

阮圣慧, 姜彩霞, 刘晓兰, 等. 酶法制备低聚异麦芽糖的研究现状 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(17): 463–469. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110113

RUAN Shenghui, JIANG Caixia, LIU Xiaolan, et al. Research Status of Isomaltooligosaccharides by Enzymatic Preparation[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(17): 463–469. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110113

· 专题综述 ·

酶法制备低聚异麦芽糖的研究现状

阮圣慧¹, 姜彩霞^{2,3}, 刘晓兰^{4,*}, 郑喜群^{1,2,3,*}

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319;

2. 黑龙江八一农垦大学国家杂粮工程技术中心, 黑龙江大庆 163319;

3. 粮食副产物加工与利用教育部工程研究中心, 黑龙江大庆 163319;

4. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要: 低聚异麦芽糖 (Isomaltooligosaccharides, IMOs) 是公认的具有益生元潜力并对健康有益的功能性食品成分。目前多利用来源广泛且易获得的农产品制备 IMOs, 因此具有较高的商业价值, 并在食品工业中具有广泛的应用前景。本文重点介绍了 IMOs 的酶法生产工艺及其关键技术研究进展, 对所涉及的酶法转化、酶膜生物反应器、酶固定化、生物催化进行了分析。针对现有技术的不足, 本文结合了现代生物技术, 展望了相关酶技术在工业化生产 IMOs 领域的研究方向, 为其产业化发展提供一定参考。

关键词: 低聚异麦芽糖, 酶法制备, 生产工艺, 生物技术

中图分类号: TS245.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)17-0463-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110113



本文网刊:

Research Status of Isomaltooligosaccharides by Enzymatic Preparation

RUAN Shenghui¹, JIANG Caixia^{2,3}, LIU Xiaolan^{4,*}, ZHENG Xiqun^{1,2,3,*}

(1. College of Food Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

2. National Coarse Cereals Engineering Center, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;

3. Engineering Research Center of Processing and Utilization of Grain By-products and Utilization of Ministry of Education, Daqing 163319, China;

4. College of Food and Biological Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

Abstract: Isomaltooligosaccharides (IMOs) are recognized as functional food ingredients with prebiotic potential that deliver health benefits. IMOs have attained commercial interest as they are produced from low-cost agricultural products that are widely available and have prospective applications in the food industry. This paper focuses on the enzymatic production processes of IMOs, as well as its key technology research, including enzyme conversion, enzyme membrane bioreactors, enzyme immobilization and biocatalysis are analyzed. Moreover, the shortcomings of the existing technology are analyzed. Combined with modern biotechnology, the research direction of related enzyme technology in the field of industrial production of IMOs is prospected, which provide some reference for its industrialization development.

Key words: isomaltooligosaccharides; enzymatic preparation; production process; biotechnology

在全球范围内, 与饮食有关的非传染性疾病已成为增加死亡率和发病率的主要原因, 包括高血压、

糖尿病、肥胖和心血管疾病等, 因此消费者越来越注重健康, 并不断寻求对健康有益的食品^[1]。目前非消

收稿日期: 2022-11-14

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项 (2019ZX06B02-1); 黑龙江八一农垦大学研究生创新科研项目 (YJSCX2022-Y47)。

作者简介: 阮圣慧 (1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: ruanshenghui@163.com。

* 通信作者: 刘晓兰 (1962-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学, E-mail: liuxiaolan001@126.com。

郑喜群 (1963-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: zhengxiqun@126.com。

化性低聚糖如低聚果糖、低聚半乳糖、大豆低聚糖、异麦芽低聚糖、低聚木糖等可作为益生元,能有效促进体内有益菌的代谢和增殖,改善宿主健康^[2-3]。其中低聚异麦芽糖(Isomaltooligosaccharides, IMOs)作为具有益生元活性的碳水化合物更加受到人们高度关注。

IMOs 是一种不易被人体消化的葡萄糖基通过不规则连接构成的短链低聚糖^[4]。在食品体系中具有稳定性高,价格低,容易获得等优点^[5]。同时,IMOs 具有双歧因子特性,有助于激活免疫系统,刺激肠道蠕动,改善排便,降低总胆固醇水平,改善脂质代谢^[6-8],且其具有相对较高的安全性。OKU 和 NAKAMURA 团队^[9-10]证实人体对 IMOs 具有良好的耐受性,无任何短暂的渗透性腹泻或胃肠不适等不良症状出现。GRUBIC 等^[11]研究结果表明服用 IMOs 与等效剂量的葡萄糖安慰剂的受试者相比,在头痛、头晕、低血糖、疲劳或腹泻方面的结果无明显差异。

酶是一种可以高效控制特定化学反应的一种通用的生物催化剂^[12]。目前商品化的 IMOs,是先利用耐高温 α -淀粉酶将淀粉液化制备糊精,然后经 β -淀

粉酶和普鲁兰酶糖化得到麦芽糖,最后用 α -葡萄糖苷酶的转糖基化作用将麦芽糖转化为 IMOs^[13]。然而单酶催化因存在成本高、操作稳定性差、酶的再利用困难^[14]等缺点而限制其在工业生产 IMOs 中的应用,而生物技术的应用是克服其限制因素的有效手段。本文对近年国内外 IMOs 工业化生产相关酶修饰技术的研究进行了梳理,重点对酶法转化、酶膜生物反应器、酶固定化,生物催化技术的应用研究进行了总结,通过整合和比较分析,剖析现有技术的不足,利用现代酶技术的相关理论知识,结合 IMOs 特点对酶技术在该领域今后的研究趋势进行了展望,以期最大限度地使酶能够高效、循环多次地利用于 IMOs 的生产过程,从而降低食品工业制备 IMOs 成本,降低能耗,同时提高功能性结构的低聚糖的占比,增加产品的附加值,为其在工业生产 IMOs 的进一步应用研究提供参考。

