

低温豆粕中异黄酮和皂甙的微波同步提取工艺

刘中华, 胡春红, 郭 婕, 葛红莲, 李俐俐

(周口师范学院 生命科学与农学院, 河南 周口 466000)

摘要:采用微波法同步提取低温豆粕中的大豆异黄酮和皂甙,通过单因素试验和正交试验研究了微波火力、乙醇浓度、料液比和微波提取时间对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响。结果得到最佳提取工艺条件为:微波火力中火、料液比1:15、乙醇浓度70%、微波提取时间5 min,在此条件下,大豆异黄酮和皂甙提取率分别达到1.420%和0.747%。

关键词:大豆异黄酮;大豆皂甙;微波;同步提取

中图分类号:TS229

文献标识码:A

DOI:10.11861/j.issn.1000-9841.2014.03.0443

Microwave Extraction of Isoflavones and Saponins in the Low-temperature Soybean Meal

LIU Zhong-hua, HU Chun-hong, GUO Jie, GE Hong-lian, LI Li-li

(College of Life Science and Agronomy, Zhoukou Normal University, Zhoukou 466000, China)

Abstract: The soybean isoflavones and saponins from low-temperature soybean meal were extracted simultaneously by microwave method. Microwave power, the concentration of ethanol, ratio of solid to liquid, microwave time were studied on the extracting ratio of soybean isoflavones and saponins through single factor experiment and orthogonal experiment. The optimum extracting conditions were as follows: microwave power was middle fire, ratio of solid to liquid was 1:15 (g : mL), the concentration of ethanol was 70%, microwave time was 5 min, under which the extraction rate of soybean isoflavones and saponins could reach 1.420% and 0.747%, respectively.

Key words: Soybean isoflavone; Soybean saponins; Microwave; Synchronous extraction

低温豆粕为大豆提取油脂后的副产品,价格低廉,但豆粕中富含大豆异黄酮及大豆皂甙。大豆异黄酮具有很高的医用价值^[1-3],它的雌激素作用影响到激素分泌、代谢生物学活性、蛋白质合成、生长因子活性,是天然的癌症化学预防剂,同时能够改善皮肤水分及弹性状况,缓解更年期综合征和改善骨质疏松。大豆皂甙具有抗脂质氧化、抗自由基、增强免疫调节、抗凝血、抗血栓及抗糖尿病抗肿瘤和抗病毒等多种生理功能^[4-5]。而目前关于豆粕中活性成分的同步提取方面的研究还鲜有报道。因此,本试验采用具有设备简单、适用范围广、提取效率高、重现性好等特点^[6-7]的微波法通过单因素试验和正交试验,对低温豆粕中的大豆异黄酮和皂甙进行同步提取,确定出最佳的提取工艺条件,以期低温豆粕的综合利用开辟新的途径,为大豆异黄酮和皂甙的提取提供一种更节能高效的方法,也为其工业化生产提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试低温豆粕由河南周口益海粮油有限公司

提供。试验试剂葛根素标准品、齐墩果酸标准品、无水乙醇、石油醚、95%乙醇等均为分析纯。

主要仪器设备有:Galanz WD800 型微波炉(顺德市格兰仕微波炉有限公司);HH-S6 恒温水浴锅(巩义市予华仪器有限公司);PL601-L 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);DHG-9420A 型电热恒温干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);UV-5100 型紫外可见分光光度计(上海市元析仪器有限公司);HC-3018 高速离心机(安徽中科中佳科学仪器有限公司);FW 高速万能粉碎机(北京科伟永兴仪器有限公司)。

1.2 试验设计

分别进行单因素试验,对比不同乙醇浓度(50%、60%、70%、80%、90%、100%)、料液比(1:10、1:15、1:20、1:25、1:30)、微波火力(低火、解冻、中火、中高火、高火)及提取时间(1,2,3,4,5,6 min)对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响,3次重复;并在单因素的基础上采用正交试验对豆粕中的大豆异黄酮和皂甙提取条件进行优化。

