

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2019.05.008

大豆异黄酮提取及其生物转化的研究进展

周文红^{1,2}, 郭咪咪¹, 李秀娟¹, 毕艳红², 王朝宇², 段章群¹

(1. 国家粮食和物资储备局科学研究院 粮油加工研究所, 北京 100037;

2. 淮阴工学院 生命科学与食品工程学院, 江苏 淮安 223003)

摘要: 大豆异黄酮是大豆生长过程中形成的一种次级代谢产物, 主要以糖苷和游离苷元的形式分布于大豆的子叶和胚轴中。研究表明, 游离型大豆异黄酮具有许多重要的生理功能, 诸如抗氧化、抗癌抑癌、保护心血管、预防骨质疏松及女性更年期综合症等。随着科学技术的进步, 大豆异黄酮的应用日趋广泛。对国内外大豆中异黄酮的提取方法及其优缺点, 以及由糖苷型大豆异黄酮转化为游离苷元的方法进行综述, 以期为大豆异黄酮的应用研究提供帮助。

关键词: 大豆异黄酮; 提取; 生物转化

中图分类号: TS214 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2019)05-0037-06

Research progress of extraction and biotransformation of soybean isoflavones

ZHOU Wen-hong^{1,2}, GUO Mi-mi¹, LI Xiu-juan¹, BI Yan-hong², WANG Zhao-yu², DUAN Zhang-qun¹

(1. Institute of Grain & Oil Processing Science and Technology, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037; 2. College of Life Sciences and Food Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huaian Jiangsu 223003)

Abstract: Soybean isoflavone is a sort of secondary metabolite formed during the growth of soybean. It is mainly distributed in the cotyledons and hypocotyls of soybean in the form of glycosides and free aglycones. It has been shown that free soybean isoflavone has a great many beneficial physiological functions, such as antioxidation, anticancer and cancer suppression, cardiovascular protection, prevention of osteoporosis and female climacteric syndrome. With the advancement of science and technology, soybean isoflavones have been widely applied in various foods. The reported extraction methods of isoflavones from soybean and their advantages and disadvantages were reviewed, and the biotransformation of glycosidic soybean isoflavones to free aglycones was also discussed. It is believed that this will be helpful for the application research of soybean isoflavones.

Key words: soybean isoflavone; extraction; biotransformation

大豆异黄酮是一类重要的生理活性物质, 具有弱雌性激素活性、抗氧化活性、抗溶血活性和抗真菌活性, 能有效预防和抑制白血病、骨质增生、结肠癌、胃癌、乳腺癌和前列腺癌等多种疾

病的发生, 尤其是在预防和改善乳腺癌和前列腺癌方面有明显作用^[1]。大豆异黄酮属于黄酮类化合物中的异黄酮成分, 其在大豆中的平均含量约为 0.2%~0.4%^[2]。大豆异黄酮的基本母核为 3-苯并吡喃酮(图 1), 因与内源性雌激素有类似的分子结构被称为植物雌激素。目前已发现的大豆异黄酮有 12 种(表 1), 分为游离型苷元和结合型糖苷, 游离型苷元包括大豆苷元、染料木素、

收稿日期: 2019-04-12

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金 (ZX1905)

