



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0003949

(51) **A61K 36/48; A23L 29/10**
2020.01

(13) **Y**

(21) 2-2021-00444

(22) 25/10/2021

(45) 27/01/2025 442

(43) 27/01/2023 418

(73) Trường Đại học Vinh (VN)
182 Lê Duẩn, Thành Phố Vinh, Nghệ An

(72) Nguyễn Tân Thành (VN); Trần Đình Thắng (VN); Đoàn Mạnh Dũng (VN); Nguyễn
Thị Uyên Nhi (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT BỘT CHIẾT POLYSACARIT TỪ QUẢ THỂ NẤM
THƯỢNG HOÀNG (PHELLINUS NILGHERIENSIS)**

(21) 2-2021-00444

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất sản xuất bột chiết polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*Phellinus nilgheriensis*), trong đó quả thể nấm Thượng hoàng được sấy khô, nghiền và chiết polysacarit thô trong dung môi etanol 80% ở nhiệt độ 80-85°C thu được cao chiết lỏng và phần không tan; chiết polysacarit trong phần không tan (bã) ở nhiệt độ 100°C; chiết phân đoạn polysacarit trong dung môi nước phần cao chiết sấy khô; bổ sung hỗn hợp enzym và ngâm ở nhiệt độ 45-55°C trong thời gian 3 giờ; chiết siêu âm polysacarit hỗn hợp dịch và cặn; hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%, lọc, cô đặc, phối trộn với chất phụ gia, và sấy khô thu được bột chiết polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực hóa dược, thực phẩm chức năng và các hợp chất thiên nhiên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất bột chiết polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*Phellinus nilgheriensis*) để ứng dụng làm dược phẩm, thực phẩm chức năng.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Nấm Thượng hoàng (hay còn gọi là nấm Hoàng sơn) tên chỉ các loài trong chi *Phellinus*, thuộc họ Hymenochaetaceae (ở Trung Quốc gọi là Songgen, Hàn Quốc gọi là Sang Hwang, Nhật Bản gọi là Meshima). Đây là một loại nấm quý trong tự nhiên đã được người Nhật Bản, Hàn Quốc sử dụng rộng rãi trong việc điều trị, tăng cường khả năng của hệ thống miễn dịch, giúp giảm lượng cholesterol và đường trong máu... Trong nấm Thượng hoàng có chứa nhiều thành phần hóa học như axit amin, vitamin, khoáng, carbohydrat và một số hợp chất có hoạt tính sinh học như polysacarit, protein-polysacarit, steroid, terpenoit, flavon, styrylpyron, furan và polychlorinat.... Các loại nấm này cũng hiệu quả đối với nhiều bệnh, bao gồm việc tăng lưu thông máu, ngăn ngừa và điều trị bệnh tim, tăng khả năng giải độc và bảo vệ gan, chống lại bệnh dị ứng và tiểu đường, giảm căng thẳng. Nấm có chức năng chống ung thư mạnh và ngăn ngừa sự phát triển của khối u. Năm 1976, nhóm nghiên cứu của TS Chihara tại Trung tâm nghiên cứu ung thư Nhật Bản kiểm tra và so sánh tỷ lệ kháng ung thư trên chuột của dịch chiết nước nóng 27 loại nấm thuốc thì nấm *Phellinus linteus* đã được xếp hạng số 1 với một tỷ lệ ức chế tế bào u báng (Sarcoma 180) ở chuột là 96,7%. *Phellinus igniarius* được xếp thứ 3 với tỷ lệ là 87,4%.

Ngày nay, ngày càng nhiều các nhà khoa học tập trung nghiên cứu thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của các loài nấm nhằm phát hiện các hoạt chất có dược tính mạnh đối với các căn bệnh nan y như viêm gan, kháng viêm ung thư, HIV, tăng hệ miễn dịch, chống oxy hóa... Việc đưa vào sử dụng rộng rãi các chế phẩm được tách chiết từ nấm sẽ giúp con người khỏe mạnh, phòng chống được nhiều căn bệnh tiềm ẩn, nguy hiểm.

