



(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)



2-0004303

(51) **C08B 37/00**
2022.01

(13) **Y**

(21) 2-2023-00487

(22) 30/08/2023

(45) 25/09/2025 450

(43) 25/01/2024 430A

(73) Trường Đại học Vinh (VN)
182 Lê Duẩn, thành phố Vinh, Nghệ An

(72) Nguyễn Tân Thành (VN); Nguyễn Đức Diện (VN); Nguyễn Thị Huyền (VN).

(54) **QUY TRÌNH SẢN XUẤT BỘT CHIẾT GIÀU POLYSACARIT TỪ QUẢ THỂ
NẤM LINH CHI ĐEN (GANODERMA ATRUM)**

(21) 2-2023-00487

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất bột chiết polysacarit từ quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*), bao gồm các bước: a) xử lý nguyên liệu; b) chiết nguyên liệu trong dung môi etanol để thu dịch chiết I chứa polysacarit thô; c) chiết phần không tan (bã) để thu dịch chiết II chứa polysacarit; d) chiết phân đoạn polysacarit của dịch chiết I trong dung môi nước; e) bổ sung hỗn hợp enzym vào hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit; f) chiết siêu âm hỗn hợp thu được từ bước e); g) hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%; và h) thu hồi bột chiết polysacarit.

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 giàu polysacarit từ quả thể nấm Linh chi đen (*Ganoderma atrum*) để ứng dụng làm dược phẩm, thực phẩm chức năng.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Các loại nấm thuộc chi *Ganoderma* đã được sử dụng trong y học cổ truyền phương Đông để điều trị và phòng ngừa một số bệnh như ung thư, cao huyết áp, viêm phế quản mãn tính, bệnh hen suyễn, thuốc bổ và thuốc an thần. Gần đây, đã có các chế phẩm thực phẩm chức năng làm từ sợi nấm, quả thể và bào tử từ các loài nấm thuộc chi *Ganoderma* đã có trên thị trường nhằm bổ sung vào chế độ ăn uống hỗ trợ điều trị kháng u, tăng khả năng miễn dịch và khả năng chống oxy hóa. Thị trường thực phẩm chức năng có nguồn gốc từ Nấm linh chi ước tính doanh thu khoảng 5-6 tỷ USD/năm, trong đó thị trường Hoa Kỳ tiêu thụ khoảng 1,6 tỷ USD.

Điểm đặc biệt có ở nhóm nấm này là màng bào tử đảm 2 lớp - một dấu hiệu di truyền nổi bật, cho nên nhiều nhà khoa học đề nghị xếp chúng thành một họ độc lập là họ Linh chi (*Ganodermataceae* Donk). Nấm linh chi (*Ganoderma*) mọc trên cây gỗ sống hay đã chết, thích hợp ở nhiệt độ thấp từ 21- 26⁰C, ở các vùng đồi núi cao trên 1000m so với mực nước biển, như các vùng ở Tam Đảo, Pù Mát, Thừa Thiên Huế, Trường Sơn... gặp nhiều vào mùa mưa (từ tháng 5 -11).

Các loài nấm Linh chi được phát hiện ở Việt Nam khá sớm. Dựa theo màu sắc mũ nấm, y học phương Đông phân biệt 6 loại linh chi với tên gọi tương ứng: linh chi trắng (bạch chi hay ngọc chi), linh chi vàng (hoàng chi hay kim chi), linh chi xanh (thanh chi hay long chi), linh chi đỏ (xích chi hay hồng chi), linh chi tím (tử chi), Linh chi đen (Hắc chi hay huyền chi). Ngoài ra, còn có nhiều cách phân loại khác.

Ganoderma là chi nấm dược liệu. Trong hơn 40 năm, các nhà khoa học đã nghiên cứu thành phần hóa học của các loài nấm thuộc chi này, đã phân lập được 431 các hợp chất chuyển đổi bậc hai. Cấu trúc của các hợp chất chuyển đổi bậc hai phân lập được bao gồm: (a) các hợp chất lanostan chứa 30 nguyên tử cacbon (axit ganoderic), (b) các hợp chất lanostan chứa 30 nguyên tử cacbon (andehyt, ancol, este, glycosit, lacton,