作者简介: 周文红, 1993 年出生, 女, 在读硕士生。

通讯作者: 段章群, 1981 年出生, 男, 博士, 副研究员。

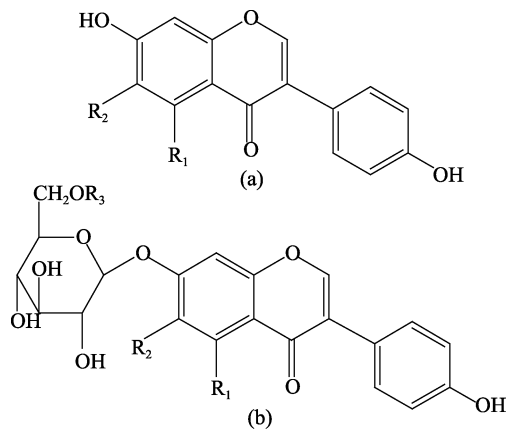


图 1 大豆异黄酮苷元型 (a) 和糖苷型 (b) 结构式

表 1 大豆中 12 种大豆异黄酮的存在形式及其结构式

形式	异黄酮种类	R ₁	R ₂	R ₃
游离型	大豆苷元	H	H	—
	黄豆黄素	H	OCH ₃	—
	染料木素	OH	H	—
葡萄糖苷型	大豆苷	H	H	H
	黄豆苷	H	OCH ₃	H
	染料木苷	OH	H	H
乙酰基葡萄糖苷型	乙酰基大豆苷	H	H	COCH ₃
	乙酰基黄豆苷	H	OCH ₃	COCH ₃
	乙酰基染料木苷	OH	H	COCH ₃
丙二酰基葡萄糖苷型	丙二酰基大豆苷	H	H	COCH ₂ COOH
	丙二酰基黄豆苷	H	OCH ₃	COCH ₂ COOH
	丙二酰基染料木苷	OH	H	COCH ₂ COOH

黄豆黄素三种, 占总量的 2%~3%, 结合型主要以葡萄糖苷、乙酰基葡萄糖苷、丙二酰基葡萄糖苷形式存在, 约占总量的 97%~98%。由于人体吸收利用大豆异黄酮苷元的速度及数量远高于大豆异黄酮糖苷^[3-4], 所以游离型苷元具有较高的生理活性。能够高效提取大豆异黄酮, 以及将大豆异黄酮糖苷转化为苷元的工艺技术正是目前的研究重点。

1 大豆异黄酮的提取方法及其优缺点

近年来关于大豆异黄酮的提取研究有不少报道, 目前使用的主要方法有: 溶剂萃取法、压力流体萃取和固相萃取法。

1.1 溶剂萃取法

溶剂萃取法是指利用相似相溶原理, 根据被浸提物的性质选用不同的浸提溶剂将复合物载体中的某些可溶性物质由固相转移到液相中去^[5], 根据辅助条件不同又分为加热回流法、超声波辅

助萃取法和微波辅助萃取法。

1.1.1 加热回流法

加热回流法 (Reflux Extraction, RE), 指用乙醇等挥发性有机溶剂浸提有效成分, 浸提液被加热, 溶剂馏出后又冷凝流回到浸出器的样品中, 这样周而复始, 直至有效成分提取完全的方法。

王丹^[6]以脱脂豆粕为原料提取大豆异黄酮, 确定最佳实验条件: 食用乙醇体积浓度为 80%, 温度 70℃, 料液比 1:16 (g/mL), 加热回流时间为 3 h, 此条件下大豆异黄酮的一次提取率可达 4 400 μg/g。谢明杰等^[7]研究结果表明, 采用溶剂萃取法提取脱脂豆粕中大豆异黄酮的最佳条件为: 乙醇浓度 60%, 提取温度 70℃, 萃取时间为 2 h, 萃取次数为 2 次, 料液比为 1:18, 在该条件下异黄酮提取率为 4 500 μg/g。

1.1.2 超声波辅助萃取法

超声波辅助萃取 (Ultrasound-assisted Extraction, UAE), 其原理是利用超声产生的热效应、空化效应和机械效应破坏植物原料的细胞结构^[8], 使得细胞内的有效成分脱离基体向提取液中扩散, 以达到提取目的。已广泛应用于大豆异黄酮的提取中。

Rostagno 等^[9]以大豆粉为原料, 采用超声波辅助萃取大豆异黄酮, 实验结果表明: 采用 50% 的乙醇溶液, 在 60℃ 下超声提取 10 min, 可以经济有效地提取出大部分异黄酮, 提取率为 1 186.75 μg/g, 增加时间至 20 min, 可实现对大豆异黄酮的定量回收, 回收率达 99.8%。顾建明等^[10]研究超声波辅助萃取法中不同因素对干豆制品大豆异黄酮浸出效果的影响, 最终结果分析显示大豆异黄酮浸出的最佳处理组合为: 以水为浸提液, 超声波处理 40 min, 压制厚度 10%, 在 55℃ 下浸提 12 h, 该条件下大豆异黄酮提取率为 790.67 μg/g。

