



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104262221 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 07

(21) 申请号 201410492090. 0

(22) 申请日 2014. 09. 23

(71) 申请人 中国海洋大学

地址 266003 山东省青岛市市南区鱼山路 5 号

(72) 发明人 薛长湖 周庆新 徐杰 李学敏
杨澍 薛勇 李兆杰

(74) 专利代理机构 北京科亿知识产权代理事务
所(普通合伙) 11350

代理人 汤东风

(51) Int. Cl.

C07C 403/24(2006. 01)

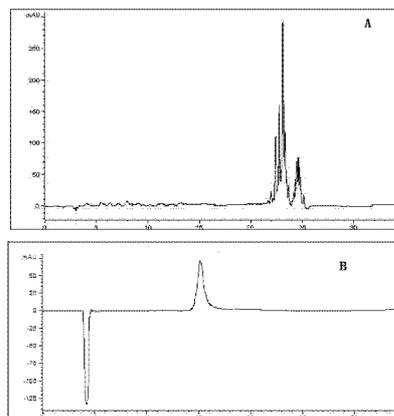
权利要求书1页 说明书5页 附图4页

(54) 发明名称

一种天然来源虾红素的制备方法

(57) 摘要

本发明的目的是提供一种天然来源虾红素的制备方法,以天然原料为起始,经有机溶剂浸提,多价金属盐反应,脱盐,浓缩,结晶,从而得到高纯度的天然来源虾红素产品。本发明针对现有虾红素合成路线复杂,不易控制,生产纯化难度较大,以及合成虾红素的安全性等问题。同传统方法相比较,具有以下优点:在纯化富集的同时,完成了虾青素/虾青素酯向虾红素的转化过程,该工艺有效提高了产品质量,降低了生产能耗,进而推动虾红素的产业进程。



1. 一种天然来源虾红素的制备方法,其特征在于,所述的方法包括有如下的步骤:
 - 1) 首先将原料用有机溶剂浸提,浸提结束后得到浸提液;
 - 2) 向步骤 1) 得到的浸提液中添加多价金属盐进行反应,反应结束后收集沉淀物;
 - 3) 将步骤 2) 得到的沉淀用有机溶剂悬浮得到沉淀悬浊液;
 - 4) 向步骤 3) 得到的沉淀悬浊液中加入 0.5 倍~10 倍体积的分层溶液使体系分层,然后收集有机相;
 - 5) 浓缩:将步骤 4) 得到的含虾红素的有机相进行减压浓缩制得浓缩液;
 - 6) 结晶、干燥:向步骤 5) 浓缩液中加入 1~5 倍体积的饱和低级脂肪醇溶液,混合均匀,然后于 0℃~15℃ 条件下,静置 0.5h~12h 结晶,收集结晶析出物,干燥,即得虾红素产品。
2. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述的步骤 1) 中浸提所用的机溶剂包括乙酸乙酯、正己烷、丙酮、甲醇、乙醇、氯仿、二氯甲烷中的一种或几种。
3. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述的步骤 1) 中浸提所用的机溶剂为乙酸乙酯和二氯甲烷混合溶液,且乙酸乙酯和二氯甲烷的体积比为 2:1。
4. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述的步骤 2) 中多价金属盐的添加浓度为 0.003%~1%。
5. 如权利要求 4 所述的方法,其特征在于所述的多价金属盐包括二价铁盐、三价铁盐、铝盐、铜盐中的一种或几种。
6. 如权利要求 4 所述的方法,其特征在于所述多价金属盐为三氯化铝。
7. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述的步骤 3) 中所用的有机溶剂为乙酸乙酯、正己烷、氯仿、二氯甲烷中的一种或几种的混合物。
8. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述步骤 4) 中的分层溶液为质量体积百分比浓度为 0.05%~10% 的磷酸盐水溶液。
9. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述的步骤 6) 中的饱和低级脂肪醇溶液为甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、戊醇、己醇中的一种或几种。
10. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述步骤 6) 中干燥方式为室温干燥,加热干燥,减压干燥或冷冻干燥。

一种天然来源虾红素的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于化合物分离制备技术领域,具体涉及一种天然来源虾红素的制备方法。