Hiện nay, tổng sản lượng của các loài *phellinus* trên thế giới chỉ khoảng 30 tấn/năm, chủ yếu từ thu hái hoang dại. Trên thế giới cũng chỉ có 4 nước trồng loài nấm

này là Hàn Quốc, Trung Quốc, Nhật Bản, Thái Lan. Ở Việt Nam, từ những năm 2010, Trung tâm linh chi và nấm dược liệu TPHCM đã bước đầu nghiên cứu và nuôi trồng thành công loài nấm Thượng hoàng *P. linteus* trong bịch mặt cưa gỗ cao su, năng suất khoảng 140 kg/năm. Hiện nay cả một số tỉnh trên cả nước đã nuôi trồng được các loại nấm trong chi *Phellinus* như Quảng Ninh, Quảng Ngãi, Lâm Đồng, Nghệ An, Hà Tĩnh... sản phẩm nấm sau khi thu hoạch được chủ yếu bảo quản bằng cách sấy khô để đưa bán ra thị trường trong nước và xuất khẩu thô ra nước ngoài.

Trong thành phần của nấm dược liệu có hàng ngàn hợp chất trong đó hầu hết là các chất dinh dưỡng có lợi cho sức khỏe của con người, bên cạnh đó trong từng loại nấm lại có một số hợp chất đặc biệt chỉ hiện diện trong từng loài nấm. Hợp chất trong nấm được quan tâm nhiều nhất hiện nay là polysacarit, cụ thể hơn là beta-glucan (1,3/1,6); Beta-glucan đã được nghiên cứu, thử nghiệm rộng rãi và người ta đã chứng minh rằng chúng có khả năng kích thích và tăng cường hệ thống miễn dịch của con người. Bên cạnh thành phần chính có tác dụng tăng cường miễn dịch, nấm có khả năng sinh ra hàng loạt các chất có khả năng kháng u, hoạt tính chống oxy hóa, tính kháng các vi khuẩn và nấm gây bệnh cho người và động vật, hoạt tính kháng virus.

Polysacarit là các glucit phức có phân tử rất lớn gồm nhiều đơn vị monosacarit (như glucoza, xyloza và galactoza) liên kết với nhau tạo nên.

Polysacarit không có vị ngọt như monosacarit hay disacarit, không tan trong nước mà chỉ tạo dung dịch keo; Đây là nhóm chất hữu cơ phổ biến và có khối lượng lớn nhất trên trái đất. Polysacarit rất đa dạng về chủng loại. Trong cơ thể sinh vật có rất nhiều loại polysacarit khác nhau, trong đó phổ biến nhất là tinh bột, glycogen, cellulose. Chúng được coi là các chất có hoạt tính sinh học đang thu hút được nhiều sự chú ý khai thác sử dụng.

Polysacarit có các chức năng như là nguồn năng lượng dự trữ của tế bào và cơ thể; cấu tạo nên tế bào và các bộ phận của cơ thể và polysacarit liên kết với protein tạo nên các phân tử glycoprotein là những bộ phận cấu tạo nên các thành phần khác nhau của tế bào.

β - glucan (beta – glucan): β - glucan là một polysacarit được cấu thành từ các monosacarit (là hợp chất đường liên phân tử được tạo nên từ các đơn phân tử D - glucoza gắn với nhau qua liên kết β – glycosit; Nhóm các phân tử β - glucan được phân biệt dựa vào phân tử khối, độ hòa tan, độ nhớt và cấu trúc không gian 3 chiều.

Các hợp chất này thường tồn tại dưới dạng phổ biến là xenluloza của thực vật, vỏ cám của hạt ngũ cốc, thành tế bào của nấm men, nấm lớn và vi khuẩn. Một số loại β -glucan được sử dụng như chất dinh dưỡng ở người như hợp chất tạo mịn và chất xơ hòa tan, tuy nhiên lại có thể bị biến đổi trong quá trình đun sôi. Tùy theo liên kết của các monosacarit trong chuỗi mà hình thành nên những hợp chất với tên gọi khác nhau như là: aga (β -1,3-1,4-glucan), fucoidan (β -1,3-glucan), laminarin (β -1,3-1,6-glucan), alginat (β -1,4-glucan), zymosan (β -1,3-glucan), chrysolaminarin (β -1,3-1,6-glucan), carrageenan (β -1,3-1,4-glucan).

