(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106867657 A
(43)申请公布日 2017.06.20

(21)申请号 201710161927.7

(22)申请日 2017.03.17

(71)申请人 广州康琪莱生物科技有限公司
地址 510000 广东省广州市从化区城郊街横江路339号-29号(A厂房)

(72)发明人 葛啸虎 陈海佳 王一飞 杨占东

(74)专利代理机构 北京市盈科律师事务所 11344
代理人 张瑞杰

(51)Int.Cl.
C11B 1/10(2006.01)
C11B 1/04(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种高效、多级超临界CO_2萃取灵芝孢子油的方法

(57)摘要

本发明涉及中药成分提取技术领域，具体涉及一种以灵芝孢子为原料经超微粉碎与生物酶法联合破壁、微波强化超临界CO2萃取制备灵芝孢子油的方法，本发明采用的超微粉碎与生物酶法联合破壁技术，不仅提高破壁率，而且提高破壁效率，较单一破壁法破壁效率提高30％～50％，破壁率达99.7％以上；采用的微波强化超临界CO2萃取，在较温和的环境下即可完成萃取，操作简便、成本低；所述灵芝孢子经超微粉碎与生物酶法联合破壁、湿法制粒、微波强化超临界CO2萃取，所得灵芝孢子油出油率为41.3％，较超临界CO2萃取出油率高17.1％，灵芝三萜、麦角甾醇等生物活性成分含量可提高10％～20％。

CN 106867657 A

1.一种高效、多级超临界CO2萃取灵芝孢子油的方法，其特征在于，包括如下步骤：

步骤A、选取灵芝孢子，在40℃下干燥5小时；

步骤B、将步骤A得到的灵芝孢子放入超微粉碎机中进行粉碎，得到初破壁灵芝孢子粉；

步骤C、将步骤B得到的孢子粉与生物酶混合进行酶解破壁，生物酶用量为0.1％～0.5％，酶解温度为25～45℃，pH值4.5～8.5，酶解时间为0.5～3小时；

步骤D、向步骤C中孢子粉中添加湿润剂进行湿法制粒，干燥后获得颗粒粒径为20～60目，水分小于5％的颗粒；

步骤E、将步骤D中孢子粉颗粒放入装有微波发生器的超临界CO2萃取釜中，使其与超临界流体充分接触、溶解、萃取、分离，其中萃取压力为15～35MPa、萃取温度为30～50℃、CO2流体流量为15～60L/h、萃取时间30～150分钟；

步骤F、将步骤E中的孢子油经过12000转/分钟高速离心制得精制灵芝孢子油。

2.根据权利要求1所述的高效、多级超临界CO2萃取灵芝孢子油的方法，其特征在于，所述步骤B中在超微粉碎机中粉碎时间为10～40分钟。

3.根据权利要求1所述的荒漠肉苁蓉提取物的快速制备工艺，其特征在于，所述步骤C中的生物酶为纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶、溶壁酶、蛋白质酶中的任意一种或多种复合酶。

4.根据权利要求1所述的荒漠肉苁蓉提取物的快速制备工艺，其特征在于，所述步骤D中的湿润剂为纯化水，干燥温度为35℃。

5.根据权利要求1所述的荒漠肉苁蓉提取物的快速制备工艺，其特征在于，所述步骤E中，一级分离压力为7～9MPa、分离温度为30～50℃，二级分离压力为4～7MPa、分离温度为30～50℃。

6.根据权利要求1所述的荒漠肉苁蓉提取物的快速制备工艺，其特征在于，所述步骤E的萃取过程加入夹带剂，所述夹带剂为无水乙醇或乙醇水溶液。

一种高效、多级超临界CO_2萃取灵芝孢子油的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及中药成分提取技术领域，具体涉及一种以灵芝孢子为原料经超微粉碎与生物酶法联合破壁、微波强化超临界CO2萃取制备灵芝孢子油的方法。

