

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2015 年 7 月 30 日 (30.07.2015)



(10) 国际公布号
WO 2015/109657 A1

(51) 国际专利分类号:
C07C 403/24 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2014/074707

(22) 国际申请日: 2014 年 4 月 3 日 (03.04.2014)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(30) 优先权:
201410038945.2 2014 年 1 月 27 日 (27.01.2014) CN

(71) 申请人: 中国科学院大连化学物理研究所 (DALIAN INSTITUTE OF CHEMICAL PHYSICS, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES) [CN/CN]; 中国辽宁省大连市中山路 457 号, Liaoning 116023 (CN)。

(72) 发明人: 邹汉法 (ZOU, Hanfa); 中国辽宁省大连市中山路 457 号, Liaoning 116023 (CN)。 靳艳 (JIN, Yan); 中国辽宁省大连市中山路 457 号, Liaoning 116023 (CN)。 张宇 (ZHANG, Yu); 中国辽宁省大连市中山路 457 号, Liaoning 116023 (CN)。

(74) 代理人: 沈阳科苑专利商标代理有限公司 (SHENYANG PATENT & TRADEMARK AGENCY

ACADEMIA SINICA); 中国辽宁省沈阳市和平区三好街 24 号, Liaoning 110004 (CN)。

(81) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国 (除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第 21 条(3))。

(54) Title: METHOD FOR MANUFACTURING NATURE ZEAXANTHIN BY MEANS OF IN-SITU CONCENTRATION

(54) 发明名称: 一种原位富集制备天然玉米黄素的方法

(57) Abstract: The present invention provides a method for manufacturing nature zeaxanthin by means of in-situ concentration. Specifically, the method comprises: preparing nature zeaxanthin from a plant by using extraction and saponification, performing in-situ concentration of the zeaxanthin by using a solid adsorbent, and performing drying to obtain high-purity nature zeaxanthin. By means of the method in which in-situ concentration of the zeaxanthin is performed by using a solid adsorbent, the present invention can greatly reduce the amount of water used and an amount of an organic solvent used, the present invention needs a simple process, has a high efficiency, is easy to expand in industry, and can be used in the fields of food, health care food, medicines, and cosmetics and the like, and has good industrial application prospect.

(57) 摘要: 本发明涉及天然玉米黄素的制备方法, 具体地说是从植物中提取、皂化制备天然玉米黄素, 利用固体吸附剂原位富集玉米黄素, 干燥后得到纯度较高的天然玉米黄素。本发明采用固体吸附剂原位富集玉米黄素的方法, 可大量减少水和有机溶剂的用量, 工艺简单、效率高、易于工业放大, 可应用于食品、保健食品、药品、化妆品等领域, 具有良好的工业应用前景。



WO 2015/109657 A1

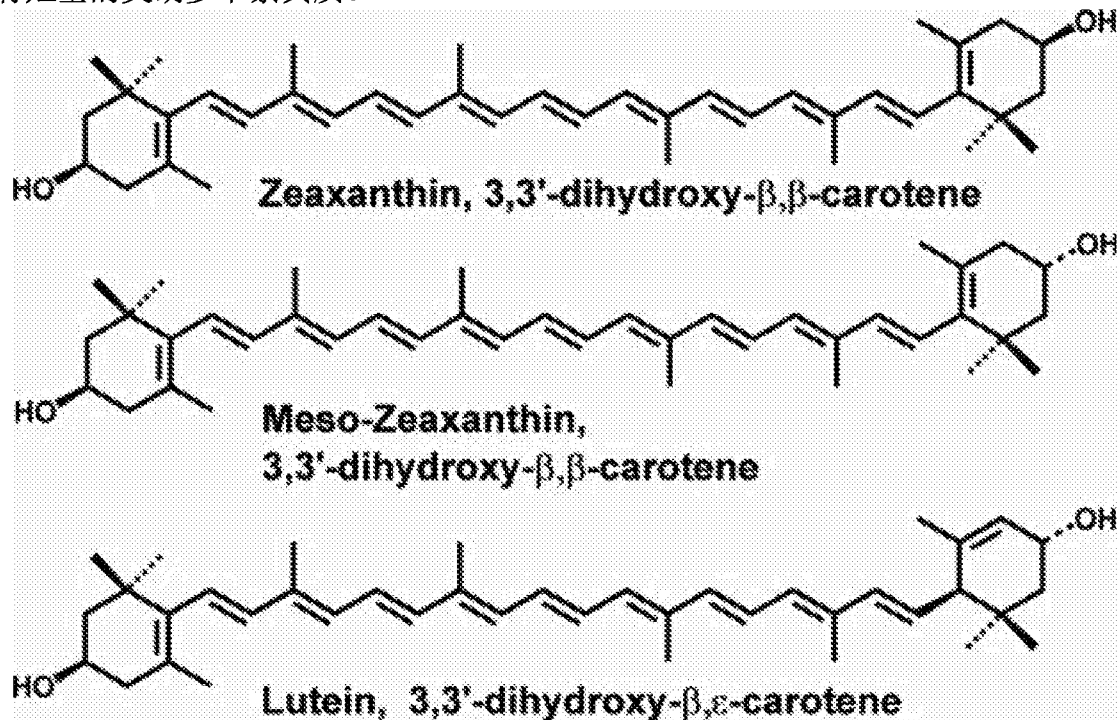
一种原位富集制备天然玉米黄素的方法

技术领域

本发明涉及天然玉米黄素的提取方法，具体地说是原位富集法从蔬菜及水果中提取、制备玉米黄素的方法，本发明的玉米黄素制备方法具有工艺简单、效率高、溶剂使用量少、玉米黄素纯度高的特点。所制备的天然玉米黄素可用于食品、保健食品、药品、化妆品等领域。

