解决的问题。本文就大豆异黄酮提取方法的研究现状进行综述,旨在为大豆异黄酮今后的开发利用提供参考依据。

关键词:大豆异黄酮;提取方法;影响因素;优缺点;展望

Research Progress on Extraction Methods of Soybean Isoflavone

SHI Wen-qian, KONG Fan-jiang, LIU Bao-hui, LU Si-jia

(School of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China)

Abstract: Soybean isoflavone is a secondary metabolite during the growth of soybeans. As a type of polyphenolic compound, it mainly distributed in the seeds, which are natural and safe. It can prevent and cure, diabetes, cardiovascular disease, osteoporosis and so on. Therefore, soybean isoflavones have long captured the interests from researchers in the fields of nutrition, medicine and food science. Extraction method is a key factor affecting the content and composition research of soybean isoflavones. At present, the extraction methods of soybean isoflavone includes solvent extraction, ultrasonic-assisted extraction, microwave-assisted extraction, enzymatic preparation method, and supercritical fluid extraction, and so on. By the speeding up of the industrialization, the development of soybean isoflavone extraction process in a green, pollution-free, low-cost, high-efficiency and high-yield way has become an urgent problem need to be solved. Herein, we preliminarily reviewed the research status of soybean isoflavone extraction methods in order to provide a reference for the future developments of soybean isoflavones.

Keywords: soybean isoflavones; extraction method; influence factors; advantages and disadvantages; prospect

植物的代谢物可以分为初级代谢物和次级代谢物。初级代谢物在植物生长和生存中发挥重要作用,而次级代谢物能够帮助植物抵御食草动物、病原微生物以及各种非生物胁迫^[1]。大豆含有蛋白质、维生素、矿物质以及多种生物活性物质,使其兼具美味和营养价值,常被加工成不同类型的豆制品以供食用,在全球的食品领域消费中占据重要地位^[2-4]。大豆中一些具有特殊功效的次生代谢物已经引起人们的关注,其中包括一类具有酚羟基结构单元的化合物——多酚。多酚是植物中最常见和分布最广泛的一类次生代谢产物,目前已经明确的多酚有 8 000 多种化合物,根据其碳骨架的不同,可分为酚酸、二苯乙烯、木脂素、鞣花酸和黄酮类^[5]。其中黄酮类化合物是最大的一类,泛指两个苯环通过 3 个碳原子相互连接而成的一系列化合物的总称,具有 C₆-C₃-C₆ 这 3 个环组成的基本骨架。根据母核中 C₃ 结构的氧化程度、2-位或 3-位的位置能

否成环等可分为花青素、黄烷醇、查尔酮、黄烷酮、黄烷醇、黄酮和异黄酮 7 个亚类^[6]。

大豆异黄酮(Soybean Isoflavones, SI)与雌激素具有相似的结构,可以应用于食品、药品开发,具有预防包括乳腺癌和前列腺癌等激素依赖性癌症、骨质疏松、心血管疾病、糖尿病以及缓解更年期相关症状等功效^[7-8],因此得到广泛关注。大豆异黄酮主要分布在籽粒中,包括 3 种游离型异黄酮苷元(大约为异黄酮总量的 2% ~ 3%)以及 9 种结合型异黄酮糖苷(大约为异黄酮总量的 97% ~ 98%)。其中,3 种游离型异黄酮苷元包括大豆苷元、染料木苷元和黄豆苷元;根据糖苷结构不同,9 种结合型异黄酮糖苷分为 3 种形式:葡萄糖苷型(大豆黄素、黄豆苷、染料木素),乙酰基葡萄糖苷(乙酰基大豆苷、乙酰基黄豆苷、乙酰基染料木苷)和丙二酰基葡萄糖苷(丙二酰大豆苷、丙二酰黄豆苷、丙二酰染料木苷)^[9-10]。大豆异黄酮苷元具有多酚羟基结构,可发

收稿日期:2021-12-27

基金项目:国家自然科学基金(32022062)。

第一作者:石文茜(1992—),女,硕士研究生,主要从事大豆多酚类营养物质研究。E-mail:471482507@qq.com。

通讯作者:芦思佳(1986—),女,博士,教授,主要从事大豆分子遗传学研究。E-mail:lusijia@gzhu.edu.cn。

生还原反应,糖苷态的大豆异黄酮具有热不稳定性,丙二酰基和乙酰基在加热条件下会向葡萄糖苷形式异黄酮转化^[11]。大豆异黄酮的提取方法主要包括溶剂浸提法、超声波辅助提取法、微波辅助提取法、酶解制备法、超临界流体萃取法等。大豆异黄酮的提取方法影响大豆异黄酮的含量、组成及稳定性。本文总结大豆异黄酮提取工艺的研究现状及其优缺点,以期对今后大豆异黄酮的进一步开发利用提供理论依据。

