



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20150055

LX-T3 树脂对甜菊糖的吸附与洗脱性能研究

吕爱弟¹, 乔长晟¹, 楼鹏²

(1. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457; 2. 天津北洋百川生物技术有限公司, 天津 300457)

摘要: 通过静态吸附实验筛选出了吸附色素少且对甜菊糖分子的吸附量更大的一种型号为 LX-T3 的新型树脂. 对 LX-T3 树脂进行动态吸附实验, 研究了不同上样速率对吸附量、吸附率和解吸附率的影响以及不同浓度的乙醇-水溶液对解吸附率的影响. 结果表明: LX-T3 树脂对甜菊糖分子和色素分子具有很好的选择性; LX-T3 树脂对甜菊糖的静、动态吸附量均显著大于目前国内主要应用于提取分离甜菊糖的一些吸附树脂; 该新型树脂的最适上样速率为 2 mL/min, 用 60% 乙醇-水溶液洗脱, 解吸附率可达到 100%.

关键词: 大孔吸附树脂; LX-T3 树脂; 吸附量; 吸附率; 解吸附率

中图分类号: R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-6510(2016)01-0035-05

Adsorption and Desorption Behavior of LX-T3 Resin to Stevioside

LÜ Aidi¹, QIAO Changsheng¹, LOU Peng²

(1. College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2. Tianjin Beiyang Biotrans Biothce Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

Abstract: Through static adsorption experiments, a new type of resin named LX-T3 was screened out. It adsorbs not only less pigment but also more stevia. Dynamic adsorption experiments were conducted in order to study the effect of different sample rate on the adsorption quantity, adsorption rate and desorption rate as well as the effect of different concentration of ethanol-water to the desorption rate of LX-T3 resin. The results show that the LX-T3 has good differentiation between stevia molecules and pigment molecules. The adsorption capacity of LX-T3 is significantly larger than that of the major adsorption resins which are used in the extraction and separation of stevia currently. The optimum sample rate of LX-T3 is 2 mL/min. The desorption rate can reach 100% when the elution is with 60% ethanol-water solution.

Key words: macroporous adsorption resin; LX-T3 resin; adsorption quantity; adsorption rate; desorption rate

甜菊糖是从菊科植物甜叶菊中提取出来的一种高甜度、低热量的天然甜味剂, 其甜度为蔗糖的 200~300 倍^[1-2], 原产于南美洲, 现已被日本、巴西、中国等多个国家应用于食品、医药、化妆品等领域^[3]. 甜菊糖中共有 9 种甜味成分, 其中甜菊苷(简称 ST)占总苷的 55%~65%, 莱鲍迪苷 A(简称 RA)占总苷的 22%~28%^[4]. ST 的甜味强度是蔗糖的 250~300 倍, 但是其被人的嗅觉感知的速度比较慢且具有一定的后苦味, RA 的甜味强度是蔗糖的 350~450 倍, 甜度大且与蔗糖口感接近, 被认为是最理想的甜味剂^[5-6].

甜菊糖总苷的提取和纯化最常用的方法就是树脂吸附-洗脱法, 而生产工厂最常用的树脂就是 AB-8^[7]. 但是由于甜菊糖分子极性较大, 不易与色素分子分离, 所以树脂大量吸附甜菊糖分子时也会吸附大量的色素, 而对色素吸附量小的树脂对甜菊糖分子的吸附量也会减小. 这就加大了后续脱色树脂的压力. 大孔吸附树脂的孔径与比表面积都比较大, 在树脂内部具有三维空间立体孔结构, 具有物理化学稳定性高、比表面积大、吸附容量大、选择性好、吸附速度快、解吸条件温和、再生处理方便、使用周期长、宜于构成闭路循环、节省费用等诸多优点, 尤其适用于中草药

收稿日期: 2015-04-28; 修回日期: 2015-08-21

基金项目: 天津市科技支撑计划资助项目(14CZDNC00018)

作者简介: 吕爱弟(1989—), 女, 河北廊坊人, 硕士研究生; 通信作者: 乔长晟, 教授, qiaochangsheng@163.com.