背景技术

玉米黄素（Zeaxanthin，3,3'-二羟基-β-胡萝卜素， $C_{40}H_{56}O_2$ ），亦称玉米黄质，是带有羟基的类胡萝卜素黄质。



式1 玉米黄素、叶黄素的分子结构

玉米黄素有两个手性碳位于3和3'，对应四个同分异构体，分别是(3R,3'S)-, (3S,3'R)-, (3R,3'R)-, (3S,3'S)-玉米黄素。由于玉米黄素分子结构对称，(3R,3'S)-, (3S,3'R)-玉米黄素的结构完全相同，被称为meso-玉米黄素。自然界中的玉米黄素是以3R,3'R-玉米黄素的形式存在，以叶黄素为原料通过化学法合成的玉米黄色均为meso-玉米黄素。

玉米黄素与叶黄素是人体视网膜的黄斑部位唯一的类胡萝卜素，是黄斑色素的主要组成色素（Clinics in Dermatology (2009) 27, 195–201）。玉米黄素主要集中在视网膜的黄斑区中心，叶黄素则遍及视网膜。玉米黄素具有特异性的吸收紫外线中蓝光的作用，可避免蓝光对视网膜损伤，同时玉米黄素和叶黄素还具有抗氧化的作用，可防止视网膜、上皮细胞、脉络膜等由于氧化引起的眼损伤，因此玉米黄素和叶黄素对于人体视力和眼睛的营养保护具有重要的作用（Br J Ophthalmol 1999 83: 867-877）。实验证明玉米黄素比叶黄素对于眼睛的作用更为重要，当玉米黄素供应不足时人体会将叶黄素自动转化为玉米黄素。

老年性黄斑变性（AMD）是老年人视力障碍和致盲的首要眼病，AMD的患病风险与人体血液中的玉米黄素和叶黄素浓度密切相关，大量研究证明每日摄入6mg玉米黄素和叶黄素可有效降低老年性黄斑变性风险，减缓老年性黄斑变性进程。黄斑性色素玉米

黄素和叶黄素还可改善眼睛畏光、眩光恢复、黄昏黎明视觉、暗反应等眼部问题 (Academy of Ophthalmic Education)。

人体无法自身合成玉米黄素,只能通过食物摄取,玉米黄素主要存在于玉米、辣椒、蛋黄及深绿色蔬菜中,但深绿色蔬菜中玉米黄素含量远远低于叶黄素。对于AMD高风险人群仅依靠从食品中获取玉米黄素是非常有限的,需要额外补充剂补充玉米黄质。美国FDA评价了玉米黄素的安全性,人体每日服用上限为160mg,对于预防AMD及视疲劳的推荐量为玉米黄素6mg/天。自然界中的玉米黄素是以3R,3'R-玉米黄素的形式存在,玉米黄素的安全性实验数据也是基于3R,3'R-玉米黄素得出的。但是玉米黄素的资源非常有限,目前市场上的玉米黄素主要以叶黄素为原料,通过化学合成的方法获得,化学法所得到的玉米黄素是meso-玉米黄素,还未见meso-玉米黄素的安全性报道。从安全角度考虑从植物中直接提取的3R,3'R-玉米黄素是最安全可靠的。(Food and Chemical Toxicology 49 (2011) 2841-2848)

发明内容

本发明的目的是提供一种天然玉米黄素的提取、制备方法;本发明的方法将提取、皂化所得的天然玉米黄素通过固体吸附剂原位富集,该方法减少了玉米黄素分离纯化所需的步骤,大大减少溶剂、水的使用,所获得的天然玉米黄素纯度高,可应用于食品、保健食品、药品等领域,具有良好的工业应用前景。

为实现上述目的,本发明采用的技术方案如下:

原位富集法制备天然玉米黄素的技术,将富含玉米黄素的原料经提取皂化后,在皂化液中直接加入固体吸附剂进行原位富集,再用少量溶剂将玉米黄素洗脱,洗脱液浓缩干燥得到含量较高的玉米黄素。

一种原位富集法制备天然玉米黄素的制备方法:

1) 将植物中的一种或二种以上部位干燥后磨碎作为原料,按照原料质量:溶剂体积=1g:10~100ml的比例加入提取溶剂,30~80°C搅拌提取1~10小时,提取结束后静置沉淀过滤分离;得提取液和滤渣;

