

乙醇-异丙醇-水体系中 莱鲍迪甙 A 的溶解度与介稳区的测定

毛 娅¹, 徐程浩², 杨德建², 白 涛², 杨 军^{2,*}

(1. 四川化工职业技术学院, 四川泸州 646005;

2. 成都程德化工科技有限责任公司, 四川成都 610041)

摘要:采用动态稳定法测定了莱鲍迪甙 A(RA)在乙醇-异丙醇溶液中的溶解度和超溶解度曲线,探讨了溶剂组分变化等因素对莱鲍迪甙 A 在乙醇-异丙醇-水溶液中的溶解度影响,并利用多项式经验方程对溶解度及超溶解度与温度进行了关联。结果表明在 0~60 °C 范围内莱鲍迪甙 A 在乙醇-异丙醇-水溶液中的溶解度随温度的升高而增加,并随着异丙醇用量的增加而减小,且随着水用量比例的增加而增加;介稳区宽度在 4~7 °C,介稳区宽度则随温度的升高而减小;多项式经验方程关联误差小,为乙醇-异丙醇-水体系重结晶分离莱鲍迪甙 A 提供了重要的基础数据。

关键词:莱鲍迪甙 A, 溶解度, 超溶解度, 介稳区宽度, 多项式经验方程

Determination of solubility and metastable zone of Rebaudioside A in ethanol-isopropanol-water system

MAO Ya¹, XU Cheng-hao², YANG De-jian², BAI Tao², YANG Jun^{2,*}

(1. Sichuan Vocational College of Chemical Industry, Luzhou 646005, China;

2. Chengdu Cheng De Chemical Technology Co., Ltd., Chengdu 610041, China)

Abstract: The solubility and supersolubility curves of Rebaudioside A (RA) in ethanol-isopropanol-water system were determined using the dynamic stabilization method. The solubility of RA at the different composition of solvent was also measured. Furthermore, the polynomial empirical equation was used to correlate the experimental data. The results showed that the solubility of RA increased with the temperature in ethanol-isopropanol-water system and decreased with the increasing of isopropanol's proportion, furthermore, it increased with increasing of H₂O's proportion. Moreover, the metastable zone width decreased with the increasing of temperature from 0 to 60 °C. The metastable zone width was about 4 to 7 °C. The error of polynomial empirical equation was small and it provided essential data for the crystallization process of Rebaudioside A.

Key words: Rebaudioside A; solubility; supersolubility; metastable zone width; polynomial empirical equation

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)14-0093-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.14.018

莱鲍迪甙 A(RA)是一种天然、低热量、安全甜味剂。它从甜菊糖苷中提取制得,其甜度为蔗糖的 450 倍,而热值只有蔗糖的 1/300,在人体内不参与代谢、无蓄积性、无毒性,广泛应用于饮料、食品及医药行业,有“世界第三糖源”之称^[1-3]。由于 RA 与甜菊糖苷的其他组分的化学结构相似,故需要对 RA 分离纯化。高纯度 RA 可通过色谱分离^[4-7]、吸附剂吸附^[8-11]和重结晶^[12]等方法制备。其中,重结晶是工业生产中最常用方法之一,它利用 RA 和杂质组分在溶剂中溶解度的差异,进行结晶、重结晶分离,实现莱鲍迪甙 A 的纯化。而溶剂多采用低级脂肪醇,如甲醇、乙醇或异丙醇等,或是这些醇类溶剂与其他溶剂的混合溶剂^[13-17]。

乙醇-水作为溶剂在较低温度下能够结晶得到高纯度的 RA,并且由于其廉价、环境友好,而被作为结晶精制 RA 的常用溶剂。而使用异丙醇可有效除去有色杂质,可进一步提高 RA 纯度^[18],且与乙醇的极性相近。故以乙醇-异丙醇-水体系作为重结晶溶剂研究对象。