背景技术

[0002] 虾红素 (Astacene, 3, 3'-dihydroxy-2, 3, 2', 3'-tetrahydro-b, b'-carotene-b, b-dione) 也被称为喇蛄素,是一种非维生素 A 源叶黄素,属于类胡萝卜素,其结构式如图 1 所示。天然来源的虾红素对动物和人体安全,无毒副作用,并具有一定的生理活性,可作为着色剂,广泛用于食品、药品、化妆品等领域。在日本,天然虾红素和虾青素已被用于食品和动物饲料中,美国 FDA、欧盟、加拿大食品监察局等也已批准天然虾红素可作为水产动物饲料添加剂。我国有关虾红素的研究应用起步较晚,现在大多还在生产提取研究阶段,药理试验研究和市场应用较少,研究应用市场前景广阔。

[0003] 目前有关虾红素的制备方法主要有以下几条工艺路线:

[0004] 1)Widmer 等提出的 $C_{15}+C_{10}+C_{15}$ 经由 Wittig 反应合成虾红素的路线,该路线反应过程如图 2 所示;该过程共经过七步反应,总得率为 55%左右。

[0005] 2)Choi 等提出可通过预先制得的 C_{40} 三砷氧化物中间体经多步反应得到虾红素 [Journal of Organic Chemistry, 70(8), 3328-3331, 2005]。其具体反应过程如图 3 所示;该路线共经六步反应,单步反应得率均大于 70%,但总得率只有 30%左右。

[0006] 但上述工艺路线各有其适用性,但也有其不足之处,普遍存在的问题是:(1) 合成方法涉及的反应步骤数多,过程复杂,对反应条件要求严格,不易操作;(2) 生产成本较高;(3) 易造成污染;(4) 过程副产物较多,虾红素产品纯度低。因此,有必要开发一种新型高效、绿色、环保的虾红素制备工艺。

发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种天然来源虾红素的制备方法,以天然原料为起始,经有机溶剂浸提,多价金属盐反应,脱盐,浓缩,结晶,从而得到高纯度的天然来源虾红素产品,从而弥补现有技术的不足。

[0008] 本发明的方法,包括有如下的步骤:

[0009] 1) 首先将原料用有机溶剂浸提,浸提结束后得到浸提液;

[0010] 2) 向步骤 1) 得到的浸提液中添加多价金属盐进行反应,

[0011] 多价金属盐的添加浓度 (g/ml) 为 0.003%~1%,反应结束后收集沉淀物;

[0012] 3) 将步骤 2) 得到的沉淀用有机溶剂悬浮得到沉淀悬浊液;

[0013] 4) 向步骤 3) 得到的沉淀悬浊液中加入 0.5 倍~10 倍体积的分层溶液使体系分层,然后收集有机相;

[0014] 5) 浓缩:将步骤 4) 得到的含虾红素的有机相进行减压浓缩制得浓缩液,

[0015] 6) 结晶、干燥:向步骤 5) 浓缩液中加入 1~5 倍体积的饱和低级脂肪醇溶液,混

合均匀,然后于 0℃~15℃条件下,静置 0.5h~12h 结晶,收集结晶析出物,干燥,即得虾红素产品。

[0016] 其中所述步骤 1) 的原料可以是包含有虾红素的水产动物,例如南极磷虾、蟹类、对虾类;或是含有含有虾红素的红法夫酵母和雨生红球藻;

[0017] 所述步骤 1) 浸提所用的机溶剂包括乙酸乙酯、正己烷、丙酮、甲醇、乙醇、氯仿、二氯甲烷中的一种或几种的混合物;优选为乙酸乙酯、氯仿和二氯甲烷中的一种或几种的混合物,更优选为乙酸乙酯和二氯甲烷混合溶液,且乙酸乙酯和二氯甲烷的体积比为 2:1。

[0018] 所述步骤 2) 的多价金属盐包括二价铁盐、三价铁盐、铝盐、铜盐中的一种或几种;

[0019] 所述步骤 2) 中的多价金属盐优选为铝盐,更优选为三氯化铝;

[0020] 所述步骤 3) 中所用的有机溶剂为乙酸乙酯、正己烷、氯仿、二氯甲烷中的一种或几种的混合物;

[0021] 所述步骤 4) 中的分层溶液为质量体积百分比浓度为 0.05%~10% 的磷酸盐水溶液;

[0022] 所述步骤 5) 中浓缩优选为减压浓缩,浓缩温度优选为 25℃~55℃,浓缩后溶液的体为浓缩前体积的 1/10 以下,溶剂残留越低越有利于后续的结晶工艺;

[0023] 所述步骤 6) 中的饱和低级脂肪醇溶液可为甲醇、乙醇、丙醇、丁醇、戊醇、己醇中的一种或几种的混合物;

[0024] 所述步骤 6) 中的饱和低级脂肪醇溶液可为饱和低级脂肪醇的水溶液,其中水的体积分数为 0.5~20%;

