

微波预处理提取大豆异黄酮的研究

钱丽丽, 左锋, 刘志明

(黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江 大庆 163319)

摘要: 本文以低温脱脂豆粕为原料, 利用微波对其进行前处理。通过四个单因素实验选择最佳实验条件。采用四因素三水平的正交实验确定大豆异黄酮提取比较合适的条件是: 微波处理 15s, 65%的乙醇水溶液, 1:15 的料液比, 50℃下提取 45min。提取率可达到 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, 是一种有效的处理方法。

关键词: 大豆异黄酮; 微波处理; 提取

中图分类号: TS218; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2007)01-0038-03

Extraction of Soybean Isoflavones by Microwave Pretreatment

QIAN Li-li, ZUO Feng, LIU Zhi-ming

(Department of Food Science, August-first Land Reclamation University, Daqing 163319, China)

Abstract: The paper studied the extraction technology of isoflavones from the defatted soybean meal that was pre-treated by microwave. Through the orthogonal experiment ($L_9(3^4)$), the optimal microwave treatment time, alcohol concentration in the alcohol aqueous solution, the ratio of solvent to the defatted soybean, temperature and the extraction time were 15s, 65%, 1/15, 45min and 50℃, respectively, under which the extracting rate was 0.78%. The microwave treatment can enhance the extracting rate of isoflavones from soybean.

Key words: Microwave; Isoflavone; Extract

大豆异黄酮是大豆中存在的一类主要生物活性物质。目前发现的大豆异黄酮共有12种, 分别以游离态大豆异黄酮和结合态大豆异黄酮两种形式存在。近年来, 流行病学与动物临床医学研究表明大豆异黄酮具有弱雌激素活性、抗氧化活性、抗溶血活性和抗真菌活性, 能有效地预防和抑制白血病、骨质疏松、胃癌、乳腺癌和前列腺癌等多种疾病的发生, 尤其是对乳腺癌和前列腺癌有积极的预防和治疗作用^[1-4]。国内关于大豆异黄酮的制备提取工作近年来有很大的发展, 但主要局限于溶剂法提取大豆异黄酮, 存在着提取时间长, 溶剂用量较大, 同时提取其他干扰成分较多等不足, 本文主要研究微波法预处理提取大豆异黄酮的工艺研究, 为工业生产提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

脱脂豆粕(九三油脂厂)、大豆异黄酮标准品(美国Sigma公司, 含量99.999%)、其他试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

KD23B-c型微波炉、UV-754型紫外检测器、HH-4型恒温振荡水浴锅。

收稿日期: 2006-07-13

通讯作者: 刘志明

1.3 实验方法

1.3.1 乙醇加热水浴恒温振荡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, 乙醇加热水浴恒温振荡法提取大豆异黄酮的最佳提取条件为: 乙醇浓度60%; 料液比1:18(W/V); 提取温度50℃; 提取时间2h; 提取次数2次。

称取1g脱脂豆粕(过40目筛), 加入60%的乙醇溶液18mL, 在50℃下回流提取2h, 同法提取2次, 合并滤液, 定容后测大豆异黄酮含量, 提取率为0.51%。

1.3.2 标准曲线的制备

精密称取大豆异黄酮标准品1mg, 定容于25mL容量瓶中。然后分别精密吸取一定量标准溶液于50mL容量瓶中, 定容后在260nm测定其吸光度值, 对吸光度值与浓度关系进行相关分析, 绘制标准曲线。见图1。

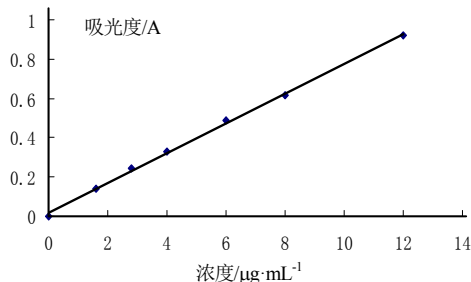


图1 大豆异黄酮的标准曲线

试验表明,大豆异黄酮浓度在 0~12 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内符合比尔定律,线形回归方程为 $y=0.0755x+0.0205$, 相关系数 $r^2=0.9980$ 。

1.3.3 大豆异黄酮的测定方法

将提取液在 3000r/min 离心 15min,用 95%乙醇定容至 50mL,在从中吸取一定量体积的提取液,稀释至标准曲线范围内,同时用空白作对照,在 260nm 处测得吸光值,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(%)=(提取液中大豆异黄酮总量/所用脱脂豆粕量)*100%