有效成分如皂苷类、黄酮类、多酚类物质的分离纯化^[8-9]。因此,本文旨在寻找一种树脂,在保证吸附色素分子至少不增加的情况下加大对甜菊糖分子的吸附量。

1 材料与方法

1.1 材料

华众 AB-8 树脂、H-32 树脂,河北华众化工有限公司;大港 AB-8 树脂,天津市港源生物制品集团有限公司;LX-T3、LX-T6 树脂,西安蓝晓科技新材料股份有限公司;DM30 树脂,山东鲁抗立科药业有限公司;DA201-H、DA201-M 树脂,江苏苏青水处理工程集团有限公司。乙醇等其他试剂均为分析纯。

PP 聚丙烯树脂柱,上海锦华层析设备厂;数控计滴自动部份收集器,上海青浦沪西仪器厂;DHL-A 型电脑恒流泵、UV-1200 型紫外-可见分光光度计,上海第三分析仪器厂;Agilent 1200 系列高效液相色谱系统,安捷伦科技有限公司。

1.2 大孔吸附树脂的预处理方法

树脂先用 95% 乙醇浸泡 24 h,使之充分溶胀。湿法装柱,用纯净水以 20 mL/h 的流量通过树脂层,洗至流出液加等量水不变白色浑浊为止。用大量水洗净乙醇后,再用 2~3 倍树脂体积的 3%~5% 的 HCl 和 4%~6% 的 NaOH 交替处理,中间用水洗至中性,共反复 2~3 次,最后大量水洗涤至中性。树脂层面

上保持 2~5 cm 液体,以免干柱。

1.3 静态吸附量和静态吸附率的测定

选取各树脂厂提供的专门用于甜菊糖吸附的树脂通过静态吸附实验进行筛选。筛选方法^[10-11]:取大孔吸附树脂华众 AB-8、LX-T3、LX-T6、DM30、DA201-H、DA201-M、大港 AB-8、H-32(规格参数见表 1)各 2.5 g 于 200 mL 三角瓶中,加入甜菊叶水提第 1 遍和第 4 遍絮凝后的混合溶液 100 mL,置于摇床培养箱中吸附饱和,设置参数为 30 °C、120 r/min。

为了确定哪种树脂吸附速度更快,在静态吸附 2 h 时取样。为了确定各树脂的静态饱和吸附量和吸附率,当树脂吸附饱和后取样。解吸附后,取样。将所有样品进行高效液相色谱分析。按照面积归一化法和式(1)~式(4)计算静态饱和的吸附量、吸附率和解吸附率。

样品溶液的质量浓度 = 样品的峰面积 × 标准品的峰面积 / 标准品的质量浓度 (1)

吸附量 = (吸附前溶液的质量浓度 - 吸附后溶液的质量浓度) × 溶液体积 / 树脂质量 (2)

吸附率 = [(吸附前溶液的质量浓度 - 吸附后溶液的质量浓度) / 吸附前溶液的质量浓度] × 100% (3)

解吸附率 = [解吸附溶液的质量浓度 × 解吸附溶液的体积 / 树脂质量 / 吸附量] × 100% (4)

式中:溶液的质量浓度,mg/mL;溶液体积,mL;树脂质量,g;吸附量,mg/g;吸附率和解吸附率,%。

表 1 8 种大孔吸附树脂的规格参数

Tab. 1 Specifications and parameters of eight kinds of macroporous adsorption resins

树脂型号	水分/%	比表面积/(m ² ·g ⁻¹)	平均孔径/nm	极性	外观	孔容/(mL·g ⁻¹)
华众 AB-8	60~70	480~520	130~140	弱极性	乳白色半透明球体	0.73~0.77
LX-T3	0.649	874.54	64.29	弱极性	乳白色半透明球体	1.41
LX-T6	0.658 9	840.3	65.68	弱极性	乳白色半透明球体	1.38
DM30	65~75	500~520	120~130	弱极性	乳白色不透明球体	0.80~0.85
DA201-H	55~65	800	6~8	中极性	乳白色不透明球体	1.5~1.8
DA201-M	55~65	400	6~8	中极性	乳白色不透明球体	0.8~1.1
大港 AB-8	60~70	480~520	130~145	弱极性	乳白色半透明球体	0.75~0.77
H-32	65~75	500~550	100~120	中极性	乳白色半透明球体	0.82~0.85

