

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810032067.8

[51] Int. Cl.

C12P 7/22 (2006.01)

C07C 37/68 (2006.01)

C07C 39/21 (2006.01)

[43] 公开日 2009年1月7日

[11] 公开号 CN 101338327A

[22] 申请日 2008.8.13

[21] 申请号 200810032067.8

[71] 申请人 长沙华诚生物科技有限公司

地址 410013 湖南省长沙市岳麓大道湖南科技大厦18楼

[72] 发明人 刘庚贵 曾润清 黄华学 刘永胜

[74] 专利代理机构 长沙星耀专利事务所

代理人 赵静华

权利要求书1页 说明书4页

[54] 发明名称

从虎杖中提取纯度98%以上的白藜芦醇的工艺

[57] 摘要

本发明公开了从虎杖中提取纯度98%以上的白藜芦醇的工艺。是将虎杖药材经粉碎后由乙醇提取，浓缩回收乙醇后经虎杖专用酶在45℃~50℃恒温酶解4~5天；升温至85~100℃，维持2分钟，将虎杖专用酶灭活；过滤，滤渣即为经过转化的粗品白藜芦醇；再用虎杖专用絮凝剂絮凝沉淀，过滤，清液经氧化铝层析精制，洗脱液再经醇—纯化水结晶与重结晶和真空干燥得成品。实现将白藜芦醇的纯度提高到98%以上，将产品收率从0.4%~0.5%提高到0.6%以上，并将白藜芦醇的颜色做白且无杂色，提高产品质量，并能真正应用于工业生产，可缩短生产周期，提高工作效率，降低生产成本。

1. 一种从虎杖中提取纯度 98%以上的白藜芦醇的工艺，其特征在于，包括以下步骤：
 - (1) 虎杖药材粉碎到通过 1 号筛 \geq 70%；
 - (2) 乙醇提取；加入虎杖重量 5~6 倍的 60%乙醇；提取三次，每次 1-2 小时；
 - (3) 浓缩与回收乙醇；将 3 次虎杖提取液按已有技术回收乙醇至无醇味，浓缩至相对密度 1.15 左右。
 - (4) 酶解与灭活：将虎杖提取浓缩液冷却至 45 $^{\circ}$ C~50 $^{\circ}$ C，在 45 $^{\circ}$ C~50 $^{\circ}$ C之内；加入枸橼酸或柠檬酸调节浓缩液的 pH 值为 4.5~5.0，再加入虎杖药材重量 0.2%~0.5%虎杖专用酶在 45 $^{\circ}$ C~50 $^{\circ}$ C恒温酶解 4~5 天；升温至 85-100 $^{\circ}$ C，维持 2 分钟，将虎杖专用酶灭活；过滤，滤渣即为经过转化的粗品白藜芦醇；
 - (5) 絮凝沉淀：将粗品白藜芦醇用 65%~85%乙醇溶解，过滤；加入粗品白藜芦醇湿重 0.8~1.0 倍的虎杖专用絮凝剂，充分搅拌 10min，然后静置 2h，使沉淀充分沉淀，上清液分层良好；过滤，得滤液；
 - (6) 层析精制：将滤液进氧化铝层析柱，自有液体流出时开始收集；将液体进行分段，自流出红至黑色液体时更换氧化铝柱；待全部滤液进完氧化铝柱以后，再用 65%~85%乙醇洗脱，一直洗脱至流出液加 2 倍水不产生混浊止；
 - (7) 结晶与重结晶：将氧化铝柱上的流出液加水进行结晶与重结晶，调节乙醇浓度为 10%~20%，静置 1h，然后过滤，重结晶，直至结晶颜色洁白为止；
 - (8) 将结晶真空干燥得成品，成品中白藜芦醇 \geq 98%。
2. 根据权利要求 1 所述的从虎杖中提取纯度 98%以上的白藜芦醇的工艺，其特征在于，所述虎杖专用酶由以下组分及重量份混合而成： β -葡萄糖苷酶 30-50， β 葡聚糖酶 20-40，纤维素酶与半纤维素酶 10-30，木聚糖酶 5-20。
3. 根据权利要求 1 所述的从虎杖中提取纯度 98%以上的白藜芦醇的工艺，其特征在于，所述虎杖专用絮凝剂以下组分及重量份构成：硅胶 30-60，氧化铝 20-40，活性炭 10-30。

