



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108048495 B

(45) 授权公告日 2021.04.16

(21) 申请号 201711357847.5	(56) 对比文件
(22) 申请日 2017.12.17	CN 104341277 A, 2015.02.11
(65) 同一申请的已公布的文献号	CN 101348805 A, 2009.01.21
申请公布号 CN 108048495 A	CN 101698634 A, 2010.04.28
(43) 申请公布日 2018.05.18	CN 107353183 A, 2017.11.17
(73) 专利权人 安徽济人药业有限公司	CN 105420293 A, 2016.03.23
地址 236814 安徽省亳州市工业园区	CN 101338327 A, 2009.01.07
(72) 发明人 曹勇 其他发明人请求不公开姓名	CN 101760483 A, 2010.06.30
(74) 专利代理机构 合肥初航知识产权代理事务所(普通合伙) 34171	CN 101948370 A, 2011.01.19
代理人 谢永	CN 102925497 A, 2013.02.13
(51) Int. Cl.	Fu-You Du et al., .Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of trans-resveratrol from Rhizma Polygoni Cuspidati.《Journal of Chromatography A》.2007, 第1140卷(第1期), 56-62.
G12P 7/22 (2006.01)	
C07C 37/70 (2006.01)	
C07C 39/21 (2006.01)	

审查员 刘俊

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

一种白藜芦醇的生物提取方法

(57) 摘要

本发明公开了一种白藜芦醇的生物提取方法,属于植物有效成分提取技术领域。本发明生物提取方法包括原料粉碎、发酵、澄清、酶解、干燥、碱洗、水洗、制备成品等步骤。利用本发明的白藜芦醇生物提取方法提取白藜芦醇,得到的白藜芦醇得率和纯度都明显提高。

1. 一种白藜芦醇的生物提取方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1:粉碎:将新鲜的虎杖干燥至含水量低于25%,然后在粉碎机中粉碎成粒径为180-200目的原料粉末;

S2:发酵:在原料粉末中加入2-3倍量水浸润2天,再添加纤维素酶、果胶酶、酿酶混合均匀,密封发酵5-10天,得发酵液;将发酵液用乙醇、丙酮、乙酸乙酯混合溶液提取2-4次,每次提取1-2h,提取温度为60-80℃,将提取液进行离心处理,转速为220-260r/min;所述乙醇、丙酮、乙酸乙酯以3:1:1的比重量比混合;所述纤维素酶、果胶酶、酿酶以(1-2):(0.5-1):(0.3-0.6)的重量比混合,用量为原料粉末的2-4%;

S3:澄清:在提取液中加入羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷,搅拌均匀,放置2-3h,过滤除去沉淀,得澄清液;

S4:酶解:在澄清液中,加入醋酸钠调节pH值为4.5-5.1,再加入超氧化物歧化酶、β-葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶进行酶解,控制温度为43-58℃,酶解10-15h,得酶解液;所述超氧化物歧化酶、β-葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶(2-3):(1-2):(0.5-0.8):(0.2-0.4)的重量比混合,用量为澄清液的1-2%;

S5:干燥:将酶解液过滤,分离出沉淀物,将沉淀物加热浓缩,得到白藜芦醇浓缩液;

S6:碱洗:将白藜芦醇浓缩液加入浓度为10%-15%醋酸钾溶液中,以转速为60-100r/min的速度搅拌30-60min,分离出沉淀物;

S7:水洗:将沉淀物用3-6倍量的蒸馏水洗2-3次,至水液呈中性,然后向沉淀中加30-40倍量的蒸馏水,加热至80-100℃使其溶解,得白藜芦醇溶液;

S8:制成品:将白藜芦醇溶液降至室温,静置30-40h,白藜芦醇沉淀析出,分离沉淀物,用真空加热干燥后,得到白藜芦醇成品。

2. 根据权利要求1所述的白藜芦醇的生物提取方法,其特征在于,所述步骤S3中采用纳米超滤膜过滤。

3. 根据权利要求1所述的白藜芦醇的生物提取方法,其特征在于,所述步骤S3中羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷以1:2:0.5的重量比混合,用量为提取液的2-5%。

