



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103772457 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 07

(21) 申请号 201210404302. 6

(22) 申请日 2012. 10. 17

(71) 申请人 湖北老龙洞杜仲开发有限公司
地址 441021 湖北省襄阳市襄城区江华路
(庞公法庭四楼) 湖北老龙洞杜仲开发
有限公司

(72) 发明人 刘冬成 任治军 刘芸芳

(51) Int. Cl.
C07H 17/04 (2006. 01)
C07H 1/08 (2006. 01)

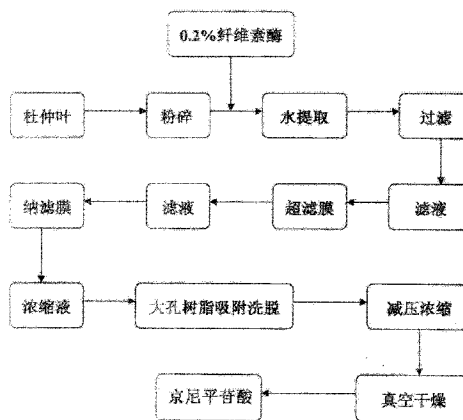
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

一种制取杜仲叶中京尼平昔酸的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种制取杜仲叶中京尼平昔酸的方法,将杜仲叶粉碎、纤维素酶辅助中温水提取、常规过滤、超滤膜除杂、纳滤浓缩、大孔树脂的分离纯化、浓缩及干燥制得京尼平昔酸粉;该方法采用纤维素酶辅助中温水提取杜仲叶中的京尼平昔酸,提取率可达到95%,水提温度较低、提取时间缩短;采用超滤膜对提取液进行除杂、分离其他副产物,膜操作过程简单,膜通量能长时间稳定,易于清洗、使用寿命长和实现工业化;采用纳滤膜对除杂后的提取液进行浓缩,减轻了后续工艺的负荷,可延长树脂的使用寿命;纳滤滤液其COD值≤100,可以回用生产工序,基本无废水排放;采用大孔吸附树脂能有效纯化京尼平昔酸,制得的粉末中京尼平昔酸纯度大于60%,提取率大于2.5%。



1. 一种制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法,包括以杜仲叶粉料为原料制取杜仲叶中的京尼平苷酸,其特征在于:在粉碎的杜仲叶粉料中添加纤维素酶及中温水提取杜仲叶中的京尼平苷酸,通过两级膜分离技术结合树脂吸附洗脱工艺对提取的京尼平苷酸进行分离纯化,收集乙醇洗脱液减压浓缩、真空干燥得产品京尼平苷酸粉末。

2. 根据权利要求1所述的一种制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法,其特征在于:制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法包括以下步骤:

(1)、原料叶的粉碎:将含水量 $\leq 14\%$ 杜仲叶,用常规方法粉碎后过80目筛;

(2)、酶法辅助中温水提取:将粉碎的原料叶中加入一定量的水,调节pH为4.5,并恒温至 50°C – 60°C ,加入适量的纤维素酶在下列条件下进行提取:纤维素酶添加量为底物浓度的0.2%,即每千克原料叶需消耗0.002千克的纤维素酶、杜仲叶粉料:水的质量比=1:12、提取2次、每次60–80min;

(3)、过滤:合并两次提取液后,用常规过滤方法除去悬浮物等杂质;

(4)、超滤膜除杂:采用过滤孔径为0.02–0.06 μm 的超滤膜处理杜仲叶水提液,用超滤膜截留大分子蛋白质及多糖等杂质,而京尼平苷酸分子量在400Da1左右可以完全透过,该膜的操作条件为:P=0.2–0.6Mpa, T=30– 50°C , PH=4–5, Q=60–70L/min;

(5)、纳滤浓缩:采用拦截分子量为200–400Da1的纳滤膜对一级膜滤液进行浓缩,部分脱盐,该级膜浓缩倍数可达15倍以上,无机盐离子去除率可达60%;该膜的操作条件为:P=1.0–1.5Mpa, T=30– 60°C , PH=4–5, Q=20L/min;

(6)、大孔树脂的分离纯化:纳滤膜浓缩液通过大孔树脂进行吸附洗脱,先用2倍树脂柱体积的纯水洗去杂质,然后用2.5倍树脂柱体积的体积百分比浓度为30%乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液;

(7)、浓缩及干燥:将收集的乙醇洗脱液通过常规减压浓缩和真空干燥后可得到京尼平苷酸粉末。

3. 根据权利要求1和权利要求2所述的一种制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法,其特征在于:减压浓缩和真空干燥温度均不高于 60°C 。