对于结晶方式选择和结晶条件的控制,首要的是了解晶体在溶剂中的溶解度、超溶解度以及相应的介稳区宽度。因此,研究和测定 RA 在乙醇-异丙醇-水体系中的溶解度、超溶解度和介稳区宽度具有重要的意义^[19-21],本文采用动态稳定法测定了 RA 在乙醇-异丙醇-水溶液中的溶解度和超溶解度曲线,计算出介稳区宽度,并以多项式经验方程对 RA 在乙

收稿日期: 2016-12-20

作者简介: 毛娅(1981-),女,大学本科,讲师,研究方向:分析化学, E-mail: 248294292@qq.com。

* 通讯作者: 杨军(1981-),男,博士,高级工程师,研究方向:工业结晶过程, E-mail: sohu_cn@163.com。

醇-异丙醇-水体系中溶解度进行了关联。

1 材料与方法

1.1 材料及仪器

莱鲍迪甙 A 实验室自制,纯度 $\geq 99\%$;乙醇、异丙醇 分析纯,成都科龙化工试剂有限公司;超纯水。

DC-4006 低温恒温槽 上海精密仪器仪表有限公司;夹套 MSMPR-500 mL 结晶器 成都市长征化玻有限公司;激光发射器、接收器、记录仪等 南京激光仪器厂;莱鲍迪甙 A 的溶解度和超溶解度的测试装置 如图 1 所示。

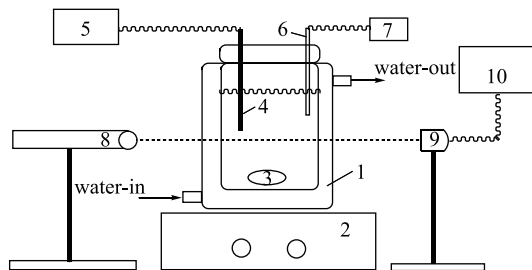


图1 溶解度、超溶解度测量实验装置图

Fig.1 The experimental equipment for solubility or supersolubility measurement

注:1:夹套 MSMPR 结晶器;2:磁力搅拌器;3:磁力转子;4:浊度计;5:浊度显示器;6:高精度数显温度计(精度 $0.01\text{ }^{\circ}\text{C}$);7:温度显示器;8:激光发射器;9:激光接收器;10:激光记录仪。

1.2 实验方法

1.2.1 RA 溶解度测试 向夹套 MSMPR 结晶器中加入 350.0 mL 溶剂,开启恒温槽调节溶液温度至预定温度,开启激光仪、浊度计,缓慢加入莱鲍迪甙 A,并准确记录溶质添加量,随着溶质的添加量逐渐增加,在一定温度和一定量的溶剂中,透射光强度逐渐减小,晶体散射和衍射效应越来越强,当电信号数值稳定时,即停止添加溶质,同时观察溶液浊度变化,所加溶质质量总和即为该温度下的溶解度。

在测试 RA 溶解度,还将涉及理论收率 Y_{th} 。理论收率是指 RA 从 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 饱和溶液降温到 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 所析出晶体的最大质量与 RA 在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 溶解度的比值,即

$$Y_{th} = \frac{S_{60} - S_0}{S_{60}} \quad \text{式(1)}$$

其中, S_{60} 为 RA 在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的溶解度, S_0 为 RA 在 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的溶解度。

1.2.2 异丙醇用量对 RA 溶解度的影响 对于乙醇-异丙醇-水体系,较高的温度有利于更多的 RA 的溶解,而较低的温度有利于更多的 RA 的析出。温差越大,产品收率越大。但温度太高,溶剂易挥发,能耗增加;温度太低,体系粘度增加,增加冷冻设备投资和分离难度。故 RA 在乙醇-异丙醇-水体系中溶解测试温度控制在 $0\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

固定乙醇与水体积比例为 $0.900:0.100$ (v/v),考察异丙醇用量(异丙醇占乙醇和水总体积的比例)为 $0.05\sim 0.20$ 时,RA 的溶解度。