1.3 方法

1.3.1 试验原料的预处理 豆粕粉碎后过80目

收稿日期:2013-10-14

基金项目:河南省教育厅自然科学基金(2006210010);河南省教育厅科学技术研究重点项目(13A416110)。

第一作者简介:刘中华(1982-),女,硕士,讲师,主要从事食品与发酵工程的教学与研究工作。E-mail:lzh_hzl@163.com。

筛,采用石油醚进行索氏脱脂(50℃、3 h、料液比 1:15),脱脂后干燥备用。

1.3.2 大豆异黄酮标准曲线的绘制 称取葛根素标准品 5.0 mg,以 95% 乙醇溶解定容至 50 mL。分别精密吸取 0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 mL 标准溶液于 10 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇定容至刻度,以 95% 乙醇为空白,于 250 nm 波长处测吸光度,以吸光度(A)对质量浓度(C)进行回归,得回归方程: $A=0.062C+0.0068(R^2=0.9979)$ 。

1.3.3 大豆皂甙标准曲线的绘制 依次精确吸取 0.1 g·mL⁻¹ 齐墩果酸甲醇溶液 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇定容至刻度,以 95% 乙醇作为空白,于 546 nm 处测定其吸光度值。以吸光度(A)对质量浓度(C)进行回归,得到方程: $A=0.027C+0.0112(R^2=0.99986)$ 。

1.3.4 大豆异黄酮和皂甙的提取及测定方法 取一定量豆粕,按比例加提取溶剂,微波处理后离心去渣得样品提取液,准确吸取样品提取液 0.5 mL 于 10 mL 容量瓶中,用 95% 乙醇定容至刻度,分别于 250 和 546 nm 处测定吸光度值。根据标准曲线计算样品中大豆异黄酮和皂甙的含量。

1.3.5 大豆异黄酮和皂甙提取率的计算

大豆异黄酮提取率(%) = 大豆异黄酮含量(g)/样品干重(g) × 100

大豆皂甙提取率(%) = 大豆皂甙含量(g)/样品干重(g) × 100

2 结果与分析

2.1 单因素对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响

2.1.1 乙醇浓度 分别以 50%、60%、70%、80%、90%、100% 不同浓度的乙醇为提取剂,微波火力为解冻,料液比为 1:20,微波提取 4 min 后,于 6 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,收集上清液,重复 3 次。结果表明,随着乙醇浓度的增大,大豆异黄酮和皂甙的提取率均呈先上后降趋势,当乙醇浓度为 70% 时提取率达到最大(图 1)。乙醇浓度超过 70% 后提取率反而下降的原因可能是随着乙醇浓度的升高,提取液的极性发生变化,不利于异黄酮和皂甙的溶出。因此,最佳乙醇浓度为 70%。

2.1.2 料液比 采用 70% 乙醇为提取溶剂,微波火力为解冻,料液比分别为 1:10、1:15、1:20、1:25、1:30,微波提取 4 min 后,于 6 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,收集上清液,重复 3 次。

由图 2 可知,随着料液比用量的增加,大豆异黄酮和皂甙提取率逐渐增大,当料液比为 1:20 (g:mL) 时,达到最高,当料液比再增大时,大豆异

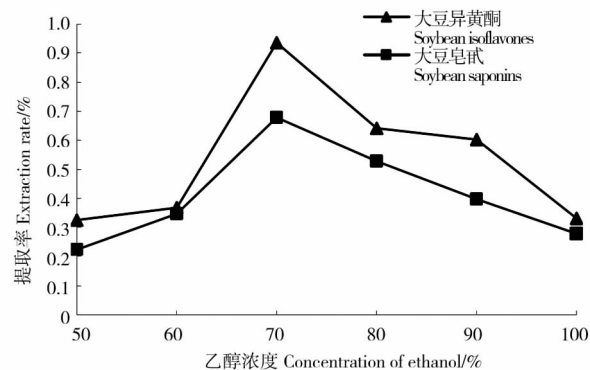


图 1 乙醇浓度对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响

Fig. 1 Effect of ethanol concentration on the extraction rate of soybean isoflavones and saponins 黄酮和皂甙提取率逐渐降低。因此,最佳料液比为 1:20。

