



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108690099 A

(43)申请公布日 2018.10.23

(21)申请号 201810522802.7

(22)申请日 2018.05.28

(71)申请人 中国科学院兰州化学物理研究所
地址 730000 甘肃省兰州市城关区天水中路18号

(72)发明人 邸多隆 刘建飞 裴栋

(74)专利代理机构 兰州智和专利代理事务所
(普通合伙) 62201

代理人 张英荷

(51) Int. Cl.

C07G 99/00(2009.01)

C07D 311/54(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法

(57)摘要

本发明公开了一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,该方法以高速剪切破壁提取技术、大孔树脂混合模拟移动床富集技术和纳滤膜分离纯化技术为核心技术,以原花青素含量最高的黑果枸杞为原料,以绿色溶媒水和乙醇为溶剂,开发出符合国际主流产品规格的原花青素工业化技术及其产品,所得产品原花青素含量 $\geq 85\%$,OPC:65%~80%,多酚 $\geq 85\%$ 。该工艺既提高了低聚原花青素的纯度和得率,同时又符合工业化生产对原料、溶剂使用、制作路线、生产过程安全性和产品颜色、产率、纯度诸方面的要求,为纯绿色生产过程,无有机残留,产量大,产品质量可达到国际市场主流产品的标准,可作为食品、保健食品、特殊医学用途的原料。

1. 一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,包括以工艺步骤:

(1)粉碎:将黑果枸杞用粉碎机粉碎至粒径大于20目;

(2)醇提:将黑果枸杞粉末以1:8~1:15的料液质量比加入到质量浓度40~90%乙醇溶液中,搅拌均匀后加入弱酸,升温至 $58\pm 5^{\circ}\text{C}$,在高速剪切、搅拌下提取0.5~3h;维持温度 $58\pm 5^{\circ}\text{C}$ 下提取2~3次,合并提取液,减压浓缩回收乙醇;

(3)混合树脂模拟床纯化:将上述减压浓缩回收乙醇后的浓缩液上样至大孔吸附树脂混合树脂模拟床进行吸附,用纯化水淋洗后,再用解吸附剂进行解吸附,收集解吸附液;

(4)膜过滤:将所得解吸附液先经微滤膜过滤,透过液再经纳滤膜进行浓缩,收集截留液,干燥,灭菌,即得原花青素提取物。

2. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(2)中,所述弱酸为柠檬酸、苹果酸、马来酸、抗坏血酸、富马酸、酒石酸、衣康酸、乳酸、葡萄糖酸中的一种或几种;弱酸加入量为黑果枸杞粉末质量的0.5%~5%。

3. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(2)中,高速剪切速度为8000~12000rpm,搅拌转速为100~200 rpm。

4. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(3)中,所述大孔吸附树脂混合树脂模拟床包含有2~4根大孔吸附树脂柱,其中至少有2根大孔吸附树脂柱串联;所述大孔吸附树脂柱为D101、LX-11、LX-60、LSA-10、LX-28、LX-38、AB-8、LSA-7、LX-8、LX-17、XDA-8、XDA-6、HPD500中至少一种;大孔吸附树脂柱的径高比为1:8~1:12。

5. 如权利要求4所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:所述大孔吸附树脂柱为由LSA-10、XDA-6、D101以2:3:5的质量比混合的混合树脂柱。

6. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(3)中,所述吸附流速为2.0~3.0BV/HR,水洗流速为2~4 BV/HR。

7. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(3)中,解吸附剂为质量分数为50~80%的乙醇,解吸附流速3~4 BV /HR。

8. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(4)中,所述微滤膜分子量为5000Da~3500Da,透膜压力为5~10bar,温度为 $25\pm 5^{\circ}\text{C}$;所述纳滤膜分子量为180~360Da,透膜压力为20~25bar,温度为 $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

9. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(4)中,所述干燥采用喷雾干燥,其工艺为:进风温度:140~165 $^{\circ}\text{C}$,出风温度:80~95 $^{\circ}\text{C}$,料液密度:0.9~1.1。

10. 如权利要求1所述一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法,其特征在于:步骤(4)中,微波干燥工艺为:温度50~60 $^{\circ}\text{C}$,料液密度:1.2~1.4。

一种从黑果枸杞中提取分离原花青素的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种从黑果枸杞中分离提取原花青素的方法,尤其涉及一种用大孔吸附树脂混合模拟床从黑果枸杞中分离提取原花青素的方法,属于植物有效成分提取技术领域,主要用于食品、保健食品及药品技术领域。

