

超声波提取大豆异黄酮^{*}

谢明杰¹ 宋 明¹ 邹翠霞¹ 刘长江¹ 卢明春³ 金凤燮³

(1. 辽宁师范大学生物系, 大连 116029; 2. 沈阳农业大学 食品学院, 沈阳 110161;
3. 大连轻工业学院 食品工程与生物工程学院, 大连 116001)

摘要 利用超声波提取脱脂豆粕中的大豆异黄酮, 并与加热回流的提取方法进行比较。结果表明, 超声波法提取大豆异黄酮具有省时、节能、提取率高等优点, 提取一次, 30min 所得大豆异黄酮的提取率比加热回流法提取 120min 的提取率高约 46%, 与加热回流提取二次, 240min 的提取率一致。

关键词 超声波提取; 大豆异黄酮; 提取率

中图分类号 S 565.1 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2004)01-0075-03

大豆中含有的大豆异黄酮是一类重要的生理活性物质, 具有多种功能, 如抗肿瘤作用; 对血管的防护作用; 类似女性雌激素作用以及抗激素作用; 预防骨质疏松症; 较强的抗氧化活性和抗真菌活性等^[1-2]。据日本科研人员从免疫学调查和骨质密度与异黄酮摄取关系推算, 成人每日异黄酮摄入量至少应在 30—40mg。但自然界中异黄酮的资源十分有限, 在含量最高的大豆中所含的异黄酮也仅为 0.1%—0.5%^[3], 因此如何提高大豆异黄酮的提取率便显得非常重要。目前最常用的提取大豆异黄酮的方法是采用乙醇加热回流的方法, 为克服该法加热时间长, 杂质溶出物较多的缺点, 本文利用超声波(频率为 20KHz)从脱脂豆粕中提取大豆异黄酮, 并与乙醇加热回流提取方法进行比较。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 脱脂豆粕 由大连调味品厂提供

1.1.2 染料木素(Gen)标准品: 购自美国 Sigma 公司, 含量为 99.999%

1.1.3 主要仪器

日本岛津 PERKIN—ELMER Lambda 17 uv/vis Spectrophotometer JY99—2D 超声波细胞粉碎机; 宁波新芝仪器研究所

1.2 方法

1.2.1 乙醇加热回流法提取大豆异黄酮的最佳提

取条件及提取方法

通过单因素试验和正交试验, 乙醇加热回流法提取大豆异黄酮的最佳提取条件为: 乙醇浓度为 60%; 提取温度为 70℃; 提取次数为 2 次; 每次提取时间为 2 小时; 物料比为 20: 1。称取 5g 脱脂豆粕(粒度过 20 目筛), 加入 60% 的乙醇溶液 100ml, 在 70℃ 下回流提取 2h, 同法提取 2 次, 合并滤液, 定容后测定大豆异黄酮的含量。

1.2.2 超声提取大豆异黄酮的方法

称取 9 份 5g 脱脂豆粕(粒度过 20 目筛), 加入 60% 乙醇溶液 100ml, 分别用 20KHz 超声波提取 5、10、15、20、25、30、35 和 40 分钟, 定容后测定大豆异黄酮的含量。

1.2.3 标准曲线的制备

精密称取干燥至恒重的 Gen 标准品 1mg, 以 95% 乙醇溶解, 定容至 10ml, 精密吸取 0.1、0.3、

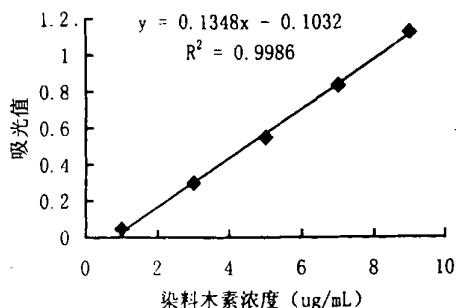


图1 染料木素标准品的标准曲线

Fig 1 Standard curve of standard gen

* 收稿日期: 2003—09—16

作者简介: 谢明杰(1963—), 女, 硕士, 现于沈阳农业大学攻读博士学位。

0.5、0.7、0.9ml 标准品溶液分别置于 10ml 容量瓶中,并各加 95%乙醇 1.0ml,再加蒸馏水稀释到刻度,摇匀。以 1ml 95%乙醇加水到 10ml 作空白对照,在 260nm 处测光密度,以测得的光密度值与纯品量所作的标准工作曲线见图 1。

1.2.4 大豆异黄酮的测定方法

精密吸取 0.5ml 样液,加 95 %乙醇 1.0ml,再加蒸馏水稀释至 10ml,摇匀。以 1ml 95%乙醇加水到 10ml 作空白对照,在 260nm 处测得光密度,根据标准曲线的回归方程,计算大豆异黄酮的提取率。

大豆异黄酮提取率(%)=
$$\frac{\text{提取液中大豆异黄酮总量}}{\text{所用脱脂豆粕量}} \times 100\%$$

表 1 超声波提取不同时间大豆异黄酮的提取率(%)

超声频率 (KHz) Ultrasonic frequency	提取时间 Extraction time (min)							
	5	10	15	20	25	30	35	40
20	0.324	0.366	0.387	0.405	0.436	0.452	0.453	0.452

