



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112174796 A

(43) 申请公布日 2021.01.05

(21) 申请号 202010991744.X

(22) 申请日 2020.09.21

(71) 申请人 宁夏泰胜生物科技有限公司

地址 750101 宁夏回族自治区银川市望远
工业园区金色阳光办公楼宁夏泰瑞制
药股份有限公司

(72) 发明人 徐淑芬 任勇

(51) Int.Cl.

C07C 46/10 (2006.01)

C07C 50/28 (2006.01)

权利要求书2页 说明书9页

(54) 发明名称

一种从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法

(57) 摘要

本发明涉及一种从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其工艺步骤包括对辅酶Q10发酵液的预处理、浸提、结晶、溶解、层析、减压浓缩、水洗和干燥。采用本发明方法,可使辅酶Q10成品有效含量达到99%,提取总收率达到95%。同目前国内常规工艺相比,本发明具有提取收率高,产品质量优,提取工艺简捷,生产成本低等优势,有利于增强产品的国内外市场竞争力。

1. 一种从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于其工艺步骤为:

(1) 预处理

将辅酶Q10发酵液用板框过滤,在得到的湿菌渣①中加入甲醇,搅拌、静置后过滤,所得湿菌渣②中加入水和亚硫酸钠,再次搅拌、静置后过滤,所得湿菌渣③经闪蒸干燥得到固体菌渣;

(2) 浸提

在上述固体菌渣中加入乙二醇-丁醚,搅拌、静置后过滤;

(3) 结晶

在过程(2)所得滤液中加入水,在30min内快速降温至0~5℃,搅拌、静置后过滤得到固体辅酶Q10;

(4) 溶解、层析

用醋酸丁酯将上述所得固体辅酶Q10溶解,然后加入到层析设备中,以醋酸丁酯为流动相,在流速3~5L/min条件下进行层析,收集显示黄色或橙黄色的液体,得到辅酶Q10醋酸丁酯溶液;

(6) 减压浓缩、水洗和干燥

将辅酶Q10醋酸丁酯溶液经减压浓缩、水洗、过滤、干燥后即可得到纯品辅酶Q10。

2. 按照权利要求1所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于,步骤(1)中,所述甲醇用量按照 $V_{\text{甲醇}}:M_{\text{湿菌渣①}}=2\sim 6\text{L}:10\text{kg}$ 比例添加;所述水用量按照 $V_{\text{水}}:M_{\text{湿菌渣①}}=6\sim 10\text{L}:10\text{kg}$ 比例添加,亚硫酸钠用量按照 $M_{\text{亚硫酸钠}}:M_{\text{湿菌渣①}}=1\sim 2\text{g}:10\text{kg}$ 比例添加;所述静置时间控制在20~60min。

3. 按照权利要求1所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于,步骤(2)中,所述乙二醇-丁醚用量按照 $V_{\text{乙二醇-丁醚}}:M_{\text{固体菌渣}}=4\sim 8\text{L}:1\text{kg}$;所述静置时间控制在180~220min。

4. 按照权利要求1所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于,步骤(3)中,所述水用量按照 $V_{\text{乙二醇-丁醚}}:V_{\text{纯化水}}=1\text{L}:8\sim 12\text{L}$;所述静置时间控制在120~160min。

5. 按照权利要求1所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于,步骤(4)中,所述固体辅酶Q10的溶解度控制在20~30%。

6. 按照权利要求1所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于,步骤(4)中,所述层析设备中的玻璃柱高径比为5~6:1,填充剂为内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料,其用量为 $M_{\text{填充剂}}:M_{\text{辅酶Q10发酵液总量}}=2\sim 4\text{kg}:1\text{kg}$ 。

7. 按照权利要求6所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于所述内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料的制备工艺为:

1) 将PEG2000、古龙酸溶于去离子水中,在磁力搅拌器缓慢搅拌状态下分3~5次将总量80%的纳米碳化硅粉末加入,混合均匀后,继续加入质量浓度为5%的聚氨酯溶液,继续搅拌,再缓慢加入剩余20%纳米氧化硅粉末,持续搅拌120~150min,即可得到凝胶状纳米碳化硅料浆,

上述各物质用量为:

$M_{\text{PEG2000}}:M_{\text{古龙酸}}:M_{\text{纳米碳化硅粉末}}:V_{\text{5\%的聚氨酯溶液}}=3\text{kg}:1\sim 2\text{kg}:5\sim 6\text{kg}:14\sim 15\text{L}$;

