

文章编号 :1009-038X(2002)06-0574-05

低聚糖的纳滤分离技术

孙蔚榕, 韩亮, 鲍元兴

(江苏省微生物研究所, 江苏 无锡 214063)

摘要: 确定了低聚异麦芽糖和低聚果糖纳滤分离高纯化工艺. 首先根据纳滤膜截留相对分子质量和截留率选择适用的纳滤膜, 然后进行纳滤分离工艺和操作条件的探索, 随着纯化倍数递增, 单糖或二糖逐渐被去除, 产品纯度、低聚糖收得率和产品出率发生规律性变化. 应用纳滤分离技术使低聚异麦芽糖纯度 $IMO \geq 90\%$, 低聚果糖纯度 $FOS \geq 95\%$.

关键词: 纳米过滤; 低聚异麦芽糖; 低聚果糖

中图分类号: TS 244

文献标识码: A

The Nanofiltration Technique for Isolation of Oligosacchride

SUN Wei-rong, HAN Liang, BAO Yuan-xing

(Jiangsu Institute of Microbiology, Wuxi 214063, China)

Abstract: In this paper, the nanofiltration techniques of isomaltooligosacchride (IMO) and oligofruuctose (FOS) are reported. First, the proper membrane was chosen based on hold-back rate and hold-back element. Then the operation conditions and the separation draft were optimized. The purity of isomaltooligosacchride was higher than 90% and that of oligofruuctose higher than 95% after removing monosacchride and dualsacchride.

Key words: nanofiltration; isomaltooligosacchride; oligofruuctose

酶法生产或从植物中提取的功能性低聚糖, 都是混合糖浆, 主要含有可消化性糖和难消化性糖. 难消化性糖(或非消化性糖)具有生理功能, 有益于身体健康, 例如低聚异麦芽糖中的异麦芽糖、潘糖、异麦芽三糖、异麦芽四糖等; 低聚果糖中的蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖等; 大豆低聚糖中的棉子糖、水苏糖等. 因此, 要提高低聚糖的生理功能, 就必须提高这类低聚糖的含量. 一般来说, 这类低聚糖质量分数在 50% 以上的糖称为 50 型产品; 90% 左右的糖称为 90 型产品. 酶法生产和植物提取的

功能性低聚糖大多属于 50 型产品, 即初级品. 它们中的可消化性糖主要是单糖(葡萄糖、果糖)和二糖(麦芽糖、蔗糖). 运用高新分离技术, 去除单糖或二糖, 把 50 型低聚糖产品提纯为 90 型低聚糖产品, 这是功能性低聚糖行业发展面临的迫切任务.

低聚糖的分离纯化技术, 有纳滤分离法、色谱分离法和微生物分离法(发酵法). 前二种为当代国际先进的物理分离方法^[1-5], 后一种是利用某种酵母特性的传统生化分离方法^[6]. 本实验探讨了低聚异麦芽糖和低聚果糖的纳滤分离纯化技术.

收稿日期 2002-05-30; 修订日期 2002-07-11.

基金项目 国家“九五”科技攻关项目(96-C03-01-01)资助课题.

作者简介 孙蔚榕(1974-), 女, 江苏无锡人, 实习研究员.

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 低聚异麦芽糖浆 上海市融氏企业有限公司提供.低聚异麦芽糖糖分(质量分数/%)组成:葡萄糖(G)25.6,麦芽糖(G_2)5.4,异麦芽糖(IG_2)20.3,麦芽三糖(G_3)0.9,潘糖(P)9.0,异麦芽三糖(IG_3)11.2,四糖及四糖以上($\geq G_4$)27.6.低聚异麦芽糖质量分数总含量(IMO)68.1%,三糖合计($IG_2 + P + IG_3$)质量分数40.5%.糖化转苷工艺独特,质量优于行业标准^[7].

1.1.2 低聚果糖浆 广东江门量子高科生物工程有限公司提供.低聚果糖糖分(质量分数/%)组成:葡萄糖(G)34.04,蔗糖(GF)12.14,蔗果三糖(GF_2)25.53,蔗果四糖(GF_3)22.48,蔗果五糖(GF_4)5.18.低聚果糖质量分数总含量(FOS):质量分数53.82%.

