

麦角甾醇原料筛选及制备工艺

刘秀继¹, 张国龙¹, 陈智仙^{1,2}, 陈 晖¹, 张 彦^{1,2,*}, 曹文扬¹, 何艳艳¹

(1. 酵母功能湖北省重点实验室, 湖北 宜昌 443003;

2. 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 湖北 宜昌 443003)

摘 要: 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 胞内麦角甾醇含量高, 在工业化大生产中得到广泛应用。该研究对不同来源的低价值原料进行收集, 筛选出麦角甾醇含量高的作为生产原料, 再通过半制备高效液相色谱和核磁共振谱对主要甾醇类杂质进行纯化和结构鉴定, 探索不同溶剂的结晶效果, 提升麦角甾醇产品纯度。结果表明, 酿酒酵母D1.10生产尾粉中麦角甾醇质量分数高达5.40%, 主要甾醇类杂质为22,23-二氢麦角甾醇, 最佳去除杂质的溶剂为甲苯-乙醇 (1:2, *V/V*), 用该溶剂进行2次结晶后, 麦角甾醇纯度达到99.01%, 杂质22,23-二氢麦角甾醇占麦角甾醇峰面积比例为0.83%, 整个制备工艺中麦角甾醇总收率达60.25%。综上, 酿酒酵母D1.10生产尾粉可用于麦角甾醇产品的制备, 能满足不同应用领域对低成本和高纯度的需求。

关键词: 麦角甾醇; 22,23-二氢麦角甾醇; 酿酒酵母; 杂质分析

Raw Materials Screening and Preparation Process of Ergosterol

LIU Xiuji¹, ZHANG Guolong¹, CHEN Zhixian^{1,2}, CHEN Hui¹, ZHANG Yan^{1,2,*}, CAO Wenyang¹, HE Yanyan¹

(1. Hubei Provincial Key Laboratory of Yeast Function, Yichang 443003, China;

2. National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Yichang 443003, China)

Abstract: The content of ergosterol in *Saccharomyces cerevisiae* cells was high, which had been widely used in industrial production. In this study, low-value raw materials from various sources were collected, and those with high ergosterol content were screened as production feedstocks. Subsequently, the main sterol impurities were purified and their structure were identified via semi-preparative high performance liquid chromatography and nuclear magnetic resonance spectroscopy. The crystallization effects of different solvents to improve the purity of ergosterol products were explored. The results showed that the ergosterol content in the production tail powder of *S. cerevisiae* D1.10 reached 5.40%. The main sterol impurity was identified as 22,23-dihydroergosterol, and the optimal solvent for impurity removal was toluene-ethanol 1:2 (*V/V*). After two rounds of crystallization with this solvent, the purity of ergosterol reached 99.01%, and the proportion of the impurity 22,23-dihydroergosterol relative to the peak area of ergosterol was 0.83%. The total yield of ergosterol in the entire preparation process reached 60.25%. In conclusion, the production tail powder of *S. cerevisiae* D1.10 could be used for the preparation of ergosterol, which could meet the demands for low cost and high purity in different application fields.

Keywords: ergosterol; 22,23-dihydroergosterol; *Saccharomyces cerevisiae*; impurity analysis

DOI:10.11882/j.issn.0254-5071.2026.04.031

中图分类号: TQ920; TS249.3

文献标志码: A

文章编号: 0254-5071 (2026) 04-0229-06

引文格式:

刘秀继, 张国龙, 陈智仙, 等. 麦角甾醇原料筛选及制备工艺[J]. 中国酿造, 2026, 45(4): 229-234. DOI:10.11882/j.issn.0254-5071.2026.04.031. <http://www.chinabrewing.net.cn>

LIU Xiuji, ZHANG Guolong, CHEN Zhixian, et al. Raw materials screening and preparation process of ergosterol[J]. China Brewing, 2026, 45(4): 229-234. (in Chinese with English abstract) DOI:10.11882/j.issn.0254-5071.2026.04.031. <http://www.chinabrewing.net.cn>

收稿日期: 2025-10-28

基金项目: 工信部产业基础再造和制造业高质量发展专项 (CEIEC-2023-ZM02-0084);

湖北省自然科学基金项目 (2024AFD135)

