[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C08B 37/00 (2006.01)

[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200510040547.5

[45] 授权公告日 2007 年 9 月 12 日

[11] 授权公告号 CN 100336830C

[22] 申请日 2005.6.11
[21] 申请号 200510040547.5
[73] 专利权人 华侨大学
地址 362000 福建省泉州市丰泽区城东华侨大学
[72] 发明人 李夏兰 魏国栋 王昭晶
[56] 参考文献
CA2029770A 1992.5.14
US3878195A 1975.4.15
CN1371920A 2002.10.2
US4980186A 1990.12.25
US61944016B1 2001.2.27

芥菜多糖的研究（I） —水溶性芥菜多糖的提取纯化和部分理化性质鉴定 哈森其木格等,内蒙古民族师范学报（自然科学版）,第 9 卷第 2 期 1994
审查员 鄢来艳
[74] 专利代理机构 泉州市文华专利代理有限公司
代理人 陈雪莹

权利要求书 2 页 说明书 4 页

[54] 发明名称

芥菜多糖的提取纯化方法

[57] 摘要

本发明公开了一种芥菜多糖的提取纯化方法，其以芥菜干品为原料，经提取、醇析、干燥、透析和纯化，得芥菜多糖纯品，所得的芥菜多糖纯品中水溶性总糖可达芥菜干品的 15％左右，水溶性多糖可达芥菜干品的 9％左右，而蛋白质含量仅芥菜干品的 0.2％，脂肪含量仅为芥菜干品的 0.4×10^{-3}％。 本发明的芥菜多糖的提取纯化方法，可以省下大量的有机溶剂，不仅生产成本较低、环保，而且芥菜多糖能够保持比较完整的结构。 且工艺流程简单，省时省力。

1、芥菜多糖的提取纯化方法，其特征在于：由下列步骤实现：

（1）提取：在芥菜干品中按 1:20～65(W/V)的料液比加入蒸馏水，于 89.5～90.5℃下在恒温热水中浸提 1.8～2.2h，过滤，弃滤渣，得粗提液；

（2）醇析：将步骤（1）所得的粗提液在 65～75℃下浓缩至原体积的 1/10～1/8 后加入乙醇溶液，使乙醇浓度达到 55%，醇析 2.5～3.5h，初步去除脂溶性小分子物质和色素，并得到芥菜多糖沉淀物；

（3）干燥：将步骤（2）所得的芥菜多糖沉淀物用无水乙醇洗涤 2～3 次，再用挥发性溶剂洗涤 2～3 次，冷冻干燥得粗品；

（4）透析：步骤（3）所得的粗品在适量的蒸馏水中充分溶解，弃不溶物，得上清液，用透析袋将上清液在流水中透析 45～51h，再用去离子水中透析 22～26h，每 7～9h 换一次水，进一步去除还原糖、寡糖、无机盐、色素等小分子杂质；

（5）纯化：将经步骤（4）透析后的液体浓缩，上 DEAE-葡聚糖凝胶 A-50 柱，用 0～1.5mol/L 的 NaCl 进行梯度洗脱，分部收集，收集液用苯酚硫酸法检测，合并多糖峰的收集液，浓缩，透析真空干燥，得层析纯芥菜多糖。

2、根据权利要求 1 所述的芥菜多糖的提取纯化方法，其特征在于：上述步骤（1）中芥菜干品与蒸馏水的料液比为 1：40(W/V)。

3、根据权利要求 1 所述的芥菜多糖的提取纯化方法，其特征在于：上述步骤（1）中的恒温水槽中热水的温度为 90℃。

4、根据权利要求 1 所述的芥菜多糖的提取纯化方法，其特征在于：上述步骤（3）中的挥发性溶剂为丙酮。

5、根据权利要求 1 所述的芥菜多糖的提取纯化方法，其特征在于：上述步骤（3）中的挥发性溶剂为乙醚。

芥菜多糖的提取纯化方法

技术领域

本发明涉及一种从芥菜中提取芥菜多糖的方法。

背景技术

芥菜为（*Brassica juncea*）芸苔属，十字花科植物。近年来的研究发现芥菜提取物具有抗氧化作用，对预防糖尿病有一定疗效，芥菜还具有降血糖和降血脂的作用，这些可能与芥菜多糖有关。包心芥菜价廉易得，可用冬闲农田（晚稻迹地）种植，高产、稳产。该品种定植后 75 天左右收获，每亩地约有 3500 公斤的产量。包心芥菜的这些特点对其多糖的开发极为有利。国外还没有芥菜（*Brassica juncea*）多糖的研究报道。国内内蒙古民族师院的哈森其木格对曾对芥菜多糖进行过初步研究，但分离纯化过程很粗糙，没有得到芥菜多糖纯品，对芥菜的品种没有说明，也没有后续报道，其提取纯化方法如下：

1、提取：称取芥菜样品 100g 用石油醚脱脂 24h，脱脂后的样品在沸水中提取 4 小时，过滤，残渣用蒸馏水提取 3 次，合并三次提取液，过滤，在 80℃水浴上浓缩至小体积，加 5 倍体积的无水乙醇，醇析 24 小时，将醇析物干燥，得棕色干品。

