



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104761656 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 08

(21) 申请号 201510103659. 4

(22) 申请日 2008. 09. 04

(30) 优先权数据

07022025. 6 2007. 11. 13 EP

(62) 分案原申请数据

200880114327. 4 2008. 09. 04

(71) 申请人 卡吉尔公司

地址 美国明尼苏达州

(72) 发明人 J. 马祖瓦耶 J. P. 洛诺伊

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

司 72001

代理人 吕彩霞

(51) Int. Cl.

C08B 37/02(2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页

(54) 发明名称

净化的 β -(1, 3)-D- 葡聚糖的制备方法

(57) 摘要

这里提供了一种用于制备净化的 β -(1, 3)-D- 葡聚糖的方法,其包括步骤:提供 pH 高于 11.0 的 β -(1, 3)-D- 葡聚糖的初始水溶液,过滤该 β -(1, 3)-D- 葡聚糖初始水溶液来获得含有 β -(1, 3)-D- 葡聚糖的滤液,用酸将该含有 β -(1, 3)-D- 葡聚糖的滤液的 pH 调整为低于 5.0 的 pH,来获得酸性 β -(1, 3)-D- 葡聚糖溶液,和将该酸性 β -(1, 3)-D- 葡聚糖溶液加热到 60-160°C 的温度的范围。

1. 一种制备 β -(1,3)-D-葡聚糖的方法,该方法包括:
 - (a) 获得 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液;
 - (b) 将该 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液的 pH 提高到高于 11.0,来获得碱性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液,其中该碱性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液中的 β -(1,3)-D-葡聚糖具有三股螺旋结构,并且进一步其中该三股螺旋结构是至少部分变性的;
 - (c) 过滤来自步骤 (b) 的碱性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液以获得含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的滤液;
 - (d) 降低该含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的滤液的 pH,来获得 pH 低于 5.0 的酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液;和
 - (e) 将该酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液加热到 60-160°C 的温度的范围。
2. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液具有第一粘度;其中来自步骤 (b) 的碱性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液具有低于第一粘度的第二粘度;和其中来自步骤 (e) 的加热的 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液具有高于第二粘度的第三粘度。
3. 权利要求 2 的方法,其中第二粘度低于约 210cP。
4. 权利要求 2 的方法,其中第三粘度为至少约 3000cP。
5. 权利要求 2 的方法,其中第三粘度与第一粘度基本类似。
6. 权利要求 2 的方法,其中第三粘度比第二粘度高至少 10 倍。
7. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液含至少 5g/l β -(1,3)-D-葡聚糖。
8. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液含至少 10g/l β -(1,3)-D-葡聚糖。
9. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液含至少 20g/l β -(1,3)-D-葡聚糖。
10. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液含至少 40g/l β -(1,3)-D-葡聚糖。
11. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液含至少 50g/l β -(1,3)-D-葡聚糖。
12. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液含 0-10wt% 的盐、表面活性剂、络合剂、或其组合。
13. 权利要求 1 的方法,其中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液含 0-5wt% 的盐、表面活性剂、络合剂、或其组合。
14. 权利要求 1 的方法,其中在步骤 (e) 中,将酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液加热到 80-140°C 的温度的范围。
15. 权利要求 1 的方法,其中在步骤 (e) 中,将酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液加热到 85-135°C 的温度的范围。
16. 权利要求 1 的方法,其中在步骤 (e) 中,将酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液加热到 100-120°C 的温度的范围。

净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖的制备方法

[0001] 本申请是于 2010 年 5 月 5 日进入中国,中国申请号为 200880114327.4,发明名称为“净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖的制备方法”的 PCT 申请(国际申请号:PCT/EP2008/007236)的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及一种用于制备净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖的方法,其包括下面的关键步骤:碱化 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液来降低该溶液的粘度,过滤该低粘度溶液和通过酸化来恢复初始粘度,并且加热所获得的含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的滤液。

