

# 大豆乳清水一级浮渣粉中大豆异黄酮的提取工艺研究

刘 军<sup>1</sup>, 鲁绪强<sup>1</sup>, 时玉强<sup>1</sup>, 李 敏<sup>1</sup>, 尹成文<sup>2</sup>, 刘代成<sup>2</sup>

(1. 山东禹王生态食业有限公司, 山东 禹城 251200; 2. 山东师范大学 生命科学学院, 济南 250014)

**摘要:**建立了一种针对大豆乳清水一级浮渣粉(SP)中大豆异黄酮的提取、分离和纯化方法。结果表明:以60%乙醇为提取溶剂,在料液比1:5、提取温度60~70℃下采用胶体磨提取2次,每次0.75 h,每100 g SP可提取干物质20 g,大豆异黄酮含量为2.08%。该20 g提取物加20 g  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 、8 g  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$ 和400 mL 95%乙醇沸腾回流1 h,过滤浓缩后可得3.05 g膏状物,大豆异黄酮含量为13.6%,除杂分离效果好。用大孔树脂ADS-21对膏状物吸附洗脱,浓缩得大豆异黄酮产品,含量为83.5%,为洗脱前膏状物的6.14倍。

**关键词:**大豆乳清水;浮渣粉;大豆异黄酮;提取工艺

中图分类号:TS209;X792

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2020)04-0115-04

## Extraction of soy isoflavones from soy whey water first stage scum powder

LIU Jun<sup>1</sup>, LU Xuqiang<sup>1</sup>, SHI Yuqiang<sup>1</sup>, LI Min<sup>1</sup>,  
YIN Chengwen<sup>2</sup>, LIU Daicheng<sup>2</sup>

(1. Shandong Yuwang Ecological Food Industry Co., Ltd., Yucheng 251200, Shandong, China;

2. College of Life Science, Shandong Normal University, Jinan 250014, China)

**Abstract:** A method for the extraction, separation and purification of soy isoflavones from soy whey water first stage scum powder (SP) was established. The results showed that with 60% ethanol as extraction solvent, under the conditions of ratio of material to liquid 1:5, milled by colloid mill at 60~70℃ for twice, 0.75 h each time, every 100 g of SP could get dry matter 20 g, and the soy isoflavones content was 2.08%. Adding 400 mL 95% ethanol, 20 g calcium phosphate and 8 g calcium bicarbonate to 20 g extract, the extract was refluxed for 1 h. After filtered and concentrated, 3.05 g paste was obtained with soy isoflavones content 13.6%, which showed good effect of impurity removal and separation. The paste was eluted by macroporous resin ADS-21, and soy isoflavones product was obtained with the content of soy isoflavones product 83.5%, which was 6.14 times of the content of sample uneluted.

**Key words:** soy whey water; scum powder; soy isoflavones; extraction process

大豆异黄酮有抗癌、抗心血管疾病、抗骨质疏松、抗老年性痴呆、抗机体免疫力下降、抗菌消炎、抗衰老等生理功能,是天然的植物保健品<sup>[1-4]</sup>。

据统计,2001年全球的大豆异黄酮需求量是

1 500 t,而每年的实有产量只有500 t<sup>[5]</sup>。2001年至今,虽然未见全球大豆异黄酮需求量市场预测的报道,但从国内外大豆异黄酮的研究来看,科学研究越来越深入,应用面不断扩展,其需求量逐年增加,供需差距会越来越大。大豆异黄酮的提取原料主要为脱脂豆粕<sup>[4,6-8]</sup>、大豆胚<sup>[9]</sup>、大豆<sup>[1,10]</sup>和豆芽<sup>[10]</sup>,生产上以脱脂豆粕为主,可用于生产大豆异黄酮的其他资源极少,是导致大豆异黄酮产量少、供需矛盾突