xeton), (c) các hợp chất lanostan chứa 27 nguyên tử cacbon (axit lucidenic), (d) các hợp chất lanostan chứa 27 nguyên tử cacbon (ancol, lacton, este), (e) các hợp chất lanostan chứa 24, 25 cacbon (f) các hợp chất triterpen pentacyclic chứa 30 cacbon (g) meroterpenoit, (h) farnesyl hydroquinon (meroterpenoit), (i) C15 các sesquiterpenoit, (j) các steroid, (k) các alkaloit, (l) prenyl hydroquinon, (m) các benzofuran, (n) các dẫn xuất của benzopyran-4-on và (o) dẫn xuất của benzenoit. *G. lucidum* là loài được nghiên cứu sâu và rộng về thành phần các hợp chất chuyển hóa bậc hai và hoạt tính sinh học. Ngoài ra, một số loài đã được nghiên cứu như *G. atrum*, *G. applanatum*, *G. colossum*, *G. sinense*, *G. cochlear*, *G. tsugae*, *G. amboinense*, *G. orbiforme*, *G. resinacem*, *G. hainanense*, *G. concinna*, *G. pfeifferi*, *G. neojaponicum*, *G. tropicum*, *G. australe*, *G. carnosum*, *G. fornicatum*, *G. applanatum*, *G. mastoporum*, *G. theaecolum*, *G. boninense*, *G. capense* và *G. annulare*.

Nấm linh chi đen (*G. atrum*) được dùng để điều trị nhiều loại bệnh như: viêm gan, tăng cholesterol máu, tiểu đường, ung thư, suy giảm miễn dịch, giảm bạch cầu, xơ vữa động mạch, bệnh trĩ, mệt mỏi mãn tính, mất ngủ và chóng mặt do suy nhược thần kinh, viêm phế quản và cao huyết áp. Nấm linh chi đen (*G. atrum*) là chứa một lượng lớn các hợp chất đa dạng về cấu trúc và hoạt tính sinh học. Hầu hết các chất chuyển hóa bậc hai có hoạt tính sinh học được phân lập từ *G. atrum* bao gồm hai nhóm chính: lanosterol (axit ganoderic và các dẫn xuất của chúng) và các polysaccarit. Ngoài ra, loài nấm này còn chứa các peptit có khối lượng phân tử thấp và các protein có hoạt tính sinh học đa dạng

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 polysaccarit, 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 virut.

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

Polysaccarit không có vị ngọt như monosaccarit hay disaccarit, 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 - glucose gắn với nhau qua liên kết β – glycoside; 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 cellulose 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: agar (β -1,3-1,4-glucan), fucoidan (β -1,3-glucan), laminarin (β -1,3-1,6-glucan), alginate (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 linh chi đen (*G. atrum*). Tuy nhiên, chưa có quy trình đề cập đến việc chiết polysacarit từ quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*) 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 linh chi đen (*G. atrum*), trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) xử lý nguyên liệu;

- b) chiết nguyên liệu trong dung môi etanol để thu dịch chiết I chứa polysacarit thô;
- c) chiết phần không tan (bã) để thu dịch chiết II chứa polysacarit;
- d) chiết phân đoạn polysacarit của dịch chiết I trong dung môi nước để thu được dịch lỏng giàu polysacarit, bổ sung dịch chiết II vào dịch lỏng giàu polysacarit để tạo ra hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit;
- e) bổ sung hỗn hợp enzyme vào hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit;
- f) chiết siêu âm hỗn hợp thu được từ bước e);
- g) hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%; và
- h) thu hồi bột chiết polysacarit.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Hình 1 là sơ đồ sản xuất bột polysacarit từ quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*)

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 linh chi đen (*G. atrum*), bao gồm các bước: a) xử lý nguyên liệu; b) chiết nguyên liệu trong dung môi etanol để thu dịch chiết I chứa polysacarit thô; c) chiết phần không tan (bã) để thu dịch chiết II chứa polysacarit; d) chiết phân đoạn polysacarit của dịch chiết I trong dung môi nước; e) bổ sung hỗn hợp enzyme vào hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit; f) chiết siêu âm hỗn hợp thu được từ bước e); g) hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%; và h) thu hồi bột chiết polysacarit.

Trong bước a) xử lý nguyên liệu, nguyên liệu được sử dụng là quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*) 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 7 mm. Sau khi sấy khô đến độ ẩm khoảng 10%, nghiền thô qua sàng cỡ lỗ khoảng 3 mm thu được nguyên liệu dạng bột.