[0025] 所述步骤 6) 中干燥方式为室温干燥,加热干燥,减压干燥或冷冻干燥,其中优选减压干燥和冷冻干燥。

[0026] 本发明方法制备的虾红素可作为水产、畜禽等饲料添加剂;可以作为食品着色剂用于粮食、肉制品、水产品等行业加工的着色;可以用于医药品和化妆品等行业的加工着色;可作为功能性成分用于保健食品的开发。

[0027] 本发明针对现有虾红素合成路线复杂,不易控制,生产纯化难度较大,以及合成虾红素的安全性等问题。同传统方法相比较,具有以下优点:在纯化富集的同时,完成了虾青素/虾青素酯向虾红素的转化过程,该工艺有效提高了产品质量,降低了生产能耗,进而推动虾红素的产业进程。

附图说明

[0028] 图 1:虾红素的结构图;

[0029] 图 2:Widmer 所提出的虾红素制备路线图;

[0030] 图 3:Choi 等提出的制备虾红素的路线图;

[0031] 图 4:本发明实施例 1 反应前后物质的紫外-可见光谱图;

[0032] 图 5:本发明实施例 1 反应前后物质的 HPLC-DAD 色谱图;其中 A 为反应前物质的色谱图;B 为反应后物质的色谱图;

[0033] 图 6:本发明实施例 1 反应产物虾红素的 HPLC-MS 质谱图。

具体实施方式

[0034] 首先对本发明所使用的检测方法进行描述：

[0035] (1) 紫外 - 可见吸收光谱特性分析

[0036] 取反应原料和反应产物用二甲基亚砷浸提溶解, 然后过滤, 将滤液稀释至最大吸收峰在 0.3 ~ 0.8 区间, 用紫外可见分光光度计进行光谱扫描, 记录溶液最大吸收波长 λ_{\max} , 比较两者 λ_{\max} 差异。

[0037] (2) HPLC 分析

[0038] 色谱条件: 色谱柱为 YMC Carotenoid-C30 (4.6mm × 250mm, S-5 μ m); 流动相 A 为乙腈, 流动相 B 为甲基叔丁基醚, 流动相 C 为 1% 磷酸水溶液。洗脱梯度为: 0 ~ 15min, 88% A, 10% B, 2% C; 15 ~ 25min, 0% A, 100% B, 0% C; 25 ~ 35min, 88% A, 10% B, 2% C。洗脱时间 30min; 流速 1mL/min; 进样体积 20 μ L; 柱温 35°C; 检测波长 476nm。

[0039] (3) LC-MS 分析

[0040] 将虾红素粉末样品用丙酮溶解后进行液相色谱质谱联用 (LC-MS) 分析。色谱条件: 色谱柱为 YMC Carotenoid-C30 (4.6mm × 250mm, S-5 μ m); 流动相 A 为乙腈, 流动相 B 甲基叔丁基醚, 流动相 C 为超纯水; 洗脱梯度为: 88% A, 10% B, 2% C; 洗脱时间 30min; 流速 1mL/min; 进样体积 20 μ L; 柱温 35°C; 检测波长 476nm。质谱条件: APCI 源, 正离子模式; 雾化气 40psi; 干燥气 5L/min, 干燥气温度 350°C; 毛细管电压 4500V, 裂解电压 60V; 扫描范围 m/z 100 ~ 1000。

[0041] 下面结合实施例对本发明的方法进行详细的描述。

[0042] 实施例 1

[0043] 1) 称取 1kg 雨生红球藻粉, 按照料液比 (原料干质量 / 提取体系总体积) 5L 加入乙酸乙酯浸提, 室温下浸提 2h, 浸提结束后经过滤得到虾青素和虾青素酯的浸提液,

[0044] 2) 向浸提液中添加 25g 的三氯化铝, 室温下反应时间 1h, 反应结束后, 过滤, 收集沉淀物, 并回收有机溶剂, 沉淀物湿重约为 100g;

[0045] 3) 向沉淀中加入 500ml 正己烷, 得到沉淀悬浊液,

[0046] 4) 向其中加入 1L 质量体积分数为 0.1% 的磷酸钠溶液, 使体系分层, 利用分液漏斗收集含虾红素的有机相,

[0047] 5) 有机相约 500ml, 将收集的有机相进行减压浓缩, 浓缩至无溶剂流出, 得到浓缩物约为 40ml, 然后向浓缩液中加入 100ml 无水乙醇混合均匀,

