



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102516325 B

(45) 授权公告日 2014. 04. 09

(21) 申请号 201110361410. 5

(22) 申请日 2011. 11. 15

(73) 专利权人 江西中天农业生物工程有限公司
地址 344108 江西省抚州市临川区七里岗东
临公路旁

(72) 发明人 袁晓 王国艳 叶巍 周东斌
林顺权 杨威 曹健 林志芬
林立克 杨毅融

(74) 专利代理机构 南昌新天下专利商标代理有
限公司 36115
代理人 施秀瑾

(51) Int. Cl.

C07H 13/06 (2006. 01)

C07H 1/08 (2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101864461 A, 2010. 10. 20,

CN 1706858 A, 2005. 12. 14,

张莹等. 栀子黄色素标准品藏红花素的制
备. 《食品与发酵工业》. 2009, 第 35 卷 (第 2
期), 100-103.

任琳毅. 栀子黄色素提取及精制新工艺的研
究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库工程科
技 I 辑》. 2009,

丁艳. 栀子有效成分的分离、制备及测定方
法研究. 《中国优秀硕士学位论文全文数据库工
程科技 I 辑》. 2007,

审查员 承倩怡

权利要求书1页 说明书5页

(54) 发明名称

一种以栀子为原料生产纯度大于 95% 的藏红
花素的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种以栀子为原料生产纯度大于 95% 的藏红花素的方法, 本发明采用常温水渗漉提取, 可以有效减少果胶和蛋白等杂质的提出, 避免给后续分离纯化带来困难。提取前粉碎栀子果实时避免种子破碎, 减少油脂的提出。水提液微滤可除去水提液中的固体颗粒和果胶等杂质, 并滤除细菌等微生物, 微滤后的水提液可以直接上大孔树脂柱连续吸附。同时采用精细大孔树脂代替常规的粗粒径大孔树脂进行吸附层析, 将常压技术升级到加压技术, 用连续循环层析方法取代传统的线性层析方法, 提高了柱效和层析效率, 配合 C18 柱精制, 可以直接得到藏红花素纯品。整个工艺流程简单, 节省溶剂, 成本低, 高效环保, 适合工业化生产纯度大于 95% 的藏红花素产品。

1. 一种以梔子为原料生产纯度大于 95% 的藏红花素的方法,它包括水渗漉提取、微滤、大孔树脂柱层析、C18 柱精制和柱的活化再生,其特征在于其制备方法包括以下步骤:

(1) 提取:将梔子干果原料粉碎至 10-40 目,室温下用 8-15 倍量纯水浸泡 0.8-1.2 小时,然后共用 25-35 倍原料量的纯水渗漉提取,4-8 小时渗漉提取完全,得到提取液 A;

(2) 微滤:提取液 A 过 0.2-1 微米的陶瓷膜,得到澄清滤液 B;

(3) 大孔树脂柱层析上样吸附:使用 5 节 ZT-02 大孔树脂吸附柱,将澄清滤液 B 先上第一节柱吸附,至流出液为微红色时,在第一节柱的尾端接上第二节柱,继续吸附至第二节柱流出液为微红色时,在第二节柱尾端串上柱 C,至柱 C 流出液微红色,取下柱 C;重新在第二节柱尾端,接上柱 D,同柱 C 处理方法一样,以此类推,直到完成柱 E;然后,第一、二节柱用乙醇和水再生,乙醇液回收溶剂,并入提取液 A,重复上样吸附过程;整个上样过程控制在压力 3MPa 内,流速控制在 10-20 分钟一个柱体积;

(4) 分离纯化:分别将柱 C、D 和 E 的尾端接上一节 ZT-03 大孔树脂柱,用 4-8 倍柱体积 15-25% 乙醇循环洗脱除去杂质,最后用 2-3 倍柱体积 80% 乙醇洗脱色素,洗脱液浓缩和烘干,得藏红花素粗品 F,其中藏红花素含量在 60-70%;整个分离过程控制在压力 3MPa 内,流速控制在 5-10 分钟一个柱体积;

