

核黄素结晶热力学研究

李文钊^{1,2}, 赵学明¹

(1. 天津大学化工学院, 天津 300072 2. 天津科技大学, 天津 300222)

摘要: 本研究采用平衡法测定了核黄素在纯水和在 283、288、293、298 及 303K 的 HCl- 水体系 (HCl 的摩尔分率 w 分别为 0.14、0.16、0.17、0.20、0.24) 中的溶解度, 建立了溶解度模型, 并应用实验得到的溶解度数据估算了核黄素的溶解热和溶剂化焓变; 测定核黄素在 283、288 和 293K 的 HCl- 水体系中溶解与超溶解特性, 得到核黄素的结晶介稳区, 这些热力学研究为核黄素的工业化生产奠定基础。

关键词: 核黄素; 溶解度; 结晶热力学

Study on Crystallization Thermodynamics of Riboflavin

LI Wen-zhao^{1,2}, ZHAO Xue-ming¹

(1. School of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China

2. Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300222, China)

Abstract: The solubilities of riboflavin in pure water and in different concentration hydrochloride aqueous solution ($w=0.14, 0.16, 0.17, 0.20, 0.24$, ' w ' meant the HCl fraction in mixture aqueous solution) under 283K, 288K, 293K, 298K, 303K are measured respectively by steady method in this thesis. The solubility model is established. The dissolution heat and the solvation energy of riboflavin are estimated by using the experimental solubility data. The saturate and supersaturate characters of riboflavin in hydrochloride aqueous solution under 283K, 288K, 293K are investigated and analyzed. The width of crystallization metastable zone was obtained. These studies about crystallization thermodynamics establish foundation for the industrial manufacture of riboflavin.

Key words riboflavin; solubility; crystallization thermodynamics

中图分类号: 0645.16

文献标识码 A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0035-05

核黄素是肌体必需微量营养素之一, 具有广泛的生理功能, 世界卫生组织 (WHO) 将其列为评价人体生长发育和营养状况的六大指标之一。核黄素作为常用临床药物, 用于辅助治疗口角炎、眼角膜炎、白内障、眼角膜及口角血管增生等多种疾病; 在食品工业中, 核黄素可作为色素和营养添加剂; 在饲料工业中用做饲料添加剂, 满足动物生长需要, 并提高其营养的利用率^[1-2]。

核黄素是较早实现商业化生产的维生素之一, 目前, 工业上核黄素的生产既有化学合成法, 也有生物技术法。针对不同的生产方法, 核黄素的分离提取方法有差别, 但都离不开结晶过程。然而, 研究核黄素分离提取的文献涉及到核黄素结晶过程的一般集中在晶种的添加问题上^[3-5], 对其热力学基础数据研究、尤其是溶解度模型报道暂未见到。而结晶过程的研究通常是从研究其热力学行为开始^[6], 溶解度等结晶热力学数

据的测定、分析与研究是设计结晶器, 确定结晶工艺最佳操作条件的基础。本研究测定了核黄素在不同溶剂中溶解度, 建立溶解度模型, 并对模型参数进行估算与验证。尤其是对核黄素在不同温度下的水-HCl 体系中介稳区进行研究, 对于核黄素的溶析结晶过程的研究以及其结晶设备的设计提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

核黄素样品 (纯度大于 98%) 太和制药厂; 盐酸 (分析纯) 天津市化学试剂一厂。

1.2 仪器与设备

SP-2102PC 型分光光度计 上海光谱仪器有限公司;
501 型超级恒温槽 上海实验仪器厂; 78-1 型恒温磁力搅拌器 上海南汇电讯器材厂; 溶解度测定装置及结晶

收稿日期: 2006-11-30

基金项目: 天津市科技发展资助项目 (05YFGZGX04500)

