

大豆中异黄酮和皂苷的提取、制备研究进展

梁晓芳, 王步军

(中国农业科学院 作物科学研究所/农业部谷物品质监督检验测试中心, 北京 100081)

摘要:大豆异黄酮和大豆皂苷作为大豆中重要的生理活性物质,其提取、纯化和单体的制备方法具有很多相似性。通过综述近几年大豆异黄酮和大豆皂苷的提取纯化研究进展,探讨了分离和制备高纯度的大豆异黄酮和皂苷单体物质的技术,评述了各类方法的优缺点,为标准物质的开发研究提供理论基础。

关键词:大豆;异黄酮;皂苷;提取;纯化;制备

中图分类号:TQ463 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9841(2014)01-0128-07

Research Progress of Extraction and Preparation Methods of Soybean Isoflavones and Soyasaponins

LIANG Xiao-fang, WANG Bu-jun

(Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Cereal Quality Supervision and Testing Center, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China)

Abstract: Soybean isoflavones and soya-saponins are important physiological materials in soybean. The methods of extraction, purification and preparation monomer have many similarities. The extraction and purification research progress of soybean isoflavones and soya-saponins in recent years were reviewed firstly. Then, the methods of separation and preparation of high purity soybean isoflavone and soya-saponin monomer were discussed. The advantages and disadvantages of these methods were also described. In addition, it provided the theoretical foundation for the standard substance development.

Key words: Soybean; Isoflavones; Soya-saponin; Extraction; Purification; Preparation

大豆异黄酮(soybean isoflavones)是大豆生长过程形成的次级代谢产物,被称为“植物雌激素”,是大豆中一类重要的生理活性物质。药理学研究表明其具有改善女性体内的雌激素平衡,减轻妇女更年期不适征的功效,还有预防骨质疏松、预防心血管疾病、抗癌作用以及抗氧化作用^[1-2]。另一类重要的生理活性物质大豆皂苷(soyasaponins)具有抗癌、调节免疫功能、防治心血管疾病、抗菌、抗病毒、护肝等多重生理功能^[3],除用作药物外,皂苷还应用于食品添加剂、表面活性剂、高级化妆品领域,因此广泛应用于食品及化学工业^[4]。现有市售大豆异黄酮和皂苷的标准品多为进口产品,主要由Sigma等国外大公司控制,价格昂贵,国内相关标准品匮乏。因此,对于大豆异黄酮和皂苷的分离制备研究具有重要意义。

1 大豆异黄酮和大豆皂苷的组成

大豆异黄酮的天然存在形式主要有12种,可以分为3类,即大豆苷类(daidzin group)、染料木苷类

(genistin group)和黄豆苷类(glycitin group),它们分别以游离型、葡萄糖苷型、乙酰基葡萄糖苷型和丙二酰基葡萄糖苷型4种形式存在^[5]。自然界中大豆异黄酮的资源十分有限,在大豆中的含量也仅有0.1%~0.5%^[6]。

大豆皂苷属于三萜类结构,由非极性的三萜苷元(aglocone)和一个或多个低聚糖链(glycones)两部分组成。按照苷元的不同,大豆皂苷分为A组、B组、E组和DDMP组。因各苷元所接糖链的种类、数目和顺序不同,每组皂苷中又包含多个皂苷单体^[7]。目前已从12种豆类作物种子中鉴定出18种大豆皂苷单体,分别是大豆皂苷A_{1~6}、大豆皂苷B_{I~V}、大豆皂苷A和乙酰基大豆皂苷A_{1~6}。其中A_I、A₂、B_I、B_{II}、B_{III}最为常见^[8]。大豆中皂苷的含量很少,Shiraiwa等^[9]分析了457个大豆品种胚芽中的皂苷含量,得出胚芽中总皂苷的含量为0.62%~6.16%。

由于大豆中异黄酮和皂苷天然含量较低,因此确定最佳的提取、纯化方法,最大效率地制备出高

收稿日期:2013-07-23

第一作者简介:梁晓芳(1988-),女,硕士,主要从事农产品质量检测研究。E-mail:liangxiaofanglx@163.com。

通讯作者:王步军(1960-),男,研究员,博士生导师,主要从事农产品质量安全与检测技术研究。E-mail:wangbujun@caas.cn。

纯度的单体标准物质具有广阔的研究前景。

2 大豆异黄酮和大豆皂苷的提取

2.1 有机溶剂提取法

根据大豆异黄酮和皂苷的理化性质,异黄酮为中等极性,皂苷的极性较强,因此可以利用有机溶剂进行提取,常用的有机溶剂有甲醇、乙醇、乙腈、丙酮等。

周建芹^[10]在单因素和正交试验的基础上,确定乙醇-水体系提取大豆异黄酮的最佳工艺条件:乙醇浓度为 80%,液料比为 24:1(溶剂:原料),提取温度 50℃,在此条件下大豆异黄酮的提取率达到 23.4%。Patricia 等^[11]比较了在室温下不同提取试剂对大豆异黄酮形态的影响,结果表明以不加酸的 53% 乙腈溶液为最佳提取溶剂。Luthria 等^[12]比较了 6 种提取溶剂,得出添加少量二甲基亚砷有助于提高提取率和总异黄酮含量。Mauricio 等^[13]用 70% 的乙醇溶液在 100℃ 提取的基础上加压到 100 atm,提取 3 次,每次提取 7 min,可以得到未降解的大豆异黄酮。田晶等^[7]研究脱脂大豆中 B 组大豆皂苷 V 的 HPLC-MS 测定条件,采用的是乙醇溶液进行浸泡回流提取。