[0048] 6) 于 4°C 下静置 2h 结晶, 过滤收集析出物, 冷冻干燥, 得到约 18g 虾红素产品。

[0049] 利用紫外 - 可见分光光度、HPLC 和 LC-MS 对本实施例反应前后物质进行分析表征, 分析结果如下:

[0050] 紫外 - 可见吸收光谱特性分析结果显示, 原料的最大吸收波长为 480nm, 反应后产物的最大吸收波长为 495nm, 吸收波长发生红移, 根据虾青素和虾红素的光谱学特性可推断出, 原料经反应后转化成虾红素。从 HPLC-DAD 色谱图可以看出, 反应前物质的保留时间主要集中在 20min ~ 25min 之间, 而反应后产物的出峰时间为 14min ~ 16min, 且为单一峰, 说明反应过程产物转化完全。利用 LC-MS 法对反应产物进行结构分析, 从二级质谱图可以看出, m/z 593.4 为虾红素的分子离子峰, 分析几个特征峰, 符合虾红素的结构, 因此推断粉末成分为虾红素。然后通过积分面积计算得到该虾红素产品的纯度约为 96%。

[0051] 实施例 2

[0052] 称取 100g 红法夫酵母粉,加入 900ml 乙酸乙酯浸提,0℃下浸提 4h,浸提结束后经过滤得到虾青素和虾青素酯的浸提液,向浸提液中添加 2.7g 三氯化铁,室温下反应时间 4h,反应结束后,过滤收集沉淀物,并回收有机溶剂,得到湿沉淀物约为 1g;向沉淀中加入 10ml 氯仿,得到沉淀悬浊液,向其中加入 50ml 质量体积分数为 0.9%的磷酸钾溶液,使体系分层,利用分液漏斗收集含虾红素的有机相,约 10ml,将收集的有机相进行减压浓缩,浓缩至无溶剂流出,得到浓缩物约为 0.8ml,然后向浓缩液中加入 3ml 体积分数为 95%的乙醇溶液,混合均匀,于 4℃下静置 1h 结晶,离心收集析出物,减压干燥,得到约 0.15g 虾红素产品。。

[0053] 实施例 3

[0054] 称取 100kg 南极磷虾粉,加入 600L 二氯甲烷,于 40℃下浸提 0.5h,浸提结束后经过滤得到虾青素和虾青素酯的浸提液,向浸提液中,添加 4.8kg 的硫酸铁,室温下反应时间 6h,反应结束后,收集沉淀物,并回收有机溶剂,得到是沉淀物约为 10kg;向沉淀中加入 80L 乙酸乙酯,得到沉淀悬浊液,向其中加入 240L 质量体积分数为 5%的磷酸钠溶液,使体系静置分层,收集含虾红素的有机相,约 80L,将收集的有机相进行减压浓缩,浓缩至溶液体积为 6L,然后向浓缩液中加入 20L 甲醇溶液,混合均匀,于 10℃下静置 5h 结晶,过滤收集析出物,冷冻干燥,得到约 10g 虾红素产品。

[0055] 实施例 4

[0056] 1) 称取 1kg 雨生红球藻粉,按照料液比(原料干质量/提取体系总体积)5L 加入二氯甲烷浸提,室温下浸提 2h,浸提结束后经过滤得到虾青素和虾青素酯的浸提液,

[0057] 2) 向浸提液中添加 25g 的三氯化铝,室温下反应时间 1h,反应结束后,过滤,收集沉淀物,并回收有机溶剂,沉淀物湿重约为 106g;

[0058] 3) 向沉淀中加入 500ml 正己烷,得到沉淀悬浊液,

[0059] 4) 向其中加入 1L 质量体积分数为 0.1%的磷酸钠溶液,使体系分层,利用分液漏斗收集含虾红素的有机相,

[0060] 5) 有机相约 500ml,将收集的有机相进行减压浓缩,浓缩至无溶剂流出,得到浓缩物约为 40ml,然后向浓缩液中加入 100ml 无水乙醇混合均匀,

[0061] 6) 于 4℃下静置 2h 结晶,过滤收集析出物,冷冻干燥,得到约 19g 虾红素产品。

[0062] 实施例 5

[0063] 1) 称取 1kg 雨生红球藻粉,按照料液比(原料干质量/提取体系总体积)5L 加入乙酸乙酯/二氯甲烷(2:1)混合液进行浸提,室温下浸提 2h,浸提结束后经过滤得到虾青素和虾青素酯的浸提液,

[0064] 2) 向浸提液中添加 25g 的三氯化铁,室温下反应时间 1h,反应结束后,过滤,收集沉淀物,并回收有机溶剂,沉淀物湿重约为 83g;