2) 在上述凝胶状纳米碳化硅料浆中加入真空泵油和吐温20,在700r/min的转速下搅拌

40~60min,后加入饱和硫酸钙溶液继续搅拌10~20min,再加入无水乙醇,搅拌80~100min后静置60~80min,待液面分层后,倾去上层泵油,收集烧杯底部的碳化硅微球,用浓度为40~50%乙醇和水将微球彻底清洗干净,在50~60℃下烘干,用80目标准筛将粘结在一起微球筛去,即可得到单分散的碳化硅陶瓷微球生胚,

上述各物质用量为: $M_{\text{纳米碳化硅粉末}}:M_{\text{真空泵油}}:M_{\text{吐温20}}:L_{\text{饱和硫酸钙溶液}}:L_{\text{无水乙醇}}=1\text{kg}:3\sim 4\text{kg}:0.5\sim 0.6\text{kg}:4\sim 5\text{L}:15\sim 20\text{L};$

3)采用高温马弗炉对碳化硅陶瓷微球生胚进行烧结,具体为:首先以10℃/min的速度将温度升至200℃,保温30min;接着以10℃/min的速度将温度升至300℃,保温30min,最后以5℃/min的速度将温度升至500℃,保温20min;自然冷却到室温即可得到多孔碳化硅微球;

4)将上述多孔碳化硅微球浸泡在10~20%聚苯乙烯-乙酸丁酯溶液中,在无菌条件,90~100℃下保温60~80min,之后使其缓慢冷却至室温,待聚苯乙烯凝胶凝固后,加纯化水进行研磨,筛去碎片即可得到内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料,

上述各物质用量为:

$M_{\text{多孔碳化硅微球}}:L_{10\sim 20\% \text{聚苯乙烯-乙酸丁酯溶液}}=1\text{kg}:3\sim 5\text{L}.$

8.按照权利要求1所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于,步骤(5)中,所述减压浓缩中,控制温度90~100℃,压力-0.1~0MPa。

9.按照权利要求1所述的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法,其特征在于,步骤(5)中,所述水洗是指用纯化水水洗1次,用量是辅酶Q10固体重量的5~10倍;所述干燥是指采用双锥回转真空干燥机干燥14~15h,干燥温度30~40℃,真空压力为-0.02~-0.08MPa,根据物料湿度调整运行频率为8~15HZ。

一种从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法

技术领域

[0001] 本发明属于抗氧化剂提取技术领域,特别是涉及一种从类球红细菌发酵产生的辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法。

背景技术

[0002] 辅酶Q10是一种脂溶性抗氧化剂,能激活人体细胞和细胞能量的营养,具有提高人体免疫力、增强抗氧化、延缓衰老和增强人体活力等功能,医学上广泛用于心血管系统疾病,国内外广泛将其用于营养保健品及食品添加剂。

[0003] 目前,国内相关文献中对于辅酶Q10的提取纯化,通常采用陶瓷膜过滤工艺和层析工艺,这两种提取方法各具优缺点。

[0004] 例如,中国专利《一种辅酶Q10提取方法及装置》(CN201911412590.8)采用的是陶瓷膜过滤工艺,其工艺过程为:将辅酶Q10发酵液经过滤得到的菌粉,分别经浸提和蒸干得到辅酶Q10粗品,然后经过小孔径陶瓷膜过滤、碱化、皂化反应和陶瓷微滤膜进行过滤处理,陶瓷微滤膜的浓缩液减压蒸馏除溶剂之后,得到辅酶Q10。该方法存在的问题是:

1、该方法在提取纯化前未对辅酶Q10的发酵液进行预处理,导致粗品中的杂质含量较高,超过了40%以上,不利于下游提取纯化工艺的继续进行。

[0005] 2、整个提取纯化工艺步骤较多,其中有2次膜过滤工序和皂化反应,导致提取周期较长,降低了生产效率。

[0006] 3、膜过滤和皂化反应并没有有效解决辅酶Q10杂质含量高的问题,特别是成品中的色素问题,影响了产品的品质。

[0007] 又如,中国专利《一种辅酶Q10的提取纯化方法》(CN201810796126.2)采用层析的方法提取纯化辅酶Q10,其工艺过程为:采用的工艺是萃取、沉淀、脱色和层析精制步骤,该技术达到的技术效果是产品辅酶Q10的纯度可达到99.8%以上,总收率可达到98.5%以上,但是存在的问题有:

1、提取过程中,分别采用了吸附工艺和层析工艺相结合,导致提取周期较长,生产效率较低。

[0008] 2、吸附工艺中吸附剂是活性白土、硅藻土和活性炭(至少一种),影响了产品的收率,使辅酶Q10收率下降了1~2%。

[0009] 3、层析工艺中使用的吸附剂是硅胶。辅酶Q10吸附过程中,发现硅胶吸附剂存在比表面积小、吸附量低、吸附效率低、吸附效果差等情况。在大生产的条件下,硅胶吸附剂用量很大,而且吸附周期时间较长,收集到的辅酶Q10经检测,杂质含量较高,超过了2%。