1.2.3 乙醇与水比例对 RA 溶解度的影响 固定异

丙醇用量为 0.1 不变,考察乙醇与水比例 ($0.900:0.100$ 、 $0.925:0.075$ 、 $0.950:0.050$ 、 $0.975:0.025$) 对 $0\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下 RA 溶解度的影响。

1.2.4 RA 超溶解度测试 将莱鲍迪甙 A 在某一温度 T_s 下的饱和溶液加入结晶器中,为避免可能存在的晶核干扰,溶液初始温度高于饱和温度 $3\sim 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。开启低温恒温水浴,以 $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{h}^{-1}$ 速率降温,记录激光电信号和浊度变化,当记录数据出现突变拐点时确定此时溶液温度 T_s ,计算超溶解度和介稳区宽度。 T_s 温度下所对应的 RA 的溶解度即为 RA 的超溶解度。溶解度与超溶解度对应温度之差即介稳区宽度,即

$$W_{mz} = T_s - T_s \quad \text{式(2)}$$

其中, W_{mz} 为介稳区宽度, $^{\circ}\text{C}$; T_s 为 RA 溶解度对应的温度, $^{\circ}\text{C}$; T_s 为 RA 超溶解度对应的温度, $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.5 RA 溶解度-温度数据的关联 一般地,溶解度-温度数据可用相关方程将其关联。常用的溶解度-温度模型方程有 Apelblat 方程、理想溶液方程、 λh 方程、多项式经验方程等^[22-23]。从工业应用角度出发,固液平衡数据的拟合公式越简单越实用。本文采用多项式经验方程用于溶解度-温度数据的关联:假设溶解度由温度决定,并随温度连续变化,则溶解度与温度之间关系,可由多项式方程表示,见式(3)。

$$S = A + BT + CT^2 + DT^3 \quad \text{式(3)}$$

其中, S 为溶解度, $\text{g}/100\text{ mL}$ 溶剂; T 为体系温度, $^{\circ}\text{C}$; A 、 B 、 C 、 D 为方程参数。

1.3 数据处理

温度与溶解度、温度与超溶解度的关联采用 Origin 软件的多项式拟合功能处理。

2 结果与讨论

2.1 异丙醇用量对 RA 溶解度的影响

异丙醇与乙醇极性相近,并可进一步提高 RA 纯度。故考察异丙醇用量对 RA 溶解度的影响,实验结果见图 2。

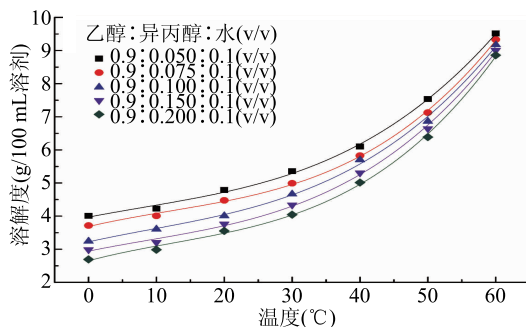


图2 不同异丙醇用量下莱鲍迪甙 A 的溶解度

Fig.2 Solubility of Rebaudioside A in solvent mixtures with different content of isopropanol

由图 2 可见,不同异丙醇用量下的莱鲍迪甙 A 的溶解度曲线是一组随体系温度升高而升高的曲线。溶解度随温度变化较大,符合采用冷却结晶的基本条件。以比例为 $0.900:0.100:0.100$ 的乙醇-异丙醇-水体系为例,若以冷却结晶方式分离 RA,体系

从 60 °C 降温到 0 °C 时, RA 的理论收率 Y_{th} 为 64.68%。

同时,随着异丙醇用量的增加,相应温度下的溶解度有所下降。异丙醇用量在 0.05~0.2 时,RA 的理论收率分别为 57.89%、60.19%、64.68%、66.85% 和 69.60%。异丙醇用量的增加,RA 的理论收率亦增加。这一表现与张扬^[15]的结果有相似之处,后续的实验选择异丙醇用量比例为 0.1。

