



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115678954 A

(43) 申请公布日 2023. 02. 03

(21) 申请号 202211331960.7

(22) 申请日 2022.10.28

(71) 申请人 云飞生物药业(吉林)有限公司

地址 136100 吉林省四平市公主岭市岭东
工业集中区宏源大街8号

(72) 发明人 白云飞 李富彪 李一伦

(74) 专利代理机构 北京励为众创知识产权代理
有限公司 11811

专利代理师 赵德世

(51) Int. Cl.

G12P 33/20 (2006.01)

G07J 17/00 (2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种人参皂甙RG2提取制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种人参皂甙RG2提取制备方法,包括对人参进行清洗、烘干和粉碎加工,将人参粉末放入萃取釜中进行萃取,并且利用分离器得到萃取物,按照一定的比例将萃取物与水混合,对混合水溶液进行PH值进行调节,利用划线法,将浓缩液划线接种于LB固体培养基上,得到活化菌种,将活化后的菌种接于LB液体培养基中,得到种子液,硅胶柱层析法分离得到Rg2纯品。本发明利用一种人参皂甙RG2提取制备方法的设置方式,在对人参原料进行清理、粉碎、分离萃取、混合水溶液加工,然后在利用生物划线法培养的方式,使活化后的菌种在LB液体培养基中培养,最后利用硅胶柱层析法分离得到Rg2纯品,从而提高人参皂甙RG2提取的质量。

1. 一种人参皂甙RG2提取制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

步骤一:对人参进行清洗、烘干和粉碎加工,从而得到人参粉末;

步骤二:将人参粉末放入萃取釜中进行萃取,并且利用分离器得到萃取物;

步骤三:按照一定的比例将萃取物与水混合,得到混合水溶液;

步骤四:对混合水溶液进行PH值进行调节,然后相混合水溶液内部添加适量的生物酶和混合水,再向其内部添加多羟基化合物,并且对其混合物进行分离浓缩,从而得到浓缩液;

步骤五:利用划线法,将浓缩液划线接种于LB固体培养基上,得到活化菌种,将活化后的菌种接于LB液体培养基中,得到种子液;

步骤六:将种子液和人参茎叶总皂苷一起加入到LB液体培养基中,在38℃、200转每分钟的条件下培养20小时,硅胶柱层析法分离得到Rg2纯品。

2. 根据权利要求1所述的一种人参皂甙RG2提取制备方法,其特征在于,所述步骤一中人参经过清洗和烘干步骤可以使人参表面保持清洁状态,且人参粉碎为20目-40目。

3. 根据权利要求1所述的一种人参皂甙RG2提取制备方法,其特征在于,所述步骤二中人参粉末放入萃取釜中进行萃取,向超临界萃取釜中连续输入液体CO₂,并通过与超临界萃取釜相接的分离器收集产生的气体CO₂,将气体CO₂转为液体CO₂后再次输入超临界萃取釜中,以此循环输入,输入液体CO₂的流量为50升/小时-300升/小时,开启萃取釜中的超声波装置,超声频率控制在20千赫兹-40千赫兹之间,功率控制在100W-200W之间;萃取釜内温度控制在30℃-35℃之间,萃取时间为5-15分钟:所述的向超临界萃取釜中输入液体CO₂为带压输入,使釜内压力达到20Mpa-25Mpa,分离器得萃取物。

4. 根据权利要求1所述的一种人参皂甙RG2提取制备方法,其特征在于,所述步骤三中萃取物与水混合混合分量比例为5-10份:20-30份。

5. 根据权利要求1所述的一种人参皂甙RG2提取制备方法,其特征在于,所述步骤四中混合水溶液PH调节,向所得混合水溶液中加入pH调节剂调节pH至5.5-6.5后,加入生物酶和水的分量为5-10份,加入水的分量为10-30份,加入多羟基化合物的分量为5-9份,在20-30℃下搅拌反应5-10h,经离心分离后,将分离所得溶液在真空度0.05-007Mpa,温度20-40℃的条件下浓缩至原体积的一半,得到浓缩液。