背景技术

[0002] 原花青素(proanthocyanidin,PC),是植物王国中广泛存在的一大类多酚化合物的总称,这类化合物是由不同数目的黄烷醇聚合而成。按其聚合度的大小,通常将二至四聚体称为低聚体(简称OPC),将五聚体以上的称为高聚体(简称PPC)。在各类原花青素中,高聚体的抗氧化活性要低于单体、二聚体及三聚体,低聚原花青素是研究最多的一类原花青素。目前,原花青素为国际上公认的清人体内自由基最有效的天然抗氧化剂,其抗氧化能力是 V_E 的50倍、 V_C 的20倍,由于其强大的自由基清除能力及出色的安全性,在营养及医学领域引起了越来越多的关注,已经广泛应用于食品、保健品、化妆品、医药等领域。原花青素历经30多年的研究、开发,其优越的抗氧化活性已为人们首肯,其在改善微循环和治疗眼科疾病方面已获重大进展,并在药物与化妆品等领域得到广泛应用;疗效确切,副作用微小的特点,不仅使它在欧洲、日本备受青睐,近年来又风靡美国,预示了原花青素在医疗应用等方面的广阔发展前景。

[0003] 在对原花青素的研究中,提取分离是其核心。国内外提取分离原花青素方法主要有:1)溶剂萃取法。溶剂萃取法是用极性溶剂浸取,然后把浸取液进行液-液萃取分离,最后浓缩并得到产品。目前工业化生产原花青素主要采用此法。美国、法国、波兰等均有专利介绍了采用丙酮、甲醇、乙酸乙酯等有机溶剂提取原花青素低聚物的方法。该方法使用多种有机溶剂,同时有可能将脂溶性成分同时提取出来,增加了精制工序,生产成本低,有些具有毒性的有机溶剂使产品和操作不安全,且易造成环境污染。2)超临界流体萃取。超临界流体萃取法是近十年来才发展起来的一种新型技术,它利用超临界流体作为萃取剂从液体和固体中提取某种成分,达到分离或提纯的目的。这种方法虽然选择性和提取率高,具有工艺简单,萃取剂无残留、易回收的优点,但超临界萃取所用设备价格昂贵,投入巨大,生产运行、维护费用大;而且处理量小,产量低,使原花青素的生产成本大大提高。3)微波/超声波提取法。微波/超声波萃取技术可以降低生产时间、能源,同时可以提高收率。有人用微波/超声波法进行原花青素提取研究。但目前微波/超声波法只适合实验室操作,对于工业化生产难度较大。总体上来说,我国目前在原花青素的研究主要是溶剂萃取法,很难对原花青素的混合物进一步分离纯化,从而使原花青素产品低聚体及多酚的含量偏低,满足不了欧美一些供应商的质量要求,所以产品只能作为粗品低价出销。若能进一步开发技术,提高原花青素中低聚体及多酚的含量,则会实现原花青素的高值化利用。

[0004] 黑果枸杞(*Lycium ruthenicum* Murr.)是茄科(*Solanaceae*)枸杞属(*Lycium*)多年生植物,天然生长于我国西北荒漠区,有极强的抗旱、抗寒、耐盐碱特性。黑果枸杞果实中含有的原花青素高达1.426%~9.024%,远高于黑果枸杞中的花青素含量0.069%~

0.840%。并且其OPC含量超过蓝莓,是迄今为止发现OPC含量最高的天然野生植物。因此,研发一种从黑果枸杞中制备高多酚含量和低聚体含量的原花青素的工程化技术,具有十分重要的意义。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种从黑果枸杞中提取具有高含量低聚体和多酚的原花青素的方法,对现有原花青素提取方法进行弥补和升级,为高品质原花青素的制备提供新的途径。

[0006] 本发明从黑果枸杞中提取分离具有高含量低聚体和多酚的原花青素的方法,包括以工艺步骤:

(1) 粉碎:将黑果枸杞用粉碎机粉碎至粒径大于20目;

(2) 醇提:将黑果枸杞粉末以1:8~1:15的料液质量比加入到质量浓度为40~90%乙醇溶液中,搅拌均匀后加入弱酸,以防止原花青素的分离,将原花青素高聚体水解为低聚体;然后升温至 $58 \pm 5^\circ\text{C}$,在高速剪切、搅拌下提取0.5~3h;维持温度 $58 \pm 5^\circ\text{C}$ 下提取2~3次,合并提取液,减压浓缩回收乙醇。

