



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103462037 B

(45) 授权公告日 2015. 11. 25

(21) 申请号 201310418019. 3

(22) 申请日 2013. 09. 13

(73) 专利权人 浙江农林大学

地址 311300 浙江省杭州市临安市环城北路  
88 号

(72) 发明人 袁珂 王广华 蔡荣荣 贾姗姗  
林茵 朱丽萍 颜红果

(74) 专利代理机构 杭州浙科专利事务所(普通  
合伙) 33213

代理人 吴秉中

(51) Int. Cl.

A23L 1/30(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101756090 A, 2010. 06. 30, 说明书第  
0010-0022 段.

CN 102160646 A, 2011. 08. 24, 说明书第  
0010-0027 段.

CN 102212053 A, 2011. 10. 12, 权利要求 1.

CN 102321061 A, 2012. 01. 18, 权利要求 1.

CN 102382485 A, 2012. 03. 21, 全文.

CN 1732916 A, 2006. 02. 15, 全文.

CN 1986539 A, 2007. 06. 27, 权利要求 1.

WO 2004112510 X, 2006. 07. 27, 全文.

审查员 陈斌

权利要求书2页 说明书9页

(54) 发明名称

一种天然食品添加剂

(57) 摘要

一种天然食品添加剂,属于食品添加剂技术领域。其特征在于由重量百分含量的以下物质组成:20-30%的杨梅花青素提取物、10-20%的紫薯花青素提取物、10-40%的桑椹花青素提取物、10-50%的黄秋葵果胶和多糖提取物、10-20%的银杏叶提取物、0.0005-0.0008%的酵母硒、2-10%的海藻粉、5-10%灵芝孢子粉。上述一种天然食品添加剂,具有很强的抗氧化、抗衰老、抗疲劳,补肾壮阳、增加免疫力,降低血糖、胆固醇和甘油三酯的作用;经测定总花青素含量为15~36%,总黄酮的含量为16~28%,总酚酸的含量达到18~29%。

1. 一种天然食品添加剂,其特征在于由重量百分含量的以下物质组成:20-30%的杨梅花青素提取物、10-20%的紫薯花青素提取物、10-40%的桑椹花青素提取物、10-50%的黄秋葵果胶和多糖提取物、10-20%的银杏叶提取物、0.0005-0.0008%的酵母硒、2-10%的海藻粉、5-10%灵芝孢子粉;

所述的杨梅花青素提取物采用以下方法制备:杨梅去核后,采用组织捣碎机捣碎,得到果浆,然后加入 pH 4.0-5.0 的 50%-60% 的乙醇溶液浸泡提取 3-5 次,果浆与乙醇溶液的体积比为 1:1-3,每次 12-15 h,抽滤,合并浸提液,离心 10 ~ 20 min 后取上清液,用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至无醇味,将浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱,经蒸馏水冲至无色透明后,改用 pH 3.5-4.5 的 60% ~ 70% 的乙醇溶液洗脱,洗脱液流速为 0.5-0.6 mL/min,收集花青素洗脱液,使用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50 °C 下减压浓缩,然后干燥制得干粉,即为杨梅花青素提取物;

所述紫薯花青素提取物采用以下方法制备:新鲜紫薯切成方块后,置组织捣碎机中捣碎,转移出紫薯果浆,加入固液比为 1:10 ~ 20 的 pH4-4.5 的 60 ~ 70% 乙醇,在 60℃ 下超声提取 3 ~ 4 次,每次 20 ~ 40 min;合并后抽滤,得到的提取液采用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至无醇味,然后将得到的浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱,经蒸馏水冲至无色透明后,改用 pH 3.0 ~ 4.0 的 70% ~ 80% 的乙醇溶液洗脱,洗脱液流速为 0.5-0.6 mL/min,收集花青素洗脱液,使用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50 °C 下减压浓缩,然后干燥制得干粉,即为紫薯花青素提取物;

所述桑椹花青素提取物采用以下方法制备:取桑葚榨汁,分离果渣、果汁,将果汁采用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至无醇味,然后将得到的浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱,经蒸馏水冲至无色透明后,改用 pH 3.5-4.5、60% ~ 70% 的乙醇溶液洗脱,洗脱液流速为 0.5-0.7 mL/min,收集花青素洗脱液,使用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50 °C 下减压浓缩,然后干燥制得干粉,即为桑椹花青素提取物;

所述黄秋葵果胶和多糖提取物采用以下方法制备:将黄秋葵嫩果实以横段面切片后晒干或风干,将晒干或风干的黄秋葵果实置于回流装置中,每次加入 10% ~ 50% 含水乙醇,按照原料重量为 1kg 则含水乙醇的用量为 6-8 升的比例回流提取 2-3 次,每次 2 ~ 3 小时;抽滤,得到的提取液在 50℃ ~ 70℃ 条件下进行闪蒸浓缩至原体积的 1/6-1/10,至浓缩液中不含乙醇;然后向其中加入 95% 的乙醇,使得含醇量达到 70 ~ 80%,静置或放入冷藏室放置,出现大量的多糖沉淀,抽滤,收集沉淀物,40℃ -50℃ 烘干,得到黄秋葵果胶及多糖提取物;