1 低聚异麦芽糖的结构及类型

IMOs 是由 α -D-(1,6)糖苷键、 α -(1,4)糖苷键、少量的 α -(1,3)键或 α -(1,2)键连接的同源低聚糖^[15]。聚合度(Degree of polymerization, DP)为 2~10,其中 $DP \leq 2$ 为异麦芽糖, $DP \geq 3$ 为潘糖、异潘糖、异麦

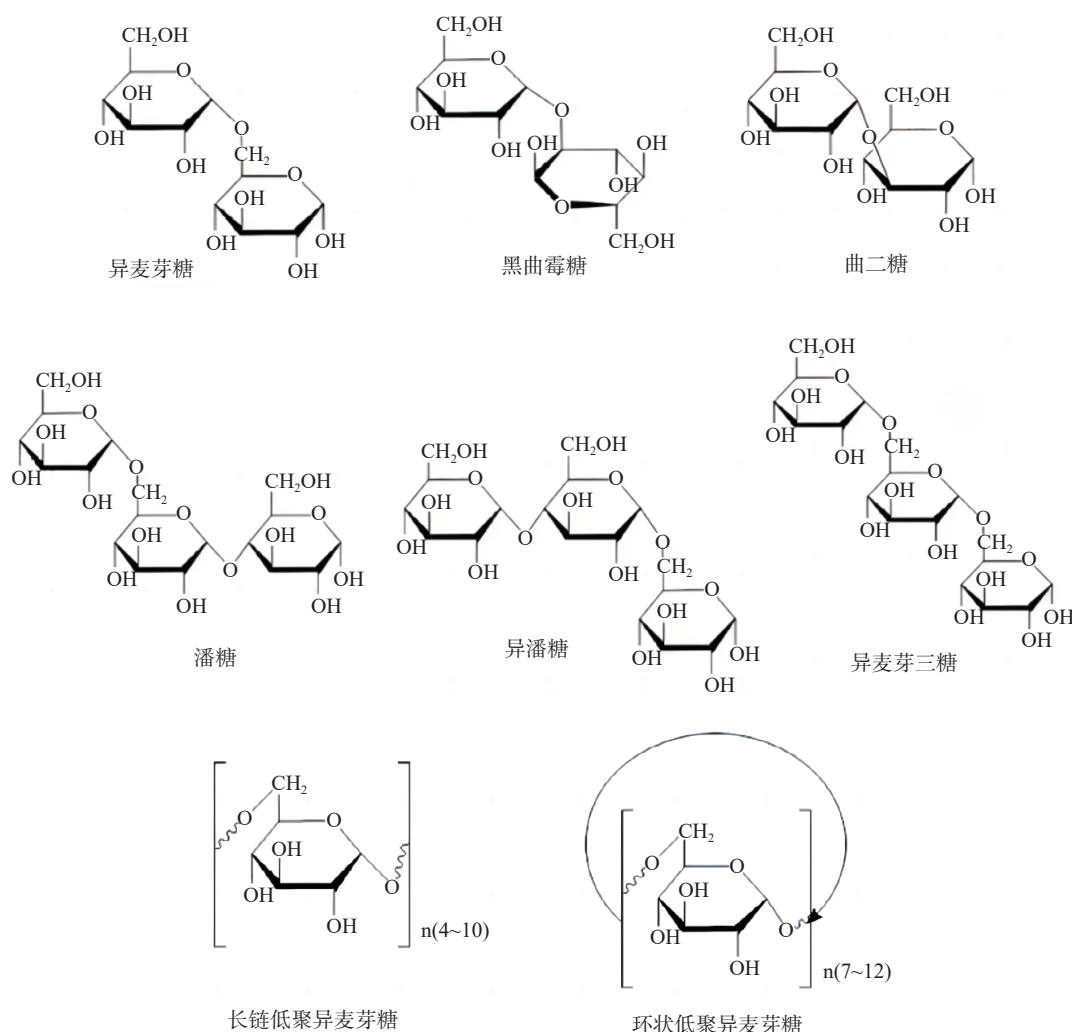


图1 IMOs的通用名称和化学结构

Fig.1 IMOs common names and chemical structures

芽三糖、黑曲霉糖、曲二糖、长链 IMOs 和环状 IMOs^[16-17](如图 1)。天然的 IMOs 存在于酱油、清酒、味噌、蜂蜜和发酵食品中,如泡菜和酵母面包^[10],商业化的 IMOs 主要利用淀粉制备而得。IMOs 具有低热值,促进肠道蠕动,改善便秘和脂质代谢等优点,多作为益生元、食品添加剂、饲料成分等被广泛应用^[18]。

IMOs 有 3 种类型,类型 I 是由 α -1,6 寡聚葡聚糖,通过 α -1,4 糖苷键连接到葡萄糖基上的线性链,被称为“6-O- α -异麦芽寡糖基-D-麦芽糖(IMOMs)”,即麦芽糖基-低聚异麦芽糖(MIMOs),主要包括异麦芽糖和潘糖,其中潘糖可作为三糖的代表,其同源物又被称为 PAN-型低聚糖;类型 II 则由线性 α -1,6 低聚糖组成,如异麦芽三糖(Isomaltotriose, IMT),通常被称为 IMT-型低聚糖;另外,还有以前两种类型为主链,葡萄糖的支链有 α -1,2、 α -1,3 或 α -1,4 连接的线性结构^[19],如曲二糖、黑曲霉糖。

