

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.  
C12P 19/14 (2006.01)  
C12P 19/08 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810122318.1

[43] 公开日 2009年4月15日

[11] 公开号 CN 101407833A

[22] 申请日 2008.11.10

[21] 申请号 200810122318.1

[71] 申请人 浙江工业大学

地址 310014 浙江省杭州市下城区朝晖六区

[72] 发明人 杨开 孙培龙 何荣军

[74] 专利代理机构 杭州天正专利事务所有限公司  
代理人 黄美娟 冷红梅

权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图 1 页

[54] 发明名称

一种食用菌  $\beta$ -葡聚糖的制备方法

[57] 摘要

本发明提供了一种食用菌  $\beta$ -葡聚糖的制备方法，主要采用超声前处理，中性纤维素酶、半纤维素酶、中性蛋白酶混合酶酶解纤维素酶、半纤维素（如木聚糖，半乳聚糖，以及一些杂聚糖）和蛋白质（及肽类），在热水提取同时添加高温淀粉酶酶解淀粉类物质，通过后续的乙醇沉淀得到目标物，经 1 万截留量的膜超滤，进一步得到活性更佳的食用菌  $\beta$ -葡聚糖。本发明的有益效果主要体现在：采用本发明方法，食用菌  $\beta$ -葡聚糖产品纯度高（55.2%~82.3%），制备过程无有毒有害化学试剂残留，产品安全，技术条件温和，易于操作，适合所有食用菌  $\beta$ -葡聚糖制备，适用于工业化生产。

1. 一种食用菌 $\beta$ -葡聚糖的制备方法,所述方法包括:取粉碎至60~100目的食用菌子实体干燥粉末,加入质量为子实体粉末质量5~10倍的水,得到的料液于45KHz,单位功率50~80W/kg料液,室温超声处理10~30分钟,超声处理后的料液再加入质量为子实体干燥粉末质量10~20倍的水,并添加CaCl<sub>2</sub>至其浓度为100~300ppm,加入400~800 IU/g子实体干燥粉末的中性纤维素酶、600~1000 IU/g子实体干燥粉末的半纤维素酶和1000~2000 IU/g子实体干燥粉末的中性蛋白酶,40~60℃保温搅拌0.5~1.5小时后,加入200~500 IU/g子实体干燥粉末的高温淀粉酶,85~95℃保温搅拌1~2小时,冷却至室温,离心,取上清液,减压浓缩,浓缩液加入乙醇至乙醇体积浓度为60~80%进行醇沉,取沉淀加入质量为沉淀质量10~15倍的水复溶,以分子截留量为10000的膜超滤,截留液减压浓缩至原有体积的1/5~1/3,干燥,得到所述食用菌 $\beta$ -葡聚糖。
2. 如权利要求1所述的方法,其特征在于所用中性纤维素酶为液态中性纤维素酶,酶活10000~30000IU/mL。
3. 如权利要求1所述的方法,其特征在于所用半纤维素酶为液态半纤维素酶,酶活20000~40000 IU/mL。
4. 如权利要求1所述的方法,其特征在于所用中性蛋白酶为液态中性蛋白酶,酶活20000~40000IU/mL。
5. 如权利要求1所述的方法,其特征在于所用高温淀粉酶为液态高温淀粉酶,酶活10000~30000 IU/mL。
6. 如权利要求1所述的方法,其特征在于所述食用菌子实体为下列之一:香菇子实体、灰树花子实体、灵芝子实体、姬松茸子实体、桑黄子实体。

7. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述加入的乙醇为 90~98%乙醇水溶液。
8. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述 90~98%乙醇水溶液加入体积为浓缩液体积的 2~4 倍。
9. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述干燥为喷雾干燥。
10. 如权利要求 1 所述的方法,其特征在于所述方法如下:
  - (1) 取食用菌子实体, 60~100℃干燥, 粉碎至 60~100 目, 得食用菌子实体干燥粉末, 加入质量为子实体粉末质量 8~10 倍的水, 得到的料液于 45KHz, 单位功率 50~80W/kg 料液, 室温超声处理 20~30 分钟;
  - (2) 超声处理后的料液再加入质量为子实体干燥粉末质量 10~20 倍的水, 并添加  $\text{CaCl}_2$  至其浓度为 100~300ppm, 加入 400~800 IU/g 子实体干燥粉末的 20000 IU/mL 液态中性纤维素酶、600~1000 IU/g 子实体干燥粉末的 30000 IU/mL 液态半纤维素酶和 1000~2000 IU/g 子实体干燥粉末的 30000 IU/mL 液态中性蛋白酶, 40~60℃保温搅拌酶解 0.5~1.5 小时;
  - (3) 酶解液加入 200~500 IU/g 子实体干燥粉末的 20000 IU/mL 液态高温淀粉酶, 90~95℃保温搅拌 1~2 小时, 冷却至室温, 离心, 取上清液, 减压浓缩, 浓缩液加入 95%乙醇至乙醇体积浓度为 60~80%进行醇沉, 取沉淀加入质量为沉淀质量 10~15 倍的水复溶, 以分子截留量为 10000 的膜超滤, 截留液减压浓缩至原有体积的 1/5~1/3, 喷雾干燥, 得到所述食用菌  $\beta$ -葡聚糖。

## 一种食用菌 $\beta$ -葡聚糖的制备方法

### (一) 技术领域

本发明涉及一种食用菌 $\beta$ -葡聚糖的制备方法，尤其是食用菌中水溶性 $\beta$ -葡聚糖的制备方法。

### (二) 背景技术

活性多糖 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-葡聚糖广泛存在于自然界中，是细菌、酵母、真菌、食用菌、谷类和海藻的细胞壁组成成分。目前，国内外研究者已从食用菌中分离出了几百种具有抗肿瘤、增强免疫、抗衰老及抗氧化活性的多糖，在国际上，食用菌多糖被称为“生物应答效应器”(Biological Response Modifier)。经总结归纳，食用菌功能性多糖在决定性的一级结构上存在相对一致的关系，从菌体中提取的活性多糖一般由葡萄糖组成，而且葡萄糖主链上的 $\beta$ -1, 3-苷键和支链上的 $\beta$ -1, 6 苷键是抗肿瘤所必需的 (Methacanon et al. 2005; Mantovani et al. 2008), Bohn et al.1995, 以下该结构以 $\beta$ -1, 3/1, 6-葡聚糖表示。而 $\beta$ -1 $\rightarrow$ 2、 $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 及 $\alpha$ -构型的多聚糖则大多没有生物活性或活性很弱，同时 $\beta$ -1, 3/1, 6-葡聚糖在抗肿瘤之外的其他方面也显示了很好的活性。鉴于食用菌 $\beta$ -葡聚糖，尤其是 $\beta$ -1, 3/1, 6-葡聚糖的良好功效，目前在食用菌多糖国际市场上愈来愈认同以其含量或纯度作为质量评价和定价标准，

近几年来，国内外的 $\beta$ -葡聚糖制备或提取的专利和论文主要还集中在谷物类来源的青稞、燕麦、大麦和酵母这几种原料中；而对于食用菌来源的 $\beta$ -葡聚糖，只是对包括灵芝、灰树花、香菇、猴头菇等一些食用菌的多糖提取后的分离纯化，难以产业化。

在 $\beta$ -葡聚糖制备或提取方法及工艺路线方面,目前主要还集中在自溶法、酸法、碱法、酸碱法、酶法(用到其中几种单一酶,如淀粉酶、糖化酶、蛋白酶、纤维素酶和果胶酶)等,加水后浸提,通过调节pH、温度、料液比、提取时间等参数后,乙醇沉淀后得相应的葡聚糖。

由于原料来源各异,所应用的用途不一,作为医药保健食品中间体的食用菌 $\beta$ -葡聚糖的制备与上述的谷物类 $\beta$ -葡聚糖在方法不尽相同。如酸、碱法,不仅对生产时的机械设备有损伤,也对产品的食用安全性带来潜在危害,另外酸碱法提取时容易引起原有多糖链的降解,破坏结构,以及酸碱法提取的葡聚糖由于水溶性差,口服有效性也不佳。而传统的直接热水浸提,乙醇沉淀的食用菌多糖提取方法所得到的粗多糖,其中还有较多的蛋白质,以及一些纤维素、淀粉类及非 $\beta$ -1,3/1,6-的糖残基或连接键,一般食用菌粗多糖中多糖含量一般占粗提物的30~50%,而其中含有的活性 $\beta$ -葡聚糖纯度只占15~40%。也有文献报道采用Sevag法等有机溶剂去除其中粗多糖中所含的蛋白质,但同样存在有机溶剂潜在毒害残留和生产车间有机溶剂安全防爆问题。