[0010] 4、该发明中实施例展现的规模较小,未能体现出工业化大生产达到的技术水平。依据该工艺进行了中试验证,菌渣的规模为50kg,经过三次提取和纯化,最终产品的平均收率在90~92%,纯度在93~95%,未能达到该专利所中阐述的技术水平。

[0011] 再如,中国专利《一种辅酶Q10纯品的制备方法》(CN201710606521.5)采用的工艺是:首先将辅酶Q10发酵液经陶瓷膜微滤和喷雾干燥得到粗品,然后将该粗品用丙酮浸提,

所得浸提液分相、减压浓缩得到辅酶Q10提取浓缩液，之后用石油醚萃取、硅胶柱层析、减压蒸馏浓缩洗脱液，最后加入辅酶Q10晶种结晶，减压干燥即可得到辅酶Q10纯品。该技术存在的问题是：

1、该技术中没有阐述工艺的技术效果，而且产品提取收率低。五个实施例中，提取总收率在73~7%，总收率较低。

[0012] 3、采用硅胶层析工艺，同专利《一种辅酶Q10的提取纯化方法》(CN201810796126.2)存在同样的问题。

[0013] 其它专利，例如《一种从菌渣中提取分离辅酶Q10的工艺》(CN201610481472.2)公开了一种从菌渣中提取制备高纯度辅酶Q10的工艺，该技术以菌渣为原料进行渗漉提取得辅酶Q10渗漉提取液，将辅酶Q10提取液经多级萃取进行除杂得萃余液，再将萃余液进行结晶处理，最终得到了纯度达98%以上的高纯度辅酶Q10，收率为95%以上。众所周知，渗漉工艺就是动态的浸提工艺。首先该专利没有阐述辅酶Q10发酵液预处理工艺，其次菌渣中的脂溶性杂质可以通过渗漉工艺进入有机溶液；最后采用多级萃取除杂，只能去除大部分杂质，杂质去除量有限。仅仅采取渗漉、多级萃取和结晶工艺，经验证，根本达不到专利中阐述的技术效果。

发明内容

[0014] 本发明的目的在于克服上述现有技术中的缺陷，提供一种有效提高辅酶Q10提取收率和含量，降低生产成本，且提取工艺简单的从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法。

[0015] 为实现上述目的所采取的技术方案为：

一种从辅酶Q10发酵液中提取辅酶Q10的方法，其特征在于其工艺步骤为：

(1) 预处理

将辅酶Q10发酵液用板框过滤，在得到的湿菌渣①中加入甲醇，搅拌、静置后过滤，所得湿菌渣②中加入水和亚硫酸钠，再次搅拌、静置后过滤，所得湿菌渣③经闪蒸干燥得到固体菌渣；

(2) 浸提

在上述固体菌渣中加入乙二醇-丁醚，搅拌、静置后过滤；

(3) 结晶

在过程(2)所得滤液中加入水，在30min内快速降温至0~5℃，搅拌、静置后过滤得到固体辅酶Q10；

(4) 溶解、层析

用醋酸丁酯将上述所得固体辅酶Q10溶解，然后加入到层析设备中，以醋酸丁酯为流动相，在流速3~5L/min条件下进行层析，收集显示黄色或橙黄色的液体，得到辅酶Q10醋酸丁酯溶液；

(6) 减压浓缩、水洗和干燥

将辅酶Q10醋酸丁酯溶液经减压浓缩、水洗、过滤、干燥后即可得到纯品辅酶Q10。

[0016] 步骤(1)中，所述甲醇用量按照 $V_{\text{甲醇}}:M_{\text{湿菌渣①}}=2\sim 6\text{L}:10\text{kg}$ 比例添加；所述水用量按照 $V_{\text{水}}:M_{\text{湿菌渣①}}=6\sim 10\text{L}:10\text{kg}$ 比例添加，亚硫酸钠用量按照 $M_{\text{亚硫酸钠}}:M_{\text{湿菌渣①}}=1\sim 2\text{g}:10\text{kg}$ 比例添加；所述静置时间控制在20~60min。

[0017] 步骤(2)中,所述乙二醇-丁醚用量按照 $V_{\text{乙二醇-丁醚}}:M_{\text{固体菌渣}}=4\sim 8\text{L}:1\text{kg}$;所述静置时间控制在180~220min。

[0018] 步骤(3)中,所述水用量按照 $V_{\text{乙二醇-丁醚}}:V_{\text{纯化水}}=1\text{L}:8\sim 12\text{L}$;所述静置时间控制在120~160min。