背景技术

[0003] 分类为 β -(1,3)-D-葡聚糖的多糖种类的特征在于以 β -(1,3) 形式连接的 D-葡萄糖残基主链,其中不同的 β -(1,3)-D-葡聚糖在它们的侧基和分子量方面的结构是彼此不同的。例如凝胶多糖完全由 β -(1,3)-D-葡萄糖主链组成,而裂褶多糖,硬葡聚糖和酵母葡聚糖包含 β -(1,6)-糖基侧链。由于它们强的增稠性能和独特的流变性能,这些多糖已经获得了诸多的工业应用,特别是在人类食品或者动物饲料领域中,作为化妆品,水彩画,印刷油墨的成分,以及用在石油工业中,例如在钻探泥浆,隔离液中,和作为沥青乳液的稳定剂。

[0004] β -(1,3)-D-葡聚糖类型的多糖通常是通过微生物发酵来生产的,并且该发酵液通常是直接使用和以稀释形式使用的,通常是在巴氏灭菌之后使用(参见例如 US 专利 3301848)。但是,对于某些应用而言,需要更高纯度的 β -(1,3)-D-葡聚糖,其应当不包含微生物细胞和/或该发酵液的其他水溶性成分。

[0005] 在这种情况下,通常使用沉淀方法,其包括加入水溶性有机溶剂(典型的是异丙醇)或者另外一种沉淀剂例如聚乙二醇,来沉淀 β -(1,3)-D-葡聚糖(参见例如 EP0266163A2 和 US3301848)。在沉淀后,将沉淀物与含水介质经由过滤器分离,或更优选,经由离心分离进行分离。所形成的沉淀物或者“凝结物”然后可以加压来除去尽可能多的其中所含的液体,然后可以干燥和研磨成为 β -(1,3)-D-葡聚糖粉末,如本领域已知的那样(参见例如 US5224988 和 US3301848)。

[0006] 但是,虽然 β -(1,3)-D-葡聚糖直接由发酵液中沉淀会提供良好的回收产率,但是所获得的沉淀物混有微生物细胞,并且因此不能用于某些应用。所以,期望的是使 β -(1,3)-D-葡聚糖从无细胞的溶液中开始沉淀,该溶液可以通过任何便利的技术例如过滤或者离心分离来获得。

[0007] 一种特别有利的将 β -(1,3)-D-葡聚糖与发酵液的其他成分,特别是微生物细胞进行分离的技术是过滤。但是,目前的对含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的溶液的过滤技术具有这样的缺点,即,这样的溶液太粘稠而不能容易的进行过滤(参见例如 EP0266163A2 和 US3301848)。具体的,该高的粘度会导致过滤压力的升高或者过滤器的完全堵塞。为此原因,目前的方法包括在过滤之前,为了降低粘度,用大量的溶剂来稀释含有 β -(1,3)-D-葡

聚糖的溶液的步骤。结果,该常规的方法在生产率和生产成本方面是不令人满意的。

发明内容

[0008] 本发明因此的目标是提供一种用于制备净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖的方法,其提供了高的产率,并且是比现有的 β -(1,3)-D-葡聚糖制备方法更加成本有效的。

[0009] 已经令人惊讶的发现这个问题是通过所要求保护的方法来解决的,该方法包括下面的关键步骤:通过加入碱来碱化 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液,以产生不太粘稠的溶液,过滤该低粘度溶液,和使用酸来酸化所获得的滤液,来恢复初始粘度,并且加热所形成的酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液。

[0010] 本发明的方法能够过滤未稀释的 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液,该溶液包含高浓度的 β -(1,3)-D-葡聚糖,该浓度远高于能够用于常规方法中的溶液的浓度,同时最终所获得的 β -(1,3)-D-葡聚糖的粘度类似于常规方法的粘度。因此,本发明的方法表现出明显提高的加工生产率。另外,不需要或者仅仅需要有限量的试剂来稀释待过滤的溶液。结果,本发明的方法是比较常规方法远远更成本有效的。