按目前一个年产20吨规模的小型食用菌多糖生产厂家,若全部生产粗多糖,年产值只能达到1000万元,若能实现食用菌 $\beta$ -葡聚糖的高纯度制备,高 $\beta$ -葡聚糖含量的产品(纯度 $\geq 50$ )按目前市场价(2500-10000元/kg)的底价2500元/kg计算,就能使产值达到5000万元,经济效益显著。

目前尚无对应的食用菌 $\beta$ -葡聚糖制备或提取方法的论文和专利报道,较多的都是食用菌多糖提取。而相关的谷物类或酵母 $\beta$ -葡聚糖制备及提取主要集中在如下的代表性方法:

#### 一、已有可相对参考的 $\beta$ -葡聚糖的制备方法

## 1、谷物类 $\beta$ -葡聚糖的制备

①燕麦麸中 $\beta$ -葡聚糖的制备：燕麦麸→粉碎→过筛50目→脱脂（异丙醇和石油醚）→灭酶→加水搅拌提取（加酶去淀粉）→离心分离（残渣二次提取）→收集上清液→去蛋白（盐酸调等电点沉淀）→醇析→离心分离→干燥→葡聚糖粗品→硫酸铵纯化→离心分离→ $\beta$ -葡聚糖

在工艺路线中，用到异丙醇和石油醚有机溶剂和腐蚀性化学试剂HCl，增加产品安全性风险。

②莜麦中 $\beta$ -葡聚糖的制备：莜麦→清理筛选→粉碎→过筛→干燥→燕麦麸→去脂肪→灭酶→脱溶剂→粉碎→过筛(60目)→酶法去淀粉→碱提取→离心(4 000 r/min)→上清液（粗提液）→酶解去淀粉→酶解去蛋白质→醇析→离心→沉淀→干燥→ $\beta$ -葡聚糖粗品

在工艺路线中，用到碱提取，不仅对生产时的提取设备造成腐蚀影响，而且也增加了产品食用安全性风险，另外，对于食用菌来说除了淀粉和蛋白质外还要考虑去除非活性的纤维素类成分。

③大麦中 $\beta$ -葡聚糖的制备：大麦麸皮→加入1 mol/L NaOH (1：50)→室温下提取1 h→6 000 g 离心15 min→用1：50 的1 mol/L NaOH再次提取残渣并离心，合并上清液→用HCl 调节上清液至pH 6.5→加CaCl<sub>2</sub> 至终浓度为70 mg/L，加耐高温 $\alpha$ -淀粉酶1 mL/L，在96℃条件下搅拌保持1 h→冷却至室温，用HCl 调节pH 4.5→6 000 g 离心15 min；弃渣→加乙醇至终浓度为50%，4℃条件下过夜→6 000 g 离心15 min→把悬浮的粗制胶溶于水，用50%乙醇洗涤2次，离心，在水中轻轻混匀沉淀物→活性炭脱色2次，透析袋透析→冷冻干燥成粉状 $\beta$ -葡聚糖

用到NaOH和HCl，存在上述类似的安全问题。

## 2、酵母中 $\beta$ -葡聚糖的制备

### ①酸法提取

啤酒酵母渣→干燥→加入0.5mol/L乙酸溶液,在50℃下反应3h→离心处理→沉淀物水洗2次→然后用无水乙醇洗涤脱色→无水乙醚洗涤脱水→喷雾干燥→酵母β-葡聚糖

得到是酸不溶性葡聚糖,产品中蛋白质、甘露聚糖等杂质含量多,需进一步纯化,工艺复杂,对设备腐蚀损耗大。

### ②碱法提取

啤酒酵母→干燥→加入1mol/L氢氧化钠溶液,在90℃下水解反应3h→水解液过滤→沉淀物水洗2次→然后用无水乙醇洗涤脱色,无水乙醚洗涤脱水→喷雾干燥→酵母β-葡聚糖

