

甜叶菊创新性提取和分离纯化方法的研究进展

张涛俊¹ 周莹婷² 何建敏¹ 魏渊²

(1.江苏华泰重工装备有限公司,江苏 丹阳 212300;2.江苏大学药学院,江苏 镇江 212013)

摘要:文章分析对比了新旧提取工艺的优缺点,同时为提高工业生产甜菊糖苷的得率,介绍了目前最新出现的可行的创新性技术、制备材料和生产设备,研究结果表明人们对甜叶菊研究的重视程度日趋提高,而且随着现代科技的迅猛发展,其研究方法必定会更加完善和高效。

关键词:甜叶菊;甜菊糖苷;提取工艺;创新性技术;分离纯化

0 引言

甜叶菊(学名: *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsl.) 是菊科、甜菊属的多年生草本植物,原产于南美巴拉圭和巴西交界的高山山脉,当地人们常将甜叶菊的叶子作为佐料加入到食物和饮料中。甜叶菊叶片提取物中的甜菊糖苷(Steviol Glycosides, SGs) 是作为甜味剂的主要成分,其中口感最佳且含量最高的两种糖苷是Rebaudioside-A(RA) 和Stevioloside(Ste)。甜菊糖苷制得的精品为白色粉末,具有低热量和高甜度的优点,是食品及药品工业的原料之一。本篇综述围绕甜叶菊的创新性提取技术和纯化方法展开描述并与传统方法进行比较,主要目的旨在增加对甜叶菊的了解,并概述目前最新出现的创新性研究进展。

1 创新性提取技术

1.1 高速剪切匀浆技术和涡轮萃取法

高速剪切机的原理是在电机驱动下内外切割器以相向方向高速旋转,产生强大的高剪切力,快速的粉碎物料,同时使物料和提取溶剂激烈的碰撞,在超短时间内完成提取过程。而后,为了进一步升高提取效率降低能耗,研究人员开发出了涡轮增压萃取技术。涡轮增压提取的原理是将空气压缩至容器中,增大容器中压力,并产生具有搅拌作用的气流,充分分散溶剂以促进物料的传质。结合高速剪切匀浆技术,更加短时高效的提取物料中的有效成分。Martins.P.M 对甜叶菊的涡轮萃取工艺进行优化,研究了物料粒径、提取溶剂和物料比等因素对甜菊糖苷SGs、RA 和Ste 得率的影响。最后确定的最佳萃取工艺为:乙醇浓度70%、物料粒径780 μm 、物料比1:10、提取18min、温度23 $^{\circ}\text{C}$ 、涡轮机转速20000r/min。同动态浸渍法对比,优化后萃取工艺18min的得率与动态浸渍法1h的得率相当^[1]。表明,涡轮萃取法短时高效且低能耗,是一项很有应用前景的提取方法。

1.2 加压热水提取法

为了避免和减少甜叶菊提取过程中有机溶剂的使用,更加环保和安全的生产甜菊糖苷SGs, Á.Németh 开发了加压热水提取法,其优点在于可以调节提取过程中的压力,在高于溶剂沸点的温度下萃取,高温在增加甜菊糖苷SGs 溶解度的同时,不断改变的压力还可以增加溶剂穿过物料孔隙时的扩散速度。而后,因为叶片溶胀几乎完全吸收了提取溶液水,传统的离心过滤达不到分离要求,因此采用了压榨法分离提取液。最后,选用喷雾干燥得到粗提取物。且对比未干燥的提取液,喷雾干燥后粉末稳定性提高,且目标产物甜菊糖苷SGs 的口感更好。此外

Formigoni.M 等人还发现使用乙醇预处理后提取出的甜菊糖苷SGs 比未处理过直接提取的SGs 的杂质含量更低,且纯度更高。因此可以考虑在使用加压热水提取法前,先用乙醇处理甜叶菊叶片,最后制得的目标产物SGs 不仅纯度高口感好,产率也会显著提升。

1.3 微波辅助亚临界水提取法

亚临界水是将水加热到沸点至临界点100~374 $^{\circ}\text{C}$,系统压力在2.6bar左右使其依旧保持液体状。液态水的性质发生改变,溶解溶质的能力增强,扩散速率提高,极性、粘度和表面张力下降。微波辅助的协同作用在于骤然系统温度,达到产生亚临界水的要求,且加强水分子穿透物料。而且,微波辅助亚临界水提取在1min 内的SGs 提取率与70% 乙醇超声45min 的提取率相当。这表明它在工业大规模生产中具有很大的应用前景。此外Rouhani 等人还开发了超声辅助甘油萃取法,具有类似的协同增强原理,即超声技术的热效应和空化效应促进甘油对植物细胞壁的渗透作用,提取过程绿色无污染,也很适用于食品行业的生产。