酮的实验结果见表 2。结果显示,利用超声提取 30 min 所得大豆异黄酮的提取率比 120 min 加热回流

2 结果

2.1 标准曲线回归方程

Gen 的含量在 1—9mg 之间呈线性关系,其回归方程为: A=0.2696X-0.238 r=0.9986

2.2 超声波提取时间对大豆异黄酮提取率的影响

超声波处理不同时间测得的大豆异黄酮提取率见表 1。结果表明,大豆异黄酮的提取率随提取时间的增加而增多,但超过 30 min 大豆异黄酮提取率增加不明显。

2.3 不同提取方法对大豆异黄酮提取率的影响

超声提取 30 min 和加热回流法提取大豆异黄

提取大豆异黄酮的提取率高约 46%,与加热回流提取 2 次合计提取 240 min 的大豆异黄酮的提取率相等。

表 2 两种提取方法所得大豆异黄酮的提取率

Table 2 Extraction rate of soybean isoflavone by two extraction methods

提取方法 Extraction method	溶剂用量(ml) Solvent quantity	超声频率(KHz) Ultrasonic frequency	提取时间(min) Extraction time	提取率(%) Extraction rate
加热回流提取 1 次 Heating reflux once	100	0	120	0.310
加热回流提取 2 次 Heating reflux twice	200	0	240	0.451
超声波法 Ultrasonic method	100	20	30	0.452

3 结论

随着现代科学的发展,超声技术已广泛地得到应用。很多研究表明,利用超声波产生的强烈振动、高的加速度、强烈的空化效应、搅拌作用等,可加速植物材料中的有效成分进入溶剂,从而增加有效成分的提取率,缩短提取时间,并且还可避免高温对提取成分的影响^[4]。本文利用超声波法从脱脂豆粕中提取大豆异黄酮具有省时、节能和节省溶剂用量等优点,提取一次,30 min 所得大豆异黄酮的提取率比加热回流法提取 120 min 的提取率高约 46%,与加热回流提取二次,提取 240 min 的提取率一致。

超声波技术以其工艺简单、无需加热、提取快速、提取率高等特点,将在大豆异黄酮的提取中发挥

重要的作用。

参 考 文 献

1 C. Lee Holder, Mona I.Churchwell Daniel R. Doerge. Quantification of Soy Isoflavones Genistein and Daidzein, and Conjugates in Rat Blood Using LC/ ES- MS[J] . Agric. Food Chem., 1999, 47: 3764—3770

2 Michael Naim, Benjamin Gestetner, Shmuel Zilkah, et al. Soybean Isoflavones. Characterization, Determination, and Antifungal Activity [J] . Agr. Food Chem., 1974, 22(5): 806—810

3 Shaw Watanabe. Pharmacokinetics of soybeans in plasma Urine and Feces of men after ingestion of 60g baked soybean powder(kinako) [J] . Nutr. 1998, 128: 1710—1715

4 郭孝武. 超声与常规法对部分中药药类成分提取率的比较[J] . 中国医药工业杂志 1998, 29(2): 51—54

(转 74 页)

学技术出版社, 2000.

11 陆家云. 植物病原真菌学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.

12 C. 布斯. 镰刀菌属[M]. 北京: 农业出版社, 1988.

13 Domsch, K. H., W. Gams. Compendium of Soil Fungi[M]. Academic Press, 1980.

14 Chen S. Y., D. W. Dickson, D. J. Mitchell. Pathogenicity of Fungi to Eggs of *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 1996, 28(2): 148—158.

15 Chen, S. Y., D. W. Dickson, D. J. Mitchell. Viability of *Heterodera glycines* Exposed to Fungal Filtrates[J]. Journal of Nematology, 32(2): 190—197.

16 孙漫红, 刘杏忠, 晋治波. 2000. 淡紫拟青霉对大豆胞囊线虫卵及 2 龄幼虫的影响[J]. 植物保护学报. 2000, 29(1): 57—61.

17 Chen, S. Y., D. W. Dickson. A Technique for Determining Live Second—stage Juveniles of *Heterodera glycines*[J]. Journal of Nematology, 2000, 32(1): 117—121.

THE RESEARCH ON THE CYST ENTOPARASITIC FUNGI OF SOYBEAN CYST NEMATODE

Fan Shengchang Duan Yuxi Chen Lijie

(Nematological Laboratory, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161)

Abstract One hundred and twenty—eight fungi strains were isolated from the cysts of *Heterodera glycines* of the soybean rhizosphere soil in Liaoning, Hilongjiang, Shanxi, Shandong provinces. Through determining the parasitic ratio, six strains identified as *Aspergillus niger*, *Paecilomyces lilacinus*, *Fusarium semitectum*, *Verticillium chlamydosporium*, *Verticillium* sp. and *Acremonium* sp. were strong entoparasitic fungi of the cyst of *H. glycines*. *Aspergillus niger* and *Fusarium semitectum* isolated from the cyst were first reported in China. When the culture filtrates of six fungal strains were tested for their toxic effect to Second—stage Juveniles (J2) of *H. glycines*, the two strains, *Verticillium chlamydosporium* and *Verticillium* sp., had lethal effects on J2 of *H. glycines*, and their death ratios reached to 50.1% and 50.0%.

Key words Soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*); Entoparasitic fungi; *Aspergillus niger*; *Fusarium semitectum*

(接 76 页)

EXTRACTION ON SOYBEAN ISOFLAVONE BY ULTRASONIC WAVE

Xie Mingjie^{1*} Lu Min² Song Ming² Zou Cuixia² Liu Changjiang¹ Jin Fengxie

(1. College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, 116029;

2. College of Food, Shenyang Agriculture University, Shenyang, 110161;

3. College of Food and Fermentation Technology, Dalian Institute of Light Industry, Dalian, 116001)

Abstract Soybean isoflavone were extracted from defatted soybean meal by ultrasonic wave and compared with heating circumfluence method. The results showed that ultrasonic method had lots of merits such as time—saving, energy—saving and high efficiency. The extraction rate of soybean isoflavone by this method for 30min was higher than that by heating—circumfluence for once, 120min about 46% and was equal to the rate of heating—circumfluence for twice, 240min.

Key words Ultrasonic extraction; Soybean isoflavone; Extraction rate