6. 根据权利要求1所述的一种人参皂甙RG2提取制备方法,其特征在于,所述步骤五中浓缩液划线接种于LB固体培养基上的培养条件为36℃的恒温培养箱中培养18小时,活化菌种培养条件为温度38℃,200转每分钟的摇床中培养12小时。

一种人参皂甙RG2提取制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及提取制备方法技术领域,特别涉及一种人参皂甙RG2提取制备方法。

背景技术

[0002] 人参皂苷是人参中的主要活性成分之一,由皂苷元和糖基侧链组成,是一种固醇类化合物,依据糖苷基构架的不同,可将人参皂苷分为齐墩果烷型五环三萜类皂苷和达玛烷型四环三萜类皂苷两大类,其中后者又可分为原人参二醇型皂苷和原人参三醇型皂苷。

[0003] 人参皂苷Rg2对急性心源性休克有保护作用,具有抗休克、抗心衰、抗凝血、抗血栓作用,主要表现在强壮心肌,增强心肌收缩力,减慢心率,扩张血管,增加心输出量和提高冠脉流量,能快速改善心肌缺血和缺氧,具有明显的增强心功能作用。

[0004] 在对人参皂甙RG2提取制备的时候,通常利用酸碱水解等化学法和生物转化法,但是化学法产率低,转化出的副产物多,消耗大量有机溶剂,并且污染环境,从而降低人参皂甙RG2提取制备的质量。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种人参皂甙RG2提取制备方法,以解决上述背景技术中提出的问题。

[0006] 为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:一种人参皂甙RG2提取制备方法,包括以下步骤:

[0007] 步骤一:对人参进行清洗、烘干和粉碎加工,从而得到人参粉末;

[0008] 步骤二:将人参粉末放入萃取釜中进行萃取,并且利用分离器得到萃取物;

[0009] 步骤三:按照一定的比例将萃取物与水混合,得到混合水溶液;

[0010] 步骤四:对混合水溶液进行PH值进行调节,然后相混合水溶液内部添加适量的生物酶和混合水,再向其内部添加多羟基化合物,并且对其混合物进行分离浓缩,从而得到浓缩液;

[0011] 步骤五:利用划线法,将浓缩液划线接种于LB固体培养基上,得到活化菌种,将活化后的菌种接于LB液体培养基中,得到种子液;

[0012] 步骤六:将种子液和人参茎叶总皂苷一起加入到LB液体培养基中,在38℃、200转每分钟的条件下培养20小时,硅胶柱层析法分离得到Rg2纯品。

[0013] 优选的,所述步骤一中人参经过清洗和烘干步骤可以使人参表面保持清洁状态,且人参粉碎为20目-40目。

[0014] 优选的,所述步骤二中人参粉末放入萃取釜中进行萃取,向超临界萃取釜中连续输入液体CO₂,并通过与超临界萃取釜相接的分离器收集产生的气体CO₂,将气体CO₂转为液体CO₂后再次输入超临界萃取釜中,以此循环输入,输入液体CO₂的流量为50升/小时-300升/小时,开启萃取釜中的超声波装置,超声频率控制在20千赫兹-40千赫兹之间,功率控制在100W-200W之间,萃取釜内温度控制在30℃-35℃之间,萃取时间为5-15分钟,所述的向超

临界萃取釜中输入液体CO₂为带压输入,使釜内压力达到20Mpa-25Mpa,分离器得萃取物。

[0015] 优选的,所述步骤三中萃取物与水混合混合分量比例为5-10份:20-30份。

[0016] 优选的,所述步骤四中混合水溶液PH调节,向所得混合水溶液中加入pH调节剂调节pH至5.5-6.5后,加入生物酶和水的分量为5-10份,加入水的分量为10-30份,加入多羟基化合物的分量为5-9份,在20-30℃下搅拌反应5-10h,经离心分离后,将分离所得溶液在真空度0.05-0.07Mpa,温度20-40℃的条件下浓缩至原体积的一半,得到浓缩液。