从虎杖中提取纯度 98%以上的白藜芦醇的工艺

技术领域

本发明涉及一种从虎杖中提取纯度 98%以上的白藜芦醇的工艺。

背景技术

目前国内生产企业生产白藜芦醇的经典工艺路线是：虎杖药材→粉碎→发酵（自然或加酶）→醇提→浓缩→有机溶剂萃取→回收溶剂与浓缩→醇溶→柱层析（硅胶或氧化铝）→活性炭脱色→结晶与重结晶。此工艺路线的最终产品白藜芦醇的收率一般只有 0.4%~0.5%，颜色略带米黄或灰色，白藜芦醇的纯度均在 97%左右，市场上当成 98%白藜芦醇销售。此数据与理论收率有较大的出入，如何进一步提高产品收率，同时把颜色做白，提高产品质量是本领域的技术人员期待解决的问题。目前也有一些生产 98%白藜芦醇的报导，但是这些技术多数还只是停留在实验室水平，在实际应用中存在有较大的问题，如（1）周锦珂等在《超临界 CO₂ 萃取虎杖中白藜芦醇的工艺研究》中报导了采用超临界 CO₂ 技术萃取白藜芦醇，这是一种适用于亲脂性成分及热敏性成分的高新技术，但作为芪三酚类化合物的白藜芦醇并非亲脂性化学成分，并且在温度≤60℃时，白藜芦醇是稳定的，这种技术与白藜芦醇的理化性质不符。并且实际生产中设备投入大，成本难以回收，加上需要高压设备，又存在安全隐患，因此目前未见有厂家将此技术用于工业化生产。（2）申请号 200510019788.1 公开的采用大孔吸附树脂分离纯化白藜芦醇和申请号 200310112538.3 公开的采用聚酰胺层析法分离纯化白藜芦醇。这二种分离纯化技术是对物料水溶性要求较高的技术，而在水中不溶的白藜芦醇并非水溶性成分，这种技术与白藜芦醇的溶解性质不符。当采用这二种技术时，80%以上的白藜芦醇会在水洗树脂除杂过程中被当成杂质除去，若用醇溶解白藜芦醇，又会在这些树脂中存在解吸与吸附同时进行的现象，根本起不到分离纯化白藜芦醇的目的。故实际中未见有生产企业采用这二种技术故未实现产业化。（3）发酵或酶解是实际中工业生产白藜芦醇的关键技术环节，也是核心技术所在。瞿卫林的《酶解法提高虎杖中藜芦醇含量的研究》中报导采用自然发酵法转化，四川省凉山州生物研究所的科技成果《虎杖中白藜芦醇提取技术研究》中报导采用复合酶解法转化。采用自然发酵法或外加酶解法将虎杖苷转化成白藜芦醇，这种方

法从理论上来说是可行的，并且在实际在的生产企业一般采用此法进行生产。但是将药材先发酵再提取的方法，需要占用较大的生产空间，约 1T 药材需要 3m³ 的发酵生产空间，造成了生产场所的浪费；另外，此法的转化率低，约有 30% 的白藜芦醇损失在转化过程中；发酵时间长，一般一个生产周期需要 6~7 天左右，再加上本来需要较大的空间，造成生产效率低下，产能低。