[0019] 步骤(4)中,所述固体辅酶Q10的溶解度控制在20~30%。

[0020] 步骤(4)中,所述层析设备中的玻璃柱高径比为5~6:1,填充剂为内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料,其用量为 $M_{\text{填充剂}}:M_{\text{辅酶Q10发酵液总量}}=2\sim 4\text{kg}:1\text{kg}$,其中 $M_{\text{辅酶Q10发酵液总量}}(\text{kg})=\text{发酵液单位}(\text{mg/L})\times\text{发酵液体积}(\text{m}^3)/1000$ 。

[0021] 所述内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料的制备工艺为:

1)将PEG2000、古龙酸溶于去离子水中,在磁力搅拌器缓慢搅拌状态下分3~5次将总量80%的纳米碳化硅粉末加入,混合均匀后,继续加入质量浓度为5%的聚氨酯溶液,继续搅拌,再缓慢加入剩余20%纳米氧化硅粉末,持续搅拌120~150min,即可得到凝胶状纳米碳化硅料浆,

上述各物质用量为:

$M_{\text{PEG2000}}:M_{\text{古龙酸}}:M_{\text{纳米碳化硅粉末}}:V_{\text{5\%的聚氨酯溶液}}=3\text{kg}:1\sim 2\text{kg}:5\sim 6\text{kg}:14\sim 15\text{L}$;

2)在上述凝胶状纳米碳化硅料浆中加入真空泵油和吐温20,在700r/min的转速下搅拌40~60min,后加入饱和硫酸钙溶液继续搅拌10~20min,再加入无水乙醇,搅拌80~100min后静置60~80min,待液面分层后,倾去上层泵油,收集烧杯底部的碳化硅微球,用浓度为40~50%乙醇和水将微球彻底清洗干净,在50~60℃下烘干,用80目标准筛将粘结在一起微球筛去,即可得到单分散的碳化硅陶瓷微球生胚,

上述各物质用量为: $M_{\text{纳米碳化硅粉末}}:M_{\text{真空泵油}}:M_{\text{吐温20}}:L_{\text{饱和硫酸钙溶液}}:L_{\text{无水乙醇}}=1\text{kg}:3\sim 4\text{kg}:0.5\sim 0.6\text{kg}:4\sim 5\text{L}:15\sim 20\text{L}$;

3)采用高温马弗炉对碳化硅陶瓷微球生胚进行烧结,具体为:首先以10℃/min的速度将温度升至200℃,保温30min;接着以10℃/min的速度将温度升至300℃,保温30min,最后以5℃/min的速度将温度升至500℃,保温20min;自然冷却到室温即可得到多孔碳化硅微球;

4)将上述多孔碳化硅微球浸泡在10~20%聚苯乙烯-乙酸丁酯溶液中,在无菌条件,90~100℃下保温60~80min,之后使其缓慢冷却至室温,待聚苯乙烯凝胶凝固后,加纯化水进行研磨,筛去碎片即可得到内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料,

上述各物质用量为:

$M_{\text{多孔碳化硅微球}}:L_{\text{10~20\%聚苯乙烯-乙酸丁酯溶液}}=1\text{kg}:3\sim 5\text{L}$ 。

[0022] 步骤(5)中,所述减压浓缩中,控制温度90~100℃,压力-0.1~0MPa。

[0023] 步骤(5)中,所述水洗是指用纯化水水洗1次,用量是辅酶Q10固体重量的5~10倍;所述干燥是指采用双锥回转真空干燥机干燥14~15h,干燥温度30~40℃,真空压力为-0.02~-0.08MPa,根据物料湿度调整运行频率为8~15HZ。

[0024] 本发明的技术优势体现在:

1、本发明首先对于辅酶Q10发酵液采用甲醇进行浸提(作用:采用有机溶剂浸提菌渣中的辅酶Q10)、亚硫酸钠(作用:辅酶Q10接触空气中的氧,存在氧化现象,加入亚硫酸钠,保护辅酶Q10,不易被氧化)等过程的预处理,然后用乙二醇-丁醚进行进一步的提取,从而使得

辅酶Q10的提取收率达到了98%。

[0025] 2、本发明采用低温结晶方式,有效去除了水溶性杂质,使得结晶收率在98%以上。

[0026] 3、本发明在层析过程中使用了新型合成的内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料作为填充剂,该填充剂能够有效分离辅酶Q10及杂质,并且层析周期较短,同硅胶填充剂(周期在18h以上)比较,周期缩短了7h左右。层析结束,收率可达到97%以上,有效含量达到了99%。

[0027] 综上所述,采用本发明方法,可使辅酶Q10成品有效含量达到99%,提取总收率达到95%。同目前国内常规工艺相比,本发明具有提取收率高,产品质量优,提取工艺简捷,生产成本低等优势,有利于增强产品的国内外市场竞争力。

