

乙醇沉淀与纳滤脱盐法制备葡萄糖酸的比较研究

马超婕¹, 欧仕益^{1*}, 周 华¹, 姚胜文¹, 吴泰钢¹, 曾永清², 何金银²

(1.暨南大学食品科学与工程系, 广东广州 510632;

2.广州市食品研究所有限公司, 广东广州 510663)

摘要:比较制备葡萄糖酸中两种脱盐方法。在葡萄糖酸钠与盐酸反应后,分别采用乙醇沉淀和纳滤脱盐制备葡萄糖酸的工艺。在研究葡萄糖酸钠与盐酸的料液比、乙醇的体积分数、静置时间等单因子对葡萄糖酸产率及脱盐效果影响的基础上,通过正交实验确定了乙醇沉淀法脱盐的最佳工艺条件:料液比1:2 g/mL、乙醇体积分数75%、静置时间24 h,葡萄糖酸产率最高达到61.09%,脱盐率为80.44%。纳滤(10 L溶液)脱盐的最佳工艺为:采用截留分子量150 u的纳滤膜(膜面积为0.25 m²),在0.3 MPa压力,温度30 ℃下浓缩110 min,葡萄糖酸的截留率为85.99%,膜通量为10.01 L/m²h,浓缩四次,脱盐率为78.66%。两种脱盐方法均有较高的脱盐率,纳滤脱盐法较乙醇沉淀法更好。

关键词:葡萄糖酸, 正交实验, 纳滤, 脱盐率

Removing salt by ethanol precipitation and nanofiltration to preparation gluconic acid

MA Chao-ji¹, OU Shi-yi^{1*}, ZHOU Hua¹, YAO Sheng-wen¹, WU Tai-gang¹, ZENG Yong-qing², HE Jin-yin²

(1.Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

2.Food Research Institute of Guangzhou, Co. Ltd., Guangzhou 510663, China)

Abstract:Two desalination methods were compared in preparation of gluconate. Ethanol precipitation and nanofiltration were respectively investigated to remove sodium chloride in the reaction mixture of sodium gluconate and hydrochloric acid. The optimal technology of ethanol precipitation was obtained by the orthogonal test. Effects of sodium gluconate to hydrochloric acid ratio, volume fraction of ethanol and incubation time on the yield of gluconic acid and desalination ratio were investigated under single factor test. The results showed that it yielded 61.09% of gluconic acid and removed 80.44% of salt under the following optimal condition; one part of sodium gluconate was reacted with 2 volume of HCl (in equimolar ratio), and then ethanol was added to 75% (final concentration) and incubated at room temperature for 24 h. The optimal nanofiltration (150 D molecular cut-off) technology was; 10.0 L solution was nanofiltrated at 0.3 MPa and 30 ℃ for 110 min. Under this condition, 85.99% of gluconic acid was recovered, 10.01 L/m²h of membrane flux was produced and 78.66% of salt was removed after nanofiltrated for four rounds. Two methods of desalination had high desalination rate, nanofiltration was better than ethanol precipitation.

Key words: gluconic acid; orthogonal test; nanofiltration; desalination ratio

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2015)20-0299-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.20.053

葡萄糖酸及其内酯是化工、食品、医药、轻工业等领域中重要的中间产物,在食品工业中主要用作酸味剂、营养补充剂、色调保持剂、蛋白质凝固剂、发酵剂等,在化工工业中主要用作塑化剂、去藻剂、防沉淀剂等^[1-4]。此外,近年来有研究发现葡萄糖酸对双歧杆菌的增殖有一定的作用。工业上一般采用发酵

法制得葡萄糖酸,然后用氢氧化钠进行中和,结晶葡萄糖酸钠,再用离子交换法获得葡萄糖酸。该法需要对树脂进行再生,且会产生大量废水。纳滤作为一种新型的膜分离技术,广泛用于海水淡化、超纯水制造的脱盐工艺^[5-6],本实验将葡萄糖酸钠与盐酸反应,初步研究了利用乙醇沉淀和纳滤脱盐制备葡萄糖酸的