一种白藜芦醇的生物提取方法

技术领域

[0001] 本发明属于植物有效成分提取技术领域,具体涉及一种白藜芦醇的生物提取方法。

背景技术

[0002] 白藜芦醇是一种具有芪类结构的非黄酮类多酚化合物,主要存在于葡萄、花生、桑葚和虎杖等植物中,在医药领域用于抗癌、抗炎和抗过敏、抗风湿、预防心血管疾病等;在美容行业用于制成降脂美容和减肥天然保健食品;在酒类中利用其抗氧化、抗自由基的特性,降低酒精中毒的风险。

[0003] 白藜芦醇在植物中含量较低,且植物提取物的成分复杂,除目标成分外,大多还含有黄酮类、酚酸类物质。因此,要得到高纯度的白藜芦醇,需要选择合适的提取方法。国内外对白藜芦醇进行了大量的研究,白藜芦醇的提取方法根据样品类型而定,提取方法有很多,如浸渍法、回流提取等。近年来出现了超声波辅助提取、微波提取、酶法提取、减压沸腾提取等提取方法。目前国内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。

[0004] 中国专利文献“一种从植物中提取白藜芦醇的工艺(专利号:ZL 200710044048.2)”公开了一种从植物中提取白藜芦醇,制备白藜芦醇含量分别为50%和98%产品的新工艺。该方法以植物虎杖、花生红衣或葡萄籽为原料,用碱提取,提取液经过调pH值、用絮凝剂、澄清剂处理、酶解、过滤,得到的沉淀物干燥后先获得白藜芦醇含量50%的产品;进一步将该产品用稀碱液洗,再用水洗至中性,然后溶于大量热水中,将水液在室温下放置,析出沉淀,过滤干燥后即得到白藜芦醇含量为98%的产品。该方法不使用有机溶剂,宜于工业化生产;但其工艺较复杂,且从原料中提取的白藜芦醇得率较低。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种白藜芦醇的生物提取方法,以解决在中国专利文献“一种从植物中提取白藜芦醇的工艺(专利号:ZL 200710044048.2)”公开的从植物中提取白藜芦醇的方法上,如何优化提取工艺、设置提取参数等,提高原材料的利用率和白藜芦醇的提取得率的技术问题。

[0006] 为了解决以上技术问题,本发明采用以下技术方案:

[0007] 一种白藜芦醇的生物提取方法,包括以下步骤:

[0008] S1:粉碎:将新鲜的虎杖干燥至含水量低于25%,然后在粉碎机中粉碎成粒径为180-200目的原料粉末;

[0009] S2:发酵:在原料粉末中加入2-3倍量水浸润2天,再添加纤维素酶、果胶酶、酿酶混合均匀,密封发酵5-10天,得发酵液;将发酵液用乙醇、丙酮、乙酸乙酯混合溶液提取2-4次,

每次提取1-2h,提取温度为60-80℃,将提取液进行离心处理,转速为220-260r/min;所述乙醇、丙酮、乙酸乙酯以3:1:1的比重量比混合;

[0010] S3:澄清:在提取液中加入羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷,搅拌均匀,放置2-3h,过滤除去沉淀,得澄清液;

[0011] S4:酶解:在澄清液中,加入醋酸钠调节pH值为4.5-5.1,再加入超氧化物歧化酶、β-葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶进行酶解,控制温度为43-58℃,酶解10-15h,得酶解液;

[0012] S5:干燥:将酶解液过滤,分离出沉淀物,将沉淀物加热浓缩,得到白藜芦醇浓缩液;

[0013] S6:碱洗:将白藜芦醇浓缩液加入浓度为10%-15%醋酸钾溶液中,以转速为60-100r/min的速度搅拌30-60min,分离出沉淀物;

[0014] S7:水洗:将沉淀物用3-6倍量的蒸馏水洗2-3次,至水液呈中性,然后向沉淀中加30-40倍量的蒸馏水,加热至80-100℃使其溶解,得白藜芦醇溶液;

[0015] S8:制成品:将白藜芦醇溶液降至室温,静置30-40h,白藜芦醇沉淀析出,分离沉淀物,用真空加热干燥后,得到白藜芦醇成品。

[0016] 优选地,所述步骤S2中纤维素酶、果胶酶、酿酶以(1-2):(0.5-1):(0.3-0.6)的重量比混合,用量为原料粉末的2-4%。

[0017] 优选地,所述步骤S3中采用纳米超滤膜过滤。

[0018] 优选地,所述步骤S3中羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷以1:2:0.5的重量比混合,用量为提取液的2-5%。