1.4 动态吸附量和动态解吸附率的测定

1.4.1 不同的上样速率对吸附量和解吸附率的影响

量取 10 mL 湿树脂,湿法装柱于内径约为 10 mm 的交换柱中,然后以不同速度加入甜菊糖水溶液,使其以一定流量流经树脂床,连接自动部份收集器接收流出液,定时 4 min,直至达到泄漏点。再用 2~3 倍床体积的去离子水洗净树脂间隙的糖溶液,

分别用体积分数为 70% 的乙醇-水溶液以 2 mL/min 的流量进行洗脱。

1.4.2 不同体积分数的乙醇-水溶液对解吸附率的影响

量取 10 mL 在甜菊糖水溶液中吸附饱和的湿树脂,湿法装柱于内径约为 10 mm 的交换柱中,然后分别将不同浓度的乙醇-水溶液以 2 mL/min 的流量流经树脂床,连接自动部份收集器接收流出液,定时

4 min, 直至解吸附结束。

2 结果与讨论

2.1 LX-T3树脂与其他树脂的静态吸附比较

标准品 RA 和 ST 的高效液相色谱图如图 1 和图 2 所示。8 种大孔吸附树脂静态吸附的吸附量、吸附率和解吸附率比较结果见表 2。8 种大孔吸附树脂解吸附溶液 420 nm 下的吸光度结果见表 3。

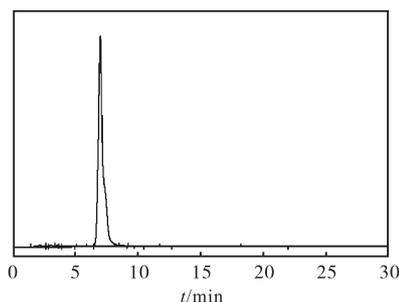


图 1 标准品 RA 的高效液相色谱图

Fig. 1 High performance liquid chromatography (HPLC) figure of standard RA

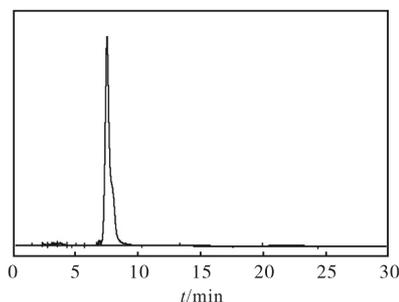


图 2 标准品 ST 的高效液相色谱图

Fig. 2 High performance liquid chromatography (HPLC) figure of standard ST

大孔吸附树脂的吸附性是范德华力或氢键作用的结果, 其吸附性能主要取决于吸附剂的表面性质(非极性、弱极性、中极性和极性)、树脂空间结构(孔径、孔容、比表面积等)以及化合物的性质(极性、空间结构等)。但当比表面积提高到一定程度时, 吸附量虽然随着比表面的增大而提高, 但变化不大。这说明比表面积不是影响吸附量的唯一因素。随着比表面积的增大, 树脂内微孔的平均孔径尺寸明显减小, 而甜菊苷和莱鲍迪苷 A 的分子尺寸又比较大, 故当平均孔径小至不能使吸附质分子顺利扩散至微孔内部时, 吸附就不能进行^[12]。

从表 2 可以看出, LX-T3、LX-T6 的吸附量比常用的 AB-8 树脂(大港 AB-8 树脂和华众 AB-8 树

脂)的吸附量大、吸附率高。这可能是因为, LX-T3、LX-T6 树脂的极性与甜菊糖分子的极性相近, 孔径与甜菊糖分子的分子尺寸相近, 且它们具有更大的比表面积, 因此吸附率更高。综合表 2 和表 3 可以看出, LX-T3 对甜菊糖分子和色素分子具有很好的选择性。

表 2 8 种大孔吸附树脂静态吸附的吸附量、吸附率和解吸附率比较

Tab. 2 Comparison of adsorption capacity, adsorption rate and desorption rate of eight kinds of resins in static adsorption