1 溶剂浸提法

1.1 主要原理

溶剂浸提法采用适当的溶剂将固体样品中的可溶性物质溶解于其中而实现分离,又称为固液萃取。大豆异黄酮是多羟基化合物,易溶于水、醇类、酮类、酯类和醚类等溶剂,其中有机溶剂是异黄酮的最佳提取溶剂^[12]。

1.2 提取溶剂的研究进展

1.2.1 混合溶剂 早在 80 年代初,Murphy^[13]和 Eldridge^[14]分别利用不同的提取剂提取异黄酮,发现酸化的乙腈和 80% 甲醇是最佳提取溶剂。随着异黄酮中更多种糖苷被鉴定出来,Murphy 等^[15-16]进一步发现酸化的 83% 乙腈溶液中加入一定量的水可以提高提取能力,而其中高出的提取量可能是由于丙二酰葡萄糖苷或糖苷异黄酮转化为了苷元,但提取效率可能并没有提高。Lin 等^[17]将 3 种不同极性(83% 乙腈、80% 甲醇和 58% 乙腈)和 2 种不同酸度(酸化和未酸化)溶剂两两组合,构成了 6 种不同的混合提取溶剂,揭示较高极性且未酸化的混合提取溶剂的提取效率最高。

1.2.2 不同混合溶剂的提取效果 提取溶剂的不同会导致所提取的大豆异黄酮形态不同,最终决定其活性。Yoshiara 等^[18]以甲醇、丙酮、乙醇和水为溶剂成分,基于单纯形—重心设计方法设置 15 组混合溶剂,结果发现,极性三元混合物(水、丙酮和乙腈)对于糖苷异黄酮的提取效果最好;水、丙酮和乙醇的混合物能更好地提取丙二酰糖苷;水和丙酮的混合物提取苷元异黄酮的效果最好;而水、丙酮和乙醇的三元混合物提取总异黄酮的效果最好。

1.2.3 工业生产上的首选萃取剂 由于甲醇、丙酮和乙腈等有机溶剂毒性相对较强,价格较贵,后期步骤繁琐,导致成本较高,不适合大规模生产。因此综合考虑操作安全性、毒性和成本等因素,乙醇就成为工业生产上的首选萃取剂^[19]。

1.3 影响提取效率的主要因素及提取工艺优化

1.3.1 影响提取效率的主要因素 影响提取效率的主要因素包括温度、时间、溶剂浓度、料液比和原料细度等。温度和溶剂浓度是影响提取率的最重要因素。提高温度可以缩短提取时间,并增加回收率;料液比增加虽然能提高回收率,但同时也导致提取剂的用量和生产过程中的能耗增加,降低物料的易搅拌性;原料细度越大,回收率越高,但增幅不大。乙醇浓度和提取温度是影响回收率的主要因素^[20]。Murphy 等^[15-16]研究表明乙醇提取异黄酮的过程中,提取温度与提取效率显著正相关,但是温度超过一定阈值后,效率趋于平缓。

1.3.2 豆脐中异黄酮提取工艺的优化 大豆异黄酮的提取工艺因大豆部位的不同而异。豆脐是异黄酮含量最多的部位,豆脐中糖分、蛋白质等水溶性化合物的含量与籽粒不同,其提取最优条件也不尽相同。周文红等^[21]使用乙醇提取豆脐中的异黄酮,指出不同因素对异黄酮提取率影响由大到小的顺序为:提取温度 > 提取时间 > 料液比 > 乙醇浓度。并提出豆脐异黄酮溶剂浸提法的最佳工艺参数为:提取温度 80 ℃,提取时间 1.5 h,乙醇浓度 80%,液比 1:35 (g:mL),大豆异黄酮的总浸提率达到约 10.88 mg·g⁻¹。

1.4 主要优缺点

溶剂浸提法由于操作简单、设备要求低、成本低廉等优点成为目前较为常见的大豆异黄酮提取方法,但由于有机溶剂毒性相对较强、试剂消耗量大、提取时间长、提取效率低,且后期有机溶剂成分去除步骤繁琐等问题,不适合大规模生产使用。

2 超声波辅助提取法

2.1 主要原理

超声波辅助提取法是在溶液浸提法的基础上,利用不同的超声波在液体中产生空化气泡,空化气泡破裂时伴随着冲击波的爆发,振动击碎植物细胞壁,加快植物细胞内有效成分与溶剂的接触面积,实现快速且充分融合,从而达到分离提取的目的。与传统溶液浸提法相比,超声波辅助有机溶剂提取法显著提高了大豆异黄酮的提取效率^[22]。

