

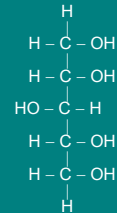
生物法制备木糖醇

中国科学院微生物研究所
江宁

2011.3

木糖醇

五羟基糖醇，分子式 $C_5H_{12}O_5$ ，分子量152.15



木糖醇的生理功能

- 预防龋齿：非发酵性糖醇，维持口腔酸碱平衡。
- 阻碍细菌与人体细胞的结合，预防耳道、呼吸道感染。
- 促进肠道对钙质的吸收，减少骨质流失，维持正常骨密度。
- 代谢不依赖于胰岛素，作为糖尿病人的蔗糖替代品。
- 降低肝脏转氨酶的作用，用于急性肝炎的辅助治疗。

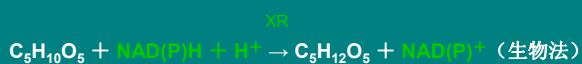
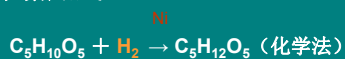


木糖醇在自然界的存在

名称	木糖醇含量 mg/100g干物质	名称	木糖醇含量 mg/100g干物质
李子	940	苹果汁	120
青梅	935	菠菜	110
草莓	362	胡萝卜	98.6
菜花	300	南瓜	96.5
木梅	268	卷心菜	96
莴苣	260	茴香	92
芽菜	258	洋葱	90
茄子	180	韭菜	53
蘑菇	130	啤酒酵母	4.5

木糖醇的制备

- 植物直接提取
- 木糖加氢



木糖醇的粗原料

	纤维素	半纤维素	木质素
玉米芯	~35	35 ~ 40	20 ~ 25
甘蔗渣	~40	~25	~25
碎木	~45	~25	~20

从粗原料化学法生产木糖醇

原料 → 水解 → 精制浓缩 →
精制 → 蒸发 → 结晶(木糖) → 溶解
→ 加氢 → 精制 → 蒸发 → 结晶

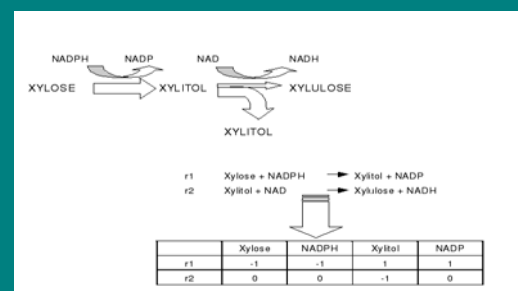
木糖母液的主要组分

- 木糖：30~40%
- 葡萄糖：10~20%
- 阿拉伯糖：10~20%
- 半乳糖等：少量

生物法生产木糖醇的条件

- 生物催化剂(微生物)
- 反应条件
- 设备与工艺

生物法生产木糖醇



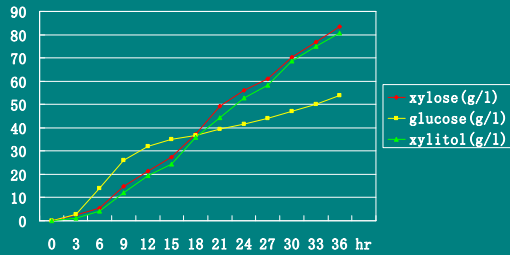
生物法生产木糖醇的理论产率

- 微氧条件下:
 $126 \text{ Xylose} + 3 \text{ O}_2 + 6 \text{ ADP} + 6 \text{ Pi} + 48 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 114 \text{ Xylitol} + 6 \text{ ACP} + 6 \text{ O}_2$
 $0.905 \text{ mol xylitol / mol xylose}$, 即: 0.917 g / g
- 厌氧条件下:
 $48 \text{ Xylose} + 15 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 42 \text{ Xylitol} + 3 \text{ Ethanol} + 24 \text{ CO}_2$
 $0.875 \text{ mol xylitol / mol xylose}$, 即: 0.887 g / g

生物法的主要特点

- 生物催化剂的高度专一性
- 反应条件温和
- 不需单独制氢
- 反应速度慢
- 一部分木糖用于辅酶再生

重组酿酒酵母发酵产木糖醇



生物法生产木糖醇的微生物

- *Candida tropicalis* (Azuma et al)
- *Candida guilliermondii* (Barbosa et al; Mussatto et al)
- *Candida utilis* (Bruinenberg et al)
- *Debaryomyces hansenii* (Girio et al; Converti et al; Sampaio et al)
- *Candida maltosa* (Guo et al)

