

Study on efficient preparation technology of D-mannose

Junjun Zhou Li Gao Xiaowei Cao Hao Huang Qiuyue Sun

Henan Achievement Transformation Biotechnology Co., Ltd., Zhengzhou, Henan, 450000, China

Abstract

Aiming at the problems of the traditional D-mannose production process, such as low crystallization efficiency and serious pollution, a preparation process using glucose as raw material was developed through chemical isomerization, ionization purification and gradient crystallization. The reaction parameters were optimized by response surface method. The optimum conditions were as follows: temperature 115°C, pressure 0.15 MPa, catalyst concentration 0.3% (dry base), and the conversion rate of mannose reached 30.8%. The purity of mannose was increased from 30.8% to 93.0% by using mixed ion exchange resin fixed bed and chromatographic separation system. Combined with evaporation crystallization and gradient cooling technology, the concentrated liquid was obtained at 70-80°C, under the condition of decompression and concentration, adding 1 volume of anhydrous ethanol to nourish the crystal for 1 h, and the gradient cooling was below 10°C. Finally, D-mannose crystal with 99.5% purity was obtained, and the yield reached 73%. The product obtained by this process has high purity, high yield and significantly reduced production cost. The research results provide theoretical basis and technical support for the industrial production of mannose.

Keywords

D-mannose; Chemical isomerism; Mixed bed separation and chromatographic separation; Gradient crystallization; Response surface optimization

D - 甘露糖高效制备工艺的研究

周俊俊 高莉 曹晓伟 黄昊 孙秋月

河南成果转化生物科技有限公司, 中国·河南 郑州 450000

摘 要

本文针对传统 D - 甘露糖生产工艺存在的结晶效率低、污染严重等问题, 开发了一种以葡萄糖为原料, 通过化学异构、离子交换提纯与梯度结晶的制备工艺。通过响应面法优化异构反应参数, 确定最佳工艺条件为: 温度 115°C、压力 0.15 MPa、催化剂浓度 0.3% (干基), 此时甘露糖转化率达 30.8%。采用混合离子交换树脂固定床及色谱分离系统, 实现甘露糖纯度从 30.8% 提升至 93.0%。结合蒸发结晶与梯度冷却技术, 在 70-80°C, 减压浓缩条件下得到浓缩液, 加入 1 倍体积无水乙醇养晶 1 h, 梯度降温至 10°C 以下, 最终获得纯度 99.5% 的 D - 甘露糖晶体, 收率达到 73%。该工艺得到的产品纯度高, 收率高, 显著降低了生产成本。研究结果为甘露糖的工业化生产提供了理论依据与技术支撑。

关键词

D - 甘露糖; 化学异构; 混合床离子交换、色谱分离; 梯度结晶; 响应面优化

1 引言

1.1 D - 甘露糖的应用价值

D - 甘露糖 (D-Mannose) 作为一种天然六碳醛糖, 具有独特的生物学活性与功能特性。在食品工业中, 其甜度为蔗糖的 60%, 可作为低热量甜味剂应用于糖尿病患者食品^[1]; 医药领域, 甘露糖可通过靶向结合细菌表面的甘露糖受体, 抑制大肠杆菌黏附, 用于尿路感染治疗^[2]; 此外, 其衍生物在抗癌药物递送系统中展现出良好的应用前景^[3]。

1.2 现有技术瓶颈

传统提取法以植物多糖为原料, 通过酸解、柱层析等

分离获得甘露糖, 但存在原料来源有限、酸解过程副产物多、环境污染严重等问题。化学异构法以葡萄糖为原料, 通过差向异构反应生成甘露糖, 但存在异构平衡限制: 葡萄糖与甘露糖在热力学上存在互变异构平衡, 传统酸催化体系下甘露糖含量仅 25-30%。分离效率低: 混合糖液中葡萄糖与甘露糖结构相似, 常规色谱分离难以实现高效富集。甘露糖溶解度高, 水相结晶需长时间养晶 (60-100 h), 且收率较低^[4]。

1.3 研究创新点

本研究提出“化学异构 - 离子交换 - 色谱分离 - 乙醇梯度结晶”集成工艺, 通过以下创新突破现有技术瓶颈: 高效异构体系: 采用钼酸盐催化连续差向异构, 提升甘露糖转化率至 30.8%。采用阳 - 阴 - 阳混合离子交换树脂床除去无机盐, 采用钙型色谱树脂, 增强色谱分离选择性。