有机溶剂提取是目前采用最多的方法,技术较成熟、稳定,但需要大量的有机溶剂、耗费的时间较长,且得到的粗提物纯度不高。

2.2 超声波辅助提取法

超声波提取法的原理是超声波增大物质分子运动频率和速度,产生强烈振动和空化作用,加速有效成分的溶出,从而缩短提取时间,提高产物得率,是近年来快速发展的一种提取方法。

王英利^[14]利用超声波辅助有机溶剂法提取大豆中异黄酮,采用单因素和正交试验的方法探讨各种工艺参数对提取率的影响。结果表明,乙醇浓度 75%、液料比 20:1(溶剂:原料)、提取时间 40 min 是大豆异黄酮的最佳提取工艺,提取率可以达到 44.4%。谢明杰等^[6]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比较,发现提取 1 次 30 min 与加热回流提取 2 次 240 min 的提取率一致,比一次提取 120 min 高 46%。李华等^[15]以大豆废渣为原料、大豆皂苷产率为评价指标,采用索氏提取法、超声波法、超声波与有机溶剂联合提取法进行提取大豆皂苷的研究,结果表明索氏提取法的产率为 0.362%,采用超声波提取大豆皂苷的产率达到 0.607%,采用超声与有机溶剂联合提取的方法,产率可达 0.9%,且试验表明,超声

波提取方法对大豆皂苷的抗氧化活性无显著影响。

超声波辅助提取方法具有快速省时、节能、提取率高等优点,但目前主要局限在实验室操作使用,用于工业生产还需要解决仪器设备放大等问题。

2.3 微波提取法

微波萃取的原理是根据物质在微波场中吸收能力差异,使基体物质在某些区域被选择性加热,从而使被萃取物从基体体系中分离,进入微波吸收能力相对差的萃取剂中^[16]。

1986 年,Ganzler 等^[17]首先报道了微波用于天然产物成分的提取。国内刘中华等^[18]采用微波辅助提取豆粕中大豆异黄酮,得出最佳条件为液料比 20:1,微波火力中高火,微波时间 3 min,乙醇浓度 50%,在此条件下大豆异黄酮的提取率可以达到 1.243 2%。李侠等^[19]采用微波辅助提取大豆异黄酮,每 20 g 脱脂大豆粉中可提取出 25.37 mg 大豆异黄酮。李华^[20]采用微波处理法提取大豆皂苷时提取率达到 59.4%,而索氏提取法的提取率只有 36.2%。

微波提取法操作相对简单,提取时间短,所用料液比低,可大大节省溶剂,且提取率较高。因此在天然活性物质的提取方面具有广阔的应用前景。

2.4 其他方法

此外,还有学者采用闪式提取器^[21]、酸水解提取法^[22-23]等进行大豆异黄酮的提取;国外还有一些研究采用超临界流体萃取^[24]、高温蒸汽^[25]的方法提取,也取得了较好的效果。

3 大豆异黄酮和大豆皂苷的纯化制备技术

3.1 大豆异黄酮和皂苷的纯化

粗提物中含有蛋白质、油脂、糖等多种杂质,为了得到高纯度的异黄酮和大豆皂苷单体,需要对其粗提物进一步分离纯化。常用的纯化方法有大孔吸附树脂法、离子交换树脂、膜分离技术等。

3.1.1 大孔吸附树脂法 近几年大孔吸附树脂在大豆异黄酮和皂苷等天然产物纯化方面的应用日趋广泛。大孔吸附树脂是一种多孔性的高分子材料,具有多孔性和较大的比表面积,主要通过物理作用从溶液中有选择性地吸附有机物质,从而达到分离纯化的目的^[26]。

阮洪生等^[27]以高效液相色谱法测定豆粕中大豆异黄酮的含量为考察指标,比较了 4 种不同型号大孔吸附树脂(AB-8、X-5、DM-301、NKA-94)对大豆异黄酮的吸附解吸,从中筛选出了 AB-8 型大孔树脂为最佳的吸附解吸树脂。刘焯等^[28]建立了一种