(5) C18 柱精制:将得到的藏红花素粗品 F 用 3 倍量 60-90% 乙醇热溶,再加水稀释 8-10 倍,上第一节 C18 柱吸附,待吸附饱和,下面接第二节 C18 柱,用 30-60% 乙醇将第一节 C18 柱中的红色带全部洗脱至第二节柱内;然后取下第一节柱,接在第二节柱下面,继续用 30-60% 乙醇洗脱,至流出液颜色微红;取下位于下面的第一节 C18 柱,用 60-90% 乙醇将红色带洗出,洗脱液于 4°C 冰箱中静置即有红色粉末析出;滤出红色粉末,低温真空烘干,将烘干所得物粉碎至 200-300 目,得到鲜红色粉末,为纯度大于 95% 的藏红花素产品 G;

所述的百分数为质量百分数。

2. 根据权利要求 1 所述的一种以梔子为原料生产纯度大于 95% 的藏红花素的方法,在于其制备方法中柱的活化再生的工艺为:当柱的分离能力下降十分之一时,分别用 2-4% 氢氧化钠水溶液,2-4% 盐酸水溶液,水,95% 乙醇,水依次在线清洗、活化再生,每种溶液用量为 2-4 倍柱体积,整个清洗过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 5-10 分钟一个柱体积;所述的百分数为质量百分数。

一种以栀子为原料生产纯度大于 95% 的藏红花素的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种以栀子为原料生产纯度大于 95% 的藏红花素的方法,属于天然产物提取分离纯化领域。

背景技术

[0002] 栀子成熟果实中含有约 0.5% 的藏红花素,又名 α -藏红花素、西红花苷-1,是水溶性类胡萝卜素化合物,具有很强清除自由基、抗氧化和抗癌活性。藏红花素纯品的制备有一定难度,即使从 Sigma 公司购买的标准品纯度也低于 95%。目前实验室提取藏红花素常采用水或含水乙醇浸提,经大孔吸附树脂柱和硅胶柱反复层析、梯度洗脱,再通过重结晶得到藏红花素纯品。现有技术难以实现工业化生产,直接影响到藏红花素这一活性物质的应用。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种以栀子为原料生产纯度大于 95% 的藏红花素的方法,适合工业化生产纯度 95% 以上的藏红花素产品。

[0004] 本发明通过如下技术方案实现:包括水渗漉提取、微滤、高效大孔树脂柱层析、C18 柱精制和柱的活化再生;

[0005] 其制备方法包括以下步骤:

[0006] (1)提取:将栀子干果原料粉碎至 10-40 目,室温下用 8-15 倍量纯水浸泡 0.8-1.2 小时,然后共用 25-35 倍原料量的纯水渗漉提取,4-8 小时渗漉提取完全,得到提取液 A;

[0007] (2)微滤:提取液 A 过 0.2-1 微米的陶瓷膜,得到澄清滤液 B;

[0008] (3)大孔树脂柱层析上样吸附:使用 5 节 ZT-02 大孔树脂吸附柱,将澄清滤液 B 先上第一节柱吸附,至流出液为微红色时,在第一节柱的尾端接上第二节柱,继续吸附至第二节柱流出液为微红色时,在第二节柱尾端串上柱 C,至柱 C 流出液微红色,取下柱 C;重新在第二节柱尾端,接上柱 D,同柱 C 处理方法一样,以此类推,直到完成柱 E;然后,第一、二节柱用乙醇和水再生,乙醇液回收溶剂,并入提取液 A,重复上样吸附过程;整个上样过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 10-20 分钟一个柱体积。

[0009] (4)分离纯化:分别将柱 C、D 和 E 的尾端接上一节 ZT-03 大孔树脂柱,用 4-8 倍柱体积 15-25% 乙醇循环洗脱除去杂质,最后用 2-3 倍柱体积 80% 乙醇洗脱色素,洗脱液浓缩和烘干,得藏红花素粗品 F,其中藏红花素含量在 60-70%;整个分离过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 5-10 分钟一个柱体积;

