

## · 论 著 ·

## 正交设计法对大豆中提取异黄酮的工艺研究

谢彦兵, 肖红兵

**[摘要]** 目的 探讨用乙醇提取大豆中异黄酮的工艺。方法 大豆粉过 40 目筛, 以石油醚脱脂后通过单因素实验和正交实验改变不同的提取工艺选取最佳提取条件。在 70 ℃ 的条件下, 用 70% 乙醇水溶液, 以 20:1 (v/w) 的物料比, 提取 2 次, 时间分别为 2 h 和 1.5 h。结果 从大豆中所得粗异黄酮含量为 0.4%, 异黄酮的提取率可达 92%。结论 该方法可行, 工艺可靠。

**[关键词]** 大豆; 异黄酮; 乙醇浸提法; 萃取率。

**[中图分类号]** R284.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-271X(2011)01-0054-03

## Technical study on extraction of isoflavone from soybean using orghogonal design

XIE Yan-bing, XIAO Hong-bing. Medical Device Division, 184 Hospital of PLA, Yingtan, Jiangxi 335000, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the technics of extraction of isoflavone from soybean. **Methods** After the soybean power was passed through 40 mesh sieve and degrease with aether, the good condition was selected by single factor and orghogonal experiment. The good condition included that extraction was done at 70℃, raw material and liquor ratio at 1:20, and with ethanol solution concentration of 70%. **Results** The content of isoflavone in the crude soybean was 0.4%, and the extraction rate was 92%. **Conclusion** The technics is reliable.

**[Key words]** soybean; isoflavone; ethanol extaction; extraction rate

大豆异黄酮是存在于大豆中的一类具有营养价值和治疗作用的非固醇类成分, 被称为植物雌激素, 有很强的生物活性, 具有抑制肿瘤生长、治疗心血管疾病、预防和治疗骨质疏松以及缓解妇女更年期综合症等多种生理保健作用, 其独特的药用价值为大豆的开发应用展示了广阔的前景<sup>[1-2]</sup>。本研究以大豆为原料, 用乙醇提取其中的异黄酮, 先通过单因素实验选用初步的优化条件后再正交实验得到最佳提取条件, 为大豆异黄酮产业化提供基础资料。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 大豆异黄酮标准品, 陕西省西安市中鑫生物技术有限公司提供; 乙醇, 西安三浦精细化工厂提供; 石油醚, 天津市富宇精细化工有限公司提供; 乙酸乙酯, 苏州市第二化工研究所提供; 所有试剂均为分析纯。

**1.2 仪器** HL-2022 多功能食品粉碎机(上海海菱电器有限公司); 分样筛 目数: 40(浙江上虞市道墟筑仪器厂); TD 型电子天平(余姚金诺天平仪器

有限公司); JJ-1 精密增力电动搅拌器(上海浦东物理光学仪器厂); 电热恒温水浴锅(北京科技永兴仪器有限公司); ZFQ 85A 旋转蒸发器(上海医械专机厂); 760CRT 双光束紫外/可见分光光度计(上海棱光技术有限公司)。

## 1.3 方法

**1.3.1 异黄酮的提取** 选取籽粒饱满的大豆种子, 洗净, 干燥, 粉碎机粉碎后, 过 40 目筛。准确称取 12.00 g 大豆粉, 加入 20 ml 石油醚, 煮沸下回流脱脂 1 h。样品豆粉抽干, 置于培养皿中<sup>[3]</sup>。准确称取干燥样品 10.00 g 置于三口烧瓶中, 加入 60% ~ 80% 的乙醇水溶液, 在 60 ~ 80 ℃ 下搅拌提取 1 ~ 3 小时, 提取 2 次, 物料比为 1:5 ~ 1:20, 搅拌速度为 2000 r/min。浸提后的混合物进行减压抽滤, 得到淡黄色的澄清滤液。合并滤液, 转移到 500 ml 的蒸馏瓶中减压蒸馏, 温度控制在 60 ℃ 左右(这样既可以蒸出乙醇, 又可以蒸出水分)。将蒸馏后的粗品水分散液 100 ml, 以 100 ml 乙酸乙酯萃取两次, 异黄酮富集于乙酸乙酯中, 合并两次乙酸乙酯萃取液, 减压蒸去乙酸乙酯, 得异黄酮浓缩液。