[0011] 更具体的,本发明的方法包括下面的步骤:

- (a) 提供 pH 高于 11.0 的 β -(1,3)-D-葡聚糖的初始水溶液;
- (b) 过滤该 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液来获得含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的滤液;
- (c) 用酸将该含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的滤液的 pH 调整为低于 5.0 的 pH,来获得酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液;
- (d) 将该酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液加热到 60-160°C 的温度的范围。

[0012] 本发明方法的步骤 (a) 中所提供的 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液可以是任何含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的水溶液。该 β -(1,3)-D-葡聚糖可以以下面的高浓度包含在初始溶液中:5g/l 或者更高,特别是 10g/l 或者 20g/l 或者更高,高到这样的高浓度例如 40 或者 50g/l 或者仍然更高的浓度。典型的,该初始溶液是发酵液,未精制的 β -(1,3)-D-葡聚糖或者任何其他未精制的 β -(1,3)-D-葡聚糖制剂的再生溶液。这些初始 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液可以任选的包含少量的,优选 0-10 重量%,更优选 0-5 重量%的混合的另外的物质,例如盐,表面活性剂,络合剂等等。

[0013] 本发明的“发酵液”是任何的溶液,该溶液是通过具有产生 β -(1,3)-D-葡聚糖的能力的微生物的作用,在介质例如基于糖和无机盐的介质的发酵之后获得的。发酵液因此包含用于发酵的微生物,未发酵的发酵介质和发酵代谢物等等。在本发明含义中的发酵液可以进一步是这样一种发酵液,其在过滤之前已经进行了灭菌或者巴氏灭菌。用于发酵的微生物可以是细菌,真菌和藻类。发酵是如本领域已知的那样来进行的,并且描述在例如 US3301848 中。

[0014] 当在此使用时,“未精制的 β -(1,3)-D-葡聚糖”的“再生溶液”包含任何这样的溶液,该溶液能够通过将未精制的 β -(1,3)-D-葡聚糖粉末溶解在合适的溶剂例如水中而获得的。术语“未精制的 β -(1,3)-D-葡聚糖”目的是表示液体或者更典型的固体形式的 β -(1,3)-D-葡聚糖制剂,其包含微生物细胞或者至少其碎片。其例子包括干燥的或者醇处理过的发酵液。该干燥的发酵液通常是粉末形式的,并且通常包含大约 5-60 重量%的 β -(1,3)-D-葡聚糖,其中其余部分基本上由细胞和剩余的少量的水组成。

[0015] 用于本发明中的 β -(1,3)-D-葡聚糖包括分类为 β -(1,3)-D-葡聚糖的任何多糖,即,具有 β -(1,3)-连接的 D-葡萄糖残基主链的任何多糖。这样的 β -(1,3)-D-葡聚糖的例子包括凝胶多糖(一种由例如土壤杆菌属物种 (*Agrobacterium spp.*) 产生的 β -(1,3)-连接的 D-葡萄糖残基的均聚物),灰树花多糖(一种由例如真菌 *Grifola frondosa* 所产生的的支化的 β -(1,3)-D-葡聚糖),香菇多糖(一种在 β -(1,3)-主链的每个第五葡萄糖残基上连接有两个葡萄糖接枝的支化的 β -(1,3)-D-葡聚糖,其例如是由真菌埃杜香菇 (*Lentinus edodes*) 产生的),裂褶多糖(一种在 β -(1,3)-主链的每个第三葡萄糖残基上具有一个葡萄糖接枝的支化的 β -(1,3)-D-葡聚糖,其例如是由群交裂褶真菌 (*Schizophyllum commune*) 产生的),硬葡聚糖(一种例如由真菌小核菌属物种 (*Sclerotium spp.*) 所产生的的支化的 β -(1,3)-D-葡聚糖,其来自 β -(1,3)-主链的三个葡萄糖分子中的一个葡萄糖分子通过 (1,6)- β 键连接到侧链 D-葡萄糖单元上),SSG(一种例如由真菌油菜核盘菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 所产生的的高度支化的 β -(1,3)-葡聚糖),来自酵母的可溶性葡聚糖(一种带有 β -(1,6)-连接侧基的 β -(1,3)-D-葡聚糖,其例如是由啤酒糖酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) 产生的),和海带多糖(一种带有 β -(1,3)-葡聚糖和 β -(1,6)-葡聚糖侧基的 β -(1,3)-葡聚糖,其由例如褐藻类掌状昆布 (the brown algae *Laminaria digitata*) 产生)。

