



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113683589 A

(43) 申请公布日 2021. 11. 23

(21) 申请号 202111037071.5

(22) 申请日 2021.09.06

(71) 申请人 福州鼓楼区云珀生物科技有限公司

地址 350000 福建省福州市鼓楼区洪山科  
技园创业中心大厦2楼261区第77室

(72) 发明人 向维

(51) Int. Cl.

C07D 311/36 (2006.01)

C07D 311/40 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称

一种葛根异黄酮提取方法及其应用

(57) 摘要

本发明提供一种葛根异黄酮提取方法及其应用:具体步骤如下:氯化胆碱/乙二醇的制备:将139.6g的氯化胆碱与111.5-223.0mL的乙二醇混合(即摩尔比控制在1:2-4),在80℃的水浴锅中磁力搅拌2-3h,直到变成透明溶液,然后在60℃真空干燥箱中干燥36h,即得深度共熔溶剂氯化胆碱/乙二醇,保藏在干燥器中,待用,本申请通过利用深度共熔溶剂氯化胆碱/乙二醇对植物细胞壁具有溶解破坏作用,以及与黄酮类化合物形成氢键促进其溶解等特性,同时辅助超声波破碎大大提高了葛根异黄酮的提取率并具备抗氧化性。

1. 一种葛根异黄酮提取方法及其应用,其特征在于:具体步骤如下:

(1) 氯化胆碱/乙二醇的制备:将139.6g的氯化胆碱与111.5-223.0mL的乙二醇混合(即摩尔比控制在1:2-4),在80℃的水浴锅中磁力搅拌2-3h,直到变成透明溶液,然后在60℃真空干燥箱中干燥36h,即得深度共熔溶剂氯化胆碱/乙二醇,保藏在干燥器中,待用;

(2) 用蒸馏水配置体积为10-40%的氯化胆碱/乙二醇的水溶液,然后添加至60目的葛根粉中并搅拌均匀,在超声波辅助下加热进行提取,得到葛根异黄酮粗提液,然后分离纯化得到葛根异黄酮;

(3) 所述的葛根粉与氯化胆碱/乙二醇的料液比在1:10-25;

(4) 提取过程中,超声波的功率在300-600W,温度在60-80℃,提取时间在30-90min;

(5) 提取结束后,通过高速离心的方式去除葛根残渣,得粗提液,粗提液中的葛根异黄酮含量在1.19-1.54mg/mL,提取率为3.58-4.62%;

(6) 所述的分离纯化是以AB-8型号的大孔树脂为填料,通过层析柱分离纯化,实现提纯。分离纯化过程步骤包括:湿法装柱,粗提液上样,乙醇溶液洗脱,收集洗脱液,旋转蒸发浓缩洗脱液,调节pH,冷却析出沉淀,过滤获得粗品葛根异黄酮沉淀,石灰水溶解沉淀,调节pH,冷却析出沉淀,过滤,冷冻干燥得到精制葛根异黄酮。

2. 根据权利要求1所述的一种葛根异黄酮提取方法及其应用,其特征在于:通过湿法装柱,将AB-8树脂装入层析柱(15mm\*500mm)中,柱体积为50mL。

3. 根据权利要求1所述的一种葛根异黄酮提取方法及其应用,其特征在于:粗提液上样体积为15mL。

4. 根据权利要求1所述的一种葛根异黄酮提取方法及其应用,其特征在于:收集70%乙醇浓度的洗脱液。

5. 根据权利要求1所述的一种葛根异黄酮提取方法及其应用,其特征在于:称量葛根异黄酮粉末重量,提取率为21.48-27.23mg/g(按葛根原料计算)。

6. 根据权利要求1所述的一种葛根异黄酮提取方法及其应用,其特征在于:测定葛根异黄酮的羟基自由基清除率、DPPH清除率、ABTS清除率。

## 一种葛根异黄酮提取方法及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及技术领域,具体为一种葛根异黄酮提取方法及其应用,属于食品加工领域。

### 背景技术

[0002] 葛根为豆科葛属植物的块根,始载于我国汉代《神农本草经》中;葛根中富含淀粉和黄酮类物质(即大豆甙、葛根黄甙、葛根黄素),有很高的食用价值和医药保健价值;我国卫生部于1988年公布为既是食用又是药用的植物,近年来种植面积发展较快,但对葛根加工和利用尚处于初级阶段,现有技术的葛根加工工艺,或者着重于葛根粉的提取,或者重于葛根总异黄酮的提取,缺少能够同时提取葛根粉与葛根总异黄酮的工艺,同时葛根异黄酮的提取率较低。