Tuy nhiên, việc chiết xuất polysacarit trong nguyên liệu thực vật thường hết sức phức tạp và hiệu suất thấp nên ứng dụng polysacarit từ nguyên liệu thực vật chưa cao. Cần có quy trình sản xuất polysacarit có khả năng ứng dụng trong dược phẩm hoặc thực phẩm chức năng. Một trong những polysacarit thực vật được chú ý và được đánh giá là tiềm năng ứng dụng trong y học và trong thực phẩm chức năng đó là polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*Phellinus nilgheriensis*). Tuy nhiên, chưa có quy trình đề cập đến việc chiết polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*) cho phép phát triển nguồn nguyên liệu với hàm lượng và hiệu suất đủ để ứng dụng phát triển thuốc và thực phẩm chức năng.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Giải pháp hữu ích nhằm giải quyết các vấn đề nêu trên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất bột polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) xử lý nguyên liệu bằng cách thu hái quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*), làm sạch, cắt lát có kích thước từ 5 đến 7mm, sau khi sấy khô đến độ ẩm khoảng 10%, nghiền thô qua sàng cỡ lỗ khoảng 1mm thu được nguyên liệu dạng bột;

b) chiết lần 1 nguyên liệu bằng cách chuyển nguyên liệu dạng bột vào thiết bị chiết hồi lưu chứa etanol 80% theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 10/1 (thể tích/trọng lượng), chiết ở nhiệt độ 80-85°C trong 2 giờ, sau khi rút kiệt thu được phần dịch chiết I;

c) phần không tan (bã) được bổ sung dung môi nước theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 3/1 (thể tích/trọng lượng) và chiết ở nhiệt độ 100 °C trong thời gian 2 giờ, sau đó lọc thu được dịch chiết II;

d) dịch chiết I được cô thu hồi dung môi, cao chiết được sấy khô thành bột, tiến hành chiết bột vừa sấy khô bằng dung môi nước với tỷ lệ dung môi/bột khô là 10/1 (thể tích/trọng lượng), chiết ở nhiệt độ 65-70°C trong 3 giờ, thu được dịch lỏng; bổ sung phần dịch chiết II vào và điều chỉnh pH đến khoảng 6-8;

e) bổ sung hỗn hợp enzym (xenlulaza, pectaza và α – amylaza theo tỷ lệ lần lượt là 50%, 30% và 20%) 5% theo tỷ lệ khối lượng của dịch lỏng; khuấy trộn đều, ngâm hỗn hợp dịch lỏng và enzym ở nhiệt độ 45-55 °C trong thời gian 3 giờ;

f) chiết siêu âm hỗn hợp dịch lỏng ở điều kiện công suất siêu âm 400W, nhiệt độ 45-50 °C trong thời gian 30 phút; tiến hành ly tâm thu được dịch lỏng (A1) và cặn (B1); cặn (B1) được bổ sung nước với tỷ lệ nước/cặn là 8/1 (thể tích/trọng lượng) và tiến hành chiết siêu âm ở nhiệt độ 70-75 °C, thời gian 30 phút và công suất siêu âm 400W; sau đó ly tâm thu được dịch lỏng (A2) và cặn (B2);

g) gộp dịch lỏng A1 và dịch lỏng A2 lại rồi tiến hành cô đặc hỗn hợp đến khi khối lượng dịch lỏng còn lại khoảng 40-50% thể tích ban đầu, bổ sung etanol 96% vào hỗn hợp dịch với tỷ lệ 3/1 (thể tích/thể tích); và

h) lọc dịch sau khi bổ sung etanol 96% rồi tiến hành cô đặc, phối trộn với chất phụ gia, sấy khô, nghiền mịn và thu được bột polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*).

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ sản xuất bột polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*Phellinus nilgheriensis*)

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích được mô tả chi tiết với những phương án và ví dụ thực hiện cụ thể. Tuy nhiên, các phương án và các ví dụ thực hiện cụ thể này chỉ nhằm làm rõ bản chất của giải pháp hữu ích chứ không nhằm giới hạn phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất bột chiết polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*), trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) xử lý nguyên liệu; b) chiết polysacarit thô trong dung môi etanol; c) chiết polysacarit trong phần không tan (bã); d) chiết phân đoạn polysacarit trong dung môi nước; e) bổ sung hỗn hợp enzym; f) chiết siêu âm polysacarit; g) hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%; và h) thu hồi bột chiết polysacarit.

