(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 103333067 B
(45)授权公告日 2016.01.20

(21)申请号 201310232265.X
(22)申请日 2013.06.13
(73)专利权人 广西金昊生物科技有限公司
地址 546138 广西壮族自治区来宾市长梅路河南工业园A1-11栋
(72)发明人 叶春 袁煜昊 胡永明 李文华 刘洪军
(74)专利代理机构 北京鼎佳达知识产权代理事务所（普通合伙）11348
代理人 侯蔚寰
(51)Int.Cl.
C07C 69/732(2006.01)
C07C 67/48(2006.01)
C07C 67/56(2006.01)
C07C 67/58(2006.01)
(56)对比文件
US 4872987 ,1989.10.10, 权利要求1-8.
CN 1823908 A,2006.08.30, 实施例1.
CN 101503356 A,2009.08.12, 权利要求4.
CN 103086889 A,2013.05.08, 实施例1-4.
CN 101851163 A,2010.10.06, 权利要求1.
审查员 崔艳

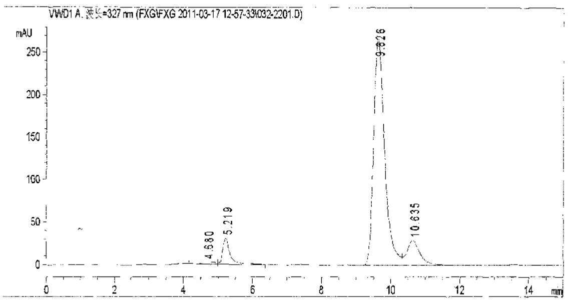
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

一种高纯度绿原酸的提取方法

(57)摘要

本发明涉及一种高纯度绿原酸的提取方法，包括原料准备及预处理、酶处理、超声波处理、绿原酸产品制备等步骤。制备中使用了无机膜，所述无机膜的载体为氧化铝陶瓷或者蜂窝陶瓷，所述无机膜为氧化铝复合微滤膜。所述的原料为金银花、杜仲、可可树或咖啡等的一种。当原料为金银花时，绿原酸的提取率达到97.5%，纯度达到99%。本发明所述方法能够简便、快速地从原料中得到质量稳定、纯度高、收率高、安全可靠的绿原酸。



1.一种高纯度绿原酸的提取方法，其特征在于，所述方法的具体步骤如下：

步骤一、原料准备及预处理，

将原料用清水洗净，放置于烘箱中，先在 50 ～ 60℃的烘箱中烘干 30min，再经粉碎机粉碎后、并过 20 目筛，未过筛的原料返回粉碎机中再粉碎，收集筛下原料，再在刚玉研钵进行研磨，研磨时间为 30min，过 200 目筛，未过筛的原料返回研钵中继续进行研磨，筛下料即为预处理后的原料；

步骤二、酶处理，

步骤一完成后，按照预处理后原料的质量：酶的质量：水的体积之比为 1g ：0.04g ：40ml 的比例，所述的酶为纤维素酶、木质素酶和 cex 酶的复配酶，所述的复配酶为木质素酶：纤维素酶：cex 酶的质量比为 1 ：1 ：1，在步骤一预处理后的原料中，加入酶及水，放入密闭容器中，搅拌均匀后，再弱酸调节体系的 pH 值为 6，然后将调节 pH 值后的混合液放置于摇床中，在水浴温度为 30℃下进行酶解活化 30min，用抽滤泵进行抽滤，分别收集滤液和滤渣，收集的滤渣为原料酶解活化基料；滤液处理回收利用；

步骤三、超声波处理，

步骤二完成后，先将收集的滤渣，即原料酶解活化基料转入到浸提容器中，再按照步骤一预处理后的原料质量：乙醇溶液的体积之比为 1g ：20ml 的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率 100W、超声波频率为 100KHz 温度为 30℃条件下超声波处理 15min，用抽滤机进行抽滤，分别收集滤液 a 和滤渣 b，将收集的滤渣 b 的质量：乙醇溶液的体积之比为 1g ：20ml 的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率 100W、超声波频率为 100KHz 温度为 30℃条件下超声波处理 15min，用抽滤机进行抽滤，收集滤液 c 和滤渣 d，对收集的滤渣 b 和滤渣 d 作为制备吸附材料的原料，将收集的滤液 a 和滤液 c 混合转入离心机中，在离心转速为 3000r/min 条件下，0.6MPa 进行离心分离 3min 后，分别收集离心清液和离心渣，离心清液即为含绿原酸的提取液，对收集的离心渣作为制备吸附材料的原料；离心清液经无机膜进行过滤，得到过滤清液 e；

