

文章编号: 1673 1689(2010)05-0693-05

大孔吸附树脂对发酵液中 2-苯乙醇的吸附研究

荣绍丰^{*1}, 付艳丽^{1,2}, 王涛¹, 何新舟¹

(1. 上海应用技术学院, 香料香精技术与工程学院, 上海 200235; 2. 上海香料研究所, 上海 200232)

摘要: 从 5 种树脂中筛选出一种吸附量大的树脂 HZ816。研究了 HZ816 树脂影响吸附及解吸的因素, 得出结论如下: HZ816 树脂对 2-苯乙醇平衡吸附量为 151.3 mg/g, 最佳吸附 pH 值为 5.1, 吸附为快速平衡过程, 1.5 h 内即达到吸附平衡。通过静态平衡实验及等温线方程, 得出 HZ816 树脂符合 Freundlich 方程。在不同温度下, HZ816 树脂随温度的升高对 2-苯乙醇的吸附量下降, 表明它对 2-苯乙醇的吸附是一个放热过程。最佳洗脱剂为无水乙醇, 3 倍树脂床体积的洗脱液可基本上将 2-苯乙醇从树脂上洗脱下来, 而且洗脱峰集中, 无明显拖尾现象。

关键词: 2-苯乙醇; 大孔树脂; 吸附

中图分类号: TQ 321

文献标识码: A

Research on the Extraction of 2-Phenylethanol in Fermented Broth by Macroporous Adsorption Resin

RONG Shaofeng^{*1}, FU Yanyan^{1,2}, WANG Tao¹, HE Xirzhou¹

(1. School of Perfume and Aroma Technology, Shanghai Institute of Technology, Shanghai 200235, China; 2. Shanghai Research Inst. of Fragrance and Shanghai Research Flavor Industry, Shanghai 200232, China)

Abstract: In this manuscript, the authors chose HZ816 as research model to study the factors which affect the adsorption and desorption capacity. A series of results were achieved by the single factor experiments: the equilibrium 2-phenylethanol adsorption amount of HZ816 is 151.3 mg/g; the adsorption pH value 5.1; to the adsorption balance time 1.5 h. According to the static balance experiment and isotherm equation, it was found that the behavior of HZ816 obeys to Freundlich equation. Meanwhile, the adsorption of 2-phenylethanol is an exothermic process due to the fact that the 2-phenylethanol adsorption amount of HZ816 decreases with the increasing of temperature. The optimum eluent solvent is absolute ethanol. 2-phenylethanol can be desorbed completely by eluent solvent of 3 times bed volume, and the eluting peaks are centralized and no obvious trailing phenomenon was detected.

Key words: 2-phenylethanol, macroporous resin, adsorption

收稿日期: 2009-11-04

基金项目: 上海市教委科研创新项目(09YZ394); 上海市科委国际合作项目(09540704200)。

* 通信作者: 荣绍丰(1969-), 男, 河北唐山人, 副教授, 工学博士, 主要从事发酵工程研究。

Email: rongshaofeng@163.com

2 苯乙醇(2-phenylethanol), 2 苯基乙醇, β 苯乙醇, 是一种具有玫瑰花香的芳香醇, 天然存在于很多花(如玫瑰, 风信子等)和植物的精油中^[1]。广泛应用于食品和化妆品行业中, 可用于配制玫瑰香型及其他香型的食用和日用香精^[2]。

随着生活水平的提高, 消费者对天然食品添加剂的需求也在不断增加。在美国和欧洲, 能被标记为“天然”的调味剂和芳香剂必须是采用物理方法从天然材料中提取和酶催化或者微生物发酵法生产的^[3]。天然 2 苯乙醇可以从玫瑰或其他植物精油中提取, 但是成本太高^[4], 而某些微生物如酵母的代谢产物则为 2 苯乙醇^[5], 因此采用微生物发酵合成天然 2 苯乙醇成为一种很好的方法。