1.1.3 去离子水 江苏无锡市双净设备有限公司生产(JN250型反渗透纯水设备),电导率 ≤ 10 S/m.

1.1.4 仪器 高效液相色谱仪 Waters 600(配有示差折光检测器和柱恒温系统);色谱柱:钙型阳离子交换树脂柱 Aminex HPX-42A(BIO-RAD),填料粒径 $5 \mu\text{m}$,柱尺寸 $D 7.8 \text{ mm} \times 300 \text{ mm}$;氨基键合柱:TSKgel Amide-80,填料粒径 $5 \mu\text{m}$,柱尺寸 $D 4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$;分析天平:感量 0.001 g ;微量进样器: $10 \mu\text{L}$.

1.1.5 试剂 水 二次蒸馏水或超纯水;乙腈:色谱纯.葡萄糖、蔗糖标准品均为上海试剂一厂生产,麦芽糖、异麦芽糖、麦芽三糖、潘糖、异麦芽三糖、麦芽四糖、蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖、蔗果六糖标准品,均为SIGMA公司试剂.

1.1.6 膜分离设备 纳滤设备又称纳滤膜分离系统,由高压泵、膜组件、膜壳、热交换器、储罐、自动控制部分及各种仪表和阀门等组成,整套系统形成进料、循环分离、浓缩、清洗各分系统.膜组件从美国海德能公司购进.200型膜用于分离单糖,截留相对分子质量 ≥ 200 ,膜面积为 1.0 m^2 ;300型膜用于分离二糖,截留相对分子质量 ≥ 342 ,膜面积为 1.77 m^2 .高压泵采用高压离心泵或柱塞泵,国内选购配套,功率 4 kW ,最大工作压力 4.0 MPa .

1.2 方法

1.2.1 低聚异麦芽糖糖分组成分析 采用HPLC法^[8],按QB/T 2491-2000《低聚异麦芽糖》行业标准中5.9.1.4.1双柱法测定葡萄糖、麦芽糖、异麦芽

糖、麦芽三糖、异麦芽三糖、潘糖和四糖及其四糖以上的含量.

1.2.2 低聚果糖糖分组成分析 采用HPLC法.色谱条件参照QB/T 2491-2000《低聚异麦芽糖》行业标准中5.9.1.4.2单柱法,以峰面积归一化测定葡萄糖、蔗糖、蔗果三糖、蔗果四糖、蔗果五糖、蔗果六糖的含量.

1.2.3 纳滤分离膜的选择

纳滤介于超滤和反渗透之间,纳滤膜孔径在纳米级,截留相对分子质量以百级为单位^[9].纳滤分离技术适用于相对分子质量在1500以下的低聚糖(寡糖),作者已成功地进行低聚异麦芽糖和低聚果糖的分离纯化.低聚异麦芽糖的纳滤分离,目的是去除相对分子质量为180的葡萄糖,使低聚异麦芽糖质量分数总量达90%.低聚果糖的纳滤分离,目的是去除相对分子质量180的葡萄糖、果糖和相对分子质量342的蔗糖,使低聚果糖质量分数总含量达95%.

膜的选择必须考虑适用性、可操作性和经济性. 接种量(体积分数) $\gamma\%$

1)膜的适用性:首先考虑膜的截留相对分子质量和截留率.例如低聚异麦芽糖纳滤分离纯化,选择的是葡萄糖截留率低、二糖以上的糖截留率高的膜组件(见表1).根据实验结果,选择甲型纳滤膜.低聚果糖的纳滤分离纯化,选择二糖截留率低、蔗果三糖截留率较高的膜组件.

表1 实验膜截流率比较

Tab.1 Hold-back rates of three experimental membranes

膜型号	葡萄糖截留率/%	二糖以上截留率/%	实验结果
甲型	80	>99.0	分离去除葡萄糖,适用于研究制备IMO-90
乙型	93	>99.5	对单糖和二糖分离效果差,需要更多纯水,很难达到IMO-90
丙型	80	>90.0	二糖以上的截留率低,虽然所需纯水少,但低聚糖回收率低

2)纳滤膜的可操作性:需考虑操作压力、通量、温度和带电荷等因素,这些工艺因素取决于纳滤膜的材质和构造.经过实验,探索纳滤工艺的最适压力、通量、温度和底物质量浓度,对产品纯化程度、低聚糖收得率和产品出率有直接影响.

