



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102643360 B

(45) 授权公告日 2014. 07. 02

(21) 申请号 201210115188. 5

审查员 尹巍巍

(22) 申请日 2012. 04. 19

(73) 专利权人 韶关学院

地址 512000 广东省韶关市大塘路九公里韶  
关学院科研处

(72) 发明人 唐胜球 董小英 彭冬秋 杨楚芬  
孙彦阔

(74) 专利代理机构 韶关市雷门专利事务所  
44226

代理人 周胜明

(51) Int. Cl.

C08B 37/00 (2006. 01)

A23K 1/14 (2006. 01)

A23L 1/09 (2006. 01)

A61P 31/04 (2006. 01)

A61P 31/12 (2006. 01)

A61P 37/04 (2006. 01)

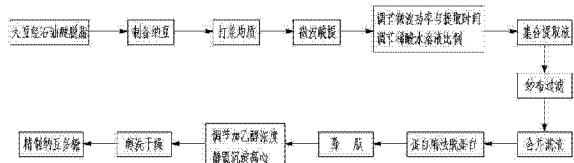
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种纳豆多糖的提取与分离方法

(57) 摘要

本发明涉及一种纳豆多糖的提取与分离方法, 工艺步骤是: 先是大豆脱脂, 然后是成品纳豆的制备, 再是微波酸提法, 再是蛋白酶法脱蛋白, 再是去除蛋白多肽, 最后是无水乙醇沉淀、干燥, 得到精制纳豆多糖产品。采用成品纳豆经醇溶脱脂后, 以稀酸水溶液与微波法提取、再经蛋白酶法脱蛋白、浓缩过滤、95% 乙醇沉淀、干燥等步骤, 获得纳豆多糖制品, 用本发明生产纳豆多糖, 不仅生产成本稍低、产品得率较高, 且安全可靠、绿色无污染, 其用途十分广泛。



1. 一种纳豆多糖的提取与分离方法,其特征在于工艺步骤是:

第一步是大豆脱脂:优质大豆清选除杂,淘洗后烘干、破碎,按体积比为大豆:石油醚为 1:3 加入石油醚,室温脱脂 24h,以去除脂类成分,过滤取滤渣,待残留石油醚挥发后留存备用;

第二步是成品纳豆的制备:经第一步所得滤渣用净水浸泡 3~6 小时,在温度 110~120℃,蒸气压力 0.05~0.11Mpa 条件下,进行蒸煮杀菌 20~60min,然后冷却至 38~45℃,按质量百分比浓度为 1% 的母种量接种纳豆菌,并置于 36~45℃,空气相对湿度大于 72% 的培养箱中发酵 16~24h 后,再放入 4℃ 条件下钝化冷藏待用;

第三步是微波酸提法:成品纳豆打浆后,以体积比为 1:8 加入 0.08mol/L 的 HCl 溶液,置于 280W、中低火的微波条件下提取 15min,冷却后过滤,得到粗多糖浓缩液;

第四步是蛋白酶法脱蛋白:调节 pH=7.0,采用蛋白酶水解粗多糖浓缩液中的水溶性杂蛋白,蛋白酶用量为质量百分比 1%,按水浴恒温 50℃ 条件下水解 1h 后,将水浴温度升至 90℃,维持 8min 使蛋白酶失活,终止酶反应;

第五步是去除蛋白多肽:采用体积比为 5 倍量的 80% 乙醇溶液,于 50℃ 下提取上步反应所产生的蛋白多肽 30min,然后温浸过夜,次日将样品以 4000r/min 的速度离心 10min,使多糖充分沉淀;

第六步是无水乙醇沉淀、干燥:经第五步得到的沉淀中加入 4 倍体积的无水乙醇 2 次脱水,过滤后沉淀再以丙酮、乙醚洗 2 次,摊于平皿上,50℃ 负压烘干,得到精制纳豆多糖产品。

## 一种纳豆多糖的提取与分离方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于益生菌发酵技术领域,涉及一种工艺简便、耗时短、成本较低、多糖提取率高,且产品纯度、色泽好、具有抗菌、抗病毒,增强免疫等功能,其生物学用途广泛的纳豆多糖的提取与分离方法。

### 背景技术

[0002] 大量研究证实,生物多糖具有多种生理活性,包括降低机体血糖与血脂水平,抑制肿瘤与增强免疫等功能,也是体内重要的信息分子,是未来生理调节剂的发展方向之一,已受到广泛关注与高度重视。目前,国内外科技工作者对于灵芝、人参、黄芩、枸杞与香菇等多糖的研究,获得了突破性的进展。