Trong bước b) chiết nguyên liệu trong dung môi etanol để thu dịch chiết I chứa polysacarit thô, 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 8/1 (thể tích/trọng lượng).

Tiến hành chiết ở nhiệt độ 80-85°C trong 3 giờ. Sau khi kết thúc thời gian chiết, rút kiệt thu được phần dịch chiết I;

Trong bước c) chiết phần không tan (bã) để thu dịch chiết II chứa polysacarit, phần bã được bổ sung tiếp một lượng nước theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (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 d) chiết phân đoạn polysacarit của dịch chiết I 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 8/1 (thể tích/trọng lượng) và chiết ở nhiệt độ 70-75°C trong 3 giờ. Kết thúc quá trình chiết thu được dịch lỏng Bổ sung dịch chiết II vào dịch lỏng giàu polysacarit thành hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit.

Trong bước e) bổ sung hỗn hợp enzym vào hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit, tiến hành bổ sung hỗn hợp enzym gồm 3 loại enzym (% theo khối lượng) là enzym xenlulaza 40%, enzym pectinaza 30% và enzym α – amylaza 30% vào dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit, trộn đều hỗn hợp. Ngâm hỗn hợp dịch lỏng và enzym ở nhiệt độ 50-55 °C trong thời gian 5 giờ.

Trong bước f) chiết siêu âm hỗn hợp thu được từ bước e), 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 500W, nhiệt độ 50-55 °C trong thời gian 60 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 5/1 (thể tích/trọng lượng) và tiến hành chiết siêu âm ở nhiệt độ 70-75 °C, thời gian 60 phút và công suất siêu âm 500W; sau đó ly tâm thu được dịch lỏng A2 và cặn B2.

Trong bước g) hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%, hỗn hợp dịch lỏng A1 và 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 dạng keo (aerosil) theo tỷ lệ chất phụ gia/cao đặc là 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 5%. 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 50 kg quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*)

Nguyên liệu được sử dụng quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*) 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. 50kg nguyên liệu có độ ẩm ban đầu khoảng 65-70% sau khi sấy khô thu được khoảng 15kg mẫu khô có độ ẩm khoảng 10%, nghiền thô qua sàng cỡ lỗ khoảng 3 mm thu được nguyên liệu dạng bột.

Cân 15kg nguyên liệu bột quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*) thu được ở trên chuyển vào thiết bị chiết xuất hồi lưu chứa 120 lít etanol 80% (tỷ lệ 8/1). Tiến hành đóng kín nồi chiết và gia nhiệt đến 80-85°C. Thời gian chiết 3 giờ. Sau khi chiết, rút cạn dịch thu được dịch chiết I (dịch chiết etanol) và bổ sung 75 lít nước (tỷ lệ 3/1) và chiết tiếp lần thứ hai. Phần dịch sau khi chiết với nước được rút kiệt, lọc và gọi là dịch chiết II (dịch chiết nước).

Phần dịch chiết I (còn lại khoảng 100 lít) được cô thu hồi dung môi đến khi nồng độ chất khô còn khoảng 30-35% thì tiến hành đổ ra khay sấy (khay inox kín, kích thước 500 x 800 mm) một lớp mỏng rồi tiến hành sấy khô trên máy sấy lạnh (sấy bơm nhiệt) đến độ ẩm của khối bột đạt 8-10% thì kết thúc quá trình sấy. Sau quá trình sấy thu được khoảng 1,7 - 2,0kg bột. Cho số lượng bột này vào dung môi nước với tỷ lệ 8/1 rồi 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 55-60 lít dịch chiết II (dịch chiết nước phần không tan) vào khoảng 15-16 lít dịch chiết bột thu được hỗn hợp dịch chiết trong phân đoạn nước, khuấy đều và bổ sung khoảng 3kg (5%) hỗn hợp enzym xenlulaza (40%), enzym pectinaza (30%) và enzym α -amylaza (30%) vào dịch lỏng trong phân đoạn nước, trộn đều hỗn hợp. Ngâm hỗn hợp dịch lỏng và enzym ở nhiệt độ 50-55 °C trong thời gian 5 giờ.