该法得到是碱不溶性葡聚糖,多糖得率低但杂质含量少,污染较大,耗能较高,对设备腐蚀损耗大。

### ③碱-酶法

酵母粉经过水洗,脱色后→按照150 mL:10 g 的比例加入3%的NaOH溶液→在80℃水浴条件下水解2h→离心,洗涤→调整pH至8.5~9.0,再加入600 U/g 碱性蛋白酶(以干酵母粉计),在55℃下水解24h→离心→沉淀,干燥→β-(1,3)-D-葡聚糖成品

工艺复杂,用到碱液,不仅对设备腐蚀损耗大,而且增加了产品潜在安全性风险。

### ④自溶-碱-酶法

啤酒酵母→50℃自溶6h→添加100U/g 湿酵母木瓜蛋白酶,继续自溶18h后离心→沉淀用2%的NaOH溶液分散→于80℃水浴处理3h后离心→沉淀用蒸馏水清洗3~4次→真空冷冻干燥→粉碎得酵母β-葡聚糖

同样用到碱液,存在上述类似问题。

### 3、食用菌粗多糖脱蛋白后精制

工厂化食用菌粗多糖的制备工艺通常如下：食用菌子实体→60-100℃干燥 1-3h→粉碎→60~100 目过筛→加水（为原料的 20-40 倍重量）→热水提取 2-4h→冷却至室温→板框过滤或离心→清液→浓缩→加入终浓度为 70%~90%的乙醇→沉淀物加适量水分散（沉淀物重量的 3-5 倍）→喷雾干燥→食用菌粗多糖成品

常规食用菌粗多糖脱蛋白后精制：食用菌粗多糖成品→加 5-10 倍的水复溶→有机溶剂脱蛋白→蒸发去溶剂→精制

其中有机溶剂脱蛋白法包括：Sevag 法，Sevag 试剂（氯仿-正丁醇配制成体积比为 4：1 的混合液）与多糖比例 1：3 充分振荡后，去除下层蛋白质；三氯乙酸法。

该方法只是对其中的蛋白质进行了去除，对其中的纤维素、淀粉类物质没有针对性脱除，关键的是用到了氯仿、三氯乙酸等有一定毒性的有机溶剂，不仅成本高，而且虽经蒸发能去除大部分溶剂，但是免不了少量残留，考虑到产品食用时的安全性，不适合应用性生产。

### 4、食用菌 $\beta$ -葡聚糖分离纯化制备

食用菌粗多糖成品→加 5-10 倍的水复溶→用离子交换，凝胶层析等柱分离手段→分离纯化→结构鉴定→得到一定分子量的  $\beta$ -葡聚糖组分

该方法由于要用到柱层析方法，生厂应用投资大，操作要求高，生产效率低，而且还需进行产品结构鉴定，费时费力费钱。

### （三）发明内容

本发明根据食用菌原料的成分特性和应用安全性，目的是实现一种安全性好，通用性和生产实际应用性强，且纯度高（ $\geq 50\%$ ）的食用菌  $\beta$ -葡聚糖制备方法。



本发明采用的技术方案是：

一种食用菌 $\beta$ -葡聚糖的制备方法，所述方法包括：取粉碎至60~100目的食用菌子实体干燥粉末，加入质量为子实体粉末质量5~10倍的水，得到的料液于45KHz，单位功率50~80W/kg料液，室温超声处理10~30分钟，超声处理后的料液再加入质量为子实体干燥粉末质量10~20倍的水，并添加CaCl<sub>2</sub>至其浓度为100~300ppm，加入400~800 IU/g子实体干燥粉末的中性纤维素酶、600~1000 IU/g子实体干燥粉末的半纤维素酶和1000~2000 IU/g子实体干燥粉末的中性蛋白酶，40~60℃保温搅拌0.5~1.5小时后，加入200~500 IU/g子实体干燥粉末的高温淀粉酶，85~95℃保温搅拌1~2小时，冷却至室温，离心，取上清液，减压浓缩，浓缩液加入乙醇至乙醇体积浓度为60~80%进行醇沉，取沉淀加入质量为沉淀质量10~15倍的水复溶，以分子截留量为10000的膜超滤，截留液减压浓缩至原有体积的1/5~1/3，干燥，得到所述食用菌 $\beta$ -葡聚糖。

