

# 大豆异黄酮提取研究最新进展

彭游<sup>1,2</sup>, 余盛禄<sup>1</sup>

(1. 九江学院 化学与环境工程学院, 江西 九江 332005; 2. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 江西 南昌 330047)

**摘要:**大豆异黄酮具有预防癌症与心血管疾病,减轻妇女更年期综合症等多种重要生理功能。大豆异黄酮主要采用传统溶剂加热、超声波、微波辅助等方法进行提取。文章对近年来大豆异黄酮提取方法的研究进行综述,以期为大豆异黄酮作为保健食品资源的开发和应用提供依据。

**关键词:**大豆异黄酮;超声提取;微波提取;研究进展

**中图分类号:**Q946

**文献标识码:**A

**文章编号:**1000-9841(2011)05-0320-04

## Advances in Extraction of Soy Isoflavones

PENG You<sup>1,2</sup>, YU Sheng-lu<sup>1</sup>

(1. Department of Chemistry and Engineering, Jiujiang University, Jiujiang 332005; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, Jiangxi, China)

**Abstract:** Soybean isoflavone has many important physiological functions including preventing cancer, cardiovascular disease and reducing female menopause syndrome and so on. Extraction methods of soy isoflavone including convention solvent, ultrasonic-assisted, microwave-assisted, etc. The latest research on extraction of soy isoflavone had been summarized. The aim was to provide a reference for the development and utilization of soy isoflavone as new resource of health foods.

**Key words:** Soy isoflavone; Ultrasound-assisted extraction; Microwave-assisted extraction; Research progress

大豆异黄酮是存在于大豆等豆科植物中的一类重要生物活性物质。近来研究发现,大豆异黄酮具有抗癌<sup>[1]</sup>、防治动脉硬化<sup>[2]</sup>、抗炎<sup>[3]</sup>等多种药理作用。从大豆异黄酮中分离得到的染料木素,其结构与17- $\beta$ 雌二醇的结构相似(图1),能与内源性雌激素受体结合,发挥雌激素效应,同时又没有雌二醇

的副作用,被人们称为植物雌激素。大豆异黄酮是一种混合物,主要为两类:苷元及其葡萄糖苷(图1)。近年来国内外学者对大豆异黄酮的提取工艺进行了大量的研究,主要集中在传统溶剂加热提取,超声及微波辅助提取等,现将其主要研究进展做一简述。

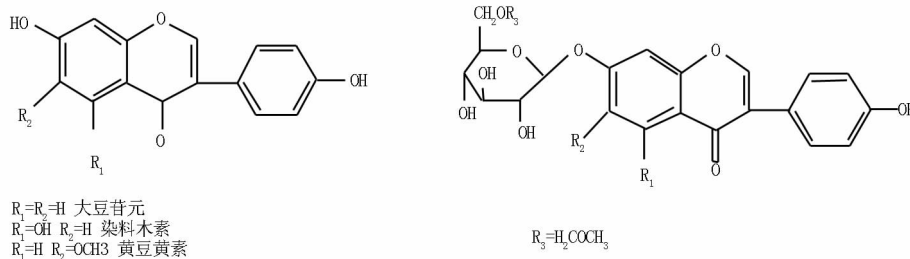


图1 大豆异黄酮的结构

Fig. 1 Structure of soy isoflavones

## 1 大豆异黄酮的提取

### 1.1 溶剂萃取法

溶剂萃取法是将复合物载体中的某些可溶物由固体转移到液体中去,从而得到含有溶质的浸提

液,因此浸提的实质是由固相转为液相的传质过程。物质有效成分的浸提主要根据被浸提物的性质及伴随存在着的杂质状态来选择合适的溶剂。对生物产品中大多有效成分的浸提通常采用有机溶剂,如乙醇水溶液、甲醇水溶液、丙酮、乙酸乙酯

收稿日期:2011-10-20

基金项目:国家自然科学基金(81160412);江西省自然科学基金(2010GZN0106);江西省教育厅科技项目(GJJ11626)。

第一作者简介:彭游(1971-),男,博士,副教授,研究方向为食品化学与营养。E-mail:trihydracid@126.com。

和弱碱水溶液等有一定极性的溶剂提取<sup>[4]</sup>。

田娟娟等<sup>[5]</sup>采用醇提法提取大豆异黄酮。通过单因素和正交试验确定的最佳工艺条件:料液比 1:5(g·mL,下同),乙醇溶液体积分数 65%,萃取温度 50℃,萃取时间 2.0 h,2.0 倍淋洗量。在此条件下可得到大豆糖蜜中大豆异黄酮含量为 6.4 mg·mL<sup>-1</sup>。