[0007] 所述弱酸为柠檬酸、苹果酸、马来酸、抗坏血酸、富马酸、酒石酸、衣康酸、乳酸、葡萄糖酸中的一种或几种;弱酸加入量为黑果枸杞粉末质量的0.5%~5%。

[0008] 所述高速剪切速度为8000~12000rpm,搅拌转速为100~200rpm。

[0009] (3) 混合树脂模拟床纯化:将减压浓缩回收乙醇后的浓缩液上样至大孔吸附树脂混合树脂模拟床进行吸附,用纯化水淋洗后,再用解吸附剂进行解吸附,收集解吸附液。

[0010] 所述大孔吸附树脂混合树脂模拟床包含有2~4根大孔吸附树脂柱,其中至少有2根大孔吸附树脂柱串联;大孔吸附树脂柱的径高比为1:8~1:12。其中大孔吸附树脂可采用D101、LX-11、LX-60、LSA-10、LX-28、LX-38、AB-8、LSA-7、LX-8、LX-17、XDA-8、XDA-6、HPD500中至少一种。优选:LSA-10、XDA-6、D101=2:3:5质量比的混合树脂。

[0011] 所述吸附流速为2.0~3.0BV/HR,水洗流速2~4 BV/HR;所述解吸附剂为质量分数为50~80%的乙醇;解吸附流速3~4 BV/HR。

[0012] (4) 膜过滤:将上述所得解吸附液先经过膜过滤系统的微滤膜,透过液再经过膜过滤系统的纳滤膜进行浓缩,收集截留液,干燥,灭菌,即得原花青素提取物。

[0013] 所述微滤膜分子量为5000Da~3500Da,透膜压力为5~10bar,温度为 $25 \pm 5^\circ\text{C}$;所述纳滤膜分子量为180~360Da,透膜压力为20~25bar,温度为 $25 \pm 5^\circ\text{C}$ 。

[0014] 所述干燥采用冷冻干燥、喷雾干燥、真空干燥、微波干燥、链式隧道干燥等。优选喷雾干燥和微波干燥。其中喷雾干燥工艺为:进风温度:140~165 $^\circ\text{C}$,出风温度:80~95 $^\circ\text{C}$,料液密度:0.9~1.1。微波干燥工艺为:温度50~60 $^\circ\text{C}$,料液密度:1.2~1.4。

[0015] 所述灭菌方式为Co-60辐射灭菌、紫外照射灭菌或电子束灭菌。

[0016] 本发明提取的原花青素提取物中,原花青素含量 $\geq 85\%$,OPC:65%~80%,多酚 $\geq 85\%$;提取率达90%以上。

[0017] 本发明相对于现有技术具有以下优点:

1、选用OPC含量最高的天然野生植物黑果枸杞作为原料,从源头确保了原花青素中高含量的低聚体和多酚,提高原花青素的品质;

2、采用高剪切技术(HSDE)破壁提取技术,既能使细胞破碎,使细胞内的有效成分充分释放,达到无阻力扩散;同时又可使物料连续循环,带动细胞外溶剂处于涡流状态,以维持较高的渗透压,提高浸出速度和效率;

3、采用MAR混合模拟移动床分离技术,通过工艺优化筛选出对原花青素有选择性吸附的大孔树脂,并优化了提取和分离纯化工艺,大幅度提高了分离效果和产物得率;

4、采用膜分离技术,在分子水平上使不同粒径分子的混合物在通过半透膜时,实现选择性分离的技术,可以得到高纯度的原花色素,确保了原花青素的质量;

5、本发明的提取全过程在绿色友好环境下进行,周期短,成本低,产品品质高。

具体实施方式

[0018] 下面通过具体实施例对本发明从黑果枸杞中提取原花青素的方法以及产品品质做进一步说明。

[0019] 实施例1

1)取黑果枸杞,粉碎,过40目筛;将1.0 kg黑果枸杞果粉加入多功能提取罐中,加入12 L 60%的乙醇溶液,加入10 g柠檬酸和15 g苹果酸,开启高速剪切机,设定转速为10000rpm;开启搅拌,设定转速为120rpm;温度升至60℃开始计时,提取0.5 h;滤出提取液,再加入10 L60%的乙醇在相同条件下进行提取,合并2次提取液;