Trong bước xử lý nguyên liệu, nguyên liệu được sử dụng quả thể nấm Thượng hoàng (*Phellinus nilgheriensis*) được trồng nhân tạo với thời gian sinh trưởng đạt 6 tháng tuổi. Quả thể được thu hái, làm sạch và cắt lát có kích thước từ 5 đến 7mm. Sau khi sấy khô đến độ ẩm khoảng 10%, nghiền thô qua sàng cỡ lỗ khoảng 1mm thu được nguyên liệu dạng bột.

Trong bước chiết polysacarit thô trong dung môi etanol, tiến hành chuyển nguyên liệu dạng bột vào thiết bị chiết xuất hồi lưu dung môi chứa etanol 80% theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 10/1 (thể tích/trọng lượng). Tiến hành chiết ở nhiệt độ 80-85°C trong 2 giờ. Sau khi kết thúc thời gian chiết, rút kiệt thu được phần dịch chiết I.

Trong bước chiết polysacarit trong phần không tan trong dung môi nước, sau khi rút kiệt dịch chiết I, phần bã được bổ sung tiếp một lượng nước theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 3/1 (thể tích/trọng lượng) và chiết ở nhiệt độ 100°C trong 2 giờ. Quá trình chiết lại lần này cho phép chiết triệt để polysacarit trong nguyên liệu. Sau khi rút kiệt, thu được dịch chiết II chứa polysacarit.

Trong bước chiết phân đoạn polysacarit trong dung môi nước, tiến hành cô chân không dịch chiết I để loại dung môi đến cao đặc. Sau đó cao chiết được sấy chân không đến khi khô thành bột (độ ẩm khoảng 8-10%). Bột khô này được cho vào thiết bị chiết xuất, tiến hành chiết xuất bằng dung môi nước, tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 10/1 (thể tích/trọng lượng) và chiết ở nhiệt độ 65-70°C trong 3 giờ. Kết thúc quá trình chiết thu được dịch lỏng giàu polysacarit. Bổ sung dịch chiết II vào dịch chiết của bột thành hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước.

Trong bước bổ sung hỗn hợp enzym, tiến hành bổ sung hỗn hợp enzym gồm 3 loại enzym là enzym xenlulaza (50%), enzym pectaza (30%) và enzym α – amylaza (20%) vào dịch lỏng trong phân đoạn nước, trộn đều hỗn hợp. Ngâm hỗn hợp dịch lỏng và enzym ở nhiệt độ 45-55 °C trong thời gian 3 giờ.

Trong bước chiết siêu âm hỗn hợp dịch chứa polysacarit, sau thời gian ngâm hỗn hợp dịch và enzym, chuyển sang thiết bị chiết xuất siêu âm, tiến hành chiết siêu âm hỗn hợp dịch lỏng ở điều kiện công suất siêu âm 400W, nhiệt độ 45-50 °C trong thời gian 30 phút; sau khi kết thúc công đoạn chiết siêu âm, tiến hành ly tâm thu được dịch lỏng (A1) và cặn (B1); cặn (B1) được bổ sung nước với tỷ lệ nước/cặn là 8/1 (thể tích/trọng lượng) và tiến hành chiết siêu âm ở nhiệt độ 70-75 °C, thời gian 30 phút và công suất siêu âm 400W; sau đó ly tâm thu được dịch lỏng (A2) và cặn (B2).

Trong bước hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%, hỗn hợp dịch lỏng A1 và dịch lỏng A2 được gộp lại rồi tiến hành cho vào hệ thống cô đặc chân không để cô đặc hỗn hợp này đến khi khối lượng cao lỏng còn lại khoảng 40-50% thể tích ban đầu thì kết thúc quá trình cô đặc. Bổ sung etanol 96% vào hỗn hợp cao lỏng với tỷ lệ 3/1 (thể tích/thể tích), trộn đều hỗn hợp và lọc bỏ cặn.