[0019] 优选地,所述步骤S4中超氧化物歧化酶、β-葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶(2-3):(1-2):(0.5-0.8):(0.2-0.4)的重量比混合,用量为澄清液的1-2%。

[0020] 本发明具有以下有益效果:

[0021] (1)由实施例1-3和对比例5的数据可见,采用实施例1-3的微生物提取方法提取白藜芦醇,得到的白藜芦醇得率和纯度都明显提高;同时由实施例1-3的数据可见,实施例1为最优实施例。

[0022] (2)由实施例1和对比例1-5的数据可见,步骤S1中原料粉末粒径为180-200目;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解,在提取白藜芦醇过程中起到了协同作用,协同提高了白藜芦醇的得率和纯度,这是:

[0023] 1)较小粒径的原料能够增大与酶接触的比表面积,步骤S1中原料粉末粒径为180-200目,能够增大白藜芦醇苷在溶液中的溶出速率,但是原料粒径太小会影响酶的内部传质,影响提取效率;在原料粉末粒径为180-200目的基础上,步骤S2添加的纤维素酶、果胶酶、酿酶,能够将细胞壁中纤维素水解和降解,从而破坏细胞壁结构,使有效成分充分暴露、溶解、扩散在溶液中;其中酿酶能将原料中溶解出来的糖类物质催化发酵成乙醇和二氧化碳,降低溶液中的杂质含量,提高纯度;生成的乙醇能够溶解白藜芦醇,从而提高白藜芦醇的溶出率。

[0024] 2)步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解,提取液中加入糖化酶和酿酶,通过酶解的作用,白藜芦醇甙的葡萄糖被水解下来,而生成白藜芦醇,而超氧化物歧化酶在提取过程中存在于原料中,可使分解白藜芦醇甙的酶失去活性而不再进行过度酶

解,从而提高了白藜芦醇的得率。

[0025] 3) 步骤S2添加的酿酶和步骤S4中添加的糖化酶和酿酶均具有酶解糖类物质的功能,糖化酶能够将多糖类(淀粉、糖原等)的 α -1,4-和 α -1,6-配糖键水解而成葡萄糖,酿酶能将从原料中溶解出来的葡萄糖催化发酵成乙醇和二氧化碳,因此,酿酶和糖化酶协同促进了糖类物质的分解,从而提高了白藜芦醇的得率和纯度。

[0026] (3) 本发明中步骤S1中将原料粉碎成粒径为180-200目的粉末;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解作为补强体系,实施例1-3通过在步骤S1中将原料粉碎成粒径为180-200目的粉末;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解,实现在补强体系中以步骤S1中将原料粉碎成粒径为180-200目的粉末;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解为主导的微生物提取方法,利用原料粉末粒径为180-200目时有效成分溶出速率大,再结合纤维素酶、果胶酶、酿酶的酶解作用,使细胞壁中纤维素水解和降解,使有效成分充分暴露、溶解、扩散在溶液;并且,糖化酶能够将多糖类(淀粉、糖原等)的 α -1,4-和 α -1,6-配糖键水解而成葡萄糖,酿酶能将从原料中溶解出来的葡萄糖催化发酵成乙醇和二氧化碳,进一步提高白藜芦醇的溶解速率,减少了白藜芦醇溶液中的杂质,提高了纯度;超氧化物歧化酶在提取过程中存在于原料中,可使分解白藜芦醇的酶失去活性而不再进行过度酶解,从而提高了白藜芦醇的得率;使得补强体系运用到本发明的微生物提取白藜芦醇中,提高了白藜芦醇的得率和纯度。

具体实施方式

[0027] 为便于更好地理解本发明,通过以下实例加以说明,这些实例属于本发明的保护范围,但不限制本发明的保护范围。

[0028] 实施例中,所述白藜芦醇的生物提取方法,包括以下步骤:

[0029] S1:粉碎:将新鲜的虎杖干燥至含水量低于25%,然后在粉碎机中粉碎成粒径为180-200目的原料粉末;

[0030] S2:发酵:在原料粉末中加入2-3倍量水浸润2天,再添加纤维素酶、果胶酶、酿酶混合均匀,密封发酵5-10天,得发酵液;将发酵液用乙醇、丙酮、乙酸乙酯的混合溶液提取2-4次,每次提取1-2h,提取温度为60-80℃,将提取液进行离心处理,转速为220-260r/min;所述纤维素酶、果胶酶、酿酶以(1-2):(0.5-1):(0.3-0.6)的重量比混合,其用量为原料粉末的2-4%;所述乙醇、丙酮、乙酸乙酯以3:1:1的比例混合;