通常在醇沉是加入90~98%（体积浓度）的乙醇水溶液，加入的量是浓缩液的2~4倍（以体积计）。

由于目前尚无针对性的食用菌 $\beta$ -葡聚糖制备或提取方法，而上述可借鉴的方法均存在生产应用或安全性方面的问题。考虑到食用菌物质特性，本发明通过整合超声处理，多种酶酶解去杂，热水浸提，目标物乙醇沉淀后复溶，超滤去杂，喷雾干燥或冷冻干燥等技术方法，建立了一种安全、实用和通用性强且高纯度（ $\geq 50\%$ ）的食用菌 $\beta$ -葡聚糖制备工艺路线。

本发明主要采用超声前处理，中性纤维素酶、半纤维素酶、中性蛋白酶混合酶酶解纤维素酶、半纤维素（如木聚糖，半乳聚糖，以及一些杂聚糖）和蛋白质（及肽类），在热水提取同时添加高温淀粉酶酶解淀粉类物质，通过后续的乙醇沉淀得到目标物，经1万截留量的膜超滤，进一步得

到活性更佳的食用菌  $\beta$ -葡聚糖。

其中：①10~30min 的超声前处理，不仅有助于物料组织松散，以利于后续的酶解充分接触底物后有效去杂，而且也可以缩短最后的热水提取时间。

②考虑缩短酶解时间，采用混合酶酶解，考虑了3种酶相互之间合理酶解的温度，以及pH值与物料体系自然pH值的一致性，而且混合酶酶解去杂之后，如覆在物料表面的木聚糖等半纤维素的降解，也利于所含目标  $\beta$ -葡聚糖的后续提取。

③同时考虑缩短提取时间和酶解除去淀粉类物质，在热水提取时添加高温淀粉酶。

④在醇沉时，由于纤维素、半纤维素、蛋白质和淀粉类杂质通过上述的酶解作用已基本降解成相对小分子物质，通过控制合理的终乙醇浓度（60%~80%）来使目标物大分子的  $\beta$ -葡聚糖沉淀富集。

⑤考虑到文献报道的食用菌功能性  $\beta$ -葡聚糖一般分子量在1万以上，在工艺最后部分采用了1万截留量膜超滤进一步纯化活性  $\beta$ -葡聚糖。

所用中性纤维素酶为液态中性纤维素酶，酶活 10000~30000 IU/mL。

所用半纤维素酶（Hemicellulase）为液态半纤维素酶，酶活 20000~40000 IU/mL。

所用中性蛋白酶为液态中性蛋白酶（neutral proteinase），酶活 20000~40000IU/mL。

所用高温淀粉酶为液态高温淀粉酶，酶活 10000~30000 IU/mL。

所述食用菌子实体为下列之一：香菇子实体、灰树花子实体、灵芝子实体、姬松茸子实体、桑黄子实体。

具体的，所述方法如下：

- (1) 取食用菌子实体, 60~100℃干燥, 粉碎至 60~100 目, 得食用菌子实体干燥粉末, 加入质量为子实体粉末质量 8~10 倍的水, 得到的料液于 45KHz, 单位功率 50~80W/kg 料液, 室温超声处理 20~30 分钟;
- (2) 超声处理后的料液再加入质量为子实体干燥粉末质量 10~20 倍的水, 并添加 CaCl<sub>2</sub> 至其浓度为 100~300ppm, 加入 400~800 IU/g 子实体干燥粉末的 20000 IU/mL 液态中性纤维素酶、600~1000 IU/g 子实体干燥粉末的 30000 IU/mL 液态半纤维素酶和 1000~2000 IU/g 子实体干燥粉末的 30000 IU/mL 液态中性蛋白酶, 40~60℃保温搅拌酶解 0.5~1.5 小时;
- (3) 酶解液加入 200~500 IU/g 子实体干燥粉末的 20000 IU/mL 液态高温淀粉酶, 90~95℃保温搅拌 1~2 小时, 冷却至室温, 离心, 取上清液, 减压浓缩, 浓缩液加入乙醇至乙醇体积浓度为 60~80%进行醇沉, 取沉淀加入质量为沉淀质量 10~15 倍的水复溶, 以分子截留量为 10000 的膜超滤, 截留液减压浓缩至原有体积的 1/5~1/3, 喷雾干燥, 得到所述食用菌 β-葡聚糖。