[0016] 优选用于本发明中的 β -(1,3)-D-葡聚糖不包含侧基,例如凝胶多糖,或者经由 β -(1,6)-连接键合到 β -(1,3)-主链上的一种或多种葡萄糖残基的接枝,例如裂褶多糖和硬葡聚糖。此处所用的一种特别优选的 β -(1,3)-D-葡聚糖是硬葡聚糖。

[0017] 在本发明方法的步骤 (a) 中, β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液的 pH 可以如同本领域已知的那样进行调整,例如使用任何的有机或者无机碱来调整。根据本发明,该 pH 优选是依靠碱性化合物来调整的,其具有作为阳离子的钾离子,例如氢氧化钾,碳酸钾或者碳酸氢钾。但是,虽然不太优选,但是也可以使用氢氧化钠。优选将该 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液的 pH 设定到高于 11.0,更优选高于 12.0,仍然更优选高于 12.2 和最优选高于 12.3。在这样的高碱性条件下, β -(1,3)-D-葡聚糖三重螺旋体以一种变性状态而存在,在其中破坏了该三股螺旋结构,并且分离了所述的股。这导致了粘度的明显降低,并从而很大的促进了净化加工,这是因为能够使用更高浓度的 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液,而没有过滤器堵塞或者过滤压力不利的升高的风险。

[0018] β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液的提供优选是在搅动下进行的,特别是在搅拌下进行的,来保证均匀的溶液。搅拌速度对于分离的和净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖的产率和粘度来说是不太重要的,并且可以处于 10-150rpm 的范围内。典型的,搅拌是以 40-80rpm 的搅拌速度来进行的。

[0019] 在本发明的一种优选的实施方案中,在步骤 (a) 中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液的提供包括加入钙络合剂的步骤。钙络合剂降低了钙离子对于强碱性条件下的 β -(1,3)-D-葡聚糖过滤能力的不利影响。合适的钙络合剂是例如六偏磷酸盐,柠檬酸盐,草酸盐,磷酸盐,碳酸盐等等,其中六偏磷酸盐特别适用于本发明中。

[0020] 在本发明另外一种优选的实施方案中,在步骤 (a) 中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液的提供包括加热该初始溶液的步骤。加热到高温导致了 β -(1,3)-D-葡聚糖更完全的溶解,这在下面的情况中是特别重要的:在其中使用 β -(1,3)-D-葡聚糖粉末来制备

β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液,并且来加速在碱性 pH 时粘度降低的过程,以及来提高产率。优选使用的加热温度范围是 50-80°C。加热时间取决于加热温度,并且通常的范围是 1-24h。通常,1-6h 的加热时间对于完全溶解 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液和 / 或实现分离的和净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖的高产率和粘度来说是足够的。在一种优选的实施方案中,在 70°C 的加热时间是大约 4h。

[0021] 在本发明方法的步骤 (b) 中,过滤在步骤 (a) 中所提供的 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液,来获得含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的滤液。所获得的滤液基本上不含微生物细胞或者其碎片,例如菌丝体,并且仅仅由水溶性成分组成,例如 β -(1,3)-D-葡聚糖本身和来自该 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液的其他水溶性成分,例如盐,颜料等等。