[0031] S3:澄清:在提取液中加入羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷,搅拌均匀,放置2-3h,用纳米超滤膜过滤除去沉淀,得澄清液;所述羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷以1:2:0.5的重量比混合,用量为提取液的2-5%;

[0032] S4:酶解:在澄清液中,加入醋酸钠调节pH值为4.5-5.1,再加入超氧化物歧化酶、 β -葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶进行酶解,控制温度为43-58℃,酶解10-15h,得酶解液;所述超氧化物歧化酶、 β -葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶(2-3):(1-2):(0.5-0.8):(0.2-0.4)的重量比混合,用量为澄清液的1-2%;

[0033] S5:浓缩:将酶解液过滤,分离出沉淀物,将沉淀物加热浓缩,得到白藜芦醇浓缩

液；

[0034] S6:碱洗:将白藜芦醇浓缩液加入浓度为10%-15%醋酸钾溶液中,以转速为60-100r/min的速度搅拌30-60min,分离出沉淀物;

[0035] S7:水洗:将沉淀物用3-6倍量的蒸馏水洗2-3次,至水液呈中性,然后向沉淀中加30-40倍量的蒸馏水,加热至80-100℃使其溶解,得白藜芦醇溶液;

[0036] S8:制成品:将白藜芦醇溶液降至室温,静置30-40h,白藜芦醇沉淀析出,分离沉淀物,真空加热干燥后,得到白藜芦醇成品。

[0037] 实施例1

[0038] 一种白藜芦醇的生物提取方法,包括以下步骤:

[0039] S1:粉碎:将新鲜的虎杖干燥至含水量低于25%,然后在粉碎机中粉碎成粒径为180-200目的原料粉末;

[0040] S2:发酵:在原料粉末中加入2倍量水浸润2天,再添加纤维素酶、果胶酶、酿酶混合均匀,密封发酵8天,得发酵液;将发酵液用乙醇、丙酮、乙酸乙酯的混合溶液提取2次,每次提取2h,提取温度为70℃,将提取液进行离心处理,转速为220r/min;所述纤维素酶、果胶酶、酿酶以2:1:0.3的重量比混合,其用量为原料粉末的3%;所述乙醇、丙酮、乙酸乙酯以3:1:1的比例混合;

[0041] S3:澄清:在提取液中加入羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷,搅拌均匀,放置3h,用纳米超滤膜过滤除去沉淀,得澄清液;所述羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷以1:2:0.5的重量比混合,用量为提取液的3%;

[0042] S4:酶解:在澄清液中,加入醋酸钠调节pH值为4.5,再加入超氧化物歧化酶、β-葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶进行酶解,控制温度为43℃,酶解13h,得酶解液;所述超氧化物歧化酶、β-葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶1.5:1:0.8:0.2的重量比混合,用量为澄清液的1.5%;

[0043] S5:浓缩:将酶解液过滤,分离出沉淀物,将沉淀物加热浓缩,得到白藜芦醇浓缩液;

[0044] S6:碱洗:将白藜芦醇浓缩液加入浓度为15%醋酸钾溶液中,以转速为100r/min的速度搅拌30h分钟,分离出沉淀物;

[0045] S7:水洗:将沉淀物用3倍量的蒸馏水洗3次,至水液呈中性,然后向沉淀中加35倍量的蒸馏水,加热至100℃使其溶解,得白藜芦醇溶液;

[0046] S8:制成品:将白藜芦醇溶液降至室温,静置30h,白藜芦醇沉淀析出,分离沉淀物,真空加热干燥后,得到白藜芦醇成品。

[0047] 实施例2

[0048] 一种白藜芦醇的生物提取方法,包括以下步骤:

[0049] S1:粉碎:将新鲜的虎杖干燥至含水量低于25%,然后在粉碎机中粉碎成粒径为180-200目的原料粉末;

[0050] S2:发酵:在原料粉末中加入2.3倍量水浸润2天,再添加纤维素酶、果胶酶、酿酶混合均匀,密封发酵10天,得发酵液;将发酵液用乙醇、丙酮、乙酸乙酯的混合溶液提取3次,每次提取1h,提取温度为60-80℃,将提取液进行离心处理,转速为240r/min;所述纤维素酶、果胶酶、酿酶以1:0.5:0.4的重量比混合,其用量为原料粉末的4%;所述乙醇、丙酮、乙酸乙酯以3:1:1的比例混合;