背景技术

[0002] 灵芝作为药物有着非常悠久的历史，早在东汉时期，我国的第一部药物著作《神农本草经》中记载：灵芝有紫、赤、青、黄、白、黑六种，性味甘平，主治“胸中结，益心气，补中，增智慧，不忘，久食轻身不老，延年神仙”，并将灵芝列为上品。《中华人民共和国药典》年版一部记载中药灵芝的功能与主治：补气安神，止咳平喘。用于心神不宁，失眠心悸，肺虚咳喘，虚劳短气，不思饮食。国家卫生部、国家食品药品监督管理局先后批准灵芝为保健食品，其主要功能有：增强人体免疫力、延缓衰老、改善睡眠、抑制肿瘤。

[0003] 灵芝孢子是灵芝的生殖细胞担抱子俗称灵芝种子，是灵芝在生长成熟时期从菌盖而弹射出来的极为细小的颗粒，灵芝孢子在集中起来后呈现粉末状，通称为灵芝孢子粉。灵芝孢子含有灵芝全部的遗传活性物质。灵芝孢子的有效成分非常的丰富，含有多糖类、三萜类、蛋白质和氨基酸类、维生素类、生物碱类以及脂肪酸类等多种的生物活性成分，其中灵芝多糖类和三萜类化合物更被看作是其主要的活性物质，具有多种的生物学功能，比如抗肿瘤和抗福射功能、抗心血管疾病、神经系统调节功能、耐缺氧作用、抗氧化、解毒保肝以及免疫增强等作用。

[0004] 由于灵芝孢子的孢壁是由几丁质和葡聚糖构成，具有层网结构，质地坚韧、耐酸碱，极难氧化分解，如果没有分解，其内部活性成分很难被提取出来，人体食用后也很难被消化吸收。因此为了充分利用灵芝孢子内的活性成分，必须对灵芝孢子壁进行破壁，然后采用现代提取与分离技术，富集灵芝孢子中的活性成分，充分发挥灵芝药用功效。

[0005] 目前灵芝孢子粉破壁技术主要是机械法和生物酶法，生物酶法较机械法破壁效率高，如中国专利CN100593410C中采用接入灵芝菌种，利用其在生长过程中不断分泌的纤维素酶、果胶酶等复合酶酶解孢子壁，此法相对温和，但是过程较难控制，所需时间较长。灵芝孢子油提取技术报道较多的是超临界CO2萃取技术，如CN144536A、CN1094766C等，与传统方法相比，有生产周期短、有效成分不易破坏，无溶剂残留、不污染环境等优点。尽管如此，超临界CO2萃取技术萃取灵芝孢子油需要较高的压力和较长的提取时间，由于灵芝孢子粉粉体较细，在高压条件下容易造成喷料，不仅影响孢子油的提取质量，而且也具有生产安全隐患。为解决这一问题，现有技术中采用制粒方法，如专利CN1239100C中以破壁孢子粉为原料，经体积比5％～95％乙醇水溶液制粒、干燥，由于乙醇易燃，在干燥过程中具有极不安全因素。专利CN1094766C中以孢子粉为原料，经水、明胶、淀粉在室温下挤压成型的方法，此法添加较多辅料，不仅影响孢子油提取效率，而且可能带来更多的污染。

发明内容

[0006] 本发明针对现有技术中存在的问题，提供一种高效、多级超临界CO2萃取灵芝孢子

油的方法，本方法中采用超微粉碎与生物酶法联合破壁，经湿法制粒，由微波强化超临界CO2萃取得到灵芝孢子油，具有达到破壁时间短、破壁率高，萃取所需压力小、温度低、萃取时间短，出油率高的优点。

[0007] 本发明通过以下技术方案实现该目的：

[0008] 一种高效、多级超临界CO2萃取灵芝孢子油的方法，包括如下步骤：

[0009] 步骤A、选取灵芝孢子，在40℃下干燥5小时；

[0010] 步骤B、将步骤A得到的灵芝孢子放入超微粉碎机中进行粉碎，得到初破壁灵芝孢子粉；

[0011] 步骤C、将步骤B得到的孢子粉与生物酶混合进行酶解破壁，生物酶用量为0.1％～0.5％，酶解温度为25～45℃，pH值4.5～8.5，酶解时间为0.5～3小时；