通过蒸发结晶与乙醇中梯度降温协同控制, 缩短结晶

【作者简介】周俊俊 (1980-), 女, 中国河南邓州人, 硕士, 高级工程师, 从事生物化工工艺开发研究。

时间 50% 以上，提取收率提高至 60% 以上。

2 材料与方法

2.1 实验材料

材料名称	规格 / 型号	来源
结晶葡萄糖	≥ 99.5%	山东保龄宝生物股份
钼酸铵	分析纯	国药集团化学试剂
阳 - 阴 - 阳离子交换树脂		浙江争光实业股份有限公司
HPLC 色谱柱	Aminex HPX-87C	美国 Bio-Rad 公司

2.2 实验装置

化学异构系统：罐式反应器（容积 5 L，温度 / 压力可控）。

离交柱：φ 50 mm × 1000 mm，树脂填充量 1L，玻璃柱。

色谱柱：带夹层可保温玻璃柱（φ 50 mm × 1500 mm，树脂填充量 2 L）。

结晶系统：旋转蒸发结晶器（2 L）

检测仪器：岛津 LC20ADX 示差折光检测器高效液相色谱仪。

蠕动泵：保定齐力恒流泵有限公司

2.3 实验方法

2.3.1 化学异构反应优化

采用响应面法（Box-Behnken 模型）优化温度（105-125℃）、压力（0.1-0.2 MPa）、催化剂浓度（0.2-0.4%）三因素，以甘露糖转化率为响应值。实验设计与结果见表 1。采用三水平设计（低、中、高），用编码值表示（-1, 0, +1）。

表 1 响应面实验设计与结果

因素	低水平 (-1)	中水平 (0)	高水平 (+1)
温度 (°C)	105	115	125
压力 (MPa)	0.1	0.15	0.2
催化剂 (%)	0.2	0.3	0.4

表 2 甘露糖转化率

编号	温度 (°C)	压力 (MPa)	催化剂 (%)	转化率 %
1	125	0.15	0.4	28.5
2	115	0.15	0.3	30.8
3	105	0.15	0.2	27.6
4	115	0.15	0.3	30.8
5	105	0.2	0.3	28.9
6	115	0.2	0.2	27.3
7	115	0.1	0.4	29.5
8	115	0.2	0.4	30.2
9	115	0.15	0.3	30.7

续表 2

编号	温度 (°C)	压力 (MPa)	催化剂 (%)	转化率 %
10	115	0.1	0.2	27.8
11	125	0.2	0.3	28.1
12	125	0.15	0.2	27.2
13	105	0.1	0.3	27.6
14	115	0.15	0.3	28.2
15	115	0.15	0.3	28.3
16	105	0.15	0.4	29
17	125	0.1	0.3	30

2.3.2 离交工艺

异构化反应液进入阳 - 阴 - 阳离子交换树脂柱，流速 1BV/h，收集合格料电导 < 200us。阳树脂用 5% 硫酸再生，阴树脂用 5% 氢氧化钠再生。再生结束后，用纯水洗涤至 pH 为中性。

2.3.3 色谱分离工艺

分离相：离交液（温度 50℃，流量 50 L/h）

洗脱相：50℃纯化水（流量 1BV/h）

树脂再生：5% 氯化钙溶液，再生速度 1-2BV/h

2.3.4 结晶工艺

蒸发结晶：将提取液浓缩至折光 75%，加入晶种（0.5% 干基），在 60-65℃加入 0.5 倍体积的无水乙醇，养晶 1h。

梯度冷却结晶：以 2-4℃ / h 速率降温至 10℃，结晶 15h。

2.3.5 检测

纯度分析：HPLC 检测条件（柱温 80℃，流动相：超纯水，流速 0.6 mL/min）。

3 结果与分析

3.1 化学异构反应优化

通过响应面法建立二次多项式模型：

$$Y=30.8+2.1A+1.5B+0.8C-1.2AB-0.9AC-0.7BC-1.8A^2-1.5B^2-1.2C^2$$

其中，A 为温度，B 为压力，C 为催化剂浓度。方差分析表明模型显著（p < 0.01），决定系数 R²=0.982。优化后最佳条件为温度 115℃、压力 0.15 MPa、催化剂浓度 0.3%，验证实验测得甘露糖转化率 30.8%。

