

絮凝脱色在低聚木糖分离纯化中的应用

袁其朋 张 怀

(北京化工大学化学工程学院,北京,100029)

摘 要 研究了5种絮凝剂对低聚木糖水解液絮凝脱色效果的影响。结果表明,微生物絮凝剂NOC-1在用量为20mg/L,pH6.5,温度80℃及50mmol Al³⁺/L存在时,可除去约86%的色素。利用絮凝结合活性炭脱色比单纯用活性炭脱色低聚木糖的损失减少约83.9%,活性炭用量减少90%。利用絮凝脱色生产的产品外观达到日本同类产品的水平,且产品中低聚木糖含量高于日本同类产品。

关键词 絮凝,低聚木糖,分离纯化

低聚木糖是功能性低聚糖中的佼佼者,它能选择性地促进人体肠道内的有益菌——双歧杆菌的增殖,对保障人体健康具有重要的作用^[1]。与其他功能性低聚糖相比,低聚木糖具有如下优点:(1)有效剂量低,仅为0.7g/d;(2)酸热稳定性好,可用于酸性饮料;(3)选择性高,仅促进双歧杆菌等有益菌增殖。目前世界上仅日本三得利公司实现了低聚木糖的工业化生产,产品(70%的糖浆)价格高达20万元人民币/t,而95%的固体粉末则价格高达63万元人民币/t,该公司1999年低聚木糖的产量达1100t。

国内于1995年开始低聚木糖的研究工作,重点进行了产木聚糖酶菌种的选育及发酵条件优化的研究^[2,3],但产品的下游分离纯化则较少有人做,以致几家研究单位在中试过程中进行下游分离纯化时产品收率低、色泽较深,严重制约了低聚木糖的工业化进程。本文重点介绍了絮凝脱色在低聚木糖分离纯化中的应用。

1 材料与方 法

1.1 实验材料、设备及方法

木聚糖酶液:由黑曲霉 AN1.15 经固态发酵而得^[2]。

玉米芯:由北京郊区通县购得,木聚糖含

量为34.2%,粉碎至2~3mm备用。

蒸煮及水解设备:500L不锈钢反应釜,导热油夹套加热,搅拌转速130r/min。

蒸煮条件: $m(\text{玉米芯}):V(\text{水})=1:10$,150℃,2h。

水解条件:50℃,加酶量为4IU/L蒸煮液,水解时间3h。

絮凝剂:絮凝剂A,ST絮凝剂,二烯基季铵盐聚合物,由浙江余姚景桥助剂厂提供;絮凝剂B是聚合氯化铝,由凯米沃特(宜兴)净化剂有限公司提供;絮凝剂C为明矾,由北京化学试剂公司购得;絮凝剂D为壳聚糖,由北京化工大学生物化工系谭天伟教授提供;絮凝剂E为红平红球菌(*Rhodococcus erythropolis*)产生的絮凝剂NOC-1,是一种多糖蛋白^[4,5],日本仓根隆一郎教授惠赠。

离子交换树脂:732型阳离子交换树脂和331型阴离子交换树脂,上海树脂厂生产。

活性炭:北京光华木材厂,粉炭,100~140目。活性炭脱色条件:80℃搅拌30min,静置保温40min。趁热过滤。

纳滤膜:用由Desal-5膜做成的2.5英寸(6.35cm)卷式膜组件DL2540进行实验。膜有效面积2.51m²,纯水通量2.27m³/d。由美国Desal公司提供。

1.2 分析方法

第一作者:博士,副教授。

收稿时间:2001-08-01,改回时间:2001-11-05

低聚木糖用 HPLC 进行分析(北京农科院分析中心)。

色谱条件:柱温,80℃;流动相,超纯水,0.5 mL/min;检测器,RID-6A。

柱型:Alltech 700CH Carbohydrate Column,长 300 mm,内径 6.5 mm。

木二糖标准品由美国 Sigma 公司提供,木三糖、木四糖标准品由日本三得利公司提供,木糖、葡萄糖由北京化学试剂公司购得。

2 结果与讨论

2.1 低聚木糖生产工艺

北京化工大学开发的低聚木糖生产工艺流程如下:

黑曲霉→发酵→酶液→
玉米芯→预处理→蒸煮→水解→离心除渣→絮凝脱色→离子交换脱盐→纳滤浓缩→活性炭脱色→真空浓缩→糖浆产品

将玉米芯粉与 10 倍的 0.1% 的稀硫酸混合,在 60℃ 下浸泡 12 h。浸泡后的玉米芯经水洗至 pH 为 6.0 后,进行高温蒸煮。待蒸煮液降温至 50℃ 时,调 pH 至 5.5,加入由黑曲霉生产的木聚糖酶酶液进行水解。水解后的液体及残渣用三足式离心机分离除去固形物,加入絮凝剂,放置 6 h,用管式离心机离心除去絮凝沉淀的杂质,清液用离子交换树脂脱盐至电导率 5 μS/cm。得到的稀糖液利用纳米过滤设备浓缩至糖含量为 12%~15% 左右。浓缩液加热至 80℃ 后,加入活性炭进行脱色。经板框过滤,滤液进一步真空浓缩后得 70% 的糖浆。

2.2 不同絮凝剂的絮凝效果

玉米芯经蒸煮、水解及除渣后得到的低聚木糖粗溶液尚含有相当量的杂质,如未水解的木聚糖、少量的纤维素、木质素及色素等。利用活性炭作用可除去上述杂质,但对糖尤其是大分子量的低聚糖有很强的吸附作用,如完全用活性炭除去上述杂质,则会损失很多产品,同时活性炭用量过大也会造成生产成本的增加,且对环境造成污染。絮凝剂

对溶液中大分子有机物有一定的絮凝作用,具有用量少,效果显著等优点。

目前常用的絮凝剂包括合成高分子絮凝剂、无机絮凝剂及微生物絮凝剂,其选择原则是用量少,絮凝效果好,对环境和人类无毒无害,且不会对体系造成污染等。

在本研究中,我们分别选择了合成高分子絮凝剂 A、无机絮凝剂 B 和 C、自然界絮凝物质 D 及微生物絮凝剂 E,考察其絮凝脱色效果,以选择 1 种较好的絮凝剂。

5 种絮凝剂分别配制成浓度为 1% 的溶液待用。将低聚木糖粗溶液(pH 5.5)加热到 60℃,边搅拌边加入絮凝剂溶液。然后静置过夜,将絮凝沉淀的杂质离心除去,观察絮凝脱色效果。利用紫外扫描,可发现糖液在 420 nm 处有 1 最大吸收峰,因此,絮凝脱色效果的判定以溶液在 420 nm 处的吸光度为标准,脱色效果用下式计算:

$$\text{色素脱除率} = \frac{\text{絮凝前吸光度} - \text{絮凝后吸光度}}{\text{絮凝前吸光度}} \times 100\%$$

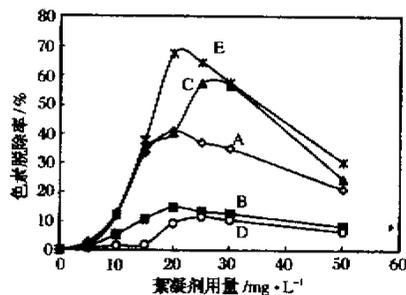


图 1 脱色效果与絮凝剂用量及种类之间的关系

从图 1 可以看出,脱色效果与絮凝剂加入量并不成正比,而是存在 1 个有效范围,即存在 1 个最佳的絮凝剂加入量,这与常规的絮凝行为是相符的。比较不同絮凝剂的脱色效果可以发现,微生物絮凝剂的效果最好,当其用量为 20 mg/L 时,可脱除约 67% 的色素,而壳聚糖的效果最差,仅能脱除约 10% 的色素。

2.3 絮凝条件对絮凝效果的影响

2.3.1 絮凝体系 pH 值

低聚木糖稳定的 pH 范围为 3~8,将低

聚木糖溶液分别调至不同 pH 值(3~8 之间)均加入 20 mg/L 的絮凝剂 E。经测定,在 pH 3~8 的范围内,该絮凝剂均有较好的

脱色效果,其中,以 pH 6.5 脱色效果最好,脱色率达 73%(表 1)。

表 1 pH 值对絮凝效果的影响

| pH 值 | 3 | 3.5 | 4 | 4.5 | 5 | 5.5 | 6 | 6.5 | 7 | 7.5 | 8 |
|---------|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|-----|----|
| 色素脱除率/% | 54 | 60 | 63 | 65 | 66 | 67 | 69 | 73 | 71 | 70 | 68 |