刘玉兰等<sup>[6]</sup>以醇洗大豆浓缩蛋白副产物糖蜜为原料,采用单因素试验优选法以丙酮为溶剂从糖蜜中提取大豆异黄酮。采用响应面分析法(Response Surface Methodology, RSM)优化丙酮提取工艺条件,以大豆异黄酮提取率为响应值作响应面图。结果表明,丙酮浸提大豆异黄酮的最佳条件:浸提时间 60 min,浸提温度 20℃,料液比 1:3,在此条件下大豆异黄酮的提取率达到 90.3%,产品纯度达到 23.5%。

王丽娟等<sup>[7]</sup>以工业酱渣饼为提取大豆异黄酮的原料,采用乙醇为溶剂,通过正交试验得出提取的最佳条件:乙醇的浓度 70%,温度 80℃,时间 4 h,料液比 1:30,二次提取异黄酮的得率为 0.384%,粗产品得率为 5.2%,粗产品的纯度为 7.5%。

何恩铭等<sup>[8]</sup>以乙醇为溶剂,以大豆豆渣为原料,研究了大豆异黄酮的提取工艺。结果表明乙醇浓度对大豆异黄酮提取量的影响最大。通过正交试验得出最佳工艺条件:乙醇浓度 80%,温度 70℃,时间 3 h、料液比 1:12,此条件下异黄酮提取量为 0.895 mg·g<sup>-1</sup>。

袁建等<sup>[9]</sup>以水为主要溶媒,提取脱脂大豆粉中的大豆异黄酮。采用 RSM 对影响大豆异黄酮提取的关键因素 pH,提取时间和提取温度的最佳水平范围做了研究与探讨,通过对二次多项回归方程求解得知,在自变量分别为 pH 8.74,提取时间 2 h,提取温度 70℃时,脱脂大豆粉中异黄酮提取率可能达到的最大值为 70.4%。

目前国内外有关异黄酮的传统溶剂加热提取主要以不同浓度的乙醇为溶剂,但醇在提取过程中会使脱脂大豆粉中的蛋白变性,影响其后续利用。也有研究采用水为溶剂,虽可以达到相同的提取效果,简化了产品后续脱除有机溶剂的步骤,同时不影响脱脂大豆粉的大豆蛋白的利用,但增加了产品除水的难度。显然采用水或乙醇为萃取剂各有利弊。

## 1.2 微波辅助萃取法

微波辅助提取技术(Microwave-Assisted Extraction, MAE)是天然产物提取中一种非常有发展潜力的新技术。微波是一种频率在 0.3~300 GHz 之间

的电磁波,具有波动性、高频性、热特性和非热特性四大基本特性。自 Ganglier 等<sup>[10]</sup>最早利用微波从羽扇豆中提取鹰爪豆生物碱后,该技术成为天然产物提取的有力工具。

于海莲<sup>[11]</sup>以乙醇作为萃取剂,采用微波法从大豆中提取异黄酮,分别考察了微波功率、乙醇的体积分数、料液比和微波辐射时间对异黄酮提取量的影响。结果表明,从大豆中提取异黄酮的最佳工艺:微波功率 400 W、乙醇的体积分数 50%、料液比 1:4、微波辐射时间 5 min。在此条件下,异黄酮的提取量为 1.3205 mg·g<sup>-1</sup>。

钱丽丽等<sup>[12]</sup>以低温脱脂豆粕为原料,利用微波对其前处理,采用四因素三水平正交试验确定大豆异黄酮提取的条件:微波处理 15 s,65%的乙醇水溶液,1:15 的料液比,50℃下提取 45 min,提取率达到 0.78%。试验结果表明,适当的微波处理可以提高大豆异黄酮的溶出率。

彭游等<sup>[13]</sup>考察大豆异黄酮的微波光波组合无溶剂提取方法,发现微波光波提取干法仅用 9.4%的 N,N-二甲基甲酰胺 DMF 作为能量传递介质,功率 800 W 加热 6 min 后,乙醇萃取得总黄酮。大豆苷元的提取率为 0.14%,与常规提取法接近。