采用本发明的方法, 对香菇、灰树花、灵芝、姬松茸、桑黄等几种食用菌进行了 β-葡聚糖制备, 所得产品经了 β-葡聚糖专一性的荧光法检测, 结果如下表。

	本发明制备的 β-葡聚糖	
	纯度 (%)	提取率 (%)
香菇	65.6	4.63
灰树花	68.5	3.60
灵芝	82.3	0.87
姬松茸	55.2	3.81
桑黄	78.7	2.14

所得 5 种食用菌  $\beta$ -葡聚糖产品的纯度在 55.2%~82.3%之间，全部高于 50%的目标纯度，提取率在 0.87%~4.77%之间，不包括后续的醇沉，超滤，喷雾干燥，前面的提取部分耗时 2~4h，与常规的食用菌粗多糖提取时间基本一致，但常规的食用菌粗多糖中  $\beta$ -葡聚糖纯度仅在 15%-40%之间。且采用本发明的制备方法，无有毒有害化学试剂残留，产品安全；采用的超声、酶解和超滤等技术条件温和，易于操作；本方法根据食用菌共有成分性质，通用性强，适用于所有的食用菌  $\beta$ -葡聚糖制备。

综上所述，本发明的有益效果主要体现在：采用本发明方法，食用菌  $\beta$ -葡聚糖产品纯度高（55.2%~82.3%），制备过程无有毒有害化学试剂残留，产品安全，技术条件温和，易于操作，适合所有食用菌  $\beta$ -葡聚糖制备，适用于工业化生产。

#### （四）附图说明

图 1 为本发明方法工艺流程图。

#### （五）具体实施方式

下面结合具体实施例对本发明进行进一步描述，但本发明的保护范围并不仅限于此：

##### 实施例 1：

工艺流程参见图 1，香菇子实体→80℃热风干燥 2h→粉碎至 80 目→取香菇子实体干燥粉末 1kg，加 10kg 的水→45KHz，功率 550W，室温超声处理 20min→再加 20kg 的水，并添加 6.2g 的  $\text{CaCl}_2$ →加入液态中性纤维素酶 40mL（酶活 20000IU/mL，宁夏和氏璧生物技术有限公司）、液态半纤维素酶 33.3mL（酶活 30000IU/mL，宁夏和氏璧生物技术有限公司）和液态中性蛋白酶 66.7mL（酶活 30000IU/ mL，宁夏和氏璧生物技术有

限公司), 自然 pH (即不调 pH, 一般在 6.5~7.0), 45℃保温, 搅拌混合酶解 1.5h→加入液态高温淀粉酶 25mL (酶活 20000IU/mL, 宁夏和氏璧生物技术有限公司), 95℃热水搅拌提取 2h→冷却至室温→5000r/min, 10min 离心去渣→上清液 (约 30L) →减压浓缩至 6L→加入 24L 的食用乙醇→沉淀, 加 15 倍重量的水复溶→1 万截留分子量的聚砜膜超滤→截留液减压浓缩至原体积的 1/3→喷雾干燥→香菇 β-葡聚糖成品 (经荧光法检测, 纯度 65.6%, 提取率 4.63%)。