步骤四、绿原酸产品制备，

步骤三完成后，先将步骤三收集的离心清液 e，即含绿原酸的提取液通过分光光度法测定绿原酸的浓度，检测波长为 327nm、乙醇溶液体积浓度为 50％的条件下，测定步骤三收集的离心清液中绿原酸的浓度，再将步骤三收集的离心清液放置于在旋转蒸发器中，在真空压强为 0.05Mpa、温度为 25℃下进行浓缩 30min，浓缩液中加入浓缩液重量 2％倍的壳聚糖，搅拌，絮凝，然后再在室温条件下，静置 20min，常规过滤沉淀，滤液用滤液质量 5％倍的活性炭脱色，得到脱色后的浓缩液；脱色后的浓缩液用大孔型大孔树脂柱进行饱和吸附，所述大孔型大孔树脂柱包括极性大孔树脂、中极性大孔树脂或弱极性大孔树脂，吸附后用体积百分含量为 50％的乙醇水洗脱，其中，吸附提取液的流速为 0.2BV/h，洗脱时的流速为 1BV/h，收集洗脱液浓缩、干燥后制得绿原酸的含量为 99％的高纯度绿原酸成品；

所述无机膜的载体为氧化铝陶瓷或者蜂窝陶瓷，所述无机膜为氧化铝复合微滤膜；

所述的原料为金银花，绿原酸的提取率达到 97.5％。

一种高纯度绿原酸的提取方法

技术领域

[0001] 本发明属于绿原酸提取技术领域，具体涉及一种高纯度绿原酸的提起方法。

背景技术

[0002] 绿原酸是由咖啡酸与奎尼酸形成的酯，属于苯丙素类化合物，主要存于金银花、杜仲、可可树以及咖啡等植物中。绿原酸作为药物合成的重要原料，对防治心血管系统疾病、糖尿病有显著的疗效，也广泛应用与食品保鲜、化妆品中抗衰老以及预防肥预等方面，在医药及人口健康等领域具有广阔的市场应用前景。但绿原酸本身具有不稳定性，从植物中提取的过程中，高温、强光以及长时间加热等条件可加速绿原酸水解以及分子内酯基迁移，发生绿原酸异构化。因此，研究绿原酸的提取方法，具有可观的经济价值和现实意义。

[0003] 绿原酸是一种具有广泛生理活性和药理活性的物质，具有利胆、抗菌、降压、增加白血球及兴奋中枢神经等作用，它是许多中药材的有效成分之一，又是某些成药的质量指标。绿原酸广泛应用于医药、日用化工和食品等行业。

[0004] 绿原酸是一种多酚类化合物，是自然界中广泛存在的一类生物活性物质，主要分布于忍冬科、蔷薇科、菊科、茜草科和杜仲科等植物中，是杜仲、金银花等传统中药清热解毒、消炎抗菌的主要成分。研究表明，绿原酸具有抗菌、抗病毒、抗氧化、清除自由基、免疫调节、抗肿瘤、抗血脂等药理作用。因此，绿原酸在生化试剂、药物中间体及制剂领域中的应用越来越广泛，是目前国际公认的“植物黄金”。由于绿原酸往往与其异构体或类似物共同存在于自然界，相互间的理化性质差异较小，长期以来绿原酸的分离纯化难度大、成本高，因此高纯度绿原酸的制备及其分离纯化工艺研究是当今天然产物研究的热点之一。