利用大孔吸附树脂分离纯化大豆苷、染料木苷、大豆苷元和染料木素4种大豆异黄酮的方法。样品采用HPD-100树脂吸附后用20%、25%、35%、45%和70%的乙醇溶液梯度洗脱分离4种主要的大豆异黄酮,结果4种大豆异黄酮产品纯度分别为49.31%、60.38%、19.33%和8.14%,较原料而言,最终产品纯度分别提高了4.77、4.43、1.52、1.30倍。苏宝根等^[29]以上样量、洗脱率和产品纯度为指标比较了6种大孔吸附树脂即AB-8、XAD-2、HPD-100、ADS-7、HPD-300、HPD-600对大豆皂苷的纯化效果,结果表明ADS-7为最合适的吸附剂。田晶等^[30]以脱脂大豆为原料,研究了AB-8大孔吸附树脂提取和纯化大豆皂苷的方法,确定了乙醇浸泡浓度为40%、流速为 $2.4\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 、乙醇洗脱浓度为50%的最佳工艺,此时AB-8树脂的吸附容量为 $103.2\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

大孔吸附树脂具有选择性强、化学性质稳定、再生简便、可重复使用等优点,在天然产物的分离纯化方面其研究日趋成熟。但是,也有研究表明大孔吸附树脂法虽然可以除去大豆中的水溶性糖类杂质,但对于高分子色素、杂环类物质等的去除效果不理想。

3.1.2 离子交换树脂法 离子交换树脂是一类能进行离子交换的功能性高分子聚合物,可分为阳离子树脂和阴离子树脂,它们可分别与溶液中的阳离子和阴离子进行交换,从而达到纯化的效果。

Yeo等^[31]采用离子交换树脂XAD-2从脱脂豆粕中分离了6种异黄酮,结果表明,采用80%的乙醇洗脱,可以获得较高的回收率。Cho等^[32]先后采用HP-20大孔吸附树脂和XAD-2离子交换树脂纯化大豆异黄酮,结果表明XAD-2离子交换树脂吸附容量达到 $81.7\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。王东冬等^[33]以经过大孔吸附树脂提取后的大豆皂苷提取物为研究对象,利用阳离子交换树脂进行进一步的纯化。在选用50%的甲醇水溶液、pH为6.0的最佳纯化条件下,脱色率达52.36%,除杂率达33.01%,表明此法不仅可有效去除色素等杂质,还可以去除部分大豆异黄酮类物质,以免造成干扰。

离子交换树脂解决了大孔吸附树脂对于高分子色素及杂环类物质去除效果不理想的弊端,进一步提高纯化效果。但缺点是不适用于所有杂质的分离。

3.1.3 膜分离技术 膜分离技术主要基于分子量截留的原理,是发展迅速的一门分离新技术。Xu等^[34]利用生产豆浆的废液采用膜技术从蛋白和其他杂质中分离出大豆异黄酮,且没采用任何有机试

剂,只利用膜的超滤和渗滤技术,回收率达到50%。井乐刚等^[35]也做过相似的研究。黄才欢等^[36]用80%的乙醇水溶液提取大豆异黄酮后,采用无机陶瓷膜超滤大豆乙醇提取液。结果表明超滤可以去除69.4%的胶质以及66%蛋白质,但大豆异黄酮的组成及含量在超滤前后没有明显变化,得到的大豆异黄酮纯度达到23.6%。赵冬梅等^[37]研究表明膜分离技术也适用于大豆皂苷的分离纯化。

膜分离技术在分离纯化过程中保证了物料无相变,且避免了有机溶剂的使用,降低了对环境的污染。

3.2 大豆异黄酮和皂苷的单体制备方法

目前制备大豆异黄酮和皂苷单体的方法主要有凝胶色谱法、薄层色谱法、高速逆流色谱法和制备型高效液相色谱法。这些现代色谱技术具有柱效高、分离速度快等特点,适合制备天然产物和化学合成物质。

3.2.1 凝胶色谱法 凝胶色谱又称分子排阻色谱法,原理是基于分子大小不同而进行分离的一种技术。凝胶是一种不带电的具有三维空间的多孔网状结构,小的分子可以进入凝胶网孔,而大的分子则排阻于颗粒之外。

Masaru等^[38]利用Sephadex G-25从大豆异黄酮粗提取物中分离得到染料木苷和黄豆苷两种大豆异黄酮单体。姚开等^[39]采用LH-20葡聚糖凝胶柱,以90%(v/v)甲醇作为洗脱剂、流速 $2.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,可以将染料木苷和大豆苷分离出来,其纯度分别达到95.7%和95.1%,因此葡聚糖凝胶柱色谱可以将大豆异黄酮中的染料木苷和大豆苷得到很好的分离。

葡聚糖凝胶色谱在分离纯化大豆功能性物质中应用广泛,是一种快速而简单的分离技术。但凝胶色谱法主要对高分子化合物有很好的分离效果,在实验过程中需要反复上柱,操作较为繁琐,且得到的单体物质纯度不高,目前还达不到标准物质的纯度要求。

3.2.2 薄层色谱法 薄层色谱是一种将固定相在固体上铺成薄层,采用合适的流动相,对混合物进行色谱分离的方法。薄层色谱的作用机理主要包括吸附、分配、离子交换等。

黄晓东^[40]采用薄层层析的方法分离了大豆渣中黄酮类化合物,经紫外光谱和薄层色谱鉴定,所分离的两种化合物分别为黄豆苷和染料木苷。黄贤校等^[41]结合了大孔吸附树脂和制备型薄层色谱从大豆豆粕的乙醇提取物中分离出大豆苷和染