2.3.2 金属离子的影响

取不同金属离子的氯化物配制成溶液,均以 50 mmol/L 的浓度加入絮凝体系中(pH 6.5)。从结果可见,多价阳离子均对脱色有不同程度的促进作用,其中又以 Al^{3+} 最好,色素脱除率达 82%。如表 2 所示。

表 2 金属离子对脱色效果的影响

| 离子种类 | Al^{3+} | Ca^{2+} | Mg^{2+} | K^+ | Na^+ | 空白 |
|---------|-----------|-----------|-----------|-------|--------|----|
| 色素脱除率/% | 82 | 80 | 76 | 74 | 74 | 73 |

2.3.3 温度

温度对脱色效果具有很大影响,随温度的升高,水分子热运动加快,促使色素分子间碰撞机会增加,更有利于絮体的形成。实验结果也证实了这一点(pH 6.5, 50 mmol/L 的 Al^{3+})。在 40、60、80℃ 时测定的脱色率分别为 76%、82%、86%。

2.4 絮凝脱色对低聚木糖损失的影响

利用微生物絮凝剂进行絮凝脱色,用量为 20 mg/L,检测絮凝前后的糖浓度,用 HPLC 检测不到絮凝脱色前后低聚木糖浓度的变化,表明絮凝过程中低聚木糖损失极少。

经絮凝脱色与不用絮凝脱色后的糖液分别用离子交换树脂脱盐至 $\kappa < 5 \mu S/cm$,然后用纳滤进行浓缩至总糖浓度约为 10%~12%,加入活性炭进行脱色。活性炭用量与糖的损失如表 3 所示。

由表 3 可以看出,经絮凝脱色后的糖液再用活性炭脱色,脱色效果优于未用絮凝脱色时的情况。活性炭用量仅为未用絮凝脱色的 10%,而产品中低聚木糖的含量达到 75.5%,优于日本同类产品(日本同类产品低聚木糖占总糖的比例为 71.4%)。而未用絮凝脱色的产品中低聚木糖含量仅为

表 3 絮凝脱色对活性炭用量与低聚木糖损失的影响

| | 絮凝脱色 | | 无絮凝脱色 | |
|------------------------------|-------------|-------|-------------|-------|
| 吸光度(稀释 10 倍) | 0.02 | | 0.34 | |
| 脱色前糖液质量浓度 / $g \cdot L^{-1}$ | 阿拉伯糖 | 8.6 | 阿拉伯糖 | 8.6 |
| | 木糖 | 17.7 | 木糖 | 17.7 |
| | 葡萄糖 | 1.4 | 葡萄糖 | 1.4 |
| | 木二糖 | 37.4 | 木二糖 | 37.4 |
| | 木三糖 | 27.7 | 木三糖 | 27.7 |
| | 木四糖 | 16.8 | 木四糖 | 16.8 |
| | 木五糖 | 5.9 | 木五糖 | 5.9 |
| | 总糖 | 114.5 | 总糖 | 114.5 |
| | 低聚木糖在总糖中的比例 | 75.8% | 低聚木糖在总糖中的比例 | 75.8% |
| 活性炭用量 / $g \cdot L^{-1}$ | 5 | | 5 | |
| 脱色后吸光度 (420 nm, 1 cm 比色皿) | 0.00 | | 0.07 | |
| 脱色后糖液质量浓度 / $g \cdot L^{-1}$ | 阿拉伯糖 | 8.5 | 阿拉伯糖 | 8.3 |
| | 木糖 | 17.6 | 木糖 | 17.4 |
| | 葡萄糖 | 1.4 | 葡萄糖 | 1.3 |
| | 木二糖 | 36.6 | 木二糖 | 29.6 |
| | 木三糖 | 26.7 | 木三糖 | 20.2 |
| | 木四糖 | 16.1 | 木四糖 | 12.1 |
| | 木五糖 | 5.5 | 木五糖 | 3.9 |
| | 总糖 | 112.4 | 总糖 | 92.8 |
| | 低聚木糖在总糖中的比例 | 75.5% | 低聚木糖在总糖中的比例 | 70.9% |
| 总糖损失率/% | 1.84 | | 18.95 | |
| 低聚木糖损失率/% | 3.70 | | 23.04 | |