2.2 乙醇与水比例对 RA 溶解度的影响

水的极性,是乙醇、异丙醇的 2 倍多,对 RA 的溶解度有较大影响,乙醇与水比例对溶解度影响的实验结果见图 3。

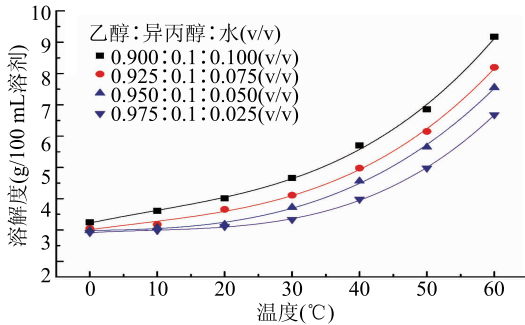


图3 不同乙醇与水比例下莱鲍迪甙 A 的溶解度

Fig.3 Solubility of Rebaudioside A atin solvent mixtures with different proportion of ethanol and H₂O

由图 3 可见,不同乙醇与水比例下的 RA 溶解度曲线是一组随温度升高而升高的曲线。随着水用量的增加,相应温度下的 RA 溶解度增加。如在 60 °C 下,当乙醇与水比例从 0.975:0.025 增加到 0.900:0.100 时,RA 的溶解度提高了 37% 左右。RA 的理论收率分别为 56.35%、60.51%、62.83% 和 64.68%,可见增加一定用水量,RA 的理论收率也有所增加;但有文献表明^[24]过多的水用量会增加 RA 析出难度,并不有利 RA 的结晶。

2.3 溶解度的多项式经验方程关联

测试溶解度数据与多项式经验方程的关联结果见于图 2 和图 3,图 2、图 3 中的曲线即为拟合曲线;回归数据见于表 1 和表 2。

从回归的结果看出,在温度区间 0~60 °C 范围内,无论是改变异丙醇用量或是乙醇与水的比例,温度与溶解度之间的关系都符合经验多项式关系,即回归关系高度显著:因为每一组的修正决定系数 R_{Adj}^2 非常接近于 1,并且每一组的 F 值都大于 $F_{0.01}(3, 3)$ ^[25],即 $F > F_{0.01}(3, 3)$ 。同时,值得注意的是经验方程中参数 A 的值与 0 °C 对应的溶解度值非常接近,这并不意味着参数 A 的物理意义是代表 RA 在 0 °C 的溶解度,这是因为文中使用的摄氏温度,当温度 $T = 0$ °C 时, $S = A$,并且式(3)里的 A、B、C、D 均为经验参数。

2.4 RA 在乙醇-异丙醇-水溶液中的超溶解度曲线

晶核并不是溶液一达到过饱和状态就立即出现,当过饱和溶液的过饱和度超过一定限度后才会开始析出晶核, Ostwald 称这种不稳定状态称为“不稳定区”,极限浓度曲线称为超溶解度曲线。溶解度曲线与超溶解度曲线之间的区域称为介稳区^[26]。介稳区理论对结晶过程是至关重要的,工业结晶往往需要制备平均粒度大而分布均匀的结晶产品,要避免自发成核,当过饱和度超过介稳区进入不稳定区时,溶液中就会自发成核,所以要将结晶过程控制在介稳区内进行,可以采用介稳区宽度描述介稳区。

图 4 表示降温速率为 5 °C·h⁻¹、搅拌速度为 200 r/min 条件下测得莱鲍迪甙 A 在乙醇-异丙醇-水(0.900:0.100:0.100 (v/v)) 溶液体系的超溶解度和介稳区。

从图 4 可以看出,RA 在乙醇-异丙醇水体系中的超溶解度随温度变化趋势和其溶解度的变化趋势一致,都随着温度的升高而升高。在 0~60 °C 的测试范围内,RA 在乙醇-异丙醇水体系的介稳区宽度在

表 1 不同异丙醇用量下溶解度的多项式经验方程的回归分析

Table 1 The analysis of regression polynomial empirical equation for the solubility in solvent mixtures with different content of isopropanol