2.2 影响提取效率的主要因素及提取工艺优化

2.2.1 主要影响因素 超声波辅助提取法提取效率的影响因素包括提取溶剂、超声时间、提取温度、物料粉碎度及料液比等。与单一溶剂相比,利用有机溶剂与水的混合物能够提高超声波提取效率^[23]。王双侠等^[24]研究发现各因素对黑豆中大豆异黄酮提取率影响的大小顺序为乙醇浓度 > 超声时间 >

提取温度 > 物料粉碎度,其中乙醇浓度对黑豆异黄酮提取率有显著影响,其它3个因素影响不显著。Rostagno 等^[23]发现在一定温度范围内,温度升高,提取效率增加,当温度升高至 50 ℃ 时,提取效率最高,可能是因为温度升高能够增加空化气泡的形成,加大冲击波出现的概率^[25-27]。张红波等^[28]通过响应面分析法得出大豆异黄酮的最佳提取工艺条件为:超声波功率 72.17% (总功率 160 W),温度 69.92 ℃,时间 41.10 min,料液比 1:26.51 (g:mL),在此条件下大豆异黄酮的提取率可以达到 3.94 mg·g⁻¹。

2.2.2 不同大豆原料对大豆异黄酮提取率的影响
应用超声波辅助提取法可从生产大酱及酱油的酱渣饼、大豆、豆粕以及发酵豆粕等材料中提取大豆异黄酮。王丽娟等^[29]以生产大酱及酱油的酱渣饼作为原料,采用单因素试验及正交试验确定超声波辅助乙醇提取剂提取大豆异黄酮的最佳工艺,乙醇体积分数 50%,提取温度 70 ℃,料液比 1:25 (g:mL),超声功率 350 W,提取时间 40 min,此条件下大豆异黄酮的提取率达到 0.41%。榨油后剩余的豆粕作为一种高蛋白质,是目前制作饲料的主要原材料,张晓峥等^[30]利用超声波法提取大豆、豆粕以及发酵豆粕中的大豆异黄酮,并最终明确发酵豆粕中大豆异黄酮含量达到 3.27 mg·g⁻¹,分别是豆粕及大豆中含量的 1.76 和 1.26 倍,为大豆异黄酮的提取原材料开发提供了新的思路。

2.3 主要优缺点

超声波辅助有机溶剂提取法与一般溶剂提取法相比,不仅减少了有机试剂消耗量及对环境造成的污染,同时还提高了提取效率,提取时间 10 min 即可以获得较高提取效率^[31],但超声机器耗能大,且由于超声作用有效区间有限,应用于工业上大型容器生产时,可能由于出现超声空白区而降低提取效率。

3 微波辅助提取法

3.1 主要原理

与超声波的空化效应、热效应和机械效应相比,微波具有内加热作用,使体系的受热均匀,促进胞内温度和溶剂温度迅速升高到溶剂沸点,而且微波产生的交变电磁场能够使物料中极性分子相互碰撞和摩擦,增大细胞破碎的程度,加速目标物质的萃取,因此常用于固体和液体样品中有机化合物的痕量分析^[32],以及从食品中提取天然化合物,如黄酮类化合物、茶叶、葡萄籽和咖啡因中的多酚类化合物等^[33-35]。然而,采用此方法从大豆中提取异黄酮的报道较少。

3.2 影响提取效率的主要因素及提取工艺优化

微波辅助提取法提取大豆异黄酮效率的主要因素包括提取溶剂、微波功率、提取时间及料液比等。使用乙醇作为提取溶剂时异黄酮的提取效率明显高于使用甲醇。选择乙醇作为提取溶剂时,不同因素对大豆异黄酮提取效率影响大小的顺序为微波处理时间 > 料液比 > 微波功率 > 乙醇浓度^[36]。郭婕等^[37]研究表明,微波处理时间过短或者功率过小,细胞破碎不充分,影响提取效率,而微波处理时间过长或微波功率过大,会导致溶剂内部温度过高,异黄酮的成分遭到破坏,影响提取效率;料液比过低、溶剂与物料接触面积减少及料液比增加,虽然会促进溶剂与物料的接触面积,但是当料液比超过极值后,异黄酮溶解不充分,效率下降。最终得出黑豆豆芽异黄酮最佳提取工艺:料液比 1:25 (g:mL),微波功率 450 W,乙醇体积分数 50%,微波处理 4 min,提取率可达 0.595%。

3.3 微波-超声波辅助提取法及提取工艺优化

微波-超声波辅助提取法结合了微波的内加热作用以及超声波的空化作用,目前已经广泛应用到许多生物活性物质的提取工艺中^[38-39]。王明等^[40]以酱油渣为原材料,采用单因素试验及正交试验确定了微波-超声波协同提取酱油渣中大豆异黄酮的最佳工艺:乙醇体积分数 60%,料液比 1:35 (g:mL),提取功率 500 W,提取时间为 100 s,在此条件下大豆异黄酮的提取率为 0.652%。各因素对大豆异黄酮提取率的影响次序为微波功率 > 乙醇体积分数 > 提取时间 > 料液比。朱春燕等^[41]则以大豆芽为原材料,采用正交试验优化了大豆芽中大豆异黄酮的微波-超声波协同提取工艺,并确定乙醇溶液的体积分数对大豆芽异黄酮提取率的影响最大,且在最优工艺提取条件下大豆芽异黄酮的平均提取率达到 0.387%。