2 苯乙醇的提取是发酵法生产 2 苯乙醇的重要步骤, 提取工艺主要有有机溶剂萃取法和吸附分离法。对于有机溶剂萃取法, 常用的萃取剂一般为氯仿、四氯化碳、甲苯、二甲苯和石油醚等, 不仅生产成本高, 而且不同程度的溶剂残留势必会影响产品的香气质量, 不同质量等级的 2 苯乙醇有不同的用途, 只有经过较高成本的纯化后, β 苯乙醇产品才能达到食用和日用香料的质量标准。应用大孔树脂进行分离纯化的技术是 20 世纪 60 年代末发展起来的继离子交换树脂后的分离纯化技术之一^[6]。大孔树脂具有比表面积大、平衡吸附量大、选择性好、吸附速度快、解析条件温和和再生处理方便等诸多优点^[7]。近年来, 大孔树脂已经成功应用于天然成分的分离和富集。有关发酵液中天然 2 苯乙醇的分离和纯化, 在涂茂兵等人的专利中略有报道^[8]。

1 材料和方法

1.1 主要材料仪器

树脂 D101, AB-8, H103, X-5: 天津南开大学化工厂产品; 树脂 HZ816: 上海华震科技有限公司产品; 其他试剂均购于上海国药集团试剂有限公司。

高效液相色谱仪 AGLIENT 1100: 美国安捷伦(中国)科技有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 树脂筛选 分别在 50 mL 2-苯乙醇的发酵液中加入 5 种经过预处理的树脂各 1.3 g, 30 ℃、220 r/min 吸附 2 h, 结束后测定溶液中残留的 2-苯乙醇的质量浓度, 计算树脂的平衡吸附量。树脂对 L-苯丙氨酸的平衡吸附量实验相同。平衡吸附量用式(1)计算:

$$Q_e = \frac{(C_0 - C_e)}{M} * V \tag{1}$$

式中: Q_e 为平衡吸附量, $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$; C_0 为溶液的初始质量浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; C_e 为吸附平衡后溶液的浓度, $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; V 为溶液的体积, L; M 为树脂质量, g。

1.2.2 静态吸附

1) pH 值对树脂平衡吸附量的影响 称取 0.1 g 树脂 5 份, 分别加入到 10 mL pH= 4.1, 5.1, 6.2, 7.1 和 8.2 的 2-苯乙醇的发酵液中, 30 ℃, 220 r/min 吸附 2 h, 结束后测定溶液中残留的 2-苯乙醇的质量浓度, 计算树脂的平衡吸附量。

2) 树脂加入质量对树脂平衡吸附量的影响 分别称取 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 和 0.5 g 树脂, 加入到 10 mL 2-苯乙醇的发酵液中, 30 ℃、220 r/min 吸附 2 h, 结束后测定溶液中残留的 2-苯乙醇的质量浓度, 计算树脂的平衡吸附量。

3) 吸附时间对树脂平衡吸附量的影响 称取 0.1 g 树脂, 加入到 10 mL 2-苯乙醇的发酵液中, 30 ℃、220 r/min 吸附, 间隔一定时间取样测定溶液中残留的 2-苯乙醇的质量浓度, 计算树脂的平衡吸附量。

4) 发酵液中 2-苯乙醇质量浓度对树脂平衡吸附量的影响 分别称取 0.1 g 树脂 5 份, 分别加入到 10 mL 质量浓度为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 g/L 的 2-苯乙醇发酵液中, 分别在 25、30、40 ℃下, 220 r/min 吸附 2 h, 结束后测定溶液中残留的 2-苯乙醇的质量浓度, 计算树脂的平衡吸附量。

1.2.3 洗脱剂的选择 称取吸附饱和的树脂, 分别加入相同体积的无水乙醇及体积分数为 75%、95%、50% 的乙醇溶液, 蒸馏水进行洗脱, 测定洗脱液中 2-苯乙醇的质量浓度, 计算不同洗脱剂的洗脱率。将一定质量吸附饱和的树脂装柱, 采用上述最佳洗脱剂进行洗脱, 流量控制在 0.2 BV/h, 收集洗脱液测其 2-苯乙醇含量, 绘制洗脱曲线, 确定最佳洗脱剂用量。

1.2.4 检测方法 高效液相色谱法检测 2-苯乙醇和 L-苯丙氨酸的方法: 将待测样品进样前用 0.45 μm 微孔滤膜过滤处理, 滤液上 HPLC 分析, 用 C18 柱, DAD 检测器, 检测波长 260 nm, 柱温 30 ℃, 流动相流速 1 mL/min, 流动相为 V(甲醇): V(水)= 60: 40, 进样量 10 μL, 外标法定量^[9]。