乙醇:异丙醇:水(v/v)	A	B	C	D	R_{Adj}^2	$F_{0.01}(3,3)$	F 值
0.900:0.050:0.100	4.0332	0.0276	-1.3235E-4	1.9798E-5	0.9978		859.4051
0.900:0.075:0.100	3.7735	0.0313	-5.1096E-4	2.5308E-5	0.9982	29.457	1600.5723
0.900:0.100:0.100	3.3263	0.0256	-9.9344E-6	1.97513E-5	0.9964		591.7412
0.900:0.150:0.100	3.0260	0.0259	-1.4639E-4	2.2599E-6	0.9974		809.3655
0.900:0.200:0.100	2.8002	0.0262	-2.9784E-4	2.5361E-5	0.9962		886.8077

表 2 不同乙醇与水比例下溶解度-温度的多项式经验方程的回归分析

Table 2 The analysis of regression polynomial empirical equation for the solubility in solvent mixtures with different proportion of ethanol and H₂O

溶剂用量比例	A	B	C	D	R_{Adj}^2	$F_{0.01}(3,3)$	F 值
0.900:0.100:0.100	3.3263	0.0256	-9.9344E-6	1.97513E-5	0.9964		639.5257
0.925:0.100:0.075	3.0917	0.0138	1.096E-4	1.7709E-5	0.9970	29.457	757.5440
0.950:0.100:0.050	2.9671	0.0059	5.8602E-5	1.8503E-5	0.9981		1264.3236
0.975:0.100:0.025	2.9514	0.0051	-3.9469E-4	2.2353E-5	0.9992		3232.6995

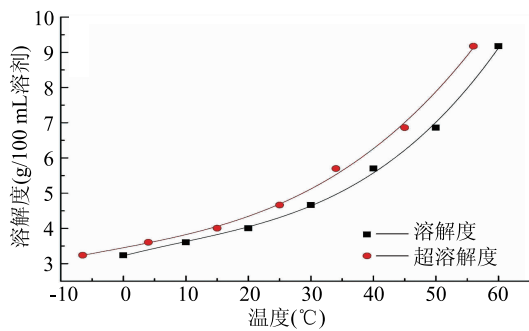


图4 莱鲍迪甙 A 在的乙醇-异丙醇水体系中的超溶解度

Fig.4 Supersolubility of Rebaudioside A in ethanol-isopropanol-water system

4~7 °C 左右,低温区的介稳区宽度要大于高温区宽度。通常认为温度升高,溶液黏度下降,溶质的扩散系数增加,分子的热效应加剧,使分子间的成核速率增大,有利于成核,进而介稳区变窄。

同时,RA 在乙醇-异丙醇水体系的超溶解度也符合多项式经验方程,结果如下:

$$S_s = 3.3520 + 0.0335T + 1.8608 \times 10^{-4}T^2 + 1.8314 \times 10^{-5}T^3 \quad \text{式(4)}$$

其中, S_s 为超溶解度, $g \cdot (100 \text{ mL 溶剂})^{-1}$ 。

3 结论

乙醇-异丙醇-水体系中莱鲍迪甙 A 在 0~60 °C 的溶解度与超溶解度的测定实验表明体系温度、溶剂组成对 RA 溶解度有显著影响:RA 溶解度随着温度的升高而增大,随异丙醇用量的增加降低,并随水用量的增加而增加。RA 介稳区宽度则随着温度的升高而变窄。而溶解度多项式经验方程能够有效预测 RA 的溶解度和超溶解度。