具体实施方式

[0028] 下面用实例予以说明本发明,应该理解的是,实例是用于说明本发明而不是对本发明的限制。本发明的范围与核心内容依据权利要求书加以确定。

[0029] 下述实施例中,辅酶10 发酵液是采用类球红细菌发酵而成的,工艺为目前公开的技术。

[0030] 下述实施例中,层析设备的玻璃柱高径比为5: 1,填充剂为内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料,其用量为 $M_{\text{填充剂}}:M_{\text{辅酶Q10发酵液总量}}=3\text{kg}:1\text{kg}$,其中 $M_{\text{辅酶Q10发酵液总量}}(\text{kg})=\text{发酵液单位}(\text{mg/L})\times\text{发酵液体积}(\text{m}^3)/1000$ 。在使用前,先往玻璃柱中加入填充剂,醋酸丁酯加入柱中,浸润140min。浸润结束继续用醋酸丁酯冲洗2遍。层析过程中,流速控制在4L/min。

[0031] 上述内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料的制备工艺为:

1)将PEG2000、古龙酸溶于去离子水中,在磁力搅拌器缓慢搅拌状态下分4次将总量80%的纳米碳化硅粉末加入,混合均匀后,继续加入质量浓度为5%的聚氨酯溶液,继续搅拌,再缓慢加入剩余20%纳米氧化硅粉末,持续搅拌130min,即可得到颗粒分散均匀、料浆呈凝胶状的纳米碳化硅料浆,

$M_{\text{PEG2000}}:M_{\text{古龙酸}}:M_{\text{纳米碳化硅粉末}}:V_{\text{5\%的聚氨酯溶液}}=3\text{kg}:1\text{kg}:6\text{kg}:14\text{L}$;

2)在上述凝胶状纳米碳化硅料浆中加入真空泵油和吐温20,在700r/min的转速下搅拌60min,后加入饱和硫酸钙溶液继续搅拌15min,再加入无水乙醇,搅拌100min后静置70min,待液面分层后,倾去上层泵油,收集烧杯底部的碳化硅微球,用浓度为50%乙醇和水将微球彻底清洗干净,在50~60℃下烘干,用80目标筛将粘结在一起微球筛去,即可得到单分散的碳化硅陶瓷微球生胚,

上述各物质用量为: $M_{\text{纳米碳化硅粉末}}:M_{\text{真空泵油}}:M_{\text{吐温20}}:L_{\text{饱和硫酸钙溶液}}:L_{\text{无水乙醇}}=1\text{kg}:4\text{kg}:0.5\text{kg}:4.5\text{L}:17\text{L}$;

3)采用高温马弗炉对碳化硅陶瓷微球生胚进行烧结,具体为:首先以10℃/min的速度将温度升至200℃,保温30min;接着以10℃/min的速度将温度升至300℃,保温30min,最后以5℃/min的速度将温度升至500℃,保温20min;自然冷却到室温即可得到多孔碳化硅微球;

4)将上述多孔碳化硅微球浸泡在15%聚苯乙烯-乙酸丁酯(乙酸丁酯为溶剂)溶液中,在无菌条件,90~100℃下保温80min,之后使其缓慢冷却至室温,这样,多孔碳化硅微球中就

充满了聚苯乙烯溶液；待聚苯乙烯凝胶凝固后，取出沉积在底部的碳化硅微球，加纯化水进行研磨，加纯化水进行研磨，通过标准筛筛选和流化床去除聚苯乙烯碎片和破碎的碳化硅碎片，即可得到内部填充聚苯乙烯凝胶的多孔碳化硅微球复合料，待聚苯乙烯凝胶凝固后，上述各物质用量为：

M_{多孔碳化硅微球}：L_{10~20%聚苯乙烯-乙酸丁酯溶液}=1kg:4L。

[0032] 实施例1

辅酶Q10发酵液100m³，发酵单位2980mg/L，总量为298kg。

[0033] 辅酶Q10发酵液经板框过滤得到湿菌渣①23.2吨，加入甲醇4640L，搅拌并静置10min，过滤得到湿菌渣②。

[0034] 湿菌渣②中加入一次水13920L，并加入亚硫酸钠2.32kg，搅拌并静置20min，过滤得到湿菌渣③，经闪蒸干燥，得到固体菌渣4135kg，水分含量为1.9%。