[0065] 3) 向沉淀中加入 500ml 正己烷,得到沉淀悬浊液,

[0066] 4) 向其中加入 1L 质量体积分数为 0.1%的磷酸钠溶液,使体系分层,利用分液漏斗收集含虾红素的有机相,

[0067] 5) 有机相约 500ml,将收集的有机相进行减压浓缩,浓缩至无溶剂流出,得到浓缩物约为 40ml,然后向浓缩液中加入 100ml 无水乙醇混合均匀,

[0068] 6) 于 4℃下静置 2h 结晶,过滤收集析出物,冷冻干燥,得到约 14g 虾红素产品。

[0069] 实施例 6

[0070] 1) 称取 1kg 雨生红球藻粉,按照料液比(原料干质量/提取体系总体积)5L 加入乙酸乙酯/二氯甲烷(2:1)混合液进行浸提,室温下浸提 2h,浸提结束后经过滤得到虾青素和虾青素酯的浸提液,

[0071] 2) 向浸提液中添加 25g 的三氯化铝,室温下反应时间 1h,反应结束后,过滤,收集沉淀物,并回收有机溶剂,沉淀物湿重约为 115g;

[0072] 3) 向沉淀中加入 500ml 正己烷,得到沉淀悬浊液,

[0073] 4) 向其中加入 1L 质量体积分数为 0.1%的磷酸钠溶液,使体系分层,利用分液漏斗收集含虾红素的有机相,

[0074] 5) 有机相约 500ml,将收集的有机相进行减压浓缩,浓缩至无溶剂流出,得到浓缩物约为 40ml,然后向浓缩液中加入 100ml 无水乙醇混合均匀,

[0075] 6) 于 4℃下静置 2h 结晶,过滤收集析出物,冷冻干燥,得到约 20g 虾红素产品。

[0076] 通过对比试验,比较实施例 1、实施例 4、实施例 5 和实施例 6 结果发现,选用乙酸乙酯/二氯甲烷(2:1)混合液作为提取溶剂,其浸提得率比单独乙酸乙酯或二氯甲烷高,并且使用三氯化铝作为多价金属盐进行反应,其在得率和纯度方面均优于三氯化铁。

[0077] 具体比较结果如下表所示:

[0078]

指标	实施例 1	实施例 4	实施例 5	实施例 6
虾红素产品得率(%)	1.8	1.9	1.4	2.0
纯度(%)	96.3	96.6	94.7	96.4

[0079]