作者简介: 李文钊 (1970-), 女, 在职博士生, 研究方向为生物化工。

器 实验室自制。

1.3 核黄素的定量分析

核黄素标准液配制：精确称取 50mg 核黄素，加入 1ml 冰乙酸及 75ml 水，加热使核黄素完全溶解，然后用蒸馏水定容到 500ml。

醋酸-醋酸钠缓冲液配制：取 0.2ml 冰乙酸，然后加入 0.98g 乙酸钠，加热溶解，再用蒸馏水定容到 1000ml。

分别精确吸取标准液 0、0.5、1、1.5、2、2.5、3ml，然后分别向标准液中加入缓冲液定容至 10ml，再将不同浓度的标准核黄素溶液在 444nm 处测定吸光度值，绘制吸光度值-浓度即核黄素标准黄素工作曲线。待测溶液经醋酸-醋酸钠缓冲液稀释一定倍数后，测定其吸光度值，由核黄素标准曲线计算待测溶液核黄素浓度^[7]。

1.4 核黄素溶解度的测定

在带有恒温夹套的溶解度测定装置中加入一定量溶剂，于一定温度下加入过量的核黄素的晶体，启动电磁搅拌器，持续搅拌直至核黄素晶体与溶液之间达到溶解平衡^[8-9]。实验过程中体系达到平衡的时间可通过以下方法确定：固定温度和溶剂组成后，每隔一段时间测定一次溶液中核黄素的含量，当分析结果不再变化时，可以认为体系达到了溶解平衡。达到平衡之后停止搅拌，使未溶解的核黄素的晶体沉积到溶液的底部，用注射器抽取上部少量清液，用 0.45μm 孔径的合成纤维素膜进行抽滤，从滤液中取样分析其中的核黄素含量，计算其在此温度下的溶解度。

1.5 介稳区的测定

准确称量一定质量的核黄素，加入到配有温度计的结晶器中，设定水浴温度。加入准确体积的溶剂（溶剂的量必须使药品全部溶解），配制一定浓度的溶液。调节好秒表。在磁力搅拌下，向溶液中缓慢滴加析出剂即去离子水，溶液开始出现浑浊时，记下析出剂的加入量，此时溶液浓度即为超溶解度。改变溶质加入量，即改变溶液浓度重复以上操作。绘制超溶解度曲线，并与溶解度曲线进行比较，得到介稳区。

2 结果与分析

2.1 溶解度测定结果

图 1 是核黄素在纯水中的溶解度曲线，可见随温度的升高而核黄素溶解度增加，但从总体上看，核黄素溶解数量微小，这与文献报道核黄素微溶于水的结果一致^[7]，同时，验证实验测定方法的可靠性。

图 2 是核黄素在不同温度下，不同 HCl-水体系中溶解度曲线图， x_{exp} 为实测的核黄素溶解度，以摩尔分数表示。由图 2 可知，核黄素在盐酸溶液中的溶解度随酸浓度的提高即混合溶剂中水体积分数下降而迅速增

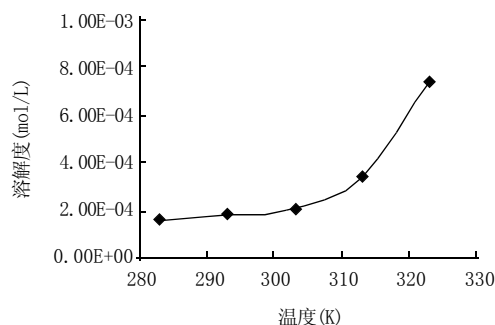


图 1 核黄素在纯水中溶解度

Fig.1 Solubility of riboflavin in pure water

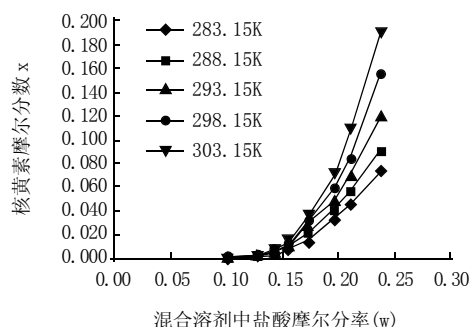


图 2 核黄素溶解度随盐酸浓度的变化曲线

Fig.2 Variation of solubility of riboflavin with HCl concentration

加，并随温度的升高而增加。核黄素微溶于水，但在浓盐酸液中溶解度显著增加，分析其原因，核黄素为具有一个核糖醇侧链的异咯嗪的衍生物，其基础是一个蝶啶环，并且连着一个缩合的苯环，第 9 位 N 上的氢原子被一个核糖基所取代，从核黄素结构分析，它是弱极性有机化合物，故在极性溶剂水中溶解度小。氢氯酸即盐酸性质活泼，能与碱起中和反应，与盐起复分解反应，在氢氯酸作用下，核黄素溶解度明显增大。