2 低聚异麦芽糖的生产工艺

不同结构的 IMOs 对其在功能性食品工业中的应用至关重要。需要选择合适的生物催化剂,糖基受

体与供体的比例,调节聚合程度和产品中 α -(1,4)和 α -(1,6)糖苷键的比例^[20]。目前多以淀粉为原料,经酶法生产 IMOs^[21]。原料主要包括谷物淀粉(如玉米、大米、小麦等)和植物根部或块茎(如红薯、木薯、马铃薯等),以及从麦芽糖和葡聚糖中提取的淀粉水解物,因此生产 IMOs 的原料大多具有来源广泛且价格低廉的特点。

目前工业生产 IMOs 的研究主要集中在酶法转化和利用酶膜生物反应器、酶的固定化和生物催化^[22]等生物技术手段来提高 IMOs 的生产效率(如图 2)。

2.1 酶法转化

转移酶和水解酶家族的各种酶均可作用于不同底物生产 IMOs。水解酶家族中的 α -葡萄糖苷酶是工业生产 IMOs 的关键酶之一,其可通过与糖基直接连接部分进行水解反应或将糖基残基从活化供体转移到受体上进行催化糖基化反应^[23]。以淀粉为底物,通过来源于曲霉属 α -转葡萄糖苷酶(EC 2.4.1.24)的转苷作用,可大规模生产聚合度范围在 2~6 的 IMOs 产品^[24]。表 1 详细介绍了利用不同底物生产不同聚合度的 IMOs 产品所用的酶组合。

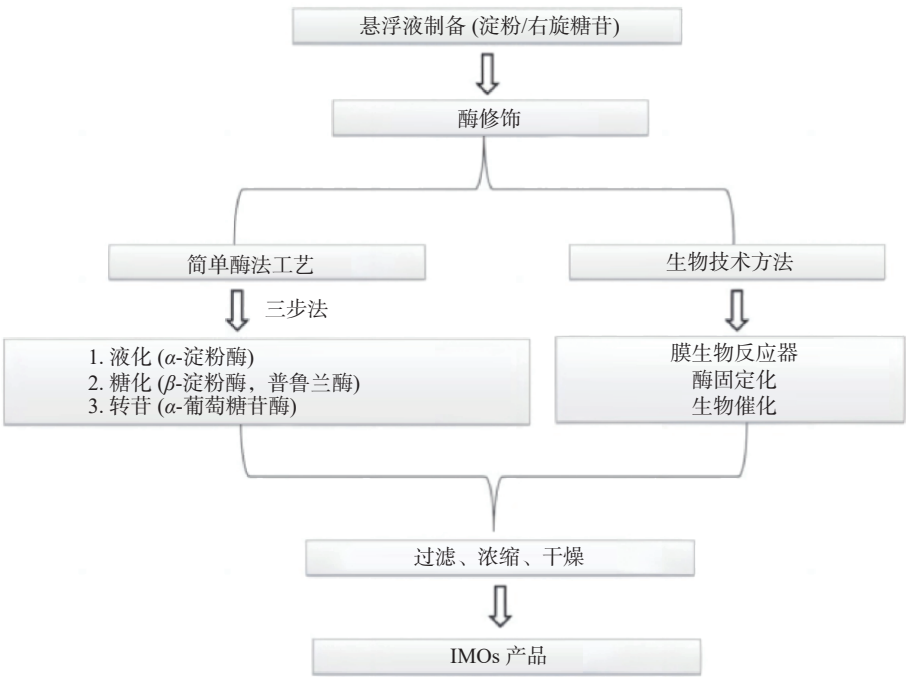


图 2 酶法生产低聚异麦芽糖的工艺流程^[22]

Fig.2 Enzymatic production scheme of isomaltooligosaccharides^[22]

表 1 生产不同聚合度低聚异麦芽糖用酶

Table 1 Different enzyme combinations utilized in the production of short and long-chain isomaltooligosaccharides

酶	底物	聚合度	参考文献
葡聚糖蔗糖酶	蔗糖与麦芽糖混合物	DP3~5	[31]
右旋糖酐蔗糖酶, 右旋糖酐酶	蔗糖	DP2~10	[28]
α -淀粉酶和 α -转葡萄糖苷酶	右旋糖酐	DP2~6	[32]
内切右旋糖苷酶	右旋糖酐	DP2~6	[33]
α -葡萄糖苷酶	麦芽糖	DP3~6	[34]
α -淀粉酶、麦芽糖 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、淀粉麦芽糖酶、普鲁兰酶、转化酶、 α -转葡萄糖苷酶	淀粉	DP2~5, >5	[24,26,35-36]
右旋糖苷葡萄糖基转移酶	右旋糖酐	DP>7	[16]