料木素两种单体。李贺等^[42]根据人参皂苷的薄层色谱展开剂研究适合大豆皂苷的展开剂配比,分离得到不同的大豆皂苷单体。

薄层色谱已广泛应用于天然产物活性成分的分离和分析,是对大豆异黄酮和皂苷单体分离、检测的简单有效而又成本低廉的一种方法,但它需要较高的点样技术,人为误差较大。

3.2.3 高速逆流色谱法 高速逆流色谱(high-speed counter-current chromatography, HSCCC)是一种高效快速的液-液分离色谱技术,利用互不溶解的两相溶剂,在处于高速动态平衡的两相中,将具有不同分配比的样品组分分离^[43]。

高速逆流色谱法中,分离成败的关键在于能否选择合适的两相溶剂系统。曲丽萍等^[44]采用高速逆流色谱技术从淡豆豉中分离制备了大豆素和染料木素,优化了最佳的溶剂系统为氯仿-甲醇-水(4:3:2),该法分离时间短、产物纯度高。Du等^[45]采用HSCCC分离制备了大豆苷、染料木苷、丙二酰基大豆苷和丙二酰基染料木苷4种大豆异黄酮糖苷单体,且纯度都超过90%。Yang等^[46]采用高速逆流色谱,先后采用3种溶剂系统从大豆粗提物中分离了7种异黄酮单体,且纯度均达到98%~99%。吴永慧等^[47]建立了HSCCC同时分离大豆皂苷和异黄酮的制备方法,在正丁醇-乙酸-水溶剂体系下分离大豆异黄酮和皂苷,并通过调整乙酸含量得到最优的溶剂体系。结果表明,在该体系下可得到分离度很高的两个峰,第一个峰主要成分为大豆异黄酮,第二个峰为大豆皂苷。随着乙酸含量的增加,皂苷逐渐集中于第二个峰,大豆异黄酮和大豆皂苷被逐渐分开。正丁醇-5%乙酸-水体系对大豆异黄酮和皂苷达到最好的分离效果。大豆粗提物进样量过大不利于二者分离,在流动相流速为 $3\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时,最佳的进样量为100 mg。

由于在液-液两相的分离中不需要任何固态的载体,从而避免了不可逆吸附的影响,分离到的物质具有较高的回收率,且该方法具有良好的重现性,操作简单,因此在天然产物活性成分的分离制备领域具有广泛的应用潜力。

3.2.4 制备型高效液相色谱法 制备型高效液相色谱是在分析型高效液相色谱的基础上放大,增加样品的分离量,并对分离开的各组分进行收集,得到高纯度的单体物质,在异黄酮和皂苷的单体分离和制备方面也得到了广泛的应用。

曲丽萍等^[48-49]采用高效制备液相色谱法分别得到了淡豆豉中高纯度异黄酮苷元(大豆素、大豆

黄素、染料木素)和异黄酮糖苷(大豆苷、黄豆苷、染料木苷)。经弱极性的1300型大孔吸附树脂初步分离纯化,不同浓度的乙醇洗脱,40%乙醇洗脱液流分中含有异黄酮苷目标化合物,70%流分中主要含有游离型大豆异黄酮苷元,适合液相色谱制备,当流动相采用乙腈-水-冰醋酸,比例分别为35:65:1和25:75:1(V%),分离良好。此方法简便易行,重复进样能得到较多的大豆异黄酮单体,并且6种成分的HPLC纯度检测表明3种产物的纯度均达到99%以上,完全可作定量分析之用。杨学东等^[5]利用制备型高效液相色谱法从大豆总异黄酮提取物中制备出了大豆苷、黄豆苷和染料木苷,经分析型HPLC检测,纯度均达到99%以上。谷利伟等^[50]从大豆胚芽的乙醇提取物中提取总糖苷,以硅胶柱层析和反相制备液相色谱分离出2种B组皂苷,以UV, IR, ESI/MS和 ^{13}C , ^1H , DEPT NMR分析确证其结构为Soyasaponin Ba和Bb。

与其他制备方法相比,制备型液相色谱法作为一种高效的分离手段和分析技术,除了具有非常好的重现性和灵敏度,还具有分辨率高和收集产物准确等特点,是目前技术手段最成熟、应用最为广泛的一种。但它的缺点也很明显,如得到的产品过于稀释以及无法避免有毒溶剂的使用,并且消耗大量的有机溶剂。