2.2 模型建立

2.2.1 溶解度模型

根据固-液平衡理论^[10]，描述固液平衡有如下普遍化的溶解度方程：

$$\ln x_2 \gamma_2 = \frac{\Delta H_p}{R} \left(\frac{1}{T_p} - \frac{1}{T} \right) - \frac{\Delta C_p}{R} \left(\ln \frac{T_p}{T} - \frac{T_p}{T} \right)$$

$$+1) - \frac{\Delta V}{RT} (P - P_p) \quad (1)$$

忽略压力和热容的影响，三相点温度用熔点替代时，方程(1)变为：

$$\ln x_2 = \frac{\Delta H_2}{R} \left(\frac{1}{T_{m2}} - \frac{1}{T} \right) - \ln \gamma_2 \quad (2)$$

式中， x 为摩尔分数； ΔH 为焓变，kJ/mol； T

为温度, K; 下标 m 表示熔化; γ_2 为溶质的活度系数; R 为气体常数, J/mol·K。用式(1)计算所需物性数据是固体溶质的熔化焓和熔点温度, 另外需要计算活度系数的方程。目前, 用于固液平衡计算的活度系数方程有: van Laar 方程、Scatchard—Hildebrand 方程、NRTL 方程、Wilson 方程等, 这些方程都是在汽液平衡和液液平衡研究中建立, 将其延伸用于固液平衡的研究。Buckowski 等人 1981 年提出了一个新的描述固液平衡的 λh 方程^[11]:

$$\ln[1+\lambda(1-x_2)x_2^{-1}]=\lambda h(T^{-1}-T_m^{-1}) \quad (3)$$

式中, h 为焓因子, λ 为饱和溶液非理想性的量度, 实践中用实测数据回归求解 λ 。结合核黄素分子结构特征及其在纯水及盐酸溶液中的溶解情况, 采用 λh 方程模型进行拟合。文献报道核黄素的熔点为 280℃, 并发生分解, 故在此将 T_m 、 ΔH_m 作为待定模型参数处理。

对式(3)即 λh 方程整理, 得到下式:

$$x_2 = \frac{\lambda}{e^{\lambda h(T^{-1}-T_m^{-1})} + \lambda - 1} \quad (4)$$

由于此模型无法进行线性化处理, 我们利用规划求解对方程中参数进行非线性最小二乘法估计。将算得的 λh 方程参数值代入式(4)即可求得溶解度的模型计算值。

2.2.2 回归结果与讨论

2.2.2.1 模型回归结果

表 1 核黄素在纯水中的溶解度
Table 1 Solubility of riboflavin in water

温度 (K)	核黄素摩尔分数 实测值 (X_{exp})	核黄素摩尔分数 计算值 (X_{cal})	偏差 (ϵ)
283.2	2.92E-06	9.22E-08	-2.83E-06
293.2	3.35E-06	3.69E-07	-2.98E-06
303.2	3.83E-06	1.35E-06	-2.48E-06
313.2	6.22E-06	4.54E-06	-1.68E-06
323.2	1.34E-05	1.42E-05	7.64E-07
R^2	0.9997		
参数	$\lambda=40.18$ $h=286.57$		

表 2 核黄素在 w=0.14 盐酸液中的溶解度
Table 2 Solubility of riboflavin when w=0.14

温度 (K)	核黄素摩尔分数 实测值 (X_{exp})	核黄素摩尔分数 计算值 (X_{cal})	偏差 (ϵ)
283.15	2.00E-03	2.84E-03	0.001
288.15	4.00E-03	3.87E-03	0.000
293.15	6.00E-03	5.22E-03	-0.001
298.15	7.00E-03	6.96E-03	0.000
303.15	9.00E-03	9.19E-03	0.000
R^2	0.9998		
参数	$\lambda=17.80$ $h=284.94$		

