大连市地方标准
《柞蚕蛹虫草多肽提取技术规程》
编制说明

一、工作简介

1.任务来源

本标准依据《关于下达 2023 年大连市地方标准立项计划的通知》（大市监〔2023〕31 号），项目名称为《柞蚕蛹虫草多肽提取技术规程》,立项编号：2023025。本标准由大连市农业农村局提出并归口。

2.制定标准的背景和意义

小分子活性多肽是近年来食品领域的研究热点，易消化利用、安全性高，具有降胆固醇、降血压、抗菌、抗氧化等多种功能。

大连地区拥有丰富的柞蚕资源，近年来，利用柞蚕蛹培育的蛹虫草生物活性成分种类多、含量丰富，既包含蛋白质、糖和脂肪等基本营养成分，又含有多种功能成分，如虫草素、虫草酸、虫草多糖等。经测定柞蚕蛹虫草中蛋白质含量高达 70%左右，以柞蚕蛹虫草为原料，采用酶解法提取活性多肽，可实现产品精深加工，为提高柞蚕蛹虫草资源的高值化利用具有良好的开发前景。制定一套科学、有效、易操作的柞蚕蛹虫草多肽提取技术规程，为大连柞蚕蛹虫草多肽标准化生产提供有力支撑。

3.起草单位

起草单位：辽宁省海洋水产科学研究院

4.主要工作过程

4.1 编制前的工作基础

本单位建有辽宁省柞蚕资源深加工利用工程技术研究中心，配备有先进的柞蚕资源深加工利用中试实验室，“十二五”以来，我们开展了柞蚕蛹虫草栽培关键技术与开发利用研究，建立了规模化柞蚕蛹虫草生产技术，并获授权“一种柞蚕蛹虫草的高效培育方法”的国家发明专利（ZL201811034151.3），编制了省地方地方标准“柞蚕蛹虫草生产技术规程”及大连市地方标准“柞蚕蛹虫草干品分类分级规程”。同时，开展了柞蚕蛹虫草的深加工利用研究，采用多种方法对柞

蚕蛹虫草进行水解试验，确定了酶解法制备柞蚕蛹虫草多肽的工艺，具备一定的工作基础和工作经验，为本标准的起草和制定提供必要的人才贮备和技术支撑，有利于项目的顺利实施。

4.2 标准编制过程

2023 年 5 月接到《柞蚕蛹虫草多肽提取技术规程》编制任务后，即组织了有关专业技术人员成立了标准编写小组，进行了项目分工，落实责任，对工作重点、工作进度做了具体安排。

（1）标准资料收集阶段：2023 年 6 月～2023 年 11 月。进行有关柞蚕蛹虫草多肽的省内外调研及国家标准、行业标准、地方标准和国外先进标准的联机检索工作。

（2）标准起草阶段：2023 年 1 2 月～2024 年 2 月。进行资料汇总分析，确立标准基本框架，并开展加工企业的调研、咨询和市场调查。总结相关企业的生产规范等技术资料，经起草小组成员的讨论、修改，完成了《柞蚕蛹虫草多肽提取技术规程》标准讨论稿。

（3）标准征求意见阶段：2024 年 2 月～2024 年 5 月。召开起草组会议对标准讨论稿进行修改，形成本文件征求意见稿和编制说明，同时面向企业、科研、大学、市场应用等部门和有关专家广泛征求意见，并在官方网站进行公示和征求意见。 标准公示后，汇总各相关部门反馈意见（见下表），逐条进行研讨，逐条确认，对标准内容进一步完善，送审标准管理部门。

章条编号	专家意见		修改情况(采纳/不采纳)	不采纳理由
	原稿	改为		
封面	Code of Cordyceps militaris	Code of practice for Cordyceps militaris	采纳	
1	本规程	本文件	采纳	