[0022] 过滤可以使用任何已知的过滤手段来进行。在本发明上下文中,优选使用助滤剂例如珍珠岩,硅藻土或者纤维素。将这些助滤剂在混合下加入到碱性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液或者浆体中,来保证均匀的分散。典型的,碱性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液中的助滤剂与 β -(1,3)-D-葡聚糖的重量比是 0.2-5,特别是 0.5-2。然后将该含有助滤剂的碱性 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液供给到过滤器来分离助滤剂。可以使用任何类型的过滤来进行该分离,其中压滤器或者板式过滤器特别适用于此。也可以使用离心分离机,虽然与压滤器或者板式过滤器相比其不太优选。任选的,该过滤步骤还可以包括再循环直到获得透明溶液的步骤,该溶液然后如上所述与微生物细胞进行分离。

[0023] 在过滤过程中 β -(1,3)-D-葡聚糖初始水溶液的温度取决于所用的具体过滤手段,待净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖的性质,和其他因素。典型的,过滤温度是 50-90°C,优选是 70-85°C,特别优选是 80°C。

[0024] 在本发明方法的步骤 (c) 中,将步骤 (b) 中所获得的滤液通过加入酸到该含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的滤液中进行酸化,来将所形成的酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液的 pH 降低到低于 5.0,优选低于 4,更优选低于 3。特别优选的 pH 范围是 2-4。为了调整 pH,可以使用任何的酸,除了那些产生带有钙离子的不溶性盐的酸例如硫酸或者磷酸之外。优选使用盐酸。

[0025] 在本发明方法的步骤 (d) 中,将步骤 (c) 中所获得的酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液进行热处理,来恢复 β -(1,3)-D-葡聚糖的初始粘度。优选该加热处理包括将酸性 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液加热到 60-160°C,优选 80-140°C,更优选 100-120°C 的温度范围内。加热时间取决于加热温度,并且能够由本领域技术人员通过常规试验来容易的确定。典型的,该加热时间的范围在高温情况中是几秒,至在低温情况中是几小时。例如,20s 的加热时间在 130°C 的加热温度可能是足够的,而在 120°C 的加热温度可能需要大约 1min 的加热时间。在 90°C 批次处理 3h 也可以适用于恢复 β -(1,3)-D-葡聚糖的粘度。

[0026] 加热可以以批次或者 UHT 模式来进行。在批次模式中,将大体积的 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液进行长时间(通常大于 10 分钟)的处理。该 UHT 处理是一种连续的加热,在这里将一定体积的 β -(1,3)-D-葡聚糖溶液进行短时间(通常小于 10 分钟)的热处理。UHT 方法还能够处理大体积,但是是以连续流动模式来进行。加热时间可以通过所谓的“chambrage”的另外阶段根据期望来增加。

[0027] 在本发明方法的步骤 (d) 之后,所获得的含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的溶液可以根据期望来进一步加工。例如,如果期望分离包含在 β -(1,3)-D-葡聚糖初始溶液中的其他

水溶性成分,则 β -(1,3)-D-葡聚糖可以与任何已知的沉淀剂以足够的量进行混合,来沉淀 β -(1,3)-D-葡聚糖。该沉淀剂可以是例如溶剂,特别是醇,例如甲醇,乙醇,丙醇,或者丙酮。为了进行该沉淀,便利的,将足够量的沉淀剂在期望的温度加入到步骤(d)中所获得的加热的含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的溶液中。通常,所形成的溶液的沉淀温度范围是 70-100°C,优选是 80-95°C。典型的,该沉淀温度是 90°C。

[0028] 在沉淀之后, β -(1,3)-D-葡聚糖可以通过任何便利的方法与液体进行分离,例如过滤,离心分离或者滗析。如果期望,所获得的 β -(1,3)-D-葡聚糖产物可以如下来进一步净化:用上述有机溶剂的一种进行清洗,或者将该 β -(1,3)-D-葡聚糖再分散到水中,并且以上述相同的方式来重新沉淀。