表 3 核黄素在 w=0.16 盐酸液中的溶解度
Table 3 Solubility of riboflavin when w=0.16

温度 (K)	核黄素摩尔分数 实测值 (X_{exp})	核黄素摩尔分数 计算值 (X_{cal})	偏差 (ϵ)
283.15	8.00E-03	5.17E-03	-0.003
288.15	9.00E-03	6.87E-03	-0.002
293.15	1.00E-02	9.05E-03	-0.001
298.15	1.10E-02	1.18E-02	0.001
303.15	1.50E-02	1.52E-02	0.000
R^2	0.9997		
参数	$\lambda=16.41$ $h=284.84$		

表 4 核黄素在 w=0.17 盐酸液中的溶解度
Table 4 Solubility of riboflavin when w=0.17

温度 (K)	核黄素摩尔分数 实测值 (X_{exp})	核黄素摩尔分数 计算值 (X_{cal})	偏差 (ϵ)
283.15	0.015	1.57E-02	0.001
288.15	0.021	1.99E-02	-0.001
293.15	0.028	2.50E-02	-0.003
298.15	0.031	3.11E-02	0.000
303.15	0.036	3.84E-02	0.002
R^2	0.9998		
参数	$\lambda=13.78$ $h=284.69$		

表 5 核黄素在 w=0.20 盐酸液中的溶解度
Table 5 Solubility of riboflavin when w=0.20

温度 (K)	核黄素摩尔分数 实测值 (X_{exp})	核黄素摩尔分数 计算值 (X_{cal})	偏差 (ϵ)
283.15	3.40E-02	3.38E-02	0.001
288.15	4.10E-02	4.13E-02	-0.001
293.15	5.00E-02	5.01E-02	-0.003
298.15	5.90E-02	6.02E-02	0.000
303.15	7.30E-02	7.18E-02	0.002
R^2	0.9997		
参数	$\lambda=11.89$ $h=284.59$		

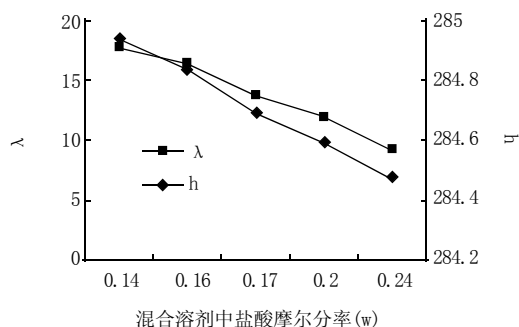
表 6 核黄素在 w=0.24 盐酸液中的溶解度
Table 6 Solubility of riboflavin when w=0.24

温度 (K)	核黄素摩尔分数 实测值 (X_{exp})	核黄素摩尔分数 计算值 (X_{cal})	偏差 (ϵ)
283.15	0.074	0.097	0.023
288.15	0.090	0.112	0.022
293.15	0.120	0.128	0.008
298.15	0.154	0.146	-0.008
303.15	0.190	0.165	-0.025
R^2	0.9954		
参数	$\lambda=9.08$ $h=284.47$		

核黄素溶解度的实测值 x_{exp} 与模型计算值 x_{cal} 、模型参数、相对偏差及相关指数列于表 1~6 中。从表中可以看出, λh 方程的关联效果在整个盐酸浓度变化区间内稳定, 相关指数在 0.99 以上。

2.2.2.2 内插

溶解度数据关联的实际意义在于内插或外推。在对 λh 方程模型参数求解, 将熔点作为虚拟参数规划求解, 因此, 它们是随溶剂盐酸浓度的变化而变化的, 但在实际求解中, 熔点与文献报道值十分接近, 且变化极小。对于 λh 方程模型参数, 随盐酸浓度的增大, λ 、 h 均减小, 如图 3 所示。

图3 λh 方程参数随 HCl 浓度变化趋势线Fig.3 Variation curve of parameters of λh equation

模型参数 λ 、 h 和虚拟参数 T_m 与溶剂中 HCl 的摩尔分率 w 的经验拟合关系式为:

$$\lambda = -0.1511w^2 - 1.2892w + 19.321 \quad R^2 = 0.9959 \quad (5)$$

$$h = 0.0003w^2 - 0.1186w + 285.06 \quad R^2 = 0.9951 \quad (6)$$

$$T_m = 19.876w^2 - 10.34w + 554.2 \quad R^2 = 0.9696 \quad (7)$$

由此算出某比例、温度下的溶解度, 并与实验值比较, 如表 7 所示。该数据表明, 式(5)~(7)用于内插虽有误差, 但具有一定的工程应用价值。

表7 核黄素在盐酸液中溶解度模型内插计算

Table 7 Interposition calculation of solubility by empiric model

混合溶剂中盐酸摩尔分率 (w)	温度 (K)	核黄素摩尔分数实测值 (X_{exp})	核黄素摩尔分数计算值 (X_{cal})	偏差 (ϵ)
0.18	313.2	1.10E-02	1.01E-02	-0.0009
0.16	300.5	5.60E-03	4.83E-03	-0.0008
0.13	293.1	2.60E-03	3.01E-03	0.0004
0.05	287.2	2.00E-04	1.94E-03	0.0017

2.3 介稳区

溶解度超溶解度的测定与操作时的许多因素有关, 如搅拌速率、加料速率、环境温度等。本实验在操作时保持一定的搅拌速率、加料速度等条件, 在相同的条件下比较温度对介稳区的影响, 为核黄素工业化生产提供热力学基础数据。

从图 4、5 和 6 中可以看出随着盐酸浓度的降低, 即含水量的增加, 核黄素介稳区变窄, 随着温度升高, 核黄素的介稳区变宽。介稳区宽度较大, 不易发生爆发成核现象, 易于结晶操作。

3 结论

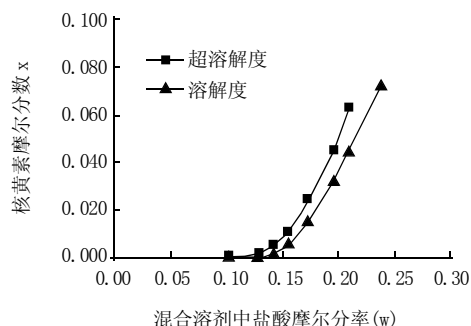


图4 283K 下核黄素在盐酸溶液中的介稳区

Fig.4 Metastable zone of riboflavin in HCl solution

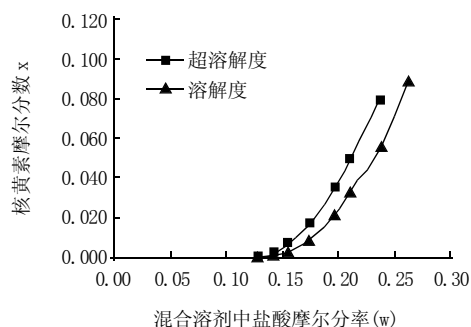


图5 288K 下核黄素在盐酸溶液中的介稳区

Fig.5 Metastable zone of riboflavin in HCl solution

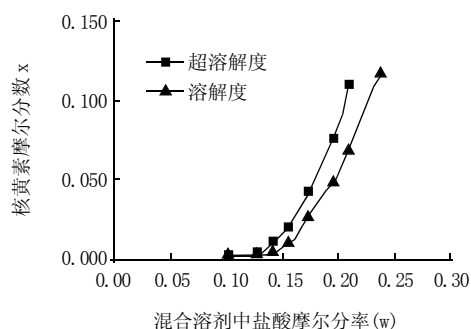


图6 293K 下核黄素在盐酸溶液中的介稳区

Fig.6 Metastable zone of riboflavin in HCl solution

用平衡法分别测定了核黄素在纯水和在 283、288、293、298K 及 303K 的 HCl-水体系中的溶解度; 用 λh 方程回归了上述溶解度数据, λh 方程的关联效果在整个溶剂浓度变化区间内很稳定, 收敛性较好, 并回归得到模型参数 λ 和 h 与 w (HCl 在混合溶剂中的摩尔分率) 的经验关系式; 分别测定了核黄素在 283、288 和 293K 的 HCl-水体系中的介稳区, 为核黄素工业化生产奠定基础。

参考文献:

- [1] 王汝龙, 原正平. 化工产品手册——药物[M]. 3版. 北京: 化学工业出版社, 1991: 816-817.
- [2] THOMAS A, NAFISA G, KASTURI H. *In vitro* activity of riboflavin against the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*[J]. *Antimicrob*