1.1.3 微波辅助萃取法

微波辅助萃取法 (Microwave-assisted Extraction, MAE), 是指利用微波产生的交变电场使得提取液中极性分子的取向发生变化, 进而导致分子的极性变换运动, 加剧了体系中分子的摩擦及碰撞频率, 使得基体束缚大豆异黄酮分

子的作用力减小,从而异黄酮分子进入一种活化状态而变得容易脱离基体进入提取液中^[11]。另一方面,连续的高温使物料内部压力超过细胞壁膨胀的能力,导致细胞壁及内部结构破坏,从而提高异黄酮的提取效率。

熊海涛^[12]采用微波萃取法提取水豆腐中的大豆异黄酮,最佳提取工艺为:乙醇浓度 70%,提取温度 50℃,微波萃取时间 30 min,固液比 1:12 (g/mL),在此优化工艺条件下,水豆腐中大豆异黄酮的提取率为 2 070 μg/g。Terigar 等^[13]采用连续微波法提取大豆粉中的主要异黄酮,在 73℃ 下微波处理 8 min,料液比为 1:3 (g/mL),最终结果显示异黄酮总得率提高一倍。Rostagno 等^[14]以微波辅助萃取法提取大豆中的异黄酮,将 0.5 g 样品加入到 25 mL 50%的乙醇中微波萃取 20 min,在这个条件下样品中 75%的异黄酮被萃取出来,时间增加至 20 min,可以实现对样品的定量回收,回收率达 (101.5±2.5)%。这些实验结果表明,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。

1.2 压力流体萃取

压力流体萃取 (Pressurized Fluid Extraction, PFE),是指通过改变系统的压力与温度,使得目标产物在溶剂中的溶解度增大,从而达到将目标产物从样品中分离出来的目的。

1.2.1 超临界 CO₂ 萃取

超临界 CO₂ 萃取 (Supercritical Carbon Dioxide Extraction, SFE-CO₂) 是利用超临界二氧化碳的溶解能力与其密度的关系,即利用压力和温度对超临界二氧化碳溶解能力大小的影响,从而对天然产物进行提取和分离纯化^[15]。在超临界状态下,超临界二氧化碳与待分离的物质接触之后,便有选择性地按极性大小、沸点高低和分子量大小不同的成分依次萃取出来。

潘利华^[16]采用超临界流体萃取技术萃取脱脂豆粕中的染料木苷,最终优化的条件为:脱脂豆粕与乙醇用量比为 100 g/300 mL,萃取温度 55℃,萃取压力 30 MPa,静萃取时间 120 min,动萃取时间 60 min,该条件下染料木苷的提取率为 794.5 μg/g。Pyo 等^[17]对比研究超临界 CO₂ 萃

取和溶剂萃取法,结果表明超临界 CO₂ 萃取大豆异黄酮的回收率较低,不如传统的溶剂萃取法。Rostagno 等^[18]对比研究超临界 CO₂ 萃取与传统的超声波法和索氏提取法对大豆异黄酮提取率的影响,最终结果显示在三种方法的最佳提取工艺下,大豆异黄酮的提取率分别为:超声波 (311.55 μg/g)、索氏 (212.86 μg/g) 和超临界流体萃取 (86.28 μg/g),显然超临界流体萃取法远不如超声波法和索氏提取法。这是由于大豆异黄酮是属于极性较大的化合物,使用 CO₂ 作萃取剂时,大豆异黄酮的萃取率很低,因此在改进的实验方案中加入少许乙醇作为夹带剂,目的是为了提提高 CO₂ 的极性,满足相似相溶原理以提高大豆异黄酮的萃取效率^[5]。