Candida maltosa 的有关酶学分析

菌株	木糖还原酶比活 (U mg ⁻¹)			木糖醇脱氢酶比活 (U mg ⁻¹)		
	NADPH	NADH	NADPH/NADH	NADP	NAD	NAD/NADP
<i>ck1</i>	0.036	0.008	4.5	0.002	0.032	16
<i>ck2</i>	0.060	0.011	5.5	0.003	0.045	15
<i>ck3</i>	0.194	<0.001	-	0.019	0.058	3.1
<i>C.mal</i>	0.340	<0.001	-	0.020	0.049	2.5
<i>ck4</i>	0.305	<0.001	-	ND	0.102	-

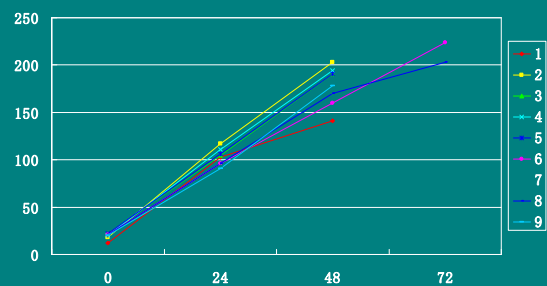
木糖醇发酵的主要影响因素

- 氧气
 - 溶氧高: NADH → NAD⁺, 激活XDH, 进入PPP。
 - 溶氧低: 细胞生长慢, XR活性低。
- 木糖浓度
- 其它培养基组分
- 种子
- 温度
- pH
- 无机盐

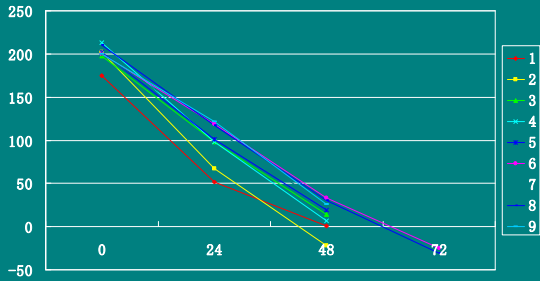
细胞转化生产木糖醇

- 细胞生长与木糖转化分别进行, 可提高底物浓度
- 细胞可反复使用, 降低生物催化剂成本
- 可适度供氧, 转化率高, 操作易控制
- 反应系统组分简单, 利于分离纯化
- 占用发酵罐时间少, 降低设备投资
- 生物转化不必无菌操作

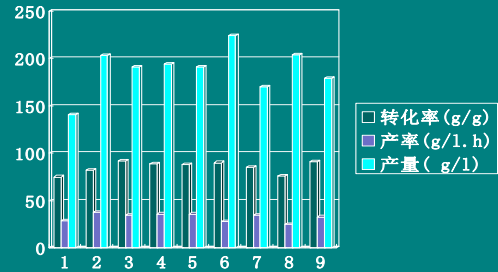
各批木糖醇生成



各批木糖消耗



C. maltosa 转化木糖产木糖醇



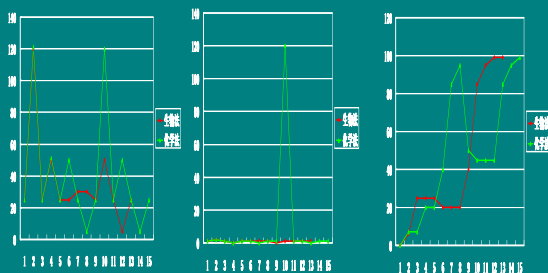
一批细胞9次转化木糖累计

- 消耗木糖5409克
- 生成木糖醇4599克
- 共用时480小时，细胞仍具有转化能力
- 平均转化率0.85 g/g
- 平均产率3.2 g/l.h
- 平均产量189 g/l
- 单位细胞产量186 g/g
- 发酵罐生产强度170 g/l.h

工艺路线的优势

- 1、原料利用率高。化学法以纯木糖为原料，玉米芯水解液中有30%以上的木糖在母液中无法利用。生物转化法直接以玉米芯水解液为原料，并利用了废木糖母液，使原料利用率有较大提高。
- 2、环境污染低。由于原料预处理过程不可避免地会产生一定环境污染，因此提高了原料利用率的同时也减轻了环境污染。此外，生物转化过程也比化学催化过程对环境友好。
- 3、能耗低。化学法将玉米芯水解液浓缩、结晶得到木糖后重新溶解稀释，加氢后再浓缩、结晶，能耗高。生物转化法一次浓缩结晶得到木糖醇，降低了能耗。
- 4、生产设备简单。化学法需制氢，加氢在高温高压下进行，设备要求高。发酵法主要设备是发酵罐，也较复杂。生物转化法只用极少发酵罐，主要设备是简单的反应槽。
- 5、操作简单、安全。转化过程在常温、常压下进行，并且无需无菌操作。与化学法或发酵法比较，操作是最简单、最安全的。
- 6、产品质量好。生物法避免了与金属粉末催化剂的接触，产品更适于作为食品。生物转化系统又没有发酵系统的培养基组分，因此产品质量更可靠。