1	术语和定义、提取技术要求、包装及储存。	提取前准备、提取工艺、包装和标签标志、贮存、运输和质量管理。	采纳	
2	GB 30768 食品包装用纸与塑料复合膜、袋	补充	采纳	
2	DB2102/T 0075-2023	DB2102/T 0075	采纳	
3.1	柞蚕蛹 Chinese Oak Silkworm Pupae	删除	采纳	
3.1	柞蚕蛹虫草	柞蚕蛹虫草 Cordyceps of Chinese Oak Silkworm	采纳	
3.1	蛹虫草菌[Cordyceps militaris (L.)Link]	蛹虫草菌	采纳	
3.2	蛋白酶解	蛋白酶解 Proteolysis	采纳	
3.3	柞蚕蛹虫草多肽	柞蚕蛹虫草多肽 Cordyceps Polypeptide of Chinese Oak Silkworm	采纳	
3.3	以柞蚕蛹虫草为原料，在蛋白酶作用下生产的，相对分子质量在 5000 以下，主要成分为肽的粉末状物质。	柞蚕蛹虫草经蛋白酶降解后形成的 5000 Da 以下的小肽、多肽或氨基酸类粉末状物质。	采纳	
4	提取前准备	补充	采纳	

4	生产基本要求	删除	采纳	
4.1.1	柞蚕蛹虫草干品	无发霉、无虫蛀、无污染，水分含量不超过12%的柞蚕蛹虫草干品	采纳	
4.1.2	应符合 GB/T 23527 的规定。	蛋白酶应符合 GB/T 23527 的规定。	采纳	
4.1.3	应符合 GB 5749 的规定。	生产用水应符合 GB 5749 的规定。	采纳	
4.2	要求	删除	采纳	
4.2	设备应具备	删除	采纳	
4.2	冷冻干燥机	喷雾或冷冻干燥机	采纳	
4.2	设备	删除	采纳	
4.2	生产能力	生产规模要求	采纳	
4.3	生产工艺	删除	采纳	
5.1	将柞蚕蛹虫草干品粉碎	将柞蚕蛹虫草干品烘干至无水粉碎	采纳	
5.1	1：10～1：16 配比混匀备用	1：10～1：16 混匀备用	采纳	
5.2	采用水热或辅助方法将上述柞蚕蛹虫草水溶液放入酶解反应器中搅拌	将预处理的柞蚕蛹虫草水溶液放入酶解反应器中边搅拌边升温；	采纳	
5.2	3%～6%木瓜蛋白酶	2400u/ml	采纳	
5.2	在适宜条件下酶解	在 PH7.2，温度 55℃条件下酶解	采纳	

5.2	即得到柞蚕蛹虫草多肽酶解液	补充	采纳	
5.3	将上述酶解液	酶解液	采纳	
5.3	10000r/min	7000g/min	采纳	
5.3	即为柞蚕蛹虫草多肽溶液	删除	采纳	
5.4	将柞蚕蛹虫草多肽溶液	将上清液	采纳	
5.4	含水率不高于 6%。	删除	采纳	
6	包装	包装和标签标志	采纳	
6.1	使用符合相关规定的无毒、无害的包装材料	使用无毒、无害的包装材料	采纳	
6.1	包装材料应符合 GB 30768 的规定，	补充	采纳	
6.2	标签标志	补充	采纳	
6.2	产品标签应符合 GB7718 和 GB28050 的规定，外包装标志应符合 GB/T 191 的规定。	补充	采纳	
7	贮存、运输	补充	采纳	
7.1	0～-20℃	0℃以下	采纳	
8.1	产品的质量	产品质量	采纳	
8.2	按照生产车间规范化管理的要求	删除	采纳	

8.2	做好生产过程中各个阶段的记录并可追溯。	补充	采纳	

4.3 主要起草人及其所做工作

姓名	性别	职务/职称	工作单位	任务分工
陈星合	女	研究实习员	辽宁省海洋水产科学研究院	负责项目申报、试验研究和标准起草
史海波	女	教授	宁波职业技术学院	标准的内容设计、起草及编制说明等工作
都兴范	男	研究员	辽宁省海洋水产科学研究院	标准总体内容修改与校订
李亚洁	女	研究员	辽宁省海洋水产科学研究院	标准调查研究工作
温志新	男	副研究员	辽宁省海洋水产科学研究院	收集数据
王林美	女	副研究员	辽宁省海洋水产科学研究院	标准的验证、起草等工作
李学军	男	助理研究员	辽宁省海洋水产科学研究院	标准修改
米锐	女	副研究员	辽宁省海洋水产科学研究院	送审工作
赫健	男	研究实习员	辽宁省海洋水产科学研究院	文献收集工作

