

文章编号 :1003-8701(2014)02-0093-04

大豆皂苷提取工艺的优化

李向群¹,宋冰²,王丕武³,付永平³,周紫阳^{4*}

(1. 吉林农业工程职业技术学院,吉林四平 136001; 2. 吉林市农业科学院,吉林吉林 132101;
3. 吉林农业大学,长春 130118; 4. 吉林省农业科学院,长春 130033)

摘要:大豆皂苷是大豆中的一种生理活性成分,广泛应用于医药行业中。传统的方法往往采取甲醇作为溶剂进行提取,其具有毒性。本研究使用无毒的食用乙醇和水作为大豆皂苷的提取剂,利用正交试验得到最佳提取条件,结果显示食用乙醇的提取率要高于水提取;食用乙醇提取大豆皂苷的最适条件为:食用乙醇浓度为70%,提取温度控制在80℃,提取4h,固液比是1/18(W/W),收集2次提取后的滤液。

关键词:大豆皂苷;水提取;食用乙醇提取;工艺优化

中图分类号:TQ914.1

文献标识码:A

Optimization of the Extraction Technique of Soyasaponins

LI Xiang-qun¹, SONG Bing², WANG Pi-wu³, FU Yong-ping³, ZHOU Zi-yang^{4*}

(1. *Jilin Agricultural Engineering Professional Technology University, Siping 136001;*
2. Jilin City Academy of Agricultural Sciences, Jilin City 132101;
3. Jilin Agricultural University, Changchun 130118;
4. Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: Soyasaponins are main active substances which have been widely applied on medical industry. The traditional way of extract soyasaponins usually use the methanol which is noxious. In this experimentation, the edible ethanol and water were used to extract the soyasaponins. The orthogonal experiment was used to optimize the extract technique. The result showed that extract rate of edible ethanol was better than that of water. So the more suitable extract condition was: 70% edible ethanol concentration, 80℃ extracting temperature, 1:18 the ratio of defatted soybean meal to solvent, 4 hours extracting time for each of two extracting processes.

Keywords: Soyasaponins; Extract by water; Extract by edible ethanol; Optimization

大豆是我国重要的粮油作物,在人们生活中有着不可替代的作用,其含有的大豆皂苷和大豆异黄酮等成分,广泛应用于食品及医药行业。大豆皂苷(Soyasaponins)是大豆中的一种生理活性成分,属于三萜系结构,主要由非极性的三萜苷元(aglycones 或 sapogenol)和低聚糖链(glycones)两部分组成,大豆皂苷在大豆中的含量大约在0.62%~6.16%之间^[1-3]。大豆皂苷在医药方面主要

有以下几方面的功效:(1)降低胆固醇;(2)保护肝脏;(3)抑制过氧化脂质生成以及分解;(4)抗癌;(5)溶血作用;(6)抗艾滋病病毒;(7)消除活性氧自由基等^[4]。大豆皂苷在食品工业中也有较广应用,主要作为:发泡剂、乳化剂、稳定剂和风味改良剂等^[5]。

大豆皂苷的药品及其他相关产品已经在市场上销售,相关企业面临的的就是如何高效、优质、低廉和无毒副作用的提取大豆皂苷。由于大豆皂苷的含量较低,且成分复杂,分离提取存在一定的困难。目前提取溶剂上主要是采用正丁醇、乙醇、乙酸乙酯、甲醇、弱碱水溶液等^[6]。但甲醇、正丁醇等化学试剂都有一定的毒性,作为食品、药品行业需

收稿日期:2013-11-25

基金项目:吉林省科技发展计划资助项目(20130522082JH)

作者简介:李向群(1981-),男,硕士研究生,讲师,研究方向:食品生物技术。

通讯作者:周紫阳,男,博士,研究员,E-mail: ziyang_z@163.com

要企业进行相关的后续处理和脱毒处理。超声波和微波提取、超临界流体提取法等高新技术都需要昂贵的仪器,且主要应用于实验室操作,不适合大规模的工业化生产。本试验采用无毒的食用乙醇和水进行提取,采用软件对试验进行正交设计,统计分析后得到两个提取方法的最适条件,在分析和比较二者提取效果后,确定大豆皂苷最佳的提取方法和工艺条件,为以后大豆皂苷的分离提取提供更多的实验数据,为大豆综合产业化发展和精深加工提供可靠的依据和参考。