3)纳滤膜的经济性:膜截留相对分子质量和截留率的筛选决定纯化后的产品纯度,工艺操作条件的选择决定低聚糖的收得率和运行费用.低聚果糖的纯化,采用二级分离方法.第一级分离选用300

型膜组件,得到高纯度低聚果糖($FOS \geq 95\%$)产品。第二次分离选用200型膜组件,对透过液回收三糖及以上的糖,得到普通低聚果糖产品($FOS \geq 55\%$)。二次分离结果合计使低聚果糖收得率和产品出率达到理想的经济效果。

1.2.4 低聚异麦芽糖的分离纯化工艺

1) 应用甲型膜组件单级分离纯化。

2) 工艺条件 操作压力1.5~1.8 MPa 温度40~45℃ 通量15~20 L/min。

3) 操作 糖液循环分离,葡萄糖透过纳滤膜排出,二糖(麦芽糖、异麦芽糖)及以上的糖被截留在储罐内,不断补给纯水,保证循环分离持续进行。以加纯水量与糖液体积分数之比为纯化倍数,在一定的纯化倍数时取储罐内截留液样,检测截留液糖分组成,计算低聚异麦芽糖质量分数总含量(纯度)。

1.2.5 低聚果糖的分离纯化工艺

1) 应用300型膜组件一级分离纯化,再用200型膜组件二级分离纯化。

2) 工艺条件 操作压力1.5~1.8 MPa 温度35~40℃ 通量15~20 L/min。

3) 操作 用300型膜分离时,截留液中得到高纯度低聚果糖($FOS \geq 95\%$),透过液中有单糖(葡萄

糖、果糖)、蔗糖以及少量蔗果三糖;用200型膜分离时,以第一级的透过液为原料,分离去除单糖,截留回收蔗糖和几乎全部蔗果三糖及以上的糖,得到普通低聚果糖($FOS \geq 55\%$)。

2 结果与分析

2.1 低聚异麦芽糖的纯度

低聚异麦芽糖的纯度(IMO含量)见表2。随着纯化倍数的递增,截留液中低聚异麦芽糖的纯度不断提高(IMO 85.86%~91.09%, $IG_2 + P + IG_3 \geq 51.38\% \sim 53.38\%$),而单糖逐步减少。

2.2 低聚果糖的纯度

低聚果糖的纯度(FOS含量)见表3、表4。一级分离纯化的过程中,随着纯化倍数的递增,截留液中低聚果糖的纯度不断提高(FOS 90.65%~95.31%),而单糖和二糖含量逐步减少,相应地蔗果三糖也有少量损失。低聚果糖二级分离纯化过程,以一级分离的透过液为原料,分离去除单糖。随着纯化倍数的递增,蔗果三糖及以上的糖几乎全部回收。产品为普通低聚果糖,纯度不断提高,FOS 46.36%~57.81%。

表2 低聚异麦芽糖截留液中各组分的质量分数

Tab.2 Analysis of hold-back fluid of isomaltooligosaccharide

纯化倍数	葡萄糖 G_1	麦芽糖 G_2	异麦芽糖 IG_2	麦芽三糖 M	潘糖 P	异麦芽三糖 IG_3	四糖及以上的 $GI(n \geq 4)$	$IG_2 + P + IG_3$	IMO	IMO回收率	产品出率 (占总糖)
5	6.35	5.46	25.17	2.33	12.08	14.53	34.08	51.38	85.86	92.54	73.21
10	3.51	6.30	25.17	2.27	14.08	13.60	35.07	52.85	87.92	88.37	67.86
15	2.91	6.56	25.10	2.12	15.38	12.69	35.21	53.17	88.38	79.56	60.71
20	2.36	6.16	25.47	2.41	12.83	14.94	35.83	53.24	89.07	75.31	57.14
25	1.43	6.18	25.48	1.2	15.59	13.90	36.12	54.97	91.09	73.57	53.30
30	1.30	6.51	25.05	2.17	15.19	13.34	36.44	53.38	90.02	74.22	55.71