[0010] (5)C18 柱精制:将得到的藏红花素粗品 F 用 3 倍量 60-90% 乙醇热溶,再加水稀释 8-10 倍,上第一节 C18 柱吸附,待吸附饱和,下面接第二节 C18 柱,用 30-60% 乙醇将第一节 C18 柱中的红色带全部洗脱至第二节柱内;然后取下第一节柱,接在第二节柱下面,继续用 30-60% 乙醇洗脱,至流出液颜色微红;取下位于下面的第一节 C18 柱,用 60-90% 乙醇将红色带洗出,洗脱液于 4°C 冰箱中静置即有红色粉末析出;滤出红色粉末,低温真空烘干,将烘干所得物粉碎至 200-300 目,得到鲜红色粉末,为纯度大于 95% 的藏红花素产品 G;

[0011] (6) 柱的活化再生：当柱的分离能力下降十分之一时，分别用 2-4% 氢氧化钠水溶液，2-4% 盐酸水溶液，水，95% 乙醇，水依次在线清洗、活化再生，每种溶液用量为 2-4 倍柱体积，整个清洗过程控制在压力 3Mpa 内，流速控制在 5-10 分钟一个柱体积；

[0012] 所述的百分数为质量百分数。

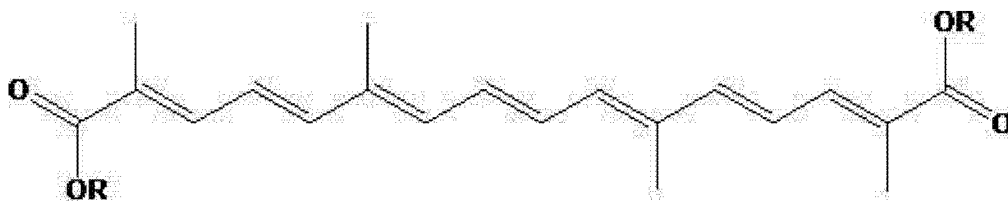
[0013] 本发明采用常温水渗漉提取，可以有效减少果胶和蛋白等杂质的提出，避免给后续分离纯化带来困难。提取前粉碎栀子果实时避免种子破碎，减少油脂的提出。水提液微滤可除去水提液中的固体颗粒和果胶等杂质，并滤除细菌等微生物，微滤后的水提液可以直接上大孔树脂柱连续吸附。同时采用精细大孔树脂代替常规的粗粒径大孔树脂进行吸附层析，将常压技术升级到加压技术，用连续循环层析方法取代传统的线性层析方法，提高了柱效和层析效率，配合 C18 柱精制，可以直接得到藏红花素纯品。整个工艺流程简单，节省溶剂，成本低，高效环保，适合工业化生产纯度大于 95% 的藏红花素产品。

具体实施方式

[0014] 本发明通过下面的实施例可以对本发明作进一步的描述，然而，本发明的范围并不限于下述实施例。

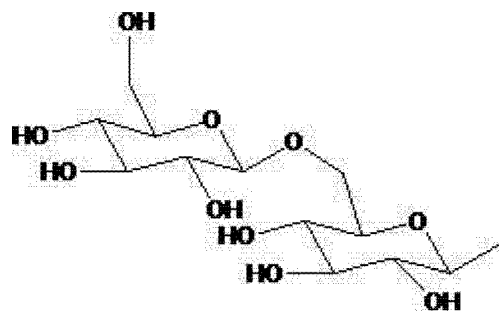
[0015] 本发明藏红花素 (α -Crocetin, α -藏红花素, 西红花苷-1) 的分子结构：

[0016]



[0017] 本发明 R = β -D-gentiobiosyl (龙胆二糖) 的分子结构：

[0018]



[0019] 本发明藏红花素理化特征数据：

[0020]

项目	特征
状态	鲜红色粉末
熔点	184-186° C (分解)
分子式和分子量	$C_{24}H_{24}O_{24}$; 976.38
精确分子量 (MALDI/DHB)	999.3717 (+Na, 计算值 999.3715)
$^1\text{H-NMR } \delta$ (400MHz, DMSO- d_6)	1.97(6H, s), 2.00(6H, s), 2.9-3.5(16H, m), 3.5-4.0(4H, m), 4.17(2H, d, 7.6Hz), 5.42(2H, d, 7.6Hz), 6.52(2H, m), 6.67 (2H, dd) , 6.82(2H, d, 14.8Hz), 6.87(2H, d, 8.0Hz), 7.35 (2H, d, 11.2Hz)