[0035] 在固体菌渣中加入乙二醇-丁醚16540L，搅拌并静置180min，过滤后得到滤液。

[0036] 在所得滤液中加入纯化水132320L，在30min内快速降温至5℃，搅拌并静置120min，过滤后得到固体辅酶Q10 294kg，收率98%。

[0037] 在固体辅酶Q10加入醋酸丁酯1460L溶解，浓度控制在20%。

[0038] 层析设备中，玻璃柱直径0.5米，高2.5米，加入填充剂596kg。将经过醋酸丁酯处理的层析柱内加入辅酶Q10醋酸丁酯溶液，以醋酸丁酯为流动相，流速为3L/min。收集显示黄色或橙黄色的液体，得到辅酶Q10醋酸丁酯溶液。

[0039] 辅酶Q10醋酸丁酯溶液经减压浓缩得到辅酶Q10固体290kg，收率是98.6%。

[0040] 辅酶Q10固体中加入纯化水1420L，水洗60min，过滤后进行双锥干燥，得到纯品辅酶Q10 289.7kg。

[0041] 经测算，总收率：97.2%，成品有效含量98.4%。

[0042] 实施例2

辅酶Q10发酵液100m³，发酵单位2763mg/L，总量为276kg。

[0043] 辅酶Q10发酵液经板框过滤得到湿菌渣①22.8吨，加入甲醇6840L，搅拌并静置30min，过滤得到湿菌渣②。

[0044] 在湿菌渣②中加入一次水15960L，并加入亚硫酸钠2.74kg，搅拌并静置30min，过滤得到湿菌渣③，经闪蒸干燥，得到固体菌渣4024kg，水分含量为2.1%。

[0045] 在上述固体菌渣中加入乙二醇-丁醚20120L，搅拌并静置190min，过滤后得到滤液。

[0046] 在所得滤液中加入纯化水181080L，在30min内快速降温至4℃，搅拌并静置130min，过滤后得到固体辅酶Q10 272kg，收率98.5%。

[0047] 在固体辅酶Q10加入醋酸丁酯1232L溶解，浓度控制在22%。

[0048] 玻璃柱直径0.5米，高2.6米，加入填充剂678kg，将经过醋酸丁酯处理的层析柱内加入辅酶Q10醋酸丁酯溶液，以醋酸丁酯为流动相，流速为3.5L/min。收集显示黄色或橙黄色的液体，得到辅酶Q10醋酸丁酯溶液。

[0049] 将辅酶Q10醋酸丁酯溶液经减压浓缩得到辅酶Q10固体268.6kg，收率是98.7%。

[0050] 在辅酶Q10固体中加入纯化水1600L，水洗70min，过滤后进行双锥干燥，得到纯品辅酶Q10 268.5kg。

[0051] 经测算,总收率:97.3%,成品有效含量98.5%。

[0052] 实施例3

辅酶Q10发酵液100m³,发酵单位2860mg/L,总量为286kg。

[0053] 辅酶Q10发酵液经板框过滤得到湿菌渣①23.1吨,加入甲醇9240L,搅拌并静置40min,过滤得到湿菌渣②。

[0054] 在湿菌渣②中加入一次水18480L,并加入亚硫酸钠3.47kg,搅拌并静置40min,过滤得到湿菌渣③,经闪蒸干燥,得到固体菌渣4052kg,水分含量为2.2%。

[0055] 在所得固体菌渣中加入乙二醇-丁醚24312L,搅拌并静置200min,过滤后得到滤液。

[0056] 在滤液中加入纯化水243120L,在30min内快速降温至3℃,搅拌并静置140min,过滤后得到固体辅酶Q10 282kg,收率98.6%。

[0057] 在固体辅酶Q10加入醋酸丁酯1128L溶解,浓度控制在25%。

[0058] 玻璃柱直径0.5米,高2.8米,加入填充剂715kg,将经过醋酸丁酯处理的层析柱内加入辅酶Q10醋酸丁酯溶液,以醋酸丁酯为流动相,流速为4L/min。收集显示黄色或橙黄色的液体,得到辅酶Q10醋酸丁酯溶液。

[0059] 将所得辅酶Q10醋酸丁酯溶液经减压浓缩得到辅酶Q10固体278.6kg,收率是98.8%。

[0060] 在辅酶Q10固体中加入纯化水2230L,水洗80min,过滤后进行双锥干燥,得到纯品辅酶Q10 278.5kg。

[0061] 经测算,总收率:97.4%,成品有效含量98.7%。

[0062] 实施例4

辅酶Q10发酵液100m³,发酵单位2900mg/L,总量为290kg。

[0063] 辅酶Q10发酵液经板框过滤得到湿菌渣①23.3吨,加入甲醇11650L,搅拌并静置50min,过滤得到湿菌渣②。

[0064] 在湿菌渣②中加入一次水20970L,并加入亚硫酸钠4.19kg,搅拌并静置50min,过滤得到湿菌渣③,经闪蒸干燥,得到固体菌渣4101kg,水分含量为2.4%。