Terigar 等<sup>[14]</sup>优化了从豆粉中采用微波提取异黄酮的工艺,重点考察了微波加热温度与加热时间对异黄酮提取率的影响,并与传统加热提取工艺对比。得到微波提取的最佳工艺:提取温度 73℃,微波加热时间 8 min,豆粉与乙醇的料液比为 3:1,结果提取率为传统加热提取工艺的 2 倍。

以上研究表明,与传统加热溶剂提取法相比,MAE 提取产率与相应的常规提取法接近,但 MAE 节省时间,且提取效率高,是一种快速、高效、节能的新型提取工艺。

## 1.3 超声辅助提取法

超声波辅助萃取(Ultrasound-assisted extraction, UAE)是利用超声波辐射压强产生的强烈空化效应、机械振动、扰动效应、高加速度、乳化、扩散、击碎和搅拌作用等多级效应,增大物质分子运动频率和速度,增加溶剂穿透力,从而加速目标分子进入溶剂,促进提取的进行。

王丽娟等<sup>[15]</sup>以工业酱渣饼为原料,采用乙醇为溶剂,超声辅助提取大豆异黄酮。通过单因素试验和正交试验,确定最佳提取条件:50%乙醇,温度 70℃,时间 40 min,液固比 25:1,超声功率 350 W。在此条件下大豆异黄酮提取率为 0.41%,异黄酮粗品纯度为 10.2%。通过聚醚砜膜超滤可使异黄酮

纯度提高到 32.7%。

孟宪金等<sup>[16]</sup>研究了在 UAE 条件下提取大豆异黄酮的最佳条件,并通过单因素和正交试验确定提取游离型大豆异黄酮的最佳条件:乙醇浓度 90%,提取温度 60℃,提取时间 45 min。此条件下游离大豆异黄酮的含量为 134.41  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

Mauricio 等<sup>[17]</sup>研究了 UAE 法从冻干的大豆粉中提取 4 种大豆异黄酮(大豆苷、染料木苷、黄豆苷和丙二酰基染料木苷)的条件。重点考察了不同的溶剂与萃取温度对大豆异黄酮提取率的影响。得到 UAE 的最佳条件:50% 乙醇,在 60℃ 温度下超声 20 min。

Mauricio 等<sup>[18]</sup>考察了从豆类果汁饮料中超声提取异黄酮的条件,发现料液比为异黄酮提取率最重要的影响因素并确定了最佳工艺条件:乙醇为溶剂,料液比为 0.2:1,在 45℃ 条件下超声 20 min。

超声波对固体样品的预处理很有利,它能促进和加速提取过程,如分散、均化、雾化、洗涤和衍生等过程,还可避免高温对目标成分的破坏,操作简单、副产品少、目标产物易分离,能达到比常规提取更理想的结果,对生物活性成分的提取更具优势,但也不能忽视超声对活性成分化学键的影响。

#### 1.4 超临界流体萃取法

超临界  $\text{CO}_2$  流体萃取 (Supercritical Fluid  $\text{CO}_2$  Extraction, SFE) 分离过程的原理是利用超临界流体的溶解能力与其密度的关系,即利用压力和温度对超临界流体溶解能力的影响而进行的。在超临界状态下,将超临界流体与待分离的物质接触,使其有选择性地把极性大小、沸点高低和分子量大小的成分依次萃取出来。

黄池宝<sup>[19]</sup>采用等温萃取流程方式,利用乙醇作夹带剂,实现大豆苷和 6-羟基染料木苷的成功分离。

超临界  $\text{CO}_2$  流体萃取具有提取率高、产品纯度高、流程简单、能耗低、无有机溶剂残留等优点,但对设备要求较高。当然,对应各压力范围所得到的萃取物不可能是单一的,但可以控制条件得到最佳比例的混合成分,然后借助减压、升温的方法使超临界流体变成普通气体,被萃取物质则完全或基本析出,从而达到分离提纯的目的。

#### 1.5 高压浸提法

张凤清等<sup>[20]</sup>取处理过的豆粕放入高压釜中,加入 80% 的乙醇溶液,分别在不同的气压下进行提取 1 h,提取 2 次,获得乙醇提取液。采用单因素试验优选法确定最佳大豆异黄酮收率的浸提压力。结果在 14

个标准大气压下,大豆异黄酮收率为 1 860  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ,比常压下提取率提高 28.3%。