第一作者简介: 刘秀继 (1984—), 男, 工程师, 硕士, 研究方向为微生物发酵及功能产物提取。E-mail: liuxja@angelyeast.com

*通信作者简介: 张彦 (1975—), 男, 正高级工程师, 博士, 研究方向为食品营养与健康。E-mail: zhangyan@angelyeast.com

麦角甾醇是真菌细胞膜上的一种重要固醇类物质,它在细胞膜的结构稳定性、流动性调节、细胞解毒、营养运输等方面发挥着关键作用。麦角甾醇当前主要用途是合成VD₂等药品^[1],其次是合成芸苔素内酯等植物生长调节剂^[2],此外还能用于酿造^[3]、食品^[4]、保健品^[5]、化妆品^[6]、动物养殖^[7]、细胞培养^[8]等诸多领域。随着麦角甾醇的多领域应用,市场对其生产成本和产品质量提出更高要求,从成本角度看,推进麦角甾醇在酿造、食品等新领域的规模化应用需要更低的生产成本,从质量角度看,麦角甾醇纯度需要达到99%以上,且液相色谱检测单个杂质峰面积占麦角甾醇主峰面积比例小于1.0%时,才能实现全领域应用。作为VD₂药品生产原料的麦角甾醇对杂质要求较为严格,《中国药典2020》中对VD₂中杂质要求是液相色谱检测时单个杂质峰面积不得大于对照溶液主峰面积的0.5%,各杂质峰面积的和不得大于VD₂主峰面积1.0%,由于VD₂是麦角甾醇经光照反应生成,其部分杂质由麦角甾醇原料引入,需要在麦角甾醇生产过程中控制单个杂质峰面积占麦角甾醇主峰面积比例小于1.0%;作为无血清培养基原料的麦角甾醇对纯度有严格要求,中国生物发酵产业协会2025年发布的《培养基用麦角甾醇》团体标准征求意见稿中,麦角甾醇纯度要求达到99%以上,且产品生产全过程无动物源成分。

麦角甾醇来源包括香菇^[9-10]、金针菇^[11]及其他食用菌的子实体^[12-15],黑曲霉^[16-17]、青霉菌^[18]等发酵菌丝体以及酵母菌体^[19-24]等,由原料经皂化、萃取、结晶、干燥后得到。由于麦角甾醇生产原料价值一般较低,且不同原料制备麦角甾醇的工艺趋于一致,因此原料中麦角甾醇含量对生产成本起关键作用,需要筛选出高含量的原料以进一步降低生产成本;由于缺少麦角甾醇杂质分析和去除工艺相关研究,导致工业化生产中麦角甾醇纯度控制在99%以上相对困难,限制了麦角甾醇应用和市场拓展,急需技术上的突破。

本研究对市售富含麦角甾醇的低价值原材料进行收集,筛选出含量最高的原料进行麦角甾醇的制备,同时对原料中主要甾醇类杂质结构、代谢途径和去除工艺开展系统研究,分析麦角甾醇制备过程中杂质变化及潜在机理,从而建立成本更低、质量满足全领域应用的麦角甾醇制备途径,为工业化大生产提供指导。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

香菇、平菇、金针菇子实体(取无法食用的部分烘干得到下脚料) 市购;产糖化酶黑曲霉(*Aspergillus niger*) 20036、产柠檬酸黑曲霉(*Aspergillus niger*) A1.25(取发酵结束后过滤的菌丝体烘干得到菌渣)

安琪酶制剂(宜昌)有限公司;产青霉素产黄青霉(*Penicillium chrysogenum*) d7.64(取发酵结束后过滤的菌丝体烘干得到菌渣) 中国农业微生物菌种保藏管理中心;酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*) A2.33、b3.2、D1.10(取发酵结束菌体干燥时产生的尾粉,其主要成分是活性干酵母) 安琪酵母股份有限公司。

乙醇、甲苯、氢氧化钠(均为分析级) 西陇科学股份有限公司;麦角甾醇标准品(纯度98%)、22,23-二氢麦角甾醇标准品(纯度95%) 上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

LC-40半制备高效液相色谱(semi-preparative high performance liquid chromatogram, SP-HPLC)仪 株式会社岛津制作所;AV-400核磁共振仪 德国Bruker公司;DC-NSG20多功能反应釜 上海达程实验设备有限公司;N-1300旋转蒸发仪(1 L)、N-3100旋转蒸发仪(10 L) 东京理化器械株式会社;DP43C真空干燥箱 雅马拓科学株式会社;ME204电子天平 瑞士梅特勒-托利公司;FSJ-A05N6磨粉机 小熊电器股份有限公司。

1.3 方法

1.3.1 麦角甾醇含量及纯度测定

采用SP-HPLC进行麦角甾醇含量及纯度检测。

色谱条件:进样量为10 μ L, Inertsil ODS-3色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m),柱温为37 $^{\circ}$ C,流动相为甲醇-水(97:3),流速1.00 mL/min,检测波长282 nm。

麦角甾醇定性定量:称取一定量的麦角甾醇标准品,用乙醇溶解后配制不同质量浓度的麦角甾醇,用0.22 μ m有机微孔滤膜过滤后检测,以测得的峰面积分别对应麦角甾醇的质量浓度绘制标准曲线,采用外标法计算样品中麦角甾醇含量。