3.4 主要优缺点

微波辅助提取法具有通过均匀加热升高体系温度,加速目标物质萃取到溶剂中的特点,设备简单,提取效率高、速度快,有机溶剂用料少,对环境污染小,但由于微波可以使局部温度短时间内升高,操作时应当注意防护,同时过热也容易使热敏性物质变性失活。

4 超临界流体萃取法

4.1 主要原理

超临界流体是指处于超临界温度和超临界压力下,同时具备气体的流动性以及液体的高密度特

性的流体^[42]。超临界萃取的基本原理是在高于临界温度和临界压力的条件下,用超临界流体溶解出所需的化学成分,然后降低流体溶液的压力或升高流体溶液的温度,使溶解于超临界流体中的溶质因其密度下降,溶解度降低而析出,从而实现特定溶质的萃取。

4.2 超临界流体提取工艺研究进展

4.2.1 超临界流体的选择 CO₂是一种典型的超临界流体,处于超临界条件下的 CO₂是一种优良的溶剂,具有无色、无味、无毒、无污染、完全可回收、廉价且惰性 etc 特性,在应用的过程中,萃取的化合物在操作过程中不会发生化学变化,提取物无残留物等优点,被广泛应用到超临界流体萃取法中^[42]。

4.2.2 极性调节剂对提取效率的影响 CO₂作为常用的超临界流体,是非极性溶剂,在使用超临界流体萃取时需加入极性调节剂,增加液相的总极性,是提高提取效率最简单、最有效的方法^[43-44]。调节剂的选择和用量不同时可能会提取出非目标物质,导致总异黄酮的产率发生变化,而且萃取压力和 CO₂流量也是影响提取效率的关键因素。

甲醇和乙醇为常用的极性调节剂,但是由于甲醇作为提取剂时,剩余残渣不能用作饲料,考虑到综合利用价值以及成本和安全性,一般用乙醇作为调节剂^[45]。当选用乙醇作为调节剂时,乙醇调节剂的流速增大,染料木苷的萃出速率增加。但是如果乙醇的流量低,延长乙醇与提取样品的接触时间也有利于总量的提高。可见,选择乙醇作为调节剂时,高流量、减少接触时间,或者低流量、延迟接触时间,都可以提高提取效率^[46]。

4.3 主要优缺点

超临界流体萃取法具有绿色安全、提取效率高、提取物中溶剂残留少、能有效萃取热敏性及易氧化、易挥发物质等优点,但对于设备要求较高、耗能大、成本昂贵,不适用于工业化生产。

5 酶解制备法

5.1 主要原理

植物异黄酮制备时,由于细胞壁的束缚导致细胞内多酚类物质不易渗出,添加的酶类物质可作用于植物细胞间质与细胞壁,破坏细胞壁的致密结构,减小细胞间质和细胞壁等传质屏障对多酚等成分从胞内向提取溶剂里扩散的阻力,从而提高异黄酮类物质的提取效率^[47]。

5.2 水解异黄酮活性酶的研究进展

5.2.1 最佳活性酶的研究 目前发现的大豆异黄酮主要分为游离型苷元和结合型糖苷两大类,其中

游离型苷元更容易被人体吸收利用,因此近年来通过酶解结合型糖苷制备游离型苷元的研究屡见报道。大量的研究表明,多种 β -葡萄糖苷酶可以水解异黄酮^[47-48]。目前已经报道常用的水解异黄酮糖苷的酶包括 β -葡萄糖苷酶、 β -半乳糖苷酶和纤维素酶等^[49]。 β -葡萄糖苷酶是 2002 年由 Bhatia 等^[50]发现的,它可以水解酚类化合物和植物雌激素糖苷,从而提高生物活性^[51]。周文红等^[49]发现 β -葡萄糖苷酶对大豆异黄酮糖苷的水解效率以及苷元得率好于 β -半乳糖苷酶和纤维素酶,在采用 β -葡萄糖苷酶(300 U·g⁻¹)添加量 7%、底物质量浓度 1.6 mg·mL⁻¹、酶解温度 56 ℃、pH4.8、酶解时间 6 h 的提取工艺条件下,大豆异黄酮糖苷的水解率及苷元得率分别达到 96.84% 和 99.74%。