2)将上述提取液减压真空浓缩至无醇味;温度为50℃,压力为0.07MPa;

3)将步骤2)所得的经浓缩后的提取液泵入预先处理好的大孔吸附树脂混合树脂模拟床(2根树脂柱串联,LSA-10:XDA-6:D101=2:3:5,径高比为1:12),上样流速为1.5BV/HR,上样结束后先用4 BV纯水洗脱后(洗脱流速为4 BV/HR);再用6BV 60%乙醇溶液解吸附(解吸附流速为3BV/HR);收集60%乙醇解吸附液;

4)将上述60%乙醇解吸附液利用5000Da的膜系统进行微滤,压力 8 ± 2 bar,温度 30 ± 2 ℃,收集透过液。透过液再次泵入分子量为180Da的纳滤膜系统,压力为 25 ± 2 bar,温度为 30 ± 2 ℃。收集截留液。膜过滤设备依次用纯水、柠檬酸溶液(质量浓度0.5~2%)、纯水、氢氧化钠溶液(pH=11)、纯水洗膜、至纯水没有任何颜色为止;

5)将上述经分子量为5000Da和180Da的膜过滤截留的液体进行喷雾干燥(进口温度160℃,出口温度85℃),收集干粉,用Co-60辐射灭菌,得到原花青素提取物(OPC-1)。产品的各项性能指标见表1。

[0020] 实施例2

1)取粉碎过40目筛的黑果枸杞粉25公斤,置于多功能提取罐中,加入15倍量70%的乙醇,开启高速剪切机,设定转速为10000 RPM,同时开启搅拌,设定转速为120RPM。待温度升至60℃时,开始计时。提取1 h,静置2 h,从提取罐侧面的排液口排出提取液;

2)将上述提取液用双效浓缩器浓缩回收酒精至无醇味,温度50℃,压力0.075MPa;

3)将步骤2)所得的经浓缩后的提取液泵入预先处理好的大孔吸附树脂混合树脂模拟床(2根树脂柱串联,LSA-10:XDA-6:D101=2:3:5,径高比为1:12),上样流速为1.5 BV/HR,上样结束后先用4 BV纯水洗脱后(洗脱流速为4 BV/HR);再用6 BV 60%乙醇溶液解吸附(解吸附流速为3 BV/HR);收集60%乙醇解吸附液;

4)将上述70%乙醇解吸附液利用3500 Da的膜系统进行微滤,压力 8 ± 2 bar,温度 30 ± 2

℃,收集透过液。将透过液再次泵入分子量为360Da的纳滤膜系统,压力为 25 ± 2 bar,温度为 30 ± 2 ℃。收集截留液。膜过滤设备依次用纯水、柠檬酸溶液(质量浓度0.5~2%)、纯水、氢氧化钠溶液(pH=11)、纯水洗膜、至纯水没有任何颜色为止;

5)将上述经分子量为3500Da和360Da的膜过滤截留的液体进行喷雾干燥(进口温度160℃,出口温度85℃),收集干粉,用Co-60辐射灭菌,得到原花青素提取物(OPC-2),产品的各项性能指标见表1。

[0021] 实施例3

1)取粉碎过40目筛的黑果枸杞粉1公斤,置于多功能提取罐中,第一次加入12倍量60%的乙醇,第二次加入10倍量的60%的乙醇。开启高速剪切机,设定转速为10000 RPM,同时开启搅拌,设定转速为120RPM。待温度升至60℃时,开始计时。提取0.5 h,提取2次;静置2 h,从提取罐侧面的排液口排出提取液,合并提取液;

2)将上述提取液用减压旋转蒸发仪回收酒精至无醇味,温度50℃,压力0.075MPa;

3)将步骤2)所得的经浓缩后的提取液泵入预先处理好的大孔吸附树脂混合树脂模拟床(2根树脂柱串联,LSA-10:XDA-6:D101=2:3:5,径高比为1:12),上样流速为1.5 BV/HR,上样结束后先用4 BV纯水洗脱(洗脱流速为4 BV/HR)后,再用6 BV 70%乙醇溶液解吸附(解吸附流速为3 BV/HR);收集60%乙醇解吸附液;