[0003] 本发明内容

[0004] 本发明方法中,利用深度共熔溶剂氯化胆碱/乙二醇对植物细胞壁具有溶解破坏作用,以及与黄酮类化合物形成氢键促进其溶解等特性,同时辅助超声波破碎大大提高了葛根异黄酮的提取率并具备抗氧化性。

[0005] 本发明可通过以下方案实现目的,包括如下步聚,但不仅限于:

[0006] (1)氯化胆碱/乙二醇的制备:将139.6 g的氯化胆碱与111.5-223.0mL的乙二醇混合(即摩尔比控制在1:2-4),在80℃的水浴锅中磁力搅拌2-3h,直到变成透明溶液,然后在60℃真空干燥箱中干燥36h,即得深度共熔溶剂氯化胆碱/乙二醇,保藏在干燥器中,待用;

[0007] (2)用蒸馏水配置体积为10-40%的氯化胆碱/乙二醇的水溶液,然后添加至60目的葛根粉中并搅拌均匀,在超声波辅助下加热进行提取,得到葛根异黄酮粗提液,然后分离纯化得到葛根异黄酮;

[0008] (3)所述的葛根粉与氯化胆碱/乙二醇的料液比在1:10-25;

[0009] (4)提取过程中,超声波的功率在300-600W,温度在60-80℃,提取时间在30-90min;

[0010] (5)提取结束后,通过高速离心的方式去除葛根残渣,得粗提液,粗提液中的葛根异黄酮含量在1.19-1.54mg/mL,提取率为3.58-4.62%;

[0011] (6)所述的分离纯化是以AB-8型号的大孔树脂为填料,通过层析柱分离纯化,实现提纯。分离纯化过程步骤包括:湿法装柱,粗提液上样,乙醇溶液洗脱,收集洗脱液,旋转蒸发浓缩洗脱液,调节pH,冷却析出沉淀,过滤获得粗品葛根异黄酮沉淀,石灰水溶解沉淀,调节pH,冷却析出沉淀,过滤,冷冻干燥得到精制葛根异黄酮;

[0012] (7)通过湿法装柱,将AB-8树脂装入层析柱(15mm\*500mm)中,柱体积为50mL;

[0013] (8)粗提液上样体积为15mL;

[0014] (9)收集70%乙醇浓度的洗脱液;

[0015] (10)浓缩洗脱液和重新溶解液的pH用盐水调至pH3.0;

[0016] (11)称量葛根异黄酮粉末重量,提取率为21.48-27.23mg/g(按葛根原料计算);

[0017] (12) 测定葛根异黄酮的羟基自由基清除率、DPPH清除率、ABTS清除率。

[0018] 有益效果

[0019] 本申请通过利用深度共熔溶剂氯化胆碱/乙二醇对植物细胞壁具有溶解破坏作用,以及与黄酮类化合物形成氢键促进其溶解等特性,同时辅助超声波破碎大大提高了葛根异黄酮的提取率并具备抗氧化性。

### 具体实施方式

[0020] 实施例一:

[0021] (1) 深度共熔溶液制备。将纯度为99%的氯化胆碱在60℃真空干燥箱内干燥24h后,按照1:2,1:3,1:4的摩尔比与乙二醇混合,装于50mL圆底烧瓶中,塞上塞子,在100℃油浴锅内,300rpm转速下搅拌加热约2~3h,直至形成均一、透明的溶液。冷却至室温,在60℃的真空干燥箱内干燥36h后转移至干燥器内密封保存。用前加入适量蒸馏水调至为浓度20%。