所述银杏叶提取物采用以下方法制备:将干燥的银杏叶置破碎提取器中,加入 50 ~ 80% 的乙醇为溶剂,按照原料重量为 1kg 则含水乙醇的用量为 3-6 升的比例破碎提取 1-3 次,每次 3 ~ 5 分钟,抽滤,合并滤液后,采用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至原体积的 1/5 ~ 1/10,然后将浓缩液继续真空干燥成干粉,用研钵研细后得到银杏叶提取物。

2. 如权利要求 1 所述的一种天然食品添加剂,其特征在于由重量百分含量的以下物质组成:22-28%的杨梅花青素提取物、12-18%的紫薯花青素提取物、15-30%的桑椹花青素提取物、20-40%的黄秋葵果胶和多糖提取物、12-18%的银杏叶提取物、0.0006-0.0007%的酵母硒、4-8%的海藻粉、6-8%灵芝孢子粉。

3. 如权利要求 1 所述的一种天然食品添加剂,其特征在于由重量百分含量的以下物

质组成:24-26%的杨梅花青素提取物、14-16%的紫薯花青素提取物、20-25%的桑椹花青素提取物、25-35%的黄秋葵果胶和多糖提取物、14-16%的银杏叶提取物、0.00065%的酵母硒、5-6%的海藻粉、7%灵芝孢子粉。

4. 如权利要求1所述的一种天然食品添加剂,其特征在于所述杨梅花青素提取物的制备方法中:抽滤时间为每次13-14 h,洗脱液流速为0.55 mL/min。

5. 如权利要求1所述的一种天然食品添加剂,其特征在于所述紫薯花青素提取物的制备方法中:超声提取时间为每次25~35 min,洗脱液流速为0.55 mL/min。

6. 如权利要求1所述的一种天然食品添加剂,其特征在于所述桑椹花青素提取物的制备方法中:洗脱液流速为0.6 mL/min。

7. 如权利要求1所述的一种天然食品添加剂,其特征在于所述黄秋葵果胶和多糖提取物的制备方法中:回流提取时含水乙醇为20%~40%,抽滤得到的提取液闪蒸浓缩至原体积的1/7-1/8。

8. 如权利要求1所述的一种天然食品添加剂,其特征在于所述银杏叶提取物的制备方法中:抽滤的滤液真空浓缩至原体积的1/6~1/7。

## 一种天然食品添加剂

### 技术领域

[0001] 本发明属于食品添加剂技术领域,具体为一种天然食品添加剂。

### 背景技术

[0002] 食品添加剂是指为有效改善食品的品质质量和色、香、味,以及为延长食品的保存期而加入食品中的化学合成物质或天然物质。随着食品工业的迅速发展,以及在“崇尚绿色、回归自然”的当今,现在很多食品添加剂有了保健、营养的功能。比如含有对人体是有益的维生素 C、矿物质元素、微量元素、氨基酸等以及其他种类的食品添加剂,具有很好的保健、抗氧化、防腐等功能,极大地提高了食品的附加值和经济效益。

[0003] 随着人们饮食水平的不断提高和我国食品工业的迅速发展,食品添加剂正在逐步走进我们的生活,并被人们所了解。当今社会消费者更加关注的是自己的饮食卫生和健康。因此,关于食品添加剂的种种问题,也自然成了人们近年来在饮食方面普遍关注的热点。人们食用的食品品种越来越多,追求的色、香、味、形,感官质量以及保健价值越来越高在崇尚自然的今天,消费者将会不断追求纯天然的、食用安全、无毒副作用的天然食品添加剂。

[0004] 食品在一定的环境条件下,因微生物的作用会使食品失去原有的营养价值而腐败变质,其原因主要是微生物的繁殖引起的食品腐败变质。食品防腐剂能防止食品因微生物繁殖引起的腐败变质,使食品在一般的自然环境中具有一定的保存期。

[0005] 杨梅是杨梅科杨梅属一种多年生绿色乔木植物,国种植杨梅的种植面积最大,历史也最悠久。杨梅中花青素的含量不但相当丰富,而且种类单一,95% 以上是矢车菊-3-葡萄糖苷花青素属黄酮类,花青素不仅是良好的天然食品添加剂,也是一种天然的抗氧化剂,很多体外实验证明它们有清除清除自由基、抗氧化、抗衰老作用,同时对糖尿病和胃癌有明显功效。

[0006] 紫薯在中国广泛种植,因其原料来源广泛、廉价易得,富含酰化花青素,比草莓、黑豆种皮、苹果、覆盆子中的花青素稳定等优势,成为开发提取具有一定保健营养功能的天然色素的最佳来源。紫薯中的花青素也有清除自由基、抗诱变、防癌、降压、降糖、保肝等作用,是极具有开发价值的天然色素。

[0007] 桑葚又名桑枣、桑果等,是桑科桑属多年生木本植物桑树的成熟果实,桑葚中富含的黄酮、酚酸、花青素、多糖等物质,使得桑葚具有强的抗氧化、抗衰老、抗疲劳等生物活性。现代研究表明,成熟桑葚含有丰富的花色苷类化合物,其主要是矢车菊素-3-O-葡萄糖苷和矢车菊素-3-O-芸香糖苷。桑葚成本低,产量大,有希望成为蓝莓的替代品之一。我国桑葚资源丰富,产量高,大量研究证明,桑果中花青素分子结构小,成分稳定,是提取花青素的良好原料之一。