树脂名称	吸附量/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	吸附率/%	解吸附率/%
华众 AB-8	51.55 ± 1.03	79.36 ± 2.33	98.99 ± 1.22
LX-T3	65.04 ± 0.80	100.00 ± 1.26	100.00 ± 0.98
LX-T6	65.04 ± 0.70	100.00 ± 1.03	100.00 ± 0.76
DM30	63.57 ± 1.21	97.74 ± 2.86	98.43 ± 1.23
DA201-H	53.14 ± 2.05	81.81 ± 3.01	80.65 ± 2.34
DA201-M	41.65 ± 2.21	64.11 ± 2.89	76.89 ± 2.11
大港 AB-8	56.95 ± 2.76	87.61 ± 3.12	93.58 ± 2.23
H-32	63.78 ± 1.88	98.06 ± 1.29	97.27 ± 1.41

表 3 8 种大孔吸附树脂解吸附溶液的吸光度

Tab. 3 Absorbance values of desorption solution of eight kinds of macroporous adsorption resins

树脂型号	解吸附溶液的吸光度
华众 AB-8	0.035 ± 0.005
LX-T3	0.002 ± 0.002
LX-T6	0.006 ± 0.001
DM30	0.036 ± 0.006
DA201-H	0.045 ± 0.008
DA201-M	0.048 ± 0.007
大港 AB-8	0.079 ± 0.011
H-32	0.014 ± 0.003

由于 LX-T3、LX-T6 两种树脂的吸附量和吸附率都相同, 因此应该比较两者的吸附速率。表 4 列出了静态吸附 2 h 时的吸附量、吸附率和解吸附率。

表 4 LX-T3、LX-T6 树脂静态吸附 2 h 时的吸附量、吸附率和解吸附率

Tab. 4 Adsorption capacity and rate and desorption rate of LX-T3 and LX-T6 resins in the static adsorption at 2h

树脂名称	吸附量/ ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	吸附率/%	解吸附率/%
LX-T3	60.87 ± 0.09	93.62 ± 1.38	50.71 ± 1.11
LX-T6	60.13 ± 0.08	92.49 ± 1.21	50.38 ± 1.09

从表 4 看出, LX-T3 树脂比 LX-T6 树脂的吸附速度和解吸附速度要快。这可能是因为 LX-T3 树脂比 LX-T6 树脂的孔径更小一些, 恰好与甜菊糖分子的分子尺寸更接近一些, 且 LX-T3 树脂的比表面积

比 LX-T6 更大,因此吸附速度也要更快一些.

综上所述,通过静态吸附筛选出 LX-T3 树脂的饱和吸附量和解吸附率最大,同时吸附、解吸附速率也最快.

2.2 不同上样速率对动态吸附量、解吸附量、解吸附率的影响

上样速率对 RA、ST 的吸附量及总吸附量的影响如图 3 所示. 随着上样速率增大, RA、ST 的吸附量以及总吸附量均减小且趋势相同,但是减小的幅度不同:上样速率在 0.3 ~ 2 mL/min 间变化时,随着上样速率增大,吸附量迅速减小;而当在上样速率在 2 ~ 5 mL/min 间变化时,随着上样速率增大,吸附量减小但趋势减缓. 这是因为,流量越小,甜菊糖分子在树脂中停留的时间越久,接触越充分,也就越利于甜菊糖分子的吸附;相反,流量越大越不利于甜菊糖分子的吸附. 但由于上样速率太小会使操作周期延长,生产效率下降,因此,上样速率为 2 ~ 3 mL/min 时较为合适.

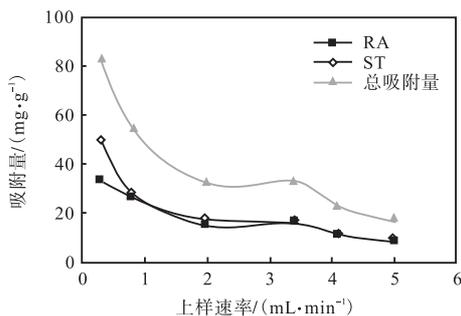


图 3 上样速率对 RA、ST 的吸附量及总吸附量的影响
Fig. 3 The influence of sample rate on the adsorption quantity of RA, ST and the total adsorption quantity

上样速率对 RA、ST 解吸附量及总解吸附量的影响如图 4 所示. 随着上样速率增大, RA、ST 的解吸附量以及总解吸附量均减小且趋势类似,但是减小的幅度不同:上样速率在 0.3 ~ 2 mL/min 间变化时,解吸附量较大,随着上样速率增大,解吸附量迅速减小;而当在上样速率在 2 ~ 5 mL/min 间变化时,随着上样速率增大,解吸附量减小但趋势减缓. 因此,从解吸附量方面衡量,上样速率为 2 ~ 3 mL/min 也较为合适.

