

# 糖的放大规模制备色谱分离方法

万良才

(北京轻工业学院, 北京, 100037)

颜淑芬 鲍世耀

(中国轻工总会环境保护研究所, 北京, 100037)

**摘要** 使用了一套树脂评价方法, 包括水力悬浮分级、理论塔板数的测定和色谱展开数学表达式, 能有效地评价糖的色谱行为, 从而大大地提高试验的效率。

**关键词** 色谱 分离 糖 放大规模 木糖

从糖蜜中回收蔗糖, 由异构糖浆制取高果糖浆, 从低聚糖中分离单糖、双糖, 从木糖结晶母液中回收木糖等, 都需要制备色谱分离手段。制备色谱分离糖类(和非糖)时, 柱效率高、糖与糖之间的分离度, 将决定分离产品的数量和质量, 因此对所选树脂的评价和色谱展开行为的研究, 至关重要。由于色谱周期长, 所需数据多, 对于色谱用树脂的评价往往是一件费时、费力的工作, 特别是在缺少理论指导的情况下, 很容易进行大量重复试验, 而所得试验结果又很少能有效归纳, 致使色谱分离研究效率低下。

为克服这一缺点, 本研究设计了一些方法, 包括树脂的水流分级、两组分糖的快速分析、柱分离参数的测定, 并结合数据处理的微机方法, 建立了色谱展开的数学表达式。实际工作证明, 这是一套实用而高效的研究方法。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

离子交换树脂、色谱评价柱(直径4.5 cm, 长70 cm, 带循环夹套), 各种待分离的单糖样品、木糖结晶母液等。

旋光仪, 折光仪, 糖度计, 带测微尺的显微镜, 气相色谱仪等, 微机 586/166、32M、4.3G。

### 1.2 方法

树脂的水流分级: 是在一自制的分级器中进行的。分级器由直径35~80mm有机玻璃管组成, 各柱由大到小串连, 树脂用自来水从小柱带入。在不同直径的柱中, 有不同的水流线速度, 达到平衡时, 不同粒度的树脂悬浮在相应的柱中, 达到分级。树脂的粒度用带测微尺的显微镜测定。

色谱展开方法: 树脂首先转化成钙型装柱, 50下, 从柱顶加入50Brix的糖样, 以后按一定流速通入去离子水, 在柱下端收取各级分。

两种糖的快速测定用本小组拟定的方法, 见另外材料。

理论塔板数的测定:

$$N = 16 \left( \frac{V_r}{W} \right)^2$$

式中, W—峰宽;

$V_r$ —组分保留体积。

数据处理、色谱表达式的建立和色谱展开式: 用数学软件 MATHEMATICA FOR WINDOWS 在微机 586/166 上处理数据。内容包括数值的代数运算、数值积分和图形处理。

## 2 结果和讨论

### 2.1 树脂的分级

\* 收稿时间: 1998-06-10

用水流分级法将市售的阳离子交换树脂分级为 20~ 120 目的不同粒度的级分。对于色谱分离来说, 市售树脂的粒度过大, 粒度分布过宽, 分级以前不适于色谱分离, 分级以后的树脂按不同粒度装入柱中使用。

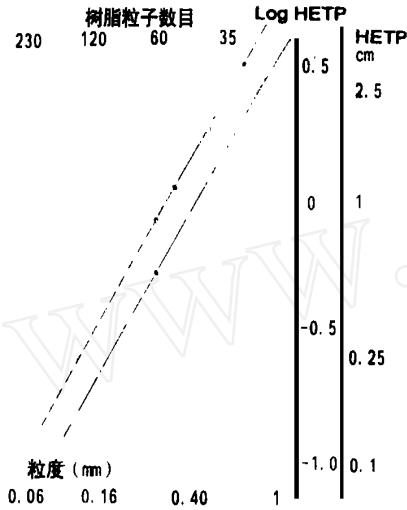


图 1 树脂粒度与塔效率的关系

树脂粒度与塔效率的关系如图 1。由图 1 可见, 树脂的塔效率与粒度密切相关。粒度越小, 塔效率越高。以某厂树脂为例, 60 目时, 相当理论塔板高度(HETP)为 0.82 cm, 而在 100 目时, 为 0.38 cm。从塔效率、渗透速度等因素考虑, 工业色谱分离中使用 60~ 80 目树脂合适。这时, 相当理论塔板高度为 0.5 cm 左右。树脂的均一性对塔板效率影响极大。用显微镜观测树脂粒度, 并记录各种粒度树脂的数量, 从而统计出粒度分布。试验证明, 分级以后的树脂粒度分布相对均匀, 塔效率比分级以前大为提高。