Trong bước thu bột chiết polysacarit, tiến hành cô thu hồi dung môi trong hệ thống cô đặc chân không đến khi thu được dạng cao đặc. Sau khi phối trộn cao đặc này với chất phụ gia silicon dioxit keo (aerosil) theo tỷ lệ chất phụ gia/cao đặc là $\frac{1}{4}$ theo khối lượng, tiến hành sấy khô, Nhiệt độ sấy tốt nhất được duy trì trong khoảng từ 45 đến 50°C đến khi độ ẩm nhỏ hơn 6%. Sau khi nghiền mịn thu được bột chiết polysacarit.

Bột chiết polysacarit có mùi thơm, mịn, được đóng gói bảo quản trong túi kín khí, bảo quản ở nơi thoáng mát, khô thoáng, nhiệt độ dưới 30°C.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Sản xuất bột chiết polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*)

Nguyên liệu được sử dụng quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*) được trồng nhân tạo với thời gian sinh trưởng đạt 4 tháng tuổi. Quả thể được thu hái, làm sạch và cắt lát có kích thước từ 5 đến 7mm. 60kg nguyên liệu có độ ẩm ban đầu 70% sau khi sấy khô thu được khoảng 20kg mẫu khô có độ ẩm 10%, nghiền thô qua sàng cỡ lỗ khoảng 1mm thu được nguyên liệu dạng bột.

Cân 20kg nguyên liệu bột quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*) thu được ở trên chuyển vào thiết bị chiết xuất hồi lưu chứa 200 lít etanol 80% (tỷ lệ 10/1). Tiến hành đóng kín nồi chiết và gia nhiệt đến 80-85°C. Thời gian chiết 2 giờ. Sau khi chiết, rút cạn dịch thu được dịch chiết I (dịch chiết etanol) và bổ sung 60 lít nước (tỷ lệ 3/1) và chiết tiếp lần 2. Phần dịch sau khi chiết với nước được rút kiệt, lọc và gọi là dịch chiết II (dịch chiết nước).

Phần dịch chiết I (khoảng 200 lít) được cô thu hồi dung môi đến khi nồng độ chất khô còn khoảng 20% thì tiến hành đổ ra khay sấy (khay inox kín, kích thước 500x800) một lớp mỏng rồi tiến hành sấy khô trên máy sấy lạnh (sấy bơm nhiệt) đến độ ẩm của khối bột đạt 10% thì kết thúc quá trình sấy. Sau quá trình sấy thu được khoảng 2kg bột. Cho 2kg bột này vào 20 lít nước (tỷ lệ 1/10) gia nhiệt lên 65-70°C trong thời gian 3 giờ và có khuấy trộn trong quá trình chiết gia nhiệt.

Kết thúc quá trình chiết gia nhiệt, bổ sung 50-55 lít dịch chiết II (dịch chiết nước phần không tan) vào 20 lít dịch chiết bột thu được hỗn hợp dịch chiết trong phân đoạn nước, khuấy đều và bổ sung 3,5kg (5%) hỗn hợp enzym xenlulaza (50%), enzym pectaza (30%) và enzym α – amylaza (20%) vào dịch lỏng trong phân đoạn nước, trộn đều hỗn hợp. Ngâm hỗn hợp dịch lỏng và enzym ở nhiệt độ 45-55 °C trong thời gian 3 giờ.

Sau thời gian ngâm 3 giờ, khoảng 70 lít hỗn hợp dịch và enzym được chuyển sang thiết bị chiết xuất siêu âm, tiến hành chiết siêu âm hỗn hợp dịch lỏng ở điều kiện công suất siêu âm 400W, nhiệt độ 45-50 °C trong thời gian 30 phút; sau khi kết thúc công đoạn chiết siêu âm, tiến hành ly tâm thu được khoảng 65 lít dịch lỏng (A1) và 1,5kg cặn (B1); cặn (B1) được bổ sung 12 lít nước tỷ lệ 8/1 (thể tích/trọng lượng) và tiến hành chiết siêu âm ở nhiệt độ 70-75 °C, thời gian 30 phút và công suất siêu âm 400W; sau đó ly tâm thu được hơn 10 lít dịch lỏng (A2) và cặn (B2).

Trộn 2 khối dịch lỏng A1 và A2 thu được hơn 75 lít dịch lỏng, tiến hành cô đặc chân không cho đến khi khối lượng dịch giảm còn khoảng 30 lít thì kết thúc quá trình cô đặc. Bổ sung 90 lít etanol 96% (tỷ lệ 3/1) vào 30 lít dịch sau khi cô, thu được khoảng 120 lít dịch lỏng trong phân đoạn etanol khoảng 68-70%. Trộn đều hỗn hợp và lọc bỏ cặn.

