



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114921510 B

(45) 授权公告日 2023. 11. 21

(21) 申请号 202210548571.3

C12P 19/14 (2006.01)

(22) 申请日 2022.05.20

(56) 对比文件

(65) 同一申请的已公布的文献号

CN 107929331 A, 2018.04.20

申请公布号 CN 114921510 A

DE 3913040 A1, 1990.10.25

(43) 申请公布日 2022.08.19

CN 107779405 A, 2018.03.09

(83) 生物保藏信息

CN 109182193 A, 2019.01.11

CGMCC No. 14129 2017.06.01

R R Colwell等. Microbial diversity: the importance of exploration and conservation. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. 1997, 第18卷(第5期), 302-307.

(73) 专利权人 珠海凤凰高科生物制药有限公司

地址 519000 广东省珠海市金湾区红旗镇联港工业区双林片创业北路三号A栋锯管出货车间

陈文华等. 一种拟青霉属的真菌人工培养与分子鉴定. 中国菌物学会第七届全20170831国会员代表大会暨 2017年学术年会摘要集. 2017, 181.

(72) 发明人 王焜佳 崔立娟 李欣培 张珂璠 徐凌川 王厚伟

陈文华; 谭会颖; 刘政; 邴帅; 郑晓文; 王安冉; 徐凌川. 中国大陆新记录种珊瑚拟青霉的分离鉴定及其培养基优化. 山东农业科学. 2018, (07), 151-154.

(74) 专利代理机构 济南泉城专利商标事务所 37218

专利代理师 李桂存

审查员 邓宗碧

(51) Int. Cl.

C12N 1/14 (2006.01)

C12P 19/04 (2006.01)

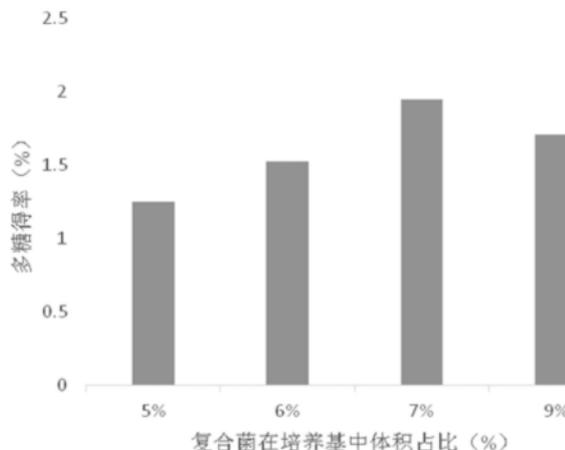
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用

(57) 摘要

本发明涉及天然产物有效成分提取技术领域, 特别涉及珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用。通过采用酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉复合菌(酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉按2:3:1的比例混合), 充分发挥各个菌种的作用, 真菌、细菌生长所产生的酶对白首乌进行分解, 从而释放出白首乌组织中的活性成分, 同时真菌产生的酶还能分解白首乌粗多糖, 降低白首乌粗多糖的分子量, 使得发酵后的白首乌利于后续的纯化分离, 因此利用本发明提取的白首乌多糖具有提取物纯度高, 杂质易分离的特点, 而且得率、蛋白质清除率和脱色率均较高。



1. 珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用,其特征在于,采用酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉混合发酵白首乌,发酵液纯化脱色后得到白首乌多糖;所述珊瑚拟青霉(*Penicillium clavariaeformis*)保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,保藏编号为CGMCC 14129,保藏时间为2017年6月1日。

2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在於,所述酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉按2: 3: 1的比例混合。

3. 根据权利要求1所述的应用,其特征在於,具体过程包括以下步骤:

(1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,将酵母菌、珊瑚拟青霉及枯草芽孢杆菌按比例接种于液体培养基中,摇床培养后得到含纤维素酶、淀粉酶的复合菌培养液;

(2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱烘干,用高速粉碎机粉碎,得到白首乌粉末;