[0022] (2) 葛根预处理。将所购葛根晾晒后再烘干12h,然后切片,再用中药粉碎机磨碎打粉,过60目筛,细粉装袋室温干燥器内保存。

[0023] (3) 葛根异黄酮提取。称量细粉,按料液比1g:20mL加入20%的DES,搅拌均匀。然后在500W超声辅助下于60℃提取1h。混合物使用台式高速离心机12000g下离心10min分离固体颗粒,得到粗取液。

[0024] (4) 芦丁的分离提纯。将15mL粗取液缓慢加入至层析柱中,接着用600mL去离子水洗脱其他杂质,再用70%的乙醇溶液洗脱,并收集乙醇洗脱液。然后,用旋转蒸发仪将洗脱液浓缩至10mL,用稀盐酸调pH至3.0。将浓缩液放置在4℃环境中,静置24h,葛根异黄酮晶体析出,过滤并冷水洗涤后得粗品葛根异黄酮。粗品葛根异黄酮以石灰水加热溶解,0.22um膜过滤,滤液用盐水调至pH3.0,冷却静置,使其重新结晶析出沉淀,过滤,冷水洗涤,冻干,得到精制葛根异黄酮。

[0025]	摩尔比	1:2	1:3	1:4
	粗提液中的葛根异黄酮含量(mg/mL)	1.27	1.35	1.19
	粗提液中异黄酮提取率(%)	3.82	4.06	3.58
	精制芦丁提取率(mg/g)	22.95	24.27	21.48

[0026] 注意:粗提液中的葛根异黄酮含量与粗提液中异黄酮提取率的比值应固定。

[0027] 实施例二:

[0028] (1) 深度共熔溶液制备。将纯度为99%的氯化胆碱在60℃真空干燥箱内干燥24h后,按照1:3的摩尔比与乙二醇混合,装于50mL圆底烧瓶中,塞上塞子,在100℃油浴锅内,300rpm转速下搅拌加热约2~3h,直至形成均一、透明的溶液。冷却至室温,在60℃的真空干燥箱内干燥36h后转移至干燥器内密封保存。用前加入适量蒸馏水调至为浓度10,20,30,40%。

[0029] (2) 葛根预处理。将所购葛根晾晒后再烘干12h,然后切片,再用中药粉碎机磨碎打粉,过60目筛,细粉装袋室温干燥器内保存。

[0030] (3) 葛根异黄酮提取。称量细粉,按料液比1g:20mL加入20%的DES,搅拌均匀。然后在500W超声辅助下于60℃提取1h。混合物使用台式高速离心机12000g下离心10min分离固

体颗粒,得到粗取液。

[0031] (4) 芦丁的分离提纯。将15mL粗取液缓慢加入至层析柱中,接着用600mL去离子水洗脱其他杂质,再用70%的乙醇溶液洗脱,并收集乙醇洗脱液。然后,用旋转蒸发仪将洗脱液浓缩至10mL,用稀盐酸调pH至3.0。将浓缩液放置在4℃环境中,静置24h,葛根异黄酮晶体析出,过滤并冷水洗涤后得粗品葛根异黄酮。粗品葛根异黄酮以石灰水加热溶解,0.22um膜过滤,滤液用盐水调至pH3.0,冷却静置,使其重新结晶析出沉淀,过滤,冷水洗涤,冻干,得到精制葛根异黄酮。

[0032]	DES浓度%	10	20	30	40
	粗提液中的葛根异黄酮含量(mg/mL)	1.21	1.35	1.31	1.21
	粗提液中异黄酮提取率(%)	3.64	4.06	3.94	3.62
	精制芦丁提取率(mg/g)	21.85	24.47	23.24	21.72

[0033] 注意:粗提液中的葛根异黄酮含量与粗提液中异黄酮提取率的比值应固定。

[0034] 实施例三:

[0035] (1) 深度共熔溶液制备。将纯度为99%的氯化胆碱在60℃真空干燥箱内干燥24h后,按照1:3的摩尔比与乙二醇混合,装于50mL圆底烧瓶中,塞上塞子,在100℃油浴锅内,300rpm转速下搅拌加热约2~3h,直至形成均一、透明的溶液。冷却至室温,在60℃的真空干燥箱内干燥36h后转移至干燥器内密封保存。用前加入适量蒸馏水调至为浓度20%。