收稿日期: 2014-10-29

作者简介: 马超婕(1991-),女,硕士研究生,研究方向:功能性食品, E-mail: 584480895@qq.com。

* 通讯作者: 欧仕益(1963-),男,博士,教授,研究方向:食品化学, E-mail: tosy@jnu.edu.cn。

基金项目: 广州市工程中心项目资助。

技术,以期为葡萄糖酸工业化生产提供理论依据及拓展纳滤在工业中的应用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

葡萄糖酸钠 广州市齐云生物技术有限公司;葡萄糖酸标准品(95%) 百灵威试剂;高效液相用水 华润怡宝食品饮料有限公司;盐酸、硫酸、无水乙醇、丙酮 均为分析纯。

LC-20AT高效液相色谱仪 日本岛津公司;contrAA700原子吸收分光光度计 德国耶拿公司;聚砜纳滤膜 无锡超滤设备厂;纳滤机 无锡超滤设备厂;RE-52AAA旋转蒸发器 上海嘉鹏科技有限公司;0.45 mm微孔滤膜 天津津腾实验有限公司;恒温水浴锅 江苏金坛宏华仪器厂;SHA-B型恒温振荡器 江苏金坛宏华仪器厂。

1.2 葡萄糖酸的制备

称取一定质量的葡萄糖酸钠,加入一定体积浓度为3 mol/L的盐酸,50 °C下反应4 h,采用乙醇或纳滤脱盐,常温静置24 h,上清液用HPLC检测葡萄糖酸含量,用原子吸收测定钠离子。

1.3 乙醇沉淀法脱盐

1.3.1 工艺流程 如下:

葡萄糖酸钠+盐酸(3 mol/L) $\xrightarrow{50\text{ }^{\circ}\text{C}, 4\text{ h}}$ 葡萄糖酸+氯化钠 $\xrightarrow{+乙醇}$ $\left\{ \begin{array}{l} \text{HPLC检测葡萄糖酸} \\ \text{原子吸收测定钠离子} \end{array} \right.$

1.3.2 单因素实验设计

1.3.2.1 料液比的确定 制备葡萄糖酸的过程中,选取乙醇体积分数70%,静置时间24 h,考察葡萄糖酸钠与盐酸料液比1:2、1:3、1:4、1:5 g/mL对葡萄糖酸产率和脱盐率的影响。

1.3.2.2 乙醇体积分数的确定 选取葡萄糖酸钠与盐酸料液比1:2 g/mL,静置时间24 h,考察乙醇体积分数60%、65%、70%、75%、80%、85%对葡萄糖酸产率和脱盐率的影响。

1.3.2.3 静置时间的确定 选取葡萄糖酸钠与盐酸料液比1:2 g/mL,乙醇体积分数为75%,考察静置时间8、16、24、32、40 h对葡萄糖酸产率和脱盐率的影响。

1.3.3 正交实验设计 在单因素实验基础上,以葡萄糖酸产率、脱盐率的综合评分为指标,料液比、乙醇体积分数、静置时间为单因子,设计三因素三水平正交实验表,确定最佳的工艺条件,见表1。

表1 正交因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素		
	A 料液比(g/mL)	B 乙醇体积分数(%)	C 静置时间(h)
1	1:2	70	16
2	1:3	75	24
3	1:4	80	32

1.4 纳滤脱盐

1.4.1 工艺流程 如下:

葡萄糖酸钠+盐酸 $\xrightarrow{50\text{ }^{\circ}\text{C}, 4\text{ h}}$ 葡萄糖酸+氯化钠 $\xrightarrow{\text{纳滤}}$ $\left\{ \begin{array}{l} \text{HPLC测定葡萄糖酸} \\ \text{原子吸收测定钠离子} \end{array} \right.$

1.4.2 单因素实验设计

1.4.2.1 纳滤压力的确定 纳滤脱盐过程中,纳滤温度30 °C,纳滤时间110 min,研究了不同压力0.05、0.15、0.30、0.45、0.60 MPa对葡萄糖酸截留率、膜通量的影响。

1.4.2.2 纳滤温度的确定 纳滤脱盐过程中,设置纳滤机压力0.3 MPa,纳滤时间110 min,研究不同温度18、25、30、40、50 °C对葡萄糖酸截留率、膜通量的影响。