[0008] 黄秋葵为锦葵科秋葵属一年生草本植物,在我国南北方地区均有黄秋葵的分布与栽培。黄秋葵被许多国家定为运动员的首选蔬菜及老年人的保健食品,在美国和日本等国家被称为“植物伟哥”及“绿色人参”,是一种优良的食疗保健蔬菜。黄秋葵中含有黄酮、多糖、果胶、微量元素、氨基酸等多种功效成分,具有抗疲劳、增强人体耐力与机体的免疫力,

保肝强肾,抗衰老、降低血糖、帮助消化、清火明目、健胃润肠等方面的作用。随着社会对保健食品及功能性食品需求的日益增加,黄秋葵因其特殊的功能和良好的保健和营养价值越来越被广泛地重视,对黄秋葵进行深加工,提高其附加值将具有广阔的开发应用前景。

[0009] 银杏叶是一种具有很高药用价值的植物,银杏树又名白果树,是我国的瑰宝,珍稀可贵,被誉为地球的“长寿树”、“活化石”。银杏叶中含有天然活性黄酮及苦内酯等与人体健康有益的多种成份。大量研究表明,银杏中的有效成分能改善脑部功能障碍、活化脑细胞、增加记忆力及减轻老年痴呆、健忘症等功效。同时还具有促进血液循环、预防中风;降低血液黏度、化解瘀血;预防老年痴呆、动脉硬化、高血压;改善早期糖尿病等作用。

[0010] 灵芝是一类著名的食药兼用的大型真菌类,通常所称的灵芝为赤芝的子实体。灵芝孢子粉是灵芝成熟时所释放的孢子,是灵芝有性生殖细胞,又称担孢子。灵芝孢子内含有丰富的化学成分,包括多糖肽、三萜类、蛋白质和氨基酸类、腺嘌呤核苷、维生素类、甾醇类、生物碱类、脂肪酸类、内酯和无机离子等成分。大量的文献报道,灵芝孢子粉具有很强的免疫调节,保肝、降脂、降血糖、清除自由基及抗癌等作用。

[0011] 随着科技的发展和进步,微量元素硒对人类健康的作用也越来越受到重视。国内外专家呼吁人们要重视补充微量元素硒制品。硒元素可广泛应用于生产富硒食品,它对人类抗衰老、延年益寿,用于防治癌症、近视眼、白内障、心脑血管病、地方病等疾病都发挥了一定的作用。在食品和生产中,已广泛使用有机硒制品作为微量元素硒的补充剂。目前一些发达国家生产和应用硒等微量元素制剂已经达到相当的规模。有机硒制品的营养保健价值是同行业产品中难以替代的。螺旋藻:主要成分为维生素类、微量元素与氨基酸、蛋白质、 $\gamma$ -亚麻酸、 $\beta$ -胡萝卜素等,具有抗癌、抗辐射,降血脂、降低胆固醇、提高机体免疫功能等作用。

[0012] 现有的天然食品添加剂,仅具有抗氧化或防腐作用,很少有在具有该作用的同时还具有很好的营养保健价值及一定的辅助治疗作用的天然食品添加剂的问世。

## 发明内容

[0013] 针对现有技术中存在的上述问题,本发明的目的在于设计提供一种天然食品添加剂的技术方案,具有很强的抗氧化、抗衰老、抗疲劳,补肾壮阳、增加免疫力,降低血糖、胆固醇和甘油三酯的作用,该天然食品添加剂具有保健营养价值高、生产工艺简单、成本低,使用方便、易于长期贮存和运输等优点,克服了现有技术的不足。

[0014] 所述的一种天然食品添加剂,其特征在于由重量百分含量的以下物质组成:20-30%的杨梅花青素提取物、10-20%的紫薯花青素提取物、10-40%的桑椹花青素提取物、10-50%的黄秋葵果胶和多糖提取物、10-20%的银杏叶提取物、0.0005-0.0008%的酵母硒、2-10%的海藻粉、5-10%灵芝孢子粉。

[0015] 所述的杨梅花青素提取物采用以下方法制备:杨梅去核后,采用组织捣碎机捣碎,得到果浆,然后加入 pH 4.0-5.0 的 50%-60% 的乙醇溶液浸泡提取 3-5 次,果浆与乙醇溶液的体积比为 1:1-3,每次 12-5 h,抽滤,合并浸提液,离心 10 ~ 20 min 后取上清液,用闪蒸浓缩装置在 50℃ 下真空浓缩至无醇味;将浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱,经蒸馏水冲至无色透明后,改用 pH 3.5 ~ pH 4.5 的 60% ~ 70% 的乙醇溶液洗脱,洗脱液流速为 0.5-0.6 mL/min,收集花青素洗脱液,使用闪蒸浓缩装置在 50 °C 下减压浓缩至一定程度,