[0003] 报道指出,纳豆多糖能作为天然的免疫促进剂,可增强机体细胞免疫,发挥抗癌、抗病毒作用,促进内环境和体液免疫稳定,还可用于人与动物的日常保健,抗氧化延缓衰老,以及抗病毒辅助治疗与美容护肤等领域,故凭借其独特而复杂的生理功能已逐渐成为了营养学、生理学、免疫学等学科的研究热点。目前,关于纳豆多糖的生产因其成分复杂、理化性质特殊,尚无化工合成的成熟方法,较为理想的途径是通过成品纳豆为原料,以生物活性多糖的浸提法来实现,该法利用水作为溶剂来提取多糖,所获得的成分主要是中性水溶多糖,且存在提取率低、纯度差等缺陷。

### 发明内容

[0004] 为克服上述的技术缺点,本发明提供一种工艺简便、耗时短、成本较低、多糖提取率高,且产品纯度、色泽好、具有抗菌、抗病毒,增强免疫等功能,其生物学用途广泛的纳豆多糖的提取与分离方法。

[0005] 本发明解决其技术问题所采用的技术方法是:一种纳豆多糖的提取与分离方法,其工艺步骤是:

[0006] 第一步是大豆脱脂:优质大豆清选除杂,淘洗后烘干、破碎,按体积比为大豆:石油醚为 1:3 加入石油醚,室温脱脂 24h,以去除脂类成分,过滤取滤渣,待残留石油醚挥发后留存备用;

[0007] 第二步是成品纳豆的制备:经第一步所得滤渣用净水浸泡 3~6 小时,在温度 110~120℃,蒸气压力 0.05~0.11Mpa 条件下,进行蒸煮杀菌 20~60min,然后冷却至 38~45℃,按质量百分比浓度为 1% 的母种量接种纳豆菌,并置于 36~45℃,空气相对湿度大于 72% 的培养箱中发酵 16~24h 后,再放入 4℃ 条件下钝化冷藏待用;

[0008] 第三步是微波酸提法:成品纳豆打浆后,以体积比为 1:8 加入 0.08mol/L 的 HCl 溶液,置于 280W、中低火的微波条件下提取 15min,冷却后过滤,得到粗多糖浓缩液;

[0009] 第四步是蛋白酶法脱蛋白:调节 pH=7.0,采用蛋白酶水解粗多糖浓缩液中的水溶性杂蛋白,蛋白酶用量为质量百分比 1%,按水浴恒温 50℃ 条件下水解 1h 后,将水浴温度升至 90℃,维持 8min 使蛋白酶失活,终止酶反应;

[0010] 第五步是去除蛋白多肽：采用体积比为 5 倍量的 80% 乙醇溶液，于 50℃ 下提取上步反应所产生的蛋白多肽 30min，然后温浸过夜，次日将样品以 4000r/min 的速度离心 10min，使多糖充分沉淀；

[0011] 第六步是无水乙醇沉淀、干燥：经第五步得到的沉淀中加入 4 倍体积的无水乙醇 2 次脱水，过滤后沉淀再以丙酮、乙醚洗 2 次，摊于平皿上，50℃ 负压烘干，得到精制纳豆多糖产品。

[0012] 本发明的有益效果是：本发明应用微波酸提法技术，预先脱去大豆油脂，避免其在后续工序中析出阻碍多糖提取率的增加；稀酸水溶液与微波处理有利于纳豆多糖的释放与提取；并改进了除杂工艺，缩减了纳豆色素的脱除过程，与传统提法相比大大缩短了提取时间，降低了生产成本，且所得产品纯度高、色泽好；本发明所用试剂均在安全剂量范围之内，且提取效果较为理想，不会造成纳豆多糖提取过程中的二次污染，给产品引入外源性的有害物质；此外，所用乙醇溶剂可重复利用，大大降低生产费用；本发明工艺流程简单，设备易得，可操作性强，便于实现生产实践；纳豆多糖生产中产生的纳豆渣，富含蛋白与微量元素等营养成分，且安全无污染，可用作畜禽生物饲料加以利用，便于成本回收；所得纳豆多糖可添加其它功能组分，如维生素、氨基酸或类黄酮等，以提高其保健与治疗的复合作用，也可以胶囊或片剂等形式开发成多种生理调剂剂。