1.4.2.3 纳滤时间的确定 纳滤脱盐过程中,设置纳滤机压力0.3 MPa,纳滤温度30 °C,研究不同时间30、50、70、90、110、130、150、180 min对葡萄糖酸截留率、膜通量的影响。

1.4.3 正交实验设计 在单因素实验结果基础上,以葡萄糖酸截留率、膜通量的综合评分为指标,温度、时间、压力为因子进行正交实验,因素水平见表2。

表2 正交因素水平表

Table 2 Factors and levels of orthogonal test

水平	因素		
	A 温度(°C)	B 时间(min)	C 压力(MPa)
1	18	90	0.05
2	25	110	0.15
3	30	130	0.30

1.5 葡萄糖酸的检测

采用HPLC法测定葡萄糖酸含量。

葡萄糖酸标准曲线的制作:称取0.1 g葡萄糖酸标准样品,用1.25 mmol/L硫酸定容至10 mL,得到10 mg/mL的标准溶液,再用标准溶液配制成以下浓度的溶液:1、2、4、6、8、10 mg/mL(1.25 mmol/L硫酸配制),0.45 mm滤膜过滤,用HPLC测定葡萄糖酸含量^[7-9],以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线,得到葡萄糖酸线性回归方程: $y=492780x-77818$ ($R^2=0.9937$),葡萄糖酸在1~10 mg/mL内呈良好的线性关系。葡萄糖酸产率按下列公式计算:

葡萄糖酸产率(%)=测定的葡萄糖酸产量/理论的葡萄糖酸产量×100

1.6 色谱条件

色谱柱ZORBAX SB-Aq(4.6 mm×250 mm,5 mm),流动相:0.00125 mol/L硫酸,检测波长210 nm,流速0.2 mL/min,柱温:30 °C,进样量:5 mL,所有实验重复两次。

1.7 钠含量的测定

采用原子分光光度计测定溶液中的钠离子。

1.8 指标的计算

Y_1 综合评分=葡萄糖酸产率+脱盐率。

Y_2 综合评分=葡萄糖酸截留率+膜通量。

$$\text{葡萄糖酸截留率}(R, \%) = \frac{C_r V_r}{C_f V_f} \times 100$$

式中, C_r 和 C_f 为截留液和原液的葡萄糖酸浓度(mol/L), V_r 和 V_f 为截留液和原液的体积(L)。

$$\text{膜通量}(L/m^2 \cdot h) = \frac{V_t}{t \cdot A_p}$$

式中, V_t 为 t 时刻透过液的体积(L), A_p 为膜面积(m^2)。

$$\text{脱盐率}(\%) = \frac{C_1 V_1}{C_2 V_2} \times 100$$

式中, C_1 和 V_1 为截留液和原液盐的浓度(mol/L), V_1 和 V_2 为截留液和原液的体积(L)。

2 结果与分析

2.1 乙醇沉淀法脱盐单因素实验

2.1.1 料液比 由图1可知,随着盐酸的增加,葡萄糖酸产率逐渐增加,料液比1:2 g/mL时葡萄糖酸产率为31.54%,料液比1:5 g/mL时葡萄糖酸产率为44.1%,料液比越高,表明酸含量越高,葡萄糖酸钠与盐酸反应是可逆反应,增加酸的浓度,促使反应向右进行,所以酸的增加促进葡萄糖酸产率的增加。但是酸含量过高,导致pH过低,对高效液相柱、工厂设备产生腐蚀,不利于工厂设备的长期生产;此外,脱盐率随着料液比的增加而增加,但趋势缓慢($p > 0.05$)。综上,选择1:2 g/mL溶剂用量少,生产成本低,利于后续生产。此时葡萄糖酸产率达到30.97%,脱盐率为43.78%。

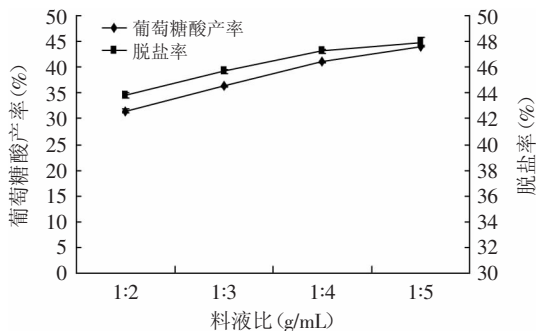


图1 葡萄糖酸钠与盐酸料液比对葡萄糖酸产率及脱盐率的影响
Fig.1 Effect of sodium gluconate to hydrochloric acid ratio and desalination ratio on the yield of gluconic acid