[0017] 优选的,所述步骤五中浓缩液划线接种于LB固体培养基上的培养条件为36℃的恒温培养箱中培养18小时,活化菌种培养条件为温度38℃,200转每分钟的摇床中培养12小时。

[0018] 本发明的技术效果和优点:

[0019] 本发明利用一种人参皂甙RG₂提取制备方法的设置方式,在对人参原料进行清理、粉碎、分离萃取、混合水溶液加工,然后在利用生物划线法培养的方式,使活化后的菌种在LB液体培养基中培养,最后利用硅胶柱层析法分离得到Rg₂纯品,从而提高人参皂甙RG₂提取的质量。

具体实施方式

[0020] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0021] 本发明提供了一种人参皂甙RG₂提取制备方法,包括:

[0022] 具体实施例一

[0023] 包括以下步骤:

[0024] 步骤一:对人参进行清洗、烘干和粉碎加工,从而得到人参粉末,人参经过清洗和烘干步骤可以使人参表面保持清洁状态,且人参粉碎为20目-40目;

[0025] 步骤二:将人参粉末放入萃取釜中进行萃取,并且利用分离器得到萃取物,人参粉末放入萃取釜中进行萃取,向超临界萃取釜中连续输入液体CO₂,并通过与超临界萃取釜相接的分离器收集产生的气体CO₂,将气体CO₂转为液体CO₂后再次输入超临界萃取釜中,以此循环输入,输入液体CO₂的流量为50升/小时-300升/小时,开启萃取釜中的超声波装置,超声频率控制在20千赫兹-40千赫兹之间,功率控制在100W-200W之间,萃取釜内温度控制在30℃-35℃之间,萃取时间为5-15分钟,向超临界萃取釜中输入液体CO₂为带压输入,使釜内压力达到20Mpa-25Mpa,分离器得萃取物;

[0026] 步骤三:按照一定的比例将萃取物与水混合,得到混合水溶液,萃取物与水混合混合分量比例为5-10份:20-30份;

[0027] 步骤四:对混合水溶液进行PH值进行调节,然后相混合水溶液内部添加适量的生物酶和混合水,再向其内部添加多羟基化合物,并且对其混合物进行分离浓缩,从而得到浓缩液,向所得混合水溶液中加入pH调节剂调节pH至5.5-6.5后,加入生物酶和水的分量为5-10份,加入水的分量为10-30份,加入多羟基化合物的分量为5-9份,在20-30℃下搅拌反应5-10h,经离心分离后,将分离所得溶液在真空度0.05-0.07Mpa,温度20-40℃的条件下浓缩

至原体积的一半,得到浓缩液;

[0028] 步骤五:利用划线法,将浓缩液划线接种于LB固体培养基上,得到活化菌种,将活化后的菌种接于LB液体培养基中,得到种子液,浓缩液划线接种于LB固体培养基上的培养条件为36℃的恒温培养箱中培养18小时,活化菌种培养条件为温度38℃,200转每分钟的水平摇床中培养12小时;

[0029] 步骤六:将种子液和人参茎叶总皂苷一起加入到LB液体培养基中,在38℃、200转每分钟的条件下培养20小时,硅胶柱层析法分离得到Rg2纯品。

[0030] 具体实施例二

[0031] 包括以下步骤:

[0032] 步骤一:对人参进行清洗、烘干和粉碎加工,从而得到人参粉末,人参经过清洗和烘干步骤可以使人参表面保持清洁状态,且人参粉碎为20目;

[0033] 步骤二:将人参粉末放入萃取釜中进行萃取,并且利用分离器得到萃取物,人参粉末放入萃取釜中进行萃取,向超临界萃取釜中连续输入液体CO₂,并通过与超临界萃取釜相接的分离器收集产生的气体CO₂,将气体CO₂转为液体CO₂后再次输入超临界萃取釜中,以此循环输入,输入液体CO₂的流量为50升/小时,开启萃取釜中的超声波装置,超声频率控制在20千赫兹,功率控制在100W,萃取釜内温度控制在30℃,萃取时间为5,向超临界萃取釜中输入液体CO₂为带压输入,使釜内压力达到20Mpa,分离器得萃取物;