麦角甾醇纯度测定:根据SP-HPLC计算麦角甾醇峰面积占所有峰面积之和的百分比,即为麦角甾醇纯度。

1.3.2 麦角甾醇杂质结构分析

采用核磁共振仪对样品进行核磁氢谱表征。氘代试剂为含有内标四甲基硅烷(tetramethylsilane, TMS)的氘代三氯甲烷(CDC₃),在400 MHz的共振频率条件下检测并分析其结构。

1.3.3 麦角甾醇生产原料筛选

取1.1节中不同来源的材料在磨粉机中粉碎,50目筛网过筛后待测。称取待测样0.10 g至25 mL的玻璃螺口试管中,加入3.00 mL皂化剂(20%氢氧化钠溶液与95%乙醇按体积比5:3混合),旋紧盖子,90 $^{\circ}$ C水浴皂化2 h。取出试管,避光室温冷却后加95%乙醇定容,摇匀,静置,用0.22 μ m有机微孔滤膜过滤,采用1.3.1节的SP-HPLC法对不同样品中麦角甾醇进行定量,并优选出高含量原料。

1.3.4 酿酒酵母D1.10中麦角甾醇杂质提取、纯化及鉴定

取16.00 g生产尾粉，加水控制干物质15%左右，向尾粉水溶液中加入4.80 g氢氧化钠，95~100 °C搅拌皂化8 h，固液分离，收集固相。向固相中加入280 mL 95%乙醇，升温至75~80 °C反应2 h，固液分离，收集液相得到杂质提取液。提取液在60 °C下真空浓缩至原体积的1/2~1/3后，用SP-HPLC在甲醇/水体系中进行杂质纯化，收集杂质出峰时段的溶剂在60 °C下真空浓缩至固体状后，转移到真空干燥箱，60 °C干燥2 h，得到杂质粉体。将杂质进行核磁共振分析，并对其结构进行推导和验证。

1.3.5 酿酒酵母D1.10中麦角甾醇杂质去除

取160.00 g酿酒酵母D1.10生产尾粉，加水控制干物质为15%左右，向尾粉水溶液中加入48 g氢氧化钠，95~100 °C搅拌皂化8 h，固液分离，收集固相。向固相中加入2 800 mL 95%乙醇，升温至75~80 °C反应2 h，固液分离，收集液相。液相60 °C真空浓缩至固体状后，加入480 mL甲苯和480 mL水，溶解残余物，搅匀后静置分层，分液去水相后再次加水洗涤甲苯相至无色，甲苯相浓缩至固体后，转移到真空干燥箱60 °C干燥2 h，得到麦角甾醇粗品。

取上述麦角甾醇粗品1.00 g，分别加入乙醇或体积比1:2、1:1、2:1的甲苯-乙醇体系共4组不同结晶溶剂，溶剂的添加量分别为40、14、12 mL和10 mL，以75~80 °C能刚好溶解麦角甾醇为宜，升温至全部溶解后，自然降温至室温后进一步降温至5 °C左右，保温结晶2 h，过滤后得到麦角甾醇一次结晶，参照上述结晶步骤进行二次结晶，得到高纯度麦角甾醇，分析不同溶剂结晶对杂质比例及麦角甾醇收率的影响。

1.3.6 20 L反应釜中酵母源麦角甾醇制备

在20 L多功能反应釜中进行高纯度麦角甾醇制备工艺验证。取1.00 kg酿酒酵母D1.10生产尾粉，加水控制干物质为15%左右，向上述尾粉水溶液中加入0.30 kg氢氧化钠，95~100 °C搅拌皂化8 h，固液分离，收集固体。向固相中加入17.50 L 95%乙醇，升温至75~80 °C反应2 h，固液分离，收集液相。液相60 °C真空浓缩至固体状，加入3.00 L甲苯和3.00 L水，溶解残余物，搅匀后静置分层，分液去水相后再次加水洗涤甲苯相至无色，甲苯相浓缩至固体状后，加入0.20 L甲苯和0.40 L乙醇后，升温至75~80 °C使其溶解完全，自然降温至室温后进一步降温至5 °C左右，保温结晶2 h，过滤后得到麦角甾醇一次结晶，参照上述结晶步骤进行二次结晶，结晶固相真空干燥箱60 °C干燥2 h后得到高纯度麦角甾醇。