1 材料与方 法

1.1 材料试剂与仪器

试验材料与试剂:大豆(吉农 18)由吉林农业大学提供,齐墩果酸(Oleanic acid,德国 sigma 公司),石油醚(沸程 60~90℃)、氯仿、盐酸、冰醋酸、浓硫酸(以上试剂均分析纯,华北试剂),95%食用乙醇(沱牌酒业)。

主要仪器:冷却回流装置(蜀玻)、旋转蒸发器(RES-55,上海亚荣)、索式提取器(蜀牛)、植物样品粉碎机(FW-246,上海安亭)、紫外分光光度计(BECKMEN-DU670,美国)、真空抽滤装置、真空干燥箱(7020C,上海博讯)、分析天平(AUW120D,岛津)、恒温水浴锅(HS05,华北试验仪器)、pH 计(PHS-3G,上海雷磁)。

1.2 试验方法

1.2.1 大豆脱脂

在分析天平上准确称量 100 g 吉农 18 大豆种子,用植物样品粉碎机粉碎后,收集后用吸水纸包好,用石油醚脱脂 12~24 h,将脱脂后的豆粉放置在通风处,待其中剩余的石油醚挥发后称量备用^[7]。

1.2.2 配制大豆皂苷标准品溶液

根据以往的研究,齐墩果酸与大豆皂苷的主要成分大豆苷元的结构相似,吸光度相近,且有换算系数,就利用齐墩果酸作为大豆皂苷的标准品替代物,用分析天平准确称量齐墩果酸标准品 20.00 mg,放入 100 mL 容量瓶中,加入少量的 95%乙醇溶解,并用其定容至刻度,摇匀备用。

取标准品溶液 0.3 mL 于 10 mL 带塞的试管中,置于 65℃水浴锅中蒸干溶液,再向试管中依次加入新配制的 5%香草醛-冰醋酸溶液 0.3 mL、高氯酸 0.7 mL,混匀后在 55℃水浴锅中加热 20 min,之后用自来水流水进行冲洗冷却,再加入 5 mL 冰醋酸,塞好上下颠倒摇匀,以不加标样

的平行样为空白对照,用紫外分光光度计在 400~600 nm 下进行吸收峰扫描,确定标准品的最大吸收波长为 560 nm。对提取液的处理方法同上。

用移液器分别精密吸取 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mL 配制好的标准品溶液,放于 10 mL 带塞试管中,具体处理方法同上,将其在分光光度计 560 nm 波长处测定吸光度值(A),以测得的吸光度与纯品量得出标准曲线方程^[8]。

齐墩果酸的回归方程是: $Y=56.12A+10.539$, ($R^2=0.9995$)。

其中 Y 为齐墩果酸的浓度 ($\mu\text{g/mL}$), A 为样品的吸光度值。

1.2.3 大豆皂苷的提取工艺

食用乙醇提取法:取脱脂后的豆粉,放入冷却回流装置内,加入一定体积、设定浓度的食用乙醇,在设计提取温度下提取若干小时,提取 2~4 次,合并这几次滤液。

水提取法:取脱脂后的豆粉,放入冷却回流装置内,加入一定体积的蒸馏水,在设计提取温度下提取若干小时,提取 2~4 次,合并各次的滤液。

1.2.4 大豆皂苷含量的测定

精密吸取 1.0 mL 提取液于 10 mL 具塞试管中,测定方法同 1.2.2,将提取样置分光光度计 560 nm 波长处测定吸光度值,齐墩果酸与大豆皂苷的换算系数为 2.2,即大豆皂苷量 = $2.2 \times$ 齐墩果酸量。

