文章编号：1009－038X(2001)04－0351－05

低聚异麦芽糖的纳滤分离技术和色谱分离技术

鲍元兴， 孙蔚榕， 杨维亚
（江苏省微生物研究所，江苏 无锡 214063）

摘　要：以淀粉为原料，运用先进的酶工程技术生产低聚异麦芽糖 IMO－50. 再以 IMO－50 为原料，应用高新分离技术，去除葡萄糖、生产高含量低聚异麦芽糖 IMO－90.

关键词：纳米过滤；色谱分离；酵母发酵法；低聚异麦芽糖
中图分类号：TS245.4　　**文献标识码**：A

The Advanced Separation Technology of Isomaltooligosacchride

BAO Yuan-xing， SUN Wei-rong， YIANG Wei-ya
(Jiangsu Institute of Microbiology, Wuxi 214036, China)

Abstract: This paper expounded about how to use the separation technology of nanofiltration, chromatography, and yeast fermentation to produce high purity isomaltooligosacchride IMO-90.

Key words: nanofiltration; chromatography; yeast fermentation; Isomaltooligosacchride

1　纳滤分离技术

纳米过滤是当代新型的生物分离技术[1～6]. 纳滤介于膜分离技术的超滤和反渗透之间，纳滤膜孔径在纳米级，截留相对分子质量在百级单位. 低聚异麦芽糖中各糖份的相对分子质量为：葡萄糖 180，麦芽糖和异麦芽糖 342，麦芽三糖、潘糖、异麦芽三糖 504，麦芽四糖、异麦芽四糖 666. 作者采用纳滤分离技术去除相对分子质量为 180 的葡萄糖，生产高含量的低聚异麦芽糖.

1.1　膜的选择

膜的选择关键是葡萄糖截留率低，二糖以上的糖截留率较高，而且分离过程中纯水用量少，见表 1. 根据试验结果，选择甲型纳米膜.

表 1　试验膜截留率比较

Tab. 1　Hold-back rates comparsion among three experimental membranes

膜型号	葡萄糖截留率/%	二糖以上截留率/%	结　论
甲　型	80	＞99.0	能分离去除葡萄糖，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

1.2　组装设备

采用进口甲型 2.5×40 卷式膜组件，配套高压泵和变频电机，同时组装主控制箱和各种仪器仪表以及各种阀门管道整套膜分离装置，形成进料、循

收稿日期：2000－10－13； 修订日期：2001－04－13.
基金项目：国家科委九五科技攻关项目(96-C03-01-01)资助课题.
作者简介：鲍元兴(1946－)，男，江苏无锡人，高级工程师.

万方数据

环分离、浓缩、清洗各系统. 分离糖浆能力为 40 kg/d.

1.3 工艺条件

系统操作压力：$1.5\times10^6\sim1.8\times10^6$ Pa；流量：15～20 L/min；温度：40～45 ℃；纯化倍数：根据目标质量值决定.

1.4 试验结果

1）截留液随纯化倍数的递增，低聚异麦芽糖含量不断提高；透过液随着纯化倍数的递增，葡萄糖含量逐步减少. 采用 HPLC 检测截留液中各组分质量分数的结果见表 2.

表 2 截留液中各组分的质量分数

Tab.2 HPLC analysis of hold-back fluid %

纯化倍数	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 $G_n(n\geqslant4)$	IG_2+P+IG_3	IMO	IMO 回收率	总糖回收率
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

2）随着纯化倍数的递增，低聚异麦芽糖纯度、糖份组成、回收率发生有规律性的变化，见图 1.

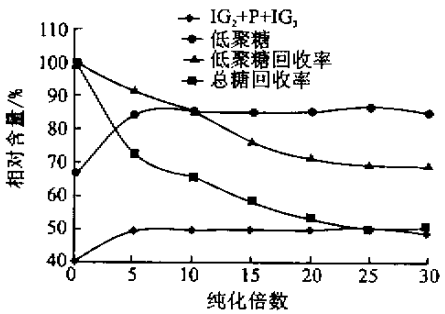


图 1 低聚异麦芽糖纯度、组份、回收率与纯化倍数的关系

Fig.1 Relationship between isomaltooligosacchride purity constituent recycle rate and purificationtimes

如果要求纯度在 85% 以上（日本“异麦芽糖 900”产品，纯度 ≥85%），纯化倍数就低，水电成本费用也节省，低聚糖回收率能达 90% 以上. 由于工艺时间缩短，总投资会更合理. 连续进行 5 批中试的产品质量情况见表 3.