2 结果与讨论

2.1 树脂的筛选

选为吸附介质的树脂应该符合对产物 2-苯乙醇具有较大的吸附量, 而对底物 L-苯丙氨酸的吸附量尽可能的小的原则。按照 1.2.1 对 5 种树脂进行

筛选, 结果见图 1。从中可以看出, HZ816 树脂对发酵液中 2-苯乙醇的平衡吸附量最大, 为 151.3 mg/g, 对 L-苯丙氨酸的平衡吸附量为 10.0 mg/g。前者约为后者的 15 倍, 所以选择 HZ816 树脂进行下列实验。

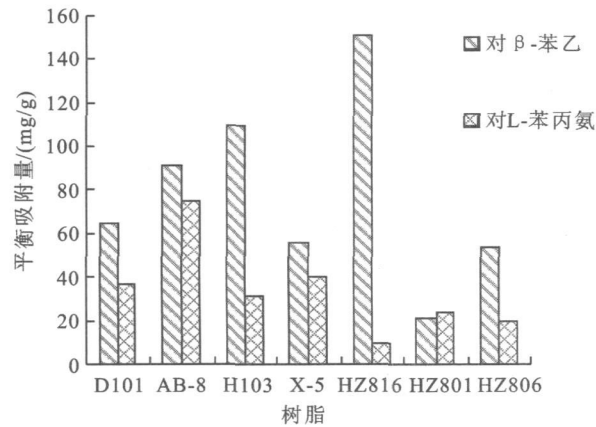


图 1 不同树脂对 2-苯乙醇的平衡吸附量

Fig. 1 Adsorption quantity of different macroporous resins

2.2 静态吸附实验

2.2.1 pH 值对树脂平衡吸附量的影响 pH 值对物质吸附的影响取决于化合物的酸碱度, 酸性化合物在酸性溶液中易吸附, 碱性化合物在碱性条件下易吸附。2-苯乙醇呈弱酸性, 在酸性环境下稳定, 选择实验在 pH 值 4.0~8.0 之间进行, 结果见图 2, 分析图中结果, 在 pH 值为 5.1 时, 树脂对 2-苯乙醇的平衡吸附量值最大, 为 150.0 mg/g。

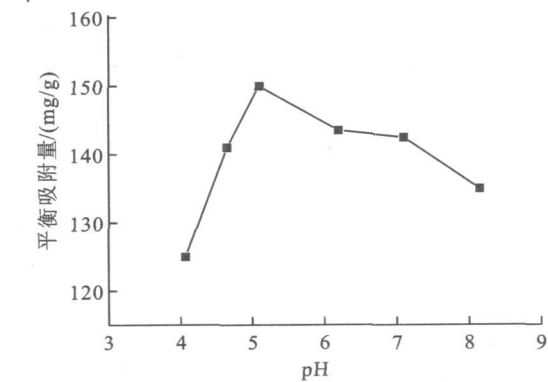


图 2 不同 pH 值溶液对树脂平衡吸附量的影响

Fig. 2 Effect of pH on the adsorption quantity

2.2.2 树脂加入质量对树脂平衡吸附量的影响 树脂的加入量应该以树脂对 2-苯乙醇平衡吸附量大而且溶液中残留的 2-苯乙醇质量浓度低为原则, 从表中数据看, 当树脂加入质量少时, 单位质量树脂的平衡吸附量大, 溶液中残留 2-苯乙醇质量浓度高, 吸附率小; 当树脂加入质量多时, 单位质量树脂的平衡吸附量小, 溶液中残留 2-苯乙醇质量浓度

低, 吸附率大。综合各方面因素, 选取 0.3 g 树脂为最佳加入质量。

表 1 不同树脂加入量对平衡吸附量的影响

Tab. 1 Effect of resin mass on the adsorption quantity			
加入树脂质量/g	残留液中 2-苯乙醇质量浓度/(g/L)	平衡吸附量/(mg/g)	吸附率/%
0.1	3.2	145.0	57.0
0.2	2.4	129.0	61.6
0.3	1.2	122.0	71.4
0.4	1.3	89.3	73.4
0.5	1.4	75.4	75.4

2.2.3 吸附时间对树脂平衡吸附量的影响 对于微孔固体如树脂, 欲达到吸附平衡常需要一定的时间。随着吸附的进行, 吸附剂表面的 2-苯乙醇质量浓度与发酵液相中的 2-苯乙醇质量浓度达到平衡, 即 2-苯乙醇的吸附速率和解吸速率达到平衡, 此时吸附行为不再发生。因此, 2-苯乙醇分子从液相吸附到吸附剂表面并达到平衡需要一定的时间。