大豆皂苷提取率(%) = 提取液中皂苷总量 / 所用脱脂豆粉量 $\times 100\%$

1.2.5 盐析等电点法去除水提取液中的蛋白质

由于水提取液中溶出了大量的大豆蛋白质,我们采用最简单的盐析等电点法去除蛋白质,以便后续分离提取操作。将提取液的 pH 调到 4.5 ± 0.1 ,之后加入 0.3%的 ZnCl_2 (W/V)静置过夜,12 000 r/min 离心 8 min,将上清液分离保存备用^[9]。

1.2.6 大豆皂苷提取试验的正交设计

食用乙醇提取和水提取均采用 $L_{16}4^4$ 正交表进行试验,设计试验和分析结果均采用 SPSS13.0 软件,将得到的试验数据用软件进行统计分析,分析最佳的大豆皂苷提取条件。

2 结果与分析

2.1 食用乙醇提取大豆皂苷的正交分析

食用乙醇提取大豆皂苷的正交试验 ($L_{16}4^4$)通

过软件 SPSS13.0 设计 ,用以分析食用乙醇浓度、提取温度、提取时间、固液比这几个因素与大豆皂苷提取率的具体关系 ,具体结果见表 1、表 2、表 3。

表 1 利用食用乙醇提取大豆皂苷的因素表

水平数	因素			
	乙醇浓度	提取温度	提取时间	固液比(W/W)
1	50%	60℃	1h	1/10
2	60%	70℃	2h	1/12
3	70%	80℃	3h	1/15
4	80%	90℃	4h	1/18

表 2 利用食用乙醇提取大豆皂苷的正交试验

所在列 因素	因素				大豆皂苷 提取率(%)
	1 乙醇浓度	2 提取温度	3 提取时间	4 物料比	
1	1	1	1	1	0.206
2	1	2	2	2	0.502
3	1	3	3	3	0.660
4	1	4	4	4	0.723
5	2	1	2	3	0.709
6	2	2	1	4	0.734
7	2	3	4	1	0.700
8	2	4	3	2	0.540
9	3	1	3	4	0.911
10	3	2	4	3	0.885
11	3	3	1	2	0.687
12	3	4	2	1	0.560
13	4	1	4	2	0.690
14	4	2	3	1	0.606
15	4	3	2	4	0.851
16	4	4	1	3	0.731
均值 1	0.523	0.629	0.590	0.518	
均值 2	0.671	0.682	0.655	0.605	
均值 3	0.761	0.724	0.679	0.746	
均值 4	0.719	0.638	0.749	0.805	
极差	0.238	0.095	0.159	0.287	

表 3 利用食用乙醇提取大豆皂苷的试验方差分析

因素	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
大 乙醇浓度	0.129 4	3	0.043 1	7.474 9	*
豆 提取温度	0.023 1	3	0.007 7	1.333 3	
皂 提取时间	0.052 3	3	0.017 4	3.023 0	
苷 固液比	0.205 3	3	0.068 4	11.855 6	**
误差	0.017 3	3	0.005 8		

由正交试验分析和方差分析 ,可以得出大豆皂苷的最佳提取条件是 :采用浓度为 70%的食用乙醇 ,提取温度控制在 80℃ ,提取 4 h ,固液比为

1/18(W/W) ,提取 2 次后合并滤液 ,大豆皂苷的提取率达到了 0.911%。其中乙醇浓度、固液比对提取率均有显著性影响。

2.2 水提取大豆皂苷的正交分析

水提取大豆皂苷的正交试验(L₁₆4³)通过软件 SPSS13.0 设计 ,用以分析提取温度、提取时间、固液比这几个因素与大豆皂苷提取率的具体关系 ,具体试验结果见表 4、表 5、表 6。

表 4 利用水提取大豆皂苷的因素表

水平数	因素		
	提取温度	提取时间	固液比(W/W)
1	60℃	1h	1/10
2	70℃	2h	1/12
3	80℃	3h	1/15
4	90℃	4h	1/18