(3) 将步骤(2)的白首乌粉末加入水中,用胶体磨处理后加入到高压均质机中均质处理;

(4) 将步骤(3)制得的均质液投入步骤(1)制备的复合菌培养液中,充分搅拌,供氧发酵,继续培养得到发酵液;离心获得上清液;

(5) 步骤(4)的上清液加脱色活性炭,静置吸附,真空抽滤去渣,得滤液;

(6) 步骤(5)的滤液中加入Sevage试剂,混合后充分振荡,离心,取上清液;

(7) 将步骤(6)的上清液与乙醇混合,充分搅拌至产生沉淀,静置,离心后获得沉淀物,乙醇洗涤,真空干燥后得到白首乌多糖。

4. 根据权利要求3所述的应用,其特征在於,步骤(1)所述的液体培养基,按照质量百分比为:羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水;酵母菌的体积为培养基体积的1%-10%;摇床培养的温度为26-30℃,转速160r/min,摇床培养时间为12h。

5. 根据权利要求3所述的应用,其特征在於,所述步骤(3)中,白首乌粉末与水的重量比为1:7;均质处理过程中,压力为25Mpa,处理时间为10-20min;喷雾干燥的温度为150-200℃。

6. 根据权利要求3所述的应用,其特征在於,所述步骤(4)中,在发酵罐中加入均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)白首乌粉末质量5-10倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至5.5-6.5,充分搅拌,发酵温度为25-35℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020-0.040mol/L,继续培养24-72h得到发酵液。

7. 根据权利要求3所述的应用,其特征在於,所述步骤(5)中,向上清液中加入上清液质量5%-8%的脱色活性炭,静置吸附1h以上。

8. 根据权利要求3所述的应用,其特征在於,所述步骤(6)中,将滤液与Sevage试剂按照体积比4-6:1进行混合,混合后充分振荡,离心,取上清液。

9. 根据权利要求3所述的应用,其特征在於,所述步骤(7)中,将步骤(6)获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:1-3进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置,离心,获得沉淀物,将沉淀物用乙醇洗涤,真空干燥,得到白首乌多糖。

珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用

技术领域

[0001] 本发明涉及天然产物有效成分提取技术领域,特别涉及珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用。

背景技术

[0002] 白首乌来源于萝藦科鹅绒藤属植物戟叶牛皮消 *Cynanchum bungei* Decne. 的干燥块根,具有补肝肾、强筋骨、益精血、乌须发的功效,是一种传统的滋补类药材。古籍记载,白首乌用于晚唐,盛行于早明,沿用至今。因其补肾益肝、乌发生发、养血益精、抗衰老之功效,被历代名家视为摄生防老珍品。白首乌含有 C21 甾苷类、多糖类、苯乙酮类等活性成分,这些成分与其抗肿瘤、保肝护肝、抗氧化 以及免疫调节等药理活性密切相关。

[0003] 白首乌多用于保健品行业,针对白首乌活性成分的研究报道主要为 C21 甾苷类、苯乙酮类等,但对白首乌多糖却报道甚少。多糖作为生物体内重要的活性物质,在控制机体细胞生长、分裂和维持生命个体的正常生理机能等方面具有重要作用。白首乌多糖具有降血脂功能,对酒精性肝损伤有保护作用。

[0004] 白首乌多糖提取以传统的水提醇沉法为主,随着研究的深入,现多在水提醇沉的基础上多辅以超声和微波技术,通过优化料水比、提取温度及时间来提高白首乌多糖提取率,但此类方法提取周期长,提取量少且水提过程中温度过高会破坏多糖的结构。

发明内容

[0005] 针对现阶段白首乌多糖提取存在的问题,本发明提供一种新的白首乌多糖的提取方法,通过采用酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉复合菌,充分发挥各个菌种的作用,真菌、细菌生长所产生的酶对白首乌进行分解,从而释放出白首乌组织中的活性成分,同时真菌产生的酶还能分解白首乌粗多糖,降低白首乌粗多糖的分子量,使得发酵后的白首乌利于后续的纯化分离,因此利用本发明提取的白首乌多糖具有提取物纯度高,杂质易分离的特点,而且得率、蛋白质清除率和脱色率均较高。