[0029] 在本发明的上下文中,一种优选的沉淀方法是使用异丙醇的醇沉淀方法。更具体的,将该含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的溶液与等价的或者较大体积的异丙醇进行混合,通常 1-1.5 重量份的异丙醇,基于 1 重量份的含有 β -(1,3)-D-葡聚糖的溶液。沉淀通常是在高温例如在 90°C 进行的。优选然后将所获得的沉淀物用 70% 的异丙醇清洗至少一次,来获得含有水和溶剂的 β -(1,3)-D-葡聚糖的纤维性产物。

[0030] 然后通过任何已知的方式来干燥该 β -(1,3)-D-葡聚糖产物因此将该获得的净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖产物转化成为粉末形式,所述的方式是例如空气干燥,醇或者丙酮干燥,喷雾干燥,转鼓干燥或者流化床干燥。在干燥之前,还可以压榨该净化的 β -(1,3)-D-葡聚糖产物,来除去尽可能多的包含在其中的液体。该干燥的产物然后压碎和/或研磨成为粉末,其可以方便的用于宽泛的应用中。

具体实施方式

[0031] 本发明现在将通过下面的实施例来进一步说明。

实施例

[0032] 下面的试验结果证实了与通常使用的净化方法相比,本发明制备净化的硬葡聚糖的有益性能,硬葡聚糖是一种 β -(1,3)-D-葡聚糖,其在 β -(1,3)-主链中的每三个葡萄糖上具有 β -(1,6)-连接的侧 D-葡萄糖残基。具体的,已经发现硬葡聚糖溶液在过滤之前的粘度在高 pH 值时会显著降低,以及发现通过将 pH 降低到酸性范围,并且加热处理该酸性溶液,能够将滤液的粘度恢复到与常规方法中所获得的这些滤液大致相同的值。进一步可见本发明方法的产率与常规方法大致相同。因此,本发明的方法允许过滤高浓缩的硬葡聚糖溶液,该溶液包含了高出常规方法所用的硬葡聚糖溶液大约 5 倍的硬葡聚糖。作为其结果,本发明方法的生产率明显的高于常规的,并因此提供了大的成本节约潜力。

[0033] 对比例

根据常规方法的硬葡聚糖的净化

将体积为 150L 的自来水加热到 80°C,并且在 80rpm 的搅拌下加入 2.4kg 的 polytran N(最终浓度:8g/L)(粉末形式的无水醇处理过的发酵液,以商标名 ACTIGUM CS6 获自法国 Cargill of Baupete),随后在 80°C 搅拌 2 h。接下来,加入 5.625 kg 的 floM(最终浓度:18.75g/L)(一种珍珠岩类型的助滤剂,以商标名 CLARCEL FloM 获自法国 Ceca of Honfleur),将所形成的混合物用水稀释到 300L,在 80°C 连续搅拌 14 h。然后在 1-4bar 的

压力和 80°C 的温度使用压滤器（获自法国 Choquenot of Chauny）过滤该混合物。

[0034] 向所获得的滤液中加入基于 1 重量份的滤液为 1 重量份的异丙醇，来沉淀该硬葡聚糖。使用尼龙过滤器对沉淀物排水，并且用 1 重量份的 70% 异丙醇重新清洗。使用 Coq 螺旋压榨机来压榨最终的沉淀物。最后，将压榨过的硬葡聚糖在 75°C 的空气流化床干燥机中进行干燥，随后使用带有常规筛网的球磨机进行研磨和过筛，来获得粒度为大约 250 μm 的硬葡聚糖粉末。

[0035] 通过这种常规方法所获得的硬葡聚糖的产率、粘度和 pH 表示在表 1 中。pH 和粘度值是分别使用 pH 计和 Brookfield 粘度计，通过测量 1% 的硬葡聚糖溶液来确定的，该溶液是通过将所获得的 250 μm 的硬葡聚糖粉末在 25°C 的去离子水中再溶解成 1 重量 % 而获得的。产率对应于所获得的硬葡聚糖粉末的干重量百分比，基于所使用的 polytran N 粉末的干重量。