[0021] 实施例 1:

[0022] 1. 提取:将 1 千克栀子干果粉碎至 10-40 目,室温下用 8-15 千克纯水浸泡 1 小时,然后以适当流速渗漉,共用 25-35 千克的纯水渗漉提取,4-8 小时渗漉提取完全,得到提取液 A。

[0023] 2. 微滤:将提取液 A 过 0.2-1 微米的陶瓷膜,得到澄清滤液 B。

[0024] 3. 上样吸附:使用 3 节 ZT-02 大孔吸附树脂柱,每节柱 70 毫升,将澄清滤液 B 先上第一节柱吸附,至流出液为微红色时,在第一节柱的尾端接上第二节柱,继续吸附至第二节柱流出液为微红色时,在第二节柱尾端串上第三节柱 C,至柱 C 流出液微红色,取下柱 C。重新在第二节柱尾端,接上柱 D,同柱 C 处理方法,以此类推,直到完成柱 E。然后,第一、二节柱用乙醇和水再生,乙醇液回收溶剂,并入提取液 A,重复上样吸附过程。整个上样过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 4-7 毫升/分钟。

[0025] 4. 分离纯化:分别将柱 C、D 和 E 的尾端接上一节 ZT-03 大孔树脂柱,用 280-560 毫升 15-25% 乙醇循环洗脱除去杂质,最后用 140-210 毫升 80% 乙醇洗脱色素,洗脱液浓缩、烘干,得藏红花素粗品 F,其中藏红花素含量在 60-70%。整个分离过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 7-15 毫升/分钟。

[0026] 5. 精制:将得到的藏红花素粗品 F 用 3 倍量 60-90% 乙醇热溶,再加水稀释 8-10 倍,上第一节 C18 柱吸附。待吸附完全,接第二节 C18 柱,用 30-60% 乙醇将红色带洗脱至第二节柱内,此时第一节柱应没有红色。取下第一节柱,接在第二节柱下面,继续洗脱,至流出液颜色微红。最后用 60-90% 乙醇洗下最后一节柱,洗脱液置于冰箱中即有红色粉末析出。滤出红色粉末,低温真空烘干,粉碎至 200-300 目,得到鲜红色粉末,为纯度大于 95% 的藏红

花素产品 G。

[0027] 6. 柱的活化再生:当柱分离能力下降达一定程度时,分别用 2-4% 氢氧化钠水溶液、2-4% 盐酸水溶液、水、95% 乙醇、水依次在线清洗、活化再生,每种溶液用量为 140-280 毫升,整个清洗过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 7-15 毫升 / 分钟。

[0028] 实施例 2:

[0029] 1. 提取:将 10 千克栀子干果粉碎至 10-40 目,室温下用 80-150 千克纯水浸泡 1 小时,然后以适当流速渗漉,共用 250-350 千克的纯水渗漉提取,4-8 小时渗漉提取完全,得到提取液 A。

[0030] 2. 微滤:将提取液 A 过 0.2-1 微米的陶瓷膜,得到澄清滤液 B。

[0031] 3. 上样吸附:使用 3 节 ZT-02 大孔吸附树脂柱,每节柱 1000 毫升,将澄清滤液 B 先上第一节柱吸附,至流出液为微红色时,在第一节柱的尾端接上第二节柱,继续吸附至第二节柱流出液为微红色时,在第二节柱尾端串上第三节柱 C,至柱 C 流出液微红色,取下柱 C。重新在第二节柱尾端,接上柱 D,同柱 C 处理方法,以此类推,直到完成柱 E。然后,第一、二节柱用乙醇和水再生,乙醇液回收溶剂,并入提取液 A,重复上样吸附过程。整个上样过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 50-100 毫升 / 分钟。