1.3.7 数据计算

麦角甾醇制备过程中的关键工序包括乙醇萃取、甲苯萃取、一次结晶、二次结晶等，每个单一工序中麦角甾醇收率(R_1)，22,23-二氢麦角甾醇去除率(R_2)和

22,23-二氢麦角甾醇占麦角甾醇峰面积比例(R_3)按式(1)~(3)计算；麦角甾醇得率(R_4)按式(4)计算；麦角甾醇总收率以所有单一工序麦角甾醇收率乘积计算。

$$R_1/\% = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \quad (1)$$

$$R_2/\% = \frac{s_1/s_2 - s_3/s_4}{s_1/s_2} \times 100 \quad (2)$$

$$R_3/\% = \frac{s_3}{s_4} \times 100 \quad (3)$$

$$R_4/\% = \frac{m_4}{m_3} \times 100 \quad (4)$$

式中： m_1 为单一工序处理前麦角甾醇质量/g； m_2 为单一工序处理后麦角甾醇质量/g； s_1 为单一工序处理前22,23-二氢麦角甾醇HPLC峰面积/(mAU·min)； s_2 为单一工序处理前麦角甾醇HPLC峰面积/(mAU·min)； s_3 为单一工序处理后22,23-二氢麦角甾醇HPLC峰面积/(mAU·min)； s_4 为单一工序处理后麦角甾醇HPLC峰面积/(mAU·min)； m_3 为酵母生产尾粉质量/g； m_4 为全部工序处理完成后麦角甾醇质量/g。

1.4 数据处理

采用Minitab软件进行实验数据记录及分析，利用KingDraw软件绘图和分析。

2 结果与分析

2.1 麦角甾醇生产原料筛选

为尽可能降低麦角甾醇生产成本，实验中选取的9种原料遵循如下原则：原料易获得，能满足麦角甾醇工业化生产需求；原料来源为生活废弃物、工业生产固废或低价值原料，从而实现资源化利用。原料中香菇、平菇、金针菇均已实现了人工规模化种植，采样时主要取根茎处无法食用的下脚料；黑曲霉与产黄青霉均是发酵结束后分离的菌渣，一般作固废或危废；酵母选取已经实现工业化生产的酿酒酵母生产尾粉，其主要成分是活性干酵母，但活细胞数低，无法高值化利用。

由表1可知，酿酒酵母D1.10在所有原料中麦角甾醇含量最高，达到5.40%，但同属于酿酒酵母的A2.33和b3.2麦角甾醇质量分数分别为3.50%和0.66%，说明不同的酿酒酵母间麦角甾醇含量也存在较大差异；非酵母原料中产黄青霉d7.64和金针菇麦角甾醇质量分数分别为1.43%和1.04%，属于较高水平，但与酿酒酵母D1.10比较还是存在差距。张新月等^[13]测定10种食用菌中麦角甾醇质量分数，其中香菇中质量分数最高，为0.42%，易承学等^[11]检测金针菇中麦角甾醇质量分数为0.31%，刘玲等^[18]检测青霉菌菌丝体中麦角甾醇质量分数最高，

为1.20%，黄时海等^[22]检测甘蔗糖蜜发酵中酿酒酵母菌体干基中麦角甾醇质量分数最高，为2.39%。文献报道的不同原料麦角甾醇含量与本研究检测值存在一定差异，但酵母中麦角甾醇含量也明显高于其他原料，且优势明显。鉴于酿酒酵母D1.10生产尾粉中麦角甾醇含量最高，成本优势明显，后续实验中均以该原料进行麦角甾醇制备工艺研究。

表1 不同原料中麦角甾醇含量
Table 1 Contents of ergosterol in different raw materials

原料	来源	麦角甾醇质量分数/%
香菇	下脚料	0.20
平菇	下脚料	0.50
金针菇	下脚料	1.04
黑曲霉20036	产糖化酶菌渣	0.53
黑曲霉A1.25	产柠檬酸菌渣	0.59
产黄青霉d7.64	产青霉素菌渣	1.43
酿酒酵母b3.2	生产尾粉	0.66
酿酒酵母D1.10	生产尾粉	5.40
酿酒酵母A2.33	生产尾粉	3.50

2.2 酿酒酵母D1.10中麦角甾醇杂质分析

由图1可知，在波长282 nm条件下，麦角甾醇保留时间为18.430 min，最大的杂质峰保留时间为21.968 min，其他杂质保留时间为16.801、13.589 min等，对保留时间为21.968 min的主要杂质开展研究。

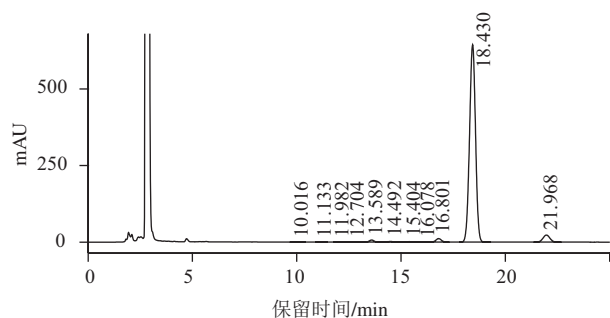


图1 酿酒酵母D1.10中麦角甾醇及杂质的HPLC图
Fig. 1 High performance liquid chromatogram of ergosterol and impurities in *Saccharomyces cerevisiae* D1.10