收稿日期:2019-09-15;修回日期:2019-12-27

作者简介:刘 军(1982),男,高级工程师,硕士研究生,主要从事大豆加工技术研究工作(E-mail)liujun@yuwangcn.com。

通信作者:鲁绪强,工程师(E-mail)luxuqiang@yuwangcn.com。

出的重要原因。

大豆分离蛋白的生产以低温脱脂豆粕为原料,低温脱脂豆粕经碱溶酸沉分离出蛋白的同时,排出大豆乳清水。大豆乳清水中经3次添加聚合氯化铝和聚丙烯酰胺絮凝后,鼓气成一、二、三级泡沫,再经捕沫、破泡和板框过滤得浮渣,其中一级浮渣富含大豆异黄酮。由于一级浮渣中所含聚丙烯酰胺和聚合氯化铝有一定毒性,只能作为废物燃烧。将大豆乳清水一级浮渣中含有的大豆异黄酮提取纯化成大豆异黄酮产品,不仅可解决大豆异黄酮原料短缺问题,还可变废为宝获得良好经济效益。

大豆乳清水一级浮渣是制备大豆异黄酮的新原料,至今未有学者研究。本文致力于建立从大豆乳清水一级浮渣中提取、分离、纯化大豆异黄酮的工艺,为大豆乳清水一级浮渣的回收利用提供新方向。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

大豆乳清水一级浮渣粉(SP),山东禹王生态实业有限公司;二氯甲烷、氯仿、甲醇、乙酸、磷酸钙、碳酸氢钙、乙醇,分析纯,天津富宇精细化工有限公司;黄豆黄苷、大豆苷、染料木苷、黄豆黄素、大豆苷元、染料木素,色谱纯,北京索莱宝科技有限公司。大孔树脂 ADS-21、AB-8、HPD600、D4020、D4006,西安蓝晓科技新材料股份有限公司。

HH-S型恒温水浴锅;TLC scanner III型薄层扫描仪(WINCATS1.4.4软件),瑞士CAMAG公司;JY02G型凝胶成像仪;EYELA旋转蒸发仪,EYELA株式会社;GF<sub>254</sub>硅胶板(10 cm × 20 cm);JM胶体磨。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 大豆异黄酮的提取

将一定量的大豆乳清水一级浮渣粉(SP)用体积分数40%~95%的乙醇(料液比1:5)在40~100℃胶体磨提取0.75 h,过滤得滤液,重复提取1次。合并2次滤液,于35~70℃真空旋转蒸发除去乙醇后得粉状物。

#### 1.2.2 大豆异黄酮的分离

将1.2.1提取的粉状物和一定量的Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>以及Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>加入蒸馏瓶中,按料液比1:20加入95%乙醇,沸腾回流1 h后过滤。上清液于35~70℃真空旋转蒸发除去乙醇后得膏状物。

#### 1.2.3 大豆异黄酮的纯化

##### 1.2.3.1 大孔树脂的选择

大孔树脂预处理:将大孔树脂 ADS-21、HPD600、D4006、D4020、AB-8均置于95%乙醇中

浸泡24 h以上(中间搅拌数次,并更换一次浸泡液)。

树脂的选择:取2.0 g湿树脂,将160 mg大豆异黄酮超声溶解于50 mL水中后倒入其中。室温下振荡吸附24 h,测其上清液中的大豆异黄酮浓度,计算树脂吸附大豆异黄酮的质量及吸附率。滤除上清液,去离子水洗涤树脂,过滤后加入50 mL 95%乙醇,室温下振荡解吸24 h,测其解吸液中大豆异黄酮含量,计算大豆异黄酮的解吸量和解吸率。

##### 1.2.3.2 大孔树脂纯化大豆异黄酮

大孔树脂按1.2.3.1处理后,取40 g湿大孔树脂进行湿法装柱(3 cm × 30 cm),不超过柱体积的1/3,保持大孔树脂一直浸泡于溶液中,防止空气进入其中。2 BV去离子水冲洗乙醇,向柱面加入分离制备的膏状物3.05 g。用4~8 BV去离子水洗脱膏状物中水溶性杂质后,用2 BV 95%乙醇进行洗脱,先流出的淡黄色液体弃掉,保留深黄色洗脱液,再加8~12 BV 95%乙醇直到深黄色带全部洗脱出。将所得洗脱液在57℃真空旋转蒸发除去乙醇得大豆异黄酮结晶。