然后通过旋转蒸发器旋转真空干燥或喷雾干燥,得到的杨梅花青素提取物。杨梅花青素提取物中总花青素的含量达到 18 ~ 36%。

[0016] 所述紫薯花青素提取物采用以下方法制备:新鲜紫薯切成方块后,置组织捣碎机中捣碎,转移出紫薯果浆,加入固液比为 1:10 ~ 20 的 pH 值为 4 的 60 ~ 70% 乙醇,在 60℃ 下超声提取 3 ~ 4 次,每次 20 ~ 40 min;合并后抽滤,得到的提取液采用闪蒸浓缩装置在 50℃ 下真空浓缩至无醇味,然后将得到的浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱,经蒸馏水冲至无色透明后,改用 pH 3.0 ~ 4.0 的 70% ~ 80% 的乙醇溶液洗脱,洗脱液流速为 0.5-0.6 mL/min,收集花青素洗脱液,使用闪蒸浓缩装置在 50 °C 下减压浓缩,然后改用旋转蒸发器旋转真空干燥或喷雾干燥,得到的紫薯花青素提取物。紫薯花青素提取物中总花青素的含量达到 12 ~ 23%。

[0017] 所述桑椹花青素提取物采用以下方法制备:取桑葚榨汁,然后通过离心处理或采用滤布包裹果渣挤压分离果汁,果汁采用闪蒸浓缩装置在 50℃ 下真空浓缩至无醇味,然后将得到的浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱,经蒸馏水冲至无色透明后,改用 pH 3.5 ~ pH 4.5,60% ~ 70% 的乙醇溶液洗脱,洗脱液流速为 0.5 ~ 0.7 mL/min,收集花青素洗脱液,使用闪蒸浓缩装置在 50 °C 下减压浓缩,然后改用旋转蒸发器旋转真空干燥或喷雾干燥,得到的桑椹花青素提取物。桑椹花青素提取物中总花青素的含量达到 32 ~ 42%。

[0018] 所述黄秋葵果胶和多糖提取物采用以下方法制备:将黄秋葵嫩果实以横段面切片后晒干或风干,将烘干或风干的黄秋葵果实置于回流装置中,每次加入 10% ~ 50% 含水乙醇,按照原料重量为 1kg 则含水乙醇的用量为 6-8 升的比例回流提取 2-3 次,每次 2 ~ 3 小时;抽滤,得到的提取液在 50℃ ~ 70℃ 条件下进行闪蒸浓缩至原体积的 1/6-1/10,至浓缩液中不含乙醇;然后向其中加入 95% 的乙醇,使得含醇量达到 70 ~ 80%,静置或放入冷藏室放置,出现大量的多糖沉淀,抽滤,收集沉淀物,40℃ -50℃ 烘干,得到黄秋葵果胶及多糖提取物;提取物收率达到 24% ~ 38%。

[0019] 所述银杏叶提取物采用以下方法制备:将干燥的银杏叶置破碎提取器中,加入 50 ~ 80% 的乙醇为溶剂,按照原料重量为 1kg 则含水乙醇的用量为 3-6 升的比例破碎提取 1-3 次,每次 3 ~ 5 分钟,抽滤,合并滤液后,采用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至原体积的 1/5 ~ 1/10,然后将浓缩液继续真空干燥成干粉,用研钵研细后得到银杏叶提取物,提取物收率达到 28 ~ 36%。

[0020] 所述的酵母硒、海藻粉、灵芝孢子粉可以从市场上直接购得。

[0021] 按照以上重量比混合均匀后得到的天然食品添加剂,可直接装袋,也可制成颗粒剂或胶囊,以方便使用。

[0022] 上述一种天然食品添加剂,由杨梅花青素提取物、紫薯花青素提取物、桑椹花青素提取物,黄秋葵果胶和多糖提取物,银杏叶提取物,按照一定比例混合,另外增加营养成分酵母硒,海藻粉,灵芝孢子粉制成食品添加剂,具有很强的抗氧化、抗衰老、抗疲劳,补肾壮阳、增加免疫力,降低血糖、胆固醇和甘油三酯的作用;经测定总花青素含量为 15 ~ 36%,总黄酮的含量为 16 ~ 28%,总酚酸的含量达到 18 ~ 29%。该天然食品添加剂具有保健营养价值高、生产工艺简单、成本低,使用方便、易于长期贮存和运输等优点。

[0023] 本申请文件中涉及的百分含量除另有说明外,其它的均为纯物质的重量百分含

量。

### 具体实施方式

[0024] 以下通过具体实施例对本发明作进一步说明。

[0025] 实施例 1

[0026] 天然食品添加剂由 20% 的杨梅花青素提取物、10% 的紫薯花青素提取物、20% 的桑椹花青素提取物, 20% 的黄秋葵果胶和多糖提取物, 15% 的银杏叶提取物、0.0005% 的酵母硒、5% 的海藻粉、10% 灵芝孢子粉组成。

[0027] 实施例 2

[0028] 天然食品添加剂由 25% 的杨梅花青素提取物、10 % 的紫薯花青素提取物、25% 的桑椹花青素提取物, 10 % 的黄秋葵果胶和多糖提取物, 15% 的银杏叶提取物、0.0006% 的酵母硒、5% 的海藻粉、10% 灵芝孢子粉组成。