[0013] 采用成品纳豆经醇溶脱脂后，以稀酸水溶液与微波法提取、再经蛋白酶法脱蛋白、浓缩过滤、95% 乙醇沉淀、干燥等步骤，获得纳豆多糖制品，用本发明生产纳豆多糖，不仅生产成本稍低、产品得率较高，且安全可靠、绿色无污染，其用途十分广泛。

#### 附图说明

[0014] 图 1 是本发明的工艺流程方框图。

[0015] 具体实施方式

[0016] 下面结合实施例对本发明进一步说明。

[0017] 参见图 1，一种纳豆多糖的提取与分离方法，其工艺步骤是：

[0018] 第一步是大豆脱脂：优质大豆清选除杂，淘洗后烘干、破碎，按体积比为大豆：石油醚为 1:3 加入石油醚，室温脱脂 24h，以去除脂类成分，过滤取滤渣，待残留石油醚挥发后留存备用；

[0019] 第二步是成品纳豆的制备：经第一步所得滤渣用净水浸泡 3～6 小时，在温度 110～120℃，蒸气压力 0.05～0.11Mpa 条件下，进行蒸煮杀菌 20～60min，然后冷却至 38～45℃，按质量百分比浓度为 1% 的母种量接种纳豆菌，并置于 36～45℃，空气相对湿度大于 72% 的培养箱中发酵 16～24h 后，再放入 4℃ 条件下钝化冷藏待用；

[0020] 第三步是微波酸提法：成品纳豆打浆后，以体积比为 1:8 加入 0.08mol/L 的 HCl 溶液，置于 280W、中低火的微波条件下提取 15min，冷却后过滤，得到粗多糖浓缩液；

[0021] 第四步是蛋白酶法脱蛋白：调节 pH=7.0，采用蛋白酶水解粗多糖浓缩液中的水溶性杂蛋白，蛋白酶用量为质量百分比 1%，按水浴恒温 50℃ 条件下水解 1h 后，将水浴温度升至 90℃，维持 8min 使蛋白酶失活，终止酶反应；

[0022] 第五步是去除蛋白多肽：采用体积比为 5 倍量的 80% 乙醇溶液，于 50℃ 下提取上步反应所产生的蛋白多肽 30min，然后温浸过夜，次日将样品以 4000r/min 的速度离心

10min,使多糖充分沉淀;

[0023] 第六步是无水乙醇沉淀、干燥:经第五步得到的沉淀中加入4倍体积的无水乙醇2次脱水,过滤后沉淀再以丙酮、乙醚洗2次,摊于平皿上,50℃负压烘干,得到精制纳豆多糖产品。

[0024] 实施例一

[0025] 第一步是大豆脱脂:将优质大豆500g清选除杂、清水淘洗后烘干、破碎,注入1.5升的石油醚,室温浸提24h以提取脂类成分,过滤获取滤渣,待石油醚挥发留存备用;

[0026] 第二步是制备成品纳豆:滤渣浸泡4h,以温度110℃,蒸气压力0.08Mpa,进行蒸煮杀菌30min,然后冷却至40℃,母种按1%的量接种纳豆菌,并置于40℃,空气相对湿度80%的培养箱中发酵20h后,置于4℃冰箱钝化冷藏待用;

[0027] 第三步是微波酸提:滤渣打浆均质后,加入0.08mol/L的稀盐酸水溶液4.0升,置于280W(中低火)的微波法中提取15min,冷却后过滤,减压浓缩至1/5体积,得到粗多糖浓缩液;滤渣用于制备生物饲料;

[0028] 第四步是蛋白酶法脱蛋白:调节pH=7.0,采用木瓜蛋白酶水解粗多糖浓缩液中的水溶性杂蛋白,蛋白酶用量1%,置于水浴恒温50℃条件下水解1h后,将水浴温度升至90℃,维持8min使蛋白酶失活,终止酶反应;

[0029] 第五步是去除蛋白多肽:加入无水乙醇,至其终浓度达到80%乙醇溶液,于50℃下提取上步反应所产生的蛋白多肽30min,然后温浸静置过夜,使多糖沉淀完全,再置于离心机内以4000r/min的速度离心10min,过滤得多糖沉淀;

[0030] 第六步是乙醇沉淀、干燥:上步沉淀中加入2.0升无水乙醇分2次脱水,过滤后沉淀再以丙酮、乙醚洗2次,摊于平皿上,50℃负压烘干,得到精制纳豆多糖产品。

[0031] 第七步是成品保存:将干燥后的纳豆多糖粉碎,得粉末状纳豆多糖精品5.1g,装入密闭容器内避光防潮保存,备用。

[0032] 实施例二

[0033] 第一步是大豆脱脂:将优质大豆500g清选除杂、清水淘洗后烘干、破碎,注入1.8升的石油醚,室温浸提24h以提取脂类成分,过滤获取滤渣,待石油醚挥发留存备用;