##### 1.2.4 大豆异黄酮含量的测定

样品液的配制:用乙酸乙酯分别将0.32 g样品(包括提取物、分离的膏状物以及纯化的结晶)定容至3 mL,置于4℃备用。

标准品溶液的配制:用甲醇分别将黄豆黄苷、大豆苷、染料木苷、黄豆黄素、大豆苷元定容为1.58、1.18、1.09、0.32、1.38 mg/mL。用乙酸乙酯将染料木素定容为1.04 mg/mL。

按参考文献[11]的方法检测样品中大豆异黄酮含量,将大豆异黄酮苷元及苷总量作为大豆异黄酮的量。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆异黄酮提取条件的选择

常用的提取大豆异黄酮的溶剂为乙醇、甲醇和丙酮等。从毒性、经济成本以及生产要求考虑,决定使用乙醇为提取溶剂。现有研究亦大多采用乙醇作为提取溶剂。按1.2.1对SP中大豆异黄酮进行提取,探讨了提取温度和乙醇体积分数对大豆异黄酮提取量的影响,结果见表1。

由表1可见,在料液比1:5、胶体磨提取时间0.75 h、提取2次、提取温度60~70℃、乙醇体积分数60%时,大豆异黄酮的提取量最大。按照该提取方法重复3次,结果稳定。每100 g SP可提取干物质20 g,其中含415 mg大豆异黄酮,大豆异黄酮含量为2.08%(干基),杂质较多。

表1 提取温度和乙醇体积分数对大豆异黄酮提取量的影响

乙醇体积分数/%	大豆异黄酮提取量/(mg/100 g)						
	40℃	50℃	60℃	70℃	80℃	90℃	100℃
40	180.56	187.77	240.11	243.72	240.10	220.88	210.60
50	280.20	343.62	354.96	343.00	345.82	323.06	297.13
60	340.72	392.09	415.09	415.09	414.80	378.29	356.24
70	368.22	397.23	410.99	414.67	408.32	369.52	343.85
80	340.72	340.99	350.65	331.64	298.27	267.54	253.73
90	401.78	388.01	323.21	333.45	307.91	275.42	267.44
95	274.31	278.42	290.85	329.41	284.30	260.56	234.72

前人以脱脂豆粕、大豆和豆芽为原料提取大豆异黄酮所用乙醇的有效体积分数为50%~80%，料液比为1:(3~50)，提取温度为50~80℃，提取次数为1~3次，提取时间为1~9 h<sup>[1,3-4,6,10,12-16]</sup>。据长期生产经验，乙醇的用量大会导致生产成本高、投资大，提取次数多、提取时间长会影响生产周期和产量。经多次预试验，我们认为胶体磨可代替搅拌，且效果比搅拌更均匀。本文采用胶体磨提取的方法，

以60%乙醇为提取溶剂，料液比1:5，提取温度60~70℃，提取时间0.75 h，提取2次，可以把SP中的大豆异黄酮提取出来。

## 2.2 大豆异黄酮分离条件的选择

按1.2.2方法，向20 g SP提取物中加入95%乙醇及一定量的Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>和Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>进行沸腾回流1 h，滤液浓缩成膏状物。Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>和Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>添加量对大豆异黄酮含量的影响见表2。

表2 Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>和Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>添加量对大豆异黄酮含量的影响

Ca(HCO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> 添加量/g	大豆异黄酮含量/%				
	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 5 g	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 10 g	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 15 g	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 20 g	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> 25 g
2	5.89	7.64	8.30	8.56	8.57
4	6.32	7.96	10.38	11.23	11.02
6	6.99	8.97	12.57	13.12	13.06
8	8.98	10.72	12.12	13.60	13.60
10	8.99	10.94	12.67	13.58	13.61

由表2可知，20 g SP提取物，加20 g Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>和8 g Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>回流去杂效果最好，可得膏状物3.05 g，大豆异黄酮含量约为13.6%（干基），大豆异黄酮在去杂过程中基本无损失。