对SP-HPLC得到保留时间为21.968 min的杂质进行核磁共振谱检测。该杂质为白色固体粉末，其氢谱信号与麦角甾醇氢谱类似，低场区仅有2组信号 δ 5.56 (dd, $J=5.8, 2.5$ Hz, 1H)，5.38 (dt, $J=5.7, 2.8$ Hz, 1H)，可能为共轭双键烯碳氢信号，化学位移 δ 3.63 (m, 1H)的氢信号为甾醇A环羟基碳氢的信号， δ 2.46 (ddd, $J=14.3, 4.8, 2.3$ Hz, 1H)，2.28 (ddq, $J=14.0, 11.5, 2.2$ Hz, 1H)的氢信号是共轭双键的烯丙位碳氢信号，高场区有6个明显的甲基氢信号， δ 1.03 (d, $J=6.6$ Hz, 3H)，0.94 (s, 3H)，0.91 (d, $J=6.9$ Hz, 3H)，0.82 (t, $J=6.4$ Hz, 6H)，0.62 (s, 3H)；其余氢信

号均位于 δ 1.15~2.16之间，表明该杂质中存在多个亚甲基信号，即存在甾体结构和直链结构；通过查阅文献并与标准品进行比对，发现该杂质与22,23-二氢麦角甾醇结构数据^[25]一致，确定该杂质为22,23-二氢麦角甾醇。该杂质的核磁共振谱数据如下： ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 5.56 (dd, $J=5.8, 2.5$ Hz, 1H)，5.38 (dt, $J=5.7, 2.8$ Hz, 1H)，3.63 (m, 1H)，2.46 (ddd, $J=14.3, 4.8, 2.3$ Hz, 1H)，2.28 (ddq, $J=14.0, 11.6, 2.3$ Hz, 1H)，2.09~2.01 (m, 2H)，2.01~1.93 (m, 1H)，1.79~1.57 (m, 4H)，1.53~1.43 (m, 2H)，1.30 (m, 6H)，1.03 (d, $J=6.6$ Hz, 3H)，0.94 (s, 3H)，0.91 (d, $J=6.9$ Hz, 3H)，0.82 (d, $J=6.5$ Hz, 6H)，0.62 (s, 3H)。

对酵母中22,23-二氢麦角甾醇代谢途径进行分析。甾醇类物质代谢均起源于乙酰辅酶A，乙酰辅酶A先合成角鲨烯，再经15步转化得到麦角甾醇^[26]。从角鲨烯到麦角甾醇和22,23-二氢麦角甾醇的代谢途径见图2，麦角甾醇与22,23-二氢麦角甾醇拥有共同的前体5-脱氢表皮固醇，从5-脱氢表皮固醇到麦角甾醇合成反应分2步，即先由ERG5基因编码的甾醇去饱和酶催化得到24,28-去氢麦角甾醇，再由ERG4基因编码的甾醇还原酶催化得到麦角甾醇；从5-脱氢表皮固醇到22,23-二氢麦角甾醇合成需要一步反应，即5-脱氢表皮固醇直接由ERG4基因编码的甾醇还原酶催化得到。因此，ERG4基因的表达水平会同时影响麦角甾醇和22,23-二氢麦角甾醇的合成，二者呈正相关，因此22,23-二氢麦角甾醇是麦角甾醇主要杂质。