2 色谱分离法

采用离子交换色谱分离技术. 选用适当的阳离子交换树脂和相应的分离柱或连续色谱柱[7～8]作为试验设备.

2.1 筛选适用的色谱分离树脂

选择 6 种的强酸性阳离子交换树脂，利用小型色谱柱分别进行试验. 以稀释后的低聚异麦芽糖浆上色谱分离柱，再用解析剂洗脱. 用自动部分收集器收集流出液，分别测定流出液中葡萄糖 G_1 部分和 IMO 部分的相对含量，绘制出洗脱曲线. 进口 V_1 树脂的洗脱曲线见图 2，国产 S_2、S_3 树脂的洗脱曲线见图 3.

表 3 纳滤法生产高含量低聚异麦芽糖中糖液各组分质量分数

Tab.3 Analysis of high purity isomlatoligosacchride of nanofiltration %

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 $G_n(n\geqslant4)$	IG_2+P+IG_3	低聚异麦糖 IMO
1	1.43	6.18	25.58	1.20	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	万方数据	4.19	29.87	1.24	12.85	11.99	38.77	54.71	93.48

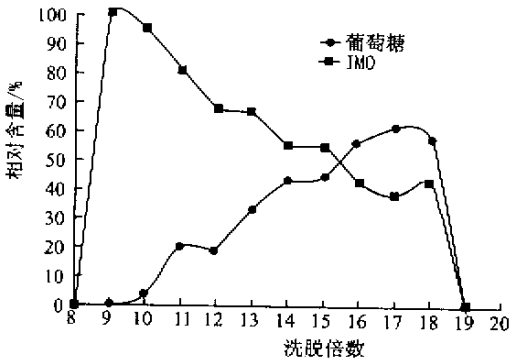


图 2　V_1 树脂分离糖浆的色谱洗脱曲线

Fig.2　Chromatography elution curve of resin V_1 separating syrup

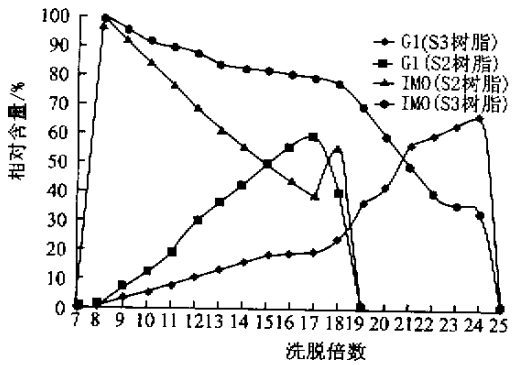


图 3　S_2、S_3 树脂分离糖浆色谱洗脱曲线

Fig.3　Chromatography elution curve of resin S_2, S_3 separating syrup

对分离前后的糖浆测定相应的固形物含量,再测定糖浆中葡萄糖和异麦芽低聚糖的相对含量,计算出合并液中异麦芽低聚糖的回收率.

表 4　6 只树脂洗脱液中 IMO 含量及回收率一览表

Tab.4　IMO amount and recycle rate of six resins wash fluid

树脂型号	IMO/%	回收率/%
S_1	64.1	55.1
S_2	89.7	45.0
S_3	84.2	72.4
P_1	80.7	42.2
P_2	84.2	11.9
V_1	85.1	29.3

S_1、S_2、S_3 为国产离子交换树脂;P_1、P_2、V_1 为进口离子交换树脂.

从以上试验数据说明,国产树脂 S_2、S_3 和进口树脂 V_1 适合于低聚异麦芽糖浆的分离提纯.

2.2　色谱分离树脂的改型

为了提高树脂的分离能力,对强酸性阳离子交换树脂进行改型试验. 例如改型前进口树脂 P_1 合并液中 IMO 含量为 80.7%,改型后为 95.8%,回收率从 42.2% 提高到 47.8%,说明改型后树脂的分离能力得到了提高.

2.3　扩大试验

先后自制高度为 2 m 和 4 m 的色谱分离柱,分别进行色谱分离扩大试验.

通过树脂装填高度,研究色谱分离柱最佳高径比;建立分离柱保温系统,试验料温对分离效果的影响;研究糖浆起始固形物浓度、进料量与分离效果的关系;研究分离速度与分离效果的关系;研究分离树脂使用周期,探索进行再生定型处理的方法.

