

发酵液中手性扁桃酸的分离纯化

李国平¹, 陈剑锋^{1*}, 郭养浩¹, 毕鸣波¹, 肖美添², 黄雅燕² (1. 福州大学生物科学与工程学院, 福建 福州 350002; 2. 华侨大学化工系, 福建 泉州 362011)

摘要:目的 研究发酵液中手性扁桃酸的分离纯化工艺。方法 采用 pH 值电位滴定法测定扁桃酸的离解常数, 采用高效液相色谱法考察扁桃酸在不同溶剂中的溶解度曲线, 采用动态吸附和动态解吸法进行离子交换分离工艺的筛选。结果 扁桃酸的离解常数 pK_a 值为 5.28。扁桃酸在水和苯中的溶解度曲线可分别表示为: $S = 38.756 e^{0.0354 T}$ 和 $S = 0.2746 e^{0.0649 T}$; 扁桃酸在水和苯中的溶解度差值曲线可分别表示为: $\Delta S/S_1 = 0.1196 T - 2.712$ 和 $\Delta S/S_1 = 0.3688 e^{0.0723 T}$ 。采用 711 树脂从发酵液中离子交换分离扁桃酸时, 最适动态吸附条件为上柱液扁桃酸浓度 100 mmol/L、流速 0.5 Bv/h、pH 值 6.4 ~ 7.2、最适动态解吸条件为 2.0% NaOH、解吸流速 0.5 BV/h。扁桃酸纯化工艺条件为 70℃ 热苯萃取和 10℃ 冷却结晶。结论 采用本分离纯化工艺, 发酵液中手性扁桃酸的提取率为 87.8%, 纯度 $\geq 98\%$ 。

关键词: 手性药物; 扁桃酸; 发酵液; 分离; 纯化

中图分类号: R284.2 文献标识码: A 文章编号: 1007-7693(2005)07-0624-05

Separation and purification of chiral drugs mandelic acid from ferment broth

LI Guo-ping¹, CHEN Jian-feng^{1*}, GUO Yang-hao¹, BI Ming-bo¹, XIAO Mei-tian², HUAN Ya-yan² (1. College of Biological Science and Technology, Fuzhou University, Fuzhou Fujian 350002; 2. Department of chemical engineering, Huaqiao university, Quanzhou Fujian 362011)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study a new method for the separation and purification of chiral drugs mandelic acid from ferment broth. **METHODS** The ionization constant of mandelic acid was mensurated by pH potentiometer titration. The solubility curves of mandelic acid in different solvent were determined by HPLC. The separation technics of mandelic acid by ion exchange technology was chosed by dynamic adsorption and dynamic desorption. **RESULTS** The ionization constant pK_a of mandelic acid was 5.28. the solubility of mandelic acid in water and benzene could be respectively denoted with $S = 38.756 e^{0.0354 T}$ and $S = 0.2746 e^{0.0649 T}$, and the difference of solubility of mandelic acid in water and benzene could be respectively denoted with $\Delta S/S_1 = 0.1196 T - 2.712$ and $\Delta S/S_1 = 0.3688 e^{0.0723 T}$. While mandelic acid separated from ferment broth at 711 anion exchange resin, the optimum dynamic adsorption condition was 100 mmol/L mandelic acid concentration, 6.4 ~ 7.2 pH value and 0.5 Bv/h velocity of flow, the optimum dynamic desorption condition was 2% NaOH concentration and 0.5 Bv/h velocity of flow. The purification technics was 70℃ benzene extraction and 10℃ refrigeration crystal. **CONCLUSION** 87.8% mandelic acid more than 98% purity could be separated from ferment broth a by this separation and purification technics.

基金项目: 福建省科技厅重点(2003H023)、福建省计委(闽计 46 号)和福州大学 SRTP(03166)资助项目。

作者简介: 李国平(1983-), 男(汉族), 福建漳州市人, 本科生。

通讯作者: 陈剑锋(1968-), 男(汉族), 福建福鼎市人, 博士, 副教授, 硕士生导师; 研究方向: 生物化工和制药工程。Tel: 13015722868; E-mail: jfchen@fzu.edu.cn

手性合成技术已成为当今世界生物制药和有机化学的研究热点。药物手性化已成为国际新药研究和开发的方向之一。扁桃酸(mandelic acid)是重要的手性药物中间体和精细化工产品,不但可用于合成血管扩张药环扁桃酯、尿路感染消炎药扁桃酸乌洛托品和镇痉药扁桃酸苄酯等药物,而且具有杀精子和灭滴虫的双重作用^[1]。