#### 实施例 2:

工艺流程参见图 1, 灰树花子实体→80℃热风干燥 2h→粉碎至 100 目→取 1kg 灰树花子实体干燥粉末, 加 10kg 的水→45KHz, 功率 660W, 室温超声处理 20min→再加 15kg 的水, 并添加 5.2g 的 CaCl<sub>2</sub>→加入液态中性纤维素酶 30mL (酶活 20000IU/mL)、液态半纤维素酶 30mL (酶活 30000IU/mL) 和液态中性蛋白酶 60mL (酶活 30000IU/mL), 自然 pH (即不调 pH, 一般在 6.5~7.0), 45℃保温, 搅拌混合酶解 1.5h→加入液态高温淀粉酶 15mL (酶活 20000IU/mL), 95℃热水搅拌提取 1.5h→冷却至室温→5000r/min, 10min 离心去渣→上清液 (约 25L) →减压浓缩至 6L→加入 14L 的食用乙醇→沉淀, 加水 10 倍重量的水复溶→1 万截留分子量的聚砜膜超滤→截留液减压浓缩至原体积的 1/3→喷雾干燥→灰树花 β-葡聚糖成品 (经荧光法检测, β-葡聚糖纯度 68.5%, 提取率 3.60%)。

#### 实施例 3:

工艺流程参见图 1, 灵芝子实体→80℃热风干燥 2h→粉碎至 100 目→取灵芝子实体干燥粉末 1kg, 加 6kg 的水→45KHz, 功率 560W, 室温超

声处理 30min→再加 13kg 的水, 并添加 6g 的  $\text{CaCl}_2$ →加入液态中性纤维素酶 40mL (酶活 20000IU/mL)、液态半纤维素酶 33.3mL (酶活 30000IU/mL) 和液态中性蛋白酶 40mL (酶活 30000IU/mL), 自然 pH (即不调 pH, 一般在 6.5~7.0), 50℃保温, 搅拌混合酶解 1.0h→加入液态高温淀粉酶 10mL (酶活 20000IU/mL), 95℃热水搅拌提取 1.5h→冷却至室温→5000r/min, 10min 离心去渣→上清液 (约 18L)→减压浓缩至 6L→加入 9L 的食用乙醇→沉淀, 加 15 倍重量的水复溶→1 万截留分子量的聚砜膜超滤→截留液减压浓缩至原体积的 1/5→喷雾干燥→灵芝  $\beta$ -葡聚糖成品 (经荧光法检测,  $\beta$ -葡聚糖纯度 82.3%, 提取率 0.87%)。

#### 实施例 4:

工艺流程参见图 1, 姬松茸子实体→80℃热风干燥 3h→粉碎至 80 目→取姬松茸子实体干燥粉末 1kg, 加 12kg 的水→45KHz, 功率 650W, 室温超声处理 20min→再加 17kg 的水, 并添加 9g 的  $\text{CaCl}_2$ →加入液态中性纤维素酶 60mL (酶活 20000IU/mL)、液态半纤维素酶 26.7mL (酶活 30000IU/mL) 和液态中性蛋白酶 66.7mL (酶活 30000IU/mL), 自然 pH (即不调 pH, 一般在 6.5~7.0), 50℃保温, 搅拌混合酶解 1h→加入液态高温淀粉酶, 酶活 20000IU/mL, 添加量 500IU/g (食用菌子实体重量), 95℃热水搅拌提取 2h→冷却至室温→5000r/min, 10min 离心去渣→上清液 (约 25L)→减压浓缩至 5L→加入 20L 的食用乙醇→沉淀, 加 12 倍重量的水复溶→1 万截留分子量的聚砜膜超滤→截留液减压浓缩至原体积的 1/3→喷雾干燥→姬松茸  $\beta$ -葡聚糖成品 (经荧光法检测,  $\beta$ -葡聚糖纯度 55.2%, 提取率 3.81%)。

### 实施例 5:

工艺流程参见图 1, 桑黄子实体→100℃热风干燥→粉碎至 100 目→取桑黄子实体干燥粉末 1kg, 加 5kg 的水→45KHz, 功率 480W, 室温超声处理 30min→再加 10kg 的水, 并添加 3.2g 的  $\text{CaCl}_2$ →加入液态中性纤维素酶 40mL (酶活 20000IU/mL)、液态半纤维素酶 26.7mL (酶活 30000IU/mL) 和液态中性蛋白酶 43.4mL (酶活 30000IU/mL), 自然 pH (即不调 pH, 一般在 6.5~7.0), 45℃保温, 搅拌混合酶解 1.5h→加入液态高温淀粉酶 20mL (酶活 20000IU/mL), 95℃热水搅拌提取 2h→冷却至室温→5000r/min, 5min 离心去渣→上清液 (约 12L)→减压浓缩至 3L→加入 7L 的食用乙醇→沉淀, 加 15 倍重量的水复溶→1 万截留分子量的聚砜膜超滤→截留液减压浓缩至原体积的 1/4 倍→喷雾干燥→桑黄  $\beta$ -葡聚糖成品 (经荧光法检测,  $\beta$ -葡聚糖纯度 78.7%, 提取率 2.14%)。