[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用,采用酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉混合发酵白首乌,发酵液纯化脱色后得到白首乌多糖。

[0008] 优选地,所述酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉按 2: 3: 1 的比例混合。

[0009] 优选地,具体过程包括以下步骤:

[0010] (1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,将酵母菌、珊瑚拟青霉及枯草芽孢杆菌按比例接种于液体培养基中,摇床培养后得到含纤维素酶、淀粉酶的复合菌培养液;

[0011] (2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱烘干,用高速粉碎机粉碎,得到白首乌粉末;

[0012] (3) 将步骤(2)的白首乌粉末加入水中,用胶体磨处理后加入到高压均质机中均质处理,离心喷雾干燥,灭菌后得到白首乌细粉;

[0013] (4) 将步骤(3)制得的均质液投入步骤(1)制备的复合菌培养液中,充分搅拌,供氧

发酵,继续培养得到发酵液;离心获得上清液;

[0014] (5)步骤(4)的上清液加脱色活性炭,静置吸附,真空抽滤去渣,得滤液;

[0015] (6)步骤(5)的滤液中加入Sevage试剂,混合后充分振荡,离心,取上清液;

[0016] (7)将步骤(6)的上清液与乙醇混合,充分搅拌至产生沉淀,静置,离心后获得沉淀物,乙醇洗涤,真空干燥后得到白首乌多糖。

[0017] 优选地,步骤(1)所述的液体培养基,按照质量百分比为:羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水;酵母菌的体积为培养基体积的1-10%;摇床培养的温度为26-30℃,转速160r/min,摇床培养时间为12h。

[0018] 优选地,所述步骤(3)中,白首乌粉末与水的重量比为1:7;均质处理过程中,压力为25Mpa,处理时间为10-20min;喷雾干燥的温度为150-200℃。

[0019] 优选地,所述步骤(4)中,在发酵罐中加入均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)的白首乌粉末质量5-10倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至5.5-6.5,充分搅拌,发酵温度为25-35℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020-0.040mol/L,继续培养24-72h得到发酵液。

[0020] 优选地,所述步骤(5)中,向上清液中加入上清液质量5-8%的脱色活性炭,静置吸附1h以上。

[0021] 优选地,所述步骤(6)中,将滤液与Sevage试剂按照体积比4-6:1进行混合,混合后充分振荡,离心,取上清液。

[0022] 优选地,所述步骤(7)中,将步骤(6)获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:1-3进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置12-48h,离心,获得沉淀物,将沉淀物用乙醇洗涤3次,真空干燥,得到白首乌多糖。

[0023] 菌种保藏信息

[0024] 保藏时间:2017年6月1日;

[0025] 保藏单位:中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心;

[0026] 保藏编号:CGMCC No . 14129;

[0027] 保藏单位地址:北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所,邮政编码:100101;

[0028] 分类命名:*Penicillium clavariaeformis*。

[0029] 本发明的有益效果

[0030] 本发明主要通过真菌及细菌发酵白首乌,再通过分离纯化得到白首乌多糖,发酵过程中真菌、细菌生长所产生的酶对白首乌进行分解,从而释放出白首乌组织中的活性成分,同时真菌产生的酶还能分解白首乌粗多糖,降低白首乌粗多糖的分子量,使得发酵后的白首乌利于后续的纯化分离,因此利用本发明提取的白首乌多糖具有提取物纯度高,杂质易分离的特点,而且得率、蛋白质清除率和脱色率均较高。