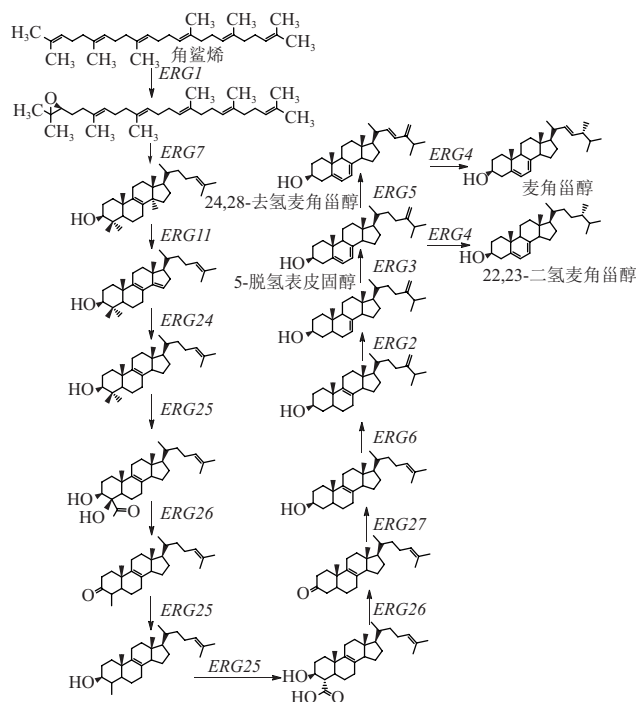


图2 麦角甾醇及杂质的代谢途径

Fig. 2 Metabolic pathways of ergosterol and its impurities

2.3 不同结晶体系对麦角甾醇收率的影响

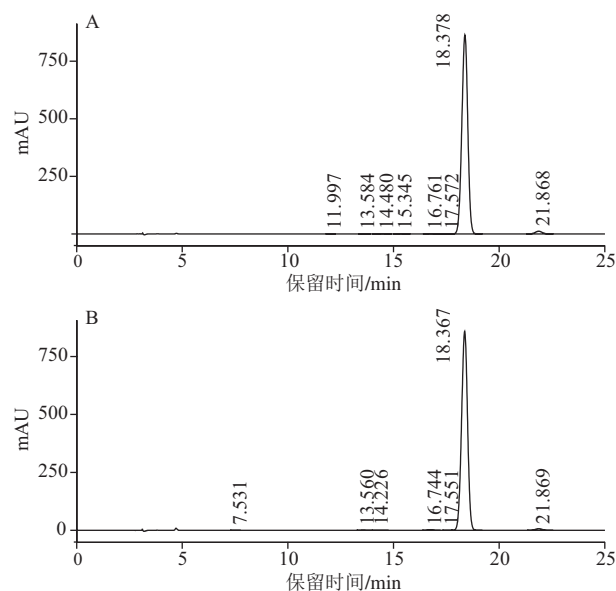
22,23-二氢麦角甾醇在蘑菇^[11]、虫草^[25]中已有相关报道,其为VD₄合成前体。与麦角甾醇理化性质类似,22,23-二氢麦角甾醇不溶于水,但溶于有机溶剂,且在大部分有机溶剂中的溶解度与麦角甾醇存在差异,因此考虑通过结晶的方法进行去除。

麦角甾醇工业化大生产中通常采用甲苯和乙醇混合溶剂进行结晶,前期预试验也验证了这一结果,因此该研究重点考察了不同的甲苯和乙醇比例对22,23-二氢麦角甾醇去除效率的影响。由于22,23-二氢麦角甾醇峰面积小,为了准确反映其在结晶过程中的含量变化,采用22,23-二氢麦角甾醇占麦角甾醇峰面积的比例进行分析。酵母提取麦角甾醇粗品纯度为93.10%,22,23-二氢麦角甾醇占麦角甾醇峰面积比例为1.20%,由表2可知,当采用100%乙醇作为结晶溶剂进行二次结晶后,麦角甾醇纯度可以达到98.71%,22,23-二氢麦角甾醇占麦角甾醇峰面积比例降至0.93%,说明通过结晶的方式可以有效去除主要杂质,提升麦角甾醇纯度;当结晶溶剂中添加甲苯后,随着甲苯比例的不断提升,麦角甾醇的纯度呈升高趋势,22,23-二氢麦角甾醇占麦角甾醇峰面积比例呈下降趋势,说明结晶溶剂中添加甲苯后去除杂质效率更高,麦角甾醇纯度得到进一步提升,达到99%以上,分析与甲苯对甾醇类物质有更高的溶解度有关。从麦角甾醇收率看,随着结晶溶剂中甲苯比例提升,收率呈下降趋势,分析与结晶母液中麦角甾醇残留量增加有关。考虑到麦角甾醇实现全领域应用的纯度需要达到99%以上,单个杂质峰面积占麦角甾醇主峰面积比例应小于1.0%,且从成本考虑麦角甾醇收率越高越好,最终采用甲苯-乙醇(1:2,V/V)作为结晶溶剂。

表2 不同结晶体系中麦角甾醇及杂质变化
Table 2 Changes of ergosterol and impurities in different crystalline systems

结晶溶剂	工序	麦角甾醇 纯度/%	22,23-二氢麦角 甾醇占麦角甾醇 峰面积比例/%	麦角甾醇 收率/%
乙醇	一次结晶	97.96	1.05	86.5
	二次结晶	98.71	0.93	
甲苯-乙醇 (1:2,V/V)	一次结晶	98.12	0.96	81.4
	二次结晶	99.02	0.79	
甲苯-乙醇 (1:1,V/V)	一次结晶	98.19	0.88	72.3
	二次结晶	99.10	0.71	
甲苯-乙醇 (2:1,V/V)	一次结晶	98.42	0.80	64.2
	二次结晶	99.21	0.62	

甲苯-乙醇一次和二次结晶过程麦角甾醇及杂质HPLC图如图3所示。随着酿酒酵母D1.10中22,23-二氢麦角甾醇杂质的去除,其他杂质也随之降低,且对最终产品质量影响小,因此不再对其他杂质开展进一步的研究。