发明内容

本发明的目的在于克服以上缺点，提供一种从虎杖中提取纯度 98% 以上的白藜芦醇的方法。以实现将白藜芦醇的纯度提高到 98% 以上，将产品收率从 0.4%~0.5% 提高到 0.6% 以上，并将白藜芦醇的颜色做白且无杂色，提高产品质量，并能真正应用于工业生产，可缩短生产周期，提高工作效率。

本发明的技术方案包括以下步骤：

(1) 虎杖药材粉碎到通过 1 号筛≥70%；

(2) 乙醇提取；加入虎杖重量 5~6 倍的 60% 乙醇；提取三次，每次 1-2 小时；“加入虎杖药材重量 5~6 倍的 60% 乙醇”；

(3) 浓缩与回收乙醇；将 3 次虎杖提取液按已有技术回收乙醇至无醇味，浓缩至相对密度 1.15 左右。

(4) 酶解与灭活：将虎杖提取浓缩液冷却至 45℃~50℃，在 45℃~50℃ 之内；加入枸橼酸或柠檬酸调节浓缩液的 pH 值为 4.5~5.0，再加入虎杖药材重量 0.2%~0.5% 虎杖专用酶在 45℃~50℃ 恒温酶解 4~5 天；升温至 85-100℃，维持 2 分钟，将虎杖专用酶灭活；过滤，滤渣即为经过转化的粗品白藜芦醇；

(5) 絮凝沉淀：将粗品白藜芦醇用 65%~85% 乙醇溶解，过滤；加入粗品白藜芦醇湿重 0.8~1.0 倍的虎杖专用絮凝剂，充分搅拌 10min，然后静置 2h，使沉淀充分沉淀，上清液分层良好；过滤，得滤液；

(6) 层析精制：将滤液进氧化铝层析柱，自有液体流出时开始收集；将液体进行分段，自流出红至黑色液体时更换氧化铝柱；待全部滤液进完氧化铝柱以后，再用 65%~85% 乙醇洗脱，一直洗脱至流出液加 2 倍水不产生混浊止；

(7) 结晶与重结晶：将氧化铝柱上的流出液加水进行结晶与重结晶，调节乙醇浓度为

10%~20%，静置 1h，然后过滤，重结晶，直至结晶颜色洁白为止；

(8) 将结晶真空干燥得成品，成品为白色粉末，白藜芦醇 \geq 98%。

所述虎杖专用酶由以下组分及重量份混合而成： β -葡萄糖苷酶 30-50， β 葡聚糖酶 20-40，纤维素酶与半纤维素酶 10-30，木聚糖酶 5-20；

所述虎杖专用絮凝剂以下组分及重量份构成：硅胶 30-60，氧化铝 20-40，活性炭 10-30；

本发明的优点：(1) 解决了提高白藜芦醇产量的关键物质基础，即虎杖专用酶系统的组成及配比，能有效地将虎杖中的虎杖苷转化成白藜芦醇，比常规发酵方法减少 25%以上的转化损失，提高产量 30%以上；将转化时间从原工艺的 6~8 天缩短至 4~5 天，相比缩短转化时间 2~3 天。(2) 提高了成品 98%白藜芦醇的产量，将产量从 0.4%~0.5%提高到 0.60%~0.75%，相比提高 0.1%~0.25%，即每吨同等原料可多得 98%白藜芦醇 1kg~2.5kg，创造新的价值 3000 元~7000 元。(3) 提高了成品 98%白藜芦醇的色泽，去除了普通品种所带的米黄色至灰色，进一步改善了产品颜色，使最终产品成为白色无杂色的高品质白藜芦醇。(4) 新路线中不再使用乙酸乙酯等对人体有害的有机溶剂，取而代之以乙醇溶解后专用絮凝沉淀，非常容易操作，同时也大大地降低了生产成本，不再需要回收有机溶剂，简化了生产操作与生产环节，使得大生产容易控制和实现，提高了劳动安全与保护。(5) 本发明所建立的先提取后酶解的工艺流程，极大地节省了生产空间，能充分有效地利用生产场所。按每吨原料虎杖计算，生产所需的场地由 3m³ 减少至 0.8m³，相比节省 65%以上的空间，从而有利于生产操作和控制，提高生产效率。(6) 本发明的整条生产工艺路线，充分结合了白藜芦醇与共存杂质的理化性质特点，采用先絮凝，后氧化铝层析，然后再结晶与重结晶的路线，省去了常规方法所采用的活性炭进行二次脱色的工序，不仅节省了生产操作，如省去保温与微孔膜过滤环节，也使成品颜色加以提高，生产出了高品质的 98%白藜芦醇。