目前,国内外手性扁桃酸的生产主要采用化学拆分和生物拆分方法从外消旋体混合物中制备。迄今为止,未见采用苯乙酮酸中间体为底物,生物不对称合成 R-扁桃酸或 S-扁桃酸的报导,也未见从发酵液中提取 R-扁桃酸的报道。

发酵液中扁桃酸的分离提取主要是根据目标产物在不同溶剂中溶解度的差异而达到扁桃酸和杂质分开的目的。选择合适的溶剂是扁桃酸分离提取的一个基础,但目前扁桃酸在不同溶剂中溶解度数据国内外未见报道。因此,从发酵液中分离纯化扁桃酸之前,测定扁桃酸溶解度对指导分离工作具有现实意义。

本文通过扁桃酸 pK_a 值的测定,明确扁桃酸分子发生解离呈离子状态的 pH 范围,选择合适的离子交换树脂进行发酵液中扁桃酸的提取,以及选择合适的有机溶剂进行扁桃酸的萃取分离和结晶。

1 材料与方法

1.1 材料

苯乙酮酸购自台州药业医化有限公司;标准品 R(-)-扁桃酸和 S(+)-扁桃酸购自 Sigma 公司。甲醇(色谱纯)和磷酸二氢钾(优质纯)购自江苏汉邦科技有限公司;苯、环乙烷、三氯甲烷、四氯化碳、乙醚、氯化钠、乙醇、丙酮、乙酸乙酯、异丙醇,均为分析纯,购自广东西陇化工厂;扁桃酸发酵液由本课题组生产提供,酵母菌株(*Saccharomyces Cerevisiae* sp. strain by1)为本所保藏菌种。732 和 D186 阳离子交换树脂、711、D315、335 和 D345 阴离子交换树脂,均由上海华震公司馈赠。 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 试剂盒,购自福州市药检所。

1.2 仪器

pH/ACE™ MDQ 型毛细管电泳仪,Beckman 公司;高效液相色谱,UV 检测器(SPD-10A),SHIMADZU 公司;C18 反相柱, $\Phi 4.6 \times 250$ mm,5 μm ,Beckman 公司;Mettler Toled 320-S 型 pH 计,Mettler 公司;Cary50 型紫外分光光度计,Varian 公司;DZ-1 型自动电位滴定装置,上海雷磁仪器厂;ALPHA 1-2 LD 型冷冻干燥机,德国 CHRIST 公司;超滤系统,福建省福龙科技开发公司。

1.3 分析方法

1.3.1 扁桃酸和苯乙酮酸浓度分析^[3]:采用高效液相色谱仪测定。 C_{18} 色谱柱($\Phi 4.6 \times 250$ mm,5 μm),柱温 30℃,UV 检测器,检测波长 220 nm,流动相:50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 6.80):甲醇=9:1(V/V),流速 1.0 mL/min。

1.3.2 扁桃酸的光学对映体含量(e. e 值)测定^[4]:采用毛

细管电泳仪测定。电泳条件:中性熔融硅毛细管柱(I. D. 75 μm ,有效长度 50 cm)。缓冲液为含 150 g/L 羟丙基(((环糊精的 100 mmol/L Tris 磷酸溶液(pH 7.6);分离电压 20 kV;分离柱温 20℃;进样压力 2.76×10^3 Pa,进样时间 8 sec;紫外检测波长 214 nm。标准样品用超纯水配制(Milli.-Q II 型超纯水系统),浓度为 0.75 mmol/L。毛细管预处理:每次使用前分别用超纯水(13.78×10^4 Pa)淋洗 3 min、0.1 mol/L NaOH(6.89×10^4 Pa)淋洗 2 min、超纯水淋洗 3 min。每次进样前用超纯水和缓冲液各淋洗 2 min。

对映体过量值的计算公式: $e. e. = ([R] - [S]) / ([R] + [S]) \times (100\%)$,其中:[R]和[S]是 R 型和 S 型扁桃酸的含量(mmol/L)。单构型扁桃酸的含量测定:配制不同浓度的单构型样品,通过毛细管电泳测定样品的标准曲线,然后根据峰面积的大小,利用外标法计算样品中 R,S 构型的浓度。

1.3.3 扁桃酸 pK_a 值的测定^[5]:在自动电位滴定仪上,用 1 mol/L 的 NaOH 溶液滴定扁桃酸溶液,记录 pH 的变化情况,绘制 V-pH 图。

1.3.4 不同溶剂中扁桃酸溶解度测定^[5]:往装有 5 mL 溶剂的具塞试管中加入足量的扁桃酸固体,于不同温度下振荡溶解至过饱和,静止 10 min,然后取上清液 10 μL 于具塞离心管中,再加入蒸馏水稀释 100 倍后混匀,HPLC 测定扁桃酸浓度,求出扁桃酸在不同温度和不同溶剂中的溶解度。