3.2.5 不同方法的结合运用 师文添等^[51]以葡聚糖凝胶色谱与制备型高效液相色谱相结合的方法,采用Sephadex LH-20凝胶对大豆皂苷和大豆异黄酮进行初步分离,再进一步用液相色谱制备分离大豆皂苷单体纯组分,即在Sephadex LH-20凝胶色谱淋洗出峰顺序分别为A组大豆皂苷,非DDMP的B组大豆皂苷以及DDMP的B组大豆皂苷,取得了良好的效果。进一步利用高效液相色谱纯化制备了5个大豆皂苷单体,经液相色谱-质谱联用鉴定结果为2个A组大豆皂苷单体和3个B组大豆皂苷单体。通过蒸发光散射与紫外检测并用,高效液相色谱分析其纯度皆达95%以上,可作为标准品用于大豆皂苷含量的分析检测。严明霞等^[52]也做过相似的研究,即凝胶色谱与制备液相色谱手段结合使用。不仅有效地分离出纯度较高的 $\alpha\text{-}3\text{Ab}$ 、 Aa 、 Ab 、 Ae 、 Af 、 Bb 、 Be 、 Ba 、 Bb' 9种A组和B组大豆皂苷,同时分离出 αg 、 βg 、 γg 3种DDMP组大豆皂苷,虽然纯度较低,但由于DDMP组大豆皂苷极不稳定,容易降解,因此该研究具有重要意义。

黄玉艾等^[53]采用高速逆流色谱结合制备型高效液相色谱法分离制备大豆皂苷单体。首先采用

高速逆流色谱手段分离出粗提物中大部分大豆异黄酮,然后采用制备液相色谱技术进一步分离出大豆皂苷单体,试验中共得到 17 种大豆皂苷峰,质谱扫描鉴定显示分为 5 种 A 组、2 种 B 组以及 3 种 DDMP 组大豆皂苷。研究结果提供了从含量相对丰富的大豆胚芽中分离制备 A 组、B 组以及 DDMP 组大豆皂苷单体的有效方法,分离制备出高纯度的种类齐全的大豆皂苷。

高速逆流色谱或凝胶色谱技术可以条件温和地将大豆异黄酮和大豆皂苷分离,得到较高纯度的大豆皂苷粗组分,其进一步与制备液相色谱方法结合使用,可以纯化出高纯度、种类齐全的大豆皂苷单体,因此采用多种手段结合运用,可以充分综合各种方法的优势,具有重要的研究意义,也是今后的研究趋势。

4 小 结

大量的国内外相关文献表明,关于大豆异黄酮和皂苷的报道中提取和纯化方面的研究内容较多,且逐渐向操作简便、高效率及无污染的趋势发展。关于制备高纯度的单体标准物质的研究较少。其中大豆异黄酮的单体制备研究目前还局限在苷元型或糖苷型的分别制备,未有关于大豆异黄酮的苷元型和糖苷型同时制备的报道。对于大豆皂苷的制备,虽然 A、B 组以及 DDMP 组皂苷各由多种单体组成,但各单体结构十分相近,分子量差异也不大,且由于 DDMP 组皂苷在提取以及制备过程中容易分解,要制备高纯度的 DDMP 组单体皂苷十分困难,这也是目前研究遇到的主要困难。另外目前市场上缺乏大豆皂苷的单体标准物质,在一定程度上也给制备增加了难度。