[0029] 实施例 3

[0030] 天然食品添加剂由 20% 的杨梅花青素提取物、15% 的紫薯花青素提取物、30% 的桑椹花青素提取物, 15% 的黄秋葵果胶和多糖提取物, 10% 的银杏叶提取物、0.0005% 的酵母硒、2 % 的海藻粉、8% 灵芝孢子粉组成。

[0031] 实施例 4

[0032] 天然食品添加剂由 20% 的杨梅花青素提取物、20% 的紫薯花青素提取物、20% 的桑椹花青素提取物, 14% 的黄秋葵果胶和多糖提取物, 15% 的银杏叶提取物、0.0005% 的酵母硒、6% 的海藻粉、5 % 灵芝孢子粉组成。

[0033] 所述的杨梅花青素提取物采用以下方法制备: 杨梅去核后, 采用组织捣碎机捣碎, 得到果浆, 然后加入 pH 4.0-5.0 的 50%-60% 的乙醇溶液浸泡提取 3-5 次, 果浆与乙醇溶液的体积比为 1:1-3, 每次 12-15 h, 抽滤, 合并浸提液, 离心 10 ~ 20 min 后取上清液, 用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至无醇味, 将浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱, 经蒸馏水冲至无色透明后, 改用 pH 3.5-4.5 的 60% ~ 70% 的乙醇溶液洗脱, 洗脱液流速为 0.5-0.6 mL/min, 收集花青素洗脱液, 使用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50 °C 下减压浓缩, 然后干燥制得干粉, 即为杨梅花青素提取物;

[0034] 所述紫薯花青素提取物采用以下方法制备: 新鲜紫薯切成方块后, 置组织捣碎机中捣碎, 转移出紫薯果浆, 加入固液比为 1:10 ~ 20 的 pH4-4.5 的 60 ~ 70% 乙醇, 在 60℃ 下超声提取 3 ~ 4 次, 每次 20 ~ 40 min; 合并后抽滤, 得到的提取液采用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至无醇味, 然后将得到的浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱, 经蒸馏水冲至无色透明后, 改用 pH 3.0 ~ 4.0 的 70% ~ 80% 的乙醇溶液洗脱, 洗脱液流速为 0.5-0.6 mL/min, 收集花青素洗脱液, 使用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50 °C 下减压浓缩, 然后干燥制得干粉, 即为紫薯花青素提取物;

[0035] 所述桑椹花青素提取物采用以下方法制备: 取桑葚榨汁, 分离果渣、果汁, 将果汁采用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50℃ 下真空浓缩至无醇味, 然后将得到的浓缩液通过大孔树脂 Diaion HP 2MGL 柱, 经蒸馏水冲至无色透明后, 改用 pH 3.5-4.5、60% ~ 70% 的乙醇溶液洗脱, 洗脱液流速为 0.5-0.7 mL/min, 收集花青素洗脱液, 使用闪蒸浓缩装置在 40℃ -50 °C 下减压浓缩, 然后干燥制得干粉, 即为桑椹花青素提取物;

[0036] 所述黄秋葵果胶和多糖提取物采用以下方法制备：将黄秋葵嫩果实以横段面切片后晒干或风干，将烘干或风干的黄秋葵果实置于回流装置中，每次加入 10%~50% 含水乙醇，按照原料重量为 1kg 则含水乙醇的用量为 6-8 升的比例回流提取 2-3 次，每次 2~3 小时；抽滤，得到的提取液在 50℃~70℃ 条件下进行闪蒸浓缩至原体积的 1/6-1/10，至浓缩液中不含乙醇；然后向其中加入 95% 的乙醇，使得含醇量达到 70~80%，静置或放入冷藏室放置，出现大量的多糖沉淀，抽滤，收集沉淀物，40℃-50℃ 烘干，得到黄秋葵果胶及多糖提取物；

[0037] 所述银杏叶提取物采用以下方法制备：将干燥的银杏叶置破碎提取器中，加入 50~80% 的乙醇为溶剂，按照原料重量为 1kg 则含水乙醇的用量为 3-6 升的比例破碎提取 1-3 次，每次 3~5 分钟，抽滤，合并滤液后，采用闪蒸浓缩装置在 40℃-50℃ 下真空浓缩至原体积的 1/5~1/10，然后将浓缩液继续真空干燥成干粉，用研钵研细后得到银杏叶提取物。

[0038] 该天然食品添加剂具有以下有益效果：

[0039] 1、利用该方法加工出的天然食品添加剂含有丰富的黄酮、酚酸、花青素等成分，功效成分的含量高，各提取物的收率和功效成分的含量较高。

[0040] 2、该加工工艺中采用的破碎提取方法是将破碎与提取过程同时完成。主要原理是将被提取的原料与一定浓度的含水乙醇置提取器内，利用高速旋转的特殊刀具将原料打碎成匀浆状，同时将植物组织中的成分快速转移至溶剂中，通过过滤即可得到提取液。该提取方法具有提取速度快、提取一次只需几分钟，且提取完全；不加热，有利于热敏性成分不受破坏；节省时间、溶剂和能源的特点。该加工工艺中采用的闪蒸浓缩方法具有浓缩液受热温度低，被浓缩液体受热时间极短，有效保护热敏性成分不被破坏，溶剂的回收率高，仪器容量大，浓缩速度快、效率高，操作简单、使用方便、节能环保等优势。