PAN 等^[25]利用 α -转葡萄糖苷酶和酵母菌生产出高纯度 IMOs, 结果表明酵母发酵可消耗反应体系中生成的葡萄糖, 提高 IMOs 的含量。LEE 等^[26]用来自嗜热脂肪芽孢杆菌(BSMA)的淀粉酶和来自海栖热袍菌的 α -葡聚糖转移酶(α -Gtase)同时使用较单酶能有效提高 IMOs 的产量。但传统酶法生产 IMOs 的主要缺点是需要进行多步骤处理, 例如糊化、液化和糖基化^[15]。为进一步简化工艺流程, 目前已有同时进行糖化和转糖基化或使用多种酶液生产 IMOs^[24-27]的相关研究。同时, 工程融合酶(重组酶)的应用也能够提升 IMOs 的产量^[28-29]。相关文献报道表明, 长链 IMOs(DP ≥ 10)才具有益生元活性, 可由淀粉麦芽糖酶和 α -转葡萄糖苷酶复配获得^[17,30]。多酶复配的优点是其具有高效性, 可减少酶负荷, 生产出不同聚合度的 IMOs 产品, 并能够运用在一步液化或糖化工艺中。此外, 还需对酶促反应动力学进行研究, 这样不仅能够科学利用酶法转化技术, 还利于深入剖析酶的调控机制。

2.2 酶膜生物反应器

酶膜反应器耦合了生物酶催化反应过程和膜分离过程, 溶质可通过膜上外加电场、化学势或压力从反应混合物中进行渗透分离^[37]。还可将生物催化, 产物的分离、浓缩和酶的回收等操作同时进行。近年来, 商品化的生物催化酶已经被广泛地投入到低聚糖制备的工业生产中, 而膜分离技术也在低聚糖的分离纯化阶段发挥着重要的作用。酶膜反应器在糖类制备中主要是用于制备淀粉糖, 右旋糖酐酶膜反应器的出现实现了长链 IMOs 的连续合成^[38]。这项技术可通过 10000 分子量截留单位的膜和改变酶与底物的比例对产品的分子量加以限制。GOULAS 等^[29]使用可回收的超滤膜反应器, 实现了 IMOs 的连续生产, 而 ZHANG 等^[6]则将 α -葡萄糖苷酶添加在超滤膜之间, 增加了 IMOs 透膜速率, 使 IMOs 的产量提高到 58.1%。

当前制备 IMOs 的酶膜反应器中, 所用酶主要以游离态形式存在。酶以游离态形式存在, 其反应条件会受到很大的限制, 虽然活性较高, 但稳定性差, 使酶膜体系不能够长期稳定地运行^[39]。相比于游离态的酶, 固定化酶的活性虽有所降低, 但其稳定性更有利于连续性操作, 也更利于放大化生产 IMOs。此外, 酶膜反应体系中, 膜仅靠孔径筛分分离分子尺寸差异较大的分子。但在 IMOs 的酶促反应中, 异构糖之间并不能通过简单的孔径筛分进行有效分离^[40]。为此可以利用手性分离膜原理将膜功能化, 使其具备分离异构体的功能, 同时作为固定化酶的载体, 这不仅能够缓解由产物抑制所导致的反应平衡, 还可以直接得到产物。

2.3 酶的固定化

酶催化在生产 IMOs 领域发挥着越来越重要的作用, 然而在实际工业生产中因酶的成本问题以及其自身存在最适 pH、最适温度等约束条件而限制了酶

的应用。酶固定化技术的运用则可提高酶的耐用性, 扩大酶的适用范围^[41]。相比游离酶, 固定化酶可以循环使用, 易于从反应体系中分离^[42], 另外, 固定化酶的稳定性通常高于游离酶, 有利于 IMOs 的连续高效生产^[43]。ZHANG 等^[44]以麦芽糖为底物, 将 α -转葡萄糖苷酶固定在海藻酸-壳聚糖-磷酸钙杂化胶囊中。经过固定化的 α -转葡萄糖苷酶在循环使用 15 次后, 酶活仍能保留 60%。BERTRAND 等^[33]右旋糖苷酶固定在对流相互作用介质中。结果表明固定化酶在高温下显示出良好的稳定性, 以及在使用 78 d 后酶活仍能保留 78%。重组酶的出现使 IMOs 生产过程中葡萄糖的生成量减少, 显著提高了 IMOs 的产量^[17]。来源于海栖热袍菌的麦芽糖转葡萄糖基酶和来源于嗜热脂肪芽孢杆菌的 α -淀粉酶共同在大肠杆菌中表达, 将 IMOs 的含量提高到 68%^[24], 这与传统的生产方法相比 IMOs 的含量高出 15%。但在固定化过程中可能存在一定的问题, 如酶活损失, 以及某些酶经固定化后底物特异性发生改变, 这可能与底物结合口袋的变化有关^[45-46]。为此, 可以对不同种类酶的反应条件选择合适的载体和固定化方法, 调控优化固定化条件, 这样更有利于运用固定化技术来实现 IMOs 的连续高效生产。