参考文献

- [1] Barnes S. Effect of genistein on *in vitro* and *in vivo* models of cancer[J]. *Journal of Nutrition*, 1995, 125: 777-783.
- [2] 王兆梅,李琳,郭祀远,等. 大豆异黄酮结构及其活性分析[J]. *天然产物研究与开发*, 2002, 14(3): 70-74. (Wang Z M, Li L, Guo S Y, et al. Analysis for the structure and activity of soybean isoflavones[J]. *Natural Product Research and Development*, 2001, 14(3): 70-74.)
- [3] 田晶,翟滨,徐龙权,等. 两种大豆皂苷提取方法的比较[J]. *大连轻工业学院学报*, 2002, 21(3): 172-174. (Tian J, Zhai B, Xu L Q, et al. Comparison between two extraction methods of soybean saponin[J]. *Journal of Dalian Institute of Light Industry*, 2002, 21(3): 172-174.)
- [4] 吴素萍,田立强. 大豆皂苷的生理功能及其提取纯化的研究现状[J]. *大豆科学*, 2008, 27(5): 883-887. (Wu S P, Tian L Q. Research status of extraction and purification and physiological functions of soybean saponin[J]. *Soybean Science*, 2008, 27(5): 883-887.)
- [5] 杨学东,邓志成,王晶,等. 反相高效液相色谱法制备纯化大豆异黄酮糖苷[J]. *色谱*, 2006, 24(4): 363-366. (Yang X D, Deng Z C, Wang J, et al. Preparation of soybean isoflavone glucosides by reversed-phase high performance liquid chromatography[J]. *Chinese Journal of Chromatography*, 2006, 24(4): 363-366.)
- [6] 谢明杰,宋明,邹翠霞,等. 超声波提取大豆异黄酮[J]. *大豆科学*, 2004, 23(1): 75-76, 74. (Xie M J, Song M, Zou C X, et al. Extraction on soybean isoflavone by ultrasonic wave[J]. *Soybean Science*, 2004, 23(1): 75-76, 74.)
- [7] 田晶,翟滨,徐龙权. 脱脂大豆中 B 组大豆皂苷 V 的 HPLC-MS 检测[J]. *食品科学*, 2002, 23(2): 101-103. (Tian J, Zhai B, Xu L Q. HPLC-MS assay study on determination of defatted soybean saponin V of group B[J]. *Food Science*, 2002, 23(2): 101-103.)
- [8] 毛跟年,许牡丹. 功能食品生理特征与检测技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 164. (Mao G N, Xu M D. Functional food physiological features and detection techniques [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 164.)
- [9] Shiraiwa M, Harada K, Okubo K. Composition and content of saponins in soybean seed according to variety, cultivation year and maturity [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1991, 55: 323-331.
- [10] 周建芹. 大豆异黄酮提取工艺优化及其活性研究[J]. *大豆科学*, 2007, 26(2): 276-279. (Zhou J Q. Optimization of extraction technology of soybean isoflavones and its physiological activity analysis[J]. *Soybean Science*, 2007, 26(2): 276-279.)
- [11] 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: 129-138.
- [12] Luthria D L, Biswas R, Natarajan S. Comparison of extraction solvents and techniques used for the assay of isoflavones from soybean [J]. *Food Chemistry*, 2007, 105: 325-333.
- [13] Rostagno M A, Palma M, Barroso C G. Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 522(2): 169-177.
- [14] 王英利. 超声波提取大豆异黄酮的工艺研究[J]. *化工时刊*, 2011, 25(3): 26-28, 32. (Wang Y L. Ultrasonic extraction technology research of soybean isoflavones [J]. *Chemical Industry Times*, 2011, 25(3): 26-28, 32.)
- [15] 李华,李丹. 超声辅助法提取分离大豆皂苷的实验研究[J]. *食品工业科技*, 2007, 28(5): 168-171. (Li H, Li D. Ultrasound-assisted extraction of soybean saponins from waste residue of the soybeans [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007, 28(5): 168-171.)
- [16] 王艳,张铁军. 微波萃取技术在中药有效成分提取中的应用[J]. *中草药*, 2005, 36(3): 470-473. (Wang Y, Zhang T J. Microwave extraction technology in the application of the TCM effective components extraction[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2005, 36(3): 470-473.)
- [17] Ganzler K. Microwave: Extraction a novel sample preparation method for chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 1986,