生物法与化学法过程温度、压力、浓度变化比较



木糖厂新添设备

- 5米³发酵罐及配套的种子与空气系统。
- 叠片式离心机。
- 5米³转化槽12个。



生物法木糖醇的中试

- **玉米芯水解浓缩液**: 经浓缩及离子交换, 含糖160克/升、葡萄糖16克/升、阿拉伯糖15克/升
- **木糖废母液**: 深褐色, 总糖660克/升, 其中含糖340克/升、葡萄糖150克/升、阿拉伯糖170克/升
- **脱色母液**: 木糖废母液用等体积未浓缩的玉米芯水解液稀释, 然后用活性炭脱色, 总糖为360克/升, 其中含糖195克/升、葡萄糖78克/升、阿拉伯糖87克/升

3L种子 → 50L种子罐 → 500L种子罐 → 5M³发酵罐
 ↓ ↑
 叠片式离心机

中试初步结果

转化批次	反应液总糖 (克/升)	转化时间 (小时)	消耗木糖 (克/升)	木糖醇量 (克/升)	产木糖醇 (克/升)	转化率 (克/克)	产率 (克/升-小时)
1	132.6	38.5	107.0	84.8	84.8	0.793	2.20
2	152.8	31.5	111.8	106.0	99.5	0.890	3.18
3	159.1	46.5	120.1	118.9	96.0	0.799	2.06
4	168.0	59.0	123.3	117.7	96.8	0.785	1.64
5	126.7	51.5	91.3	108.7	84.7	0.928	1.64
6	144.1	52.0	94.2	103.4	82.3	0.874	1.58
7	144.1	52.0	96.4	98.4	76.4	0.793	1.36
8	128.8	60.0	81.7	94.1	66.8	0.818	1.11
平均				104.0		0.835	1.85

未干燥的结晶生物木糖醇分析结果

项目	检测结果	FAO/WHO 1990; CXCAS/1991G B13509-92	USP24, FCCVI, NF19	备注
木糖醇含量	99.33%	≥92%	≥98.5%	
其它多元醇	0.67%	≤5.0%	≤1.5%	国内执行≤2.0%
干燥失重	1.84%	≤1.5%	≤0.30	国内执行≤0.50%
灼烧残渣	0.04%	≤0.50%	≤0.05%	国内执行≤0.50%
还原糖	0.28%	≤0.50%	≤0.20%	
熔点 (°C)	95	88-90	92-96	
pH	6.39		5-7	
重金属	≤0.001%	≤0.001%	≤0.0005%	国内执行≤0.001%
氰化物	≤0.005%		≤0.005%	



鉴定意见

- 中国科学院生命科学与生物技术局就中国科学院微生物研究所的科技成果“生物转化法生产木糖醇新工艺”组织了鉴定。鉴定专家通过现场考察、审阅材料、听取和质询成果完成单位和应用单位的报告以及认真讨论, 一致认为:
 - 一、木糖醇是功能性食品添加剂, 并有多种其它用途。该成果采用生物技术以生物质为原料生产木糖醇, 对资源的综合利用和发展循环经济有积极的意义, 符合可持续发展的战略。
 - 二、该成果首次在中试生产规模, 用麦芽糖酶发酵母Xu316 (*Candida maltosa*) 直接转化玉米芯水解液和木糖废母液生产纯度99%以上的木糖醇。转化率、产量和产率等主要生产指标达到较高的水平, 菌体多次重复使用, 工艺参数稳定。该菌株具有自主知识产权, 转化性能居国际领先水平。
 - 三、该项目鉴定资料齐全, 数据完整可信, 现场设备运行正常。
 - 四、建议进一步完善该技术, 结合生物质的资源化综合利用, 尽快进行工业化生产, 创造更大的经济和社会效益。



生物法木糖醇的展望

- 现有技术的进一步提高
- 与其它生物质产品联产
- 酶法降解半纤维素
- 用淀粉糖为原料