从图 3 中可以看出, 随着吸附时间的增加, 2-苯乙醇质量浓度逐渐降低。吸附前期, 时间对质量浓度影响很大, 随着时间的延长, 质量浓度变化趋于平缓, 1.5 h 内基本达到平衡, 因此可以考虑控制吸附时间在 1.5 h 左右。

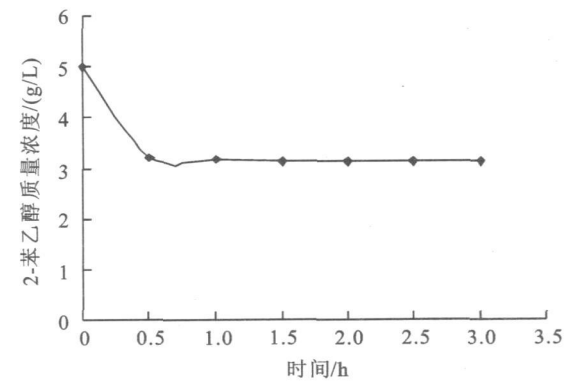


图 3 2-苯乙醇质量浓度随时间变化曲线

Fig. 3 Effect of the adsorption time on the mass concentration

2.2.4 发酵液中 2-苯乙醇质量浓度对树脂平衡吸附量的影响 树脂对 2-苯乙醇的吸附量受 2-苯乙醇初始质量浓度的影响, 图 4 表示了不同温度下树脂对 2-苯乙醇的吸附量随质量浓度的变化。从图中可知树脂对 2-苯乙醇的吸附量都随初始质量浓度的增加而增加。

2.2.5 静态平衡吸附 根据静态平衡吸附实验测定的平衡浓度 C_e , 按照式(1) 计算出平衡吸附量

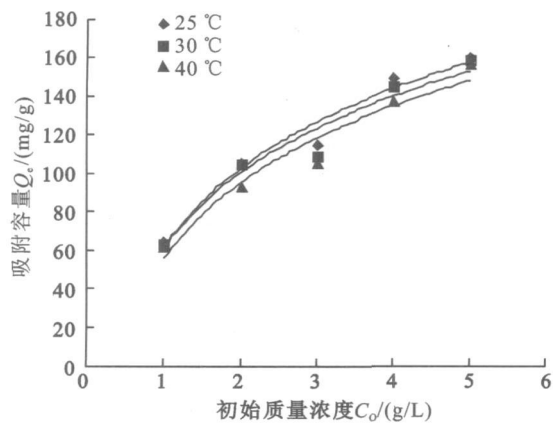


图 4 初始质量浓度对吸附量的影响

Fig.4 Effect of the mass concentration on the adsorption quantity

Q_e，绘制出不同温度下的吸附等温线，如图 5 所示，在不同温度下，HZ816 树脂随温度的升高对 2-苯乙醇的吸附量下降为物理吸附，表明它对 2-苯乙醇的吸附是一个放热过程。

Giles 等在总结了大量的稀溶液吸附的实验结果后，将等温线细致地分成 4 个大类，每个大类又包括若干小类。分类的基本依据是吸附等温线起始段的斜率和随后的变化情况，4 类分别是 S 型、L 型、H 型和 C 型^[10]。从图 5 中可以看出，在不同温度下，等温吸附线都为 L 型，即等温线起始段斜率比较大，且为凸向吸附量轴的曲线；当质量浓度大到一定程度后，吸附量大多不再变化。这种等温线在稀溶液中最为常见，表示溶质比溶剂更易被吸附，即溶剂无强烈竞争吸附能力。

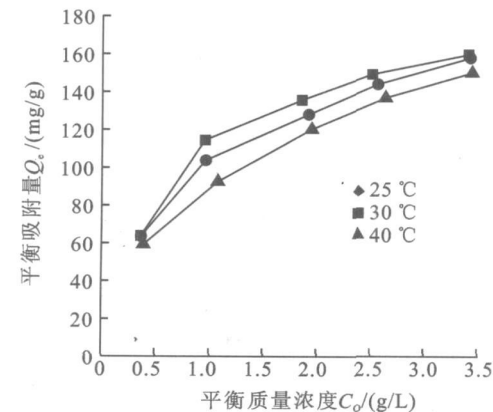


图 5 2-苯乙醇的吸附等温线

Fig.5 Adsorption isotherms of 2 phenylethanol

对于 2-苯乙醇来说，其平衡吸附量 Q_e 随着平衡质量浓度 C_e 的增加而增大。液相吸附的测量数据大多可以用 Freundlich 和 Langmuir 来表示。根据 Freundlich 等温吸附方程和 Langmuir 等温吸附方程对上述等温线进行拟合，结果见表 2 和表 3。