[0041] 3、该天然食品添加剂为纯天然加工产品，具有很强的抗氧化、抗衰老、抗疲劳、增加免疫力，降低血糖、甘油三脂，胆固醇的作用，可用作功能性食品或天然食品添加剂。

[0042] 4、该加工工艺方法操作方便，加工成本低，营养保健价值高。该食品添加剂具有保健营养价值高、安全无毒，工艺简单、成本低廉，使用方便，可实现工业化生产，易于长期贮存和运输等优点，克服了现有技术的不足。

[0043] 5、该产品具有一定的抗植物病原菌的作用，自身就具有防腐保鲜作用，可以延长食品的保存期。

[0044] 为进一步说明本发明的保健功效及在食品领域中的作用，下面通过生物活性试验结果说明。

[0045] 1、对本发明制备的天然食品添加剂进行总黄酮、总酚酸含量测定

[0046] 总黄酮的测定：参考  $\text{NaNO}_2$ -Al( $\text{NO}_3$ ) 显色法。称取芦丁对照品适量，加 70% 乙醇溶解并定容，得对照品溶液。分别取上述芦丁对照品溶液，按照该显色方法配制溶液，于 510 nm 处测吸光度。得芦丁浓度与吸光度之间的回归方程  $Y = 9.8957x + 0.0011$ ,  $R^2 = 0.9999$ 。分别吸取一定量本发明制备的样品溶液于容量瓶中，按照绘制芦丁标准曲线的方法测定吸光度，计算样品中总黄酮的含量，总黄酮的含量测定结果用芦丁当量 RE 表示。

[0047] 总酚酸的测定：采用 Folin-Ciocalteu 法。称取没食子酸对照品适量，用蒸馏水溶解并定容，制成对照品溶液。按照该显色方法配制溶液，于 760 nm 处测定吸光度，得没食



子酸的回归方程  $Y = 80.743x + 0.0328$ ,  $R^2 = 0.9867$ 。分别吸取一定量本发明制备的样品溶液于容量瓶中,按照绘制没食子酸标准曲线的方法测定吸光度,计算样品中总酚酸的含量,总酚酸含量测定结果用没食子酸当量 GAE 表示。

[0048] 由本发明制备的天然食品添加剂中总黄酮和总酚酸的含量

[0049]

样品	总黄酮 (mgRE/g)	总酚酸 (mgGAE/g)
实施例 1	552.4	423.5
实施例 2	587.3	345.5
实施例 3	602.5	387.1
实施例 4	567.1	342.8

[0050] 2、对本发明制备的天然食品添加剂进行总花青素的紫外及高效液相的含量测定

[0051] 采用 pH 示差法测定样品中总花青素的含量:pH 1.0 的缓冲溶液:准确称取 1.49 g KCl 粉末,用蒸馏水定容至 100 mL。准确量取 1.7 mL 盐酸,用蒸馏水定容至 100 mL,配成 0.2 M 的盐酸溶液,将 KCl 溶液与盐酸溶液以 25 : 67 的比例混合。再用 KCl 溶液调整 pH 值为  $1.0 \pm 0.1$ 。pH 4.5 的缓冲溶液:准确称取 1.64 g NaAc 粉末,用蒸馏水定容至 100 mL,用盐酸调整 pH 值为  $4.5 \pm 0.1$ 。准确称取本发明制备的样品溶液 10.0 mg,先用 50% 的稀醇溶解,用蒸馏水定容至 10 mL。分别移取 1 mL 样液 2 份,分别用 pH 1.0 与 pH 4.5 的缓冲溶液定容至 10 mL。暗处放置 1 h 后分别测定吸光值。花青素含量 (% , w/w) =  $(A/\epsilon L) \times MW \times DF \times V/Wt \times 100\%$ 。其中  $A = (A_{510nm} pH_{1.0} - A_{700nm} pH_{1.0}) - (A_{510nm} pH_{4.5} - A_{700nm} pH_{4.5})$ ,  $\epsilon$  是参照物的消光系数,DF 是稀释因子,MW 是参照物的分子量,V 是最终体积,Wt 是产品重量。结果见下表。

[0052] 由本发明制备的天然食品添加剂中总花青素的含量

[0053]

样品	总花青素含量(mg/g)
实施例 1	205.5
实施例 2	195.4
实施例 3	213.6
实施例 4	198.7

[0054] 3、对本发明制备的天然食品添加剂进行抗氧化实验

[0055] 抗氧化活性的 DPPH 法评价:采用 96 微孔板结合 Infinite M 200 酶标仪。准确量取 Trolox 对照品适量,用无水乙醇定容得到 Trolox 原液。以 Trolox (X) 浓度为横坐标,以自由基清除率 (Y) 为纵坐标作标准曲线,计算 DPPH 自由基清除率  $(I\%) = 1 - (A_p - A_c) / A_{max} \times 100\%$ 。计算样品的 TEAC,以此来评价样品的抗氧化能力。

[0056] 由本发明制备的天然食品添加剂抗氧化活性测试结果

[0057]