2.4 生物催化

生物催化是利用酶或者生物有机体(细胞、细胞器和组织等)作为催化剂进行化学转化的反应过程^[47]。全细胞催化作为生物催化技术的一个重要分支是在微生物细胞的作用下, 将某种底物转化成特定产物的过程, 其实质是生物体系中酶的催化作用^[48]。与传统的提取酶催化相比细胞自身就是一个天然的酶催化系统, 细胞内完整的多酶体系可以实现酶的级联反应^[49], 提高催化效率, 减少传统酶催化细胞裂解和蛋白质浓缩等步骤。不同于化学法和传统酶催化法, 全细胞催化法合成 IMOs 无需额外补充昂贵的辅因子, 也无需进行酶的纯化和分离, 可大大降低成本, 具有底物来源广、反应无污染、产物纯度高的优点^[50]。此外, 酶在其原生细胞质中冻干处理后将酶封闭在其原始构象中使得整个细胞可以回收重复利用, 具有较高的性价比^[51]。OJHA 等^[33]利用该技术将细胞与来自微小杆菌的 α -葡萄糖苷酶结合, 将麦芽糖转化为 IMOs, 其转化效率可达 58%。PAN 等^[25]利用酶转化与发酵的方法生产出低纯度的 IMOs, 而在此期间 OJHA 等^[33]和 RUDEEKULTHAMRONG 等^[17]则利用全细胞生物催化与复合酶技术作用于麦芽糖和麦芽三糖, 提高了 IMOs 的产量和纯度, 但所使用的产酶菌体则无法再次回收利用。而黑曲霉是一种丝状真菌具有产酶能力强, 菌体便于回收等特点, 是用于全细胞转化生产 IMOs 的理想菌种^[52-53]。因此, 可选择重复利用黑曲霉细胞生产 IMOs 将有利于进一步提高商品 IMOs 的纯度和增加 IMOs 的工业生产效率。

3 酶法制备低聚异麦芽糖现存问题

3.1 酶的特异性和底物选择性差异

尽管现有的一些新型酶已经用于 IMO 的生产,但仍存在一些不足之处。如底物的转化率低,转糖基化阶段所需时间长,以及酶的不合理使用^[27]。而且从不同植物、哺乳动物、昆虫、细菌和真菌中分离纯化获得的 α -葡萄糖苷酶,具有不同的底物选择性^[54]。以及无论是野生型还是由细菌或霉菌通过基因改造等方式获得的内切酶和外切酶作用不同底物产生 IMO 的速率和产量均有不同^[55]。根据对寡糖底物的水解方式可将葡萄糖苷酶分为外切(exo-)型与内切(endo-)型,根据底物特异性分为 3 类,Ⅰ型偏好水解多种异质底物(如蔗糖和芳基- α -葡萄糖苷);Ⅱ型在水解同质底物上更活跃(主要底物为麦芽糖、异麦芽糖),对异质底物的活性较低;Ⅲ型类似于Ⅱ型,但可水解长链底物(如多糖和淀粉)^[56]。这些因素决定了所生产的 IMO 的特异性、聚合度、连接序列和连接类型的差异。因此,研究不同来源的酶的性质和酶促反应进程为工业生产 IMO 有着重要的意义。

3.2 酶膜反应器性能的提升

酶膜反应器作为一种生产低聚糖的新型技术^[57],其独特的优点是在整个过程中反应可连续高效进行,产品中不含有酶,酶可回收再利用,对底物和产物的抑制性较小,生产成本低^[58]。然而,在目前的应用状态下也有一些亟待解决的问题,例如随着反应时间的延长酶的活力逐渐下降,催化性能和膜的传质性能也都会有所降低^[59],导致低聚糖的产量减少。目前,膜材料的不断发展使膜的功能也不断提高^[60-61],可以更好地解决酶活力损失、传质速度下降等各种问题,还可运用更加精准的反应分离设计^[62]、多酶协同催化^[63]等技术来提高酶膜反应器的性能。为此,研究相关酶的性质以及提高酶膜反应器的性能成为了 IMO 产业化面临的关键问题。

3.3 固定化酶技术的推广

目前,固定化酶具有理想的化学和物理性质,也可回收再利用,在高温下仍能保持良好的稳定性,反应 pH 范围广,最终产品不含有酶。然而,固定化酶运用于 IMO 的生产仅局限于实验室层面,难以大量生产高纯度的 IMO,也很难用于大规模的工业生产,其主要原因是生产成本较高。因此,研究简便易操作和降低载体成本的固定化酶技术对工业生产 IMO 至关重要。

3.4 全细胞生物催化技术的应用

当前全细胞生物催化在 IMO 的生产中取得了一定的成效,但其存在的不足是转化过程较为复杂,细胞的生长和底物的转化是同时进行的。细胞内的各种反应会产生许多副产物。若酶未结合在细胞表面上,还需要用化学或物理方法对酶进行处理。还会由于细胞膜的传质阻碍,使全细胞催化的效率降低。

因此,提高细胞催化剂的高效性及循环利用性,以及保证细胞体系较高的传质速率,对实现细胞催化从实验室走向工业化生产 IMO 有着重要的意义。

4 总结与展望

随着消费者对功能性食品的需求不断增加,与其他具有益生元作用的低聚糖相比,IMO 添加在不同食品中的潜在价值也更高。为了提高 IMO 的产量和生产效率,运用新的生物技术手段是必不可少的,使用这些生物技术方法来改进生产工艺,是将 IMO 的产量达到人们所预期的最大值的一个重要步骤。虽然现有的技术已有应用报道,但仍然存在许多因素限制了酶法制备 IMO 在食品工业中的应用。因此,需要进行更深入的研究来应对这些问题: a. 研究不同来源的酶的性质和酶促反应进程; b. 提高酶膜反应器的性能; c. 研究简便易操作和降低载体成本的固定化酶技术; d. 提高细胞催化的高效性及循环利用性,以实现细胞催化从实验室走向工业化。为此,一方面可在生物信息学和基因测序技术的帮助下,研究在自然界中不同来源的酶的性质。另一方面,还可对生产 IMO 的关键酶进行定向进化、合理设计以及计算机辅助对其更进一步的工程改造,以改变酶的活性、底物范围、最适 pH 等酶催化特性,从而获得具有最佳兼容性的工程酶。此外,新型膜材料的使用,多酶协同催化有利于酶膜反应器在工业生产 IMO 的发展。总的来说,随着酶工程的发展、酶催化机制的深入研究、新酶的探索及开发,酶技术在工业的应用潜力巨大,期望在未来的发展中,对于酶学方面做出更深入的研究,并结合生物技术、基因工程、蛋白质工程等将新技术的优势运用到工业中,以此来更好地解决在规模化工业生产 IMO 过程中所遇到的产量、时间、成本和资源等方面的问题。使用新型酶和利用酶膜生物反应器、酶的固定化和生物催化等生物技术手段将会在工业生产低聚糖领域取得更大的应用并发挥越来越重要的作用。