- 371;299-306.
- [18] 刘中华,赵锦慧,梁少君.微波辅助提取豆粕中大豆异黄酮[J].大豆科学,2012,31(6):993-995.(Liu Z H,Zhao J H,Liang S J. Microwave-assisted extraction of soybean isoflavone from soybean meal[J]. Soybean Science,2012,31(6):993-995.)
- [19] 李侠,刘振春,马娜,等.微波辅助乙醇提取大豆异黄酮的工艺研究[J].安徽农业科学,2011,39(34):21335-21337.(Li X,Liu Z C,Ma N,et al. Study on extraction process of isoflavone from soybean by microwave assisted and ethanol extraction method[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39 (34): 21335-21337.)
- [20] 李华.大豆皂苷提取方法的比较[J].食品科技,2008,33(1):122-125.(Li H. Comparison among different extraction methods of soybean saponin[J]. Food Science and Technology,2008,33(1):122-125.)
- [21] 徐瑞超,董自亮.响应面法优化大豆异黄酮闪式提取工艺研究[J].成都中医药大学学报,2012,35(1):48-51.(Xu R C,Dong Z L. Optimization of homogenated extraction of soybean isoflavones from soybean using response surface methodology [J]. Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2012, 35 (1):48-51.)
- [22] 汪海波,刘大川,李永明,等.酸水解法提取大豆异黄酮甙元工艺研究[J].食品科学,2003,24(4):98-101.(Wang H B,Liu D C,Li Y M,et al. Study on the processing of extracting soy isoflavone aglycone by acid hydrolysis[J]. Food Science,2003,24(4):98-101.)
- [23] 张炳文,宋永生,郝征红,等.大豆异黄酮酸水解工艺的研究探讨[J].中国粮油学报,2003,18(3):44-46,50.(Zhang B W,Song Y S,Hao Z H,et al. Condition optimization for acid hydrolyzing soybean isoflavones [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association,2003,18(3):44-46,50.)
- [24] Rostagno M A,Araujo J M,Sandi D. Supercritical fluid extraction of isoflavones from soybean flour[J]. Food Chemistry,2002,78:111-117.
- [25] Chang L H,Cheng Y C,Chang C M. Extracting and purifying isoflavones from defatted soybean flakes using superheated water at elevated pressures[J]. Food Chemistry,2004,84:279-285.
- [26] 杨荣平,王宾豪,方艾权,等.大孔树脂分离葛根总黄酮工艺优化[J].中成药,2004,26(10):784-788.(Yang R P,Wang B H,Fang A Q,et al. Optimization technique in separation of the total flavonoid from radix puerariae with macroporous resin[J]. Chinese Traditional Patent Medicine,2004,26(10):784-788.)
- [27] 阮洪生,秦学功,陈志宝,等.大孔吸附树脂富集豆粕中大豆异黄酮的工艺研究[J].黑龙江八一农垦大学学报,2007,19(5):72-76.(Ruan H S,Qin X G,Chen Z B,et al. Study on purification of soybean isoflavones with macroporous resin from soybean residue [J]. Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University,2007,19(5):72-76.)
- [28] 刘焯,陈波,姚守拙.大孔吸附树脂分离纯化4种主要大豆异黄酮[J].中南药学,2007,5(4):289-291.(Liu Y,Chen B,Yao S Z. Isolation of 4 major soybean isoflavones with macroporous resins[J]. Central South Pharmacy,2007,5(4):289-291.)
- [29] 苏宝根,马杰,吴彩娟,等.高含量大豆皂苷的制备工艺研究[J].农业工程学报,2007,23(10):241-245.(Su B G,Ma J,Wu C J,et al. Preparation of high content soyasaponins by column chromatography and crystallization[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering,2007,23(10):241-245.)
- [30] 田晶,卢明春,苏志国,等. AB-8 树脂法提取大豆皂苷的研究[J].食品与发酵工业,2000,26(1):16-18.(Tian J,Lu M C,Su Z G,et al. The study on extraction of soybean saponin using AB-8 resin [J]. Food and Fermentation Industries, 2000, 26 (1): 16-18.)
- [31] Yeo K E,Cho S B,Kim W J. Separation of isoflavones from defatted soybean flour using amberlite XAD-2 [J]. Food Science and Biotechnology,2003,6:670-674.
- [32] Cho S Y,Lee Y N,Park H J. Optimization of ethanol extraction and further purification of isoflavones from soybean sprout cotyledon [J]. Food Chemistry,2009,117:312-317.
- [33] 王东冬,师文添,赵大云.阳离子树脂纯化大豆皂苷研究[J].上海交通大学学报(农业科学版),2007,25(4):356-362.(Wang D D,Shi W T,Zhao D Y. Research on cation exchange resin applied in soyasaponin purification [J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science), 2007, 25 (4): 356-362.)
- [34] Xu L,Lamb K,Layton L,et al. A membrane-based process for recovering isoflavones from a waste stream of soy processing [J]. Food Research International,2004,37:867-874.
- [35] 井乐刚,张永忠.大豆乳清中蛋白质和异黄酮的超滤分离技术[J].应用生态学报,2006,17(10):1993-1995.(Jing L G,Zhang Y Z. Separation of protein and isoflavone in soybean whey by ultra-filtration [J]. Chinese Journal of Applied Ecology,2006,17(10):1993-1995.)
- [36] 黄才欢,汪勇,欧仕益,等.无机膜超滤法制备大豆异黄酮的研究[J].中国油脂,2006,31(4):53-55.(Huang C H,Wang Y,Ou S Y,et al. Preparation of soybean isoflavone by inorganic UF membrane [J]. China Oils and Fats,2006,31(4):53-55.)
- [37] 赵冬梅,刘凌,张京健.黄浆水中功能性成分和主要污染物在组合膜分离中的再分布[J].食品与发酵工业,2006,32(5):134-137.(Zhao D M,Liu L,Zhang J J. The reassignment of the functional constitutes and main pollutants in the waste water of bean curd separated by combined membranes [J]. Food and Fermentation Industries,2006,32(5):134-137.)
- [38] Masaru M,Akio O. β -glucosidases from soybeans hydrolyze daidzin and genistin [J]. Journal of Food Science,1993,58:144-147.
- [39] 姚开,贾冬英,何强,等.大豆异黄酮主要单体组分的分离方法[J].四川大学学报(工程科学版),2004,36(3):77-80.(Yao K,Jia D Y,He Q,et al. Separation of main monomers from soybean isoflavone by column chromatography [J]. Journal of Sichuan University (Engineering Science Edition),2004,36(3):77-80.)
- [40] 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(2):17-18.(Huang X D. Isolation and identification of flavonoids from soybean dregs [J]. Shanxi Food Industry,2003(2):17-18.)
- [41] 黄贤校,谷克仁,赵一凡.大豆低温脱溶粕中两种异黄酮单体分离与结构鉴定[J].粮食与油脂,2006(10):3-7.(Huang X X,Gu K R,Zhao Y F. Isolation and structure confirm of two isofla-