2) 按照步骤1)的操作过程,将上一步骤所得滤渣进行再次提取,提取共重复2-4次;

3) 合并提取液减压浓缩至溶剂蒸发完,加入体积为原单次提取溶剂体积的1/10~1倍、质量浓度1~50%KOH或NaOH的醇溶液,10~80°C搅拌皂化1~40小时;

4) 皂化结束后加入固体吸附剂,缓慢搅拌0.5~10小时,静置分离,得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂;用20~50°C的去离子水或醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所pH为中性,除去溶液;

5) 固体吸附剂中加入中等极性溶剂缓慢震荡,静置分离,除去固体吸附剂,所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品。

所述步骤2)按照步骤1)的操作过程,将上一步骤所得滤渣再次进行提取,提取共重复2-4次;

再次进行提取过程:是指将上一步骤所得滤渣再次按照原料质量:溶剂体积=1g:10~100ml的比例加入上述溶剂进行再次提取,30~80°C搅拌提取1~10小时,提取结束后静置沉淀过滤分离;得提取液和滤渣。

所述植物是指植物的果实、宿萼、根、茎、叶、花或整个植株中的一种或二种以上;所使用的植物为枸杞、锦灯笼、玉米、辣椒、沙棘、南瓜、柿子中的一种或二种以上。

所述提取溶剂为:甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、乙醚、丙酮、环己烷、正己烷、石油醚中的一种或二种以上的溶剂混合物;

所述中等极性溶剂为:甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、

乙醚、丙酮中的一种或二种以上；

所述固体吸附剂为：二氧化硅、羟丙基葡聚糖凝胶、聚苯乙烯树脂中的一种或二种以上。

步骤 3) 和 4) 中的醇溶液中的醇为甲醇、乙醇、丙二醇中的一种或二种以上。

皂化结束后加入固体吸附剂的量为，原料质量：固体吸附剂质量=1:0.1~10。

中等极性溶剂的加入量为，固体吸附剂质量：中等极性溶剂体积=1g:2~20ml。

所述的制备方法：

1) 将植物中的一种或二种以上干燥后磨碎作为原料，按照原料质量:溶剂体积=1g:10~50ml 的比例加入提取溶剂，30~60℃搅拌提取 1~10 小时，提取结束后静置沉淀过滤分离；得提取液和滤渣；

2) 按照步骤 1) 的操作过程，将上一步骤所得滤渣进行再次提取，提取共重复 2-4 次；

3) 合并提取液减压浓缩至溶剂蒸发完，加入体积为原提取体积的 1/2~1 倍、质量浓度 5~30% KOH 或 NaOH 的醇溶液，10~60℃搅拌皂化 1~40 小时；

4) 皂化结束后加入固体吸附剂，固体吸附剂的加入量为，原料质量：固体吸附剂质量=1:0.5~8；缓慢搅拌 0.5~10 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 20~50℃的去离子水或醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去溶液；

5) 固体吸附剂中加入中等极性溶剂，中等极性溶剂的加入量为：固体吸附剂质量：中等极性溶剂体积=1g:2~8ml；缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品。

所述的制备方法：

1) 将植物中的一种或二种以上干燥后磨碎作为原料，按照原料质量:溶剂体积=1g:20ml 的比例加入提取溶剂，40℃搅拌提取 2 小时，提取结束后静置沉淀过滤分离；得提取液和滤渣；

2) 按照步骤 1) 的操作过程，将上一步骤所得滤渣进行再次提取，提取共重复 3 次；

3) 合并提取液减压浓缩至溶剂蒸发完，加入体积为原提取体积的 1 倍、质量浓度 10% KOH 或 NaOH 的醇溶液，40℃搅拌皂化 10 小时；

4) 皂化结束后加入固体吸附剂，固体吸附剂的加入量为，原料质量：固体吸附剂质量=1: 1；缓慢搅拌 2 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 40℃的去离子水或醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去溶液；

5) 固体吸附剂中加入中等极性溶剂，中等极性溶剂的加入量为：固体吸附剂质量：中等极性溶剂体积=1g: 6ml；缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品。

本发明的特点如下：

1 绿色环保。原位富集法减少了传统方法使用水洗脱碱的步骤，减少了废水的排放；富集后的玉米黄素用少量溶剂就可洗脱，减少了有机溶剂的使用量，具有绿色环保的特点。

2 产品中玉米黄素含量高。采用本发明的制备工艺所制备的玉米黄素含量最高可达到 90% 以上。

3 具有良好的应用前景。玉米黄素是人体黄斑色素的主要成分，补充玉米黄素可预防老年性黄斑变性、白内障等眼部疾病，而且对于眼疲劳等有很好的缓解作用；同时

玉米黄素还具有防晒作用,天然提取的玉米黄素安全性高,因此在食品、保健品、药品、化妆品等领域有良好的应用前景。

附图说明

图1为本发明实施例1玉米黄素的质谱图;

图2为本发明实施例1玉米黄素的核磁共振氢谱图;