[0005] 现有提取绿原酸的方法，如2012年3月28日公开的公开号为CN102391116A的“从金银花叶中提取绿原酸的方法”，公开的方法是：以金银花叶为原料，将金银花叶粉碎后，三次浸泡后得提取液，提取液中加入澄清剂，搅拌后静置10～14h，分离得含绿原酸的上层清液滤液，经大孔树脂吸附、0.5～1倍树脂体积量的纯化水洗脱后，再用pH值为2～3的3倍树脂体积量的食品级乙醇溶液（浓度为45～65％）洗脱得含绿原酸的洗脱液，于50℃浓缩、真空干燥后得绿原酸粉末，其绿原酸纯度达35～95％。该方法的主要缺点是：(1)该方法采用直接浸泡金银花叶、洗脱浸泡液后获得绿原酸，因绿原酸在25℃时水中溶解度约为4％，常温下金银花叶中绿原酸溶于浸泡液的量少，导致金银花叶中绿原酸资源浪费，直接影响产品的提取量，从而降低金银花叶中绿原酸资源开发的经济价值；(2)该方法先后经三次浸泡，纯化水、乙醇两次洗脱，生产步骤共7步，所得绿原酸提取纯度介于35～95％之间，生产过程繁琐增加生产工序和设备，从而增加生产成本，繁多的步骤导致绿原酸提取、纯化工艺的不稳定，影响绿原酸产品品质，直接影响绿原酸产品经济开发价值；(3)生产过程中，繁多的步骤中仅静置需10～14h，且采用的洗脱剂乙醇为食品级，进一步增加了生产能耗和成本。

[0006] 目前生产医药用或者生化级绿原酸的厂家非常少，高纯度绿原酸产量低、造价昂贵，远远不能满足国内外的市场需求。现有绿原酸提取方法主要有水提醇沉法、水提石灰乳

沉淀法、醇提铅盐沉淀法、超声波法、酶法、超临界法、超滤法等，但这些方法在经行提取分离时存在着操作复杂、提取得率低、提取物绿原酸含量较低、提取设备昂贵、产生有机溶剂污染、生产能力小等不利用于工业规模生产问题。我国绿原酸资源丰富，种植有多种富含绿原酸的植物，如金银花、杜仲、咖啡豆、烟草、茵陈、葵花籽、牛蒡叶和元宝枫叶等，开发绿原酸相关产品具有极高的经济价值和市场前景。美国专利US4872987、德国专利DE3603574和DE3239219、欧洲专利EP1405566、国际专利申请WO2006093114和WO2006080333、日本专利JP4145049、JP4145048、JP2005263632、JP2006174746、JP2007031392和JP2007322823等公开的制备高纯度绿原酸的技术方案均是在粗提的基础上，进一步采用现代分离手段，如大孔吸附树脂吸附分离、离子交换柱分离、聚酰胺或葡聚糖凝胶层析法等进行进一步绿原酸精制；中国专利CN1398845、CN1762972、CN1616403、CN1687008、CN1524843、CN1435406所公开的绿原酸精制方法均采用柱层析分离，所涉及的吸附填料包括大孔吸附树脂、离子交换树脂和聚酰胺，鉴于绿原酸所含酚羟基易氧化、烯酸酯键易水解且分子内酯基易迁移的特性，虽然层析法可制备较高纯度的绿原酸，但不能实现高效分离，绿原酸氧化和异构使得产率下降，且该方法成本较高，生产强度有限；中国专利CN1616402、CN1746149、CN1740137、CN1425643、CN1273964和CN1273964所公开的绿原酸精制方法均为溶剂萃取与柱层析联用，即先利用溶剂萃取得到粗品后利用柱层析精制，该方法能获得较高纯度的绿原酸，但溶剂萃取过程中所用萃取剂乙酸乙酯的水溶性大，在水中残留高，影响绿原酸产品纯度，增大水污染程度，且该方法步骤繁琐，溶剂回收耗能严重，生产成本高，不宜于工业放大。

[0007] 随着市场上对绿原酸需求不断增长，如何简便、快速地从原料中得到质量稳定、纯度高、收率高、安全可靠的绿原酸的工艺方法研究很有必要。

发明内容

[0008] 针对上述现有技术中的不足，本发明的目的在于：提供一种适用面较广的高纯度绿原酸的提取方法，以含有绿原酸的植物为原料，经原料预处理、酶处理、超声波处理、绿原酸产品制备步骤而得到提取率高、纯度高、成本低、时间短的产品。