2.1.2 乙醇体积分数 由图2可知,随着无水乙醇体积分数的增加,葡萄糖酸产率先增加后减少。葡萄糖酸溶于水,微溶于乙醇,葡萄糖酸钠与盐酸的化学反应是可逆反应,由于乙醇的含量高,生成的葡萄糖酸快速溶于乙醇溶液中,促使反应向右进行,这样葡萄糖酸产率升高,但是乙醇溶液中葡萄糖酸含量高,会使葡萄糖酸与乙醇发生酯化反应,这样使得葡萄糖酸产率下降。所以葡萄糖酸产率先升高后下降,在75%达到最高值。

此外乙醇脱盐率随乙醇体积分数的增加先上升后下降,在体积分数75%时达到最高脱盐率69.09%。综合考虑,选择体积分数为75%的无水乙醇作为沉淀剂,此时葡萄糖酸产率达到49.65%,脱盐率为69.09%。

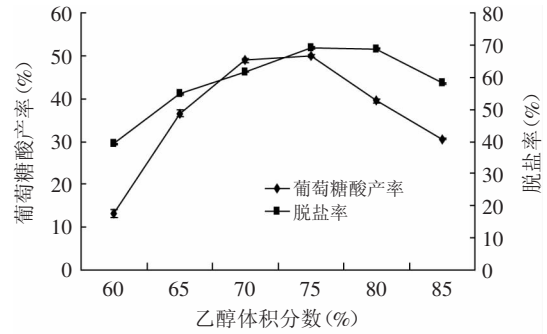


图2 无水乙醇体积分数对葡萄糖酸产率及脱盐率的影响
Fig.2 Effect of volume fraction of ethanol on the yield of gluconic acid and desalination ratio

2.1.3 静置时间 由图3可知,在8~24 h,葡萄糖酸产率随静置时间的延长而增加,在24~40 h,产率略有下降。时间越长,葡萄糖酸钠与盐酸反应越彻底,这样生成的葡萄糖酸越多,但静置时间过长,溶液中的乙醇与葡萄糖酸反应,生成酯类,导致葡萄糖酸产率降低。所以葡萄糖酸产率随时间的增加先上升后降低。而脱盐率随着静置时间的增加先增加后呈平缓趋势,时间越长,反应达到平衡。综合考虑,选择24 h作为最佳静置时间,此时葡萄糖酸产率达到最高值52.24%,脱盐率为68.09%。

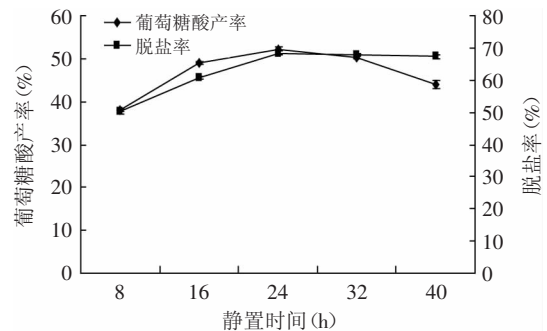


图3 静置时间对葡萄糖酸产率及脱盐率的影响
Fig.3 Effect of incubation time on the yield of gluconic acid and desalination ratio

2.2 正交实验

由表3、表4得知,影响葡萄糖酸产率的主次因素为:乙醇体积分数>静置时间>料液比,最佳的工艺条件是 $A_1 B_2 C_2$,即葡萄糖酸钠与盐酸料液比为1:2 g/mL,乙醇体积分数为75%,静置时间为24 h,恰为九组正交实验中的第二组,此时综合评分为141.53,葡萄糖酸产率为61.09%,脱盐率为80.44%。