苹果浓缩汁美拉德反应有关影响因素的研究

周亚平, 王成荣, 于士梅, 祝 军, 王 然, 王彩虹, 戴洪义*

(莱阳农学院园艺系, 山东 莱阳 265200)

摘 要: 以苹果制汁新品种鲁加1号和鲁加3号[特拉蒙(Telemon)×富士(Fuji)]的浓缩果汁为试材, 研究了苹果浓缩汁贮藏过程中氨基酸、还原糖和5-羟甲基糠醛(5-HMF)含量的变化, 并利用几种氨基酸和还原糖分别在柠檬酸-磷酸缓冲液(pH3.20)与苹果浓缩汁中进行美拉德模拟试验。实验结果表明: 贮藏过程中, 苹果浓缩汁中的赖氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苏氨酸的含量呈下降趋势; 还原糖含量成波浪式变化, 即先上升后下降, 然后上升再下降; 5-HMF含量先上升后下降; 在柠檬酸-磷酸缓冲液中进行美拉德模拟试验其氨基酸与还原糖的反应活性分别与苹果浓缩汁中的反应活性存在较大差异, 在两个实验中赖氨酸都具有较大的反应活性。

关键词: 苹果浓缩汁; 氨基酸; 还原糖; 5-HMF; 美拉德反应

Study on Factors Influencing Maillard Reaction in Apple Juice Concentrate

ZHOU Ya-ping, WANG Cheng-rong, YU Shi-mei, ZHU Jun, WANG Ran, WANG Cai-hong, DAI Hong-yi*
(Department of Horticulture, Laiyang Agricultural College, Laiyang 265200, China)

Abstract: Studies were carried out on changes of amino acids, reduce sugar and 5-HMF contents in apple juice concentrate of Lujial1 and Lujia3 (Lu for Shandong province, China; Jia for processing) derived from the cross between Telamon and Fuji. Maillard reaction had been simulated with amino acids (lysine, phenylalanine, leucine, isoleucine, methionine, threonine) and reduce sugars (fructose, glucose, arabinose, galactose, xylose) respectively in citric acid-phosphate buffer (pH3.20) and in apple juice concentrate. The results showed that lysine, phenylalanine, leucine, isoleucine, methionine and threonine contents in apple juice concentrate decline during storage. Reduced sugar content increases first, then decreases, while rises and descends again. 5-HMF content increases first, then decreases. Amino acids activities in Maillard reaction show great differences between in citric acid-phosphate buffer (pH3.20) and in apple juice concentrate, and also in reduce sugars activities. Lysine activity is high in both experiments.

Key words apple juice concentrate; amino acids; reduce sugar; 5-HMF (5-hydroxymethyl furfuraldehyde); Maillard reaction

中图分类号: S661.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0039-05

收稿日期: 2006-04-21

*通讯作者

基金项目: 山东省农业良种工程课题

作者简介: 周亚平(1980-), 女, 硕士研究生, 研究方向为果蔬育种。

Agents Chemist, 2000, 44(1): 88.

③ 郑建仙. 功能性食品: 第二卷[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999: 280-282.

④ 章克昌, 吴佩琮, 陆文清, 等. 从发酵液中分离提取核黄素[J]. 无锡轻工大学学报, 1998, 17(3): 26-30.

⑤ 张国胜. 利用枯草芽孢杆菌发酵制核黄素及其提取工艺的研究[D]. 天津: 天津轻工业学院, 2000.

⑥ MULLIN J W. Crystallization[M]. 3rd. London: Butterworths-Heinemann, 2000.

⑦ 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:

化学工业出版社, 2000: 549-550.

⑧ 丁绪淮, 谈遵. 工业结晶[M]. 北京: 化学工业出版社, 1985.

⑨ ZHU Ming. Solubility and density of the disodium salt hemiheptahydrate of ceftriaxone in water+ethanol mixtures[J]. J Chem Eng, 2001, 46: 175-176.

⑩ 斯坦利 瓦拉斯. 化工相平衡[M]. 韩世钧, 译. 北京: 中国石化出版社, 1991.

⑪ BUCHOWSKI H, DSIAZCZAK A, PIETRZYK S. Solvent activity along a saturation line and solubility of hydrogen bonding solids[J]. J Phys Chem, 1980, 84: 975-979.