关于乙醇提取的大豆异黄酮粗提物去杂分离，董文宾等<sup>[14]</sup>采用酸解法，用0.2 mol/L HCl在料液比1:6、85℃下酸解2 h，可使大豆异黄酮糖苷转为苷元，并沉淀出部分杂质。高荣海等<sup>[6]</sup>对乙醇提取浓缩物采用等电点沉淀除蛋白的方法，用4 mol/L HCl调节pH至4~4.5，然后离心沉降除去蛋白质。袁建等<sup>[17]</sup>将大豆异黄酮提取液浓缩后，向浓缩液中加入2 mol/L HCl调至等电点，经离心除去上层漂浮物和下层沉淀，清液调至中性后超滤除去蛋白。李文亮<sup>[12]</sup>将乙醇提取液浓缩后采用酸解的方法除杂，用0.1 mol/L HCl，在料液比1:5、40℃下酸解3 h，分解率为5.25%。牛新春<sup>[13]</sup>对大豆异黄酮提取液离心后采用超滤方法分离杂质，膜截留相对分子质量10 kDa，过膜压力137.9 kPa，过膜温度40℃，溶液质量浓度0.25~0.37 mg/mL，纯度比超滤前提

高26.1%。胡卫新等<sup>[15]</sup>对大豆异黄酮提取液加0.03 g/mL ZnCl<sub>2</sub>后，静置分层，盐析沉淀蛋白，上清液在4 000 r/min离心15 min，除杂效果较好。上述除杂方法均效果良好。但本文对酸解、调节等电点、离心沉淀等方法预试验后未获得良好效果（该试验数据未列入本文），这可能与本文所使用的新原料SP有关。经预试验明确SP提取物中的杂质主要是蛋白、多糖、油脂、脂肪酸等，油脂、蛋白、多糖在乙醇中溶解性低，可被Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>吸附和沉淀，羧酸类物质虽然在乙醇中溶解性高，但可以与Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>结合成钙盐而沉淀。另外，这两种添加物能够保持大豆异黄酮的分子结构。因此，这是一种适合于乙醇提取大豆乳清水一级浮渣粉中大豆异黄酮工艺的分离除杂的新方法。

## 2.3 大豆异黄酮的纯化

### 2.3.1 大孔树脂的选择

大孔树脂纯化大豆异黄酮作为一个有效方法已被多次研究证实。高荣海等<sup>[6]</sup>对乙醇提取的大豆异黄酮粗提物等电点沉淀分离后经大孔树脂

HPD600 吸附洗脱、浓缩、丙酮精制,大豆异黄酮产品纯度为 70.56%。袁建等<sup>[17]</sup>对大豆异黄酮分离液用聚酰胺和大孔树脂吸附洗脱、精制,产品纯度为 65.4%。李文亮<sup>[12]</sup>用 S-8 大孔树脂对大豆异黄酮分离液进行吸附洗脱,效果良好。牛新春<sup>[13]</sup>研究了大孔树脂精制大豆异黄酮方法,比较了 AB-8、D-101、ADS-213 型大孔树脂的精制效果,认为 ADS-21 效果最佳。潘廖明等<sup>[18]</sup>对 9 种大孔树脂吸附大豆异黄酮的特性进行了详细研究,认为 LSA-8 有较好的选择性和解吸能力,所得产品中大豆异黄酮含量可达 57%,比原样纯度提高了 4.8 倍。蔡立等<sup>[3]</sup>研究了 7 种大孔树脂对大豆异黄酮的吸附解吸效果,结果表明 D4006 和 H103 型大孔树脂有较好的吸附解吸效果,3% 大豆异黄酮样品经 D4006 型大孔树脂吸附洗脱(洗脱剂为 80% 乙醇)后大豆异黄酮含量提高到 30.58%。大豆乳清水一级浮渣粉是制备大豆异黄酮的新原料,其大豆异黄酮的提取分离工艺是一个新工艺,利用大孔树脂吸附洗脱该样品大豆异黄酮有很多不确定因素,因此必须探讨所选择大孔树脂的吸附洗脱生产参数。本文按照 1.2.3.1 方法对 ADS-21、AB-8、HPD600、D4020、D4006 5 种大孔树脂进行了比较,结果见表 3。

表 3 不同类型大孔树脂的吸附率、吸附量、解吸量及解吸率比较

树脂型号	吸附率/%	吸附量/mg	解吸量/mg	解吸率/%
ADS-21	84.38	135.01	126.50	93.70
AB-8	54.60	87.36	81.24	92.99
HPD600	75.33	120.53	109.80	91.10
D4020	63.72	101.95	95.76	93.93
D4006	68.90	110.24	103.22	93.63