图3为本发明实施例1玉米黄素的液相色谱图(图中*为玉米黄素)。

具体实施方式

实施例1

以枸杞果实为原料,按照以下工艺制备玉米黄素:

取枸杞果实冷冻干燥、磨成粉末,过100目筛子,取筛下粉末1000克,按照枸杞果实质量:溶剂体积=1g:10ml的比例加入乙酸乙酯10升,30℃搅拌提取2小时,提取结束后静置沉淀分离;得提取液和滤渣;

滤渣再次加入乙酸乙酯10升进行第二次提取;30℃搅拌提取2小时;提取结束后静置沉淀分离;得提取液和滤渣;

提取共重复3次;合并提取液,真空浓缩至有机溶剂挥发完,加入5升质量浓度10%KOH乙醇溶液,30℃搅拌皂化20小时;

皂化结束后加入固体吸附剂——羟丙基葡聚糖凝胶1000克,缓慢搅拌0.5小时,静置分离,得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂;用20℃的去离子水将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所pH为中性,除去水;

固体吸附剂中加入8升乙酸乙酯缓慢震荡,静置分离,除去固体吸附剂,所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品23克,通过质谱(图1)、核磁共振氢谱(图2)、液相色谱(图3),验证产品中主要成分为玉米黄素,纯度为78%。

实施例2

以锦灯笼果实为原料,按照以下工艺制备玉米黄素:

取锦灯笼果实冷冻干燥、磨成粉末,过100目筛子,取筛下粉末1000克,按照锦灯笼果实质量:溶剂体积=1g:50ml的比例加入丙酮50升,60℃搅拌提取5小时,提取结束后静置沉淀分离;得提取液和滤渣;

滤渣再次加入丙酮50升进行第二次提取;60℃搅拌提取5小时;提取结束后静置沉淀分离;得提取液和滤渣;

提取共重复3次;合并提取液,真空浓缩至有机溶剂挥发完,加入50升质量浓度30%NaOH甲醇溶液,60℃搅拌皂化10小时;

皂化结束后加入固体吸附剂——聚苯乙烯树脂10公斤,缓慢搅拌5小时,静置分离,得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂;用20℃的去离子水将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所pH为中性,除去水;

固体吸附剂中加入乙醚和乙酸乙酯混合溶剂100升缓慢震荡,静置分离,除去固体吸附剂,所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品30克,通过与实施例1相同的方法:质谱、核磁共振氢谱、液相色谱等证明所得产物为玉米黄素,纯度为68%。

实施例3

以辣椒为原料,按照以下工艺制备玉米黄素:

取辣椒冷冻干燥、磨成粉末,过100目筛子,取筛下粉末1000克,按照辣椒质量:溶剂体积=1g:100ml的比例加入石油醚和二氯甲烷混合溶剂(体积比1:1)100升,80℃搅拌提取1小时,提取结束后静置沉淀分离;得提取液和滤渣;

滤渣再次加入石油醚和二氯甲烷混合溶剂 100 升进行第二次提取；80℃搅拌提取 1 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 10 升质量浓度 50% KOH 乙醇溶液，80℃搅拌皂化 1 小时；

皂化结束后加入固体吸附剂——二氧化硅 5 千克，缓慢搅拌 1 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 20℃的乙醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去溶液；

固体吸附剂中加入乙醚 25 升缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 25 克，通过与实施例 1 相同的方法：质谱、核磁共振氢谱、液相色谱等证明所得产物为玉米黄素，纯度为 60%。

实施例 4

以锦灯笼宿萼为原料，按照以下工艺制备玉米黄素：

取锦灯笼宿萼冷冻干燥、磨成粉末，过 100 目筛子，取筛下粉末 1000 克，加入甲醇和乙酸乙酯的混合溶剂 50 升，50℃搅拌提取 8 小时，提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

滤渣再次加入甲醇和乙酸乙酯的混合溶剂 50 升进行第二次提取；50℃搅拌提取 5 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 40 升质量浓度 20% NaOH 甲醇溶液，30℃搅拌皂化 20 小时；

皂化结束后加入 2000 克固体吸附剂——聚苯乙烯树脂，缓慢搅拌 5 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 30℃的去离子水将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去水；

固体吸附剂中加入三氯乙烷 40 升缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 60 克，通过与实施例 1 相同的方法：质谱、核磁共振氢谱、液相色谱等证明所得产物为玉米黄素，纯度为 75%。

实施例 5

以玉米为原料，按照以下工艺制备玉米黄素：

取玉米冷冻干燥、磨成粉末，过 100 目筛子，取筛下粉末 1000 克，加入石油醚和乙酸乙酯的混合溶剂 20 升，30℃搅拌提取 5 小时，提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

滤渣再次加入石油醚和乙酸乙酯的混合溶剂 20 升进行第二次提取；30℃搅拌提取 5 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 10 升质量浓度 5% KOH 甲醇溶液，10℃搅拌皂化 20 小时；

皂化结束后加入 500 克固体吸附剂——二氧化硅，缓慢搅拌 2 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 40℃的乙醇将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去溶剂；