4)将上述70%乙醇解吸附液利用5000 Da的膜系统进行微滤,压力 8 ± 2 bar,温度 30 ± 2 ℃,收集透过液。将透过液再次泵入分子量为360Da的纳滤膜系统,压力为 25 ± 2 bar,温度为 30 ± 2 ℃。收集截留液。膜过滤设备依次用纯水、柠檬酸溶液(质量浓度0.5~2%)、纯水、氢氧化钠溶液(pH=11)、纯水洗膜、至纯水没有任何颜色为止;

5)将上述经分子量为5000Da和360Da的膜过滤截留的液体进行喷雾干燥(进口温度160℃,出口温度85℃),收集干粉,用Co-60辐射灭菌,得到原花青素提取物(OPC-3)。产品的各项性能指标见表1。

[0022] 实施例4

1)取粉碎过40目筛的黑果枸杞粉50公斤,置于多功能提取罐中,加入15倍量60%的乙醇,。开启高速剪切机,设定转速为8000 RPM,待温度升至60℃时,开始计时。提取0.5 h。静置2 h,从提取罐侧面的排液口排出提取液;

2)将上述提取液用双效浓缩器回收酒精至无醇味,温度50℃,压力0.075MPa;

3)将步骤2)所得的经浓缩后的提取液泵入预先处理好的大孔吸附树脂混合树脂模拟床(2根树脂柱串联,LSA-10:HPD500=1:1,径高比为1:12),上样流速为1.5 BV/HR,上样结束后先用4 BV纯水洗脱(洗脱流速为3 BV/HR)后,再用6 BV 60%乙醇溶液解吸附(解吸附流速为3 BV/HR);收集60%乙醇解吸附液;

4)将上述60%乙醇解吸附液利用3500 Da的膜系统进行微滤,压力 8 ± 2 bar,温度 30 ± 2 ℃,收集透过液。将透过液再次泵入分子量为360Da的纳滤膜系统,压力为 25 ± 2 bar,温度为 30 ± 2 ℃。收集截留液;

5)将上述经分子量为3500Da和360Da的膜过滤截留的液体在球形浓缩器,浓缩至流浸膏状,置于微波干燥,干燥温度 50 ± 5 ℃;将干燥的原花青素提取物进行粉碎,过100目筛;用Co-60辐射灭菌,得到原花青素提取物成品(OPC-4)。产品的各项性能指标见表1。

[0023] 将上述本专利发明的原花青素提取物按照保健食品检验与评价技术规范(2003

版)中规定的“保健食品中原花青素的测定”方法以及国际商务标准 SW/T1-2015“葡萄籽低聚原花青素”检测,检测结果均符合标准。具体结果见表:

表 1: 上述各实施例所得产品的性能指标

检验项目	OPC-1	OPC-2	OPC-3	OPC-4
外观性状	黄棕~红棕色粉末	黄棕~红棕色粉末	黄棕~红棕色粉末	黄棕~红棕色粉末
多酚 (UV)	≥85.0%	≥85.0%	≥85.0%	≥85.0%
原花青素值 (UV)	≥95%	≥95%	≥95%	≥95%
低聚原花青素	≥65.0%	≥70.0%	≥65.0%	≥70.0%
粒度	98%通过 100 目	98%通过 100 目	98%通过 100 目	98%通过 100 目
灰分	≤2.0%	≤2.0%	≤2.0%	≤2.0%
干燥失重	≤5.0%	≤5.0%	≤5.0%	≤5.0%
堆积密度	0.25~0.35g/ml	0.25~0.35g/ml	0.25~0.35g/ml	0.25~0.35g/ml
铅	≤0.5mg/kg	≤0.5mg/kg	≤0.5mg/kg	≤0.5mg/kg
砷	≤0.3mg/kg	≤0.3mg/kg	≤0.3mg/kg	≤0.3mg/kg
溶剂残留				
甲醇	未检出	未检出	未检出	未检出
乙醇	≤100mg/kg	≤100mg/kg	≤100mg/kg	≤100mg/kg
农药残留				
DDT	未检出	未检出	未检出	未检出
六六六	未检出	未检出	未检出	未检出
微生物检测				
菌落总数	≤1000cfu/g	≤1000cfu/g	≤1000cfu/g	≤1000cfu/g
霉菌和酵母菌	≤100cfu/g	100cfu/g	100cfu/g	100cfu/g
大肠杆菌	未检出	未检出	未检出	未检出
沙门氏菌	未检出	未检出	未检出	未检出