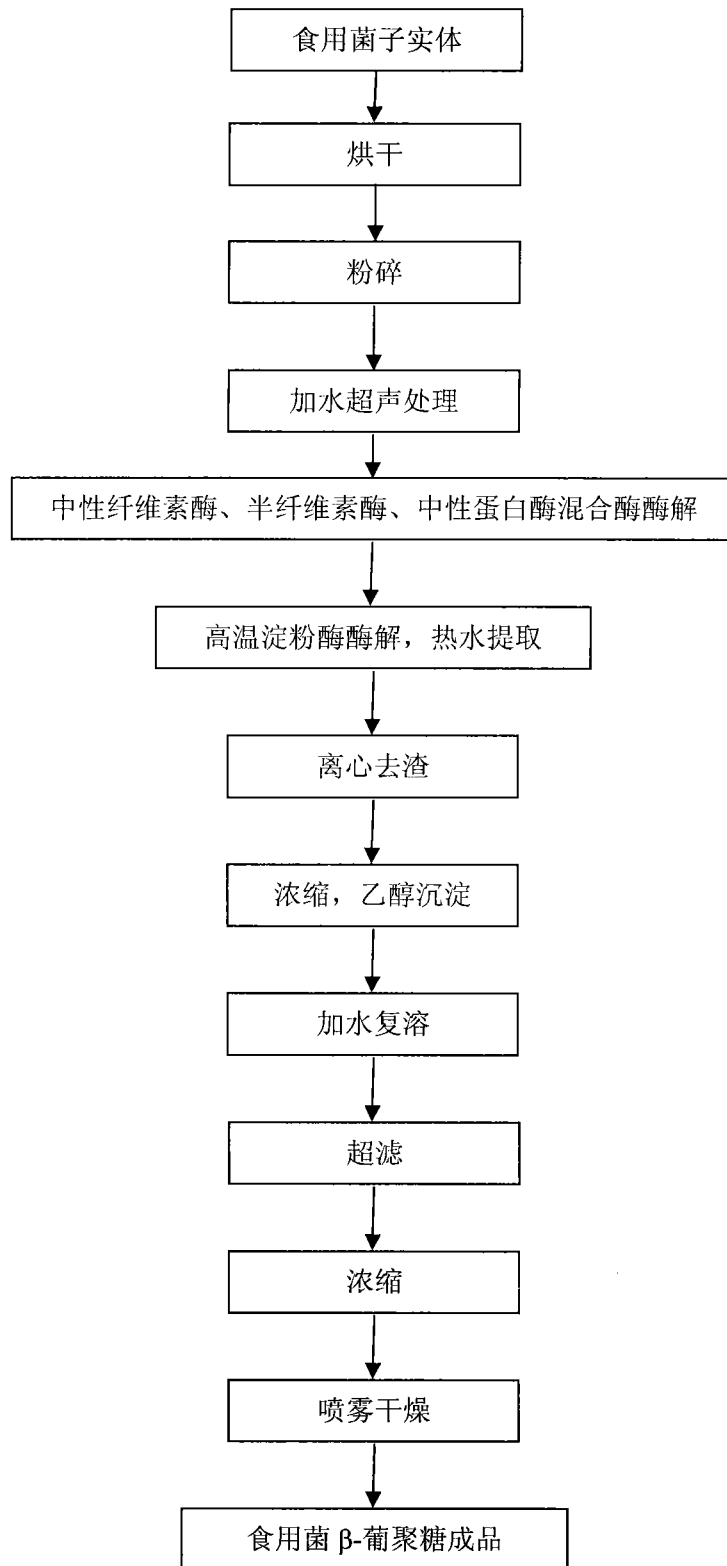


图 1