二、标准编制原则和确定地方标准主要内容的依据

1.标准编制原则

本标准编制过程中严格遵循以下原则：

（1）符合性原则 本标准以现有的国内行业标准和地方标准等有关资料为基础，结合我市柞蚕蛹虫草产业的实际情况，对柞蚕蛹虫草多肽提取技术进行规范，重点围绕着柞蚕蛹虫草多肽提取过程中关键的技术指标和环节编制而成，符合我国现阶段昆虫多肽的政策导向。

（2）协调性原则 在编制过程中，凡国家现行的行业标准及地方标准以及质量安全要求已有规定的，本标准力求与其保持一致，力求使本标准有一定的先进性、通用性和可操作性。

（3）科学性和适用性原则 本标准在编制过程中，对有关概念、定义和论证等内容的叙述尽可能清楚、确切，并开展过案例验证研究，对所拟标准进行印证，使得本标准执行起来尽可能易实现和可操作，充分满足使用要求。

2.标准主要内容的依据

《柞蚕蛹虫草多肽提取技术规程》包括 7 个部分：范围、规范性引用文件、术语和定义、提取前准备、提取流程、包装和贮存和质量管理。主要内容的依据如下：

（1）提取前准备

本节的规定依据国家 法规、标准、行业标准及地方标准，结合全市柞蚕蛹虫草生产特点，对柞蚕蛹虫草原料、蛋白酶、提取用水及设备进行了规范。

（2）提取流程

柞蚕蛹虫草多肽提取工艺流程包括：预处理、酶解、离心、浓缩、干燥 5 各环节，本节对柞蚕蛹虫草干品粉碎细度、料液比、加酶量、酶解反应条件、离心、浓缩及干燥要求进行规范，作为多肽提取过程中关键的技术指标，根据生产实践经验，符合适度规模的标准化生产要求。

（3）包装和贮存

规定了包装材料及密封性、产品贮存的场所及温度的要求。

（4）质量管理

对制备管理和生产档案进行了规范，本节规定依据国家法律法规及参考文献。

三、主要试验（或验证）的分析报告、相关技术和经济影响论证、预期的社会经济效益

1．主要试验（或验证）的分析报告、相关技术和经济影响论证

柞蚕(Antherae pemyi)属于鳞翅目(Lepidoptera)大蚕蛾科(Satumiidae)柞蚕属(Antheraea)的泌丝昆虫。柞蚕蛹作为可食用昆虫的一种，体内含有极为丰富的蛋白质是一种天然的蛋白源，目前被大量的应用于食品、药品等领域，深受消费者认可。柞蚕蛹虫草是将野生的蛹虫草真菌(Cordyceps militaris)接种到活的蚕蛹体内，并在合适的条件下长出的子实体。成熟柞蚕蛹虫草中含有 73%的蛋白，这些大分子蛋白质除了难以被人体直接吸收，还是一种常见的过敏原。目前，制备多肽方法主要有酸水解法、碱水解法、酶水解法、合成法等，其中，蛋白酶水解法因其反应条件温和及其高效性被广泛应用。因此，本文件建立的柞蚕蛹虫草多肽提取工艺可生产出易吸收、低敏性的柞蚕蛹虫草多肽，可为柞蚕蛹虫草类产品加工提供技术支撑。

（1）不同温度、时间、料液浓度对柞蚕蛹多肽水解度的影响

为考察各因素对柞蚕蛹蛋白水解度的影响，分别控制其他参数不变，通过单独改变酶解时间、酶解温度、料液比值、以及酶的浓度设置单因素实验。每组实验设置三组重复。

①温度是影响蛋白水解的关键因素之一。蛋白酶只有达到特定的温度下，才会具有最高效的酶解效率。在料液比 60g/L、酶浓度 3g/L、酶解时间 4h 的条件下，不同温度 30、40、50、60、70 ℃对柞蚕蛹多肽的水解度有很大差异。如图 1 所示，随着温度的升高，水解度呈现先升高后降低的趋势。在 50℃以下时，随着温度的升高水解度逐渐增加，这是由于温度升高使酶的活力增强进而影响反应速率，导致水解度增大。当达到 50 ℃左右时，温度持续升高但水解度随之下降，这是由于高温会破坏酶的结构，从而导致部分酶失活从而影响蛋白酶解的程度，50 ℃条件下可以达到较为理想的效果。