[0051] S3:澄清:在提取液中加入羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷,搅拌均匀,放置2.5h,用纳米超滤膜过滤除去沉淀,得澄清液;所述羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷以1:2:0.5的重量比混合,用量为提取液的5%;

[0052] S4:酶解:在澄清液中,加入醋酸钠调节pH值为4.8,再加入超氧化物歧化酶、 β -葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶进行酶解,控制温度为50℃,酶解15h,得酶解液;所述超氧化物歧化酶、 β -葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶3:1.5:0.5:0.3的重量比混合,用量为澄清液的2%;

[0053] S5:浓缩:将酶解液过滤,分离出沉淀物,将沉淀物加热浓缩,得到白藜芦醇浓缩液;

[0054] S6:碱洗:将白藜芦醇浓缩液加入浓度为10%醋酸钾溶液中,以转速为60r/min的速度搅拌50h分钟,分离出沉淀物;

[0055] S7:水洗:将沉淀物用4倍量的蒸馏水洗2次,至水液呈中性,然后向沉淀中加30-40倍量的蒸馏水,加热至80℃使其溶解,得白藜芦醇溶液;

[0056] S8:制成品:将白藜芦醇溶液降至室温,静置35h,白藜芦醇沉淀析出,分离沉淀物,真空加热干燥后,得到白藜芦醇成品。

[0057] 实施例3

[0058] 一种白藜芦醇的生物提取方法,包括以下步骤:

[0059] S1:粉碎:将新鲜的虎杖干燥至含水量低于25%,然后在粉碎机中粉碎成粒径为180-200目的原料粉末;

[0060] S2:发酵:在原料粉末中加入3倍量水浸润2天,再添加纤维素酶、果胶酶、酿酶混合均匀,密封发酵5天,得发酵液;将发酵液用乙醇、丙酮、乙酸乙酯的混合溶液提取4次,每次提取1.2h,提取温度为60℃,将提取液进行离心处理,转速为260r/min;所述纤维素酶、果胶酶、酿酶以1.2:0.7:0.6的重量比混合,其用量为原料粉末的2%;所述乙醇、丙酮、乙酸乙酯以3:1:1的比例混合;

[0061] S3:澄清:在提取液中加入羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷,搅拌均匀,放置2.8h,用纳米超滤膜过滤除去沉淀,得澄清液;所述羧甲基纤维素、聚丙烯酰胺、聚环氧乙烷以1:2:0.5的重量比混合,用量为提取液的2%;

[0062] S4:酶解:在澄清液中,加入醋酸钠调节pH值为5.1,再加入超氧化物歧化酶、 β -葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶进行酶解,控制温度为58℃,酶解10h,得酶解液;所述超氧化物歧化酶、 β -葡萄糖苷酶、糖化酶和酿酶2:2:0.7:0.4的重量比混合,用量为澄清液的1%;

[0063] S5:浓缩:将酶解液过滤,分离出沉淀物,将沉淀物加热浓缩,得到白藜芦醇浓缩液;

[0064] S6:碱洗:将白藜芦醇浓缩液加入浓度为13%醋酸钾溶液中,以转速为80r/min的速度搅拌60h分钟,分离出沉淀物;

[0065] S7:水洗:将沉淀物用6倍量的蒸馏水洗3次,至水液呈中性,然后向沉淀中加30倍量的蒸馏水,加热至90℃使其溶解,得白藜芦醇溶液;

[0066] S8:制成品:将白藜芦醇溶液降至室温,静置40h,白藜芦醇沉淀析出,分离沉淀物,真空加热干燥后,得到白藜芦醇成品。

[0067] 对比例1

[0068] 与实施例1的提取方法基本相同,唯有不同的是生物提取方法中步骤S1中原料粉

末粒径>1mm;步骤S2中不添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中不添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解。

[0069] 对比例2

[0070] 与实施例1的提取方法基本相同,唯有不同的是生物提取方法中步骤S1中原料粉末粒径>1mm。

[0071] 对比例3

[0072] 与实施例1的提取方法基本相同,唯有不同的是生物提取方法中步骤S2中不添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵。

[0073] 对比例4

[0074] 与实施例1的提取方法基本相同,唯有不同的是生物提取方法中步骤S4中不添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解。