[0031] 本发明在发酵之前对白首乌粉末进行了高压均匀处理,该操作有利于白首乌多糖从白首乌中分离出来,能进一步提高本发明的得率。

[0032] 珊瑚拟霉菌菌丝体中的多糖具有显著地还原力和清除自由基的能力,能够显著提高抗氧化酶活性;促进其他菌类成长的同时,提升白首乌多糖的得率。

附图说明

- [0033] 图1为不同体积复合菌对白首乌多糖提取率的影响图；
[0034] 图2为不同体积复合菌培养液与粉末配比对白首乌多糖提取率的影响图；
[0035] 图3为供氧发酵时不同氧浓度对白首乌多糖提取率的影响图。

具体实施方式

[0036] 下面将结合具体实施例来详细说明本发明,在此本发明的示意性实施例及其说明用来解释本发明,但并不作为对本发明的限定。

[0037] 实施例1

[0038] 珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用,包括以下步骤:

[0039] (1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,液体培养基的重量百分比组成为羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水,酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉按2:3:1的比例混合接种于培养基中,酵母菌、珊瑚拟青霉及枯草芽孢杆菌的总体积为培养基体积的5%,摇床培养12h,培养的温度为27℃,转速160r/min。

[0040] (2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱中50℃烘干20h,用高速粉碎机粉碎,过80目筛,得到白首乌粉末;

[0041] (3) 将白首乌粉末加入水中,白首乌粉末与水的重量比为1:7,用胶体磨处理10min后加入到高压均质机中均质处理15min,压力为25Mpa;得到均质液;

[0042] (4) 在发酵罐中加入步骤(3)的均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)制得白首乌细粉质量7倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至6.5,充分搅拌10min,发酵温度为26℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020mol/L继续培养68h得到发酵液;将发酵液3500r/min离心15min获得上清液;

[0043] (5) 加入上清液质量6%的脱色活性炭,静置吸附1h,真空抽滤去渣,得滤液;

[0044] (6) 将滤液与Sevage试剂按照体积比4:1进行混合,混合后充分振荡30min,3000r/min离心10min,取上清液。

[0045] (7) 将获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:2进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置24h,3000r/min离心12min,获得沉淀物,将沉淀物用质量浓度为80%的乙醇洗涤3次,60℃下真空干燥24h,得到白首乌多糖。

[0046] 实施例2

[0047] 珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用,包括以下步骤:

[0048] (1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,液体培养基的重量百分比组成为羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水,酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉按2:3:1的比例混合接种于培养基中,酵母菌、珊瑚拟青霉及枯草芽孢杆菌的总体积为培养基体积的7%,摇床培养12h,培养的温度为30℃,转速160r/min。

[0049] (2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱中55℃烘干20h,用高速粉碎机粉碎,过80目筛,得到白首乌粉末;

[0050] (3) 将白首乌粉末加入水中,白首乌粉末与水的重量比为1:7,用胶体磨处理10min

后加入到高压均质机中均质处理15min,压力为25Mpa,得到均质液;

[0051] (4) 在发酵罐中加入均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)制得白首乌细粉质量7倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至6.5,充分搅拌10min,发酵温度为28℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020mol/L,继续培养60h得到发酵液;将获得的发酵液4000r/min离心15min获得上清液;

[0052] (5) 加入上清液质量6%的脱色活性炭,静置吸附1h,真空抽滤去渣,得滤液;

[0053] (6) 将滤液与Sevage试剂按照体积比4:1进行混合,混合后充分振荡30min,3000r/min离心10min,取上清液。

[0054] (7) 将获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:2进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置20h,3000r/min离心10min,获得沉淀物,将沉淀物用质量浓度为80%的乙醇洗涤3次,60℃下真空干燥24h,得到白首乌多糖。

[0055] 实施例3

[0056] 珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用,包括以下步骤:

[0057] (1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,液体培养基的重量百分比组成为羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水,酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉按2:3:1的比例混合接种于培养基中,酵母菌、珊瑚拟青霉及枯草芽孢杆菌的总体积为培养基体积的6%,摇床培养12h,培养的温度为27℃,转速160r/min。

[0058] (2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱中57℃烘干20h,用高速粉碎机粉碎,过80目筛,得到白首乌粉末;