表3 低聚果糖一级分离截留液中各组分的质量分数

Tab.3 Analysis of hold-back fluid of oligofructose after first separation

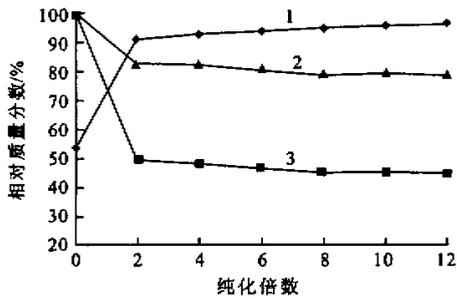
纯化倍数	单糖 GF	蔗糖 GF	蔗果三糖 GF_2	蔗果四糖 GF_3	蔗果五糖 GF_4	蔗果六糖 GF_5	FOS总含量	FOS收得率	产品出率 (占总糖)
2	2.55	6.80	35.94	41.19	12.74	0.78	90.65	82.71	49.11
4	1.63	5.90	35.66	41.98	13.19	1.61	92.44	81.80	47.62
6	1.12	5.47	35.50	43.04	13.28	1.58	93.40	80.06	46.13
8	0.83	4.99	35.31	43.80	13.68	1.39	94.18	78.12	44.64
10	0.56	4.63	35.18	44.58	13.79	1.28	94.83	78.64	44.64
12	万方数据	4.26	34.65	44.73	14.61	1.32	95.31	78.00	44.05

表 4 低聚果糖二级分离截留液中各组分的质量分数
Tab.4 Analysis of hold-back fluid of oligofructose second separation

纯化倍数	单糖 G F	蔗糖 GF	蔗果三糖 GF ₂	蔗果四糖 GF ₃	蔗果五糖 GF ₄	FOS 总含量	FOS 收得率	产品出率 (占总糖)
2	47.74	22.28	21.00	8.18	0.80	29.98	25.6	45.18
4	21.94	31.71	32.18	13.18	1.00	46.36	28.87	32.86
6	15.19	34.17	34.69	14.10	1.85	50.64	28.91	30.12
8	10.45	35.36	36.22	16.11	1.86	54.19	28.12	27.38
10	7.12	37.96	38.69	14.81	1.42	54.92	27.93	26.83
12	4.95	38.24	39.53	16.27	1.01	56.81	28.89	26.83
14	4.24	37.95	39.19	16.74	1.88	57.81	28.32	25.84

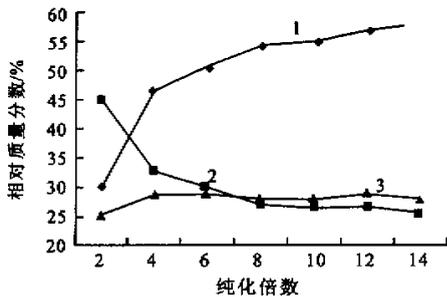
2.3 低聚糖的纯度、收得率和产品出率的规律性

随着纯化倍数的递增,产品纯度不断提高,随着纯化倍数的递增,产品出率不断下降;随着纯化倍数的递增,低聚糖收得率不断下降.低聚果糖二次分离时,蔗果三糖及以上的糖几乎全部回收(见图 1~4).



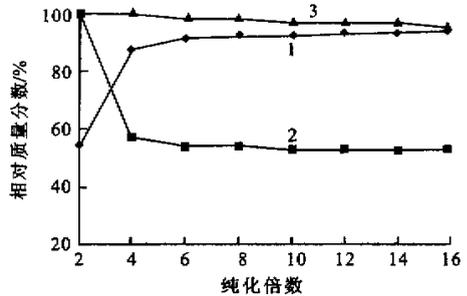
1. FOS 质量分数总含量 2. FOS 收得率 3. 产品出率
图 1 一次分离后 FOS 质量分数总含量、出率及收得率

Fig. 1 Total amount, yield and recovery of fructooligosaccharide after first separation