具体实施方式

实施例 1：

取虎杖药材 500kg，粉碎到 1 号筛通过率 \geq 70%；0.2%~0.5%

(2) 乙醇提取：每次用 2500L 的 60%乙醇；提取三次，每次 1-2 小时；

(3) 合并提取液，并浓缩与回收乙醇；将 3 次虎杖提取液按已有技术回收乙醇至无醇味，浓缩至相对密度 1.15 左右；

(4) 酶解与灭活：将虎杖提取浓缩液冷却至 45℃~50℃，在 45℃~50℃之内；加入枸橼酸或柠檬酸调节浓缩液的 pH 值为 4.5~5.0，再加入 2 kg 虎杖专用酶，本实施例的虎杖专用酶是由以下组分及重量份混合而成：β-葡萄糖苷酶占 45，β-葡聚糖酶 25，纤维素酶与半纤维素酶 15，木聚糖酶占 15，在 45℃~50℃恒温酶解 4~5 天；升温至 85℃，维持 2 分钟，将虎杖专用酶灭活；过滤，滤渣即为经过转化的粗品白藜芦醇；

(5) 絮凝沉淀：将粗品白藜芦醇用 65%~85%乙醇溶解，过滤；加入粗品白藜芦醇湿重 0.8 倍重量的虎杖专用絮凝剂，本实施例的虎杖专用絮凝剂是由以下组分及重量份混合而成：硅胶 50，氧化铝 30，活性炭 20，充分搅拌 10min，然后静置 2h，使沉淀充分沉淀，上清液分层良好；过滤，得滤液；

(6) 层析精制：将滤液进氧化铝层析柱，自有液体流出时开始收集；将液体进行分段，淡黄色液体送下道工序，自流出红至黑色液体时更换氧化铝柱；待全部滤液进完氧化铝柱以后，再用 65%~85%乙醇洗脱，一直洗脱至流出液加 2 倍水不产生混浊止；

(7) 结晶与重结晶：将氧化铝柱上的流出液加水进行结晶与重结晶，调节乙醇浓度为 10%~20%，静置 1h，然后过滤，重结晶，直至结晶颜色洁白为止；

(8) 将结晶真空干燥得成品 3.25kg，成品中白藜芦醇含量≥98%。收率 0.65%。

实施例 2：

本实施例与实施例 1 不同的是加入虎杖专用酶 1.5kg，虎杖专用酶由以下组分及重量份混合而成：β-葡萄糖苷酶 30，β-葡聚糖酶 40，纤维素酶与半纤维素酶 22，木聚糖酶 8，加入 0.8 倍重量的虎杖专用絮凝剂，虎杖专用絮凝剂由以下组分及重量份混合而成：硅胶 40，氧化铝 40，活性炭 20；得成品 3.15kg 和，收率 0.63%。

实施例 3：

本实施例与实施例 1 不同的是加入虎杖专用酶 2.5kg，虎杖专用酶由以下组分及重量份混合而成：β-葡萄糖苷酶 40，β-葡聚糖酶 30，纤维素酶与半纤维素酶 20，木聚糖酶 10，加入 0.9 倍重量的虎杖专用絮凝剂，虎杖专用絮凝剂由以下组分及重量份混合而成：硅胶 40，氧化铝 40，活性炭 20；得成品 3.75kg 和，收率 0.75%。