5.2.2 植物来源 β -葡萄糖苷酶水解大豆异黄酮工艺优化 郭天赐等^[52]研究表明,在豆浆中加入苦杏仁 β -葡萄糖苷酶后,酶量的增加、反应时间的延迟、酶解温度的适当调控都是有利于异黄酮糖苷向异黄酮苷元转化的因素。响应面优化试验得到以上 3 个因素的最佳组合为:在豆浆中添加苦杏仁 β -葡萄糖苷酶 1.4 U·(5 mL)⁻¹,酶解时间 40 min,酶解温度 46.0 ℃。此时测得大豆异黄酮的组成成分中染料木素、黄豆黄素和大豆苷元的含量分别为 38.64 ± 2.03, 5.12 ± 0.28 和 36.95 ± 1.67 μg·mL⁻¹。

5.2.3 微生物来源 β -葡萄糖苷酶水解大豆异黄酮工艺优化及稳定性分析 与以动植物为原料提取酶制剂的传统工艺相比,采用微生物发酵方法生产酶制剂因具有工艺简单、成本低、产量高、污染小等优势而脱颖而出。有研究发现,微生物来源的比植物来源的 β -葡萄糖苷酶具有更强的热稳定性、更宽的水解温度和更好的水解效果,且在常用的固定化模式中, β -葡萄糖苷酶利用重复率提高,反应过程更易控制^[51,53]。Yang 等^[54]2008 年发现分泌嗜热拟青霉素的真菌能够产生胞外 β -葡萄糖苷酶,该酶的纯化产物能够水解大豆异黄酮糖苷。随后, Yang 等^[55]进一步研究了该酶的热稳定性及其对大豆制品中异黄酮糖苷去糖基化的潜力,发现嗜热链球菌 β -葡萄糖苷酶的热稳定性明显提高,其在 50 ℃ 条件下孵育 8 h 后,仍保留 95% 以上的活性,在 60 ℃ 条件下孵育 8 h,仍能保留 70% 活性,因而更适合于工业生产。嗜热链球菌 β -葡萄糖苷酶水解大豆豆粉提取物和大豆胚芽提取物孵化 4 h 后,其提取物中异黄酮苷元的浓度分别增加了 38.3 和 30.6 倍,高于工业化水平常见的杏仁 β -葡糖苷酶的提取能力。

5.3 主要优缺点

酶解制备法由于具有反应条件温和、成本较低、产物得率高、操作简单、绿色环保等优点,适用于工业生产,但酶对反应温度及酸碱度敏感,过高的反应温度及不适宜的酸碱度均容易导致酶失活从而降低提取效率。

6 结语

大豆异黄酮的提取工艺已经相当成熟,但目前已经报道的大多数技术,如溶剂浸提法、超声波或者微波辅助提取法等依赖于毒性溶剂,提取的大豆异黄酮应用于食品或药品时,存在健康隐患。此外,环境污染大、成本高等因素限制了工业应用,也是亟待解决的问题。因此进一步探究大豆异黄酮类物质的提取工艺,在相对低廉的生产成本下提高大豆异黄酮的提取效率和产量、减少环境污染,是实现大豆异黄酮产业化的关键。

同时,大豆异黄酮作为植物激素参与癌症治疗的机制非常复杂,大豆异黄酮的摄入有可能会对长期食用大豆配方奶粉婴儿的生长发育及对雌激素敏感型乳腺癌患者产生不利影响^[56]。Hatono等^[57]也发现大豆异黄酮在肠道微生物群落作用下产生的代谢物,如雌马酚,在高浓度添加量时表现出抗肿瘤细胞增殖的作用,而在低浓度添加量时则表现出促进肿瘤细胞生长的现象。因此,关于大豆异黄酮的安全应用问题也仍需要更准确的数据支持。

参考文献

[1] MAZID M, KHAN T, MOHAMMAD F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants [J]. *Biology and Medicine*, 2011, 3(2): 232-249.

[2] ZHANG Y H, LIU M F, HE J B, et al. Marker-assisted breeding for transgressive seed protein content in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2015, 128(6): 1061-1072.

[3] 张东辉, 杨青春, 耿臻, 等. 有机大豆营养功效及栽培技术 [J]. *农业工程*, 2017, 7(2): 136-137. (ZHANG D H, YANG Q C, GENG Z, et al. Nutritional efficacy and cultivation techniques of organic soybean [J]. *Agricultural Engineering*, 2017, 7(2): 136-137.)

[4] 程莉君, 石雪萍, 姚惠源. 大豆加工利用研究进展 [J]. *大豆科学*, 2007, 26(5): 775-780. (CHENG L J, SHI X P, YAO H Y. Research progress on the progressing and utilizing of soybean [J]. *Soybean Science*, 2007, 26(5): 775-780.)

[5] PANDEY K B, RIZVI S I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease [J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2009, 2(5): 270-278.