2、纯化：将步骤 1 所得的棕色干品用蒸馏水透析 48 小时，每隔

2小时更换一次水，再用正丁醇-三氯甲烷（1:5）混合液萃取，除去少量蛋白质后，经双氧水缓慢脱色，经减压得白色芥菜多糖。

这种芥菜多糖提取纯化方法的缺点如下：1、使用大量的石油醚，成本高且污染环境；2、正丁醇-三氯甲烷有毒，而且会损失多糖，并可能导致芥菜多糖结构的破坏；3、H_2O_2容易破坏芥菜多糖的结构；4、使用大量的有毒溶剂，污染环境。

发明内容

本发明的目的是提供一种芥菜多糖的提取纯化方法，其成本较低、环保、且可完整保持芥菜多糖结构。

本发明的技术方案是这样的：芥菜多糖的提取纯化方法，由下列步骤实现：

（1）提取：在芥菜干品中按 1:20～65(W/V)的料液比加入蒸馏水，于89.5～90.5℃下在恒温热水中浸提1.8～2.2h，过滤，弃滤渣，得粗提液；

（2）醇析：将步骤（1）所得的粗提液在 65～75℃下浓缩至原体积的1/10～1/8后加入乙醇溶液，使乙醇浓度达到55%，醇析2.5～3.5h，初步去除脂溶性小分子物质和色素，并得到芥菜多糖沉淀物；

（3）干燥：将步骤（2）所得的芥菜多糖沉淀物用无水乙醇洗涤2～3次，再用挥发性溶剂洗涤2～3次，冷冻干燥得粗品；

（4）透析：步骤（3）所得的粗品在适量的蒸馏水中充分溶解，弃不溶物，得上清液，用透析袋将上清液在流水中透析 45～51h，再

用去离子水中透析 22～26h，每 7～9h 换一次水，进一步去除还原糖、寡糖、无机盐、色素等小分子杂质；

（5）**纯化**：将经步骤（4）透析后的液体浓缩，加入 DEAE-葡聚糖凝胶 A-50 柱，用 0～1.5mol/L 的 NaCl 进行梯度洗脱，分部收集，收集液用苯酚硫酸法检测，合并多糖峰的收集液，浓缩，透析真空干燥，得层析纯芥菜多糖。

上述步骤（1）中芥菜干品与蒸馏水的料液比为 1：40(W/V)。

上述步骤（1）中的恒温水槽中热水的温度为 90℃。

上述步骤（3）中的挥发性溶剂为丙酮。

上述步骤（3）中的挥发性溶剂为乙醚。

采用上述技术方案后，所得的芥菜多糖纯品中水溶性总糖可达芥菜干品的 15%左右，水溶性多糖可达芥菜干品的 9%左右，而蛋白质含量仅芥菜干品的 0.2%，脂肪含量仅为芥菜干品的 0.4×10^{-3} %。本发明的芥菜多糖的提取纯化方法，可以省下大量的有机溶剂，不仅生产成本较低、环保，而且芥菜多糖能够保持比较完整的结构。且工艺流程简单，省时省力。

具体实施方式

本发明芥菜多糖的提取纯化方法，由下列步骤实现：

(1) 提取：称取适量的包心芥菜干品，按 1：40 (W/V) 的料液比加入蒸馏水，于 90℃下在恒温水槽中热水浸提 2h，四层纱布过滤，弃滤渣，得粗提液。

（2）醇析：将步骤（1）所得的粗提液用旋转蒸发仪在 70℃下浓缩至原体积的 1/10 后加入无水乙醇，使乙醇浓度达到 55%，醇析 3h，初步去除脂溶性小分子物质和色素，并得到芥菜多糖沉淀物。

（3）干燥：将步骤（2）所得的芥菜多糖沉淀物用无水乙醇洗涤 2～3 次，再用丙酮或乙醚洗涤 2～3 次，冷冻干燥得粗品。

（4）透析：将步骤（3）所得的粗品按 1：15（W/V）的料液比加入蒸馏水中溶解，6000r.p.m 离心 15min，弃不溶物，得上清液，用截留分子量为 1000 的透析袋将上清液在流水中透析 48h，再用去离子水中透析 24h，每 8h 换一次水，进一步去除还原糖、寡糖、无机盐、色素等小分子杂质。

（5）纯化：将经步骤（4）透析后的液体浓缩到原体积的 1/2～2/3，取 2.5ml 上 DEAE-葡聚糖凝胶 A-50 柱，DEAE-葡聚糖凝胶 A-50 柱的规格为 2.5×42cm,柱床高度为 38cm,用 0～1.5mol/L 的 NaCl 进行梯度洗脱，洗脱速度为 0.75ml/min，分部收集，每管收集 3ml，共收集 100 管，收集液用苯酚硫酸法检测，合并多糖峰的收集液，浓缩，透析真空干燥,得层析纯芥菜多糖。