



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105039426 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 11

(21) 申请号 201510351952. 2

(22) 申请日 2015. 06. 24

(71) 申请人 江南大学

地址 214122 江苏省无锡市滨湖区蠡湖大道
1800 号江南大学食品科学与技术国家
重点实验室

(72) 发明人 江波 张涛 周林芳 沐万孟
缪铭

(74) 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所
(普通合伙) 32104

代理人 时旭丹 张仕婷

(51) Int. Cl.

C12P 7/22(2006. 01)

C07C 39/21(2006. 01)

C07C 37/70(2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种超声辅助双水相萃取白藜芦醇的方法

(57) 摘要

一种超声辅助双水相萃取白藜芦醇的方法,属于生物转化技术及植物中天然产物有效成分提取技术领域。本发明通过在粉碎的虎杖粉中加入 β -葡萄糖苷酶,酶解后以乙醇/硫酸铵双水相体系作为提取剂,采用超声辅助双水相体系萃取酶解液中的白藜芦醇,取上相即得白藜芦醇粗产品,可直接进行后续纯化操作。本发明分相迅速,回收率高;多过程集成,双水相萃取既达到了纯化目的,又浓缩了料液,同时与体系中的多糖分离;所用双水相体系低毒,且利于回收;还易于工艺放大和连续操作,与后续纯化工序可直接相连,无需进行特殊处理。

1. 一种超声辅助双水相萃取白藜芦醇的方法,其特征在于步骤如下:

(1) 酶解:将虎杖药材粉碎,加入药材重量 0.8%~1.2% 的 β -葡萄糖苷酶,再加入缓冲液,缓冲液:虎杖药材的料液比为 15~30mL/g;然后在 40~60℃ 酶解 2~10h,使其中的虎杖苷完全转化为白藜芦醇,得到酶解液;

(2) 超声辅助双水相萃取:按酶解液重量百分比计,在酶解液中趁热加入 18%~27% 硫酸铵,冷却后加入 13%~30% 无水乙醇形成双水相体系;在超声功率为 200~300W,温度为 20~40℃ 的条件下萃取 30~60min;

(3) 分相:将步骤(2)所得体系抽滤除去药渣,静置 10~30min 后分为上下两相,分出含有白藜芦醇的上相,即得白藜芦醇粗产品。

2. 根据权利要求 1 所述超声辅助双水相萃取白藜芦醇的方法,其特征在于:步骤(1)中所述缓冲液为 pH4.0~6.0 的柠檬酸/柠檬酸钠溶液。

一种超声辅助双水相萃取白藜芦醇的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种超声辅助双水相萃取白藜芦醇的方法,属于生物转化技术及植物中天然产物有效成分提取技术领域。

背景技术

[0002] 白藜芦醇(resveratrol,简写 Res)是一种天然多酚类物质,化学名 3,5,4'-芪三酚(三羟基 1,2-二苯基乙烯),具有顺、反两种结构,反式结构更为稳定。研究表明,Res 能抑制肿瘤、抗氧化、抗自由基、抗血栓、抗过敏、抗动脉粥样硬化,对冠心病、缺血性心脏病、高血脂症等具有防治作用,白藜芦醇已被列为抗心血管、抗癌最有前途的药物之一,现已广泛应用于食品添加剂、保健品、化妆品等行业。

[0003] 白藜芦醇主要以苷的形式存在于植物中,中药虎杖是白藜芦醇生产的主要原料,白藜芦醇含量 0.08%~0.45%,虎杖苷含量 0.76%~2.55%。因此,将虎杖苷转化成白藜芦醇,这将为白藜芦醇的大量制备提供基础。

[0004] 到目前为止,国内外对于生物转化法提高白藜芦醇含量方面的文献和专利已有较多,主要是通过酶法转化和微生物法转化实现,而转化后白藜芦醇的提取分离大多采用传统的方法,如专利 CN201210432150.0, CN201210344092.6 和 CN201010283136.X 均以虎杖粉为原料,加入复合酶进行酶解后,用有机溶剂进行萃取,这些专利中所用提取方法大致相同,所需有机溶剂量多,耗时较长,提取率低。另外,直接用有机溶剂水溶液提取还会溶入较多蛋白和多糖,给后续分离纯化带来麻烦,不利于白藜芦醇的工业化生产。近些年,短链醇/盐体系作为一种新型的双水相体系因其条件温和,价格低廉,易于回收醇等优点,已被用于分离天然产物。

[0005] 专利 CN201110280671.4 公开了“一种双水相萃取葛根中总黄酮的方法”,该法利用无水乙醇/磷酸二氢钾体系从葛根药材提取液中分离了总黄酮;专利 CN201210178211.5 公开了“双水相萃取分离黄芪黄酮、皂苷和多糖的方法”,该法利用无水乙醇/磷酸氢二钾形成的双水相系统从黄芪粗提液中分离得到黄芪总黄酮和皂苷,同时与粗提液中的黄芪多糖进行分离;李梦清等用乙醇/硫酸铵体系从虎杖提取液中分离白藜芦醇(天然产物研究与开发,2006,18:647-649);王辉采用微波辅助双水相提取工艺对虎杖粗药材和发酵液中的白藜芦醇苷、白藜芦醇和大黄素进行提取,该法虽然微波时间较短,但不利于工业化。