表 2 2-苯乙醇的 Freundlich 吸附等温线方程

Tab.2 Isotherms equation of Freundlich for 2 phenylethanol

温度/ ℃	吸附等温线	K_F	n	R^2
25	$\lg Q_e = 1.9929 + 0.4008 \lg C_e$	7.3	2.5	0.9869
30	$\lg Q_e = 1.9834 + 0.3878 \lg C_e$	7.3	2.6	0.9744
40	$\lg Q_e = 1.9493 + 0.4135 \lg C_e$	7.0	2.4	0.9852

表 3 2-苯乙醇的 Langmuir 吸附等温线方程

Tab.3 Isotherms equation of Langmuir for 2 phenylethanol

温度/ ℃	吸附等温线	Q_m	K_L	R^2
25	$\frac{1}{Q_e} = \frac{0.0037}{C_e} + 0.0057$	175.1	1.6	0.9662
30	$\frac{1}{Q_e} = \frac{0.0036}{C_e} + 0.0060$	166.7	1.7	0.9574
40	$\frac{1}{Q_e} = \frac{0.0040}{C_e} + 0.0063$	158.0	1.6	0.9314

Freundlich 方程:

$$\lg Q_e = \lg K_F + \left(\frac{1}{n}\right) \times \lg C_e \tag{2}$$

式中， n 和 K_F 为 Freundlich 常数。 K_F 反映吸附量的大小， n 描述等温线的变化趋势， $n > 1$ 时为优惠吸附^[10]。

Langmuir 方程:

$$\frac{1}{Q_e} = \frac{1}{Q_m} + \frac{1}{K_L \times Q_m \times C_e} \tag{3}$$

式中， K_L 为吸附系数， Q_m 为单分子层饱和吸附量。

从表 2 不难看出，在作者研究的浓度范围和温度范围内 2-苯乙醇在 HZ816 树脂上的吸附都符合 Freundlich 吸附模型。此外，在不同温度下拟合方程系数 n 都大于 1，表明树脂对 2-苯乙醇的吸附是优惠吸附。由表 3 可知，在低浓度和温度范围内 2-苯乙醇在 HZ816 树脂上的吸附符合 Langmuir 方程，但是温度较高时，线性拟合度不高，这是因为 Langmuir 方程是一个理想的吸附模型，它代表了在均匀表面上吸附分子彼此没有相互作用，而且吸附是单分子层情况下吸附达到平衡时的规律性^[11]，这种理想体系并不能应用在所有的吸附体系中。因为吸附剂表面往往并不存在按化学计量比同吸附质分子结合的吸附位，即吸附剂表面全都是吸附位，而且几乎所有吸附位的吸附能都不相同，表面是非均匀的，所以 Langmuir 模型并不适用。而 Freundlich 吸附方程则是基于单分子层吸附的 Langmuir 方程而提出的经验公式，是以可逆吸附和固体表面不均匀为假设前提的。

通过上述分析,就树脂对2-苯乙醇的吸附等温线看,Freundlich 吸附方程更加适合本文体系,能较好的反映 HZ816 树脂对发酵液中2-苯乙醇的吸附行为。

2.3 洗脱剂的选择

2.3.1 洗脱剂的确定 2-苯乙醇是一种弱酸性物质,对于酸性有机物常采用碱性或有机溶剂洗脱。试验采用几种浓度的乙醇和蒸馏水来比较,结果如图6,可见无水乙醇洗脱率最高,考虑到回收成本,选择无水乙醇作为洗脱剂。