上样速率对 RA、ST 解吸附率及总解吸附率的影响如图 5 所示. 随着上样速率增大, RA、ST 的解吸附率以及总解吸附率变化趋势类似,即都先增加然后趋于平稳(注:考虑到高效液相色谱仪器的误差,解

吸附率 $\geq 100\%$ 的按 100% 计). 从趋势图上看,上样速率为 2 mL/min 解吸附效果最好.

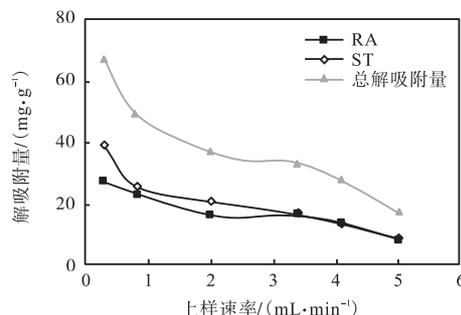


图 4 上样速率对 RA、ST 解吸附量及总解吸附量的影响
Fig. 4 The influence of sample rate on the desorption quantity of RA, ST and the total adsorption quantity

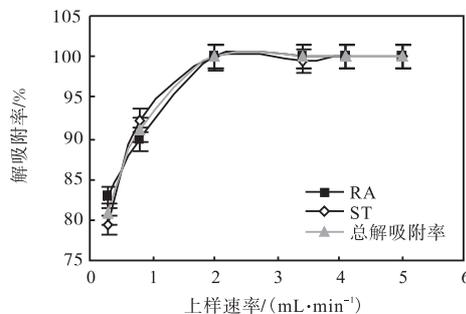


图 5 上样速率对 RA、ST 解吸附率及总解吸附率的影响
Fig. 5 The influence of the sample rate on the desorption rate of RA, ST and the total adsorption rate

综上所述,上样速率为 2 mL/min 时,无论是对于 RA、ST 单独的吸附量、解吸附量、解吸附率还是总的吸附量、解吸附量、解吸附率都较高. 因此,确定上样速率为 2 mL/min.

2.3 不同体积分数乙醇-水溶液对动态解吸附率的影响

由于 RA、ST 是甜菊叶中含量最多的成分,因此选择树脂时特别注重树脂对于这两种组分的吸附、解吸附能力. 不同体积分数乙醇-水溶液对 RA、ST 的解吸附率见表 5. LX-T3 树脂吸附饱和后,用 100% 乙醇解吸附时解吸附率不能达到 100%. 因此,进一步比较哪种体积分数的乙醇-水溶液解吸附效果最好时不用考虑 100% 的乙醇. 不同体积分数乙醇-水溶液解吸附结束时所用洗脱液的体积如图 6 所示. 从图 6 可以看出:60% 乙醇-水溶液解吸附时所用的洗脱液体积最小. 60% 乙醇-水溶液解吸附曲线如图 7 所示. 从图 7 可以看出,使用 60% 乙醇-水溶液时,洗脱峰集中,对称性好,无明显拖尾现象. 综上所述,

LX-T3树脂的解吸附选择体积分数为60%的乙醇-水溶液.

表5 不同体积分数乙醇-水溶液对RA、ST的解吸附率
Tab. 5 The desorption rate of RA and ST with different concentrations of ethanol-water solution

φ (乙醇-水溶液)/%	解吸附率/%	
	RA	ST
50	104.08 ± 3.01	102.20 ± 1.36
60	102.14 ± 1.08	100.95 ± 0.99
70	103.99 ± 2.89	100.02 ± 0.34
80	100.38 ± 1.27	95.72 ± 0.23
90	102.81 ± 1.11	104.50 ± 0.78
100	96.19 ± 1.45	84.74 ± 0.67