2.4　连续色谱分离中试

在单柱试验获得的一系列分离条件的基础上,使用 CSEP 中试设备进行低聚异麦芽糖连续色谱分离试验,制备 IMO－90 产品. 工艺条件见表 5.

表 5　CSEP 连续色谱分离工艺参数

Tab.5　Technical parameters of CSEP

项目	工艺参数
树脂层高	95 cm
树脂总体积	6.56×10^{-3} m^3
分离柱	20 根(D 21 mm×1 000 mm)
温 度	60±1 ℃
进样流速	15 mL/min
分离流速	8 mL/min
收集 IMO 流速	43 mL/min
收集副产品流速	51 mL/min
原料糖浆质量分数	50 %±3 %
洗脱剂	去离子水
检测方法	HPLC 法
设备	CSEP 系统

对进料柱以外的 19 根分离柱逐根进行单柱试验,检测每根柱中流出液的 IMO 含量及糖份组成,根据测得糖份组成数据绘制相应的分离曲线,结果见图 4.

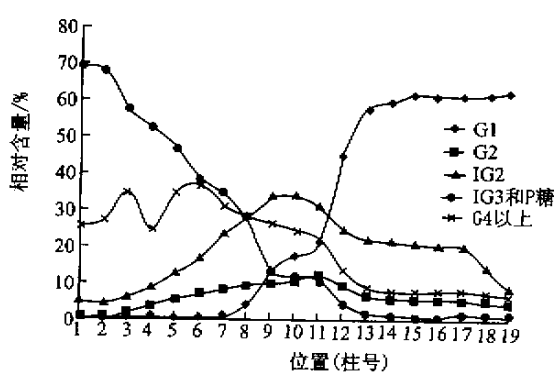


图 4　连续色谱分离曲线

Fig.4　Continuous chromatography curve

万方数据

根据以上数据，收集第 1～10 个采样点合并液，进行 HPLC 糖份组成分析，收集液中 IMO 质量份数超过 85%.

2.5 色谱分离法制备高含量低聚异麦芽糖产品

利用单柱试验获得的技术参数，在 CSEP 装置上进行连续色谱分离试验，连续运转 8 h，进行多批次试验. 取收集液检测低聚异麦芽糖产品糖分组成，结果见表 6.

表 6 色谱分离法生产高含量低聚异麦芽糖中糖液各组分的质量分数

Tab.6 Analysis of high purity isomatooligosacchride of chromatogram separation %

批次	葡萄糖	麦芽糖	异麦芽糖	麦芽三糖	潘糖	异麦芽三糖	四糖以上	IMO
1	2.14	7.69	19.54	2.19	13.43	11.09	43.64	87.70
2	1.95	8.99	17.66	1.39	15.29	10.61	43.08	86.64
3	2.19	9.33	21.00	1.67	15.02	11.23	38.84	86.09
4	2.63	10.31	23.57	1.61	13.87	13.36	34.28	85.08
5	3.30	6.29	22.27	1.69	10.85	15.38	38.22	86.72

3 酵母发酵法

3.1 菌种筛选和工艺条件确定

酵母能消耗低聚异麦芽糖浆中的葡萄糖、麦芽糖，但不能发酵含 α－1,6 糖苷键的异麦芽糖等，因此酵母发酵法可以提高糖浆中低聚异麦芽糖的总含量. 从 6 只酵母菌种筛选出一株耐高渗透压、消耗葡萄糖快、对低聚异麦芽糖分离纯度高，异味小的优良菌株，分别进行底物浓度、接种量、pH、温度、通氧量、发酵时间等工艺因素的试验[9,10]，初步确定了工艺条件.

3.2 生产工艺流程

酵母　酵母

↓　↓

精制淀粉→连续喷射液化→糖化→转苷→发酵→分离→脱色→压滤→脱色→压滤→离子交换→初浓缩→脱色→压滤→浓缩

↓　↓

成品　喷雾干燥

↓

IMO－90 糖浆　IMO－90 糖粉

在生产工艺中，酵母菌种、发酵方法、精制离交 3 个工序具体操作技术均很重要，但以酵母分离技术为最重要.

3.3 主要技术条件

3.3.1 酵母的培养 将糖化液稀释 2.0～2.5 倍，煮沸灭菌，降温至 30～32 ℃，用稀酸调 pH 4.5～5.0，接种酵母量为糖化液的 1.0%～1.5%，在酵母培养罐中培养 8～10 h，当酵母细胞数达 8×10^7 个/mL 以上时，投入生产使用.