3.2 色谱分离条件筛选

3.2.1 进料浓度对甘露糖色谱分离的影响

进料量相同时，浓度越大体积越小，可减少料液扩散，提高分离

效果；但浓度过大时，料液的粘度增大，导致洗脱曲线易出现不对称性质，因此需要确定合适的进料浓度来获得更好的分离效果。

考察色谱进料浓度（g/g）分别为 50%、55%、60%、65%，进料量均为折纯甘露糖 100g，流速为室温下 6-7min / 100mL；检测所收集合格料的纯度，计算收率，具体实验数据见表 3。

表 3 进料浓度对甘露糖色谱分离的影响

实验批次	进料浓度 (%)	纯度 (%)	收率 (%)
1	50	93.29	79.89
2	55	94.46	84.17
3	60	94.59	84.04
4	65	92.1	80.18

由表 3 数据得出：进料浓度在 55%-60% 之间时，合格料纯度及收率均较高，因此我们确立了进料浓度为 55%-60%。

3.2.2 进料量对甘露糖色谱分离的影响

考察色谱分离进料量分别为折纯甘露糖 100g、125g、150g、175 g、200g，进料浓度为 55%-60%，流速为 6-7min/100m，温度为 25℃，检测所收集合格料的纯度，计算收率，具体实验数据见表 4：

表 4 进料量对甘露糖色谱分离的影响

实验批次	进料量 (g)	纯度 (%)	收率 (%)
1	100	94.99	84.72
2	125	94.81	84.32
3	150	94.85	84.29
4	175	93.20	81.58
5	200	92.76	80.69

由表 4 数据知：进料量过低时，虽然合格料质量及收率均佳，但处理量小，树脂工作效率低；进料量过高时，影响合格料质量和收率；适宜的进料量在能提高树脂工作效率的同时，保证合格料质量及收率。我们确立了最佳进料量为折纯甘露糖 150g。

3.2.3 最佳色谱分离工艺条件

通过前期大量实验研究，初步确定色谱分离的工艺条件：选择径高比为 1:30 的色谱柱，装入色谱分离树脂 2L，取折纯量为 150 g、浓度为 55-60% 的甘露糖料液进色谱柱，操作温度为 40℃，控制流速 6-7min/100mL；在此工艺条件下我们做了大量实验，选取其中连续 10 批实验数据见表 5。

表 5 最佳色谱分离工艺条件下实验数据

实验批次	合格料纯度 (%)	合格料收率 (%)
1	95.84	85.28
2	95.74	85.37
3	95.69	85.23
4	96.08	85.4
5	95.78	85.33
6	95.83	85.32
均值	95.83	85.32

由表 5 数据得出：本项目研究所选定的工艺参数稳定性高，合格料纯度平均达到 95.83%，色谱分离收率平均达到 85.32%。

综上，提取液中甘露糖纯度从 30.8% 提升至 95.83%，经液相检测葡萄糖残留小于 3.5%。母液中葡萄糖含量大于 90%，可循环利用。

3.3 结晶过程控制

浓缩液转入四颈瓶后加入乙醇，结晶液变浑浊后养晶 1h，降温至 10℃以下，抽滤后晶体表面光滑，无团聚现象，结晶收率约 80%，产品纯度 99.5%。

4 结论

本研究成功开发了一种高效、绿色的 D - 甘露糖制备工艺，通过以下创新实现技术突破：钼酸盐催化异构反应使甘露糖转化率达 30.8%；离交与色谱协同分离实现纯度从 30.8% 到 95.0% 的跃升；

梯度结晶工艺获得 99.5% 以上的高纯度晶体。

该工艺具有流程短、能耗低、环境友好等特点，适用于工业化生产。

参考文献

[1] 王志强, 李丽华. D - 甘露糖在功能性食品中的应用 [J]. 食品科学, 2021, 42 (12): 315-320.

[2] 张明明. 甘露糖基化壳聚糖的制备及其抗菌性能 [J]. 高分子材料科学与工程, 2022, 38 (5): 123-128.

[3] 赵晓东. 葡萄糖异构化反应动力学研究 [J]. 化学反应工程与工艺, 2018, 34 (4): 321-328.