2.3 纳滤单因素实验

2.3.1 纳滤温度 图4的结果表明,压力0.3 MPa,时间110 min时,温度对葡萄糖酸截留率及膜通量有一定影响,温度较低时截留率低,30℃达到最高值86.22%,温度再增加截留率变化不大。一般来说,温度升高,溶质和溶剂的通量均增加,截留率取决于溶质和溶剂通量增加程度的多少,若溶剂通量的增加量大于溶质通量的增加量,则截留率增加,反之则减少。膜通量随温度的升高一直呈上升趋势,在18~30℃

表3 正交实验结果

Table 3 The result of orthogonal test

实验号	A 料液比	B 体积分数	C 静置时间	综合评分 Y_1
1	1	1	1	121.79
2	1	2	2	141.53
3	1	3	3	119.52
4	2	1	3	118.09
5	2	2	1	136.56
6	2	3	2	126.17
7	3	1	2	118.01
8	3	2	3	131.92
9	3	3	1	118.8
K_1	127.61	119.30	125.72	
K_2	126.94	136.67	128.57	
K_3	122.91	121.50	123.18	
R	4.70	17.37	5.39	

表4 实验方差分析

Table 4 Variance analysis of the data from the orthogonal test

因素	偏差平方和	自由度	F值	显著性
A 料液比(g/mL)	19.08	2	15.03	
B 体积分数(%)	396.28	2	36.73	*
C 静置时间	21.66	2	18.11	
误差	19.08	2		

注: $F_{0.05}$ 临界值=19.00。

增速较大,但在30~50℃,膜通量缓慢增加,没有很大的提升,温度升高可以增加扩散系数^[10]。综合考虑耗能和生产成本,选择纳滤温度为30℃。

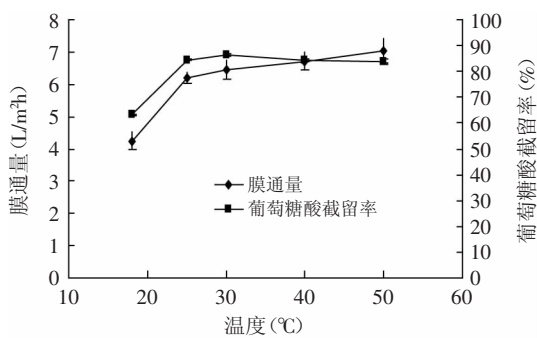


图4 温度对葡萄糖酸截留率及膜通量的影响

Fig.4 Effect of temperature on the retention rate of gluconic acid and permeate flux

2.3.2 纳滤时间 图5可知,在压力0.3 MPa,温度30℃下,葡萄糖酸截留率随时间的增加而降低,下降趋势很缓慢。膜通量随着时间延长呈衰减趋势,可能是由于后期膜被污染,截留液浓度增大,浓差极化程度加重,导致膜通量下降^[11-13]。随着浓缩时间的增加,浓缩系数升高,但耗能较大,综合考虑耗能与生产成本,选择110 min为最佳浓缩时间,此时膜通量为4.94 L/m²·h,葡萄糖酸截留率为84.66%。

2.3.3 纳滤压力 图6可知,温度30℃时间110 min时,压力对葡萄糖酸截留率有影响,随着压力的增大,葡

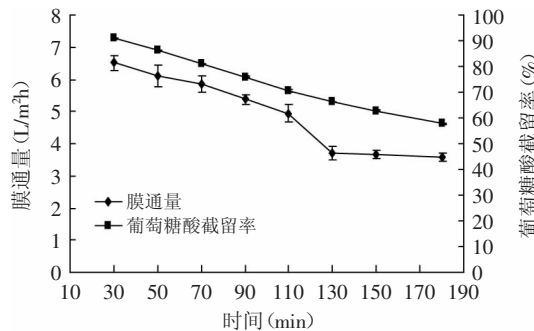


图5 时间对葡萄糖酸截留率和膜通量的影响

Fig.5 Effect of time on the retention rate of gluconic acid and permeate flux

萄糖酸截留率先增加后减少,在0.3 MPa达到最高,这是因为料液的浓度一定,随着纳滤压力的增加,膜表面溶质浓度增加,溶剂通量也增加,而溶剂通量的影响大于溶质通量,综合考虑,选择0.3 MPa,此时葡萄糖酸截留率为85.99%。