[0009] 为实现上述发明目的，本申请提供了以下技术方案：

[0010] 一种高纯度绿原酸的提取方法，所述方法的具体步骤如下：

[0011] 步骤一原料准备及预处理

[0012] 将原料用清水洗净，放置于烘箱中，先在50～60℃的烘箱中烘干30min，再经粉碎机粉碎后、并过20目筛，未过筛的原料返回粉碎机中再粉碎，收集筛下原料，再在刚玉研钵进行研磨，研磨时间为30min，过200目筛，未过筛的原料返回研钵中继续进行研磨，筛下料即为预处理后的原料；

[0013] 步骤二酶处理

[0014] 步骤一完成后，按照预处理后原料的质量：酶的质量：水的体积之比为1g：0.04g：40ml的比例，所述的酶为纤维素酶、木质素酶和cex酶的复配酶，所述的复配酶为木质素酶：纤维素酶：cex酶的质量比为1：1：1，在步骤一预处理后的原料中，加入酶及水，放入密闭容器中，搅拌均匀后，再弱酸调节体系的pH值为6，然后将调节pH值后的混合液放置于摇床中，在水浴温度为30℃下进行酶解活化30min，用抽滤泵进行抽滤，分别收集滤液和滤渣，收集的滤渣为原料酶解活化基料；滤液处理回收利用；

[0015] 步骤三超声波处理

[0016] 步骤二完成后，先将收集的滤渣，即原料酶解活化基料转入到浸提容器中，再按照步骤一预处理后的原料质量：乙醇溶液的体积之比为 1g ：20ml 的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率 100W、超声波频率为 100KHz 温度为 30℃条件下超声波处理 15min，用抽滤机进行抽滤，分别收集滤液 a 和滤渣 b，将收集的滤渣 b 的质量：乙醇溶液的体积之比为 1g ：20ml 的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率 100W、超声波频率为 100KHz 温度为 30℃条件下超声波处理 15min，用抽滤机进行抽滤，收集滤液 c 和滤渣 d，对收集的滤渣 b 和滤渣 d 作为制备吸附材料的原料，将收集的滤液 a 和滤液 c 混合转入离心机中，在离心转速为 3000r/min 条件下，0.6MPa 进行离心分离 3min 后，分别收集离心清液和离心渣，离心清液即为含绿原酸的提取液，对收集的离心渣作为制备吸附材料的原料；离心清液经无机膜进行过滤，得到过滤清液 e；

[0017] 步骤四绿原酸产品制备

[0018] 步骤三完成后，先将步骤三收集的离心清液 e，即含绿原酸的提取液通过分光光度法测定绿原酸的浓度，检测波长为 327nm、乙醇溶液体积溶度为 50％的条件下，测定步骤三收集的离心清液中绿原酸的浓度，再将步骤三收集的离心清液放置于在旋转蒸发器中，在真空压强为 0.05Mpa、温度为 25℃下进行浓缩 30min，浓缩液中加入浓缩液重量 2％倍的壳聚糖，搅拌，絮凝，然后再在室温条件下，静置 20min，常规过滤沉淀，滤液用滤液质量 5％倍的活性炭脱色，得到脱色后的浓缩液；脱色后的浓缩液用大孔型大孔树脂柱进行饱和吸附，所述大孔型打孔树脂柱包括极性大孔树脂、中极性大孔树脂或弱极性大孔树脂，吸附后用体积百分含量为 50％的乙醇水洗脱，其中，吸附提取液的流速为 0.2BV/h，洗脱时的流速为 1BV/h，收集洗脱液浓缩、干燥后制得绿原酸的含量为 99％的高纯度绿原酸成品。

[0019] 所述无机膜的载体为氧化铝陶瓷或者蜂窝陶瓷，所述无机膜为氧化铝复合微滤膜。

[0020] 所述的原料为金银花、杜仲、可可树以或咖啡的一种。

[0021] 当原料为金银花时，绿原酸的提取率达到 97.5％。

[0022] 有益效果

[0023] 1、本发明选用纤维素酶、木质素酶和 cex 酶协同作为催化活化木质纤维素的活化剂，提高绿原酸的提取率。再经复配酶催化降解原料木质纤维素，能提高原料内部通透性，减少绿原酸溶出传质阻力，促使绿原酸浸取充分，因此，本发明方法所得绿原酸提取率高达 97.5％。