[0059] (3) 将白首乌粉末加入水中,白首乌粉末与水的重量比为1:7,用胶体磨处理10min后加入到高压均质机中均质处理15min,压力为25Mpa,得到均质液;

[0060] (4) 在发酵罐中加入均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)制得白首乌细粉质量7倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至6.5,充分搅拌10min,发酵温度为30℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020mol/L继续培养55h得到发酵液;将获得的发酵液3200r/min离心15min获得上清液;

[0061] (5) 加入上清液质量7%的脱色活性炭,静置吸附1h,真空抽滤去渣,得滤液;

[0062] (6) 将滤液与Sevage试剂按照体积比5:1进行混合,混合后充分振荡30min,3000r/min离心10min,取上清液。

[0063] (7) 将获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:1进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置32h,3000r/min离心15min,获得沉淀物,将沉淀物用质量浓度为80%的乙醇洗涤3次,60℃下真空干燥24h,得到白首乌多糖。

[0064] 实施例4

[0065] 珊瑚拟青霉在白首乌多糖提取上的应用,包括以下步骤:

[0066] (1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,液体培养基的重量百分比组成为羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水,酵母菌、枯草芽孢杆菌与珊瑚拟青霉按2:3:1的比例混合接种于培养基中,酵母菌、珊瑚拟青霉及枯草芽孢杆菌的总体积为培养基体积的9%,摇床培养12h,培养的温度为26℃,转速160r/min。

[0067] (2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱中60℃烘干20h,用高速粉碎机粉碎,过80目筛,得到白首乌粉末;

[0068] (3) 将白首乌粉末加入水中,白首乌粉末与水的重量比为1:7,用胶体磨处理10min后加入到高压均质机中均质处理15min,压力为25Mpa,得到均质液;

[0069] (4) 在发酵罐中加入均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)制得白首乌细粉质量7倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至6.5,充分搅拌10min,发酵温度为33℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020mol/L继续培养40h得到发酵液;将获得的发酵液5000r/min离心15min获得上清液;

[0070] (5) 加入上清液质量7%的脱色活性炭,静置吸附1h,真空抽滤去渣,得滤液;

[0071] (6) 将滤液与Sevage试剂按照体积比4:1进行混合,混合后充分振荡30min,3000r/min离心10min,取上清液。

[0072] (7) 将获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:3进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置20h,3000r/min离心15min,获得沉淀物,将沉淀物用质量浓度为80%的乙醇洗涤3次,60℃下真空干燥24h,得到白首乌多糖。

[0073] 对比例1 与实施例4工艺相同,不加入珊瑚拟青霉

[0074] 白首乌多糖提取方法,包括以下步骤:

[0075] (1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,液体培养基的重量百分比组成为羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水,酵母菌、枯草芽孢杆菌与按2:3的比例混合接种于培养基中,酵母菌及枯草芽孢杆菌的总体积为培养基体积的9%,摇床培养12h,培养的温度为26℃,转速160r/min。

[0076] (2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱中60℃烘干20h,用高速粉碎机粉碎,过80目筛,得到白首乌粉末;

[0077] (3) 将白首乌粉末加入水中,白首乌粉末与水的重量比为1:7,用胶体磨处理10min后加入到高压均质机中均质处理15min,压力为25Mpa,得到均质液;

[0078] (4) 在发酵罐中加入均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)制得白首乌细粉质量7倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至6.5,充分搅拌10min,发酵温度为33℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020mol/L继续培养40h得到发酵液;将获得的发酵液5000r/min离心15min获得上清液;

[0079] (5) 加入上清液质量7%的脱色活性炭,静置吸附1h,真空抽滤去渣,得滤液;

[0080] (6) 将滤液与Sevage试剂按照体积比4:1进行混合,混合后充分振荡30min,3000r/min离心10min,取上清液。

[0081] (7) 将获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:3进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置20h,3000r/min离心15min,获得沉淀物,将沉淀物用质量浓度为80%的乙醇洗涤3次,60℃下真空干燥24h,得到白首乌多糖。

