



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102250969 B

(45) 授权公告日 2013. 01. 16

(21) 申请号 201110125337. 1

(22) 申请日 2011. 05. 16

(73) 专利权人 张家界湘汇生物有限责任公司  
地址 427000 湖南省张家界市经济开发区 C 区

(72) 发明人 于华忠 张世平 张富谷 雷献阳  
黄琳琳 白冰

(74) 专利代理机构 张家界市慧诚商标专利事务所  
43209

代理人 高红旺

(51) Int. Cl.

C12P 7/22 (2006. 01)

C12R 1/645 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 1384088 A, 2002. 12. 11, 说明书全文.

CN 1724495 A, 2006. 01. 25, 说明书全文.

CN 1341587 A, 2002. 03. 27, 说明书全文.

CN 101870640 A, 2010. 10. 27, 说明书全文.

CN 1896255 A, 2007. 01. 17, 说明书全文.

CN 1962592 A, 2007. 05. 16, 说明书全文.

CN 1321961 C, 2007. 06. 20, 说明书全文.

黄志芳 等. 酶解法提取纯化虎杖提取物  
中白藜芦醇的工艺研究. 《天然产物研究与开  
发》. 2009, 第 21 卷 (第 6 期), 1061-1064.

袁润蕾 等. 微生物转化虎杖苷粗提物生成  
白藜芦醇的研究. 《时珍国医国药》. 2008, 第 19  
卷 (第 3 期), 712-714.

向海艳 等. 酶解法对提取虎杖中白藜芦醇  
的应用及工艺优化. 《中南大学学报 (自然科学  
版)》. 2008, 第 39 卷 (第 4 期), 700-704.

审查员 张林

权利要求书 1 页 说明书 2 页

(54) 发明名称

从虎杖中制备高纯度白藜芦醇的工艺

(57) 摘要

一种从虎杖中制备高纯度白藜芦醇的方法, 是将干燥虎杖粉碎到通过 80 目筛  $\geq 90\%$ , 在加水浸润后的虎杖粉中加入专用微生物, 在  $35 \sim 60^\circ\text{C}$  下恒温发酵  $12 \sim 30$  小时, 然后加入低温酵母, 使温度降低到  $20 \sim 30^\circ\text{C}$ , 恒温发酵  $30 \sim 48$  小时; 然后经乙醇提取, 提取液浓缩, 浓缩液用乙酸乙酯或乙酸丁酯 1:1 萃取; 再将所得有机层进氧化铝层析柱, 再用  $80 \sim 90\%$  乙醇洗脱, 洗脱液浓缩至醇浓度至  $40 \sim 60\%$  进行结晶与重结晶, 静置  $5 \sim 8$  小时, 然后过滤, 重结晶, 直至结晶颜色洁白为止。本发明其可以将白藜芦醇的纯度提高到  $99\%$  以上, 将产品收率从  $0.3\% \sim 0.5\%$  提高到  $0.8\%$  以上, 并将白藜芦醇产品的颜色做白且无杂色, 提高产品质量, 并可缩短生产周期, 提高生产效率。

1. 一种从虎杖中制备高纯度白藜芦醇的方法,其特征在于,包括以下步骤:

1) 干燥虎杖药材粉碎到通过 80 目筛 $\geq 90\%$ ;

2) 加水浸润虎杖粉,在浸润后的虎杖粉中加入专用微生物,置于温度控制在 35 ~ 60°C 的容器内,恒温发酵 12 ~ 30 小时,使白藜芦醇的类似物转化成虎杖甙或白藜芦醇,专用微生物的加入量与虎杖的重量比为:专用微生物:虎杖=3:100,所述专用微生物为高温酵母+糖化酶,重量配比为:高温酵母:糖化酶=1:2;

3) 加入低温酵母,调节发酵的温度,使温度降低到 20-30°C,恒温发酵 30-48 小时,使虎杖甙转化成白藜芦醇,低温酵母的加入量与虎杖的重量比为:低温酵母:虎杖=1:100;

4) 加入虎杖重量 4 ~ 5 倍的 80%乙醇,提取三次,每次 1.5 小时;

5) 将 3 次虎杖提取液浓缩回收乙醇至无醇味,浓缩液体积:虎杖重量=1L:2kg;

6) 将浓缩液采用乙酸乙酯或乙酸丁酯 1:1 萃取三次,得有机层即含白藜芦醇层;

7) 将有机层进氧化铝层析柱,自有液体流出时开始分段收集,自流出红至黑色液体时更换氧化铝柱,待全部液体进完氧化铝柱以后,再用 80-90%乙醇洗脱,至检测没有白藜芦醇时为止;

8) 将氧化铝柱上的洗脱液浓缩至醇浓度至 40-60% 进行结晶与重结晶,静置 5-8 小时,然后过滤,重结晶,直至结晶颜色洁白为止;