[0036] (2) 葛根预处理。将所购葛根晾晒后再烘干12h,然后切片,再用中药粉碎机磨碎打粉,过60目筛,细粉装袋室温干燥器内保存。

[0037] (3) 葛根异黄酮提取。称量细粉,按料液比1g:10,20,25mL加入20%的DES,搅拌均匀。然后在500W超声辅助下于60℃提取1h。混合物使用台式高速离心机12000g下离心10min分离固体颗粒,得到粗取液。

[0038] (4) 芦丁的分离提纯。将15mL粗取液缓慢加入至层析柱中,接着用600mL去离子水洗脱其他杂质,再用70%的乙醇溶液洗脱,并收集乙醇洗脱液。然后,用旋转蒸发仪将洗脱液浓缩至10mL,用稀盐酸调pH至3.0。将浓缩液放置在4℃环境中,静置24h,葛根异黄酮晶体析出,过滤并冷水洗涤后得粗品葛根异黄酮。粗品葛根异黄酮以石灰水加热溶解,0.22um膜过滤,滤液用盐水调至pH3.0,冷却静置,使其重新结晶析出沉淀,过滤,冷水洗涤,冻干,得到精制葛根异黄酮。

[0039]	料液比	10	20	25
	粗提液中的葛根异黄酮含量(mg/mL)	1.22	1.35	1.44
	粗提液中异黄酮提取率(%)	3.67	4.06	4.32
	精制芦丁提取率(mg/g)	22.01	24.47	25.81

[0040] 实施例四:

[0041] (1) 深度共融溶液制备。将纯度为99%的氯化胆碱在60℃真空干燥箱内干燥24h后,按照1:3的摩尔比与乙二醇混合,装于50mL圆底烧瓶中,塞上塞子,在100℃油浴锅内,300rpm转速下搅拌加热约2~3h,直至形成均一、透明的溶液。冷却至室温,在60℃的真空干燥箱内干燥36h后转移至干燥器内密封保存。用前加入适量蒸馏水调至为浓度20%。

[0042] (2) 葛根预处理。将所购葛根晾晒后再烘干12h,然后切片,再用中药粉碎机磨碎打粉,过60目筛,细粉装袋室温干燥器内保存。

[0043] (3) 葛根异黄酮提取。称量细粉,按料液比1g:25mL加入20%的DES,搅拌均匀。然后在300,500,600W超声辅助下于60℃提取1h。混合物使用台式高速离心机12000g下离心10min分离固体颗粒,得到粗取液。

[0044] (4) 芦丁的分离提纯。将15mL粗取液缓慢加入至层析柱中,接着用600mL去离子水洗脱其他杂质,再用70%的乙醇溶液洗脱,并收集乙醇洗脱液。然后,用旋转蒸发仪将洗脱液浓缩至10mL,用稀盐酸调pH至3.0。将浓缩液放置在4℃环境中,静置24h,葛根异黄酮晶体析出,过滤并冷水洗涤后得粗品葛根异黄酮。粗品葛根异黄酮以石灰水加热溶解,0.22um膜过滤,滤液用盐水调至pH3.0,冷却静置,使其重新结晶析出沉淀,过滤,冷水洗涤,冻干,得到精制葛根异黄酮。

	超声功率 (W)	300	500	600
[0045]	粗提液中的葛根异黄酮含量 (mg/mL)	1.51	1.44	1.35
	粗提液中异黄酮提取率 (%)	4.53	4.32	4.06
	精制芦丁提取率 (mg/g)	26.72	25.82	23.51

[0046] 注意:粗提液中的葛根异黄酮含量与粗提液中异黄酮提取率的比值应固定。

[0047] 实施例五:

[0048] (1) 深度共融溶液制备。将纯度为99%的氯化胆碱在60℃真空干燥箱内干燥24h后,按照1:3的摩尔比与乙二醇混合,装于50mL圆底烧瓶中,塞上塞子,在100℃油浴锅内,300rpm转速下搅拌加热约2~3h,直至形成均一、透明的溶液。冷却至室温,在60℃的真空干燥箱内干燥36h后转移至干燥器内密封保存。用前加入适量蒸馏水调至为浓度20%。