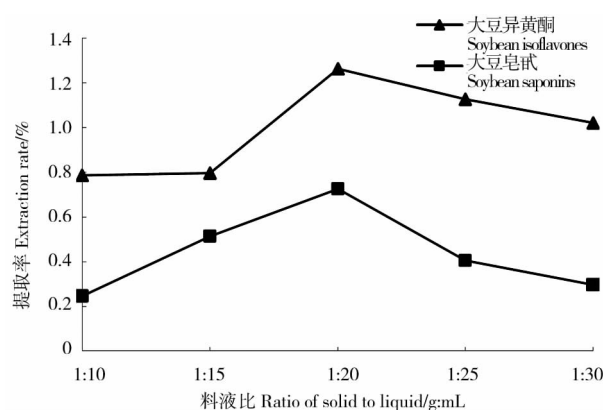


图 2 料液比对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响

Fig. 2 Effect of solid to liquid on the extraction rate of soybean isoflavones and saponins

2.1.3 微波火力 以 70% 乙醇为提取溶剂,料液比为 1:20,将微波火力分别设定为:低火、解冻、中火、中高火、高火,微波提取 4 min,于 6 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,收集上清液,重复 3 次。结果显示,随着微波火力的增加,大豆异黄酮和皂甙提取率先呈上升的趋势,当微波火力为解冻时,二者提取率达到最大值,当微波火力再增加时,提取率有下降的趋势(图 3)。原因可能是微波火力过大,会使部分大豆异黄酮和皂甙分解。因此,最佳微波火力为解冻。

2.1.4 微波提取时间 采用 70% 乙醇为提取溶剂,料液比为 1:20,微波火力为解冻,分别处理 1,2,3,4,5,6 min,然后于 6 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,收集上清液,重复 3 次。

由图 4 可知,随着微波提取时间的延长,大豆异黄酮和皂甙提取率不断增加,微波时间为 4 min 时达到最大。超过 4 min 后,大豆异黄酮和皂甙提取率逐渐下降,可能是由于长时间的高温微波处理使豆粕中的大豆蛋白变性,影响了大豆异黄酮和皂甙的溶出。因此,最佳微波提取时间为 4 min。

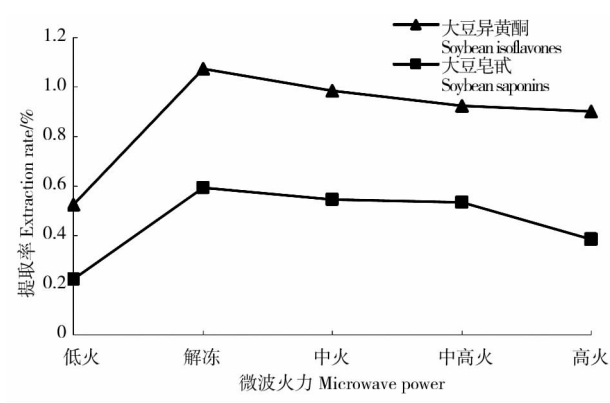


图3 微波火力对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响

Fig.3 Effect of microwave power on the extraction of soybean isoflavone and saponins

2.2 大豆异黄酮和皂甙提取工艺的优化

根据提取大豆异黄酮和皂甙的单因素试验结果,利用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计方案(表1)考察乙醇

浓度(60%、70%、80%)、微波火力(低火、解冻、中火)、料液比(1:15、1:20、1:25)、微波时间(3,4,5 min)对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响,以优化大豆异黄酮和皂甙提取的工艺参数。