#### 1.6 连续逆流法

何隽婷等<sup>[21]</sup>以酱油渣干粉为原料,采用实验室模拟动态逆流提取酱油渣中异黄酮。并通过正交设计对提取条件进行优化,确定了最佳提取条件:体积分数为 80% 乙醇、提取前的浸泡时间 12 h、料液比 1:10,总异黄酮提取率可达 0.35%,粗提物的纯度为 2.01%。选取 3 种极性不同的大孔树脂填装制备柱,并利用中低压色谱对大豆异黄酮样品进行纯化。结果表明,NKA9 大孔树脂对总大豆异黄酮的纯化效果最好,在体积分数为 60% 乙醇洗脱时,产品纯度可达到 32%。

王松等<sup>[22]</sup>采用单因素试验优化豆粕中大豆异黄酮的连续逆流提取工艺条件。结果表明,连续逆流提取法在提取率、溶剂量以及提取时间上都明显优于单级提取,提取率提高 14.22%、节省溶剂 50%,提取时间缩短 76 min。连续逆流提取法的最优工艺条件:乙醇浓度 60%、提取温度 70℃、液固比 10:1、提取时间 104 min,在该条件下连续逆流提取法的提取率为 99.2%。

连续逆流提取法由于实现连续操作,因此在大规模的生产中能显著提高生产效率。将其应用于生产中,取代目前工业生产中普遍使用的单级提取工艺,对提高原料利用率、节省成本以及提高生产率等方面都有重要意义。

## 2 展 望

植物细胞中的有效成分须经过浸润、溶胀、渗透和扩散方能溶出。目前大豆异黄酮的提取方法主要有溶剂提取法、超声波辅助提取法、微波辅助提取法等。尽管传统溶剂提取法具有耗时耗能,消耗大量溶剂,经济与环境成本均很高等不足,但由于操作简单,人员设备要求不高,目前依然在工业生产中普遍使用,但在传统提取方法中,活性成分的纯化方法,活性成分种类以及成分的化学变化等应成为进一步研究的重点。超声提取与传统工艺加热回流提取相比,具有省时、低温节能、提取率和产品纯度高的优点,但是超声波作用能断开碳—碳键,从而产生活性较强的自由基,破坏活性成分,降低提取物的稳定性。微波辅助提取法选择性高、操作时间短、溶剂消耗量少,但设备泄漏的微波辐射会给人体造成慢性损伤以及工业化还存在困难等问题需进一步研究。超临界  $\text{CO}_2$  流体萃取具有提取率高、产品纯度高、流程简单、能耗低、无有机溶剂

残留等优点,但对设备要求较高。

综上所述,大豆异黄酮功能成分的提取随科技的进步还会进一步发展,其提取方法始终要避免过高的经济与环境成本,同时还要有利于资源的充分利用,以及产品的生物活性的保持与提高。