[0065] 在上述固体菌渣中加入乙二醇-丁醚28707L,搅拌并静置210min,过滤后得到滤液。

[0066] 在滤液中加入纯化水315777L,在30min内快速降温至2℃,搅拌并静置150min,过滤后得到固体辅酶Q10 286kg,收率98.5%。

[0067] 在固体辅酶Q10加入醋酸丁酯1020L溶解,浓度控制在28%。

[0068] 玻璃柱直径0.5米,高2.9米,加入填充剂1001kg,将经过醋酸丁酯处理的层析柱内加入辅酶Q10醋酸丁酯溶液,以醋酸丁酯为流动相,流速为4.5L/min。收集显示黄色或橙黄色的液体,得到辅酶Q10醋酸丁酯溶液。

[0069] 在所得辅酶Q10醋酸丁酯溶液经减压浓缩得到辅酶Q10固体282.3kg,收率是98.7%。

[0070] 在辅酶Q10固体中加入纯化水2500L,水洗90min,过滤后进行双锥干燥,得到纯品辅酶Q10 282.2kg。

[0071] 经测算,总收率:97.3%,成品有效含量98.5%。

[0072] 实施例5

辅酶Q10发酵液100m³,发酵单位2751mg/L,总量为275.1kg。

[0073] 辅酶Q10发酵液经板框过滤得到湿菌渣①22.1吨,加入甲醇16506L,搅拌并静置60min,过滤得到湿菌渣②。

[0074] 在湿菌渣②中加入一次水22100L,并加入亚硫酸钠4.42kg,搅拌并静置60min,过滤得到湿菌渣③,经闪蒸干燥,得到固体菌渣4085kg,水分含量为2.0%。

[0075] 在菌渣中加入乙二醇-丁醚32680L,搅拌并静置220min,过滤后得到滤液。

[0076] 滤液中加入纯化水392160L,在30min内快速降温至0℃,搅拌并静置160min,过滤后得到固体辅酶Q10 271kg,收率98.4%。

[0077] 在上述固体辅酶Q10加入醋酸丁酯903L溶解,浓度控制在30%。

[0078] 玻璃柱直径0.5米,高3米,加入填充剂1100kg,将经过醋酸丁酯处理的层析柱内加入辅酶Q10醋酸丁酯溶液,以醋酸丁酯为流动相,流速为5L/min。收集显示黄色或橙黄色的液体,得到辅酶Q10醋酸丁酯溶液。

[0079] 将辅酶Q10醋酸丁酯溶液经减压浓缩得到辅酶Q10固体267.2kg,收率是98.6%。

[0080] 在辅酶Q10固体中加入纯化水2500L,水洗90min,过滤后进行双锥干燥,得到纯品辅酶Q10 267.1kg。

[0081] 经测算,总收率:97.1%,成品有效含量98.4%。

[0082] 对比实施例1

辅酶Q10发酵液100m³,发酵单位2834mg/L,辅酶Q10总量为283.4kg。

[0083] 发酵液采用乙酸乙酯-甲醇溶剂浸提、蒸干后得到辅酶Q10粗产品278.9kg,收率是98.4%。辅酶Q10粗产品中加入非极性溶剂正己烷,使辅酶Q10溶解。

[0084] 采用小孔径陶瓷膜对得到的溶液进行过滤,去除不溶性杂质和大分子量杂质;本步骤中,小孔径陶瓷膜平均孔径1-100nm,优选5-10nm,将一些悬浮颗粒以及大分子的杂质滤除。

[0085] 在所得滤液中加入碱液,进行皂化反应;碱液是氢氧化钠、浓度是5wt%,碱液的加入量是滤液的0.4倍,温度控制在24℃。

[0086] 在皂化反应液中依次加入甲醇、乙醇、水,并且同时采用陶瓷微滤膜进行过滤处理,陶瓷微滤膜的浓缩液减压蒸馏除溶剂之后,得到辅酶Q10;加入的甲醇和乙醇的总体积量控制在皂化反应液体积5倍,加水水洗量控制在皂化反应液体积的1倍。采用经过了疏水改性处理微滤膜,微滤膜表面的水滴接触角的范围是100-160°。

[0087] 辅酶Q10成品258kg,经检测含量90.4%,收率是91.0%。

[0088] 对比实施例2

发酵菌体1000kg,辅酶Q10总量为71.2kg。连续逆流超声提取(提取剂5%乙酸乙酯-95%正己烷),提取液进入到动态循环低温蒸发浓缩器中蒸发浓缩,浓缩温度35℃,真空度-0.085MPa,得到辅酶Q10浸膏68.2kg,测的浸膏中辅酶Q10含量65.72kg,提取收率92.3%,辅酶Q10粗品含量为87.5%。