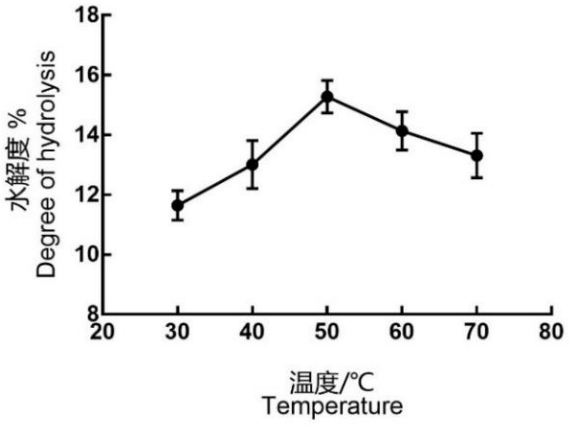

图 1 不同温度对柞蚕蛹虫草水解度的影响

②在使用 3g/L 浓度蛋白酶，水解温度 50 ℃，水解时间 5 h 的条件下，在料液浓度为 20、40、60、80g/L 的条件下，柞蚕蛹虫草多肽的水解度如图 2 所示。当料液质量浓度逐渐增加，柞蚕蛹虫草的水解度呈现出先降低后升高的趋势，当料液浓度增加到 80g/L 时，蛋白质的水解度达到最低。继续增加料液浓度，发现水解度出现短暂的上升趋势。当料液浓度为 20g/L 时，纯水的量在体系中占大部分，加快了液体的流动性，从而增加了酶与底物之间的接触面积，因此使得蛋白质的水解度增大。原料质量占比高的情况下，蛋白酶不能充分与物料发生反应，因此水解反应不彻底，影响柞蚕蛹虫草多肽的水解率，在实际生产

中，也会产生浪费原料的问题。因此综合成本角度与多肽得率考虑，后续实验中料液质量浓度选择 60g/L。

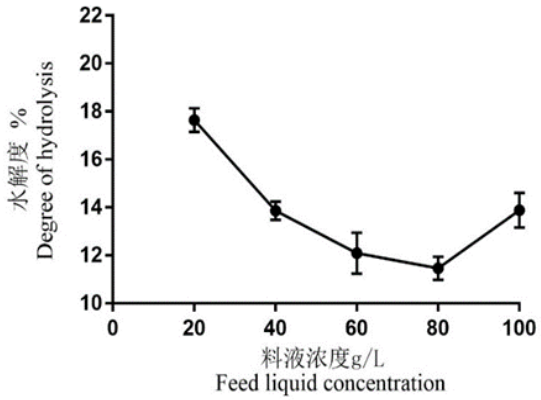

图 2 不同料液浓度对柞蚕蛹虫草水解度的影响

③如图 1 所示，当酶浓度在 1-3g/L 时，随着酶浓度的增加，蛋白质的水解度不断增大，在 3g/L 时出现峰值。随后显著下降后趋于平稳。由于底物浓度一定时，酶的添加量与反应速率成正相关；当酶与底物结合位点达到饱和后，增大酶的浓度，多肽水解度将不会随之而增大，反而会抑制酶活性，使得多肽的水解度开始下降。活性肽得率下降。因此从节约成本的角度考虑，选择加酶量为 3g/L，此时酶的活力单位为 80 万 u/g 即 2400u/ml 进行后续实验。

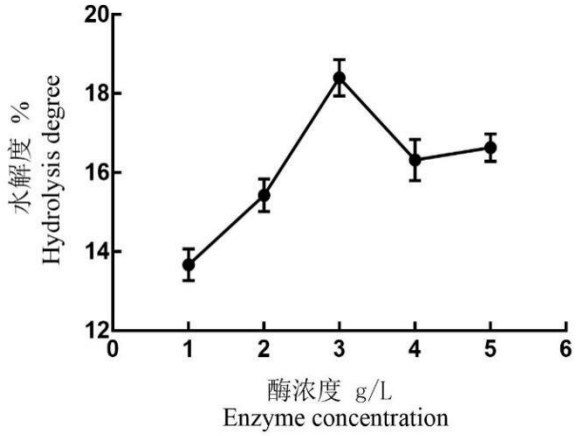

图 3 不同酶浓度对柞蚕蛹虫草水解度的影响

④在使用 3g/L 浓度蛋白酶，水解温度 50 ℃，60g/L 料液浓度的条件下，在酶解时间为 3、4、5、6、7 h 的条件下，柞蚕蛹虫草多肽的水解度如图 4 所示，随着时间延长，柞蚕蛹虫草水解度呈现出逐渐上升的趋势且波动幅度不大。当酶解时间从 3h 增加到 5h，水解度显著增加，当时间超过 5h 后，水解度稳定在 17%左右，证明酶解程度变化不大。这是由于在 3h 以前，随着时间增加，酶和