表 1 各糖保留体积和相对保留体积

糖	保留体积 (ml)	糖	相对保留体积 (ml) (以木糖为 1)
葡萄糖	685	葡萄糖	0.823
半乳糖	700	半乳糖	0.870
木糖	740	木糖	1.000
阿拉伯糖	796	阿拉伯糖	1.181

## 2.2 各参数的测定结果

以 60 目树脂分离葡萄糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖为例, 测得理论塔板数为 217, 树脂柱死体积为 430ml。

各糖保留体积和相对保留体积数值如表 1。

## 2.3 色谱展开的数学表达式

i 级分中某组分的浓度由下式表示:

$$C_i = \frac{Q_i}{V_i} \left( \frac{N}{2\pi} \right)^{0.5} \text{Exp} \left\{ -\frac{N(V_i - V)^2}{2V_i V} \right\} \quad (F1)$$

式中,  $Q_i$  - i 组分的量, g 或 kg;

$V$  - 流出液体积, ml 或  $m^3$ ;

$V_i$  - i 组分的保留体积。

而  $C_{i\max} = \frac{Q_i}{V_i} \left( \frac{N}{2\pi} \right)^{0.5}$  是流出液中 i 组分的最大浓度。以木糖的色谱展开为例, 试验结果和按公式(F1)计算的结果吻合, 如图 2。

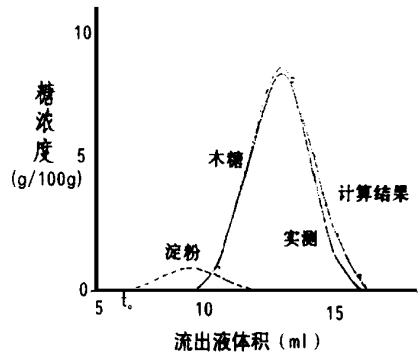


图 2 木糖色谱展开图

## 2.4 塔效率对色谱展开曲线的影响

工业色谱中, 塔效率是至关重要的参数。塔效率越高, 分离效果越好。图 3 为木糖从柱效 100~ 1000 理论塔板时, 色谱展开三维图。由三维曲线图可见, 在 1000 理论塔板下, 木糖色谱展开曲线尖锐, 而在 100 理论塔板下, 曲线平缓。

理论上, 各个糖的混合物的色谱展开图可以通过分析色谱各级分的成分来绘制。但这样做, 工作量是如此之大, 以致很难进行系统而全面的研究。因此寻求快速的方法就变得非常必要了。可以测定一系列参数, 再利用色谱展开公式, 计算各糖的色谱展开数据, 从

而绘制色谱展开图。分析和结果的计算,采用了快速方法。我们的试验证明,一天时间,可以获得上百个数据,使工作效率大为提高。只需要测定理论塔板数、各糖保留体积、进样量,便可以用MATHMATICA 软件在电脑上计算有关数据并绘制色谱展开图。图4为实际木糖母液的色谱展开图,它表明母液中葡萄糖、半乳糖、木糖和阿拉伯糖的分离情况。

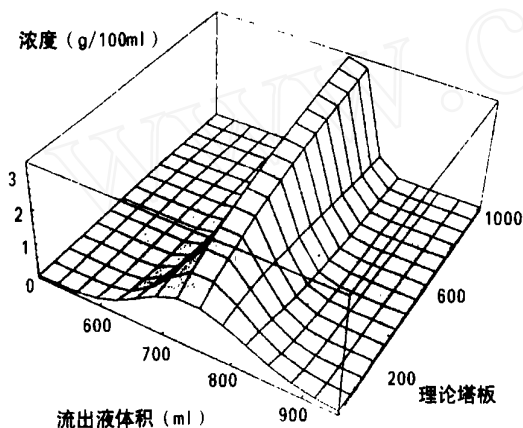


图3 木糖色谱展开三维图

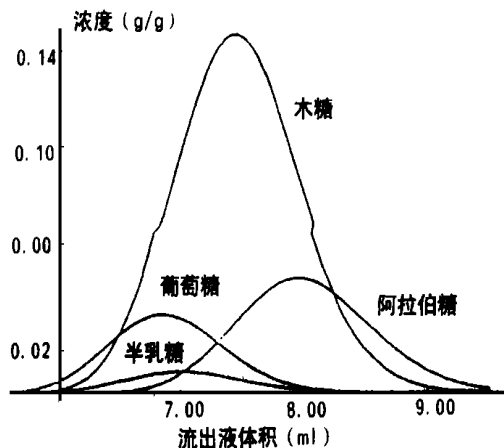


图4 木糖母液中各个糖的色谱分离

## 2.5 色谱收得率和收集液纯度的计算

将色谱展开图分为几个区分,收集目的区分,即含主要成分多的流出液,浓缩结晶,得到产品。

色谱收得率和收集液中有关成分含量的计算方法是,将方程式(F1)对体积V定积

分,得到相关成分的量,由此算出收得率。

$$R = \frac{b}{a} \frac{Q_i}{V_i} \left( \frac{N}{2\pi} \right)^{0.5} \text{Exp} \left\{ \frac{-N(V_i - V)^2}{2V_i V} \right\} dV \quad (F2)$$