[0034] 步骤三:按照一定的比例将萃取物与水混合,得到混合水溶液,萃取物与水混合混合分量比例为5份:20份;

[0035] 步骤四:对混合水溶液进行PH值进行调节,然后相混合水溶液内部添加适量的生物酶和混合水,再向其内部添加多羟基化合物,并且对其混合物进行分离浓缩,从而得到浓缩液,向所得混合水溶液中加入pH调节剂调节pH至5.5后,加入生物酶和水的分量为5份,加入水的分量为10份,加入多羟基化合物的分量为5份,在20℃下搅拌反应5h,经离心分离后,将分离所得溶液在真空度0.05Mpa,温度20℃的条件下浓缩至原体积的一半,得到浓缩液;

[0036] 步骤五:利用划线法,将浓缩液划线接种于LB固体培养基上,得到活化菌种,将活化后的菌种接于LB液体培养基中,得到种子液,浓缩液划线接种于LB固体培养基上的培养条件为36℃的恒温培养箱中培养18小时,活化菌种培养条件为温度38℃,200转每分钟的水平摇床中培养12小时;

[0037] 步骤六:将种子液和人参茎叶总皂苷一起加入到LB液体培养基中,在38℃、200转每分钟的条件下培养20小时,硅胶柱层析法分离得到Rg2纯品。

[0038] 具体实施例三

[0039] 包括以下步骤:

[0040] 步骤一:对人参进行清洗、烘干和粉碎加工,从而得到人参粉末,人参经过清洗和烘干步骤可以使人参表面保持清洁状态,且人参粉碎为40目;

[0041] 步骤二:将人参粉末放入萃取釜中进行萃取,并且利用分离器得到萃取物,人参粉末放入萃取釜中进行萃取,向超临界萃取釜中连续输入液体CO₂,并通过与超临界萃取釜相接的分离器收集产生的气体CO₂,将气体CO₂转为液体CO₂后再次输入超临界萃取釜中,以此循环输入,输入液体CO₂的流量为300升/小时,开启萃取釜中的超声波装置,超声频率控制在40千赫兹,功率控制在200W,萃取釜内温度控制在35℃,萃取时间为15分钟,向超临界萃

取釜中输入液体C0为带压输入,使釜内压力达到25Mpa,分离器得萃取物;

[0042] 步骤三:按照一定的比例将萃取物与水混合,得到混合水溶液,萃取物与水混合混合分量比例为10份:30份;

[0043] 步骤四:对混合水溶液进行PH值进行调节,然后相混合水溶液内部添加适量的生物酶和混合水,再向其内部添加多羟基化合物,并且对其混合物进行分离浓缩,从而得到浓缩液,向所得混合水溶液中加入pH调节剂调节pH至6.5后,加入生物酶和水的分量为10份,加入水的分量为30份,加入多羟基化合物的分量为9份,在30℃下搅拌反应10h,经离心分离后,将分离所得溶液在真空度0.07Mpa,温度40℃的条件下浓缩至原体积的一半,得到浓缩液;

[0044] 步骤五:利用划线法,将浓缩液划线接种于LB固体培养基上,得到活化菌种,将活化后的菌种接于LB液体培养基中,得到种子液,浓缩液划线接种于LB固体培养基上的培养条件为36℃的恒温培养箱中培养18小时,活化菌种培养条件为温度38℃,200转每分钟的水平摇床中培养12小时;

[0045] 步骤六:将种子液和人参茎叶总皂苷一起加入到LB液体培养基中,在38℃、200转每分钟的条件下培养20小时,硅胶柱层析法分离得到Rg2纯品。

[0046] 最后应说明的是:以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,对于本领域的技术人员来说,其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换,凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。