一种制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法,特别是涉及一种采用酶法中温水提取、膜分离技术结合树脂工艺制备京尼平苷酸的方法。

背景技术

[0002] 京尼平苷酸是一种重要的生物活性物质,具有保肝利胆、抗高血压、保护神经细胞、抗炎、抗肿瘤、抗血栓、抑制骨质疏松等多种药理作用,在医疗、保健品领域应用广泛。京尼平苷酸主要存在于杜仲、槲子等天然植物中。杜仲是我国特有的经济型树种,分布区域大、资源丰富,杜仲叶中京尼平苷酸的含量为 1~4%,是提取京尼平苷酸的理想原料,国内现有提工艺方案中存在着提取率不高、产品纯度低、能源消耗大、大量使用有机溶剂、废水量大等问题,严重制约了杜仲产业的发展。

[0003] 中国专利:CN101260131A“从杜仲中提取环烯醚萜活性部位及单体的方法”公开了一种从杜仲(皮、叶或种子)中制备京尼平苷酸的工艺,该工艺包括高温提取、有机溶剂萃取、制备色谱分离等步骤,该方案存在着高温提取能耗高,萃取时有机溶剂用量大,采用制备色谱分离难以实现大规模生产,且成本较高等问题。中国专利:CN1241560A“用超临界二氧化碳从杜仲叶中提取有效成分的方法”公开了一种用超临界二氧化碳从杜仲叶中提取京尼平苷酸的方法,该方法所得京尼平苷酸纯度较高(达90%以上),但设备投入较高。

发明内容

[0004] 为了克服上述现有技术中存在的问题及缺点,本发明提供一种制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法,该方法是在粉碎后的杜仲叶粉料中,采用添加纤维素酶和中温水提取杜仲叶中的京尼平苷酸,再通过两级膜分离技术结合树脂吸附洗脱工艺对提取的京尼平苷酸进行分离纯化,收集乙醇洗脱液减压浓缩、真空干燥后得产品京尼平苷酸,有效解决了原来京尼平苷酸生产中提取率低、废水量大和产品纯度低的问题。

[0005] 本发明解决其技术问题所采用的技术方案是:在粉碎后的杜仲叶粉料中,采用添加一定量纤维素酶和中温水提取杜仲叶中的京尼平苷酸,通过两级膜分离技术结合树脂吸附洗脱工艺对提取的京尼平苷酸进行分离纯化,收集乙醇洗脱液减压浓缩、真空干燥后得产品京尼平苷酸粉末。

[0006] 本发明制取杜仲叶中京尼平苷酸的方法步骤包括:

[0007] 1、原料叶的粉碎:干燥的杜仲叶,其含水量 $\leq 14\%$,用常规方法粉碎后过80目筛;

[0008] 2、酶法辅助中温水提取:将粉碎的原料叶中加入一定量的水,调节pH为4.5,并恒温至 $50^{\circ}\text{C}\sim 60^{\circ}\text{C}$,加入适量的纤维素酶在下列条件下进行提取:纤维素酶添加量为底物浓度的0.2%,即每千克原料叶需消耗0.002千克的纤维素酶、杜仲叶:水的质量比=1:12、提取2次、每次60~80min;

[0009] 3、过滤:合并两次提取液后,用常规过滤方法除去悬浮物等杂质;

[0010] 4、超滤膜除杂：本发明采用过滤孔径为 $0.02 \sim 0.06 \mu\text{m}$ 的超滤膜处理杜仲叶水提液，该膜能截留几乎全部的大分子蛋白质及多糖等杂质，而京尼平苷酸分子量为 400Da1 左右可以完全透过，该膜的操作条件为： $P = 0.2 \sim 0.6\text{Mpa}$ ， $T = 30 \sim 50^\circ\text{C}$ ， $\text{PH} = 4 \sim 5$ ， $Q = 60 \sim 70\text{L}/\text{min}$ ；

[0011] 5、纳滤浓缩：本发明采用拦截分子量为 $200 \sim 400\text{Da1}$ 的纳滤膜对一级膜滤液进行浓缩，并能部分脱盐。该级膜浓缩倍数可达 15 倍以上，无机盐离子去除率可达 60%。该膜的操作条件为： $P = 1.0 \sim 1.5\text{Mpa}$ ， $T = 30 \sim 60^\circ\text{C}$ ， $\text{PH} = 4 \sim 5$ ， $Q = 20\text{L}/\text{min}$ 。