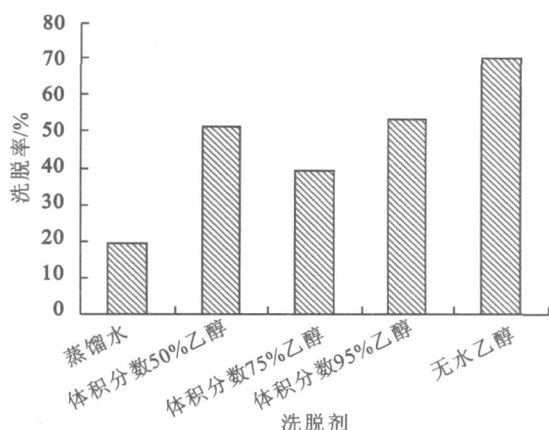


图6 不同洗脱剂对洗脱率的影响

Fig.6 Effect of different eluents on recovery rate

2.3.2 洗脱剂的用量 选择无水乙醇作为洗脱剂,按照1.3.3进行动态洗脱,收集洗脱液,测其2-苯乙醇的质量浓度,用无水乙醇进行洗脱时,洗脱峰集中,无明显拖尾现象,3倍树脂床体积的洗脱液几乎可将2-苯乙醇全部洗出。

3 结 语

通过试验,确定了 HZ816 树脂作为最佳吸附树脂。吸附的最佳 pH 值控制在 5.1,吸附过程为快速平衡,所以时间控制在 1.5 h 之内即可。对 HZ816 树脂的吸附等温线进行分析后可得,吸附更加符合 Freundlich 方程式。在不同温度下, HZ816 树脂随温度的升高对2-苯乙醇的吸附量下降为物理吸附,表明它对2-苯乙醇的吸附是一个放热过程。

树脂加入质量的多少要能使吸附到树脂的2-苯乙醇多且溶液中残留的2-苯乙醇少为宜,试验发现,0.3 g 树脂加入到 10 mL 5.0 g/L 2-苯乙醇溶液中,能提高树脂的利用率,减少2-苯乙醇损失。选择了无水乙醇作为最佳的洗脱剂,洗脱率可达到 64.3%。在将树脂装柱进行洗脱时,洗脱峰集中,且3倍树脂床体积的洗脱液几乎可将2-苯乙醇全部洗出。

参考文献(References):

- [1] Etschmann M M W. Biotechnological production of 2-phenylethanol[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 59: 1- 8.
- [2] 杨霄,崔志峰. 酵母生物转化生产2-苯乙醇的研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(1): 140- 144.
YANG Xiao, Cui Zhifen. Progress in 2-phenylethanol Production by Biotransformation with Yeast[J]. *Appl Environ Bio*, 2006, 12(1): 140- 144.
- [3] Etschmann M M, Schrader W J. An aqueous organic two phase bioprocess for efficient production of the natural aroma chemicals 2-phenylethanol and 2-phenylethylacetate with yeast[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006, 71: 440- 443.
- [4] Juliano Garavaglia, Simone Hickmann. Bioconversion of L-phenylalanine into 2-phenylethanol by *Kluyveromyces marxianus* in grape must cultures[J]. *World J Microbiol Biotechnol*, 2007, 23: 1273- 1279.
- [5] Etschmann M M W. Screening of yeasts for the production of the aroma compound 2-phenylethanol in a molasses based medium[J]. *Biotechnology Letters*, 2003, 25: 531- 536.
- [6] 闫磊,何再安,刘焱文. 大孔吸附树脂在中药研究中的应用[J]. 时珍国医国药, 2006, 12(17): 2585- 2586.
YAN Lei, HE Zai an, LIU Yan wen. Application of macroporous resin in study of traditional Chinese herbs[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2006, 12(17): 2585- 2586.
- [7] 张海珍,陆光华,黎振球. 大孔树脂对苯酚的吸附研究[J]. 水处理技术, 2009, 35(1): 67- 70.
ZHANG Hai zhen, LU Guang hua, LI Zhen qiu. Study on the adsorption capability of macroreticular resin to phenol[J]. *Technology of Water Treatment*, 2009, 35(1): 67- 70.
- [8] 涂茂兵,卢国藩,张彦东,等. 微生物法生产香料苯乙醇的工艺[P]. CN: 1403581A, 2003.3.19.
- [9] Stark D, Zala D, Munch T, et al. Inhibition aspects of the bioconversion of L-phenylalanine to 2-phenylethanol by *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2003, 32: 212- 223.
- [10] 近藤精一,石川达雄,安部郁夫. 吸附科学[M]. 北京:化学工业出版社, 2006. 135- 137.
- [11] 何建玲. 新型吸附树脂对苯乙酸的吸附热力学研究[J]. 离子交换与吸附, 2004, 20(2): 131- 137.
HE Jian ling. The adsorption thermodynamics study on phenylacetic acid by the new adsorption resins[J]. *Ion Exchange and Adsorption*, 2004, 20(2): 131- 137.

(责任编辑:朱明)