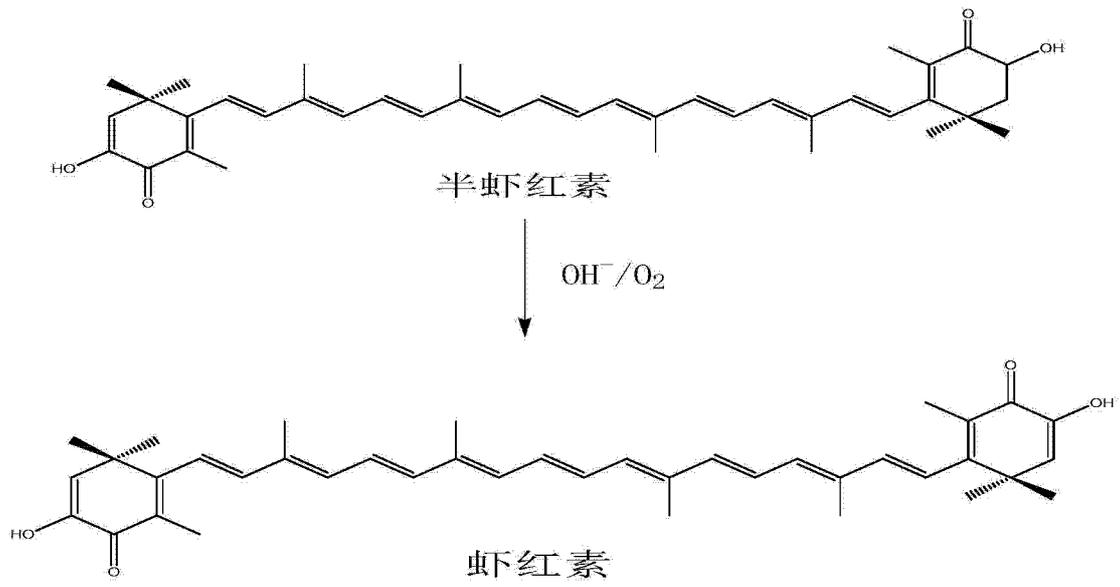


图 1

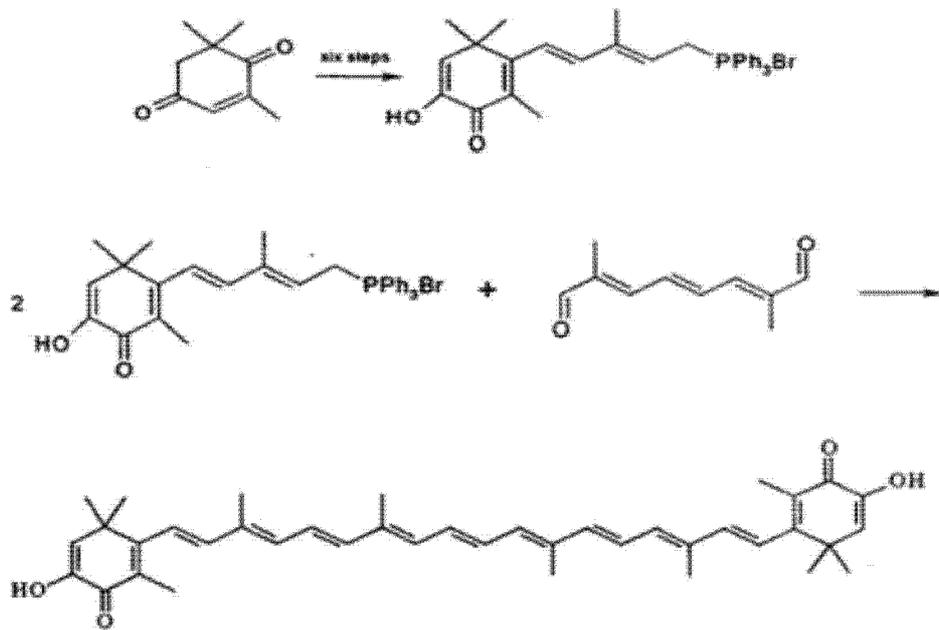


图 2