[0024] 2、本发明采用的原料经酶催化活化条件在 30℃最佳，酶解时间仅为 0.5 小时，时间短，操作简单，反应条件温和，避免高温、强光以及长时间加热等条件对绿原酸的影响，保障绿原酸提取能效与产品品质，又降低生产能耗；用酶制剂代替传统化学活化剂预处理原料提取绿原酸，且有机溶剂为乙醇，减少了生产过程中环境治理成本，提高生产安全性能，进一步降低生产成本。

[0025] 3、本发明方法的原料廉价易得，生产成本低，操作简单，方法绿色环保。本发明方法可广泛应用于金银花叶、杜仲、可可树或者咖啡为原料提制绿原酸。

[0026] 4、采用大孔树脂吸附与连续逆流萃取联用技术制备绿原酸可适用于多种植物水提取液，处理量大，操作连续简便。且整个操作过程条件温和，有效地降低了绿原酸的分解，

提高了所得绿原酸的纯度；

[0027] 5、使用无机膜，提高了绿原酸的提取率和纯度。

[0028] 6、本发明在经超声波的洗涤作用处理，绿原酸从纤维素结晶区中得到完全分离。用活性炭脱色，浓缩液用大孔型大孔树脂柱进行饱和吸附属于成熟的生物制药除杂技术，应用于本工艺中，能保证本发明产品的纯度。

[0029] 7、本发明的方法具有工艺先进、操作简便、过滤容易、成本低、无有害溶剂、纯度高、得率高，适用于工业化大批量生产等优点。

附图说明

[0030] 图1本发明以杜仲为原料提取绿原酸的HPLC图；

具体实施方式

[0031] 实施例1

[0032] 高纯度绿原酸的提取方法，所述方法的具体步骤如下：

[0033] 步骤一金银花准备及预处理

[0034] 将金银花用清水洗净，放置于烘箱中，先在50℃的烘箱中烘干30min，再经粉碎机粉碎后、并过20目筛，未过筛的金银花返回粉碎机中再粉碎，收集筛下金银花原料，再在刚玉研钵进行研磨，研磨时间为30min，过200目筛，未过筛的金银花原料返回研钵中继续进行研磨，筛下金银花料即为预处理后的金银花原料；

[0035] 步骤二酶处理

[0036] 步骤一完成后，按照预处理后金银花原料的质量：酶的质量：水的体积之比为1g：0.04g：40ml的比例，所述的酶为纤维素酶、木质素酶和cex酶的复配酶，所述的复配酶为木质素酶：纤维素酶：cex酶的质量比为1：1：1，在步骤一预处理后的原料中，加入酶及水，放入密闭容器中，搅拌均匀后，再弱酸调节体系的pH值为6，然后将调节pH值后的混合液放置于摇床中，在水浴温度为30℃下进行酶解活化30min，用抽滤泵进行抽滤，分别收集滤液和滤渣，收集的滤渣为原料酶解活化基料；滤液处理回收利用；

[0037] 步骤三超声波处理

[0038] 步骤二完成后，先将收集的滤渣，即原料酶解活化基料转入到浸提容器中，再按照步骤一预处理后的原料质量：乙醇溶液的体积之比为1g：20ml的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率100W、超声波频率为100KHz温度为30℃条件下超声波处理15min，用抽滤机进行抽滤，分别收集滤液a和滤渣b，将收集的滤渣b的质量：乙醇溶液的体积之比为1g：20ml的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率100W、超声波频率为100KHz温度为30℃条件下超声波处理15min，用抽滤机进行抽滤，收集滤液c和滤渣d，对收集的滤渣b和滤渣d作为制备吸附材料的原料，将收集的滤液a和滤液c混合转入离心机中，在离心转速为3000r/min条件下，0.6MPa进行离心分离3min后，分别收集离心清液和离心渣，离心清液即为含绿原酸的提取液，对收集的离心渣作为制备吸附材料的原料；离心清液经无机膜进行过滤，得到过滤清液e；