[0012] 步骤D、向步骤C中孢子粉中添加湿润剂进行湿法制粒，干燥后获得颗粒粒径为20～60目，水分小于5％的颗粒；

[0013] 步骤E、将步骤D中孢子粉颗粒放入装有微波发生器的超临界CO2萃取釜中，使其与超临界流体充分接触、溶解、萃取、分离，其中萃取压力为15～35MPa、萃取温度为30～50℃、CO2流体流量为15～60L/h、萃取时间30～150分钟；

[0014] 步骤F、将步骤E中的孢子油经过12000转/分钟高速离心制得精制灵芝孢子油。

[0015] 作为优选的，所述步骤B中在超微粉碎机中粉碎时间为10～40分钟。

[0016] 作为优选的，所述步骤C中的生物酶为纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶、溶壁酶、蛋白质酶中的任意一种或多种复合酶。

[0017] 作为优选的，所述步骤D中的湿润剂为纯化水，干燥温度为35℃。

[0018] 其中，所述步骤E中，一级分离压力为7～9MPa、分离温度为30～50℃，二级分离压力为4～7MPa、分离温度为30～50℃。

[0019] 进一步的，所述步骤E的萃取过程加入夹带剂，所述夹带剂为无水乙醇或乙醇水溶液。

[0020] 与现有技术相比，本发明具有如下有益效果：

[0021] 1.本发明采用的超微粉碎与生物酶法联合破壁技术，不仅提高破壁率，而且提高破壁效率，较单一破壁法破壁效率提高30％～50％，破壁率达99.7％以上；

[0022] 2.本发明采用的微波强化超临界CO2萃取，优选萃取压力为25MPa，萃取温度为35℃，CO2流量为25L/h，萃取时间为120分钟，均较超临界CO2萃取所需条件低，在较温和的环境下即可完成萃取，操作简便、成本低；

[0023] 3.本发明中灵芝孢子经超微粉碎与生物酶法联合破壁、湿法制粒、微波强化超临界CO2萃取，所得灵芝孢子油出油率为41.3％，较超临界CO2萃取出油率高17.1％，灵芝三萜、麦角甾醇等生物活性成分含量可提高10％～20％。

具体实施方式

[0024] 以下结合具体实施例对本发明进行详细描述。

[0025] 实施例1。

[0026] 一种高效、多级超临界CO2萃取制备灵芝孢子油的方法，其制备方法如下：

[0027] 步骤A，优选灵芝孢子，在4℃下干燥5小时；

[0028] 步骤B，将步骤A得到的灵芝孢子放入超微粉碎机中粉碎40分钟，得到初破壁灵芝孢子粉；

[0029] 步骤C，将步骤B得到的孢子粉与生物酶在适宜条件酶解破壁，其中生物酶是纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶、溶壁酶、蛋白质酶等中的任意一种或多种复合酶，生物酶用量为0.2％，适宜条件为温度45℃，PH值6.5，酶解时间为3小时；

[0030] 步骤D，将步骤C中孢子粉进行湿法制粒，在35℃下干燥，获得水分小于5％的颗粒，其中以纯化水为湿润剂，颗粒粒径为20～60目；

[0031] 步骤E，将步骤D中孢子粉颗粒放入装有微波发生器的超临界CO2萃取釜中，使其与超临界流体充分接触、溶解、萃取、分离，其中萃取压力为15MPa、萃取温度为50℃、CO2流体流量为15L/h、萃取时间150分钟。一级分离压力为7.5MPa、分离温度为50℃，二级分离压力为4MPa、分离温度为50℃，萃取过程还可以加入夹带剂，如无水乙醇；

[0032] 步骤F，将步骤E中的孢子油经过12000转/分钟高速离心制得精制灵芝孢子油。

[0033] 实施例2。

[0034] 一种高效、多级超临界CO2萃取制备灵芝孢子油的方法，其制备方法如下：

[0035] 步骤A，优选灵芝孢子，在4℃下干燥5小时；

[0036] 步骤B，将步骤A得到的灵芝孢子放入超微粉碎机中粉碎30分钟，得到初破壁灵芝孢子粉；

[0037] 步骤C，将步骤B得到的孢子粉与生物酶在适宜条件酶解破壁，其中生物酶是纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶、溶壁酶、蛋白质酶等中的任意一种或多种复合酶，生物酶用量为0.1％，适宜条件为温度25℃，PH值4.5，酶解时间为1小时；