- vones in defatted soybean meal[J]. *Cereals & Oils*, 2006(10): 3-7.)
- [42] 李贺,宋冰,郑士梅,等.大豆皂苷薄层色谱检测展开剂的改进[J]. *安徽农学通报*, 2012, 18(1): 43-45. (Li H, Song B, Zheng S M, et al. Improvement of the developing solvent of thin layer chromatograph for soybean saponin[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2012, 18(1): 43-45.)
- [43] 曹雪丽. 高速逆流色谱分离技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 188-189. (Cao X L. High-speed countercurrent chromatography separation technology and application[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 188-189.)
- [44] 曲丽萍, 宓鹤鸣, 范国荣, 等. 高速逆流色谱法分离制备淡豆豉中大豆素和染料木素[J]. *中草药*, 2006, 37(3): 375-377. (Qu L P, Mi H M, Fan G R, et al. Separation and preparation of daidzein and genistein from semen *Sojae praeparatum* by high-speed countercurrent chromatography[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2006, 37(3): 375-377.)
- [45] Du Q Z, Li Z H, Ito Y. Preparative separation of isoflavone components in soybeans using high-speed counter-current chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 923: 271-274.
- [46] Yang F Q, Ma Y, Ito Y. Separation and purification of isoflavone from a crude soybean extract by high-speed counter-current chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2001, 928: 163-170.
- [47] 吴永慧, 贾竞夫, 唐波, 等. 高速逆流色谱分离大豆皂苷和异黄酮[J]. *中国粮油学报*, 2010, 25(12): 24-31. (Wu Y H, Jia J F, Tang B, et al. Separation of soybean isoflavones and soyasaponins by high-speed countercurrent chromatography[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2010, 25(12): 24-31.)
- [48] 曲丽萍, 宓鹤鸣, 范国荣, 等. RP-HPLC 制备色谱法分离淡豆豉中高纯度异黄酮苷元[J]. *中药材*, 2005, 28(12): 1062-1063. (Qu L P, Mi H M, Fan G R, et al. Preparation of soybean isoflavone aglycones by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography from semen *Sojae praeparatum*[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2005, 28(12): 1062-1063.)
- [49] 曲丽萍, 范国荣, 宓鹤鸣, 等. 反相高效液相制备色谱法分离淡豆豉中的大豆皂苷、黄豆皂苷、染料木皂苷[J]. *第二军医大学学报*, 2006, 27(3): 325-326. (Qu L P, Fan G R, Mi H M, et al. Separation of soybean isoflavone glucosides from semen *Sojae praeparatum* by preparative reversed-phase high performance liquid chromatography[J]. *Academic Journal of Second Military Medical University*, 2006, 27(3): 325-326.)
- [50] 谷利伟, 谷文英, 陶冠军. 大豆胚芽中大豆皂甙 B 的分离与鉴定[J]. *中国粮油学报*, 2001, 16(2): 37-40. (Gu L W, Gu W Y, Tao G J. Extraction and identification of soyasaponin B from soy germs[J]. *Chinese Cereals and Oils Association*, 2001, 16(2): 37-40.)
- [51] 师文添, 于学雷, 袁建, 等. 从大豆胚芽中分离纯化大豆皂苷的研究[J]. *中国粮油学报*, 2009, 24(1): 25-29. (Shi W T, Yu X L, Yuan J, et al. Isolation and purification of soy saponins from soybean hypocotyls[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2009, 24(1): 25-29.)
- [52] 严明霞, 黄玉艾, 赵大云. Sephadex LH-20 凝胶层析结合液相制备色谱分离纯化大豆皂苷单体[J]. *中国食品学报*, 2013, 13(1): 165-171. (Yan M X, Huang Y A, Zhao D Y. Separation and purification of soyasaponin individuals by Sephadex LH-20 column and preparative liquid chromatography[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2013, 13(1): 165-171.)
- [53] 黄玉艾, 严明霞, 赵大云. 高速逆流色谱结合制备型高效液相色谱法分离制备大豆皂苷单体[J]. *食品科学*, 2013, 34(6): 27-32. (Huang Y A, Yan M X, Zhao D Y. Large-scale isolation and preparation of soybean saponin by high-speed countercurrent chromatography combined with preparative HPLC[J]. *Food Science*, 2013, 13(1): 165-171.)

南美大豆供应上市 美国大豆出口步伐放慢

华盛顿2月17日消息:美国农业部上周四发布的出口销售数据显示,美国玉米正在夺走大豆这个头号出口农产品的位置,因为和玉米出口需求旺盛形成对比的是,上周美国大豆的出口销售量却创下2013年6月份以来的第二低点。

美国大豆出口具有很强的季节性。在当前市场年度(9月至次年8月)的头5个月,美国大豆出口销售量创下历史同期最好水平,而现在随着主要竞争对手南美的新季大豆开始涌入世界市场,美国大豆出口也开始进入淡季。

上周美国大豆新增销售量只有区区17.36万t,比前一周骤降七成。本年度迄今为止,美国大豆出口销售量接近4320万t,比美国农业部2月份供需报告里对全年出口的预测值4110万t高出5个百分点。

现在头号买家中国已经开始取消部分美国大豆订单,其他国家的买家也开始转向订购价格更为便宜的南美大豆。美国对中国售出的大豆还有179万t有待装船,此外,业内人士认为美国对未知目的地售出的510万t大豆有一半左右是卖到了中国。

美国期货国际公司的资深分析师特瑞·瑞利表示,未来一个月到一个半月时间里,买家可能会取消多达150万t的美国大豆进口订单。虽然美国新季大豆销售量不会完全停止,但是从现在到8月份,美国大豆出口将放慢为涓涓细流。在本月底之前,美国大豆实际装船出口依然会相当坚挺,进入3月份之后将大幅放慢。

摘自:中国饲料行业信息网 日期:2014-02-18