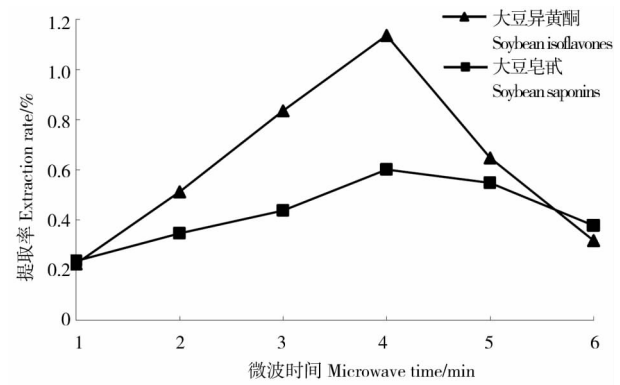


图4 提取时间对大豆异黄酮和皂甙提取率的影响

Fig.4 Effect of ethanol concentration on the extraction rate of soybean isoflavone and sapoins

表1 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

Table 1 Results of orthogonal test

试验号 Experiment number		因素 Factors				大豆异黄酮提取率 Soybean isoflavone extraction/%	大豆皂甙提取率 Soybean saponins extraction/%
		A 乙醇浓度 Concentration of ethanol/%	B 料液比 Ratio of solid to liquid/g:mL	C 微波时间 Microwave time/min	D 微波火力 Microwave power		
1		1(60%)	1(1:15)	1(3)	1(低火)	1.152	0.282
2		1	2(1:20)	2(4)	2(解冻)	1.181	0.336
3		1	3(1:25)	3(5)	3(中火)	1.222	0.582
4		2(70%)	1	2	3	1.373	0.504
5		2	2	3	1	1.288	0.717
6		2	3	1	2	1.064	0.586
7		3(80%)	1	3	2	1.268	0.423
8		3	2	1	3	1.142	0.372
9		3	3	2	1	1.207	0.271
异黄酮 Isoflavone	k_1	1.185	1.264	1.119	1.216		
	k_2	1.242	1.204	1.254	1.171		
	k_3	1.206	1.164	1.259	1.246		
	R	0.057	0.100	0.140	0.075		
皂甙 Saponins	k_1	0.400	0.403	0.413	0.423		
	k_2	0.602	0.475	0.370	0.448		
	k_3	0.355	0.480	0.574	0.486		
	R	0.247	0.077	0.204	0.063		

表2 大豆异黄酮的方差分析结果

Table 2 Results of analysis of variance of soybean isoflavones

因素 Factors	偏差平方和	自由度	F 比	$F_{0.1}$ (F 临界值)	显著性 Significance
	Sum of square of deviations	Degree of freedom	F ratio	F crit	
A	0.002	2	0.667	9.000	*
B	0.016	2	5.333		
C	0.048	2	16.000		
D	0.003	2	1.000		
误差 Error	0.00	2			

表 3 大豆皂甙的方差分析结果

Table 3 Results of analysis of variance of soybean saponins

因素 Factor	偏差平方和 Sum of square of deviations	自由度 Degree of freedom	F 比 F ratio	F _{0.1} (F 临界值) F crit	显著性 Significance
A	0.104	2	17.333	9.000	*
B	0.011	2	1.833		
C	0.069	2	11.500		*
D	0.006	2	1.000		
误差 Error	0.01	2			