参考文献

- [1] BURGAIN J, GAIANI C, LINDER M, et al. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications[J]. *Journal of Food Engineering*, 2011, 104(4): 467-483.
- [2] GIBSON G R, ROBERFROID M B. Dietary modulation of the human colonie microbiota: introducing the concept of prebiotics[J]. *Journal of Nutrition*, 1995, 125(6): 1401-1412.
- [3] GIBSON G R, PROBERT H M, VAN LOO J, et al. Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics[J]. *Nutrition Research Reviews*, 2004, 17(2): 259-275.
- [4] GOFFIN D, DELZENNE N, BLECKER C, et al. Will isomaltoligosaccharides, a well-established functional food in Asia, break through the European and American market? The status of knowledge on these prebiotics[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2011, 51(5): 394-409.
- [5] GOURINENI V, STEWART M L, ICOZ D, et al. Gastrointestinal tolerance and glycemic response of isomaltoligosaccharides in healthy adults[J]. *Nutrients*, 2018, 10(3): 301.
- [6] ZHANG L, SU Y, ZHENG Y, et al. Sandwich-structured en-

- zyme membrane reactor for efficient conversion of maltose into isomaltooligosaccharides[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(23): 9144–9149.
- [7] WANG S, XIAO Y, TIAN F, et al. Rational use of prebiotics for gut microbiota alterations: Specific bacterial phylotypes and related mechanisms[J]. *Journal of Functional Foods*, 2020, 66: 103838.
- [8] LI J, TAN B, MAI K. Dietary probiotic *Bacillus* OJ and isomaltooligosaccharides influence the intestine microbial populations, immune responses and resistance to white spot syndrome virus in shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Aquaculture*, 2009, 291(1–2): 35–40.
- [9] INAMUDDIN, ABDULLAH ASIRI. Sustainable green chemical processes and their allied applications[M]. Berlin: Springer, 2020: 97–150.
- [10] OKU T, NAKAMURA S. Comparison of digestibility and breath hydrogen gas excretion of fructo-oligosaccharide, galactosylsucrose, and isomalto-oligosaccharide in healthy human subjects[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 57(9): 1150–1156.
- [11] GRUBIC T J, KREIDER R B, SOWINSKI R, et al. Glycemic and insulinemic response to ingestion of a novel food bar containing whey protein and isomalto-oligosaccharides[J]. *The FASEB Journal*, 2018, 32: 1b371–1b371.
- [12] 费瑞, 刘昌伟, 牛丽, 等. 酶及酶技术在茶叶深加工中的应用[J]. *食品与机械*, 2022, 38(6): 199–204. [FEI F, LIU C V, NIU L, et al. Application of enzyme and enzyme technology in deep processing of tea[J]. *Food and Machinery*, 2022, 38(6): 199–204.]
- [13] SORNDECH W, NAKORN K N, TONGTA S, et al. Isomalto-oligosaccharides: Recent insights in production technology and their use for food and medical applications[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 95: 135–142.
- [14] 肖鹭, 周锦涛, 刘振, 等. 固定化纳米酶的研究进展[J/OL]. *食品科学*. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220915.1719.002.html>. [XIAO L, ZHOU J T, LIU Z, et al. Research progress of immobilized nano-enzymes [J/OL]. *Food Science*. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220915.1719.002.html>.]
- [15] SORNDECH W, SAGNELLI D, BLENNOW A, et al. Combination of amylase and transferase catalysis to improve IMO compositions and productivity[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 79: 479–486.
- [16] FUJIMOTO Z, KISHINE N, SUZUKI N, et al. Isomaltoligosaccharide-binding structure of *Paenibacillus* sp. 598K cyclisomaltoligosaccharide glucanotransferase[J]. *Bioscience Reports*, 2017, 37(2): BSR20170253.
- [17] RUDEEKULTHAMRONG P, SAWASDEE K, KAULPIBOON J. Production of long-chain isomaltoligosaccharides from maltotriose using the thermostable amylomaltase and transglucosidase enzymes[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2013, 118(4): 778–786.
- [18] YEN C H, TSENG Y H, KUO Y W, et al. Long-term supplementation of isomalto-oligosaccharides improved colonic microflora profile, bowel function, and blood cholesterol levels in constipated elderly people-A placebo-controlled, diet-controlled trial[J]. *Nutrition*, 2011, 27(4): 445–450.