固体吸附剂中加入三氯乙烷 1 升缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 36 克，通过与实施例 1 相同的方法：质谱、核磁共振氢谱、液相色谱等证明所得产物为玉米黄素，纯度为 60%。

实施例 6

以枸杞果实和枸杞叶为原料，按照以下工艺制备玉米黄素：

取枸杞果实和枸杞叶冷冻干燥、磨成粉末，过 100 目筛子，取筛下粉末 1000 克，加入正己烷和乙醇（体积比 1:1）的混合溶剂 80 升，35℃搅拌提取 4 小时，提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

滤渣再次加入正己烷和乙醇（体积比 1:1）的混合溶剂进行第二次提取；5℃搅拌提取 4 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 40 升质量浓度 15% KOH 乙醇溶液，25℃搅拌皂化 8 小时；

皂化结束后加入 3000 克固体吸附剂——羟丙基葡聚糖凝胶，缓慢搅拌 1 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 40℃的甲醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去溶剂；

固体吸附剂中加入二氯甲烷 9 升缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 28 克，通过质谱（图 1）、核磁共振氢谱（图 2）、液相色谱（图 3），验证产品中主要成分为玉米黄素，纯度为 82%。

实施例 7

以南瓜和南瓜花为原料，按照以下工艺制备玉米黄素：

取冷冻干燥、磨成粉末，过 100 目筛子，取筛下粉末 1000 克，加入石油醚与正己烷（体积比 1:1）的混合溶剂 60 升，40℃搅拌提取 5 小时，提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

滤渣再次加入石油醚与正己烷的混合溶剂 60 升进行第二次提取；搅拌提取 5 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 10 升质量浓度 35 % NaOH 甲醇和乙醇混合溶液，40℃搅拌皂化 10 小时；

皂化结束后加入 100 克固体吸附剂——聚苯乙烯树脂，缓慢搅拌 5 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 40℃的去离子水将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去水；

固体吸附剂中加入乙酸乙酯 300 毫升缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 26 克，通过与实施例 1 相同的方法：质谱、核磁共振氢谱、液相色谱等证明所得产物为玉米黄素，纯度为 69%。

实施例 8

以柿子为原料，按照以下工艺制备玉米黄素：

取柿子冷冻干燥、磨成粉末，过 100 目筛子，取筛下粉末 1000 克，加入乙酸乙酯 50 升，35℃搅拌提取 3 小时，提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

滤渣再次加入乙酸乙酯 50 升进行第二次提取；35℃搅拌提取 3 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 10 升质量浓度 20% NaOH 甲醇和乙醇混合溶液，35℃搅拌皂化 10 小时；

皂化结束后加入固体吸附剂——聚苯乙烯 1000 克，缓慢搅拌 3 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 35℃的去离子水将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去水；

固体吸附剂中加入 20 升甲醇缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 21 克，通过质谱（图 1）、核磁共振氢谱（图 2）、液相色谱（图 3），验证产品中主要成分为玉米黄素，纯度为 75%。

实施例 9

以沙棘为原料，按照以下工艺制备玉米黄素：

取沙棘冷冻干燥、磨成粉末，过 100 目筛子，取筛下粉末 1000 克，加入甲醇 20 升，40℃搅拌提取 2 小时，提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

滤渣再次加入甲醇 20 升进行第二次提取；40℃搅拌提取 2 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 20 升质量浓度 10 %NaOH 甲醇和乙醇混合溶液，40℃搅拌皂化 10 小时；

皂化结束后加入固体吸附剂——羟丙基葡聚糖凝胶 1000 克，缓慢搅拌 2 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 40℃的去离子水将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去水；

固体吸附剂中加入 6 升甲醇缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 32 克，通过质谱（图 1）、核磁共振氢谱（图 2）、液相色谱（图 3），验证产品中主要成分为玉米黄素，纯度为 95%。

实施例 10

以锦灯笼果实和宿萼为原料，按照以下工艺制备玉米黄素：

取锦灯笼果实和宿萼冷冻干燥、磨成粉末，过 100 目筛子，取筛下粉末 1000 克，加入丙酮 2 升，90℃搅拌提取 5 小时，提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

滤渣再次加入丙酮 2 升进行第二次提取；90℃搅拌提取 5 小时；提取结束后静置沉淀分离；得提取液和滤渣；

提取共重复 3 次；合并提取液，真空浓缩至有机溶剂挥发完，加入 4 升质量浓度 60%NaOH 甲醇溶液，90℃搅拌皂化 10 小时；

皂化结束后加入 80 克固体吸附剂——聚苯乙烯树脂，缓慢搅拌 5 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 70℃的去离子水将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去水；

固体吸附剂中加入乙酸乙酯 100 毫升缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品 5 克，通过与实施例 1 相同的方法：质谱、核磁共振氢谱、液相色谱等证明所得产物为玉米黄素，纯度为 16%。

权利要求书

1、一种原位富集法制备天然玉米黄素的制备方法，其特征在于：

1) 将植物中的一种或二种以上部位干燥后磨碎作为原料，按照原料质量:溶剂体积=1g:10~100ml 的比例加入提取溶剂，30~80℃搅拌提取 1~10 小时，提取结束后静置沉淀过滤分离；得提取液和滤渣；