[0039] 步骤四绿原酸产品制备

[0040] 步骤三完成后，先将步骤三收集的离心清液e，即含绿原酸的提取液通过分光光度

法测定绿原酸的浓度，检测波长为327nm、乙醇溶液体积溶度为50％的条件下，测定步骤三收集的离心清液中绿原酸的浓度，再将步骤三收集的离心清液放置于在旋转蒸发器中，在真空压强为0.05Mpa、温度为25℃下进行浓缩30min，浓缩液中加入浓缩液重量2％倍的壳聚糖，搅拌，絮凝，然后再在室温条件下，静置20min，常规过滤沉淀，滤液用滤液质量5％倍的活性炭脱色，得到脱色后的浓缩液；脱色后的浓缩液用大孔型大孔树脂柱进行饱和吸附，所述大孔型打孔树脂柱包括极性大孔树脂、中极性大孔树脂或弱极性大孔树脂，吸附后用体积百分含量为50％的乙醇水洗脱，其中，吸附提取液的流速为0.2BV/h，洗脱时的流速为1BV/h，收集洗脱液浓缩、干燥后制得绿原酸的含量为99％的高纯度绿原酸成品。

[0041] 所述无机膜的载体为氧化铝陶瓷或者蜂窝陶瓷，所述无机膜为氧化铝复合微滤膜。

[0042] 绿原酸的提取率达到97.5％。

[0043] 表1以金银花为原料使用本发明方法制备产品与化学回流方法的比较

[0044]

方法	浓度（ug/ml）	提取率（%）	有机溶剂使用量（ml）	反应温度（℃）	浸提时间（min）
酶解工艺	13.876	97.50	40	30	30
化学浸提	11.332	79.16	60	65	80

[0045] 表2以金银花为原料复配酶不同酶解时间对绿原酸提取影响

[0046]

编号	时间（h）	绿原酸量（g）	吸光度	浓度（ug/mL）	提取率（%）	纯度（%）
1	0.5	1.5006	0.823	17.3558	97.50	99.00
2	2	1.5000	0.738	15.6660	87.60	83.27
3	4	1.5005	0.706	15.0298	83.91	79.76
4	6	1.5003	0.736	15.6262	87.27	82.95

[0047] 实施例2

[0048] 高纯度绿原酸的提取方法，所述方法的具体步骤如下：

[0049] 步骤一杜仲叶准备及预处理

[0050] 将杜仲叶用清水洗净，放置于烘箱中，先在60℃的烘箱中烘干30min，再经粉碎机粉碎后、并过20目筛，未过筛的杜仲叶返回粉碎机中再粉碎，收集筛下杜仲叶原料，再在刚玉研钵进行研磨，研磨时间为30min，过200目筛，未过筛的杜仲叶原料返回研钵中继续进行研磨，筛下杜仲叶料即为预处理后的杜仲叶原料；

[0051] 步骤二酶处理

[0052] 步骤一完成后，按照预处理后杜仲叶原料的质量：酶的质量：水的体积之比为1g：0.04g：40ml的比例，所述的酶为纤维素酶、木质素酶和cex酶的复配酶，所述的复配酶为木质素酶：纤维素酶：cex酶的质量比为1：1：1，在步骤一预处理后的原料中，加入酶及水，放入密闭容器中，搅拌均匀后，再弱酸调节体系的pH值为6，然后将调节pH值后的混合液放置于摇床中，在水浴温度为30℃下进行酶解活化30min，用抽滤泵进行抽滤，分别收集滤液和滤渣，收集的滤渣为原料酶解活化基料；滤液处理回收利用；

[0053] 步骤三超声波处理

[0054] 步骤二完成后，先将收集的滤渣，即原料酶解活化基料转入到浸提容器中，再按照

步骤一预处理后的原料质量：乙醇溶液的体积之比为 1g ： 20ml 的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率 100W、超声波频率为 100KHz 温度为 30℃条件下超声波处理 15min，用抽滤机进行抽滤，分别收集滤液 a 和滤渣 b，将收集的滤渣 b 的质量：乙醇溶液的体积之比为 1g ： 20ml 的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率 100W、超声波频率为 100KHz 温度为 30℃条件下超声波处理 15min，用抽滤机进行抽滤，收集滤液 c 和滤渣 d，对收集的滤渣 b 和滤渣 d 作为制备吸附材料的原料，将收集的滤液 a 和滤液 c 混合转入离心机中，在离心转速为 3000r/min 条件下，0.6MPa 进行离心分离 3min 后，分别收集离心清液和离心渣，离心清液即为含绿原酸的提取液，对收集的离心渣作为制备吸附材料的原料；离心清液经无机膜进行过滤，得到过滤清液 e；