- [19] SHI Q, JUVONEN M, HOU Y, et al. Lactose-and cellobiose-derived branched trisaccharides and a sucrose-containing trisaccharide produced by acceptor reactions of *Weissella confusa* dextranucrase[J]. *Food Chemistry*, 2016, 190: 226–236.
- [20] HU Y, WINTER V, CHEN X Y, et al. Effect of acceptor carbohydrates on oligosaccharide and polysaccharide synthesis by dextranucrase DsrM from *Weissella cibaria*[J]. *Food Research International*, 2017, 99: 603–611.
- [21] KLAHAN P, OKUYAMA M, JINNAI K, et al. Engineered dextranase from *Streptococcus mutans* enhances the production of longer isomaltoligosaccharides[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2018, 82(9): 1480–1487.
- [22] PALANIAPPAN A, EMMAMBUX M N. The challenges in production technology, health-associated functions, physico-chemical properties and food applications of isomaltoligosaccharides[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021: 1–17.
- [23] CIRIC J, WOORTMAN A J J, LOOS K. Analysis of isoamylase debranched starches with size exclusion chromatography utilizing PFG columns[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 112: 458–461.
- [24] NIU D, QIAO J, LI P, et al. Highly efficient enzymatic preparation of isomalto-oligosaccharides from starch using an enzyme cocktail[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2017, 26: 46–51.
- [25] PAN Y C, LEE W C. Production of high-purity isomaltoligosaccharides syrup by the enzymatic conversion of transglucosidase and fermentation of yeast cells[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2005, 89(7): 797–804.
- [26] LEE H S, AUH J H, YOON H G, et al. Cooperative action of α -glucanotransferase and maltogenic amylase for an improved process of isomaltoligosaccharide (IMO) production[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50(10): 2812–2817.
- [27] BASU A, MUTTURI S, PRAPULLA S G. Production of isomaltoligosaccharides (IMO) using simultaneous saccharification and transglucosylation from starch and sustainable sources[J]. *Process Biochemistry*, 2016, 51(10): 1464–1471.
- [28] KIM Y M, SEO M Y, KANG H K, et al. Construction of a fusion enzyme of dextranucrase and dextranase: Application for one-step synthesis of isomalto-oligosaccharides[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2009, 44(3): 159–164.
- [29] GOULAS A K, FISHER D A, GRIMBLE G K, et al. Synthesis of isomaltoligosaccharides and oligodextrins by the combined use of dextranucrase and dextranase[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2004, 35(4): 327–338.
- [30] KAULPIBOON J, RUDEEKULTHAMRONG P, WAT ANASATITARPA S, et al. Synthesis of long-chain isomaltoligosaccharides from tapioca starch and an *in vitro* investigation of their prebiotic properties[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2015, 120: 127–135.
- [31] DEMUTH K, JORDENING H J, BUCHHOLZ K. Oligosaccharide synthesis by dextranucrase: new unconventional acceptors[J]. *Carbohydrate Research*, 2002, 337(20): 1811–1820.
- [32] DOLS-LAFARGUE M, WILLEMOT R M, MONSAN P F, et al. Reactor optimization for α -1, 2 glucoligosaccharide synthesis by immobilized dextranucrase[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2001, 75(3): 276–284.
- [33] BERTRAND E, PIERRE G, DELATTRE C, et al. Dextranase immobilization on epoxy CIM® disk for the production of isomaltoligosaccharides from dextran[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 111: 707–713.
- [34] OJHA S, MISHRA S, CHAND S. Production of isomaltoligosaccharides by cell bound α -glucosidase of *Microbacterium* sp[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 60(1): 486–494.
- [35] DUAN G, LI F, SHETTY J K, et al. Grain compositions containing prebiotic isomaltoligosaccharides and methods of making and using same[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 112: 605–611.
- [36] KUMAR C G, SRIPADA S, POORNACHANDRA Y. Status and future prospects of fructooligosaccharides as nutraceuticals[J]. *Role of Materials Science in Food Bioengineering*, 2018: 451–503.

