



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102210786 A

(43) 申请公布日 2011. 10. 12

(21) 申请号 201110151448. X

(22) 申请日 2011. 06. 08

(71) 申请人 中国林业科学研究院林产化学工业研究所

地址 210042 江苏省南京市锁金五村 16 号

(72) 发明人 张亮亮 汪咏梅 吴冬梅 徐曼
陈笏鸿

(74) 专利代理机构 南京经纬专利商标代理有限公司 32200

代理人 冯慧

(51) Int. Cl.

A61K 36/82 (2006. 01)

A61P 39/06 (2006. 01)

A61K 131/00 (2006. 01)

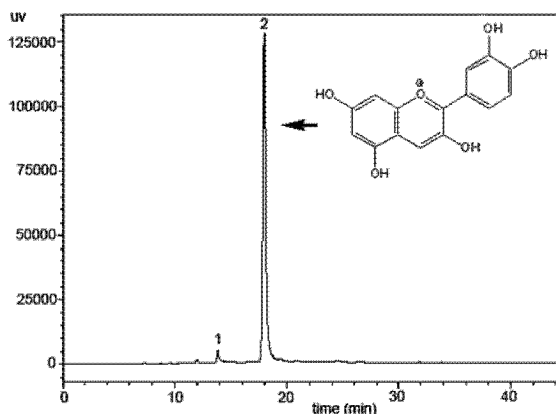
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,以粉碎后的油茶壳为原料,以水为溶剂,采用微波辅助提取法浸提得到提取液,提取液离心分离后得到的上清液使用非极性或低极性大孔吸附树脂分离,乙醇水溶液进行洗脱,洗脱液蒸馏出乙醇后得到主要成分为油茶壳原花色素的液体状天然抗氧化物质。经冷冻干燥后得粉状天然抗氧化物质。由本发明制得的目标产物具有更强的抗氧化生物活性功能。



1. 一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:以粉碎后的油茶壳为原料,以水为溶剂,采用微波辅助提取法浸提得到提取液,提取液离心分离后得到的上清液使用非极性或低极性大孔吸附树脂分离,乙醇水溶液进行洗脱,洗脱液蒸馏出乙醇后得到主要成分为油茶壳原花色素的液体状天然抗氧化物质。

2. 如权利要求1所述的从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:所述的油茶壳粉碎的粒度为2~4mm。

3. 如权利要求1所述的从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:所述的微波辐照温度为60~80℃,辐照时间为15~35min,油茶壳和水的质量体积比为1:15~25g/ml。

4. 如权利要求1所述的从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:所述的非极性或低极性大孔吸附树脂为AB-8、D101、D4006、H103。

5. 如权利要求1所述的从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:大孔吸附树脂控制上柱液及洗脱液流速为1.4~1.7Bv/h。

6. 如权利要求1所述的从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:所述的乙醇水溶液是乙醇和水的体积比为60%~70%的溶液。

7. 如权利要求1所述的从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:液体状天然抗氧化物质配制为水溶液后再经过真空冷冻干燥后得到粉状天然抗氧化物质。

8. 如权利要求7所述的从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,其特征在于:所述的真空度为 ≤ 0.01 MPa。

一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种从植物材料提取天然抗氧化活性物质的方法,尤其涉及一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法。

背景技术

[0002] 油茶树是我国特有的木本食用油料树种,也是与油棕、橄榄、椰子齐名的世界四大木本食用油源树种之一。中国有油茶林近 5000 万亩,年产油茶籽约 100 万吨,可生产营养价值丰富的食用茶油。油茶壳(也称油茶蒲,油茶果的果皮)约占整个油茶果重量的 60%,是油茶加工产业的剩余物,据测算,其每年生成量约有 160 万吨。油茶壳富含植物多酚,其主要成分为原花色素(procyanidins)类。原花色素具有很强的抗氧化生物活性,能清除人体内有害的自由基,提高人体的免疫力,可作为防癌、抗突变、防治心血管疾病药物的主要有效成分和用作安全无毒的新型天然抗氧化剂,已成为医药、保健品的重要原料及食品、化妆品的重要添加剂。