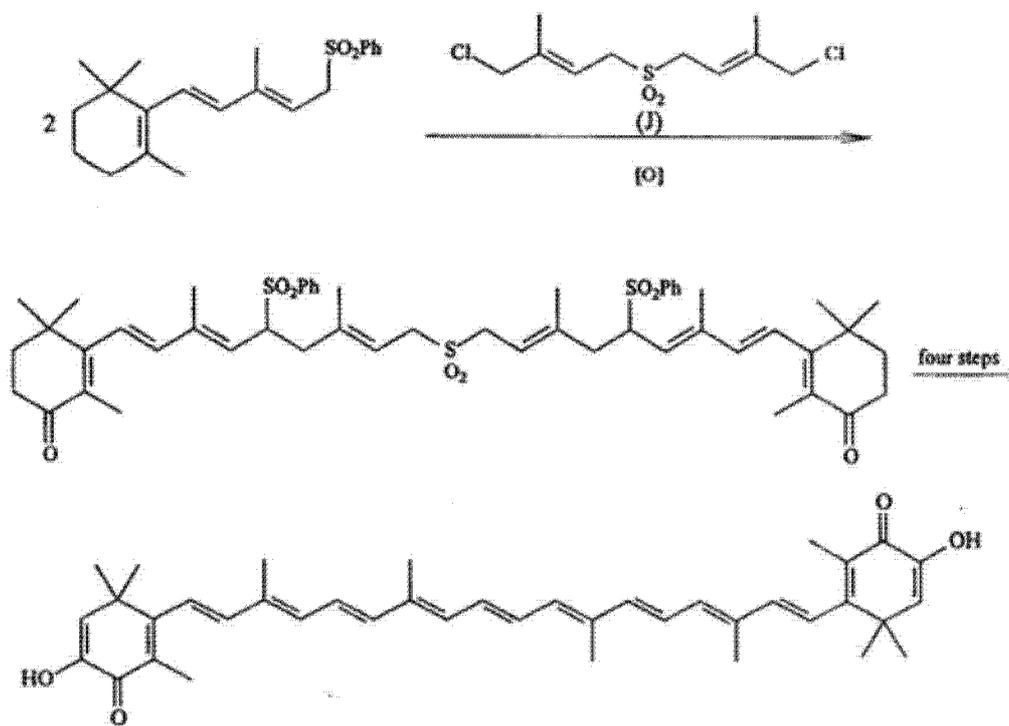


图 3

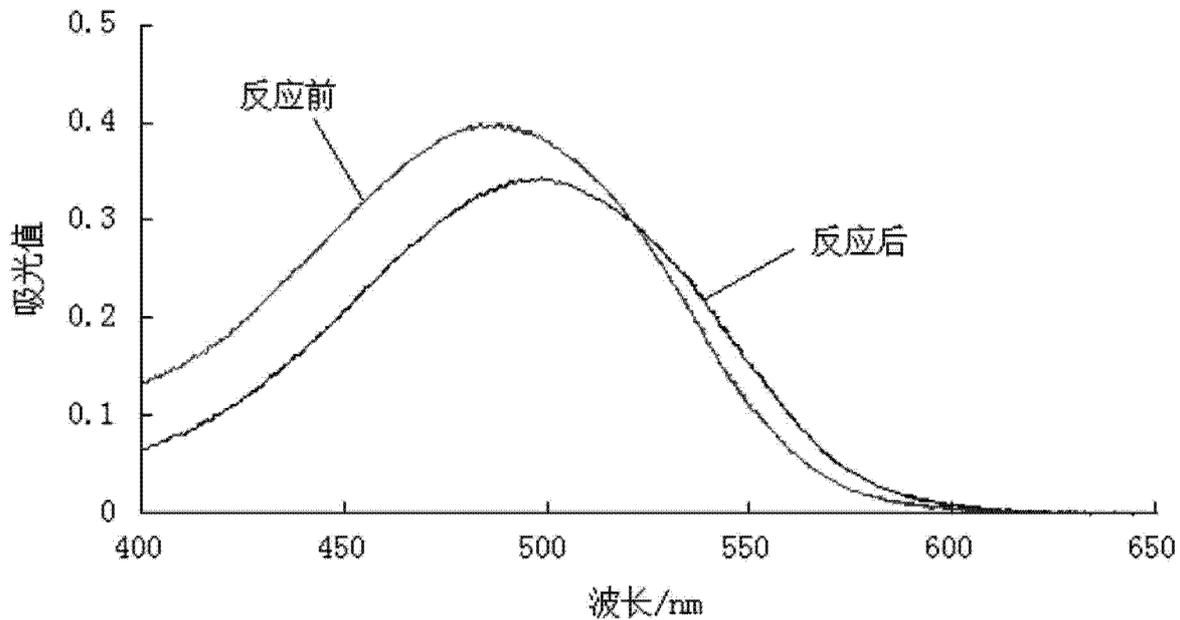


图 4