[6] GHOSH D, SCHEEPENS A. Vascular action of polyphenols [J]. *Molecular Nutrition and Food Research*, 2009, 53(3): 322-331.

[7] SATHYAPALAN T, AYE M, RIGBY A, et al. Soy isoflavones improve cardiovascular disease risk markers in women during the early menopause [J]. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 2018, 28(7): 691-697.

[8] ABDELRAZEK H, MAHMOUD M, TAG H M, et al. Soy isoflavones ameliorate metabolic and immunological alterations of ovariectomy in female Wistar rats: Antioxidant and estrogen sparing potential [EB/OL]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019. DOI: 10.1155/2019/5713606.

[9] 廖维良. 异黄酮苷元超声辅助转化提取与制备及抗氧化活性研究 [D]. 广州: 广东药学院, 2013. (LIAO W L. Researches on the ultrasonic-assisted extraction and preparation and antioxidant activity of soybean isoflavone aglycones [D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2013.)

[10] 葛蔚, 李巧英, 李伟跃. 饲料添加剂大豆异黄酮的研究 [J]. *饲料研究*, 2004(10): 15-18. (GE W, LI Q Y, LI W Y. Research on feed additive soybean isoflavones [J]. *Feed Research*, 2004(10): 15-18.)

[11] 韩慧. 热处理后大豆异黄酮苷元转化分析与还原能力测定 [D]. 太原: 山西医科大学, 2010. (HAN H. Heat treated soybean and the transformation of soy isoflavones aglycone and the determination of reducing power [D]. Taiyuan: Shanxi Medical University, 2010.)

[12] HUTABARAT L S, GREENFIELD H, MULHOLLAND M. Isoflavones and coumestrol in soybeans and soybean products from Australia and Indonesia [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2001, 14(1): 43-58.

[13] MURPHY P A. Separation of genistin, daidzin and their aglucones, and coumesterol by gradient high-performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 1981, 211(1): 166-169.

[14] ELDRIDGE A C. Determination of isoflavones in soybean flours, protein concentrates, and isolates [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1982, 30(2): 353-355.

[15] MURPHY P A, SONG T, BUSEMAN G, et al. Isoflavones in retail and institutional soy foods [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47(7): 2697-2704.

[16] MURPHY P A, BARUA K, HAUCK C C. Solvent extraction selection in the determination of isoflavones in soy foods [J]. *Journal of Chromatography B*, 2002, 777(1-2): 129-138.

[17] LIN F, GIUSTI M M. Effects of solvent polarity and acidity on the extraction efficiency of isoflavones from soybeans (*Glycine max*) [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(10): 3795-3800.

[18] YOSHIARA L Y, MADEIRA T B, DELAROZA F, et al. Optimization of soy isoflavone extraction with different solvents using the simplex-centroid mixture design [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2012, 63(8): 978-986.

[19] 王铎. 大豆异黄酮基因 QTL 初步定位 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2017. (WANG D. Preliminary mapping of QTLs for soybean isoflavones [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2017.)

[20] 鞠兴荣, 袁建, 汪海峰. 大豆异黄酮提取工艺的优化 [J]. *中国粮油学报*, 2001(6): 17-19, 33. (JU X R, YUAN J, WANG H F. Optimization of extraction technology of soybean isoflavones [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2001

(6): 17-19, 33.)

[21] 周文红, 郭咪咪, 毕艳红, 等. 大豆豆脐中异黄酮的提取工艺优化[J]. 现代食品科技, 2020, 36(2): 218-223. (ZHOU W H, GUO M M, BI Y H, et al. Optimization of extraction technology of isoflavones from soybean umbilicus [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(2): 218-223.)

[22] 田琳, 尉震, 石军, 等. 超声波法在大豆异黄酮提取中的应用[J]. 科技创新导报, 2009(12): 111. (TIAN L, WEI Z, SHI J, et al. Application of ultrasonic method in extraction of soy isoflavones[J]. Science and Technology Innovation Herald, 2009 (12): 111.)

[23] ROSTAGNO M A, PALMA M, BARROSO C G. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones [J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1012(2): 119-128.

[24] 王双侠, 苏适, 柴宝丽. 黑豆中大豆异黄酮超声波法提取工艺优化[J]. 齐齐哈尔大学学报(自然科学版), 2021, 37(2): 70-72. (WANG S X, SU S, CHAI B L. Optimization of ultrasonic extraction on soy isoflavones from black beans [J]. Journal of Qiqihar University(Natural Science Edition), 2021, 37 (2): 70-72.)

[25] PANIWNKY L, BEAUFOY E, LORIMER J P, et al. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica* [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001, 8(3): 299-301.

[26] WU J, LIN L, CHAU F T. Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001, 8(4): 347-352.