Cô thu hồi dung môi trong hệ thống cô đặc chân không đến khi thu được 10 lít cao đặc. Tiến hành bổ sung 2,5 kg silicon dioxit keo (aerosil) và sấy khô ở nhiệt độ khoảng 50°C đến khi độ ẩm nhỏ hơn 6%, nghiền mịn thu được 4kg bột chiết polysacarit.

Bột chiết polysacarit được đóng gói bảo quản trong túi kín khí, bảo quản ở nơi thoáng mát, khô thoáng, nhiệt độ dưới 30°C.

Kết quả kiểm tra phân tích cho thấy hiệu suất chiết polysacarit đạt 7,5%.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Quy trình sản xuất bột chiết polysacarit cho phép chiết chọn lọc polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*) với hiệu suất chiết polysacarit 7,5%. Quy trình cho phép phát triển nguồn nguyên liệu polysacarit ứng dụng trong công nghiệp dược phẩm, thực phẩm chức năng.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất bột chiết polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*Phellinus nilgheriensis*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) xử lý nguyên liệu bằng cách thu hái quả thể nấm Thượng hoàng, làm sạch, cắt lát có kích thước từ 5 đến 7mm, sau khi sấy khô đến độ ẩm khoảng 10%, nghiền thô qua sàng cỡ lỗ khoảng 1mm thu được nguyên liệu dạng bột;

b) chiết lần 1 nguyên liệu bằng cách chuyển nguyên liệu dạng bột vào thiết bị chiết hồi lưu chứa etanol 80% theo tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu là 10/1 (thể tích/trọng lượng), chiết ở nhiệt độ 80-85°C trong 2 giờ, sau khi rút kiệt thu được phần dịch chiết I;

c) phần không tan (bã) được bổ sung dung môi nước theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 3/1 (thể tích/trọng lượng) và chiết ở nhiệt độ 100 °C trong thời gian 2 giờ, sau đó lọc thu được dịch chiết II;

d) dịch chiết I được cô thu hồi dung môi, cao chiết được sấy khô thành bột, tiến hành chiết bột vừa sấy khô bằng dung môi nước với tỷ lệ dung môi/bột khô là 10/1 (thể tích/trọng lượng), chiết ở nhiệt độ 65-70°C trong 3 giờ, thu được dịch lỏng; bổ sung phần dịch chiết II vào và điều chỉnh pH đến khoảng 6-8;

e) bổ sung hỗn hợp enzym với lượng 5% theo tỷ lệ khối lượng của dịch lỏng, khuấy trộn đều, ngâm hỗn hợp dịch lỏng và enzym ở nhiệt độ 45-55 °C trong thời gian 3 giờ, trong đó hỗn hợp enzym gồm xenlulaza, pectaza và α – amylaza theo tỷ lệ lần lượt là 50%, 30% và 20%;

f) chiết siêu âm hỗn hợp dịch lỏng ở điều kiện công suất siêu âm 400W, nhiệt độ 45-50 °C trong thời gian 30 phút; tiến hành ly tâm thu được dịch lỏng (A1) và cặn (B1); cặn (B1) được bổ sung nước với tỷ lệ nước/cặn là 8/1 (thể tích/trọng lượng) và tiến hành chiết siêu âm ở nhiệt độ 70-75 °C, thời gian 30 phút và công suất siêu âm 400W; sau đó ly tâm thu được dịch lỏng (A2) và cặn (B2);

g) gộp dịch lỏng A1 và dịch lỏng A2 lại rồi tiến hành cô đặc hỗn hợp đến khi khối lượng dịch lỏng còn lại khoảng 40-50% thể tích ban đầu, bổ sung etanol 96% vào hỗn hợp dịch với tỷ lệ 3/1 (thể tích/thể tích); và

h) lọc dịch sau khi bổ sung etanol 96% rồi tiến hành cô đặc, phối trộn với chất phụ gia, sấy khô, nghiền mịn và thu được bột polysacarit từ quả thể nấm Thượng hoàng (*P. nilgheriensis*).

HÌNH 1