表 5 利用水提取大豆皂苷的正交试验

所在列 因素	因素			大豆皂苷 提取率(%)
	1 提取温度	2 提取时间	3 固液比	
1	1	1	1	0.321
2	1	2	2	0.347
3	1	3	3	0.393
4	1	4	4	0.441
5	2	1	2	0.406
6	2	2	1	0.399
7	2	3	4	0.503
8	2	4	3	0.449
9	3	1	3	0.539
10	3	2	4	0.623
11	3	3	1	0.359
12	3	4	2	0.470
13	4	1	4	0.558
14	4	2	3	0.506
15	4	3	2	0.493
16	4	4	1	0.425
均值 1	0.375	0.455	0.376	
均值 2	0.440	0.470	0.430	
均值 3	0.499	0.440	0.473	
均值 4	0.497	0.446	0.530	
极差	0.125	0.032	0.157	

表 6 利用水提取大豆皂苷的方差分析

因素	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
大 提取温度	0.041 1	3	0.013 7	11.766 7	**
豆 提取时间	0.002 2	3	0.000 7	0.628 9	
皂 固液比	0.052 8	3	0.017 6	15.106 8	**
苷 误差	0.007 0	6	0.001 2		

经过正交试验分析和方差分析可以看出:利用水作为提取剂,其中提取温度和固液比对大豆皂苷的提取都有显著性影响,经过分析得到水提取的最佳条件是:采用的提取温度是80℃,提取时间为2h,固液比是1/18(W/W),分别提取2次,并合并滤液,大豆皂苷的提取率为0.623%。

3 讨论与结论

利用正交试验及方差分析确定了两种提取剂对大豆皂苷的提取率的影响,经过分析统计后确定食用乙醇提取大豆皂苷的最佳条件为:食用乙醇浓度为70%,提取温度是80℃,提取4h,固液比为1/18(W/W),提取2次后合并滤液。水提取大豆皂苷的最佳条件是:采用的提取温度是80℃,提取时间为2h,固液比为1/18(W/W),提取2次后合并滤液。在比对两种提取方法后,再考虑性价比以及后续处理等因素,比较合适的提取溶剂应为食用乙醇。

大豆皂苷的提取工艺已经较为成熟,但是还是有很多地方需要改进,仍需要最大限度地提高大豆皂苷的提取效率,努力降低成本,还得保障食品及药品行业的安全。采用乙醇或者水作为提取剂都没有毒性,水作为提取剂的成本最低,但是水提取溶出蛋白和多糖比较多,为后续的纯化和精

制处理带来不便,而且乙醇的提取率要高于水,综合考虑这些因素采用70%乙醇提取比较适宜。本试验采用乙醇和水作为提取剂,通过正交试验得到了优化的提取条件,为日后大豆产品的深加工提供了可靠的数据和技术支持。

参考文献:

- [1] S H I R A I W A M. Composition and structure of "group A saponin" in soybean seed [J]. *Agric Biol Chem*, 1991,55(2): 315-322.
- [2] S H I R A I W A M. Composition and structure of "group B saponin" in soybean seed [J]. *Agric Biol Chem*, 1991,55(4): 911-917.
- [3] KITAGAWA I. Revised structures of saponinogenols A, B and E, oleanene-saponinogenols from soybean [J]. *Chem Pharm Bull*, 1982,30(6): 2294-2297.
- [4] 吉城由美子,大久保一良.大豆异黄酮机能性研究[J]. *食品开发*, 1999,34(7): 8-11.
- [5] 王章存.大豆皂甙研究进展 [J]. *大豆科学*, 1996,15(1): 74-78.
- [6] 于志萍,王昌禄,顾晓波.大豆皂苷的研究与进展[J]. *粮油食品科技*, 2002,10(3): 17-18.
- [7] 刘文丛,刘俊勃.有机化学实验指导[M].长春:吉林大学出版社,2000.
- [8] 蔚荣海,崔喜艳,于少华.基础生化实验与技术[M].长春:吉林大学出版社,2000.
- [9] 胡卫新,王晓磊,张洁.大豆异黄酮提取条件和大豆蛋白分离工艺研究[J]. *大豆科学*, 2005,24(1): 26-29.