由表 3 可知,5 种大孔树脂相比较,ADS-21 对大豆异黄酮的吸附率、吸附量、解吸量最高,解吸率较高。所以,选择 ADS-21 用于纯化大豆异黄酮。

### 2.3.2 大孔树脂 ADS-21 纯化大豆异黄酮的结果

按照 1.2.3.2 方法,采用 ADS-21 大孔树脂纯化大豆异黄酮,得到的黄色结晶质量为 489.82 mg,大豆异黄酮含量为 83.5%,为洗脱前膏状物的 6.14 倍。试验结果良好,为 SP 制备大豆异黄酮提供了生产技术基础。

## 3 结论

本文以大豆乳清水一级浮渣粉(SP)为原料制备大豆异黄酮,选择 60% 乙醇作提取溶剂,在料液比 1:5、提取温度 60~70℃ 下采用胶体磨提取 2 次,每次 0.75 h,每 100 g SP 可提取干物质 20 g,其中大

豆异黄酮含量为 2.08%。该 20 g 提取物加 20 g  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 、8 g  $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$  和 400 mL 95% 乙醇沸腾回流 1 h,过滤浓缩后可得 3.05 g 膏状物,大豆异黄酮含量为 13.6%,除杂分离效果好。用大孔树脂 ADS-21 对膏状物吸附洗脱,浓缩得大豆异黄酮产品,含量为 83.5%,为洗脱前膏状物的 6.14 倍。整个提取、分离、纯化工序完善,所得大豆异黄酮纯度较高,为以大豆乳清水一级浮渣粉作原料制备大豆异黄酮的工业化生产提供了技术指导。

## 参考文献:

- [1] 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.
- [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(5):118-120.
- [3] 蔡立,郁建平,占建波. 豆粕中大豆异黄酮提取纯化工艺研究[J]. 食品科学,2008,29(4):185-188.
- [4] 鞠兴荣,袁建,江海峰. 大豆异黄酮提取工艺的优化[J]. 中国粮油学报,2001,16(6):17-19.
- [5] 史宣明,岳琳,武丽荣. 大豆异黄酮的提取与精制[J]. 中国油脂,2001,26(2):3-5.
- [6] 高荣海,赵秀红,郑艳,等. 大豆异黄酮制备工艺的研究[J]. 农业科技与制备,2008(2):69-74.
- [7] 权静. 由豆粕制备高纯度大豆异黄酮的研究[D]. 南京:南京工业大学,2004.
- [8] 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.
- [9] 张博坤,王文广,殷广明,等. 大豆异黄酮提取新工艺的研究[J]. 大豆科技,2009(4):61-64.
- [10] 郭睿,姚占静,李宁. 一种大豆异黄酮提取工艺研究[J]. 食品科技,2008,33(11):140-142.
- [11] 李成辉,刘代成,鲁绪强,等. 大豆乳清水一级浮渣中大豆异黄酮薄层扫描检测方法[J]. 山东师范大学学报,2019,34(3):334-340.
- [12] 李文亮. 大豆异黄酮的提取制备技术及分析测试方法的研究[D]. 长春:中国人民解放军军需大学,2001.
- [13] 牛新春. 豆粕中大豆异黄酮的提取、纯化与精制[D]. 长春:吉林大学,2007.
- [14] 董文宾,徐颖,张建华,等. 豆粕中大豆异黄酮提取工艺的优化[J]. 农业与机械,2003(6):17-18.
- [15] 胡卫新,王晓磊,张洁. 大豆异黄酮提取条件和蛋白质分离工艺的研究[J]. 大豆科学,2005,24(1):26-29.
- [16] 闵嘉霖,曾爱武,袁希刚,等. 大豆异黄酮提取[J]. 粮油加工与食品机械,2006(1):47-50.
- [17] 袁建,鞠兴荣. 大豆异黄酮分离与精制工艺研究[J]. 食品科学,2002,23(8):118-120.
- [18] 潘廖明,姚开,贾冬英,等. 大孔树脂吸附大豆异黄酮特性的研究[J]. 食品与发酵工业,2003,29(5):15-18.