[0075] 对比例5

[0076] 采用中国专利文献“一种从植物中提取白藜芦醇的工艺(专利号:ZL200710044048.2)”中实施例1-3中所述的提取工艺提取白藜芦醇。

[0077] 按照实施例1-3和对比例1-5所述的提取方法提取白藜芦醇,对白藜芦醇的得率和纯度进行检测,结果如下表所示:

实验组别	得率(%)	纯度(%)
实施例1	1.65	99.17
实施例2	1.61	99.18
实施例3	1.56	99.16
对比例1	0.68	97.24
对比例2	1.48	98.78
对比例3	1.42	98.94
对比例4	1.39	98.66
对比例5	0.38	98.12

[0079] 由上表可知:(1)由实施例1-3和对比例5的数据可见,采用实施例1-3的微生物提取方法提取白藜芦醇,得到的白藜芦醇得率和纯度都明显提高;同时由实施例1-3的数据可见,实施例1为最优实施例。

[0080] (2)由实施例1和对比例1-5的数据可见,步骤S1中原料粉末粒径为180-200目;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解,在提取白藜芦醇过程中起到了协同作用,协同提高了白藜芦醇的得率和纯度,这是:

[0081] 1)较小粒径的原料能够增大与酶接触的比表面积,步骤S1中原料粉末粒径为180-200目,能够增大白藜芦醇苷在溶液中的溶出速率,但是原料粒径太小会影响酶的内部传质,影响提取效率;在原料粉末粒径为180-200目的基础上,步骤S2添加的纤维素酶、果胶酶、酿酶,能够将细胞壁中纤维素水解和降解,从而破坏细胞壁结构,使有效成分充分暴露、溶解、扩散在溶液中;其中酿酶能将原料中溶解出来的糖类物质催化发酵成乙醇和二氧化碳,降低溶液中的杂质含量,提高纯度;生成的乙醇能够溶解白藜芦醇,从而提高白藜芦醇的溶出率。

[0082] 2) 步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解,提取液中加入糖化酶和酿酶,通过酶解的作用,白藜芦醇甙的葡萄糖被水解下来,而生成白藜芦醇,而超氧化物歧化酶在提取过程中存在于原料中,可使分解白藜芦醇甙的酶失去活性而不再进行过度酶解,从而提高了白藜芦醇的得率。

[0083] 3) 步骤S2添加的酿酶和步骤S4中添加的糖化酶和酿酶均具有酶解糖类物质的功能,糖化酶能够将多糖类(淀粉、糖原等)的 α -1,4-和 α -1,6-配糖键水解而成葡萄糖,酿酶能将原料中溶解出来的葡萄糖催化发酵成乙醇和二氧化碳,因此,酿酶和糖化酶协同促进了糖类物质的分解,从而提高了白藜芦醇的得率和纯度。

[0084] (3) 本发明中步骤S1中将原料粉碎成粒径为180-200目的粉末;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解作为补强体系,实施例1-3通过在步骤S1中将原料粉碎成粒径为180-200目的粉末;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解,实现在补强体系中以步骤S1中将原料粉碎成粒径为180-200目的粉末;步骤S2中添加纤维素酶、果胶酶、酿酶进行发酵;步骤S4中添加超氧化物歧化酶、糖化酶和酿酶进行酶解为主导的微生物提取方法,利用原料粉末粒径为180-200目时有效成分溶出速率大,再结合纤维素酶、果胶酶、酿酶的酶解作用,使细胞壁中纤维素水解和降解,使有效成分充分暴露、溶解、扩散在溶液;并且,糖化酶能够将多糖类(淀粉、糖原等)的 α -1,4-和 α -1,6-配糖键水解而成葡萄糖,酿酶能将原料中溶解出来的葡萄糖催化发酵成乙醇和二氧化碳,进一步提高白藜芦醇的溶解速率,减少了白藜芦醇溶液中的杂质,提高了纯度;超氧化物歧化酶在提取过程中存在于原料中,可使分解白藜芦醇甙的酶失去活性而不再进行过度酶解,从而提高了白藜芦醇的得率;使得补强体系运用到本发明的微生物提取白藜芦醇中,提高了白藜芦醇的得率和纯度。

[0085] 以上内容不能认定本发明具体实施只局限于这些说明,对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思前提下,还可以做出若干简单推演或替换,都应当视为属于本发明由所提交的权利要求书确定的专利保护范围。