样品	TEAC 值 (DPPH 法) (mg TE/g)
实施例 1	412.32
实施例 2	406.23
实施例 3	395.47
实施例 4	399.86

[0058] 结果表明由本发明制备的天然食品添加剂具有较强的清除自由基能力,表明本发明制备的天然食品添加剂具有很强的抗氧化活性。

[0059] 4、对本发明制备的天然食品添加剂进行抗真菌活性实验

[0060] 按照制备培养基的方法制备 PDA 培养基。称取由本发明制备的天然食品添加剂，配制成样品溶液，再逐级稀释成不同浓度。采用 MIC 法对 8 种植物病原真菌抑菌活性测定，观察不到菌丝生长的最低样品浓度为最低抑菌浓度 (MIC)。

[0061]

由本发明制备的天然食品添加剂对 8 种真菌的最小抑菌浓度 (MIC: mg · mL<sup>-1</sup>)

样品	链格孢 菌核菌	大菱孢 菌核菌	小菱孢 菌核菌	苹果绿 链孢菌	水霉状 链孢菌	玉米大 斑病菌	棉心粘 菌核菌	油菜菌 核孢菌
实施例 1	0.25	100	25	8.25	8.25	12.5	25	0.5
实施例 2	1.5625	100	12.5	1.5625	12.5	25	50	1.5625
实施例 3	1.5625	50	25	3.125	12.5	12.5	100	0.25
实施例 4	3.125	100	12.5	1.5625	8.25	25	50	0.25

[0062] 5、对本发明制备的天然食品添加剂进行抗疲劳和提高免疫力实验

[0063] (1) 小鼠负重游泳的抗疲劳活性测定

[0064] 采用昆明种小鼠雌雄各半，在给药前一周饲以足够的水和标准小鼠饲料供小鼠自由食用。实验动物随机分为正常对照组，阳性组，药物组，每组雌雄各半，分笼饲养。配制由本发明制备的天然食品添加剂作为受试药物。

[0065] 指标测定：取已经分好组的小鼠，分别对药物组、对照组和阳性组小鼠灌胃，每天灌胃一次，其中对照组灌胃等剂量生理盐水，阳性组灌胃等剂量红牛，同时记录小鼠体重，每组灌胃 0.4 mL。当小鼠体重达 30 g 后，灌胃剂量增加至 0.6 mL。连续以口给予受试物，于末次给样 30 min 后对小鼠进行负重游泳实验。小鼠尾根部负小鼠体重 10 % 的铅皮，放入水温为 25±0.5 °C、水深 35 cm 的游泳箱中，参照力竭判断标准，即小鼠头部下沉于水面下 10 s 仍不能返回水面的时间，即为小鼠力竭时间。记录游泳时间。

[0066] 由本发明制备的天然食品添加剂的小鼠游泳时间(平均值)

[0067]

样品	动物数(只)	小鼠游泳时间(秒)
实施例 1	10	612.32±1.23
实施例 2	10	606.23±2.44
实施例 3	10	595.47±2.56
实施例 4	10	599.86±3.82
对照组	10	345.12±4.18
阳性组	10	486.23±2.95

[0068] 与正常对照组相比，对照组的小鼠负重游泳时间非常短，随着给药剂量增加，小鼠负重游泳时间均逐渐增长，即小鼠游泳力竭时间延长。其中实施例 1 的小鼠负重游泳时间比对照组延长了 43.6%。说明由本发明制备的天然食品添加剂具有很好的抗疲劳作用。

[0069] (2) 小鼠肝糖原、血清尿素、血乳酸含量测定

[0070] 末次给药 30min 后，将小鼠置于水温 25 度的游泳箱中游泳 90min，然后处死取出肝脏，生理盐水漂洗后，使用肝糖原测试盒测定肝糖原的含量。

[0071] 由本发明制备的天然食品添加剂对小鼠肝糖原含量的影响

[0072]

组别	动物数(只)	剂量 (mg/kg)	肝糖原含量(mg/g)
正常组	10	--	20.32±1.25
模型组	10	--	18.92±3.62
阳性组	10	3000	36.73±2.75

高剂量组	10	3200	46.71±2.59
中剂量组	10	1600	37.06±3.53
低剂量组	10	800	25.37±2.28

[0073] 糖是肌肉活动时能量的重要来源,大强度运动约两个小时肌糖原可近于耗竭。因此,长时间运动时,机体为维持血糖水平,肝糖原储备会下降。模型组与正常组相比,肝糖原含量有显著性减少。而各药物组的肝糖原含量均明显偏高,其中随着药物剂量的增加,肝糖原含量也均随之增加。其中,高剂量组的肝糖原含量已达到与模型组比增加非常明显,表现出了很强的肝糖原储备功能,因此本发明制备的天然食品添加剂具有较强的抗疲劳作用。

[0074] 末次给药 30min 后,将小鼠置于水温 25 度的游泳箱中游泳 90min,然后眼球取血,离心后,取血清,使用乳酸测试盒测定血清尿素的含量。

[0075] 由本发明制备的天然食品添加剂对小鼠血清尿素含量的影响

[0076]