- [37] 薛琳. 固定化聚半乳糖醛酸酶制备芒果皮果胶低聚糖及其抑菌活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2021. [XUE L. Pectic oligosaccharides from mango peel hydrolyzed by immobilized polygalacturonase and assessment of their antibacterial activities[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2021.]
- [38] SU Z, LUO J, SIGURDARDOTTIR S B, et al. An enzymatic membrane reactor for oligodextran production: Effects of enzyme immobilization strategies on dextranase activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 271: 118430.
- [39] 苏子然. 酶膜反应器生产均一分子量的寡聚右旋糖酐[D]. 北京: 中国科学院大学(中国科学院过程工程研究所), 2018. [SU Z R. Production of oligodextran by using an enzymatic membrane reactor[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences(Institute of Process Engineering, Chinese Academy of Sciences), 2018.]
- [40] 洪兰, 蒋尚昆, 刘美玲, 等. 酶膜反应器与手性分离膜在功能性糖生产中的应用展望[J]. 膜科学与技术, 2022, 42(2): 146–153. [HONG L, JIANG S K, LIU M L, et al. Application prospect of enzymatic membrane reactors and chiral separation membranes in functional sugars production[J]. *Membrane Science and Technology*, 2022, 42(2): 146–153.]
- [41] 张佳旭, 储子仪, 吴振华等. 固定化酶/细胞用于功能糖生物制造的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(16): 180–189. [ZHANG J X, CHU Z Y, WU Z, et al. Immobilized enzyme/cell for biomanufacturing of functional sugar: A review[J]. *Food Research and Development*, 2022, 43(16): 180–189.]
- [42] ZHOU Q, WANG Y, XIAO J, et al. Preparation and characterization of magnetic nanomaterial and its application for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 371: 323–331.
- [43] SIRISHA V L, JAIN A, JAIN A. Enzyme immobilization: An overview on methods, support material, and applications of immobilized enzymes[J]. *Advances in Food and Nutrition Research*, 2016, 79: 179–211.
- [44] ZHANG L, JIANG Y, JIANG Z, et al. Immobilized transglucosidase in biomimetic polymer-inorganic hybrid capsules for efficient conversion of maltose to isomaltooligosaccharides[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2009, 46(2): 186–192.
- [45] KAHAR U M, CHAN K G, SANI M H, et al. Effects of single and co-immobilization on the product specificity of type I pullulanase from *Anoxybacillus* sp. SK3-4[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 104: 322–332.
- [46] WALSH C T, MOORE B S. Enzymatic cascade reactions in biosynthesis[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(21): 6846–6879.
- [47] 张璟璐, 高兵兵, 何冰芳. 生物催化中的酶固定化研究进展[J]. 生物加工过程, 2022, 20(1): 9–19. [ZHANG J X, GAO P P, HE B F. Research progress of enzyme immobilized in biocatalysis[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering*, 2022, 20(1): 9–19.]
- [48] CHEN R. Enzyme and microbial technology for synthesis of bioactive oligosaccharides: An update[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2018, 102(7): 3017–3026.
- [49] 睦梁梁. 米曲霉/黑曲霉全细胞催化剂在造纸白水处理中的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016. [SUI L L. Treatment of whitewater in papermaking with whole-cells biocatalysts of *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.]
- [50] 王艺颖, 董钰漫, 尹伟, 等. 全细胞生物催化过程强化的研究进展[J]. 化学通报, 2020, 83(10): 875–882. [WANG Y Y, DOMG Y M, YI W, et al. Progress in the process intensification of whole-cell biocatalysis[J]. *Chemistry Bulletin*, 2020, 83(10): 875–882.]
- [51] ZHAO N, XU Y, WANG K, et al. Synthesis of isomaltoligosaccharides by *Pichia pastoris* displaying the *Aspergillus niger* α -glucosidase[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017, 65(43): 9468–9474.
- [52] 黄楠, 周波, 叶童, 等. 黑曲霉 H9-30 全细胞催化合成低聚异麦芽糖[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(10): 36–41. [HUANG N, ZHOU B, YE T, et al. Synthesis of isomaltoligosaccharides by whole-cell *Aspergillus niger* H9-30[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(10): 36–41.]
- [53] HUANG Z, LI Z, SU Y, et al. Continuous production of isomaltoligosaccharides by thermo-inactivated cells of *Aspergillus niger* J2 with coarse perlite as an immobilizing material[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2018, 185(4): 1088–1099.
- [54] FUJIMOTO Z, SUZUKI N, KISHINE N, et al. Carbohydrate-binding architecture of the multi-modular α -1, 6-glucosyltransferase from *Paenibacillus* sp. 598K, which produces α -1, 6-glucosyl- α -glucosaccharides from starch[J]. *Biochemical Journal*, 2017, 474(16): 2763–2778.
- [55] AUIEWIRIYANUKUL W, SABURI W, KATO K, et al. Function and structure of GH13_31 α -glucosidase with high α -(1→4)-glucosidic linkage specificity and transglucosylation activity[J]. *Febs Letters*, 2018, 592(13): 2268–2281.
- [56] 李林波, 王宝石, 张明霞, 等. α -葡萄糖苷酶高效合成低聚异麦芽糖的策略分析[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(21): 275–281. [LI L B, WANG B S, ZHANG M X, et al. Strategical analysis of high-efficient synthesis of isomaltoligosaccharides by α -glucosidase[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2021, 47(21): 275–281.]
- [57] 荣佳慧, 张卿尧, 韦浩, 等. 膜生物反应器研究及应用现状[J]. 黑龙江科技信息, 2015(7): 16. [SONG J H, ZHANG Q Y, WEI H, et al. Research on actuality of membrane bioreactor[J]. *Heilongjiang Science and Technology Information*, 2015(7): 16.]
- [58] GIORON L, DRIOLI E. Biocatalytic membrane reactors: Applications and perspectives[J]. *Trends in Biotechnology*, 2000, 18(8): 339–349.
- [59] 李永霞, 张小永, 黄洪媛, 等. 酶膜反应器及其应用[J]. 食品安全导刊, 2014(26): 76–78. [LI Y X, ZHANG X Y, HUANG H Y, et al. Enzyme membrane reactor and its application[J]. *China Food Safety Magazine*, 2014(26): 76–78.]
- [60] 李亚茹, 宋晓敏, 徐文彪, 等. 玉米秸秆全组分基复合膜材料的制备及性能研究[J]. 林产工业, 2022, 59(8): 9–16. [LI Y R, SONG X M, XU W B, et al. Preparation and performance study of corn stalk full-component base composite film material[J]. *China Forest Products Industry*, 2022, 59(8): 9–16.]
- [61] AGBOOLA O, FAYOMI O S I, AYODEJI A, et al. A review on polymer nanocomposites and their effective applications in membranes and adsorbents for water treatment and gas separation[J]. *Membranes*, 2021, 11(2): 139.
- [62] GAN G, FAN S, LI X, et al. Adsorption and membrane separation for removal and recovery of volatile organic compounds[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2022, 11(3): 19–22.
- [63] 黄文倩, 王迎夏, 田维圣, 等. 多酶催化级联反应在天然产物酶法合成中的应用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2023, 48(2): 336–348. [HUANG W Q, WANG Y X, TIAN W S, et al. Research progress on the application of multi-enzyme-catalyzed cascade reactions in enzymatic synthesis of natural products[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2023, 48(2): 336–348.]