式中,R- 色谱中成分i的收得量;

a, b- 色谱收集范围。

由流出液各糖的比例算出收集级分的纯度。以下例子是对木糖母液的分离预测。

木糖母液的成分如下(以干基计,%):

葡萄糖	12.45
半乳糖	3.5
木糖	61.05
阿拉伯糖	21.00

母液配成50Brix 进样50ml,即60.5g,干物质30.5g。

由各糖含量算出每种糖的进样量为:

葡萄糖	3.767g
半乳糖	1.059g
木糖	18.468g
阿拉伯糖	6.353g

将有关数据代入公式(F1)中,得到各糖的色谱展开公式,经整理后得到:

$$C_{葡} = 0.032311 \text{Exp} \left\{ \frac{-0.1584(685 - V)^2}{V} \right\} \quad (1)$$

$$C_{半} = 0.008894 \text{Exp} \left\{ \frac{-0.1550(700 - V)^2}{V} \right\} \quad (2)$$

$$C_{木} = 0.14667 \text{Exp} \left\{ \frac{-0.1466(740 - V)^2}{V} \right\} \quad (3)$$

$$C_{阿} = 0.04691 \text{Exp} \left\{ \frac{-0.1363(796 - V)^2}{V} \right\} \quad (4)$$

$$C_{总糖} = C_{葡} + C_{半} + C_{木} + C_{阿} \quad (5)$$

用MATHMATICA 将上述各式在电脑上作图,得到各糖的色谱展开曲线,如图4。

从560ml开始有糖流出,950ml出糖结束。取560~690ml为前级分,主要含葡萄糖和半乳糖;取590~780ml为收集液,主要含木糖;取780~920ml为尾级分,主要含阿拉伯糖和木糖。收集液用来浓缩和结晶木糖,其余级分用来回收相应的糖。对公式(1)、(2)、(3)、(4)和(5)按收集范围进行定积分,得到

每种糖的量, 进而求出每一级分中的相对含量。计算结果如表 2。

表 2 木糖母液色谱分离结果

组分	前级分				收集液				后级分				
范围	560~ 690ml				690~ 780ml				780~ 920ml				560~ 920ml
	g	浓度 (%)	纯度 (%)	收率 (%)	g	浓度 (%)	纯度 (%)	收率 (%)	g	浓度 (%)	纯度 (%)	收率 (%)	g
葡萄糖	1.9412	1.49	39.1	51.5	1.075	1.9	10.6	45.3	0.1219	0.09	1.42	3.23	3.7683
半乳糖	0.4132	0.32	8.33	39.0	0.5805	0.65	3.62	54.7	0.0671	0.05	0.78	6.33	1.0608
木糖	2.5130	1.93	50.7	13.6	11.558	12.8	72.2	62.5	4.4139	3.15	51.5	23.9	18.4851
阿拉伯糖	0.0941	0.07	1.90	1.51	2.1765	2.42	13.6	34.9	3.9707	2.84	46.3	63.6	6.24133
总糖	4.9615	3.18		16.8	16.020	17.8		54.2	8.5737	6.12		29.0	29.5554

从 1994 年开始, 采用这一套方法进行木糖母液的工业色谱分离回收结晶木糖的研究, 取得了成功。初步研究证明, 本法还可以用于葡萄糖-果糖、糖醇混合物等的分离。

#### 参 考 文 献

- 1 万良才. 分析实验室, 1993(3): 1~ 6
- 2 US 5443650
- 3 WO 9529002- A 1
- 4 US 5832294
- 5 EP 629707- A 1
- 6 FI 9302108

7 昭 57- 63100

8 佐山晃司等 (日) 精糖技术研究会志, 第 37 号, 1989: 33~ 39

9 US 4857642

10 US 5233143

11 JP 93002383- B

12 US 5176832- A

13 DE 4041414C- 2

致谢: 北京轻工业学院计算机中心主任石通灵副教授在数学软件方面提供指导, 谨此致谢。

## A Chromatographic Method for Preparative Separation of Saccharides in Up-scale

W an L iangcai

(Beijing Institute of Light Industry, Beijing, 100037)

Y an Shufen      B ao Shiyao

(Research Institute of Environmental Protection of Chinese Council of Light Industry, Beijing, 100037)

**ABSTRACT** A method for evaluation of chromatographic separation in up-scale including the cyclone fractionation of ion exchange resin, estimation of the column efficiency and mathematical expressions for the process of chromatographic separation of saccharides was provided for the purpose of improvement of experiments

**Key word** chromatography, separation, saccharides, up-scale, xylose