[0038] 步骤D，将步骤C中孢子粉进行湿法制粒，在35℃下干燥，获得水分小于5％的颗粒，其中以纯化水为湿润剂，颗粒粒径为20～60目；

[0039] 步骤E，将步骤D中孢子粉颗粒放入装有微波发生器的超临界CO2萃取釜中，使其与超临界流体充分接触、溶解、萃取、分离，其中萃取压力为20MPa、萃取温度为45℃、CO2流体流量为20L/h、萃取时间75分钟。一级分离压力为8MPa、分离温度为45℃，二级分离压力为5MPa、分离温度为45℃，萃取过程还可以加入夹带剂，如乙醇水溶液；

[0040] 步骤F，将步骤E中的孢子油经过12000转/分钟高速离心制得精制灵芝孢子油。

[0041] 实施例3。

[0042] 一种高效、多级超临界CO2萃取制备灵芝孢子油的方法，其制备方法如下：

[0043] 步骤A，优选灵芝孢子，在40℃下干燥5小时；

[0044] 步骤B，将步骤A得到的灵芝孢子放入超微粉碎机中粉碎20分钟，得到初破壁灵芝孢子粉；

[0045] 步骤C，将步骤B得到的孢子粉与生物酶在适宜条件酶解破壁，其中生物酶是纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶、溶壁酶、蛋白质酶等中的一种或多种复合酶，生物酶用量为0.3％，适宜条件为温度38℃，PH值5.5，酶解时间为2小时；

[0046] 步骤D，将步骤C中孢子粉进行湿法制粒，在35℃下干燥，获得水分小于5％的颗粒，其中以纯化水为湿润剂，颗粒粒径为20～60目；

[0047] 步骤E，将步骤D中孢子粉颗粒放入装有微波发生器的超临界CO2萃取釜中，使其与超临界流体充分接触、溶解、萃取、分离，其中萃取压力为25MPa、萃取温度为35℃、CO2流体

流量为25L/h、萃取时间120h。一级分离压力为8.5MPa、分离温度为35℃，二级分离压力为6.5MPa、分离温度为35℃，萃取过程还可以加入夹带剂，如无水乙醇或乙醇水溶液；

[0048] 步骤F，将步骤E中的孢子油经过12000转/分钟高速离心制得精制灵芝孢子油。

[0049] 实施例4。

[0050] 一种高效、多级超临界CO2萃取制备灵芝孢子油的方法，其制备方法如下：

[0051] 步骤A，优选灵芝孢子，在40℃下干燥5小时；

[0052] 步骤B，将步骤A得到的灵芝孢子放入超微粉碎机中粉碎10分钟，得到初破壁灵芝孢子粉；

[0053] 步骤C，将步骤B得到的孢子粉与生物酶在适宜条件酶解破壁，其中生物酶是纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶、溶壁酶、蛋白质酶等中的一种或多种复合酶，生物酶用量为0.5％，适宜条件为温度30℃，PH值8.5，酶解时间为0.5小时；

[0054] 步骤D，将步骤C中孢子粉进行湿法制粒，在35℃下干燥，获得水分小于5％的颗粒，其中以纯化水为湿润剂，颗粒粒径为20～60目；

[0055] 步骤E，将步骤D中孢子粉颗粒放入装有微波发生器的超临界CO2萃取釜中，使其与超临界流体充分接触、溶解、萃取、分离，其中萃取压力为35MPa、萃取温度为30℃、CO2流体流量为45L/h、萃取时间30分钟。一级分离压力为9MPa、分离温度为30℃，二级分离压力为7MPa、分离温度为30℃，萃取过程还可以加入夹带剂，如无水乙醇或乙醇水溶液；

[0056] 步骤F，将步骤E中的孢子油经过12000转/分钟高速离心制得精制灵芝孢子油。

[0057] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。