1.4 快速固-液动态萃取技术

快速固-液动态萃取技术是使用Naviglio 萃取器,采用循环加压萃取法结合浸渍法的一种高效提取方法。Naviglio 萃取器原理是固体物料内部和萃取液体之间存在负压梯度,迫使固体物料中可溶性组分溶出。而循环加压可以诱导固体物料表面形成新的扩散通道,且变化的压力可以驱动萃取剂在扩散通道中往复运动,增强溶质和溶剂的相互作用。Gallo.Monica 通过实验对比其与80 $^{\circ}\text{C}$ 热水浸渍法的得率,结果表明80 $^{\circ}\text{C}$ 热水浸渍法下甜菊糖苷SGs 的提取率更高,但是在能耗方面,快速固-液动态萃取技术在室温下即可进行,因此耗能更低。且80 $^{\circ}\text{C}$ 热水浸渍法的杂质率更高,提取的SGs 的纯度也低于前者。

2 分离与纯化

2.1 钙-二氧化硅微球

二氧化硅微球是多用于药物控释研究的载体材料,因其具有独特的多孔外壳结构,强负载性、较大比表面积和高渗透性的优点,近年来也开始用于杂质纯化。 Ca^{2+} 是提取过程中理想的除杂离子。而钙-二氧化硅微球结合了二者的优点,具有非常好的杂质吸附能力。Meric.GamzeGunduz 等人采用溶胶-凝胶微胶囊化方法将 Ca^{2+} 添加到二氧化硅微球里制备出可循环使用且高效吸附的钙-二氧化硅微球,考察了在甜菊糖苷SGs

提取过程中的影响,并比较了三次循环使用后的除杂效果,发现其不会损失SGs,在多次使用后还会依旧保持优秀的除杂能力。反观只能在低PH环境下使用的海藻酸钠,虽然除杂效率高但是甜菊糖苷SGs的损失率也很高。实验还表明,钙-二氧化硅微球的除杂率与使用有机溶剂除杂的效果相当^[2],但考虑到环保和安全问题,在甜菊糖苷SGs生产中优先推荐使用钙-二氧化硅微球。

2.2 超滤膜

使用膜分离法最大的困扰便是膜污染后,总是需要清洗膜表面或更换新膜才能继续过滤,致使过滤的时间延长效率降低。而要使膜表面在保持无污垢状态下持续过滤,就需要通过压力调节渗透通量使其低于能产生污垢的临界通量。Camilo为了缩短过滤时间,使用高性能切向流以使过滤过程保持在可持续稳定状态,还可分散积累在膜表面的溶质提高扩散分布。且使用连续脱硝技术以快速高效的清洗污染后的膜表面。该分离方法为二次过滤,先用0.2 μm 的微孔滤膜初滤甜叶菊水提液中的不溶性杂质,再用15/3KDa膜进行二次超滤(3KDa的膜除杂率略高于15KDa但RA和ste的回收率低,15KDa膜上杂质保留量相对更少易清洗,但是总体上二者区别不大,可以替换使用)。测试在过滤效率相同时,这种可持续通量下两次膜分离法比单浓度法和连续重滤法过滤效率更高且耗时更短。此外,在Das.Ariji研究中还发现膜孔增大,渗透通量不一定会增加。原因在于膜孔内吸附的溶质和杂质也相应增多,且膜上形成的动态滤饼层造成了严重的浓度差极化,导致渗透通量严重下降。此时,就只能通过加压和增流来改善膜的渗透通量。同时为了提高防污性能且不增加过滤过程中甜菊糖苷SGs的损失率,Roy.Anirban使用二甲基乙酰胺DMAC将亲水的醋酸纤维素材料和疏水的聚丙烯腈材料混合制成聚合物共混膜,考虑到溶液的渗透性与膜亲水性成正比,最佳混合比例为10:10(重量百分比),并筛选出90KDa的膜分子量最佳,SGs的损失率最低且稳态通量最高。