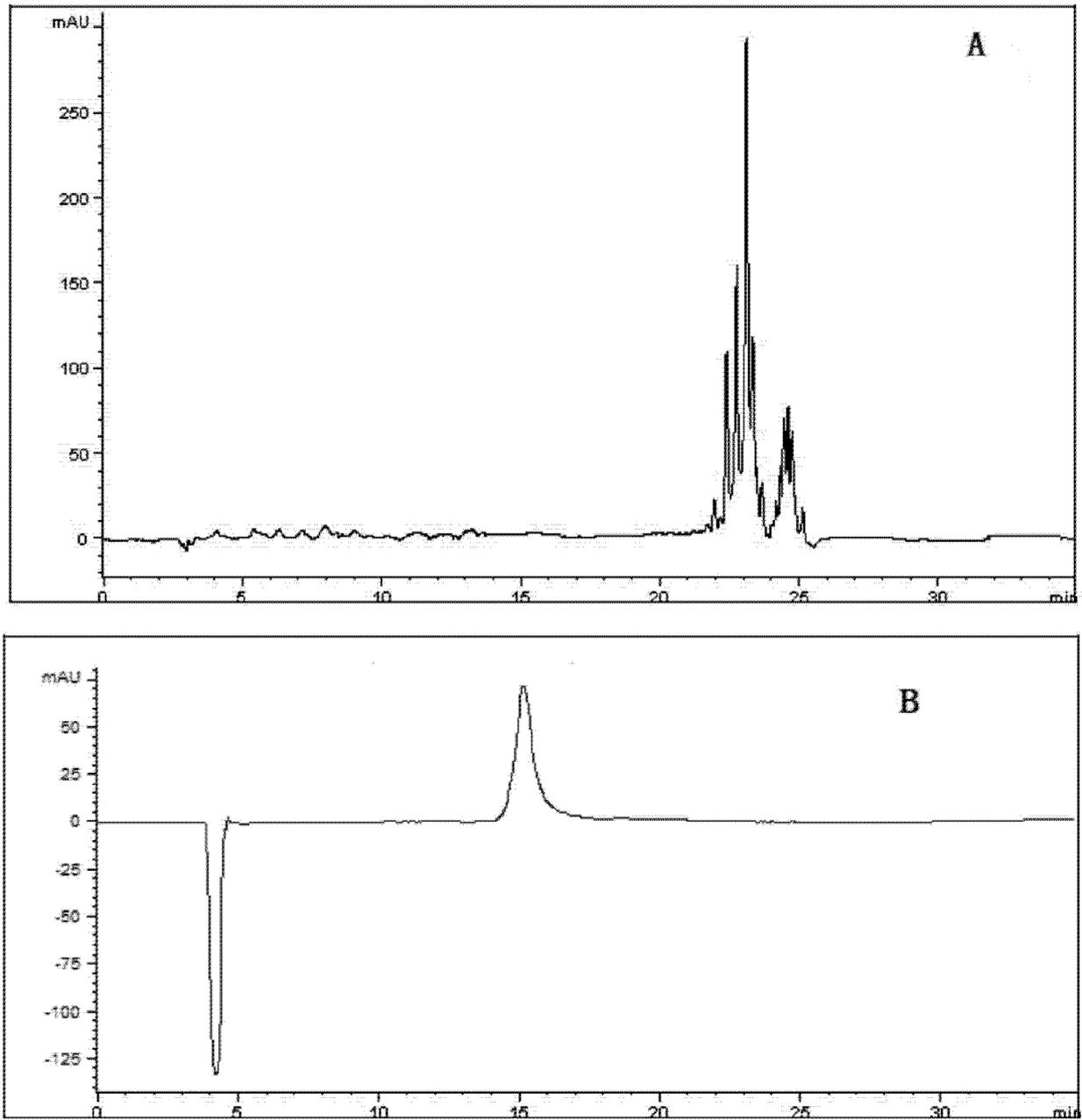


图 5

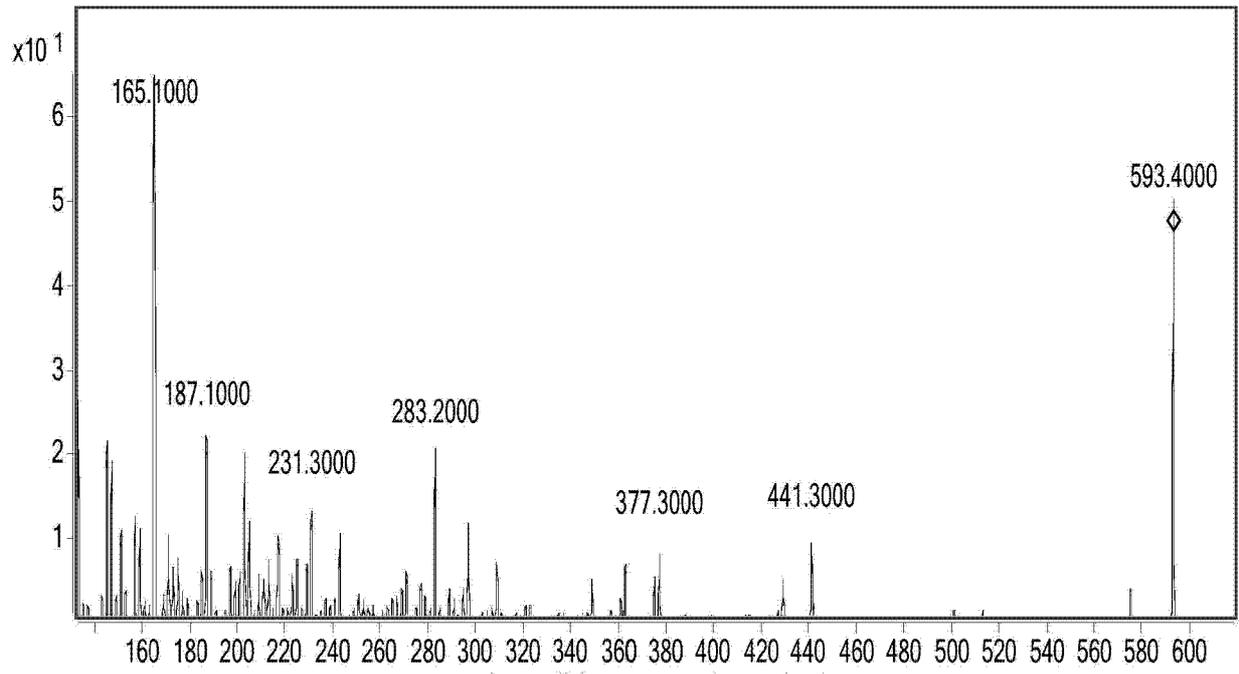


图 6