[0089] 对比实施例3

取辅酶Q10发酵液1m³(发酵单位2900mg/L),进陶瓷膜微滤膜(孔径0.1um)过滤,进料温度25℃左右,透析比1:1.5,浓缩倍数1.8倍,得到膜浆231L。

[0090] 将以上膜浆,经喷雾干燥,控制进风温度140~160℃,出风温度60~70℃,得到辅酶Q10粗品3.1kg,有效含量87.9%,收率91.3%。

[0091] 粗品中加入粗品重量3倍体积的丙酮,加入0.5‰(w/v)沸石,缓慢升温至49℃,回流2.0hr后,趁热经陶瓷滤芯过滤器过滤(孔径0.5um),滤渣再重复浸提一次,浸提条件不变。收集浸提液,转入分相罐中,加入15%(w/v)NaCl饱和液,温度28℃,搅拌30min,静置20min,收集上层清液,减压蒸馏,得到辅酶Q10提取浓缩物3.8kg,有效含量66.11%,收率92.2%。

[0092] 将以上丙酮浸提浓缩物加入石油醚溶解,加量为辅酶Q10浓缩物3.0倍体积,再加入等体积水,搅拌10min,静置,分水,收集石油醚层,进硅胶柱进行纯化分离,洗脱液为石油醚,进料速度以2BV/h,洗脱速度以1.5BV/h,进料温度25℃,收集含辅酶Q10段洗脱液,减压蒸馏,得到纯化辅酶Q10提取浓缩物2.8kg,有效含量80.5%,收率88%。

[0093] 将以上减压蒸馏浓缩洗脱液得到的纯化辅酶Q10浓缩物,加入其重量2倍体积无水乙醇,加热至48℃,搅拌溶解,趁热过滤;搅拌下,将过滤液缓慢降温至28℃,加入0.02%ow/v辅酶Q10晶种,加入去离子水至析出晶体,继续加入去离子水,总加水量为纯化辅酶Q10浓缩物重量3倍(978ml),温度控制20℃,保温9.0hr,过滤,湿晶体经减压干燥,得到辅酶Q10纯品2.2kg,含量98.0%,总收率75.8%。

[0094] 对比实施例4

称取菌渣(其中,辅酶Q10质量百分比为2.6%)1000g(0.06kg辅酶Q10),湿法装填入渗漉柱(Φ20.0×35cm)内,装填均匀后其堆积体积约为1300mL,10℃恒温浸泡2h,使其充分溶胀,开启渗漉柱出口阀,并同时从柱顶连续加入正己烷,控制流速2.5~3.0mL/min,直至收集的渗漉液体积为1250mL。按照以上步骤重复操作1次,得到渗漉液体积为2480mL,辅酶Q10含量0.023kg/L,收率是95.1%。

[0095] 将渗漉液浓缩除去溶剂,加正己烷溶解,配制成固形物浓度300mg/mL的溶液。进行三级错流萃取,每级加入等量N,N-二甲基甲酰胺作萃取剂。萃取结束,萃取总收率是89.6%

溶液冷却结晶24h后过滤,并用适量冷乙醇洗涤。充分抽干后,于30℃真空干燥6h,得0.044kg黄色辅酶Q10精品,纯度为98.0%,以菌渣中辅酶Q10为基准,整个工艺辅酶Q10的收率为74.2%。

[0096] 对比实施例5

辅酶Q10发酵液100m³,发酵单位2843mg/L,总量为2.84kg。

[0097] 发酵液经固液分离,烘干后将菌渣进行粉碎,得到菌渣4.2吨,与正己烷按质量比1:2混合,混匀后搅拌浸提,温度55℃,浸提1.5h,经微滤膜过滤,收集提取液和截留物;所述微滤膜为无机陶瓷膜,截留分子量为2000Da,过滤温度为40℃;

得到的提取液和碱醇溶液(1L溶液中含氯化钠80g、氢氧化钠20g、甲醇80mL,余量为水)按体积比1:2混合,振荡5min,静置分层,取有机相,在温度55℃,真空度0.04Mpa旋转蒸发浓缩,所得浓缩液用正己烷重溶;

所得液体进行硅胶柱层析,采用含3%(V/V)异丙醚的正己烷溶液进行洗脱,洗脱流速为每小时1倍柱体积,洗脱至无明显黄色为止;然后将所得辅酶Q10洗脱液在温度55℃,真空度0.04Mpa条件下减压浓缩;将所得浓缩液溶解于无水乙醇中,0℃下冷藏过夜,抽真空过滤得辅酶Q10胶体;最后在温度2℃条件下真空干燥,即得纯品辅酶Q102.4kg,纯度为98.01%;

收率86%。