**1.3.2 异黄酮标准曲线的建立**<sup>[4-5]</sup> 大豆异黄酮标准品经紫外 200 ~ 400 nm 扫描后得知, 在 260 nm 处

作者简介: 谢彦兵(1968-), 男, 浙江永康人, 本科, 主管药师, 从事药学专业

作者单位: 335000 江西鹰潭, 解放军 184 医院药械科

本品出现最大吸收峰。称取 40% 的标准品 1.079 g 溶于 95% 的乙醇溶液,于 100 ml 容量瓶中定容,摇匀,作为异黄酮的标准溶液。吸取 1.00 ml 上述异黄酮的标准溶液,置于 100 ml 的容量瓶中,用 95% 的乙醇定容,摇匀。再分别取 0 ml、2 ml、4 ml、6 ml、8 ml、10 ml、12 ml 用 95% 乙醇稀释于 25 ml 容量瓶中。用 0.5 cm 的石英比色皿于 260 nm 处测定吸光度。

**1.3.3 提取样品含量的测定** 准确量取一定体积的样品于容量瓶中,加入 95% 乙醇定容,摇匀。于 260 nm 处测其吸光度。根据标准曲线和稀释倍数计算出样品中总异黄酮的质量。

**1.3.4 最佳提取条件的确定**

**1.3.4.1 单因素实验<sup>[6]</sup>** 在其他条件固定下分别考察温度、提取时间、乙醇浓度、物料比对提取效果的影响。

**1.3.4.2 正交实验** 由单因素试验结果设计 4 因素 3 水平的正交试验,如表 1 所示。

表 1 正交试验表头设计

水平	提取温度 (℃) A	提取浓度 (%) B	物料比 (g/ml) C	提取时间 (h) D
1	60	60	1: 8	1
2	70	70	1: 10	2
3	80	80	1: 20	3

**1.3.4.3 数据处理方法<sup>[7]</sup>** 对单因素实验通过作图分析,正交实验通过极差实验分析<sup>[8]</sup>。

**2 结果**

**2.1 大豆异黄酮标准曲线的绘制** 以大豆异黄酮标准品的浓度(μg/ml)为自变量,吸光度 A 为变量,得到回归方程为: $Y=0.0925X-0.0418$ ,见图 1。

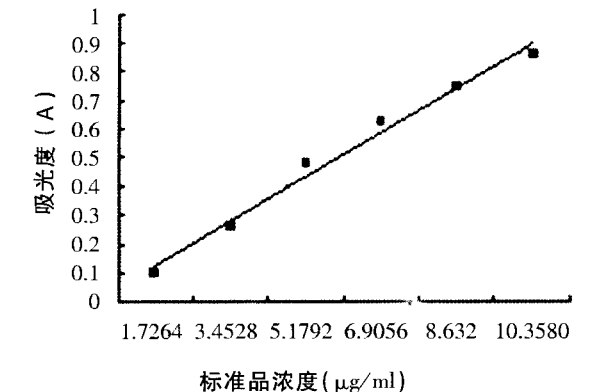


图 1 标准曲线

**2.2 单因素试验条件的选择**

**2.2.1 提取温度对提取效果的影响** 通过实验汇总,以提取的温度为横坐标,提取的得率为纵坐标,如图 2 所示;随着工艺中提取温度的升高,大豆异黄酮的提取率增大,在 80 ℃ 时提取率达到最大,而后随温度升高后提取率反而下降,说明高温有利于异黄酮提取;但温度过高异黄酮又会分解为其他物质,从而影响异黄酮的提取。