[0034] 第二步是制备成品纳豆:滤渣浸泡5h,以温度110℃,蒸气压力0.09Mpa,进行蒸煮杀菌25min,然后冷却至38℃,母种按1%的量接种纳豆菌,并置于38℃,空气相对湿度80%的培养箱中发酵24h后,置于4℃冰箱钝化冷藏待用;

[0035] 第三步是微波酸提:滤渣中加入0.08mol/L的稀盐酸水溶液4.0升,置于280W(中低火)的微波法中提取15min,冷却后过滤,滤渣重复微波酸提,合并滤液,减压浓缩至1/5体积,得到粗多糖浓缩液;滤渣用于制备生物饲料;

[0036] 第四步是蛋白酶法脱蛋白:调节pH=7.0,采用木瓜蛋白酶水解粗多糖浓缩液中的水溶性杂蛋白,蛋白酶用量1%,置于水浴恒温50℃条件下水解1h后,将水浴温度升至90℃,维持8min使蛋白酶失活,终止酶反应;

[0037] 第五步是去除蛋白多肽:加入无水乙醇,至其终浓度达到80%乙醇溶液,于50℃下提取上步反应所产生的蛋白多肽30min,然后温浸静置过夜,使多糖沉淀完全,再置于离心机内以4000r/min的速度离心10min,过滤得多糖沉淀;

[0038] 第六步是乙醇沉淀、干燥:上步沉淀中加入2.0升无水乙醇分2次脱水,过滤后沉

淀再以丙酮、乙醚洗 2 次,摊于平皿上,50℃负压烘干,得到精制纳豆多糖产品。

[0039] 第七步是成品保存:将干燥后的纳豆多糖粉碎,得粉末状纳豆多糖精品 5.3g,装入密闭容器内避光防潮保存,备用。

[0040] 本发明应用微波酸提法技术,预先脱去大豆油脂,避免其在后续工序中析出阻碍多糖提取率的增加;稀酸水溶液与微波处理有利于纳豆多糖的释放与提取;并改进了除杂工艺,缩减了纳豆色素的脱除过程,与传统提法相比大大缩短了提取时间,降低了生产成本,且所得产品纯度高、色泽好;本发明所用试剂均在安全剂量范围之内,且提取效果较为理想,不会造成纳豆多糖提取过程中的二次污染,给产品引入外源性的有害物质;此外,所用乙醇溶剂可重复利用,大大降低生产费用;本发明工艺流程简单,设备易得,可操作性强,便于实现生产实践;纳豆多糖生产中产生的纳豆渣,富含蛋白与微量元素等营养成分,且安全无污染,可用作畜禽生物饲料加以利用,便于成本回收;所得纳豆多糖可添加其它功能组分,如维生素、氨基酸或类黄酮等,以提高其保健与治疗的复合作用,也可以胶囊或片剂等形式开发成多种生理调剂制剂。

[0041] 本发明采用成品纳豆经醇溶脱脂后,以稀酸水溶液与微波法提取、再经蛋白酶法脱蛋白、浓缩过滤、95%乙醇沉淀、干燥等步骤,获得纳豆多糖制品,用本发明生产纳豆多糖,不仅生产成本稍低、产品得率较高,且安全可靠、绿色无污染,其用途十分广泛。

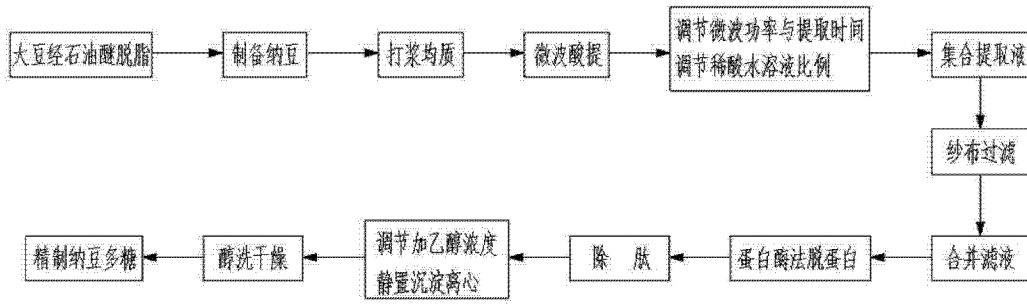


图 1