参考文献

[1] 王晓霞,王永胜,王涛,等.莱鲍迪甙 A 的提取及精制工艺进展[J].化学通报,2016,79(9):811-816.
 [2] 杨旭艳,路勇,胡国华,等.新型天然高倍甜味剂-莱鲍迪甙 A[J].中国食品添加剂,2012(s1):77-81.
 [3] 孙传范,李进伟.甜菊糖苷研究进展[J].食品科学,2010,31(9):338-340.
 [4] Kolb N, Herrera J L, Ferreyra D J, et al. Analysis of sweet diterpene glycosides from *Stevia rebaudiana*: improved HPLC method[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(10):4538-4541.
 [5] 李爱峰,孙爱玲,柳仁民,等.高效液相色谱-蒸发光散射测定甜菊糖中甜菊糖苷和莱鲍迪甙 A 的含量[J].食品工业科技,2011(4):373-375.
 [6] Shah R, De Jager L S, Begley T H. Simultaneous determination of steviol and steviol glycosides by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. Food Additives & Contaminants: Part A, 2012, 29(12):1861-1871.
 [7] Chiang C C, Evans J C, Hahn J J, et al. Separation of rebaudioside A from stevia glycosides using chromatography: U.S.

Patent 9,005,444[P].2015-4-14.

[8] 陈振斌,邱多隆,刘永峰,等.甜菊糖大孔吸附树脂吸附分离工艺条件的正交设计优化[J].应用化工,2011,40(6):945-948.
 [9] Chen Z, Wei X, Li J, et al. Preparative separation of Rebaudioside A from commercialized steviol glycosides by macroporous adsorption resins mixed bed [J]. Separation and Purification Technology, 2012, 89:22-30.
 [10] 叶发银,杨瑞金,华霄,等.大孔树脂 D392 对莱鲍迪甙 A 和甜菊苷吸附作用的研究[J].食品工业科技,2012,33(23):206-210.
 [11] Ye F, Yang R, Hua X, et al. Adsorption characteristics of rebaudioside A and stevioside on cross-linked poly(styrene-co-divinylbenzene) macroporous resins functionalized with chloromethyl, amino and phenylboronic acid groups [J]. Food Chemistry, 2014, 159:38-46.
 [12] Payzant J D, Laidler J K, Ippolito R M. Method of extracting selected sweet glycosides from the *Stevia rebaudiana* plant: U.S. Patent 5,962,678[P].1999-10-5.
 [13] 张亚雄,胡为民.甜菊糖中 A3 甙分离方法初探[J].中国食品添加剂,1998(4):48-49.
 [14] 马庆,许晓东,陆文通,等.一种常温下从甜菊糖中提取高纯度莱鲍迪甙 A 的方法:中国,CN102485736A[P].2012.
 [15] 张杨,陈天红,史作清,等.重结晶法分离精制莱鲍迪甙 A 的研究[J].离子交换与吸附,1998(6):515-520.
 [16] 刘杰.甜菊糖苷中莱鲍迪 A 苷的研究[D].无锡:江南大学,2010.
 [17] 丰雪.甜菊糖苷的提取及莱鲍迪甙 A 的分离纯化研究[D].南昌:南昌大学,2012.
 [18] Gasmalla M A A, Yang R, Hua X. Extraction of rebaudioside - A by sonication from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaf and decolorization of the extract by polymers [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(9):5946-5953.
 [19] 赵宏宇,顾正彪,程力,等.莱鲍迪甙 A 在甲醇-水体系中溶解度与超溶解度的测定[J].食品工业科技,2012,33(11):340-342.
 [20] 丁绪维,谈道.工业结晶[M].北京:化学工业出版社,1985.
 [21] 王静康.化学工程手册-结晶[M].北京:化学工业出版社,1996.
 [22] 周彩荣,徐敏强,石晓华,等.牛磺酸在无机盐水溶液中溶解度的测定与关联[J].化工学报,2011,62(3):611-617.
 [23] 苏奥,梁宝臣,陈慧.莱鲍迪甙 A 溶解度的测定与关联[J].应用化工,2013,42(10):1934-1937.
 [24] 赵宏宇.莱鲍迪甙 A 的结晶工艺及其结晶热力学研究[D].无锡:江南大学,2012.
 [25] 师义民,徐伟.数理统计[M].第3版.北京:科学出版社,2009.
 [26] 蔡志刚.莽草素钠盐蒸发结晶过程的研究[D].天津:天津大学,1999:17.