



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111574570 A

(43)申请公布日 2020.08.25

---

(21)申请号 202010368101.X *A23L 31/00*(2016.01)  
(22)申请日 2020.04.30 *A23L 33/00*(2016.01)  
(71)申请人 烟台金草王生物科技有限公司 *A23L 33/125*(2016.01)  
地址 264004 山东省烟台市芝罘区机场路 *A23K 10/30*(2016.01)  
296号山水田园小区4幢6号 *A23K 20/163*(2016.01)  
申请人 中国科学院青岛生物能源与过程研  
究所  
(72)发明人 荆辅德 刘雨辰 荆辉国 付春祥  
(74)专利代理机构 哈尔滨市阳光惠远知识产权  
代理有限公司 23211  
代理人 邓宇  
(51)Int.Cl.  
*C07H 1/08*(2006.01)  
*C07H 19/16*(2006.01)  
*C08B 37/00*(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

---

(54)发明名称

一种蛹虫草培养残基的综合利用方法

(57)摘要

一种蛹虫草培养残基的综合利用方法。本发明属于蛹虫草培养领域。本发明的目的在于解决目前蛹虫草培养残基的废弃造成资源浪费和环境污染,以及蛹虫草培养残基利用效率低的技术问题。本发明的蛹虫草培养残基的综合利用方法经乙醇提取后,滤液用于提取虫草素和虫草多糖,滤渣经发酵后制备成蛋白饲料。通过该综合利用工艺在避免虫草资源浪费,减少环境污染,提高蛹虫草培养残基利用效率的同时也可充分获得蛹虫草培养残基中最具实用价值的物质,为对蛹虫草培养残基的充分合理利用提供可工业化的工艺研究基础。

1. 一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,该方法按以下步骤进行:

一、提取:将蛹虫草培养残基进行干燥,干燥后采用提取剂进行浸泡提取20h~24h,分离得到提取液和残渣;

二、浓缩:将步骤一得到的提取液进行减压浓缩,得到浓缩液;

三、纯化:向步骤二得到的浓缩液中加入乙醇,混合均匀后静置3h~5h,静置后进行离心分离,得到上清液和沉淀,将上清液减压浓缩后经离子交换树脂柱除杂后,再进行减压浓缩,得到虫草素浓缩液;

四、萃取:将步骤三得到的虫草素浓缩液用乙酸乙酯萃取5~10次,萃取后对乙酸乙酯层进行减压浓缩至得到固体物质;

五、重结晶:将步骤四得到的固体物质溶解于乙醇中,然后进行低温重结晶,得到的晶体干燥后,得到虫草素。

2. 根据权利要求1所述的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,步骤一中所述提取剂为乙醇和乙酸的混合水溶液;所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为10%~20%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为0.5%~2%。

3. 根据权利要求1所述的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,步骤三中乙醇与步骤二得到的浓缩液的体积比为(3~5):1。

4. 根据权利要求1所述的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,步骤三中减压浓缩后上清液经离子交换树脂柱除杂过程为:先用水淋洗离子交换树脂柱,然后以3mL/min的速率加入减压浓缩后的上清液,再以3mL/min的速率用水淋洗180min~220min,然后用质量浓度为0.5%的盐酸水溶液以3mL/min的速率洗脱,调节洗脱液pH至中性。

5. 根据权利要求1所述的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,步骤三中所述离子交换树脂柱为活化好的D113弱阳离子型大孔树脂柱。

6. 根据权利要求1所述的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,步骤五中所述低温重结晶的温度为-10℃~4℃。

7. 一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,该方法按以下步骤进行:

一、提取:将蛹虫草培养残基进行干燥,干燥后采用提取剂进行浸泡提取20h~24h,分离得到提取液和残渣;

二、浓缩:将步骤一得到的提取液进行减压浓缩,得到浓缩液;

三、纯化:向步骤二得到的浓缩液中加入乙醇,混合均匀后静置3h~5h,静置后进行离心分离,得到上清液和沉淀,将沉淀溶于水,过滤后对滤液进行干燥,得到虫草多糖。

8. 根据权利要求7所述的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,步骤三中所述干燥为喷雾干燥。

9. 一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,该方法按以下步骤进行:

一、提取:将蛹虫草培养残基进行干燥,干燥后采用提取剂进行浸泡提取20h~24h,分离得到提取液和残渣;