9) 将结晶低温真空干燥得成品,白藜芦醇 $\geq 99\%$ 。

## 从虎杖中制备高纯度白藜芦醇的工艺

### 技术领域

[0001] 本发明涉及植物有效成分提取领域,具体地说,是提供一种从虎杖中制备白藜芦醇的工艺。

### [0002] 背景技术

[0003] 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—发酵—醇提浓缩—干柱层析(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 0.3-0.5%,颜色略带米黄或灰白色,白藜芦醇的纯度均在 95-98%,其价格与纯度为 99% 的白藜芦醇有较大的差距。现有的提取方法所得白藜芦醇的纯度与虎杖白藜芦醇含量有较大的差别,如何提高收率,同时把产品颜色做白,提高产品质量是本领域技术人员期待解决的问题。中国专利“一种从虎杖中提取纯化白藜芦醇的新方法”(ZL200510019788.1)公开的是采用大孔吸附树脂分离纯化白藜芦醇,中国专利“虎杖苷和白藜芦醇的新制备方法”(ZL200310112538.3)公开的是采用聚酰胺层析法分离纯化白藜芦醇,中国专利“从虎杖中提取纯度 98% 以上的白藜芦醇的工艺”(ZL 200810032067.8)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,可以将白藜芦醇的纯度提高到 98% 以上。目前 99% 以上白藜芦醇的生产技术还未见文献报道,

### [0004] 发明内容

[0005] 本发明的目的就是提供一种从虎杖中制备高纯度白藜芦醇的方法,其可以将白藜芦醇的纯度提高到 99% 以上,将产品收率从 0.3% -0.5% 提高到 0.8% 以上,并将白藜芦醇产品的颜色做白且无杂色,提高产品质量,真正应用于工业生产,可缩短生产周期,提高生产效率。

[0006] 本发明的技术方案包括以下步骤:

[0007] 1) 干燥虎杖药材粉碎到通过 80 目筛  $\geq 90\%$ ;

[0008] 2) 加水浸润虎杖粉,在浸润后的虎杖粉中加入专用微生物,置于温度控制在 35~60℃ 的容器内,恒温发酵 12~30 小时,使白藜芦醇的类似物转化成虎杖甙或白藜芦醇,所述专用微生物为高温酵母+糖化酶;

[0009] 3) 加入低温酵母,调节发酵的温度,使温度降低到 20-30℃,恒温发酵 30-48 小时,使虎杖甙转化成白藜芦醇;

[0010] 4) 加入虎杖重量 4~5 倍的 80% 乙醇,提取三次,每次 1.5 小时;

[0011] 5) 将 3 次虎杖提取液浓缩回收乙醇至无醇味,浓缩液体积:虎杖重量 =1kg:2L;

[0012] 6) 将浓缩液采用乙酸乙酯或乙酸丁酯 1:1 萃取三次,得有机层即含白藜芦醇层;

[0013] 7) 将有机层进氧化铝层析柱,自有液体流出时开始分段收集,自流出红至黑色液体时更换氧化铝柱,待全部液体进完氧化铝柱以后,再用 80-90% 乙醇洗脱,至检测没有白藜芦醇时为止;

[0014] 8)将氧化铝柱上的洗脱液浓缩至醇浓度至 40-60% 进行结晶与重结晶,静置 5-8 小时,然后过滤,重结晶,直至结晶颜色洁白为止;

[0015] 9) 将结晶低温真空干燥得成品,白藜芦醇 $\geq 99\%$ 。

[0016] 步骤 2) 中,专用微生物的加入量与虎杖的重量比为:专用微生物:虎杖=3:100。专用微生物为高温酵母+糖化酶,重量配比为:高温酵母:糖化酶=1:2。

[0017] 步骤 3) 中,低温低温酵母的加入量与虎杖的重量比为:低温低温酵母:虎杖=1:100

[0018] 本发明的优点:(1) 提高了成品 98% 白藜芦醇的产量,将产量从 0.3%~0.5% 提高到 0.8% 以上,相比提高 0.3~0.5%,即每吨同等原料可多得 99% 白藜芦醇 3~5kg,创造新的价值 7500 元~12500 元。(2) 提高了 99% 白藜芦醇产品的色泽,去除了普通品种所带的米黄色至灰白色,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。(3) 不再使用三氯化碳等对人体有害的有机溶剂,取而代之以乙酸乙酯或乙酸丁酯萃取,非常容易操作,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。

[0019] 具体实施方式

[0020] 实施例 1:

[0021] 1) 取干燥虎杖 400kg,粉碎到通过 80 目筛 $\geq 90\%$ ;

[0022] 2) 转化:加水 320kg 浸润虎杖粉;加入 4kg 高温酵母+8kg 糖化酶至浸润后的虎杖粉中,搅拌均匀,置于温度控制在 55℃ 的容器内,恒温发酵 25 小时。加入 4kg 低温酵母,调节发酵的温度,使温度降低到 25℃,恒温发酵 40 小时醇;

[0023] 3) 乙醇提取:加入 80% 乙醇 2000L;提取三次,每次 1.5 小时;

[0024] 4) 浓缩与回收乙醇:将 3 次虎杖提取液浓缩回收乙醇至无醇味,即浓缩液体积为 200L。

[0025] 5) 萃取:加入乙酸乙酯 200L 萃取三次,得乙酸乙酯层;

[0026] 6) 层析:将乙酸乙酯层加入氧化铝层析柱,自有液体流出时开始分段收集,自流出红至黑色液体时更换氧化铝柱;待全部液体进完氧化铝柱以后,再用用 85% 乙醇洗脱,至检测没有白藜芦醇时为止;

[0027] (7) 结晶与重结晶:将氧化铝柱上的洗脱液浓缩至醇浓度至 48% 进行结晶与重结晶,静置 5-8 小时,然后过滤,重结晶,直至结晶颜色洁白为止;

[0028] (8) 将结晶低温真空干燥得产品 3.215kg,经检测白藜芦醇含量为 99.5%。

[0029] 实施例 2:

[0030] 本实施例与实施例 1 不同的是加入萃取剂为乙酸丁酯 200L。得产品 3.17kg,含量为 99.2%。