由表 1 可知,在试验设计范围内,影响豆粕中大豆异黄酮提取率的因素主次顺序是:提取时间(C) > 料液比(B) > 微波火力(D) > 乙醇浓度(A),其中优化组合为 A₂B₁C₃D₃;影响豆粕中大豆皂甙提取率的因素主次顺序是:乙醇浓度(A) > 提取时间(C) > 料液比(B) > 微波火力(D),其中优化组合为 A₂B₃C₃D₃。其中因素 A、C、D 在两个指标下分析结果一致,分别取为 A₂、C₃、D₃。由表 3 和表 4 方差分析结果可知,因素 B 对大豆异黄酮和大豆皂甙的影响都不显著,其对异黄酮的影响大小排第二位,对皂甙的影响排第三位,为次要因素;综合考虑因素 B 应取 B₁。因此本试验的最优提取条件为 A₂B₁C₃D₃,即乙醇浓度为 70%,料液比为 1:15,提取时间为 5 min,微波火力为中火。为验证所优化提取工艺的可靠性和重复性,在所确定的豆粕大豆异黄酮和皂甙提取最佳条件下,进行验证性试验,得出大豆异黄酮提取率为 1.420%,大豆皂甙提取率为 0.747%,结果表明该工艺稳定可行。

3 结 论

试验以低温豆粕为原料,采用微波法对大豆异黄酮和皂甙进行提取,通过单因素试验和正交试验得出最佳提取条件为:微波火力中火,乙醇浓度 70%,料液比 1:15(g:mL),提取时间 5 min,此条件下大豆异黄酮提取率为 1.420%,大豆皂甙提取率为 0.747%。采用微波法同步提取大豆异黄酮和皂甙,可以达到综合利用豆粕资源的目的。同时,此法较传统的有机溶剂提取法大豆异黄酮、大豆皂甙的提取率有所提高,提取时间也大大缩短^[8-9],适合工业化生产。

参考文献

- [1] 罗跃中,李忠英.大豆异黄酮的研究概况[J].安徽农业科学,2010,38(12):6506-6508. (Luo Y Z, Li Z Y. Research summary of soybean isoflavones[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2010,38(12):6506-6508.)
- [2] 李南薇,唐晓恩,钟银链.大豆异黄酮提取和应用研究进展[J].广东农业科学,2010,37(5):118-120. (Li N W, Tang X E, Zhong Y L. Recent review studies of extraction and application on soybean isoflavones[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2010, 37(5):118-120.)
- [3] 龚军英,宋辉,马文红,等.大豆异黄酮的研究进展[J].医学创新研究,2008,5(23):38-41. (Gong J Y, Song H, Ma W H, et al. Recent review studies on soybean isoflavones[J]. Medical Innovation Research, 2008,5(23):38-41.)
- [4] 王储炎,艾启俊,阚建全,等.大豆皂苷的研究进展[J].粮食与食品工业,2005,12(6):31-34. (Wang C Y, Ai Q J, Gan J Q, et al. Research and development of soyasaponins[J]. Cereal and Food Industry, 2005,12(6):31-34.)
- [5] 刘素杰,关乃朋,闫海滨.大豆粕的营养价值及其品质评定[J].现代畜牧兽医,2009(10):30-32. (Liu S J, Guan N P, Yan H B. Nutritional and sensory evaluation of soybean meal[J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2009(10):30-32.)
- [6] 陈猛,袁东星,许鹏翔.微波萃取法研究进展[J].分析测试学报,2009,18(2):82-85. (Chen M, Yuan D X, Xu P X. Research progress on microwave extraction[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2009,18(2):82-85.)
- [7] 李扬,赵树法,李婷,等.微波萃取技术在食品工业中的应用[J].中国酿造,2006(9):5-8. (Li Y, Zhao S F, Li T, et al. The application of microwave-assisted extraction technique in food industry[J]. China Brewing, 2006(9):5-8.)
- [8] 蔡力,郁建平,占建波.豆粕中大豆异黄酮提取纯化工艺优化研究[J].食品科学,2008,29(4):185-188. (Cai L, Yu J P, Zhan J B. Study on extraction technology of isoflavones from soybean residue[J]. Food Science, 2008,29(4):185-188.)
- [9] 杨秀丽,曹艳萍.大豆皂甙提取工艺的研究[J].食品科学,2006,12(27):492-495. (Yang X L, Cao Y P. Study on extraction technology of soybean saponins[J]. Food Science, 2006,12(27):492-495.)