[0036] 表 1. 常规净化的硬葡聚糖的产率、粘度和 pH

产率 (%)	粘度 (cP)	pH
51	3600	7.8

要注意的是在这个实施例中所用的加工参数对应于在一系列初步的试验中所确定的最佳的加工参数。在这些初步的试验中，已经发现用于获得高产率和高粘度的最佳条件包括将 polytran N 起始溶液加热到大约 80°C。进一步提高该温度不会明显的提高产率或者增加粘度。在提高的温度例如 80°C，16h 的溶解时间 (solubilization time) 足以达到高的产率和粘度。另外，已经证实混合速度是不太重要的。此外和重要的，已经证实过滤器在高于 8g/l 的 polytran N 浓度时发生了堵塞。因此，常规硬葡聚糖净化方法是使用 8g/l 的 polytran N 浓度来进行的，其在 80rpm 的搅拌下在 80°C 溶解了 16h。

[0037] 本发明的实施例

按照本发明的碱方法来净化硬葡聚糖

将体积为 300L 水加热到 60°C，加入 0.599kg 的六偏磷酸钠（对应于在最终的溶液中，六偏磷酸盐与 polytran N 的比例为 0.057 : 1.0），以及加入 5.04kg 的氢氧化钾（对应于在最终的溶液中，氢氧化钾与 polytran N 的比例为 0.48 : 1.0），随后加入 10.5kg 的 polytran N（对应于大约 35g/l 的最终浓度）。将所形成的混合物保持在 60°C，并在 80rpm 搅拌 16h。在搅拌完成后，在搅拌下加入 7.38 kg 的 floM（最终浓度为大约 28g/l），随后连续搅拌大约 15 分钟。

[0038] 然后，使用压滤器（获自法国 Choquenot of Chauny）过滤该混合物。

[0039] 在过滤后，加入盐酸（大约 15L 的 6N HCl）将滤液的 pH 调整到 3。然后在约 15 分钟内将该酸性溶液从 60°C 加热到 110°C，然后在 110°C 保持 10 分钟。向所获得的加热滤液中加入 1.5 重量份的异丙醇，基于 1 重量份的滤液，来沉淀硬葡聚糖。使用尼龙过滤器对沉淀物排水，并且用 1 重量份的 70% 异丙醇重新清洗。然后使用 Coq 螺旋压榨机来压榨最终的沉淀物，并干燥压榨过的硬葡聚糖，随后如对比例所述进行研磨和过筛，来获得粒度为大约 250 μm 的硬葡聚糖粉末。

[0040] 在上述方法过程中粘度的变化表示在表 2 中，并且将最终所获得的硬葡聚糖的产率、粘度和 pH 性能表示在表 3。该 pH、粘度和产率如对比例中所述来确定。

[0041] 表 2. 在本发明方法过程中粘度的变化。

[0042] 表 2 中所示的粘度值证实了在碱化和过滤步骤之后，polytran N 溶液 (35g/l) 的

粘度下降到小于大约 20cP 的粘度,随后粘度升高到高于 3000cP。

[0043] 表 3. 本发明方法净化的硬葡聚糖的产率、粘度和 pH

产率 (%)	粘度 (cP)	pH
50	3300	5.8

从表 3 中显然可见,通过本发明所净化的硬葡聚糖是以与常规净化的硬葡聚糖大致相同的产率来获得的,并且表现出大致相同的粘度(参见表 1)。但是,本发明的方法允许使用浓度高得多的硬葡聚糖溶液,这导致了生产率显著提高。更具体的,已经发现能够没有任何问题的对 polytran N 浓度高到 40g/L 的溶液进行过滤。在高于 40g/L 的浓度,过滤所需的压力开始升高,这使得过滤更加困难(结果未示出)。