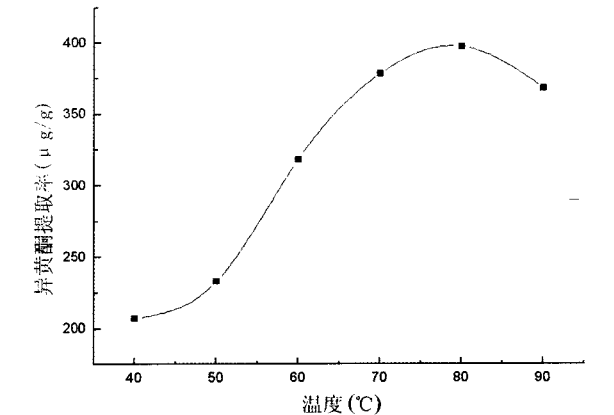


图 2 温度对大豆异黄酮提取率的影响

**2.2.2 提取时间对提取率的影响** 通过实验汇总,以提取的时间为横坐标,提取的得率为纵坐标,如图 3 所示,提取时间越长,提取率越高,但达到 2 h 后,提取率随时间变化非常缓慢,同时考虑时间和效率的关系,确定理想的浸提时间为 2 h。

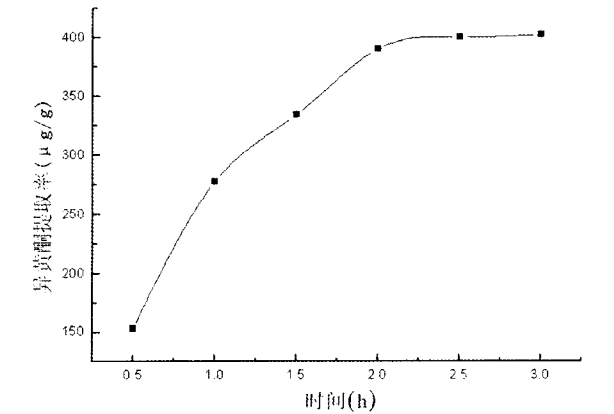


图 3 提取时间对提取率的影响

**2.2.3 提取的乙醇浓度对提取结果的影响** 以提取乙醇的浓度为横坐标,提取的得率为纵坐标,如图 4 所示,乙醇的浓度对粗异黄酮的提取率有显著影响,乙醇浓度为 70% 时总异黄酮的提取率最高。乙醇浓度太高或太低都与异黄酮的极性不一致,不利于其溶出。

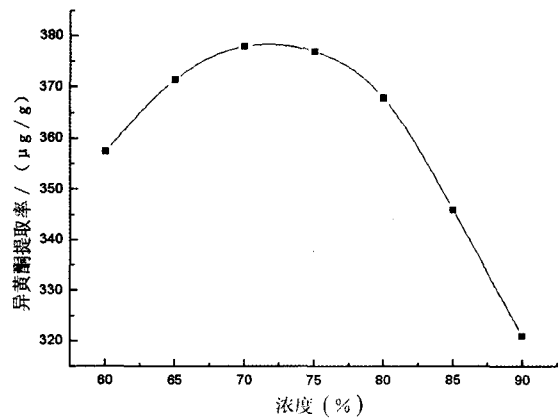


图 4 乙醇浓度对提取率的影响

2.2.4 不同物料比对提取率的影响 以提取物料 (提取的固液比) 比值为横坐标, 提取的得率为纵坐标, 如图 5 所示, 物料比较小时, 随着溶剂用量的增加, 异黄酮的得率增加, 但当物料比增加到大 于 1:20 后, 得率曲线上升的趋势变缓。