1.2.2 加压液体萃取

加压液体萃取技术 (Pressurized Liquid Extraction, PLE) 是在较高的温度 (50~200℃) 和压力 (6.892~20.675 MPa) 下用溶剂萃取固体或半固体样品中有效成分的方法^[19]。在高温条件下,待测物从基体上解吸和溶解的过程加快,同时由于加热的溶剂具有较强的溶解能力,因此采用加压液体萃取技术可在短时间内获得更好的萃取效率。此外,萃取溶剂的用量也明显减少,节约成本。

Moras 等^[20]利用加压水萃取系统对大豆粉中的大豆异黄酮进行提取,在料液比为 1:7 (g/mL),200℃ 下萃取 14 min,大豆异黄酮的提取率最高,为 1 107.80 μg/g,异黄酮回收率达到 85%以上。Rostagno 等^[21]采用加压液体萃取技术,研究了温度、压力、提取溶剂种类、称样量、提取时间及次数对异黄酮提取率的影响,在最佳条件:100℃,100 atm,称样 0.1 g,70%乙醇溶液提取 3 次,每次 7 min 下,得到总的异黄酮提取率为 1 329.37 μg/g,各种类的大豆异黄酮回收率均在 92%以上。

1.2.3 亚临界流体萃取

亚临界流体萃取 (Subcritical Fluid Extraction, SFE) 是指在一定压力下,以液化的亚临界溶剂对物料进行逆流萃取,萃取液经蒸发工序与萃取出目标成分分离,从而得到产品^[22]。常用的有

表 2 大豆异黄酮提取方法的比较

提取方法	优点	缺点
溶剂萃取法	加热回流法 设备、工艺简单,操作性能高	溶剂消耗量大且有残留,耗时长,提取率低
	超声波辅助萃取法 设备简单,易于操作,提取率高,耗时短	提取物成分复杂,不利于后续分离纯化,目前没有实现工业化
	微波辅助萃取法 耗时短,提取率高	目前没有实现工业化,能耗高
压力流体萃取	超临界 CO ₂ 萃取 产品纯度高,无溶剂残留	设备要求高,成本高,不利于工业化生产,异黄酮提取率较低
	加压液体萃取 自动化程度高,耗时短,节约溶剂	设备要求高,高温高压具有一定危险性
	亚临界流体萃取 环境友好、产物活性高,可实现工业化	设备要求高,高温高压具有一定危险性
固相萃取法	产品纯度高,提取率较高	操作较为复杂,成本较高

亚临界水萃取系统：在一定压力下，将水加热到 100 以上但在临界温度 374 以下的高温，水体仍然保持在液体状态，就是通过对亚临界水温度和压力的控制改变水的极性、表面张力和黏度，从而增加水对待提物质的溶解能力^[23]。

王凤荣等^[24]采用亚临界水萃取法提取大豆胚芽中的异黄酮，结果表明：在料液比 1:25 (g/mL)，浸提温度 120℃，浸提时间 40 min，浸提压力 1.9 MPa 的条件下，大豆异黄酮的提取率是 10 900 μg/g。该方法提取的大豆异黄酮无溶剂残留，可很好地保留大豆异黄酮的生物活性，是一种绿色环保的提取工艺，可大规模地应用于工业化生产。

1.3 固相萃取法

固相萃取 (Solid Phase Extraction, SPE) 就是指利用固体吸附剂将液体样品中的目标化合物吸附，与样品的基体和干扰化合物分离，然后再用洗脱液洗脱或加热解吸附，达到分离和富集目标化合物的目的^[25]。

马翯然等^[26]以固相萃取结合反向高效液相色谱测定大豆及大豆制品中大豆异黄酮的含量，采用 C₁₈ 固相萃取柱富集纯化，结果测得大豆和黑豆中异黄酮的提取率分别为 1 054.51 μg/g 和 1 354.10 μg/g，各种大豆异黄酮的平均回收率均在 80% 以上。Rostagno 等^[27]利用固相萃取技术对已知异黄酮浓度的标准提取液进行富集纯化，实验所采用的是 Strata X 固相萃取小柱，结果表明异黄酮回收率达到 99.37%。采用固相萃取技术提取大豆异黄酮，可快速且相对彻底地提取出样品中的大豆异黄酮，具有很好的应用前景。