[0003] 国外对原花色素(主要是原花青素)生物活性的研究已有几十年历史,特别是自 80 年代以来,德国、法国等欧洲国家,及日本、印度、韩国等国家开展了大量的研究工作。我国从 80 年代起开始了原花色素的开发利用研究。

[0004] 1951 年法国 Jacques Masquelier 首次发现了原花青素的抗氧化性能,并成功地从海岸松树皮中提取出原花青素。1967 年美国 Joslyn 等从葡萄皮和葡萄籽中分离出原花色素多酚化合物。1976 年 Bombardelli 发明了从葡萄籽中提取高含量原花青素混合物的方法。1979 年 Jacques Masquelier 进一步研究从葡萄籽中提取原花青素并实现了产业化。

[0005] 国外关于提取原花色素的专利主要有:1969 年法国 Jacques Masquellier 从海岸松树皮以沸水提取,乙酸乙酯萃取粗提液,三氯甲烷沉淀产物。1989 年日本有贺敏明以 *Aesculus hippocastanum* 树皮为原料,用水提取,石油醚洗涤,树脂吸附产物。美国 Tochiaki Ariga 从松树皮以甲醇提取,石油醚洗涤,乙酸乙酯萃取,液相色谱柱分离得到产品。1996 年波兰 Oszmianski Jan,以丙酮为溶剂,采用超声波从葡萄籽中提取原花青素,乙酸乙酯萃取,三氯甲烷沉淀产物。1997 年美国 Henkel 公司从葡萄籽中提取原花青素,以沸水提取,乙酸乙酯萃取粗提物,三氯甲烷沉淀产品。

[0006] 油茶壳作为油茶加工的副产物,在实际生产中通常作为燃料使用或被废弃,造成了环境的污染和资源的浪费。近年来,一些研究表明油茶壳具有较强的抗氧化活性。林深生(1997)的研究表明,油茶壳的丙酮-水提取物具有很强的抗氧化性,其抗氧化成分主要为没食子酸和儿茶素类。陈跃(2008)建立了油茶壳中多酚的富集工艺,采用 60% 丙酮-水提取,乙酸乙酯萃取,D101 型大孔树脂吸附,30% 乙醇洗脱后,多酚的含量达到了 45%。沈建福(2008)对油茶壳中总黄酮类物质的乙醇提取工艺进行了研究,其研究表明在 30 倍于样重的 60% 的乙醇浸泡后,40℃ 下超声波辅助萃取 45 min,连续提取 2 次,黄酮的总浸出率可达 97.34%,油茶壳中的黄酮溶出量为 1.709%

本发明人的课题组近年来开展了从毛杨梅树皮、余甘子树皮等植物部位提取原花色素

抗氧化物质的方法研究,已取得相关的国家发明专利。但是尚未见从油茶壳中提取以原花色素为主的天然抗氧化物质的方法。

[0007]

发明内容

[0008] 为了解决现有技术存在的油茶壳的利用率低、原花色素可用提取原料种类有限的缺点,本发明提供了一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,可提高油茶壳的附加值,扩大原花色素的原料来源。

[0009] 本发明的技术方案为:一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法,以粉碎后的油茶壳为原料,以水为溶剂,采用微波辅助提取法浸提得到提取液,提取液离心分离后得到的上清液使用非极性或低极性大孔吸附树脂分离,乙醇水溶液进行洗脱,洗脱液蒸馏出乙醇后得到主要成分为油茶壳原花色素的液体状天然抗氧化物质。

[0010] 所述的油茶壳粉碎的粒度为 2 ~ 4 mm。

[0011] 所述的微波辐照温度为 60 ~ 80℃,辐照时间为 15 ~ 35min,油茶壳和水的质量体积比为 1 :15 ~ 25g/ml。

[0012] 所述的非极性或低极性大孔吸附树脂为 AB-8、D101、D4006、H103。

[0013] 大孔吸附树脂控制上柱液及洗脱液流速为 1.4 ~ 1.7 Bv/h。

[0014] 所述的乙醇水溶液是乙醇和水的体积比为 60% ~ 70% 的溶液。

[0015] 液体状天然抗氧化物质配制为水溶液后再经过真空冷冻干燥后得到粉状天然抗氧化物质。

[0016] 所述的真空度为 ≤ 0.01 MPa。

[0017] 有益效果:

1. 当前国内外与原花色素相关的研究主要集中在从葡萄籽、皮和松树皮原料中提取分离天然抗氧化活性物质,而本发明是从油茶壳中提取天然抗氧化活性物质。油茶在我国福建、广西、江西、湖南、浙江和安徽等地区有广阔的资源分布。我国每年产生的油茶壳资源量巨大,油茶壳中富含原花色素,因此本发明的目标产物原料来源丰富。目前油茶壳作为林产加工剩余物,通常被丢弃从而污染环境。本发明可进一步开发高附加值的新型天然抗氧化剂,实现森林资源的高效利用。

[0018] 2. 本发明以水为溶剂,采用微波辅助提取,经大孔树脂吸附分离制备油茶壳原花色素,操作简便,提取时间短,只需要 15 ~ 35 min,所得原花色素产品抗氧化能力强。

[0019]

附图说明

[0020] 图 1 是油茶壳原花色素酸降解产物的 HPLC 色谱图;

524 nm 波长下检测,1,翠雀素(delphinidin),2,花色素(cyanidin)。

[0021] 图 2 是油茶壳原花色素酸降解产物的正离子模式 ESI-MS 图谱。

[0022] A,翠雀素(delphinidin),B,花色素(cyanidin)。

[0023] 油茶果壳单宁组分经正丁醇-盐酸(95:5)体系降解后降解产物经 HPLC 分析,图谱显示降解产物中主要包括两个色谱吸收峰(见图 1)。降解产物经正离子模式 ESI 质谱分

析显示其分子离子峰 $[M]^+$ 分别是 m/z 303.1 $[C_{15}H_{11}O_7]^+$ 和 287.1 $[C_{15}H_{11}O_6]^+$ (见图 2), 由此可鉴定降解产物分别为翠雀素(delphinidin) 和花青素(cyanidin), 由此可得知油茶壳原花色素中存在原花青素和原翠雀素两种结构类型。

具体实施方式

[0024] 一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的具体方法如下:

- (1) 粉碎: 将净化后的油茶壳原料用植物粉碎机粉碎, 筛孔 $\Phi=2 \sim 4$ mm;
- (2) 提取: 以水为溶剂, 采用微波提取, 固液质量体积比为 1:15 ~ 25, 控制微波辐照温度 60 ~ 80°C, 照射时间 15 ~ 35 min, 得提取液;
- (3) 离心分离: 提取液经离心机在转速 5000 rpm 下离心 30 min, 分离出上清液, 沉淀物弃去;
- (4) 树脂吸附分离: 将上述上清液上预先经净化处理的非极性或低极性大孔吸附树脂, 上柱液流速为 1.4 ~ 1.7 Bv/h, 吸附后用纯净水洗柱, 再用体积比为 60 ~ 70% v/v 的乙醇水溶液以 1.4 ~ 1.7 Bv/h 的流速洗脱, 收集洗脱液;
- (5) 脱溶剂: 在常压 (1.01×10^5 Pa) 下从醇水洗脱液中蒸出乙醇得液体状天然抗氧化物质, 其主要成分为油茶壳原花色素。

[0025] (6) 真空冷冻干燥: 为了方便使用及运输, 可以通过真空干燥得到粉状物。将液体状天然抗氧化物质用纯净水稀释, 得产物水溶液; 产物水溶液经冷冻后在 ≤ 0.01 Mpa 的真空低压下进行脱水干燥, 既得粉状天然抗氧化活性物质。

[0026] 实施例 1:

一种从油茶壳中提取天然抗氧化物质的方法:

- (1) 粉碎: 将净化后的油茶壳原料用植物粉碎机粉碎 (筛孔 $\Phi=2 \sim 4$ mm)。
- [0027] (2) 提取: 以水为溶剂, 采用微波提取, 固液质量体积比为 1:15 ~ 25, 控制微波辐照温度 60 ~ 80°C, 照射时间 15 ~ 35 min, 得提取液; 其中温度可以是: 60°C、65°C、70°C、75°C、80°C。
- [0028] (3) 离心分离: 提取液经离心机在转速 5000 rpm 下离心 30 min, 分离出上清液, 沉淀物弃去。
- [0029] (4) 树脂吸附分离: 将上述上清液上预先经净化处理的非极性或低极性大孔吸附树脂, 上柱液流速为 1.4 ~ 1.7 Bv/h, 吸附后用纯净水洗柱, 再用体积比为 60 ~ 70% v/v 的乙醇水溶液以 1.4 ~ 1.7 Bv/h 的流速洗脱, 收集洗脱液。
- [0030] (5) 脱溶剂: 在常压 (1.01×10^5 Pa) 下从醇水洗脱液中蒸出乙醇, 得到主要成分为油茶壳原花色素的液体状天然抗氧化物质。
- [0031] (6) 真空冷冻干燥: 用纯净水稀释, 得产物水溶液。产物水溶液经冷冻后在 0 ~ 0.01 Mpa 的真空低压下进行脱水干燥, 既得粉状天然抗氧化活性物质。

[0032] 实施例 2:

(1) 将经净化、风干和粉碎 (用植物粉碎机, 通过 $\Phi 2$ mm 筛板) 的油茶壳原料 50 g 和纯净水 750 mL, 置于 1000 mL 三口烧瓶中, 进行微波提取, 控制微波辐照温度 80°C, 照射时间 35 min, 得提取液 620 mL。

[0033] (2) 将提取液冷却后经离心机离心分离, 设置离心机转速 5000 rpm, 离心 30 min,

分离出上清液 550 mL。

[0034] (3) 将上述上清液以 1.4 Bv/h 的流速加至已经过预处理的 AB-8 型大孔树脂 (Bv=265 cm³), 而后用 2.4 Bv/h 的纯净水洗柱, 再用 70% 的乙醇-水溶液 600 mL 以 1.7 Bv/h 的流速洗脱, 合并洗脱液。

[0035] (4) 在常压下 (1.01×10^5 Pa) 蒸出乙醇-水洗脱液中的乙醇(回用), 得到主要成分为油茶壳原花色素的液体状天然抗氧化物质。

[0036] (5) 用纯净水稀释, 得产物水溶液。将产物水溶液在低温下真空冷冻干燥, 获得天然抗氧化活性物质粉状产品 2.50 g, 得率 5.47% (果壳原料按绝干计)。

[0037] 实施例 3:

(1) 将经净化、风干和粉碎(用植物粉碎机, 通过 $\Phi 2$ mm 筛板)的油茶壳原料 30 g 和纯净水 750 mL, 置于 1000 mL 三口烧瓶中, 进行微波提取, 控制微波辐照温度 60℃, 照射时间 35 min, 得提取液 650 mL。

[0038] (2) 将提取液冷却后经离心机离心分离, 设置离心机转速 5000 rpm, 离心 30 min, 分离出上清液 580 mL。

[0039] (3) 将上述上清液以 1.5 Bv/h 的流速加至已经过预处理的 AB-8 型大孔树脂 (Bv=265 cm³), 而后用 2.4 Bv/h 的纯净水洗柱, 再用 70% 的乙醇水溶液 500 mL 以 1.5 Bv/h 的流速洗脱, 合并洗脱液。

[0040] (4) 在常压下 (1.01×10^5 Pa) 蒸出乙醇水洗脱液中的乙醇(回用), 得到主要成分为油茶壳原花色素的液体状天然抗氧化物质。

[0041] (5) 用纯净水稀释, 得产物水溶液。将产物水溶液在低温下真空冷冻干燥, 获得天然抗氧化活性物质粉状产品 1.60 g, 得率 5.83% (果壳原料按绝干计)。

[0042]