[0012] 6、大孔树脂的分离纯化：纳滤膜浓缩液通过大孔树脂进行吸附洗脱，先用 2 倍树脂柱体积的纯水洗去杂质，然后用 2.5 倍树脂柱体积的体积百分比浓度为 30% 乙醇洗脱，收集乙醇洗脱液。

[0013] 7、浓缩及干燥：将收集的乙醇洗脱液通过常规减压浓缩和真空干燥后可得到京尼平苷酸粉末。

[0014] 上述步骤 2 中杜仲叶京尼平苷酸的提取率可达 95%。

[0015] 上述步骤 4、5 中两级膜浓缩均可将物料浓缩 10 倍以上，纳滤膜脱盐率可达 60%，其滤液 COD 值可以降低到 100 以下。

[0016] 上述步骤 6 中大孔树脂为 H103 型树脂。

[0017] 上述步骤 7 中的减压浓缩和真空干燥温度均不高于 60°C 。

本发明具有以下的有益效果：

[0018] 1、酶法中温水提取杜仲叶中的京尼平苷酸，纤维素酶的加入有助于打破叶细胞壁，释放细胞内的京尼平苷酸，提取率可达到 95%，水提温度较低、提取时间缩短，节约能耗。

[0019] 2、采用超滤膜对提取液进行分离纯化，能有效分离其他副产物，膜操作过程简单，膜通量能长时间稳定，易于清洗、使用寿命长，易于实现工业化。

[0020] 3、采用纳滤膜对除杂后的提取液进行浓缩，脱盐率可达 60%，能减轻后续工艺的负荷，延长树脂的使用寿命及节约能耗，纳滤滤液 COD 值 ≤ 100 ，可以回用生产工序，基本无废水排放。

[0021] 4、采用大孔吸附树脂能有效纯化京尼平苷酸，本工艺所选用的树脂为极性大孔吸附树脂，其对京尼平苷酸吸附量大、分离效果好，仅用少量溶媒集中洗脱并分段收集，就能制得较高纯度京尼平苷酸。经过本工艺制得的粉末中京尼平苷酸含量大于 65%，提取率大于 2.5%。

附图说明

[0022] 图 1 是本发明的工艺流程路线示意图。

具体实施方式

[0023] 例 1、参见说明书附图 1，取干燥的杜仲叶 10Kg，粉碎后过 80 目筛，加 120Kg 水，调节温度 55°C ，恒温并调节 pH 值至 4.5，再加入 10g 纤维素酶，在此条件下提取 60min，过滤，滤渣再按前述提取条件第二次提取，合并两次滤液，常规过滤，京尼平苷酸提取率为 95.8%；在操作条件为 $P = 0.3\text{Mpa}$ ， $T = 45^\circ\text{C}$ ， $\text{PH} = 4.5$ ， $Q = 70\text{L}/\text{min}$ 滤液过 $0.03 \mu\text{m}$ 超

滤膜,提取液在该条件下浓缩了 11.2 倍,该超滤膜平均通量为 $226.3\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}$;在操作条件 $P = 1.5\text{Mpa}$, $T = 50^\circ\text{C}$, $\text{PH} = 4.5$, $Q = 20\text{L}/\text{min}$ 将超滤滤液再过 200 分子量纳滤膜,超滤滤液在该条件下浓缩了 16.6 倍,无机盐离子去除率为 63%,该纳滤膜平均通量为 $18.7\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}$,纳滤滤液 COD 为 94;将纳滤浓缩液通过 H103 树脂纯化,先用 2 倍树脂柱体积纯水洗脱杂质,然后用 2.5 倍树脂柱体积的体积百分比浓度为 30% 乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液减压浓缩、真空干燥(其减压浓缩和真空干温度均不高于 60°C) 后可得到京尼平苷酸粉末,经 HPLC 检测京尼平苷酸纯度为 68.5%,得率为 2.62%。