组别	动物数(只)	剂量 (mg/kg)	血清尿素氮含量 (mmol/L)
正常组	10	—	6.84±1.83
模型组	10	—	12.31±1.42
阳性组	10	3000	9.15±3.63
高剂量组	10	3200	7.75±2.38
中剂量组	10	1600	8.34±3.53
低剂量组	10	800	8.85±4.82

[0077] 肾脏功能衰竭可使血液尿素氮含量升高。本实验动物造模时使用了大量糖皮质激素,制备成肾阳虚模型。模型组的尿素氮含量最高。给药后尿素氮可通过肾脏随尿液排出体外,导致血中尿素氮含量明显降低,且均随着药物剂量的增加,降低幅度也增加,其中高剂量组尿素氮含量最低,与模型组比较降低了 37%。因由本发明制备的天然食品添加剂改善肾功能效果最好,使血清中的尿素氮含量减少,具有良好的补肾壮阳的作用。

[0078] 末次给药 30min 后,从内眦静脉丛踩血适量,然后使小鼠负重 5% 在 30 度水中游泳 10 min 后停止,分别于运动后 0 min,20 min 同上踩血,离心后取血清,使用乳酸测试盒测定血清乳酸的浓度。

由本发明制备的天然食品添加剂对小鼠血清乳酸浓度 (LAC) 的影响

组别	动物数(只)	剂量 (mg/kg)	血清乳酸浓度 (mmol/L)		
			游泳前	游泳后 0 min	游泳后 20 min
正常组	10	—	6.07±0.74	15.41±3.86	14.06±5.91
模型组	10	—	7.18±2.88	22.38±3.47	17.48±3.47
阳性组	10	3000	7.38±1.83	18.39±2.06	16.38±3.64
高剂量组	10	3200	6.94±2.16	18.28±2.45	16.02±1.88
中剂量组	10	1600	6.82±2.45	18.33±2.74	15.96±2.46
低剂量组	10	800	6.63±1.98	15.94±2.96	14.16±1.84

[0079]

[0080] LAC 是评价剧烈运动时机体疲劳程度最常用的生化指标。小鼠于游泳前和负重游泳后的 0 min 以及休息 20 min 后分别测血乳酸浓度。与正常对照组对比,模型组的阳虚小鼠在游泳后 LAC 均有了明显的增加,且休息后血乳酸浓度下降很慢。与模型组比较,用药组在游泳后血乳酸浓度上升均没有模型组快,但休息后血乳酸下降幅度都大于模型组。其中,高剂量组能最显著地降低阳虚小鼠运动后的 LAC 值,说明其缓解疲劳的效果最强。

[0081] 以上实验结果说明由本发明制备的天然食品添加剂具有很强的增强体质,恢复疲

劳,补肾壮阳、提高机体免疫力的作用。

[0082] 6、对本发明制备的天然食品添加剂降低血糖、降低血脂(胆固醇和甘油三脂)实验

[0083] 实验动物:SD 雄性大鼠,6-8 周龄,180-200g,适应性饲养 3 天。大鼠造模前禁食 12h,除正常对照组外,其余各组均按每天腹腔注射 1% 四氧嘧啶,连续 7 天,正常对照组给予等体积的生理盐水,7 天后,禁食 12 h,剪尾取血,测定血糖值。

[0084] 将造模成功的大鼠随机分为 5 组,即模型,阳性,药物高、中、低剂量组,每组 10 只。阳性组配置一定浓度的二甲双胍灌胃,连续 14 天,空白组和模型组给予等体积的生理盐水。第 14 天给药前,禁食 12h,给药 2h 后,用水合氯醛麻醉,断头取血,常规分离血清,测定血糖、总胆固醇和甘油三脂值。

由本发明制备的天然食品添加剂对大鼠降血糖、降血脂作用的实验结果(平均值)

组别	大鼠数	剂量 (g/kg)	血糖值 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三脂 (mmol/L)
正常组	10	—	5.45±2.35	3.68±4.66	0.82±5.18
模型组	10	—	18.45±3.33	8.15±3.37	1.82±3.62
阳性组	10	0.1	6.31±4.02	5.22±2.06	0.82±4.83
高剂量组	10	2.0	5.33±3.67	3.18±2.88	0.68±2.96
中剂量组	10	1.0	5.92±3.834	4.86±4.62	0.83±3.73
低剂量组	10	0.5	6.21±3.73	4.86±2.88	1.23±2.38

[0086] 血清测定的葡萄糖正常值的参考范围为 3.89-6.11mmol/L,总胆固醇的正常值参考范围为 2.33-5.69 mmol/L,甘油三脂的正常值参考范围为 0.56-1.69 mmol/L。测试结果表明,高、中、低不同剂量组对大鼠血糖具有明显的降血糖和降低总胆固醇和甘油三脂的作用,能使模型大鼠给药后,其血糖、胆固醇和甘油三脂含量恢复到正常值。

[0087] 本发明制备的天然食品添加剂中总黄酮和总酚酸的含量以及总花青素的含量较高,且具有较强的抗氧化、抗疲劳、提高免疫力以及降低甘油三脂,降低胆固醇,降低血糖的作用,可用做食品工业上的食品添加剂和抗氧化剂。