[27] PALMA M, BARROSO C G. Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 458 (1): 119-130.

[28] 张红波, 孙婕, 申娟利, 等. 响应面法优化大豆异黄酮的提取工艺[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(24): 60-63. (ZHANG H B, SUN J, SHEN J L, et al. Study on isoflavones extracting from soybean by response surface analysis[J]. Food Research and Development, 2014, 35(24): 60-63.)

[29] 王丽娟, 张永忠, 张丽丽. 超声波辅助法提取大豆酱油饼中大豆异黄酮[J]. 中国油脂, 2009, 34(5): 52-55. (WANG L J, ZHANG Y Z, ZHANG L L. Ultrasound-assisted extraction isoflavone from soybean sauce cake [J]. China Oils and Fats, 2009, 34(5): 52-55.)

[30] 张晓峥, 邢蓬蕊, 张显香, 等. 发酵豆粕中大豆异黄酮的提取及含量测定[J]. 泰山医学院学报, 2015, 36(1): 57-60. (ZHANG X Z, XING P R, ZHANG X X, et al. The extraction and content determination of soybean isoflavones in the fermented soybean meal[J]. Journal of Taishan Medical College, 2015, 36 (1): 57-60.)

[31] ROSTAGNO M A, PALMA M, Barroso C G. Ultrasound-assisted extraction of isoflavones from soy beverages blended with fruit juices[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 597(2): 265-272.

[32] ESKILSSON C S, BJÖRKLUND E. Analytical-scale microwave-assisted extraction[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 902 (1): 227-250.

[33] GUO Z, JIN Q, FAN G, et al. Microwave-assisted extraction of effective constituents from a Chinese herbal medicine *Radix puerariae*[J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 436(1): 41-47.

[34] PAN X, NIU G, LIU H. Microwave-assisted extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza bunge* with analysis by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 922(1-2): 371-375.

[35] HONG N, YAYLAYAN V A, VIJAYA R G, et al. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from grape seed[J]. Natural Product Letters, 2001, 15(3): 197-204.

[36] ROSTAGNO M A, PALMA M, BARROSO C G. Microwave assisted extraction of soy isoflavones[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 588(2): 274-282.

[37] 郭婕, 胡利宗, 李俐俐, 等. 黑豆豆芽中大豆异黄酮微波提取工艺研究[J]. 大豆科学, 2015, 34(3): 493-496. (GUO J, HU L Z, LI L L, et al. Extraction technology of soybean isoflavones from black soybean sprouts using microwave-assisted extraction[J]. Soybean Science, 2015, 34(3): 493-496.)

[38] 陈珊珊, 宋冬晶, 葛鹏玲. 玉米须多糖的微波-超声波协同提取工艺优化探究[J]. 食品安全导刊, 2021(15): 142-145. (CHEN S S, SONG D J, GE P L. Study on the optimization of microwave-ultrasonic synergistic extraction process of corn silk polysaccharide [J]. China Food Safety Magazine, 2021 (15): 142-145.)

[39] 郑哲浩, 禹宸, 邱林燕, 等. 微波-超声波协同辅助提取紫苏精油工艺优化及抑菌活性的研究[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(1): 115-121, 141. (ZHENG Z H, YU C, QIU L Y, et al. Microwave-ultrasound assisted extraction process optimization of perilla essential oil and its antibacterial activity[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37 (1): 115-121, 141.)

[40] 王明, 李文, 王陶. 大豆异黄酮的微波-超声波协同提取及其抗氧化活性[J]. 食品工业, 2014, 35(2): 71-75. (WANG M, LI W, WANG T. Microwave-ultrasonic synergistic extraction and antioxidant activity of soybean isoflavone[J]. The Food Industry, 2014, 35(2): 71-75.)

[41] 朱春燕, 王飞霞, 李璐, 等. 大豆芽中异黄酮的超声波-微波协同提取及其抑菌活性分析[J]. 中国油料作物学报, 2017, 39(2): 245-252. (ZHU C Y, WANG F X, LI L, et al. Microwave-ultrasound assisted extraction of isoflavone from soybean sprouts and its antibacterial activity [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2017, 39(2): 245-252.)

[42] ALVAREZ M V, CABRED S, RAMIREZ C L, et al. Valorization of an agroindustrial soybean residue by supercritical fluid extraction of phytochemical compounds [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2019, 143: 90-96.

[43] MARSILI R, CALLAHAN D. Comparison of a liquid solvent extraction technique and supercritical fluid extraction for the determination of α - and β -carotene in vegetables [J]. Journal of Chromatographic Science, 1993, 31(10): 422-428.

[44] WOOD J A, BERNARDS M A, WAN W K, et al. Extraction of ginsenosides from North American ginseng using modified supercritical carbon dioxide [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2006, 39(1): 40-47.