[0024] 例 2、参见说明书附图 1,取干燥的杜仲叶 10Kg,粉碎后过 80 目筛,加 120Kg 水,调节温度 50°C ,恒温并调节 pH 值至 4.5,再加入 10g 纤维素酶,在此条件下提取 80min,过滤,滤渣再按前述提取条件第二次提取,合并两次滤液,常规过滤,京尼平苷酸提取率为 95.3%;在操作条件为 $P = 0.3\text{Mpa}$, $T = 45^\circ\text{C}$, $\text{PH} = 4.5$, $Q = 70\text{L}/\text{min}$ 滤液过 $0.02\mu\text{m}$ 超滤膜,提取液在该条件下浓缩了 12.8 倍,该超滤膜平均通量为 $221.3\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}$;在操作条件 $P = 1.5\text{Mpa}$, $T = 50^\circ\text{C}$, $\text{PH} = 4.5$, $Q = 20\text{L}/\text{min}$ 将超滤滤液再过 400 分子量纳滤膜浓缩,超滤膜滤液在该条件下浓缩了 15.2 倍,无机盐离子去除率为 60%,该纳滤膜平均通量为 $19.5\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}$,纳滤滤液 COD 为 91;将纳滤浓缩液通过 H103 树脂纯化,先用 2 倍树脂柱体积纯水洗脱杂质,然后用 2.5 倍树脂柱体积的体积百分比浓度为 30% 乙醇洗脱,收集乙醇洗脱液减压浓缩、真空干燥(其减压浓缩和真空干温度均不高于 60°C) 后可得到京尼平苷酸粉末,经 HPLC 检测京尼平苷酸纯度为 68.4%,得率为 2.85%。

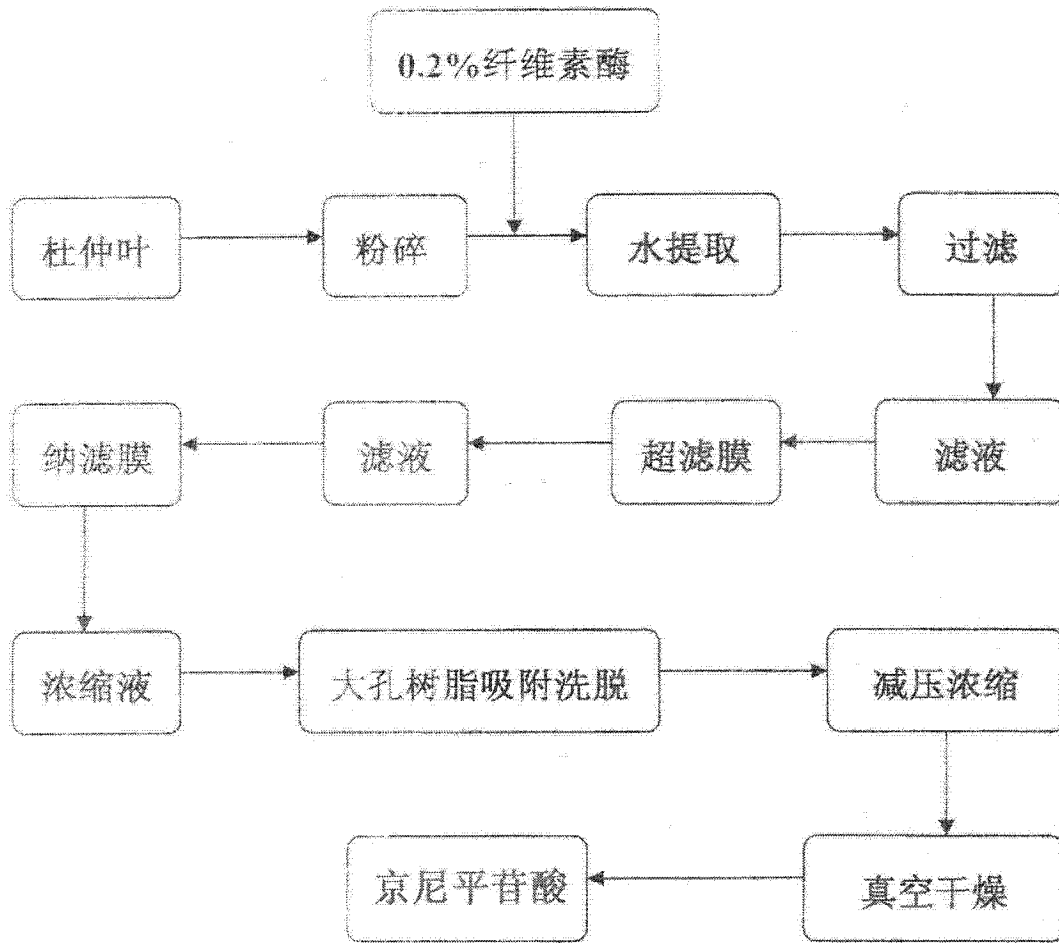


图 1