[0032] 4. 分离纯化:分别将柱 C、D 和 E 的尾端接上一节 ZT-03 大孔树脂柱,用 4-8 升 15-25% 乙醇循环洗脱除去杂质,最后用 2-3 升 80% 乙醇洗脱,洗脱液浓缩、烘干,得藏红花素粗品 F,其中藏红花素含量在 60-70%。整个分离过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 100-200 毫升 / 分钟。

[0033] 5. 精制:将得到的藏红花素粗品 F 用 3 倍量 60-90% 乙醇热溶,再加水稀释 8-10 倍,上第一节 C18 柱吸附。待吸附完全,接第二节 C18 柱,用 30-60% 乙醇将红色带洗脱至第二节柱内,此时第一节柱应没有红色。取下第一节柱,接在第二节柱下面,继续洗脱,至流出液颜色微红。最后用 60-90% 乙醇洗下最后一节柱,洗脱液置于冰箱中即有红色粉末析出。滤出红色粉末,低温真空烘干,粉碎至 200-300 目,得到鲜红色粉末,为纯度大于 95% 的藏红花素产品 G。

[0034] 6. 柱的活化再生:当柱分离能力下降达一定程度时,分别用 2-4% 氢氧化钠水溶液、2-4% 盐酸水溶液、水、95% 乙醇、水依次在线清洗,活化再生,每种溶液流量为 2-4 升,整个清洗过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 100-200 毫升 / 分钟。

[0035] 实施例 3:

[0036] 1. 提取:将 100 千克栀子干果粉碎至 10-40 目,室温下用 800-1500 千克纯水浸泡 1 小时,然后以适当流速渗漉,共用 2500-3500 千克的纯水渗漉提取,4-8 小时渗漉提取完全,得到提取液 A。

[0037] 2. 微滤:将提取液 A 过 0.2-1 微米的陶瓷膜,得到澄清滤液 B。

[0038] 3. 上样吸附:使用 3 节 ZT-02 大孔吸附树脂柱,每节柱 10 升,将澄清滤液 B 先上第一节柱吸附,至流出液为微红色时,在第一节柱的尾端接上第二节柱,继续吸附至第二节柱流出液为微红色时,在第二节柱尾端串上第三节柱 C,至柱 C 流出液微红色,取下柱 C。重新在第二节柱尾端,接上柱 D,同柱 C 处理方法,以此类推,直到完成柱 E。然后,第一、二节柱用乙醇和水再生,乙醇液回收溶剂,并入提取液 A,重复上样吸附过程。整个上样过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 0.5-1 升 / 分钟。

[0039] 4. 分离纯化:分别将柱 C、D 和 E 的尾端接上一节 ZT-03 大孔树脂柱,用 40-80 升 15-25% 乙醇循环洗脱除去杂质,最后用 20-30 升 80% 乙醇洗脱,洗脱液浓缩、烘干,得藏红花素粗品 F,其中藏红花素含量在 60-70%。整个分离过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 1-2 升 / 分钟。

[0040] 5. 精制:将得到的藏红花素粗品 F 用 3 倍量 60-90% 乙醇热溶,再加水稀释 8-10 倍,上第一节 C18 柱吸附。待吸附完全,接第二节 C18 柱,用 30-60% 乙醇将红色带洗脱至第二节柱内,此时第一节柱应没有红色。取下第一节柱,接在第二节柱下面,继续洗脱,至流出液颜色微红。最后用 60-90% 乙醇洗下最后一节柱,洗脱液置于冰箱中即有红色粉末析出。滤出红色粉末,低温真空烘干,粉碎至 200-300 目,得到鲜红色粉末,为纯度大于 95% 的藏红花素产品 G。

[0041] 6. 柱的活化再生:当柱分离能力下降达一定程度时,分别用 2-4% 氢氧化钠水溶液、2-4% 盐酸水溶液、水、95% 乙醇、水依次在线清洗,活化再生,每种溶液用量为 20-40 升,整个清洗过程控制在压力 3Mpa 内,流速控制在 1-2 升 / 分钟。