A.一次结晶; B.二次结晶。

图3 甲苯-乙醇(1:2)溶剂结晶过程中麦角甾醇及杂质的HPLC图

Fig. 3 High performance liquid chromatogram of ergosterol and impurities during the crystallization process of toluene-ethanol (1:2, V/V) solvent

2.4 20 L反应釜中酵母源麦角甾醇制备

由表3可知,从不同工序麦角甾醇收率来看,乙醇萃取、一次结晶和二次结晶过程收率在89.80%~92.33%之间,甲苯萃取收率最低,为80.20%,分析原因是甲苯相加水洗涤时麦角甾醇随部分杂质一起损失。从22,23-二氢麦角甾醇的去除率来看,酵母经乙醇萃取后22,23-二氢麦角甾醇占麦角甾醇峰面积比例从1.28%提升到1.33%,可能的原因是酵母中22,23-二氢麦角甾醇含量低,萃取更完全,而麦角甾醇含量相对高且萃取收率只有92.33%,从而导致了杂质在乙醇萃取液中富集。不同工序中甲苯萃取、一次结晶和二次结晶对22,23-二氢麦角甾醇的去除率分别为4.51%、22.83%和15.30%,说明杂质去除主要依靠结晶工艺,特别是第一次结晶效果更优,二次结晶杂质去除效率下降,分析与二次结晶时杂质浓度降低有关。

表3 酵母源麦角甾醇制备过程中主要指标的变化
Table 3 Changes in the main indexes of ergosterol from yeast during the preparation process

工序	麦角甾醇 纯度/%	麦角甾醇 收率/%	22,23-二氢麦角 甾醇占麦角甾醇 峰面积比例/%	22,23-二氢麦 角甾醇 去除率/%
酵母生产尾粉	92.30		1.28	
乙醇萃取	92.44	92.33	1.33	-3.90
甲苯萃取	93.10	80.20	1.27	4.51
一次结晶	98.12	89.80	0.98	22.83
二次结晶	99.01	90.61	0.83	15.30

综上,以酿酒酵母D1.10生产尾粉为原料,采用皂化、乙醇萃取、甲苯萃取、一次结晶、二次结晶和干燥工序处理后,得到麦角甾醇纯度为99.01%,22,23-二氢麦角甾醇

醇占麦角甾醇峰面积比例为0.83%，其纯度和杂质控制均达到预期目标，满足麦角甾醇全领域应用的质量要求。根据每步工序中麦角甾醇收率数据，计算该制备工艺麦角甾醇总收率为60.25%，根据1 kg生产尾粉得到32.53 g麦角甾醇，计算麦角甾醇得率为3.25%，与文献[27]报道的1.63%比较，为较高水平，可大幅降低麦角甾醇的生产成本。

3 结 论

本研究通过对不同原料筛选，获得麦角甾醇质量分数5.40%的酿酒酵母D1.10生产尾粉用于麦角甾醇生产，结构分析表明酿酒酵母D1.10中的主要甾醇类杂质为22,23-二氢麦角甾醇，与麦角甾醇受ERG4基因的调控，通过甲苯-乙醇（1:2，V/V）溶剂体系结晶可以有效去除22,23-二氢麦角甾醇及其他杂质，可得到99.01%高纯度的麦角甾醇，22,23-二氢麦角甾醇占主峰面积比例为0.83%，能够满足麦角甾醇全领域应用的质量要求，该研究也能为麦角甾醇工业化大生产提供借鉴。随着麦角甾醇应用领域的不断拓展，酵母源麦角甾醇的需求量进一步扩大，为进一步突出产品优势，后续在高含量麦角甾醇和低杂质的菌种选育、发酵工艺中不同甾醇物质的基因表达与调控、提取纯化工艺中减排与绿色制造等领域有待开展更深入的研究。