## 参考文献

- [1] Oki T, Sowa Y, Hirose T, et al. Genistein induces *Gadd 45* gene and G2/M cell cycle arrest in the DU145 human prostate cancer cell line[J]. FEBS Letters, 2004, 577(1-2): 55-59.
- [2] Ulchins A M, Melver I E, Johnston C S, et al. Soy isoflavone and ascorbic acid supplementation alone or in combination minimally affect plasma lipid peroxides in healthy postmenopausal women[J]. Journal of the American Dietetic Association, 2005, 105: 1134-1137.
- [3] Fujii E, Irie K, Ohba K, et al. Role of nitric oxide, prostaglandins and tyrosine kinase in vascular endothelial growth factor induced increase in vascular permeability in mouse skin[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Archives Pharmacology, 1997, 356(4): 475-480.
- [4] 钱丽丽, 左锋, 唐彦军. 大豆异黄酮提取方法的研究进展[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2006, 18(5): 64-67. (Qian L L, Zuo F, Tang Y J. Research on several extraction methods of soy isoflavone[J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University, 2006, 18(5): 64-67.)
- [5] 田娟娟, 张永忠, 王哲. 醇法大豆浓缩蛋白和大豆异黄酮同步提取技术研究[J]. 中国油脂, 2010, 35(6): 48-51. (Tian J J, Zhang Y Z, Wang Z. Synchronous extraction of alcohol leached soybean protein concentrate and soybean isoflavones[J]. China Oils and Fats, 2010, 35(6): 48-51.)
- [6] 刘玉兰, 王坡, 田原. 醇洗大豆浓缩蛋白副产物糖蜜中提取大豆异黄酮的研究[J]. 中国油脂, 2008, 33(5): 54-57. (Liu Y L, Wang P, Tian Y. Extraction of soybean isoflavone from soybean molasses[J]. China Oils and Fats, 2008, 33(5): 54-57.)
- [7] 王丽娟, 张永忠, 杨薇薇. 从酱油渣饼中提取大豆异黄酮的研究[J]. 食品工业科技, 2008, 29(10): 167-170. (Wang L J, Zhang Y Z, Yang W W. Study on extraction of soybean isoflavone from soy sauce cake[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 29(10): 167-170.)
- [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 Borealioccidentalis Sinica, 2006, 15(4): 160-162.)
- [9] Ganglier K, Slag A A. Effective sample preparation method for extracting biologically active compounds from different matrices by microwave technique[J]. Journal of Chromatography, 1990, 520: 257-262.
- [10] 袁建, 鞠兴荣, 王立峰, 等. 水媒法提取大豆异黄酮的工艺优化研究[J]. 中国油脂, 2006, 31(12): 52-55. (Yuan J, Ju X R, Wang L F, et al. Extraction optimization of soybean isoflavones with water[J]. China Oils and Fats, 2006, 31(12): 52-55.)
- [11] 于海莲. 微波辅助乙醇提取大豆异黄酮的研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(1): 144-146. (Yu H L. Extraction of isoflavonoids from soybean by ethanol assisted microwave irradiation[J]. Soybean Science, 2011, 30(1): 144-146.)
- [12] 钱丽丽, 左锋, 刘志明. 微波预处理提取大豆异黄酮的研究[J]. 现代食品科技, 2007, 23(1): 38-39. (Qian L L, Zuo F, Liu Z M. Extraction of soybean isoflavones by microwave pretreatment[J]. Modern Food Science and Technology, 2007, 23(1): 38-39.)
- [13] 彭游, 邓泽元, 叶志刚, 等. 大豆异黄酮微波干法辅助提取及其机理研究[J]. 广西植物, 2011, 31(2): 266-269. (Peng Y, Deng Z Y, Ye Z G, et al. Extraction of soybean isoflavone by microwave radiation without solvent and its mechanism[J]. Guihaia, 2011, 31(2): 266-269.)
- [14] Terigar B G, Balasubramanian S, Boldor D, et al. Continuous microwave-assisted isoflavone extraction system: Design and performance evaluation[J]. Bioresource Technology, 2010, 101: 2466-2471.
- [15] 王丽娟, 张永忠, 张丽丽. 超声波辅助法提取大豆酱油渣饼中大豆异黄酮[J]. 中国油脂, 2009, 34(5): 52-55. (Wang L J, Zhang Y Z, Zhang L L. Ultra sound-assisted extraction isoflavone from soybean sauce cake[J]. China Oils and Fats, 2009, 34(5): 52-55.)
- [16] 孟宪金, 于国萍. 超声波辅助提取发酵豆奶中的游离大豆异黄酮[J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(9): 93-95. (Meng X J, Yu G P. Isoflavone-glycosidase extraction of fermentation soybean milk by ultrasonic wave[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2008, 39(9): 93-95.)
- [17] Rostagno M A, Palma M, Barroso C G. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1012: 119-128.
- [18] 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: 265-272.
- [19] 黄池宝. 大豆中大豆异黄酮提取分离的研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2001: 24-34. (Huang C B. Study on extraction of isoflavones in soy[D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2001: 24-34.)
- [20] 张凤清, 解丛林, 张松龄. 高压浸提法提取大豆异黄酮工艺[J]. 食品工业科技, 2006, 27(1): 113-114. (Zhang F Q, Xie C L, Zhang S L. Technology of extraction of soybean isoflavones by high pressure[J]. Science and Technology of Food Industry, 2006, 27(1): 113-114.)
- [21] 何隽婷, 梁勇, 梁斯, 等. 酱油渣中大豆异黄酮的动态逆流提取及分离纯化研究[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2010(4): 80-86. (He J T, Liang Y, Liang S, et al. Dynamic countercurrent extraction and purification of isoflavones from soy sauce residue[J]. Journal of South China Normal University (Natural Science Edition) 2010(4): 80-86.)
- [22] 王松, 周荣琪, 丁立. 连续逆流法提取大豆异黄酮的研究[J]. 食品科技, 2005(8): 19-23. (Wang S, Zhou R Q, Ding L. Study on the continuous counter-current extraction of soybean isoflavones[J]. Food Science and Technology, 2005(8): 19-23.)