2 糖苷型大豆异黄酮的生物转化

大豆异黄酮糖苷属于氧苷类，是酚羟基与糖基缩合形成的 β-D 葡萄糖苷，通过水解可以使糖苷键裂解得到大豆异黄酮苷元和葡萄糖配基。大豆异黄酮糖苷的水解可以分成以下三个步骤：(1) 丙二酰基葡萄糖苷型转化为乙酰基葡萄糖苷型；(2) 乙酰基葡萄糖苷型转化为 β-葡萄糖苷型；(3) β-葡萄糖苷型转化为游离型大豆异黄酮苷元^[28]。目前国内外研究关于大豆异黄酮的水解方法主要包括：酸水解法、碱水解法、酶水解法和 Smith 降解法。

2.1 酸水解法

大豆异黄酮糖苷可以通过酸水解工艺转变成活性苷元形式。糖苷型的大豆异黄酮由葡萄糖和苷元以氧苷键连接形成，因其具有缩醛结构而易于被酸催化水解，该反应一般在乙醇水溶液中进行，反应结束活性苷元释放进入有机相，避免因长时间处于酸性溶液中造成活性降低。该工艺水解大豆异黄酮糖苷水解率较高，但是反应温度高，强酸易腐蚀，对设备要求高，设备投入较大。

成乐琴等^[29]以水解前后大豆异黄酮糖苷含量变化为指标，确定乙酸催化水解异黄酮糖苷的最佳工艺为：反应温度 160℃，反应时间 4 h，乙酸水溶液浓度为 2.0 mol/L，在此条件下水解率达到 92.0% 以上。于丽颖等^[30]以水解率为评价指标，研究了复合有机酸催化大豆异黄酮糖苷水解成苷元的工艺参数，结果表明：在反应温度 135℃，反应时间为 160 min，复合酸 n(苹果酸):n(柠檬酸)=4:3 添加量为 7 mL/30 g 样品时水解率达到 97.0% 以上，并且采用复合有机酸催化水解工

艺绿色环保,水解产物直接作为保健食品原料,具有较高的应用价值。Hornig 等^[31]研究了酸水解前后总大豆异黄酮苷元含量的变化,结果表明 5 种大豆品种酸水解前后,总大豆异黄酮苷元含量由 40~748 $\mu\text{g/g}$ 提高到 258~1 137 $\mu\text{g/g}$ 。这些实验数据表明酸水解对于大豆异黄酮糖苷的转化有良好的效果。

2.2 碱水解法

大豆异黄酮糖苷键为缩醛型醚键结构,理应在碱性溶液中相对稳定,但因其糖苷键有酯苷的性质,可以用稀碱溶液进行水解,但其作用主要在于将丙二酰基葡萄糖苷型转化为葡萄糖苷型,将糖苷转化为苷元的效率很低。研究表明,碱水解法获得的大豆异黄酮苷元结构不稳定,易降解^[32],因此关于大豆异黄酮的碱水解法研究报道尚少。

黎尔纳等^[33]对比研究了碱水解与先碱水解再酸水解酱油渣中大豆异黄酮糖苷的工艺,先碱水解再酸水解工艺糖苷水解率高于单一的碱水解法,最终确定先碱水解再酸水解的最佳工艺条件为:碱液浓度 2.0 mol/L,水解温度 60 $^{\circ}\text{C}$,水解时间 35 min,然后在 55 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行酸水解 2 h,异黄酮含量是 78.93 mg/g 酱油渣。冯艳丽等^[34]以大豆异黄酮粗品为原料,采用碱水解后再进行酸水解的方法获取大豆苷元,最佳工艺条件为:1.0 mol/L NaOH 溶液,料液比 1:10,温度 65 $^{\circ}\text{C}$,水解时间 20 min,后用 1 mol/L 盐酸,55 $^{\circ}\text{C}$ 水解 2 h,最终样品中染料木素含量由 287.09 $\mu\text{g/g}$ 提高到 532.76 $\mu\text{g/g}$ 。实验表明,单一碱水解法并不适用于大豆异黄酮糖苷的水解,但碱处理后可有效提高酸催化水解大豆异黄酮苷的效率。