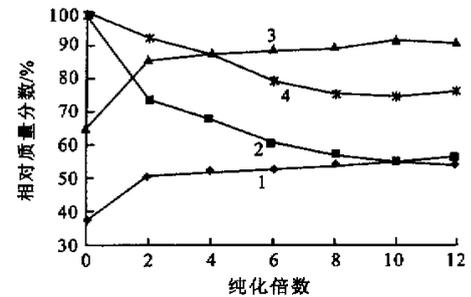


1. FOS 质量分数总含量 2. 产品出率 3. FOS 收得率
图 2 透过液分离 FOS 总含量、出率、收得率

Fig. 2 FOS amount, syrup recycle rate and FOS recycle rate of pass-by fluid
万方数据



1. FOS 质量分数总含量 2. 产品出率 3. FOS 收得率
图 3 低聚果糖二次分离后 FOS 总含量、出率、收得率
Fig. 3 Total amount, yield and recovery of fructooligosaccharide purification



1. 三糖合计 2. 产品出率 3. IMO 质量分数总含量;
3. IMO 收得率
图 4 低聚异麦芽糖分离后 IMO 总含量、出率、收得率
Fig. 4 IMO amount, yield and recovery of isomaltooligosaccharide purification

2.4 中试高纯度低聚糖质量

用低聚异麦芽糖浆和低聚果糖浆分别进行 5 批中试,中试规模低聚异麦芽糖 40 kg/d 成品糖浆(DS 75%),低聚果糖 200 kg/d 成品糖浆(DS 75%)产品质量见表 5 和表 6.低聚异麦芽糖 IMO 质量分数总含量≥90%,低聚果糖平均 FOS 总含量≥95%.

表5 高纯度低聚异麦芽糖各组分质量分数

Tab.5 Analysis of purified isomaltooligosacchride

%

批号	葡萄糖 G ₁	麦芽糖 G ₂	异麦芽糖 IG ₂	麦芽三糖 G ₃	潘糖 P	异麦芽三糖 IG ₃	四糖及以上 G _n (n≥4)	IG ₂ +P+IG ₃	低聚异麦芽糖 IMO
1	1.43	6.18	25.58	1.02	15.59	13.90	36.12	55.07	91.19
2	1.44	5.23	28.83	1.61	12.34	12.66	37.89	53.83	91.72
3	1.26	5.20	27.95	2.46	10.47	13.04	39.62	51.46	91.08
4	1.07	5.41	28.61	2.21	11.59	11.90	39.21	52.1	91.31
5	1.07	4.19	29.87	1.24	12.85	11.99	38.77	54.71	93.48

表6 高纯度低聚果糖各组分质量分数

Tab.6 Analysis of purified oligofruuctose

%

批号	单糖 G ₁ F	蔗糖 GF	蔗果三糖 GF ₂	蔗果四糖 GF ₃	蔗果五糖 GF ₄	蔗果六糖 GF ₅	低聚果糖 FOS
1	1.91	3.19	27.60	46.92	17.77	2.60	94.89
2	1.52	2.04	20.99	50.06	24.56	0.83	96.44
3	1.62	4.11	31.54	45.43	15.10	2.20	94.27
4	0.56	4.61	35.18	44.58	13.79	1.28	94.83
5	0.43	4.26	34.65	44.73	14.61	1.32	95.31

3 讨论

3.1 90型低聚糖纯度与50型低聚糖糖组分组成的关系

低聚糖纳滤分离纯化与原糖浆本身糖组分组成有很大关系,关键是原糖浆中二糖含量的高低.低聚异麦芽糖中二糖有麦芽糖和异麦芽糖,如果麦芽糖含量高,产品纯度很难超过90%,低聚果糖中蔗糖含量高,产品纯度也很难超过95%.因此,产品纯度的提高要立足于改进50型低聚糖的质量(糖组分组成),改进酶转化技术,酶工程技术有特色,使麦芽糖尽量转化为异麦芽糖,蔗糖尽量转化为低聚果糖,使之纯化倍数少而容易达到目标纯度.