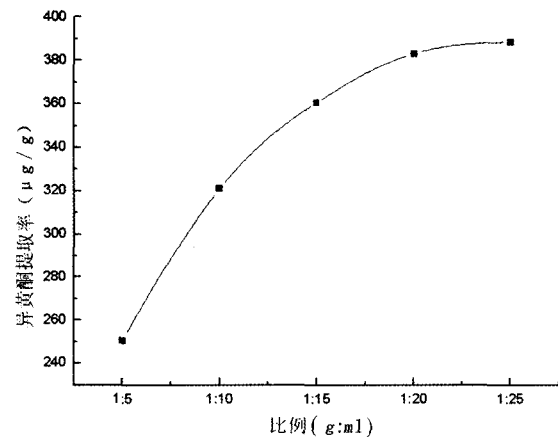


图 5 不同物料比对提取率的影响

2.3 正交试验结果 对从大豆中提取异黄酮的最佳提取条件进行正交实验, 数据分析见表 2。从正交实验结果可以看出, 4 因素的最佳值为: A2B2C3D2。即乙醇为溶剂, 从黄豆中提取大豆异黄酮的最佳工艺条件为: 粉碎后的黄豆粉过 40 目筛, 乙醇浓度 70%, 物料比为 1:20, 70℃提取 2 次, 时间分别为 2 h 和 1.5 h, 搅拌速度为 2000 r/min。乙醇浓度和物料比对总异黄酮的提取率有显著性影响, 其影响顺序为: 物料比 > 乙醇浓度 > 提取温度 > 提取时间。

3 讨论

通过实验证明, 大豆异黄酮提取的最佳工艺条件为: 在 70℃的条件下, 用 70% 乙醇水溶液, 以 20:1

表 2 提取异黄酮 4 因素 3 水平正交试验表

NO.	A	B	C	D	提取得到的大豆异黄酮 (μg/g)
1	1	1	1	1	217
2	1	2	2	2	379
3	1	3	3	3	367
4	2	1	2	3	276
5	2	2	3	1	359
6	2	3	1	2	257
7	3	1	3	2	316
8	3	2	1	3	297
9	3	3	2	1	327
K1	963	809	771	903	
K2	892	1035	982	952	
K3	940	951	1042	940	
K'1	297	270	257	301	
K'2	321	345	327	317	
K'3	313	317	347	313	
级差 R	24	75	90	16	

(v/w) 的物料比, 提取 2 次, 时间分别为 2 h 和 1.5 h。在上述条件下, 从大豆中所得异黄酮含量为 0.4%, 异黄酮的提取率可达 92%。根据单因素优化实验和正交实验结果可知, 乙醇浓度和物料比两因素对异黄酮的提取率有显著性影响。该提取条件温和, 为异黄酮产品开发提供了基础数据。其开发应用前景广阔, 但其确切的作用机制尚待进一步深入研究<sup>[9]</sup>。

【参考文献】

[1] 崔洪斌. 大豆异黄酮活性研究与应用[M]. 北京: 科学出版社, 2005, 33-115.

[2] 田 璐, 韩 锋. 大豆异黄酮研究概况[J]. 大豆通报, 2004, 2: 20-21.

[3] 荆海强, 刘兆荣, 孙 震, 等. 脱脂在异黄酮分析中的作用[J]. 食品科学, 2003, 24(1): 105-107.

[4] 鞠兴荣, 袁 建, 汪海峰. 三波长紫外分光光度法测定大豆异黄酮含量的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(5): 46-48.

[5] 许松姬, 韩春姬, 许妍姬. 轮叶党参降血脂保健饮料中总黄酮的含量测定[J]. 延边大学医学学报, 2007, 30(2): 111.

[6] 金 泉, 廉丽花, 罗惠善. 紫外分光光度法测定翻草中总黄酮的含量[J]. 延边大学医学学报, 2007, 30(4): 262.

[7] 张彩霞, 董相军, 胡凤祖. 正交试验优选珠芽蓼果实中总黄酮提取工艺[J]. 中国药房, 2008, 19(3): 186.

[8] 宋秋烨, 陈 梅, 吴启南. 淡竹叶中总黄酮提取工艺研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2007, 14(3): 46.

[9] 柯晓安, 张 舜, 王 珊, 等. 大豆异黄酮预防心血管疾病的研究进展[J]. 东南国防医药, 2009, 11(3): 235-238.

(收稿日期: 2010-09-25; 修回日期: 2010-12-31)

(本文编辑: 张仲书; 英文编辑: 王建东)