参考文献：

- [1] KATRIN S, MARISSA H, ANDREA E, et al. Characterization of various isomeric photoproducts of ergosterol and vitamin D₂ generated by UV irradiation[J]. Eur Food Res Technol, 2022, 249(3): 713-726.
- [2] 孙陈铭, 蔡岩, 苗志伟. 新型绿色植物生长调节剂-芸苔素内酯的研究进展[J]. 化学教育, 2022, 43(6): 1-8.
- [3] PIVA G G, CASALTA E, LEGRAS J L, et al. Unveiling the power of adding sterols in wine: optimizing alcoholic fermentation with strategic management[J]. Int J Food Microbiol, 2023, 6: 110350.
- [4] WANG Y X, GUO Y H, DONG P F, et al. Water-in-oil Pickering emulsion using ergosterol as an emulsifier solely[J]. Food Res Int, 2024, 186: 114374.
- [5] SILLAPACHAIYAPORN C, WONGWAN C, MONGKOLPOBSIN K, et al. Ergosterol promotes neurite outgrowth, inhibits amyloid-beta synthesis, and extends longevity: *in vitro* neuroblastoma and *in vivo* *Caenorhabditis elegans* evidence[J]. Life Sci, 2024, 345: 122606.
- [6] TAOFIQ O, HELENO S A, CALHELHA R C, et al. Phenolic acids, cinnamic acid, and ergosterol as cosmeceutical ingredients: stabilization by microencapsulation to ensure sustained bioactivity[J]. Microchem J, 2019, 147: 469-477.
- [7] 周书伟, 张运强. 麦角甾醇在养猪上的应用研究进展[J]. 猪业科学, 2024, 41(10): 72-74.
- [8] YAJAIRA S, CARLOS F, BEATRIZ L, et al. Differential effects of ergosterol and cholesterol on Cdk1 activation and SRE-driven transcription[J]. Eur J Biochem, 2002, 269: 1761-1771.
- [9] 艾洪湖, 程艳芬, 云少君, 等. 香菇中麦角甾醇的提取纯化、表征及其抗氧化活性[J]. 食品研究与开发, 2024, 45(20): 25-34.
- [10] LIU Z T, DENG M F, QU Y, et al. An efficient extraction method for ergosterol from *Lentinus edodes* stem by ultrasonic-assisted natural deep eutectic solvent[J]. Microchem J, 2023, 190: 108589.
- [11] 易承学, 童珊珊, 徐希明, 等. HPLC法同时测定金针菇中麦角甾醇和22,23-二氢麦角甾醇的含量[J]. 江苏大学学报(医学版), 2014, 24(2): 126-128.
- [12] 王晗, 赵晓亚, 杨青, 等. 食用菌及食用菌制品中麦角甾醇的测定[J]. 中国口岸科学技术, 2025, 7(4): 84-92.
- [13] 张新月, 陈杭君, 牛犇, 等. UPLC-MS/MS柱前衍生对食用菌中麦角甾醇含量的影响[J]. 食品与机械, 2025, 41(6): 36-43.
- [14] 王晓琴, 黄秀丽, 陈月景, 等. HPLC测定真菌及其制品中麦角甾醇含量[J]. 农学学报, 2021, 11(4): 56-61.
- [15] 程洋洋, 惠靖茹, 郝竞霄, 等. 食用菌中麦角甾醇的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 349-354.
- [16] 有小娟, 刘家扬, 焦国宝. 黑曲霉菌渣综合利用研究进展[J]. 微生物学杂志, 2017, 37(5): 113-119.
- [17] 柯亚萍. 黑曲霉固体发酵产麦角固醇的研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2008.
- [18] 刘玲, 吴正奇, 王雄, 等. 青霉素菌丝体中麦角固醇分离和纯化研究[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 2013, 35(2): 232-235.
- [19] 班雯婷, 胡彪, 康佩姿, 等. 添加不同物质对法夫酵母生长及麦角甾醇合成的影响[J]. 食品科技, 2021, 46(4): 9-14.
- [20] LIU Y, ZHU X Q, LI W D, et al. Enhancing ergosterol production in *Pichia pastoris* GS115 by overexpressing squalene synthase gene from *Glycyrrhiza uralensis*[J]. Chin J Nat Medicines, 2015, 13(5): 338-345.
- [21] 杨莉, 关卫省, 白波, 等. 酿酒酵母摇瓶发酵生产麦角固醇的条件优化及提取方法研究[J]. 应用化工, 2009, 38(10): 1410-1412.
- [22] 黄时海, 李灿明, 夏小斌, 等. 甘蔗糖蜜发酵生产麦角固醇工艺研究[J]. 食品工业科技, 2009, 30(4): 147-152.
- [23] 王馨敏. 酿酒酵母诱变筛选麦角甾醇高产菌株及培养条件优化[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2024.
- [24] 喻雅琪. 基于转运调控的麦角甾醇酵母工程菌株的构建[D]. 天津: 天津科技大学, 2024.
- [25] AWANG W H, ZHUANG S S, CHEN B Y, et al. Comprehensive identification and discovery of novel sterol compounds in *Cordyceps sinensis* and related species[J]. Food Chem, 2025, 490: 45060.
- [26] CHIU J E, THEKKINIATH J, MEHTA S, et al. The yeast pantothenate kinase Cab1 is a master regulator of sterol metabolism and of susceptibility to ergosterol biosynthesis inhibitors yeast pantothenate kinase regulates ergosterol biosynthesis[J]. J Biol Chem, 2019, 294(40): 14757-14767.
- [27] 李媛, 李萌, 李双双, 等. 酵母菌中麦角固醇的提取和纯化工艺研究[J]. 军事医学, 2021, 45(3): 192-198.