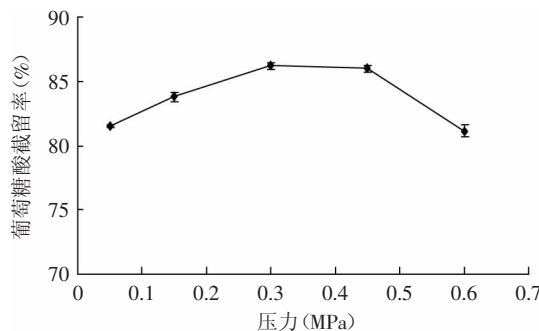


图6 压力对葡萄糖酸截留率的影响

Fig.6 Effect of pressure on the retention rate of gluconic acid

由于过低的压力膜通量流量过低,不利于生产的需要,所以未对0.05 MPa进行研究。图7可知,在温度30℃,时间110 min下,不同压力的膜通量随时间的增加呈下降趋势,压力0.6 MPa时,膜通量大幅度衰减;压力0.45 MPa时,膜通量从30 min的13.32 L/m²h到110 min的9.6 L/m²h,衰减了28%;压力0.3 MPa膜通量从30 min的6.52 L/m²h到110 min的14.94 L/m²h,衰减了24%;压力0.15 MPa,膜通量从30 min的1.56 L/m²h到110 min的1.00 L/m²h,衰减趋势较平缓,说明压力越大,膜通量衰减的程度越大,由于生产需要膜通量

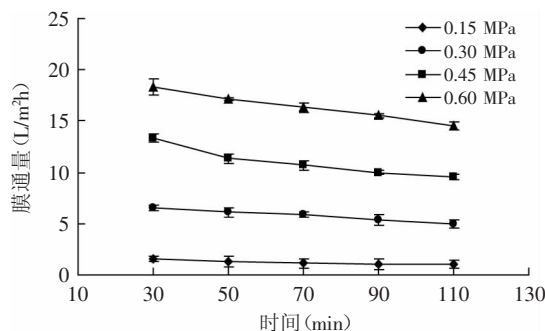


图7 不同压力下膜通量随时间的变化

Fig.7 Change in flux during nanofiltration at different pressure

衰减程度较低的压力,但是过低的压力不能满足工厂生产要求^[14-15],综合考虑耗能与生产效率,选择压力0.3 MPa。

2.4 纳滤正交实验

由表5、表6得知,影响葡萄糖酸截留率、膜通量的主次因素为:时间>压力>温度,最佳的工艺条件是A₃B₂C₃,即纳滤温度为30℃,纳滤时间110 min,纳滤压力0.30 MPa,此时综合评分为96,葡萄糖酸截留率为85.99%,膜通量为10.01 L/m²h。

表5 正交实验结果

Table 5 The result of orthogonal test

实验号	A 纳滤温度	B 纳滤时间	C 纳滤压力	综合评分Y ₂
1	1	1	1	88.39
2	1	2	2	90.72
3	1	3	3	85.58
4	2	1	3	89.33
5	2	2	1	84.85
6	2	3	2	91.59
7	3	1	2	83.10
8	3	2	3	96.00
9	3	3	1	91.84
K ₁	88.23	82.61	88.36	
K ₂	88.59	90.52	84.14	
K ₃	90.31	89.67	90.30	
R	2.08	7.91	6.16	

表6 实验方差分析

Table 6 Variance analysis of the data from the orthogonal test

因素	偏差平方和	自由度	F值	显著性
A 纳滤温度	106.89	2	6.03	
B 纳滤时间	289.37	2	28.19	*
C 纳滤压力	36.88	2	18.38	
误差	36.88	2		