2.3 酶解法

酶法水解大豆异黄酮糖苷具有很强的专一性,反应条件温和,多在弱酸性缓冲溶液中进行,该方法获得的大豆异黄酮苷元不易变性,是目前大豆异黄酮糖苷水解最具发展前景的工艺。现有的研究表明, β -葡萄糖苷酶、纤维素酶和糖化酶等都具有较好的催化效果。

谭乃迪等^[35]采用超声波辅助酶法水解大豆异黄酮糖苷粗品,确定了纤维素酶水解的最佳工艺条件:反应温度 52 $^{\circ}\text{C}$,酶用量为 14 mg/20 g 粗品,

反应时间 2.8 h,大豆异黄酮总的水解产率可达到 82.91%以上。SOO-JIN 等^[36]以采用源自嗜热古生菌的 β -葡萄糖苷酶水解大豆异黄酮糖苷,结果表明该酶在 95 $^{\circ}\text{C}$ 弱酸性条件下,可完全水解染料木苷、大豆苷以及黄豆黄苷,同时发现,该嗜热的 β -葡萄糖苷酶对染料木苷水解有特异性水解作用,水解率可达 330 U/mg。Cheng 等^[37]考察了不同的低共熔溶剂对 β -葡萄糖苷酶的活性、稳定性以及底物溶解性的影响,最终筛选出 n(氯化胆碱):n(乙二醇)=2:1,30 vol%为最佳的反应体系,采用该反应体系进行大豆异黄酮糖苷进行水解,在反应温度 53 $^{\circ}\text{C}$,pH 5.35,酶添加量 1.68 U,反应时间 100.5 min 条件下,水解率最高,大豆异黄酮的回收率达到 97.53%,且纯度在 70%以上。Maitan-Alfenas 等^[38]将含有 β -葡萄糖苷酶的酵母细胞固定在海藻酸钙中,结果表明固定化酶的热稳定性和 pH 稳定性均有显著提升,于 40 $^{\circ}\text{C}$ 预处理 2 h 可以使大豆异黄酮糖苷有效水解,水解率达 95.3%。Hu 等^[39]研究出将 β -葡萄糖苷酶固定在不定型的纤维素上,酶的最适反应温度提高 5 $^{\circ}\text{C}$,同时固定化酶在 40 $^{\circ}\text{C}$ 水解 30 次以后,染料木素和大豆苷元的水解率仍分别达到 98.9%和 96.9%。实验表明,将固定化酶技术应用于大豆异黄酮糖苷水解过程是一种绿色、安全、有效的方法。

2.4 Smith 降解法

Smith 降解法水解大豆异黄酮糖苷主要分解成以下三个步骤:首先用过碘酸氧化糖苷使之生成二元醛和甲酸,接着以四氢硼钠还原,生成相应的二元醇,最后在室温下与稀酸作用,就能使对应的大豆异黄酮糖苷水解成苷元。反应条件温和,但实验操作较为复杂、苷元回收率低,目前该方法在糖苷型大豆异黄酮的水解方面报道尚少。

3 总结与展望

大豆异黄酮作为天然的植物保健品,具有多种生理活性功能,在食品保健和医药领域应用前景广阔。研究大豆异黄酮提取及糖苷水解工艺的目的,在于获得高生物活性、易于人体吸收利用的大豆异黄酮苷元。目前大豆异黄酮的提取工艺主要以溶剂萃取法为主,辅以超声、微波等技术以提高萃取效率,但这些方法在工业应用上存在