2) 按照步骤 1) 的操作过程，将上一步骤所得滤渣进行再次提取，提取共重复 2-4 次；

3) 合并提取液减压浓缩至溶剂蒸发完，加入体积为原单次提取溶剂体积的 1/10~1 倍、质量浓度 1~50%KOH 或 NaOH 的醇溶液，10~80℃搅拌皂化 1~40 小时；

4) 皂化结束后加入固体吸附剂，缓慢搅拌 0.5~10 小时，静置分离，得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂；用 20~60℃的去离子水或醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性，除去溶液；

5) 固体吸附剂中加入中等极性溶剂缓慢震荡，静置分离，除去固体吸附剂，所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品。

2、按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：

所述步骤 2) 按照步骤 1) 的操作过程，将上一步骤所得滤渣再次进行提取，提取共重复 2-4 次；

再次进行提取过程：是指将上一步骤所得滤渣再次按照原料质量:溶剂体积=1g:10~100ml 的比例加入上述溶剂进行再次提取，30~80℃搅拌提取 1~10 小时，提取结束后静置沉淀过滤分离；得提取液和滤渣。

3、按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：所述植物是指植物的果实、宿萼、根、茎、叶、花或整个植株中的一种或二种以上；所使用的植物为枸杞、锦灯笼、玉米、辣椒、沙棘、南瓜、柿子中的一种或二种以上。

4、按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：

所述提取溶剂为：甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、乙醚、丙酮、环己烷、正己烷、石油醚中的一种或二种以上的溶剂混合物；

所述中等极性溶剂为：甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、乙醚、丙酮中的一种或二种以上；

所述固体吸附剂为：二氧化硅、羟丙基葡聚糖凝胶、聚苯乙烯树脂中的一种或二种以上。

5、按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：

步骤 3) 和 4) 中的醇溶液中的醇为甲醇、乙醇、丙二醇中的一种或二种以上。

6、按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：

皂化结束后加入固体吸附剂的量为，原料质量：固体吸附剂质量=1:0.1~10。

7、按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：

中等极性溶剂的加入量为，固体吸附剂质量：中等极性溶剂体积=1g:2~20ml。

8、按照权利要求 1 所述的制备方法，其特征在于：

1) 将植物中的一种或二种以上干燥后磨碎作为原料，按照原料质量:溶剂体积=1g:10~50ml 的比例加入提取溶剂，30~60℃搅拌提取 1~10 小时，提取结束后静置沉淀过滤分离；得提取液和滤渣；

2) 按照步骤 1) 的操作过程，将上一步骤所得滤渣进行再次提取，提取共重复 2-4 次；

3) 合并提取液减压浓缩至溶剂蒸发完，加入体积为原提取溶剂体积的 1/2~1 倍、

质量浓度 5~30%KOH 或 NaOH 的醇溶液, 10~60°C 搅拌皂化 1~40 小时;

4) 皂化结束后加入固体吸附剂, 固体吸附剂的加入量为, 原料质量: 固体吸附剂质量=1:0.5~8; 缓慢搅拌 0.5~10 小时, 静置分离, 得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂; 用 20~50°C 的去离子水或醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性, 除去溶液;

5) 固体吸附剂中加入中等极性溶剂, 中等极性溶剂的加入量为: 固体吸附剂质量: 中等极性溶剂体积=1g:2~8ml; 缓慢震荡, 静置分离, 除去固体吸附剂, 所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品。

9、按照权利要求 1 所述的制备方法, 其特征在于:

1) 将植物中的一种或二种以上干燥后磨碎作为原料, 按照原料质量: 溶剂体积=1g:20ml 的比例加入提取溶剂, 40°C 搅拌提取 2 小时, 提取结束后静置沉淀过滤分离; 得提取液和滤渣;

2) 按照步骤 1) 的操作过程, 将上一步骤所得滤渣进行再次提取, 提取共重复 3 次;

3) 合并提取液减压浓缩至溶剂蒸发完, 加入体积为原提取溶剂体积的 1 倍、质量浓度 10%KOH 或 NaOH 的醇溶液, 40°C 搅拌皂化 10 小时;

4) 皂化结束后加入固体吸附剂, 固体吸附剂的加入量为, 原料质量: 固体吸附剂质量=1: 1; 缓慢搅拌 2 小时, 静置分离, 得到富集天然玉米黄素的固体吸附剂; 用 40°C 的去离子水或醇溶液将富含天然玉米黄素的固体吸附剂冲洗至所 pH 为中性, 除去溶液;

5) 固体吸附剂中加入中等极性溶剂, 中等极性溶剂的加入量为: 固体吸附剂质量: 中等极性溶剂体积=1g: 6ml; 缓慢震荡, 静置分离, 除去固体吸附剂, 所得溶剂浓缩干燥得到天然玉米黄素产品。