[45] 杨奕博. 大豆异黄酮制备与提纯方法的研究[J]. 中国石油和化工标准与质量, 2013, 34(2): 25. (YANG Y B. Research on the preparation and purification methods of soybean isoflavones [J]. China Petroleum and Chemical Standard and Quality, 2013, 34(2): 25.)

[46] 潘利华, 罗建平. 大豆异黄酮超临界流体萃取工艺与动力学

模型[J]. 农业机械学报, 2010, 41(6): 137-141. (PAN L H, LUO J P. Process and kinetics of supercritical fluid extraction for soybean isoflavones[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(6): 137-141.)

[47] ISMAIL B, HAYES K. β -glycosidase activity toward different glycosidic forms of isoflavones[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(12): 4918-4924.

[48] SUZUKI H, TAKAHASHI S, WATANABE R, et al. An isoflavone conjugate-hydrolyzing β -glucosidase from the roots of soybean (*Glycine max*) seedlings: Purification, gene cloning, phylogenetics, and cellular localization[J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(40): 30251-30259.

[49] 周文红, 郭咪咪, 毕艳红, 等. 酶解制备苷元型大豆异黄酮[J]. 中国油脂, 2020, 45(12): 100-104. (ZHOU W H, GUO M M, BI Y H, et al. Preparation of soybean isoflavone aglycones by enzymatic hydrolysis[J]. China Oils and Fats, 2020, 45(12): 100-104.)

[50] BHATIA Y, MISHRA S, BISARIA V. Microbial β -glucosidases: Cloning, properties, and applications[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2002, 22(4): 375-407.

[51] 孙艳梅, 张永忠, 王伊强, 等. 大豆 β -葡萄糖苷酶水解大豆异黄酮糖苷的研究[J]. 中国粮油学报, 2006(2): 86-89. (SUN Y M, ZHANG Y Z, WANG Y Q, et al. Hydrolysis of soybean isoflavone glucosides by β -glucosidases from soybean[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2006(2): 86-89.)

[52] 郭天赐, 赵石磊, 刘石生. 苦杏仁 β -葡萄糖苷酶水解豆浆中大豆异黄酮的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(12): 82-88. (GUO T C, ZHAO S L, LIU S S. Study on the hydrolyzation of soybean isoflavone aglycones in soymilk by bitter almond β -glucosidase[J]. Food Research and Development, 2019, 40(12): 82-88.)

[53] 刘洋. 黄热厌氧芽孢杆菌云南亚种三种新型糖苷酶的鉴定及性质研究[D]. 合肥: 安徽大学, 2017. (LIU Y. Identification and characterization of three novel glucosidases from *Anoxybacillus flavithermus* subsp. *yunnanensis* E13^T[D]. Hefei: Anhui University, 2017.)

[54] YANG S, JIANG Z, YAN Q, et al. Characterization of a thermostable extracellular β -glucosidase with activities of exoglucanase and transglycosylation from *Paecilomyces thermophila*[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(2): 602-608.

[55] YANG S, WANG L, YAN Q, et al. Hydrolysis of soybean isoflavone glycosides by a thermostable β -glucosidase from *Paecilomyces thermophila*[J]. Food Chemistry, 2009, 115(4): 1247-1252.

[56] HELFERICH W, ANDRADE J, HOAGLAND M. Phytoestrogens and breast cancer: A complex story[J]. Inflammopharmacology, 2008, 16(5): 219-226.

[57] HATONO M, IKEDA H, SUZUKI Y, et al. Effect of isoflavones on breast cancer cell development and their impact on breast cancer treatments[J]. Breast Cancer Research and Treatment, 2021, 185(2): 307-316.

《大豆科学》正式加入 OSID 开放科学计划

《大豆科学》于 2019 年 8 月 1 日起正式加入 OSID(Open Science Identity)开放科学标识计划。将通过在文章上添加开放科学二维标识码(OSID 码),为读者和作者提供一个与业界同行和专家学术交流的平台,同时提供一系列增值服务,提升论文的科研诚信。

读者可以通过微信扫描论文的 OSID 码,在手机上听论文作者的语音介绍,可以看到论文的重点彩图和实验视频,也可直接与作者进行一对一的交流、关注作者的研究动向等。这些功能有助于读者深入了解该研究的实际状况与实现过程。

作者可以通过专属的 OSID 码对所著论文添加语音,介绍写作背景、动机、趣事以及研究灵感。添加无法在传统印刷出版展示的附加说明,以便更好地展现研究成果,拓展论文的传播方式。同时,通过 OSID 平台每位作者都能拥有所著论文的学术圈和问答,与读者进行交流互动。此外,作者还可以在学术圈发布感兴趣的话题、最新的研究观点、问题征集、学术推荐等,扩大作者自身的影响力,增强与读者的联系。