[0082] 与实施例4相比,对比例1得到白首乌多糖的得率少30%。

[0083] 对比例2

[0084] 烟曲霉在白首乌多糖提取上的应用,包括以下步骤:

[0085] (1) 在无菌条件下,取适量液体培养基,液体培养基的重量百分比组成为羧甲基纤维素20%,葡萄糖2%,蔗糖2%,蛋白胨0.1%,磷酸二氢钾0.1%,硫酸镁0.05%,其余为水,酵母

菌、枯草芽孢杆菌与烟曲霉按2: 3: 1的比例混合接种于培养基中,酵母菌、烟曲霉及枯草芽孢杆菌的总体积为培养基体积的9%,摇床培养12h,培养的温度为26℃,转速160r/min。

[0086] (2) 将新鲜白首乌切片,置于烘箱中60℃烘干20h,用高速粉碎机粉碎,过80目筛,得到白首乌粉末;

[0087] (3) 将白首乌粉末加入水中,白首乌粉末与水的重量比为1:7,用胶体磨处理10min后加入到高压均质机中均质处理15min,压力为25Mpa得到均质液;

[0088] (4) 在发酵罐中加入均质液并注入步骤(1)制备的复合菌培养液,量取步骤(2)制得白首乌细粉质量7倍的复合菌培养液加入发酵罐中,加入 KH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 缓冲溶液调节发酵罐中的料液pH至6.5,充分搅拌10min,发酵温度为33℃,供氧发酵,氧浓度控制在0.020mol/L继续培养40h得到发酵液;将获得的发酵液5000r/min离心15min获得上清液;

[0089] (5) 加入上清液质量7%的脱色活性炭,静置吸附1h,真空抽滤去渣,得滤液;

[0090] (6) 将滤液与Sevage试剂按照体积比4:1进行混合,混合后充分振荡30min,3000r/min离心10min,取上清液。

[0091] (7) 将获得的上清液与质量浓度为95%的乙醇按质量比1:3进行混合,充分搅拌至产生沉淀,静置20h,3000r/min离心15min,获得沉淀物,将沉淀物用质量浓度为80%的乙醇洗涤3次,60℃下真空干燥24h,得到白首乌多糖。