设备放大的问题；超临界 CO₂ 萃取技术因大豆异黄酮与萃取剂极性不相溶而限制了其应用。在大豆异黄酮糖苷转化方面，酶法水解可以较好地保证苷元稳定性，但是由于酶成本较高，需采用一定的技术手段提高其利用率。因此，针对大豆异黄酮提取及糖苷水解工艺仍有待改善，尤其在工艺参数、生产成本和工业放大等方面有待进一步研究。

参考文献：

- [1] AHUJA V, MIURA K, VISHNU A, et al. Significant inverse association of equol-producer status with coronary artery calcification but not dietary isoflavones in healthy Japanese men[J]. *British Journal of Nutrition*, 2017, 117: 260-266.
- [2] 郭嘉. 大豆异黄酮的营养探究[J]. *现代食品*, 2016(18): 32-33.
- [3] IZUMI T, PISKULA M K, OSAWA S, et al. Soy isoflavone aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in humans[J]. *Journal of Nutrition*, 2000, 130(7): 1695-1699.
- [4] VILLARES A, ROSTAGNO M A, GARC A-LAFUENTE A, et al. Content and profile of isoflavones in soy-based foods as a function of the production process[J]. *Food & Bioprocess Technology*, 2011, 4(1): 27-38.
- [5] 范兆军. 大豆异黄酮的提取技术[J]. *科技信息*, 2011(16): 588-589.
- [6] 王丹. 脱脂豆粕中大豆异黄酮提取工艺的研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(06): 52-55.
- [7] 谢明杰, 路敏, 石姗姗, 等. 脱脂豆粕中提取大豆异黄酮的条件研究[J]. *辽宁师范大学学报(自然科学版)*, 2004(2): 193-196.
- [8] 卢丞文, 王玲. 大豆异黄酮提取方法的研究进展[J]. *吉林农业月刊*, 2017(8): 111-111.
- [9] ROSTAGNO M A, PALMA M, BARROSO C G. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones[J]. *Journal of Chromatography A*, 2003, 1012(2): 119-128.
- [10] 顾建明, 蒋盼. 干豆制品用大豆中大豆异黄酮提取工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(8): 124-128.
- [11] 袁佩佩, 王明, 王陶. 酱油渣中大豆异黄酮的提取研究进展[J]. *粮油加工(电子版)*, 2014(1): 80-83.
- [12] 熊海涛. 微波萃取法提取水豆腐中大豆异黄酮工艺研究[J]. *广东化工*, 2013, 40(24): 41-42.
- [13] TERIGAR B G, BALASUBRAMANIAN S, BOLDOR D, et al. Continuous microwave-assisted isoflavone extraction system: Design and performance evaluation[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(7): 2466-2471.
- [14] ROSTAGNO M A, PALMA M, BARROSO C G. Microwave assisted extraction of soy isoflavones[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, 588(2): 274-282.
- [15] 彭游, 余盛禄. 大豆异黄酮提取研究最新进展[J]. *大豆科学*, 2012, 31(2): 320-323.
- [16] 潘利华. 大豆异黄酮糖苷的超临界流体萃取及固定化酶转化研究[D]. 合肥工业大学, 2009.
- [17] PYO D, YOO J, SURH J. Comparison of supercritical fluid extraction and solvent extraction of isoflavones from soybeans[J]. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2009, 32(7): 923-932.
- [18] ROSTAGNO M C A, ARA JO J M A, SANDI D. Supercritical fluid extraction of isoflavones from soybean flour[J]. *Food Chemistry*, 2002, 78(1): 111-117.
- [19] 刘海萍, 杨素萍. 加压液体萃取技术在生物样品分析中的应用[J]. *河北北方学院学报(自然科学版)*, 2006(5): 61-66.