3.3.2 转苷液发酵 糖化转苷结束后，调整固形物浓度，降温至 30～32 ℃，调 pH 4.5～5.0，加入培养酵母，严格控制温度，发酵 40 h 左右.（发酵时间与酵母加入量成反比）.

3.3.3 酵母分离 及时分离酵母，防止酵母自溶是减少异味和杂质的关键.

3.3.4 精制离交 分离酵母后的糖液进行 2～3 次脱色和一次离子交换.

3.3.5 生产试验 在 2 m^3/只发酵罐基础上取得了最佳工艺条件后，进行工业化大生产试验（2 只 15 m^3 发酵罐），着重解决分离酵母，精制离交和喷雾干燥等技术问题. 在工艺控制过程中，要及时终止反应，保留糖分中麦芽糖，提高产品出率.

应用酵母发酵法生产高纯度低聚异麦芽糖，低聚异麦芽糖总含量最高可达 98%～99%，其中异麦芽糖、潘糖、异麦芽三糖合计含量大于 53%，产品质量见表 7.

4 小 结

1）纳滤分离法可使低聚异麦芽糖总含量达 91%～93%，其中 IG_2+P+IG_3 之和达到 51%～55%. 该工艺投资较省、操作简便，生产成本低，适用于工业生产. 所得产品纯度好，低聚异麦芽糖总含量达 90%以上，质量稳定，没有非糖类杂质，没有异味，配用反渗透设备，可生产分离需用的纯水，同时还可回收葡萄糖，既节省生产成本，又不污染环境. 但本试验目前还处中试阶段，有待进一步研究开发.

2）应用离子交换色谱分离法生产高含量低聚异麦芽糖，没有异味和杂质，低聚异麦芽糖总含量

万方数据

表 7　酵母发酵法生产高纯度低聚异麦芽糖中糖液各组分的质量分数

Tab.7　Analysis of high purity isomaltooligosacchride of yeast fermentation　　%

批次	葡萄糖	麦芽糖	异麦芽糖	麦芽三糖	潘糖	异麦芽三糖	四糖及以上	IG_2+P+IG_3	IMO
1			29.05	0.86	11.46	14.16	44.47	54.67	99.14
2			31.37	1.12	11.03	13.59	42.89	55.99	98.88
3			29.46	1.28	10.85	14.40	44.01	54.71	98.72
4	0.086	3.44	30.72	1.36	10.03	13.99	40.37	54.74	95.11
5	0.56	4.13	29.25	1.45	10.65	13.37	40.59	53.27	93.86

可达到日本同类产品,是一种普遍常用的高新分离技术.

3)酵母发酵法生产高纯度低聚异麦芽糖,产品中低聚异麦芽糖总含量高,达到 94%～99%.设备投资较少,但产品有一定异味,含有非糖类杂质.适合于生产保健食品,不适合生产风味类食品.

4)IMO－90 因为去除了葡萄糖,吸湿性和热敏性大大减轻,喷雾干燥过程中不易粘壁.且糖粉易保存,便于使用和贮运.

5)生产的 IMO－50 产品和 IMO－90 产品经北京联合大学保健食品功能检测中心进行功能试验,证实具有一定的润肠通便和改善肠道菌群的功效.

参考文献:

[1] 欧阳平凯主编.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.
[3] 毛忠贵主编.生物工业下游技术[M].北京:中国轻工业出版社,1999.
[4] 梁世中编译.生物分离技术[M].北京:华南理工大学出版社,1999.
[5] 严希康编著.生化分离技术[M].上海:华东理工大学出版社,1996.
[6] 袁其朋,马润宁,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.
[7] 佟毅,于忠信主编.淀粉水解产品及应用[M].长春:吉林科学技术出版社,1994.
[8] 金树人,李瑛.高纯果糖与结晶果糖的研制[J].淀粉与淀粉糖,1999(4):17～20.
[9] 大连轻工业学院.酿造酒工艺学[M].北京:轻工业出版社,1982.
[10] 徐开成,吕承广.影响酒母质量的因素[J].中国调味品,1995(9):21～22.
[11] 尤新主编.功能性发酵制品[M].北京:中国轻工业出版社,2000.
[12] 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.

(责任编辑:朱 明)

万方数据