二、将步骤一得到的残渣,接入菌株进行固态发酵,干燥,粉碎后,得到蛋白饲料。

10. 根据权利要求9所述的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,其特征在于,步骤二中所述菌株为OD<sub>600</sub>为1的嗜热性乳杆菌。

## 一种蛹虫草培养残基的综合利用方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于蛹虫草培养领域,具体涉及一种蛹虫草培养残基的综合利用方法。

### 背景技术

[0002] 蛹虫草,又名北冬虫夏草,属于子囊菌纲、麦角菌目、麦角菌科、虫草属真菌。天然的冬虫夏草资源稀缺,价格较昂贵,而蛹虫草因为和冬虫夏草具有相似的化学性能和药用价值,所以被普遍认为可替代冬虫夏草而用于各行各业。目前蛹虫草已实现了大规模人工栽培,主要采用固体培养模式,即将蛹虫草菌种接种到大米或小麦等固体培养基上,待蛹虫草子实体采收后应用。人工栽培蛹虫草资源的研究与其利用的开发在近几十年取得了很大进展,但随着蛹虫草人工培养规模的不断增大,蛹虫草的社会需求量不断增加,就会出现蛹虫草培养残基的大量产生和废弃的问题。

[0003] 当蛹虫草子实体采收后,培养残基中仍含有大量的菌丝体和营养成分,据报道,蛹虫草固体培养残基中还含有一定量的虫草素,且其总糖、蛋白质及虫草多糖可分别高达21.93%、10%和12.86%,此外培养残基中还含有生物碱、萜类化合物、甾醇、苷类、酚类、酶、维生素等有效成分。培养残基的废弃不仅可造成虫草资源的浪费,而且也会对环境造成威胁。所以蛹虫草培养残基的深入研究与开发利用就具有深远的意义。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的在于解决目前蛹虫草培养残基的废弃造成资源浪费和环境污染,以及蛹虫草培养残基利用效率低的技术问题,而提供了一种蛹虫草培养残基的综合利用方法,通过该综合利用工艺在避免虫草资源浪费,减少环境污染,提高蛹虫草培养残基利用效率的同时也可充分获得蛹虫草培养残基中最具实用价值的物质,为对蛹虫草培养残基的充分合理利用提供可工业化的工艺研究基础。

[0005] 本发明的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法按以下步骤进行:

[0006] 一、提取:将蛹虫草培养残基进行干燥,干燥后采用提取剂进行浸泡提取20h~24h,分离得到提取液和残渣;

[0007] 二、浓缩:将步骤一得到的提取液进行减压浓缩,得到浓缩液;

[0008] 三、纯化:向步骤二得到的浓缩液中加入乙醇,混合均匀后静置3h~5h,静置后进行离心分离,得到上清液和沉淀,将上清液减压浓缩后经离子交换树脂柱除杂后,再进行减压浓缩,得到虫草素浓缩液;

[0009] 四、萃取:将步骤三得到的虫草素浓缩液用乙酸乙酯萃取5~10次,萃取后对乙酸乙酯层进行减压浓缩至得到固体物质;

[0010] 五、重结晶:将步骤四得到的固体物质溶解于乙醇中,然后进行低温重结晶,得到的晶体干燥后,得到虫草素。

[0011] 进一步限定,步骤一中所述干燥为自然风干。

[0012] 进一步限定,步骤一中所述提取剂为乙醇和乙酸的混合水溶液。

[0013] 进一步限定,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为10%~20%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为0.5%~2%。

[0014] 进一步限定,步骤二中所述减压浓缩参数:压强为0.1MPa,温度为60~80℃,浓缩至原体积的5%~15%。

[0015] 进一步限定,步骤三中所述离心分离参数:搅拌速度为4000rpm~6000rpm,时间为15min~25min。

[0016] 进一步限定,步骤三中乙醇与步骤二得到的浓缩液的体积比为(3~5):1。

[0017] 进一步限定,步骤三中减压浓缩后上清液经离子交换树脂柱除杂过程为:先用水淋洗离子交换树脂柱,然后以3mL/min的速率加入减压浓缩后的上清液,再以3mL/min的速率用水淋洗180min~220min,然后用质量浓度为0.5%的盐酸水溶液以3mL/min的速率洗脱,调节洗脱液pH至中性。