- [20] MORAS B, REY S, VILAREM G, et al. Pressurized water extraction of isoflavones by experimental design from soybean flour and Soybean Protein Isolate[J]. *Food Chemistry*, 2017, 214: 9-15.
- [21] ROSTAGNO M A, PALMA M, BARROSO C G. Pressurized liquid extraction of isoflavones from soybeans[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 522(2): 169-177.
- [22] 杨志空, 韩伟. 亚临界萃取技术在天然产物提取中的应用[J]. *机电信息*, 2018(8): 42-46+58.
- [23] 周丽, 张博雅, 张永忠. 亚临界水提取葛根中总异黄酮的研究[J]. *中草药*, 2012, 43(3): 492-495.
- [24] 王凤荣, 宋秀梅, 张博雅, 等. 亚临界水提取大豆胚芽中异黄酮及低聚糖的研究[J]. *中国粮油学报*, 2011, 26(11): 32-35+41.
- [25] 李贝, 刘丹, 朱泽军, 等. 固相萃取-气相色谱法测定水中硝基氯苯类化合物[J]. *环境监控与预警*, 2019, 11(1): 32-35.
- [26] 马巍然, 张洛莎, 王鹏, 等. 固相萃取-反相高效液相色谱测定食品中大豆异黄酮含量的方法研究[J]. *中国酿造*, 2018, 37(11): 147-153.
- [27] ROSTAGNO M A, PALMA M, BARROSO C G. Solid-phase extraction of soy isoflavones[J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1076(1): 110-117.
- [28] 蒋大海, 田娟娟, 宋宏哲, 等. 大豆异黄酮水解方法的比较[J]. *粮食与食品工业*, 2008(1): 25-27.
- [29] 成乐琴, 于丽颖, 罗亚楠, 等. 乙酸催化大豆异黄酮糖苷水解苷元的工艺研究[J]. *食品工业*, 2016, 37(11): 86-88.
- [30] 于丽颖, 罗亚楠, 郑凤梅. 复合有机酸催化大豆异黄酮糖苷水解成苷元的工艺研究[J]. *粮油食品科技*, 2016, 24(05): 35-37.
- [31] HORNIG A, LORBEER E, VOLLMANN J. Isoflavone concentration of soybean in Central Europe as determined by HPLC/UV analysis before and after acid hydrolysis[J]. *Acta Alimentaria*, 2011, 40(2): 247-253.
- [32] 张晨, 杨晓泉, 孔慧清, 等. 不同加工条件下大豆异黄酮组分稳定性的研究现状[J]. *大豆科学*, 2006(1): 73-76+80.
- [33] 黎尔纳, 肖秀群, 邓开野. 酱油渣中大豆异黄酮碱水法提取工艺研究[J]. *中国调味品*, 2013, 38(12): 63-67.
- [34] 冯艳丽, 员月明, 夏艳. 碱法水解大豆异黄酮工艺条件研究[J]. *中国油脂*, 2009, 34(5): 56-58.
- [35] 谭乃迪, 于丽颖, 罗亚楠. 酶法催化大豆异黄酮糖苷水解苷元的工艺研究[J]. *食品工业*, 2016, 37(8): 185-187.
- [36] SOO-JIN Y, BI-NA K, YEONG-SU K, et al. Hydrolysis of isoflavone glycosides by a thermostable β -glucosidase from *Pyrococcus furiosus*[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2012, 60(6): 1535-1541.
- [37] CHENG Q B, ZHANG L W. Highly efficient enzymatic preparation of daidzein in deep eutectic solvents[J]. *Molecules*, 2017, 22(1): 186.
- [38] MAITAN-ALFENAS G P, LAGE L G D A, ALMEIDA M N D, et al. Hydrolysis of soybean isoflavones by *Debaryomyces hansenii* UFV-1 immobilised cells and free β -glucosidase[J]. *Food Chemistry*, 2014, 146: 429-436.
- [39] HU S, WANG D, HONG J. A simple method for beta-glucosidase immobilization and its application in soybean isoflavone glycosides hydrolysis[J]. *Biotechnology & Bioprocess Engineering*, 2018, 23(1): 39-48. 