[0049] (2) 葛根预处理。将所购葛根晾晒后再烘干12h,然后切片,再用中药粉碎机磨碎打粉,过60目筛,细粉装袋室温干燥器内保存。

[0050] (3) 葛根异黄酮提取。称量细粉,按料液比1g:25mL加入20%的DES,搅拌均匀。然后在300W超声辅助下于60,70,80℃提取1h。混合物使用台式高速离心机12000g下离心10min分离固体颗粒,得到粗取液。

[0051] (4) 芦丁的分离提纯。将15mL粗取液缓慢加入至层析柱中,接着用600mL去离子水洗脱其他杂质,再用70%的乙醇溶液洗脱,并收集乙醇洗脱液。然后,用旋转蒸发仪将洗脱液浓缩至10mL,用稀盐酸调pH至3.0。将浓缩液放置在4℃环境中,静置24h,葛根异黄酮晶体析出,过滤并冷水洗涤后得粗品葛根异黄酮。粗品葛根异黄酮以石灰水加热溶解,0.22um膜过滤,滤液用盐水调至pH3.0,冷却静置,使其重新结晶析出沉淀,过滤,冷水洗涤,冻干,得到精制葛根异黄酮。

	温度(°C)	60	70	80
[0052]	粗提液中的葛根异黄酮含量 (mg/mL)	1.51	1.54	1.36
	粗提液中异黄酮提取率(%)	4.53	4.62	4.09
	精制芦丁提取率(mg/g)	26.72	27.22	23.72

[0053] 注意:粗提液中的葛根异黄酮含量与粗提液中异黄酮提取率的比值应固定。

[0054] 实施例六:

[0055] (1) 深度共融溶液制备。将纯度为99%的氯化胆碱在60℃真空干燥箱内干燥24h后,按照1:3的摩尔比与乙二醇混合,装于50mL圆底烧瓶中,塞上塞子,在100℃油浴锅内,300rpm转速下搅拌加热约2~3h,直至形成均一、透明的溶液。冷却至室温,在60℃的真空干燥箱内干燥36h后转移至干燥器内密封保存。用前加入适量蒸馏水调至为浓度20%。

[0056] (2) 葛根预处理。将所购葛根晾晒后再烘干12h,然后切片,再用中药粉碎机磨碎打粉,过60目筛,细粉装袋室温干燥器内保存。

[0057] (3) 葛根异黄酮提取。称量细粉,按料液比1g:25mL加入20%的DES,搅拌均匀。然后在300W超声辅助下于70℃提取30,60,90min。混合物使用台式高速离心机12000g下离心10min分离固体颗粒,得到粗取液。

[0058] (4) 芦丁的分离提纯。将15mL粗取液缓慢加入至层析柱中,接着用600mL去离子水洗脱其他杂质,再用70%的乙醇溶液洗脱,并收集乙醇洗脱液。然后,用旋转蒸发器将洗脱液浓缩至10mL,用稀盐酸调pH至3.0。将浓缩液放置在4℃环境中,静置24h,葛根异黄酮晶体析出,过滤并冷水洗涤后得粗品葛根异黄酮。粗品葛根异黄酮以石灰水加热溶解,0.22um膜过滤,滤液用盐水调至pH3.0,冷却静置,使其重新结晶析出沉淀,过滤,冷水洗涤,冻干,得到精制葛根异黄酮。

	提取时间	30	60	90
[0059]	粗提液中的葛根异黄酮含量 (mg/mL)	1.40	1.54	1.49
	粗提液中异黄酮提取率(%)	4.20	4.62	4.47
	精制芦丁提取率(mg/g)	24.54	27.23	25.98

[0060] 注意:粗提液中的葛根异黄酮含量与粗提液中异黄酮提取率的比值应固定。

[0061] 实施例六:

[0062] 抗氧化性

[0063]

抗氧化性	羟基自由 基	DPPH	ABTS+
精制芦丁清除率 (%)	84.17	90.21	63.35