底物作用时间变长从而反应的更加充分，水解度随之增加左右，当时间延长至5h 以后，虫草粉内的蛋白已酶解充分，增加时间，水解度无显著变化。因此确定 5h 为最佳酶解时间。

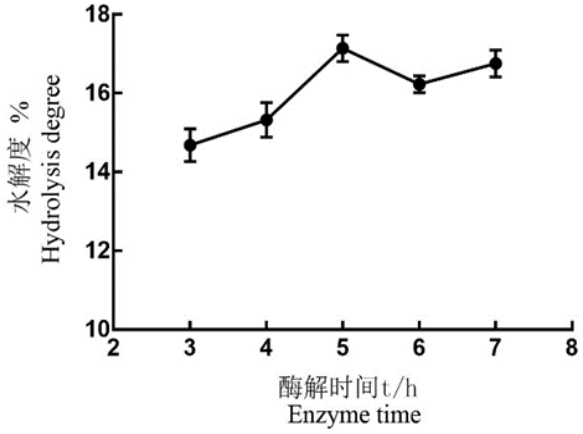

图 4 不同酶解时间对柞蚕蛹虫草水解度的影响

（2）结论：

对于柞蚕蛹虫草多肽提取工艺中，对提取效率影响显著的工艺参数的确认，相关试验的研究与探索，是其提取技术规范中技术指标重要的确立依据，我们得出，在加酶量 2400u/ml、料液浓度 60g/L 条件下，酶解温度 50℃作用 5h，可以达到较好效果。柞蚕蛹虫草多肽作为具有重大潜力的药食同源物质正被人们所广泛接受。本文件为质量要求较高的保健品、药品及化妆品等领域的初级原料的提供技术参考。

2.预期经济效果

柞蚕蛹虫草干品市场售价约 1200 元/公斤，经酶解后制备的柞蚕蛹虫草多肽市场售价约 4500 元/公斤，扣除柞蚕蛹虫草加工费用约 100 元/公斤，将增加纯收益 500 元/公斤。

大连庄河年产近 0.7 万吨柞蚕蛹蛹虫草，如果 30%用来提取柞蚕蛹虫草多肽,将新增纯收益 1.5 亿元，极大增加了农民收入，充分调动了相关产业农民的积极性，提高柞蚕蛹虫草经济价值，促进大连乃至辽宁柞蚕蛹虫草产业健康可持续发展。

四、与有关的现行法律、法规和国家标准、行业标准、地方标准的关系

在不增加柞蚕放养量与柞蚕蛹虫草栽培量的前提下，可增加养殖户的收入，

提取出的柞蚕蛹虫草多肽为保健品、药品及化妆品等领域提供了初级原料，实现农民增收，产业增效，进一步拓宽柞蚕蛹虫草的应用领域，符合国家发展大健康产业政策导向，并将有效带动相关产业的快速发展，同时与农业可持续发展的目标相一致。标准的制定，以现行的国家标准、国家行业标准等为依据，技术内容、指标、要求等与现行的法律、法规等相协调，不矛盾。

五、重大意见分歧的处理结果和依据

本标准的征求意见稿，广泛征求了有关专家、生产单位和相关部门的意见，根据本标准制定的原则，采纳了合理的意见和建议，完善了本标准的内容和结构。不同意见和分歧，根据标准制定的原则和目的协商解决，没有重大的分歧意见。

六、提出标准实施的建议

制定的《柞蚕蛹虫草提取技术规程》，可操作性强，通过本标准的实施可为柞蚕蛹虫草多肽提取提供标准。但是由于我省柞蚕蛹虫草多肽提取企业条件参差不齐，相应投入经费暂未列入财政预算，建议该标准暂时为推荐性标准。

七、其他应予说明的事项

无