[0055] 步骤四绿原酸产品制备

[0056] 步骤三完成后，先将步骤三收集的离心清液 e，即含绿原酸的提取液通过分光光度法测定绿原酸的浓度，检测波长为 327nm、乙醇溶液体积溶度为 50％的条件下，测定步骤三收集的离心清液中绿原酸的浓度，再将步骤三收集的离心清液放置于在旋转蒸发器中，在真空压强为 0.05Mpa、温度为 25℃下进行浓缩 30min，浓缩液中加入浓缩液重量 2％倍的壳聚糖，搅拌，絮凝，然后再在室温条件下，静置 20min，常规过滤沉淀，滤液用滤液质量 5％倍的活性炭脱色，得到脱色后的浓缩液；脱色后的浓缩液用大孔型大孔树脂柱进行饱和吸附，所述大孔型打孔树脂柱包括极性大孔树脂、中极性大孔树脂或弱极性大孔树脂，吸附后用体积百分含量为 50％的乙醇水洗脱，其中，吸附提取液的流速为 0.2BV/h，洗脱时的流速为 1BV/h，收集洗脱液浓缩、干燥后制得绿原酸的含量为 99％的高纯度绿原酸成品。

[0057] 所述无机膜的载体为氧化铝陶瓷或者蜂窝陶瓷，所述无机膜为氧化铝复合微滤膜。

[0058] 实施例 3

[0059] 高纯度绿原酸的提取方法，所述方法的具体步骤如下：

[0060] 步骤一葵花籽准备及预处理

[0061] 将葵花籽用清水洗净，放置于烘箱中，先在 55℃的烘箱中烘干 30min，再经粉碎机粉碎后、并过 20 目筛，未过筛的葵花籽叶返回粉碎机中再粉碎，收集筛下葵花籽原料，再在刚玉研钵进行研磨，研磨时间为 30min，过 200 目筛，未过筛的葵花籽原料返回研钵中继续进行研磨，筛下葵花籽料即为预处理后的葵花籽原料；

[0062] 步骤二酶处理

[0063] 步骤一完成后，按照预处理后葵花籽原料的质量：酶的质量：水的体积之比为 1g ： 0.04g ： 40ml 的比例，所述的酶为纤维素酶、木质素酶和 cex 酶的复配酶，所述的复配酶为木质素酶：纤维素酶： cex 酶的质量比为 1 ： 1 ： 1，在步骤一预处理后的原料中，加入酶及水，放入密闭容器中，搅拌均匀后，再弱酸调节体系的 pH 值为 6，然后将调节 pH 值后的混合液放置于摇床中，在水浴温度为 30℃下进行酶解活化 30min，用抽滤泵进行抽滤，分别收集滤液和滤渣，收集的滤渣为原料酶解活化基料；滤液处理回收利用；

[0064] 步骤三超声波处理

[0065] 步骤二完成后，先将收集的滤渣，即原料酶解活化基料转入到浸提容器中，再按照步骤一预处理后的原料质量：乙醇溶液的体积之比为 1g ： 20mi 的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率 100W、超声波频率为 100KHz 温度为 30℃条件

下超声波处理15min，用抽滤机进行抽滤，分别收集滤液a和滤渣b，将收集的滤渣b的质量：乙醇溶液的体积之比为1g ： 20ml的比例，在浸提容器中加入乙醇溶液，搅拌混合均匀，并在超声波功率100W、超声波频率为100KHz温度为30℃条件下超声波处理15min，用抽滤机进行抽滤，收集滤液c和滤渣d，对收集的滤渣b和滤渣d作为制备吸附材料的原料，将收集的滤液a和滤液c混合转入离心机中，在离心转速为3000r/min条件下，0.6MPa进行离心分离3min后，分别收集离心清液和离心渣，离心清液即为含绿原酸的提取液，对收集的离心渣作为制备吸附材料的原料；离心清液经无机膜进行过滤，得到过滤清液e；