Sau thời gian ngâm 5 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 500W, nhiệt độ 50-55 °C trong thời gian 60 phút; sau khi kết thúc công đoạn chiết siêu âm, tiến hành ly tâm thu được khoảng 60 lít dịch lỏng A1 và 2,5 kg cặn B1; cặn B1 được bổ sung 12-13 lít nước tỷ lệ 5/1 (thể tích/trọng lượng) và tiến hành

chiết siêu âm ở nhiệt độ 70-75 °C, thời gian 60 phút và công suất siêu âm 500W; sau đó ly tâm thu được hơn 10 lít dịch lỏng A2 và cặn B2

Trộn 2 khối lỏng A1 và A2 thu được hơn 70 lít dịch lỏng, tiến hành cô đặc chân không cho đến khi khối lượng dịch giảm còn khoảng 25 lít thì kết thúc quá trình cô đặc. Bổ sung 75 lít etanol 96% (tỷ lệ 3/1) vào 25 lít dịch sau khi cô, thu được khoảng 100 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 dạng keo (aerosil) và sấy khô ở nhiệt độ khoảng 50°C đến khi độ ẩm khoảng 5%, nghiền mịn thu được 4,2kg 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 11,3%.

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 linh chi đen (*G. atrum*) với hiệu suất chiết polysacarit 11,3%. 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 linh chi đen (*G. atrum*), bao gồm các bước:

a) xử lý nguyên liệu bằng cách thu hái quả thể nấm linh chi đen, làm sạch, cắt thành lát có kích thước từ 5 đến 7mm, sau khi sấy khô đến độ ẩm khoảng 10%, nghiền thô qua sàng cỡ lỗ khoảng 3mm để thu được nguyên liệu dạng bột;

b) chiết nguyên liệu trong dung môi etanol để thu dịch chiết I chứa polysacarit thô: bằng cách chuyển nguyên liệu dạng bột vào thiết bị chiết hồi lưu chứa etanol 80% theo thể tích với tỷ lệ dung môi/ nguyên liệu là 8/1 (thể tích/trọng lượng), chiết ở nhiệt độ 80-85°C trong 3 giờ, sau khi rút kiệt thu được phần dịch chiết I;

c) chiết phần không tan (bã) để thu dịch chiết II chứa polysacarit: bổ sung dung môi nước vào phần không tan (bã) theo tỷ lệ dung môi/nguyên liệu là 5/1 (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) chiết phân đoạn polysacarit của dịch chiết I trong dung môi nước để thu được dịch lỏng giàu polysacarit, bổ sung dịch chiết II vào dịch lỏng giàu polysacarit để tạo ra hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit: 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 8/1 (thể tích/trọng lượng), chiết ở nhiệt độ 70-75°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 vào hỗn hợp dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit: tiến hành bổ sung hỗn hợp enzym gồm 3 loại enzym (% theo khối lượng) là enzym xenlulaza 40%, enzym pectinaza 30% và enzym α – amylaza 30% vào dịch lỏng trong phân đoạn nước giàu polysacarit, trộn đều hỗn hợp, ngâm hỗn hợp dịch lỏng và enzym ở nhiệt độ 50-55°C trong thời gian 5 giờ;

f) chiết siêu âm hỗn hợp thu được từ bước e): chiết siêu âm hỗn hợp dịch lỏng ở điều kiện công suất siêu âm 500W, nhiệt độ 50-55 °C trong thời gian 60 phút; tiến hành ly tâm thu được lỏng A1 và cặn B1; cặn B1 được bổ sung nước với tỷ lệ nước/cặn là 5/1 (thể tích/trọng lượng) và tiến hành chiết siêu âm ở nhiệt độ 70-75 °C, thời gian 60 phút và công suất siêu âm 500W; sau đó ly tâm thu được dịch lỏng A2 và cặn B2;

g) hòa tan polysacarit trong dung môi etanol 96%: gộp dịch lỏng A1 và lỏng A2, tiến hành cô đặc hỗn hợp đến khi khối lượng dịch lỏng còn lại khoảng 40-50% thể tích trước khi cô đặc, bổ sung etanol 96% theo thể tích vào hỗn hợp dịch với tỷ lệ 3/1 (thể tích/thể tích); và

h) thu hồi bột chiết polysacarit: lọc dịch sau khi bổ sung etanol 96%, tiến hành cô đặc, phối trộn với chất phụ gia, sấy khô, nghiền mịn và thu được bột polysacarit từ quả thể nấm linh chi đen (*G. atrum*).

HÌNH 1