发明内容

[0006] 本发明的目的是针对现有技术提供了一种超声辅助双水相萃取虎杖中白藜芦醇的方法,其不但提高了虎杖中白藜芦醇的提取率,避免了有毒溶剂的使用,且能将粗提品中的白藜芦醇与多糖进行分离,达到纯化白藜芦醇的目的。

[0007] 该法同时具备超声辅助提取和双水相萃取的特点,将酶解后的提取、萃取、分相和浓缩四个步骤集成为一步,大大简化纯化过程,降低了生产成本。

[0008] 本发明的技术方案,一种超声辅助双水相萃取白藜芦醇的方法,步骤如下:

(1) 酶解:将虎杖药材粉碎,加入药材重量 0.8%~1.2% 的 β -葡萄糖苷酶,再加入缓冲液,缓冲液:虎杖药材的料液比为 15~30mL/g;然后在 40~60℃酶解 2~10h,使其中的虎杖苷完全转化为白藜芦醇,得到酶解液;

(2) 超声辅助双水相萃取:按酶解液重量百分比计,在酶解液中趁热加入 18%~27% 硫酸铵,冷却后加入 13%~30% 无水乙醇形成双水相体系;在超声功率为 200~300W,温度为 20~40℃的条件下萃取 30~60min;

(3) 分相:将步骤(2)所得体系抽滤除去药渣,静置 10~30min 后分为上下两相,分出含有白藜芦醇的上相,即得白藜芦醇粗产品。

[0009] 步骤(1)中所述缓冲液为 pH4.0~6.0 的柠檬酸/柠檬酸钠溶液。

[0010] 本发明的有益效果:

(1) 在料液比相同的前提下,本发明的一次提取效率比单纯乙醇溶液高,且所需有机溶剂量少,分相迅速;

(2) 所得萃取液体积小,浓度高,有利于后续浓缩和纯化,且提取的有机相中糖类含量大大减少;

(3) 利用超声辅助双水相萃取虎杖中白藜芦醇的实验条件易于放大和连续操作,与后续纯化工序可直接相连,无需进行特殊处理,有利于实现工业化。

具体实施方式

[0011] 以下实施例是对本发明的进一步说明,不是对本发明的限制。

[0012] 实施例 1

(1) 酶解:取粉碎的虎杖药材 1.0g,加 15 mL pH4.0 柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液和 0.01g β -葡萄糖苷酶,60℃水浴振荡水解 2h,使其中的虎杖苷完全转化为白藜芦醇;

(2) 超声辅助双水相萃取:在上述酶解液中加入硫酸铵和无水乙醇形成双水相体系,使其中硫酸铵占体系质量分数为 27%,无水乙醇占体系质量分数为 18%。在超声功率为 200W,温度为 20℃的条件下,萃取 60min;

(3) 分相:将步骤(2)所得体系抽滤除去药渣后转移至分液漏斗,静置 10min 后分为上下两相,分出含有白藜芦醇的上相,即得白藜芦醇粗产品。

[0013] 在本发明中,白藜芦醇的含量用高效液相色谱检测。经检测,白藜芦醇的回收率为 98.7%,含量为 8.9mg/g。

[0014] 实施例 2

(1) 酶解:取粉碎的虎杖药材 1.0g,加 30 mL pH6.0 柠檬酸/柠檬酸钠缓冲液和 0.01g β -葡萄糖苷酶,40℃水浴振荡水解 10h,使其中的虎杖苷完全转化为白藜芦醇;

(2) 超声辅助双水相萃取:在上述酶解液中加入硫酸铵和无水乙醇形成双水相体系,使其中硫酸铵占体系质量分数为 23%,无水乙醇占体系质量分数为 20%。在超声功率为 300W,温度为 40℃的条件下,萃取 30min;

(3) 分相:将步骤(2)所得体系抽滤除去药渣后转移至分液漏斗,静置 30min 后分为上下两相,分出含有白藜芦醇的上相,即得白藜芦醇粗产品。经检测,白藜芦醇的回收率为 98.5%,含量为 9.3mg/g。

[0015] 实施例 3

(1) 酶解 : 取粉碎的虎杖药材 1.0g, 加 25 mL pH4.5 柠檬酸 / 柠檬酸钠缓冲液和 0.01g β -葡萄糖苷酶, 50℃水浴振荡水解 6h, 使其中的虎杖苷完全转化为白藜芦醇;

(2) 超声辅助双水相萃取 : 在上述酶解液中加入硫酸铵和无水乙醇形成双水相体系, 使其中硫酸铵占体系质量分数为 22%, 无水乙醇占体系质量分数为 21%。在超声功率为 250W, 温度为 30℃的条件下, 萃取 45min;

(3) 分相 : 将步骤(2) 所得体系抽滤除去药渣后转移至分液漏斗, 静置 20min 后分为上下两相, 分出含有白藜芦醇的上相, 即得白藜芦醇粗产品。经检测, 白藜芦醇的回收率为 99.2%, 含量为 10.2mg/g。

[0016] 以上所述, 仅为本发明较佳的具体实施方式, 本发明的保护范围不限于此, 任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明披露的技术范围内, 任何该技术方案简单变化或等效替换均属于本发明的保护范围。