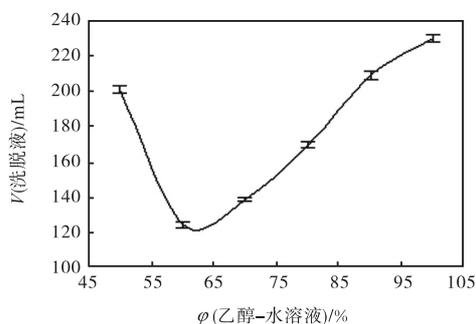


图6 不同体积分数乙醇-水溶液解吸附结束时所用洗脱液的体积

Fig. 6 The volume of different concentrations of ethanol-water solution at the end of the desorption

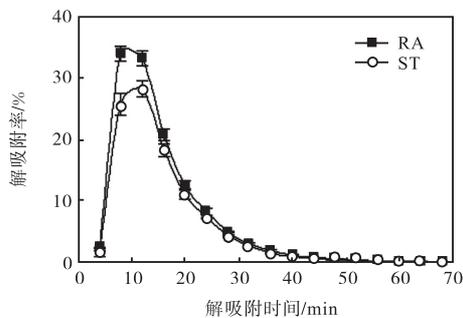


图7 60%乙醇-水溶液解吸附曲线

Fig. 7 The desorption curve of 60% ethanol-water solution

3 结论

LX-T3树脂是一种新型大孔吸附树脂,它对于甜菊糖的提取分离具有较为理想的极性、孔结构和比表面积. LX-T3树脂对甜菊糖的静、动态吸附量均显著大于目前国内主要应用于提取分离甜菊糖的一些吸附树脂. LX-T3树脂具有吸附速度快、解吸再生容

易等优点,是提取分离甜菊糖的理想吸附剂. 使用LX-T3树脂进行甜菊糖溶液的吸附时,确定上样速率为2 mL/min、解吸附溶液为60%的乙醇-水溶液时,解吸附率可达到100%.

参考文献:

- [1] Schiffman S S, Sattely-Miller E A, Bishay I E. Time to maximum sweetness intensity of binary and ternary blends of sweeteners[J]. Food Quality and Preference, 2007, 18(2): 405-415.
- [2] 胡献丽,董文宾,郑丹,等. 甜菊及甜菊糖研究进展[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(1): 36-38.
- [3] Prakash I, DuBois G E, Clos J F, et al. Development of rebiana, a natural, non-caloric sweetener[J]. Food and Chemical Toxicology, 2001, 46(7): 75-82.
- [4] 王飞生,叶荣飞,闵建. 甜菊糖苷的特性及应用[J]. 中国调味品, 2009, 34(10): 91-95.
- [5] Rajasekaran T, Ramakrishnal A, Udaya Sankar K, et al. Analysis of predominant steviosides in *Stevia rebaudiana* bertonii by liquid chromatography/electrospray ionization-mass spectrometry[J]. Food Biotechnology, 2008, 22(2): 179-188.
- [6] Das K, Dang R. Influence of biofertilizers on stevioside content in *Stevia rebaudiana* grown in acidic soil condition[J]. Applied Science Research, 2010, 2(4): 44-49.
- [7] 杨扬,陈社云,陈凯,等. 甜菊糖提取工艺进展及发展前景[J]. 中国食品添加剂, 2010(5): 194-199.
- [8] Zhang G W, He L, Hu M M. Optimized ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Prunella vulgaris* L. and evaluation of antioxidant activities in vitro[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2011, 12(1): 18-25.
- [9] Li J, Chen Z B, Di D L. Preparative separation and purification of rebaudioside A from *Stevia rebaudiana* Bertoni crude extracts by mixed bed of macroporous adsorption resins[J]. Food Chemistry, 2012, 132(1): 268-276.
- [10] 赵芳春,赵兵,黄云祥. 大孔吸附树脂纯化芦笋皂苷工艺优化[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 248-252.
- [11] 许怀德,陈佳,包蓉,等. 大孔吸附树脂分离纯化洋葱皮黄酮的研究[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 133-137.
- [12] 陈天红,张扬,史作清,等. 含酮基吸附剂对莱鲍迪苷A的吸附选择性研究[J]. 高分子学报, 1999(4): 398-403.

责任编辑: 郎婧