2.3 生物大分子絮凝剂

生物大分子絮凝剂是由微生物代谢产生并分泌至细胞外的具有絮凝和渗透作用的高分子物质,包括糖蛋白、多糖、纤维素、蛋白质和DNA等。王菁莎等人在甜菊糖苷提取过程中,对比传统盐类絮凝剂 FeCl_3 和 $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 与生物大分子絮凝剂多糖螯合物的透光率和除杂率:盐类絮凝剂都对目标产物不具有选择性,除杂过程中会造成SGs损失,而且二次吸附和 Cl^- 等有色离子也会对透光率产生一定的影响;生物大分子絮凝剂多糖螯合物溶于水后,显现出独特的金属离子-多齿体的空间结构,可吸收提取液中的大分子杂质而不影响SGs的含量,絮凝机制尚不清晰,应该与絮凝剂的结构、带电荷、构象、离子键和氢键形成相关^[3]。综合实验结果,生物大分子絮凝剂的不仅用量最少,除杂效率最高,而且不会造成目标产物SGs的含量变化,是优良高效的除杂剂。

2.4 吸附树脂

2.4.1 非极性大孔树脂与甜叶菊母糖液

甜叶菊商业用途很广,在生产工业结晶出RA、ste等主要

甜菊糖苷SGs后,余留的母糖液多是廉价出售或直接废弃。而实验检测发现母糖液中仍有60%的SGs成分,但是因为含杂质高,苦味较重,因此考虑可以进一步纯化利用。Liu Yaxian等人研究了以非极性大孔吸附树脂NDR-1进一步纯化母糖液的工艺,通过添加电解质NaCl和醇类精确的调节溶剂极性。发现10%~30%乙醇与杂质类极性相溶所以解吸杂质的能力最强,但解吸甜菊糖苷的效果不好。这是因为SGs和杂质的结构不同,因此在极性洗脱剂中的被解吸的临界值不同。

2.4.2 季氨基改性吸附树脂

工业上要得到纯净的甜菊糖苷SGs提取流程非常繁琐,其中除杂、脱盐脱色和精除杂就要使用4种以上的不同类型的树脂,洗脱溶剂的用量非常大,操作过程也非常耗时耗力。Rongfu等人通过将季氨基引入到吸附树脂中,成功合成了同时具吸附功能和脱色功能的高分子改性树脂,可以将树脂除杂、脱盐脱色步骤压缩至一步,减少了洗脱溶剂的用量,更加高效、经济和环保。分析季氨基改性的原理,是通过加强SGs与树脂的疏水缔合作用增强树脂吸附能力,且季氨基暴露在水中的部分能给予树脂离子交换能力用于脱盐脱色。但是需注意的是随着季氨基的引入量增大,改性后的树脂脱色能力增强,但对SGs的吸附能力会减弱。

3 结语

工业上生产甜菊糖苷时,可以使用一些现代工艺如高速剪切法、亚临界水、超声和微波辅助技术,结合涡轮机等高效生产设备,可以显著的提升甜菊糖苷SGs的提取效率,且对比传统提取工艺也相对更加的绿色安全。此外,近年来生物大分子絮凝剂、高分子膜和二氧化硅微球等材料,也开始逐渐涉入杂质纯化领域,这也体现了各个研究领域的互通性。当代科技水平在迅猛发展,我国又是糖消耗大国,需求促进了科技创新,而且甜菊糖苷SGs的提取和分离纯化方面也存在巨大的发展空间,未来必定会有更优更高效更环保的生产技术和提取手段。但是,目前工业生产也存在一大迫切需要解决的问题,即减少生产过程中提取溶剂的消耗,若能达到‘无溶剂提取’则会更大化经济价值,这也必然成为今后甜叶菊领域的研究重点。

参考文献:

- [1] Martins, P. M., et al., Turbo-extraction of glycosides from *Stevia rebaudiana* using a fractional factorial design. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2017, 27(4): 510-518.
- [2] Meric, G.G., et al., Clarification of *Stevia rebaudiana* Bertonii extract by Ca based silica microspheres. *Heliyon*, 2019. 5(7): p. e02062.
- [3]王菁莎,刘景彬,张琳杰.传统盐类与生物大分子絮凝剂在甜菊糖苷纯化中的应用比较. *当代化工研究*, 2019 (13): 49-51.

作者简介:张涛俊(1981-),男,汉族,江苏丹阳人,南京大学硕士研究生毕业,高级工程师,任江苏华泰重工装备有限公司总经理,主要研究方向:化学工程。