[0066] 步骤四绿原酸产品制备

[0067] 步骤三完成后，先将步骤三收集的离心清液e，即含绿原酸的提取液通过分光光度法测定绿原酸的浓度，检测波长为327nm、乙醇溶液体积溶度为50％的条件下，测定步骤三收集的离心清液中绿原酸的浓度，再将步骤三收集的离心清液放置于在旋转蒸发器中，在真空压强为0.05Mpa、温度为25℃下进行浓缩30min，浓缩液中加入浓缩液重量2％倍的壳聚糖，搅拌，絮凝，然后再在室温条件下，静置20min，常规过滤沉淀，滤液用滤液质量5％倍的活性炭脱色，得到脱色后的浓缩液；脱色后的浓缩液用大孔型大孔树脂柱进行饱和吸附，所述大孔型打孔树脂柱包括极性大孔树脂、中极性大孔树脂或弱极性大孔树脂，吸附后用体积百分含量为50％的乙醇水洗脱，其中，吸附提取液的流速为0.2BV/h，洗脱时的流速为1BV/h，收集洗脱液浓缩、干燥后制得绿原酸的含量为99％的高纯度绿原酸成品。

[0068] 所述无机膜的载体为氧化铝陶瓷或者蜂窝陶瓷，所述无机膜为氧化铝复合微滤膜。

[0069] 最后应说明的是：显然，上述实施例仅仅是为清楚地说明本申请所作的举例，而并非对实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说，在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。而由此所引申出的显而易见的变化或变动仍处于本申请型的保护范围之中。

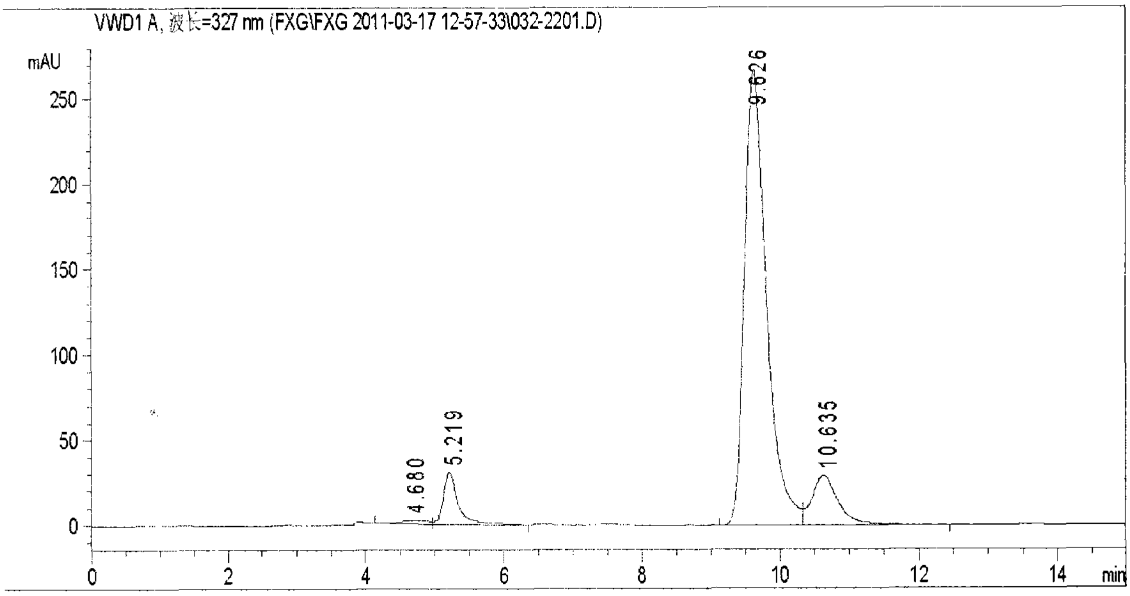

VWD1 A, 波长=327 nm (FXG\FXG 2011-03-17 12-57-33\032-2201.D)
mAU
250
200
150
100
50
0
9.626
10.635
5.219
4.680
0
2
4
6
8
10
12
14
min

图 1