[0092] 与实施例4相比,对比例1得到白首乌多糖的得率少40%。

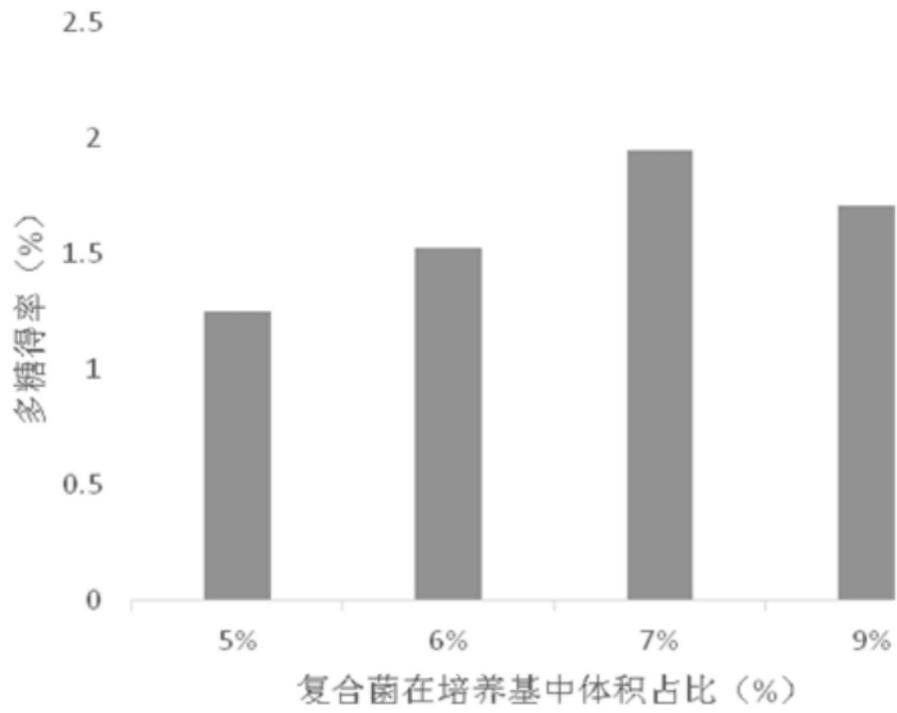


图1

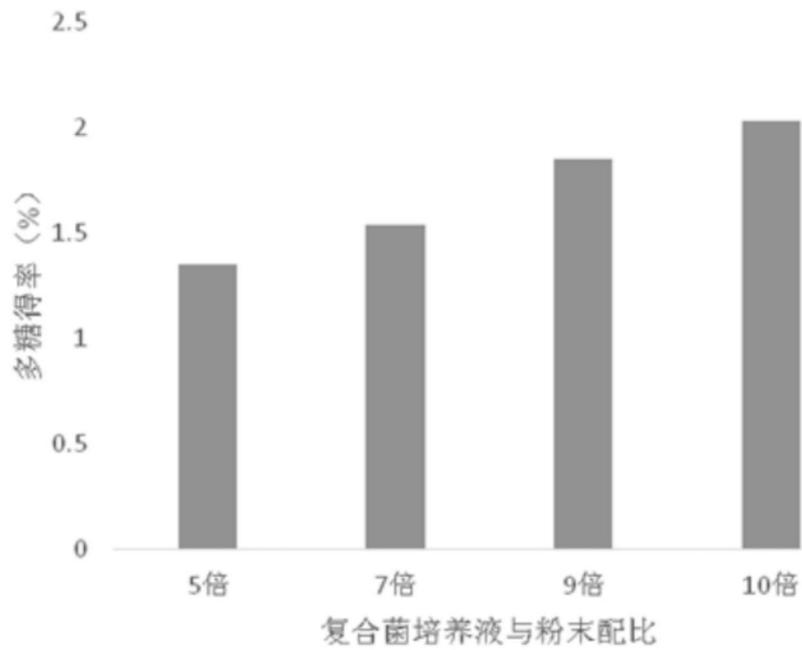


图2

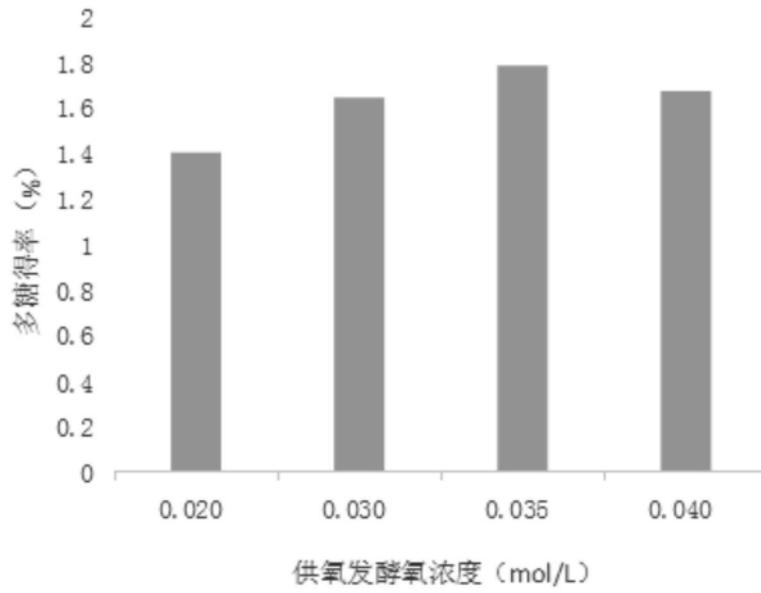


图3