3.2 低聚糖的去杂预处理

50型低聚糖中杂质如菌体、蛋白质、脂肪、糊精、色素和盐等,可以通过传统方法即活性炭吸附、硅藻土助滤和离子交换等予以去除,也可采用微滤或超滤方式去除.只有去除这些杂质和相对分子质量较大的糖类,低聚糖的纳滤分离才能正常顺利地进行,而且延长纳滤膜的使用寿命.

3.3 适宜的产品纯度

低聚糖的产品纯度目标值越高,纯化倍数就越高,膜工程投资和运行费用就越大.在纳滤实验中,发现当产品达到一定纯度后,再要提高纯度就越来越困难,即使提高几个百分点,也要多几倍的运行费用.而且,盲目增加纯化倍数,会造成低聚糖有效成分的损失.例如低聚异麦芽糖的纯度达85%以上时,纯水用量、电费和工艺时间就比纯度达90%以上的费用节约很多.

新开发的甘露寡糖、木寡糖、水苏糖中可消化糖甚少,可不必采用纳滤分离技术提高产品纯度;而消化性糖含量较高(30%~40%)的低聚糖,很有必要采用纳滤技术提高产品纯度,以增强生理功效,提高市场竞争能力.

3.4 配套反渗透设备回收可消化性糖

应用纳滤分离法生产高纯度低聚糖,最好能配套反渗透设备.一方面回收可消化性糖(葡萄糖、果糖、蔗糖)作为商品售出;另一方面可生产纯水,用于纯化工艺,也节省水费,更重要的是利于保护环境.

参考文献:

- [1] 欧阳平凯.生理分离原理及技术[M].北京:化学工业出版社,1999.
[2] 王学松.膜分离技术及其应用[M].北京:科学出版社,1994.

参考文献：

- [1] 王云, 裴苏旭. 臭氧(O₃)处理平菇保鲜效果[J]. 天津农林科技, 1994, 13(4):13-15.
- [2] 吕素彬, 张庆芳, 殷梅. 不同处理防止蘑菇褐变的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 1997, 28(3):248-250.
- [3] DEEPAK RAJ R, MICHIHIKO S, RYOICHI M. Effect of modified atmosphere(MA) packaging on glutathione and some other qualitative parameters of hiratake mushroom[J]. J Jpn Soc Horti Sci, 2000, 69(4):435-439.
- [4] ROY S, ANANTHESWARAN R C, BEELMAN R B. Fresh mushrooms quality as affected by modified atmosphere packaging [J]. J Food Sci, 1993, 60:334-340.
- [5] ROY S, ANANTHESWARAN R C, BEELMAN R B. Effect of moisture absorber on shelf-life of mushrooms stored at 12 °C in conventional packages[J]. J Food Sci, 1995a, 60:1254-1259.
- [6] 肖功年. 两种芒果病原微生物的生物学特性研究及其抗微生物对芒果的保鲜作用研究[D]. 南宁: 广西大学硕士论文, 2000.
- [7] 中科院上海植物生理研究所, 上海市植物生理学协会. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [8] 张有林, 苏东华. 果品贮藏保鲜技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.
- [9] JONES D, WHITE R C, ELEANNOR GIBBS. Influence of blanching or brining treatments on the formation of chlorophyllides, pheophytins, and pheophorbides in plant material[J]. J Food Sci, 1963, 28:4337-4439.

(责任编辑 杨勇)

(上接第578页)

- [3] 毛忠贵. 生物工业下游技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [4] 梁世中. 生物分离技术[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 1999.
- [5] 严希康. 生化分离技术[M]. 上海: 华东理工大学出版社, 1994.
- [6] 大连轻工业学院. 酿造酒工艺学[M]. 北京: 轻工业出版社, 1982.
- [7] 鲍元兴, 杨维亚, 孙蔚榕. 低聚异麦芽糖的质量与工艺设备[J]. 食品工业, 1999(3):8-9.
- [8] 尤新. 功能性发酵制品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.
- [9] 袁其朋, 马润宇, 张华军. 纳米过滤在低聚木糖生产过程中的应用[J]. 无锡轻工大学学报, 1999, 18:159-161.

(责任编辑 杨勇)