1.3.4 超声波法提取大豆异黄酮的方法

称取 4 份 1g 脱脂豆粕(过 40 目筛),分别加入 6mL 蒸馏水,在微波炉中以微波低档处理 10~25s,加入 50~80%乙醇,料液比 1:10~1:25,50~65 $^{\circ}\text{C}$ 条件下 1h 进行提取。采用 2 次提取,合并滤液,定容后测定大豆异黄酮含量。

2 结果与讨论

2.1 超声波提取工艺条件的确定

在单因素实验基础上,按表 1 的四个因素作正交实验,从中选择最佳工艺条件,结果如表 2。

表1 正交因素水平表 $L_3(3^4)$

水平	A.微波时间/s	B.料液比/(W/V)	C.乙醇浓度/%	D.温度/ $^{\circ}\text{C}$
1	10	1:10	55	50
2	15	1:15	60	55
3	20	1:20	65	60

表2 正交实验结果及其极差分析结果

试验号	A	B	C	D	提取率/%
1	10	1:10	55	50	0.49
2	10	1:15	60	55	0.67
3	10	1:20	65	60	0.55
4	15	1:10	60	60	0.63
5	15	1:15	65	50	0.75
6	15	1:20	55	55	0.61
7	20	1:10	65	55	0.53
8	20	1:15	55	60	0.55
9	20	1:20	60	50	0.56
K_1	1.71	1.65	1.96	1.81	
K_2	1.99	1.97	1.87	1.82	
K_3	1.64	1.73	1.83	1.73	
k_1	0.57	0.55	0.65	0.60	
k_2	0.66	0.65	0.62	0.61	
k_3	0.55	0.57	0.61	0.58	
R	0.11	0.10	0.04	0.03	

主次因素: ABCD; 优化结果: $A_2B_2C_1D_2$

表 2 可知微波处理对大豆异黄酮提取率有重要影

响,是最主要因素。由小到大影响提取率的四个因素为: 温度 \rightarrow 乙醇浓度 \rightarrow 料液比 \rightarrow 微波时间。豆粕中提取大豆异黄酮的优化条件为 $A_2B_2C_1D_2$, 即微波时间为 15s, 乙醇浓度为 65%, 料液比为 1:15, 提取温度和时间分别为 50 $^{\circ}\text{C}$ 和 45min, 大豆异黄酮提取率可达 0.75%以上。

2.2 验证实验

通过正交实验确定的最佳提取条件,测定大豆异黄酮含量,验证是否在此条件下提取的大豆异黄酮含量为最高。采用所选的最佳组合条件分别进行 3 次验证实验,实验结果为大豆异黄酮三次平均提取率 0.78%。其提取率比未用微波处理的乙醇提取法的最佳提取率(0.51%)提高 0.27%。

可见采用微波预处理提取大豆异黄酮具有提高浸提率,缩短浸提时间,节约能耗等优点。大豆异黄酮提取率提高原因可由两方面解释,一是微波前处理时产生的交频电磁场可使提取液中性分子取向变化导致分子旋转、振动,加剧了体系中分子的碰撞频率,使其束缚异黄酮分子的力减小,使异黄酮分子进入活化状态而极易溶出。另一方面是由于分子的剧烈的运动而导致细胞壁及细胞内部结构的破坏从而导致异黄酮较之常法提取容易溶出。

3 结束语

微波前处理对提高大豆异黄酮提取率起到显著成效,不仅达到了提高大豆异黄酮提取率,而且缩短了提取时间,减少了由于长时间浸提而导致的蛋白质、糖类等其他成分的溶出,为后续的进一步纯化带来了方便。有广阔的工业发展前景。

参考文献

- [1] Kritz-Silverstein D, Goodman-Gruen D L. Usual dietary isoflavone intake, bone mineral density, and bone metabolism in postmenopausal women. *J Womens Health Gend Based Med*, 2002,11,(1):69-78
- [2] Arena S, Rappa C, Del Frate E, Cenci S, Villani C. A natural alternative to menopausal hormone replacement therapy. *Phytoestrogens*. *Minerva Ginecol*, 2002,54,(1): 53-57
- [3] Patel R P, Boersma B J, et al. Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of peroxy radical scavenging. *Free Radic Biol Med*, 2001,31,(12): 1570-1581.
- [4] 井乐刚, 张永忠. 大豆异黄酮在保健食品和医药中应用的研究进展[J]. *植物学通报*, 2002,19,(6):692-697