[0018] 进一步限定,步骤三中所述离子交换树脂柱为活化好的D113弱阳离子型大孔树脂柱。

[0019] 进一步限定,步骤三中所述两次减压浓缩参数均为:压强为0.1MPa,温度为60~80℃。

[0020] 进一步限定,步骤四中所述减压浓缩参数:压强为0.1MPa,温度为30~40℃。

[0021] 进一步限定,步骤五中所述低温重结晶的温度为-10℃~4℃。

[0022] 本发明的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法按以下步骤进行:

[0023] 一、提取:将蛹虫草培养残基进行干燥,干燥后采用提取剂进行浸泡提取20h~24h,分离得到提取液和残渣;

[0024] 二、浓缩:将步骤一得到的提取液进行减压浓缩,得到浓缩液;

[0025] 三、纯化:向步骤二得到的浓缩液中加入乙醇,混合均匀后静置3h~5h,静置后进行离心分离,得到上清液和沉淀,将沉淀溶于水,过滤后对滤液进行干燥,得到虫草多糖。

[0026] 进一步限定,步骤一中所述干燥为自然风干。

[0027] 进一步限定,步骤一中所述提取剂为乙醇和乙酸的混合水溶液。

[0028] 进一步限定,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为10%~20%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为0.5%~2%。

[0029] 进一步限定,步骤二中所述减压浓缩参数:压强为0.1MPa,温度为60~80℃,浓缩至原体积的5%~15%。

[0030] 进一步限定,步骤三中所述离心分离参数:搅拌速度为4000rpm~6000rpm,时间为15min~25min。

[0031] 进一步限定,步骤三中乙醇与步骤二得到的浓缩液的体积比为(3~5):1。

[0032] 进一步限定,步骤三中所述干燥为喷雾干燥。

[0033] 本发明的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法按以下步骤进行:

[0034] 一、提取:将蛹虫草培养残基进行干燥,干燥后采用提取剂进行浸泡提取20h~24h,分离得到提取液和残渣;

[0035] 二、将步骤一得到的残渣,接入菌株进行固态发酵,干燥,粉碎后,得到蛋白饲料。

[0036] 进一步限定,步骤一中所述干燥为自然风干。

[0037] 进一步限定,步骤一中所述提取剂为乙醇和乙酸的混合水溶液。

[0038] 进一步限定,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为10%~20%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为0.5%~2%。

[0039] 进一步限定,步骤二中所述菌株为OD<sub>600</sub>为1的嗜热性乳杆菌。

[0040] 进一步限定,步骤二中所述干燥为置于转筒干燥器中进行。

[0041] 本发明与现有技术相比具有的显著效果,具体如下:

[0042] 1)通过本发明所述的综合利用工艺获得的虫草素和虫草素多糖,不仅提取成本低,纯度高,而且可用于科学研究用标准品、保健品行业和医药行业。

[0043] 2)通过本发明所述的综合利用工艺获得的蛋白饲料,蛋白含量高,钙磷丰富,利于饲养动物的吸收利用,可大量用于各类配合饲料的生产中。

[0044] 3)通过本发明所述的蛹虫草培养残基综合利用工艺,不仅可以在避免虫草资源浪费,还可以避免蛹虫草培养残基直接废弃所造成的环境污染。

[0045] 4)通过本发明所述的蛹虫草培养残基综合利用工艺,实现了蛹虫草培养残基充分的利用,该工艺实施性强,成本低,为蛹虫草培养残基的工业化应用提供工艺基础和实现路径。

### 具体实施方式

[0046] 具体实施方式一:本实施方式的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法按以下步骤进行:

[0047] 一、提取:将蛹虫草培养残基置于阴凉处,自然风干,干燥后采用10L乙醇和乙酸的混合水溶液对1kg干燥后原料浸泡提取24h,分离得到提取液和残渣;其中所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为10%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为1%;

[0048] 二、浓缩:将步骤一得到的提取液加入圆底烧瓶中,将烧瓶接入旋转蒸发仪,在1MPa和水浴温度为70℃下进行减压浓缩,得到500mL的浓缩液;