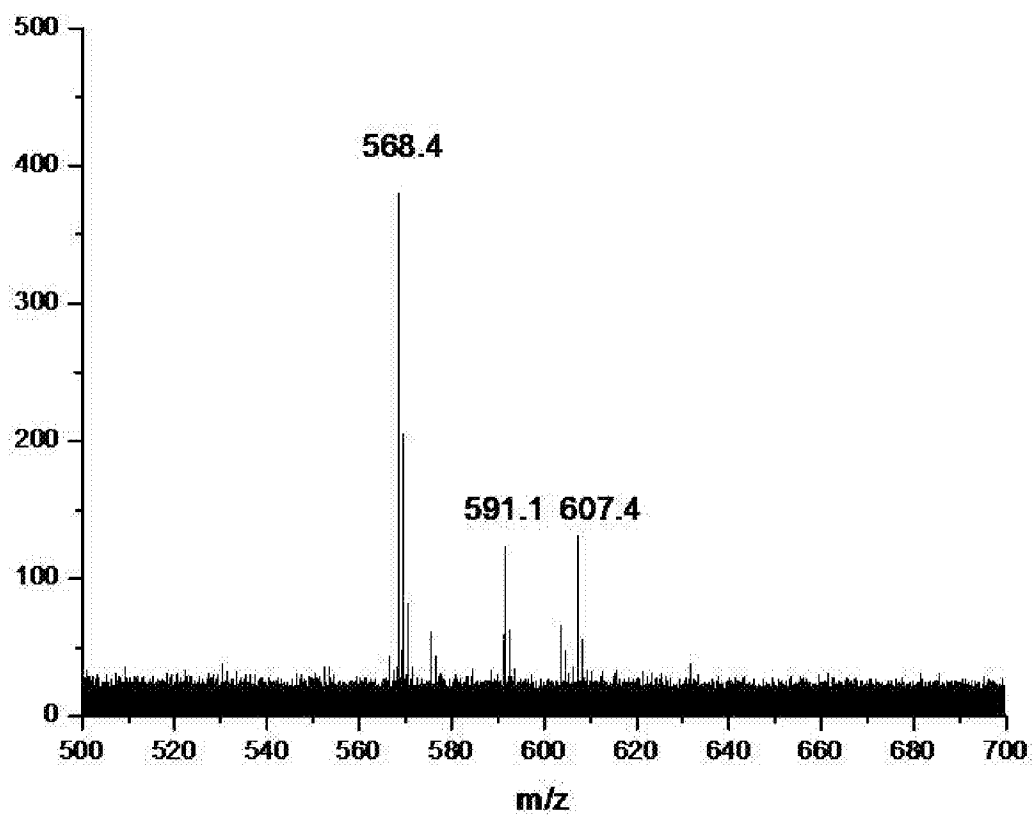


图 1

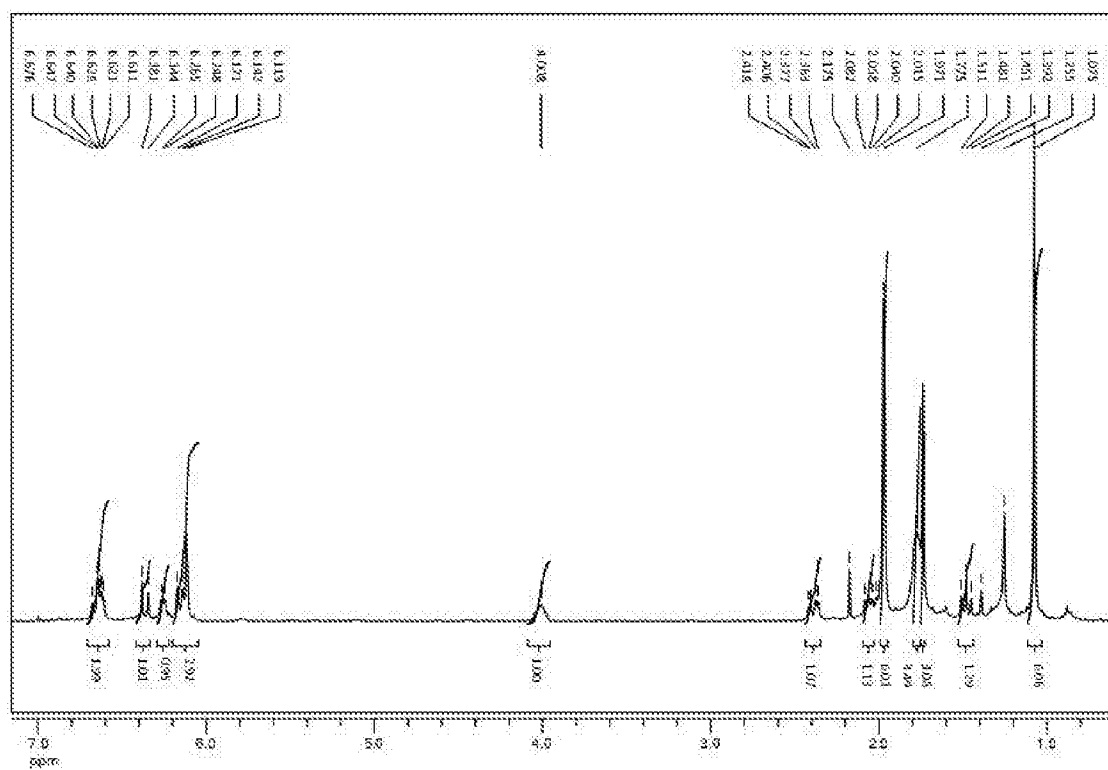


图 2

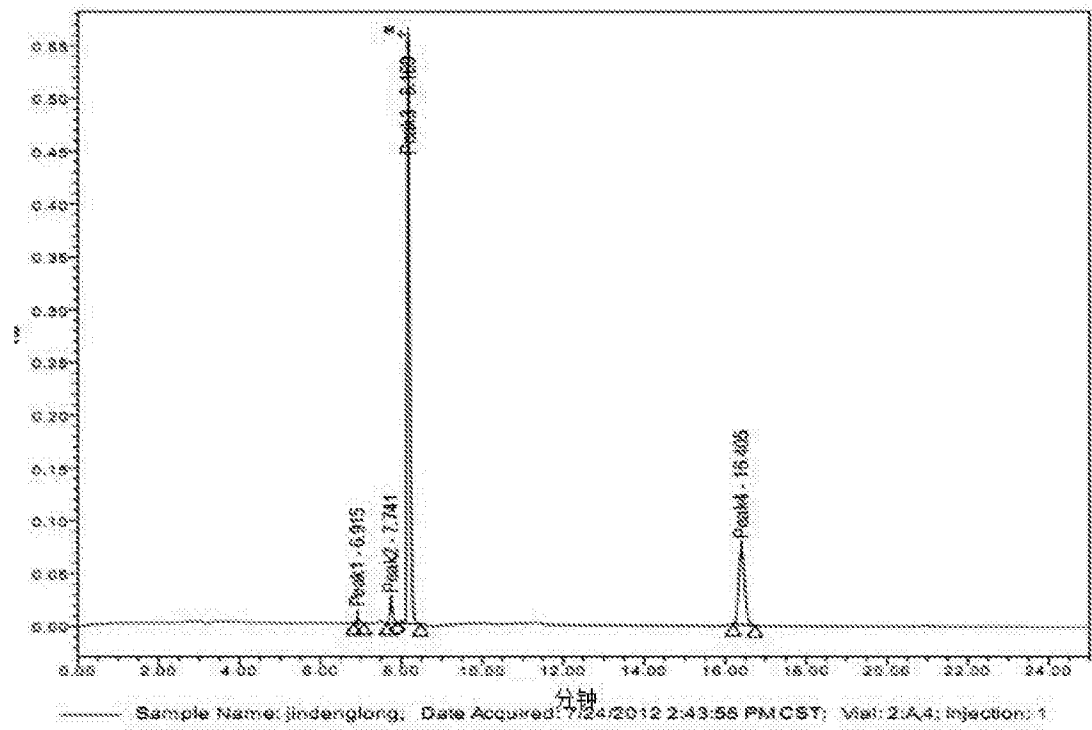


图 3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2014/074707

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C07C 403/24 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C 403/-

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

WPI, EPODOC, CNKI, CPRS, CA, zeaxanthin, carotene

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CN 102040548 A (TIANJIN JIANFENG NATURAL PROD R&D CO) 04 May 2011 (04.05.2011), the whole document	1-9
A	WO 9920587 A1 (TECHNOLOGY LIAISON OFF OF et al.) 29 April 1999 (29.04.1999), the whole document	1-9

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 14 October 2014	Date of mailing of the international search report 22 October 2014
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer ZHOU, Yuan Telephone No. (86-10) 62084583

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2014/074707

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 102040548 A	04 May 2011	None	
WO9920587A1	29 April 1999	AU 1271999 A	10 May 1999
		WO 9920587A 8	26 August 1999
		US 6262284 B1	17 July 2001

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2014/074707

A. 主题的分类

C07C 403/24(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

C07C403/-

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

WPI, EPODOC, CNKI, CPRS, CA 玉米黄素, 玉米黄质, 胡萝卜素, zeaxanthin, carotene

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	CN 102040548 A (天津市尖峰天然产物研究开发有限公司) 2011年 5月 04日 (2011 - 05 - 04) 全文	1—9
A	WO 9920587 A1 (TECHNOLOGY LIAISON OFF OF等) 1999年 4月 29日 (1999 - 04 - 29) 全文	1—9

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2014年 10月 14日

国际检索报告邮寄日期

2014年 10月 22日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
北京市海淀区蓟门桥西土城路6号
100088 中国

传真号 (86-10)62019451

授权官员

周元

电话号码 (86-10)62084583

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2014/074707

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	102040548	A	2011年 5月 04日	无			
WO	9920587	A1	1999年 4月 29日	AU	1271999	A	1999年 5月 10日
				WO	9920587	A8	1999年 8月 26日
				US	6262284	B1	2001年 7月 17日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2009年7月)