注:F_{0.05}临界值=19.00。

2.5 浓缩次数的确定

在纳滤温度为30℃,纳滤时间110 min,纳滤压力0.30 MPa条件下,研究浓缩次数对脱盐率的影响。随着浓缩次数的增加,脱盐率先增加后趋于平缓,综

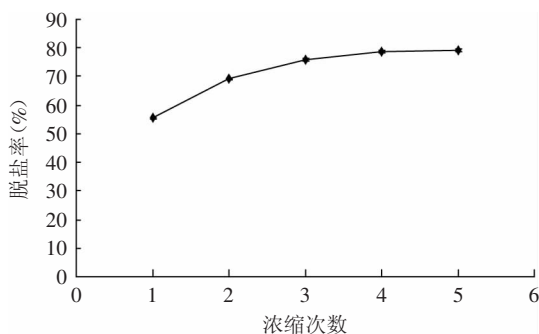


图8 浓缩次数对脱盐率的影响

Fig.8 Effect of concentration times on the desalination rate

合考虑,浓缩4次,脱盐率达到78.66%(图8)。

3 结论

采用乙醇沉淀盐与纳滤脱盐制备葡萄糖酸,获得了两种方法制备葡萄糖酸的最佳工艺。乙醇沉淀法制备葡萄糖酸的最佳工艺为:葡萄糖酸钠与盐酸料液比1:2 g/mL,乙醇体积分数为75%,静置时间为24 h,在此工艺下,葡萄糖酸产率为61.09%,脱盐率为80.44%。纳滤制备葡萄糖酸的最佳工艺为:纳滤压力0.3 MPa,纳滤温度30℃,纳滤时间110 min,葡萄糖酸截留率为85.99%,膜通量为10.01 L/m²h,在此工艺下(浓缩4次),脱盐率为78.66%。此两种方法均有较高的脱盐率,乙醇沉淀盐方法静置时间长,且消耗有机溶剂,成本高,此外有机溶剂残留,对人体有害,而纳滤脱盐法效率高,耗时短,综上所述,纳滤脱盐法较乙醇沉淀法更好。

参考文献

- [1] 汪炯. 葡萄糖酸以及葡萄糖酸内酯制备工艺研究[D]. 广州:暨南大学,2012.
- [2] 乐治平,王玲玲,黄喜根,等. 微波辐射下臭氧氧化葡萄糖制备葡萄糖酸[J]. 南昌大学学报,2011,33(3):217-220.
- [3] Karahi S, Paryjczak T, I Witonńska. Selective Oxidation of Glucose to Gluconic Acid over Bimetallic Pa-Me Catalysts (Me= Bi, Tl, Sn, Co)[J]. Kinetics and Catalysis, 2003, 44 (95): 618-622.
- [4] 汪炯,周华,欧仕益,等. 紫外/过氧化氢法制备葡萄糖酸的研究[J]. 食品工业科技,2012,33(15):191-197.
- [5] 刘杰. 纳滤海水淡化及其脱硼性能研究[D]. 天津:天津大学,2010.
- [6] 马丽霞. 纳滤脱盐处理循环冷却水排污水的应用研究[D]. 天津:河北工业大学,2003.
- [7] 王玲玲. 葡萄糖氧化制备葡萄糖酸的研究[D]. 南昌:南昌大学,2011.
- [8] Serena Biella, Laura Prati, Michele Rossi. Selective Oxidation of D-Glucose on Gold Catalyst[J]. Journal of Catalysis, 2002, 206:242-247.
- [9] Zihui Xiao, Shaohua Jin, Guangyan Sha. Two-Step Conversion of Biomass-Derived Glucose with High Concentration over Cu-Cr Catalysts[J]. Industry & Engineering Chemistry Research, 2014, 53:8735-8743.
- [10] 张晶晶,袁其朋. 桑白皮提取液的纳滤浓缩工艺研究[J]. 食品科技,2010,35(12):180-185.
- [11] 郑必胜,金江涛. 纳滤浓缩西番莲果汁的研究[J]. 现代食品科技,2008,11(3):244-246.
- [12] 顾正荣,董坤,孟焯,等. 绿茶提取液的纳滤工艺研究[J]. 食品工业科技,2006,27(5):139-141.
- [13] 刘冬. 纳滤浓缩红曲色素提取液的研究[J]. 河南工业大学学报,2007,28(2):70-73.
- [14] 冉艳红,陈万群. 纳滤浓缩凉茶提取液研究[J]. 食品科技,2005(10):19-22.
- [15] 董艳,高瑞昶,潘勤,等. 超滤和纳滤分离技术提取纯化地黄低聚糖的研究[J]. 中草药,2008,39(3):359-363.