[0049] 三、纯化:向步骤二得到的浓缩液中加入1.5L浓度为95%的乙醇,混合均匀后静置4h,静置后于500rpm下离心分离20min,得到上清液和沉淀,将上清液在1MPa和水浴温度为70℃下进行减压浓缩,得到300mL的浓缩液,经填充了活化好的D113弱阳离子型大孔树脂的离子交换树脂柱除杂后,再于1MPa和水浴温度为70℃下进行减压浓缩,得到100mL的虫草素浓缩液;其中所述离子交换树脂柱除杂过程为:先用200mL的水淋洗离子交换树脂柱,然后以3mL/min的速率加入300mL减压浓缩后的上清液,再以3mL/min的速率用600mL水淋洗200min,然后用300mL质量浓度为0.5%的盐酸水溶液以3mL/min的速率洗脱,用1%的氢氧化钠溶液调节洗脱液pH至中性;

[0050] 四、萃取:将步骤三得到的虫草素浓缩液用300mL乙酸乙酯萃取5次,萃取后对乙酸乙酯层在1MPa和水浴温度为35℃下进行减压浓缩,得到固体物质;

[0051] 五、重结晶:将步骤四得到的固体物质溶解于100mL乙醇中,然后于-10℃下进行低温重结晶,得到的晶体干燥后,得到虫草素。

[0052] 具体实施方式二:本实施方式的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法按以下步骤进行:

[0053] 一、提取:将蛹虫草培养残基置于阴凉处,自然风干,干燥后采用10L乙醇和乙酸的

混合水溶液对1kg干燥后原料浸泡提取24h,分离得到提取液和残渣;其中所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为20%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为2%;

[0054] 二、浓缩:将步骤一得到的提取液加入圆底烧瓶中,将烧瓶接入旋转蒸发仪,在1MPa和水浴温度为70℃下进行减压浓缩,得到400mL的浓缩液;

[0055] 三、纯化:向步骤二得到的浓缩液中加入2.0L浓度为95%的乙醇,混合均匀后静置4h,静置后于500rpm下离心分离20min,得到上清液和沉淀,将上清液在1MPa和水浴温度为70℃下进行减压浓缩,得到300mL的浓缩液,经填充了活化好的D113弱阳离子型大孔树脂的离子交换树脂柱除杂后,再于1MPa和水浴温度为70℃下进行减压浓缩,得到100mL的虫草素浓缩液;其中所述离子交换树脂柱除杂过程为:先用200mL的水淋洗离子交换树脂柱,然后以3mL/min的速率加入300mL减压浓缩后的上清液,再以3mL/min的速率用600mL水淋洗200min,然后用300mL质量浓度为0.5%的盐酸水溶液以3mL/min的速率洗脱,用1%的氢氧化钠溶液调节洗脱液pH至中性;

[0056] 四、萃取:将步骤三得到的虫草素浓缩液用300mL乙酸乙酯萃取10次,萃取后对乙酸乙酯层在1MPa和水浴温度为35℃下进行减压浓缩,得到固体物质;

[0057] 五、重结晶:将步骤四得到的固体物质溶解于100mL乙醇中,然后于4℃下进行低温重结晶,得到的晶体干燥后,得到虫草素。

[0058] 具体实施方式三:本实施方式的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法按以下步骤进行:

[0059] 一、提取:将蛹虫草培养残基置于阴凉处,自然风干,干燥后采用10L乙醇和乙酸的混合水溶液对1kg干燥后原料浸泡提取24h,分离得到提取液和残渣;其中所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为10%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为1%;

[0060] 二、浓缩:将步骤一得到的提取液加入圆底烧瓶中,将烧瓶接入旋转蒸发仪,在1MPa和水浴温度为70℃下进行减压浓缩,得到500mL的浓缩液;

[0061] 三、纯化:向步骤二得到的浓缩液中加入1.5L浓度为95%的乙醇,混合均匀后静置4h,静置后于500rpm下离心分离20min,得到上清液和沉淀,将沉淀溶于水,过滤后对滤液进行喷雾干燥至水分完全去除,得到虫草多糖。

[0062] 具体实施方式四:本实施方式的一种蛹虫草培养残基的综合利用方法按以下步骤进行:

[0063] 一、提取:将蛹虫草培养残基置于阴凉处,自然风干,干燥后采用10L乙醇和乙酸的混合水溶液对1kg干燥后原料浸泡提取24h,分离得到提取液和残渣;其中所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙醇的质量浓度为10%,所述乙醇和乙酸的混合水溶液中乙酸的质量浓度为1%;

[0064] 二、将步骤一得到的残渣,接入10mL的OD<sub>600</sub>为1的嗜热性乳杆菌菌株进行固态发酵5天,经转筒干燥器干燥后,粉碎,得到蛋白饲料。