将以上实施例制得的产物进行混合后作为目标产物, 测定抗氧化能力。

[0043] 附 1: 本发明中目标产物对自由基的清除能力测定

以二苯基-苦基-肼基自由基 (DPPH, 美国 Sigman 公司) 为标准物, 用分光光度法测定本发明目标产物对 DPPH 自由基的清除率。

[0044] 吸取 DPPH 的甲醇溶液 (浓度为 0.025 mg/mL) 5 mL, 与目标产物试样的甲醇溶液 (浓度为 0.1 mg/mL) 1 mL 混合。在 $\lambda = 517$ nm 处 (以甲醇为参比) 跟踪测定吸光值。吸光度持续下降, 直至保持恒定不变为止, 计时并进行计算。

[0045] 测定结果:

吸光度下降至恒定值的时间: 12 min

DPPH 清除率: 84.97%

DPPH 清除速率: 97 mg/g · min

结果数据表明, 目标产物具有对自由基 (DPPH) 的清除能力。

[0046] 附 2: 本发明中目标产物总抗氧化能力测定

以抗坏血酸 (美国 Sigman 公司) 为对照物, 用铁离子还原 / 抗氧化力 (FRAP) 测定法测定本发明目标产物的总抗氧化能力。

[0047] 取 0.1 mL 目标产物试样甲醇溶液 (浓度为 0.1 mg/mL), 与 3.0 mL TPTZ 工作液 (由 0.3 mol/L 醋酸盐缓冲液 25 mL, 10 mmol/L TPTZ 溶液 2.5 mL, 20 mmol/L FeCl₃ 溶液 2.5

mL 组成)于 25℃恒温水浴中反应 5 min,593 nm 处测得吸光度值,以去离子水为参比样。实验结果以达到相同抗氧化能力的抗坏血酸的量(mmol AAE/g)来表示。

[0048] 测定结果:

总抗氧化能力:6.46 mmol AAE/g

结果数据表明,目标产物具有较强的抗氧化能力。

[0049] 由上可见:本发明中目标产物具有抗氧化活性;清除自由基能力和铁离子还原/抗氧化力。

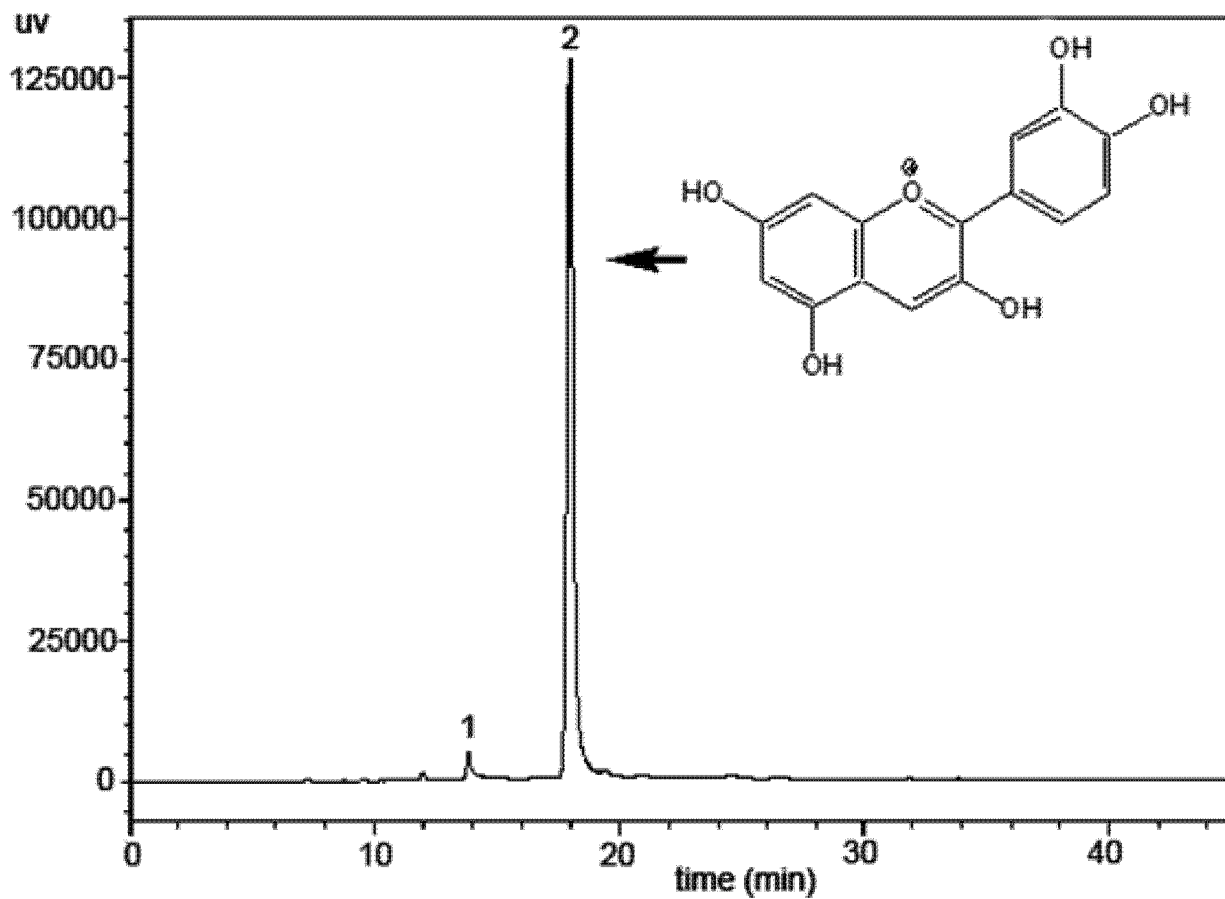


图 1

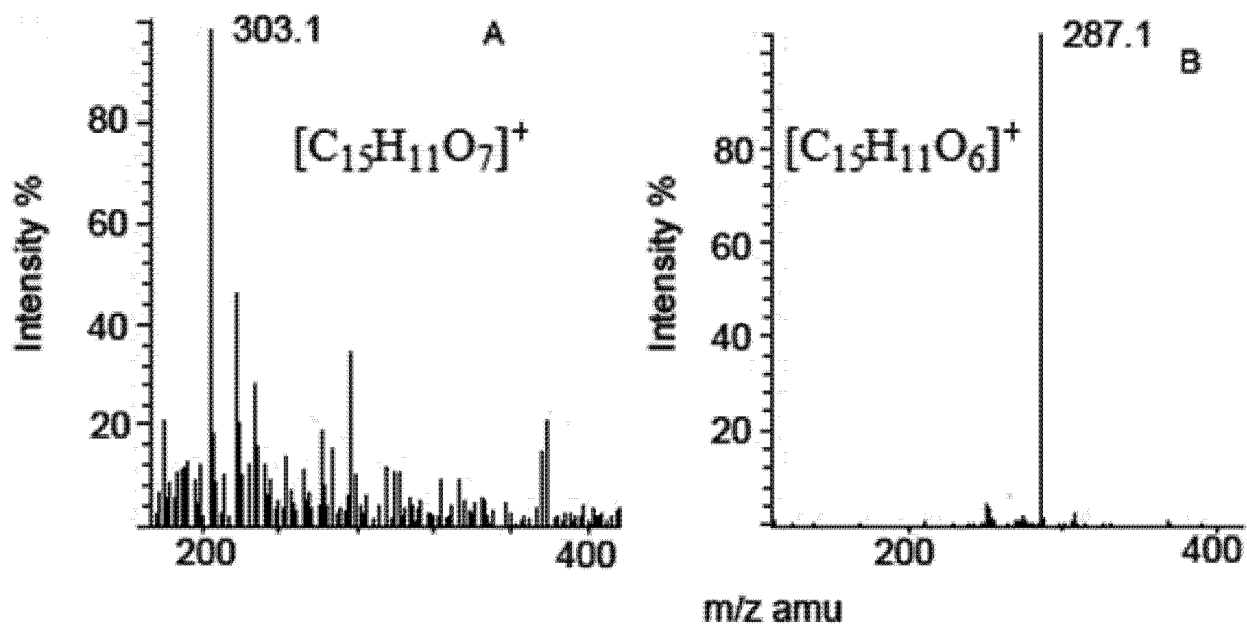


图 2