70.9%。同时,絮凝脱色的应用,大幅度降低了总糖和低聚木糖的损失,提高了产品的收率。经计算,絮凝结合活性炭脱色工艺以玉米芯为基准的总糖收率为 18.7%,而仅用活性炭脱色工艺收率仅为 15.4%。从规模生产而言,絮凝脱色的应用,由于除去了糖液中的大部分悬浮物,对离子交换树脂还具有一定的保护作用。

3 结论

(1) 微生物絮凝剂 NOC-1 在用量 20 mg/L, pH 6.5, 温度 80℃ 及 50 mmol/L Al^{3+}

存在下,可脱除低聚木糖水解液中约 86% 的色素。

(2) 利用絮凝结合活性炭脱色与单纯用活性炭脱色相比,活性炭用量降低了 90%,低聚木糖损失减少了 83.9%,以玉米芯为基准的总糖收率由 15.4% 增加到 18.7%,产品中低聚木糖在总糖中的比例也有较大幅度的增加。

(3) 微生物絮凝剂安全、无毒,不会造成二次污染,其在食品及生物制品行业中的应

用将在很大程度上简化产品下游处理过程。

参 考 文 献

- 1 郑建仙,耿立萍. 食品与发酵工业,1997,23(1): 39~46
- 2 张怀,袁其朋,马润宇等. 北京化工大学学报,2001,1:7~12
- 3 蔡敬明,吴克,张洁等. 工业微生物,1997,27(2):1~4
- 4 Takeda M, Kurane R. Agric. Biol. Chem., 1991,55(10):2663~2664
- 5 Takeda M, Kurane R. Agric. Biol. Chem., 1991,55(11):2793~2799

Application of Flocculant Decolorization in the Purification of Xylooligosaccharide

Yuan Qipeng Zhang Huai

(College of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing, 100029)

ABSTRACT Effect of the decolorizing by five kinds of flocculant on the hydrolysate of xylooligosaccharides was studied. The results showed that the microbial flocculant NOC-1 could remove 86% of total coloring matter from the hydrolysate under the concentration of 20 mg/L, pH 6.5, 80°C in the presence of 50 mmol Al^{3+} /L. Compared to the process of decolorizing by active carbon used only, the active carbon used decreased 90% and the loss of xylooligosaccharides decreased 83.9% in the process of decolorizing by the combination of flocculant and active carbon. The ratio of xylooligosaccharides to total sugar in the product is higher than that in Japanese product and its appearance achieved the same level of Japanese product.

Key words flocculate, xylooligosaccharides, purification

英国研制成功体育恢复饮料

英国卜内门公司的食品部门 Quest 国际公司称,它已抢先在红牛和 Gatorade 公司之前研制成称为 Hyprol 的用于饮料的一系列配料,Hyprol 可使剧烈运动后恢复时间缩短一半并甚至可预防过量训练。

该公司称,这一研究成果是饮料 10 年前首次进入市场以来的最大进展,该饮料一般可把恢复时间从 24h 减少到 10~15h。

美国和欧洲的生产厂家正在试验这种体育恢复饮料,并可在 2 年内上市。

荷兰马斯特赫特大学用运动员所作的临床试验研究表明,在富含氨基酸的食物蛋白水解产物——肽中添加饮料可大大提高剧烈运动后体力恢复的速度。研究表明,当运动员在运动之后喝了这种新组合饮料,血浆中的氨基酸含量大幅上升,造成大量的胰岛素反应。结果是,刺激产生肝糖,肌肉细胞修复得更为迅速,运动员的体力恢复得更快。

该饮料基于精选的植物蛋白水解产物(肽),其关键是可使肽和葡萄糖同时直接吸收,这一产品中另一个关键是口味,它已向过去的味道提出了挑战。

Quest 公司的工作是设法把肽的优点与提神和味道结合起来。该体育饮料有各种风味,如桔子、葡萄柚、柠檬、热带水果和冰茶味。