1.3.5 无机盐的测定: SO_4^{2-} 的测定采用氯化钡沉淀法, Cl^- 测定采用硝酸银沉淀法, Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的测定采用甲基百里香酚蓝络合法。

1.3.6 发酵液中扁桃酸的分离提取:扁桃酸发酵液,经超滤膜(0.1 μm)过滤或离心机(10000 rpm)过滤,滤液以一定的流速过阴离子交换树脂柱吸附后,用去离子水快速冲洗,再用稀 HCl 或者稀 NaOH 以一定的流速洗脱,收集的洗脱液过 732 阳离子交换树脂转型和除盐,收集流出液经真空浓缩后用苯萃取结晶或冷冻干燥成粉。

1.3.7 扁桃酸洗脱液的浓缩和热苯萃取结晶:对所得到的洗脱液采用旋转蒸发浓缩(转速 60 rpm,温度 70℃,真空度为 0.095 Mpa)至浓缩液中开始析出晶体时,以 1:1 比例加入纯苯,在 70℃ 恒温水浴震荡 30 min,然后静置 10 min,取出上层的苯相于容器中,4℃ 冰箱冷却结晶,用 200 目的绢布真空过滤,滤渣于 50℃、真空度 0.095 MPa 下干燥 5 h,得到纯度较高的扁桃酸成品。结晶母液重复上述步骤进行第 2 次浓缩结晶,合并 2 次晶体进行扁桃酸纯度、e. e. 值和浓度的测定,而第 2 次结晶母液改用离子交换树脂脱盐处理后回收再利用。

2 实验结果与讨论

2.1 扁桃酸电位滴定曲线

目前文献报道的常见 pK_a 测定方法有:pH 滴定、电导滴定、线性滴定和电位滴定等,本文采用 pH 电位滴定的方法,通过测定“滴定突跃”pH 范围,绘制扁桃酸滴定曲线,进而编

程计算扁桃酸 pKa 值。

据方法 1.3.3, 分别取 1% 和 2% 的扁桃酸溶液各 50 mL, 在 30℃ 下, 通过自动电位滴定仪用 1 mol/L NaOH 溶液进行滴定, 根据 pH 的变化情况, 绘制不同浓度扁桃酸电位滴定曲线。

1% 和 2% 扁桃酸滴定曲线的突跃 pH 值范围分别为 5.08 ~ 10.55 和 5.23 ~ 10.43, 相应地各 pH 值突跃过程所消耗的 1 mol/L NaOH 溶液分别为 0.05 mL 和 0.1 mL。经编程

联立方程组计算得扁桃酸 pKa = 5.28。

2.2 不同溶剂中扁桃酸的溶解度曲线

据方法 1.3.4, 测定不同温度 (10℃ ~ 70℃) 条件下, 扁桃酸在水及其它极性和非极性有机溶剂中的溶解度变化情况, 绘制扁桃酸溶解度曲线 (S-T) 和溶解度差值曲线 ($\Delta S/S_1$ -T)。研究结果示于图 1 ~ 图 3。S₁ 指 10℃ 时扁桃酸在溶剂中的溶解度 g/L; ΔS 指不同温度时扁桃酸在溶剂中的溶解度与 10℃ 时的差值 g/L。

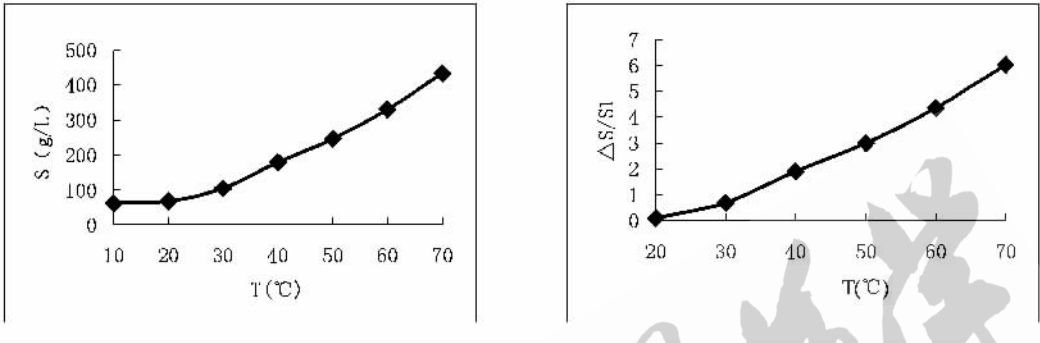


图 1 扁桃酸在水中 S-T 和 $\Delta S/S_1$ -T 曲线

Fig 1 S-T curve (a) and $\Delta S/S_1$ -T curve (b) of mandelic acid in water

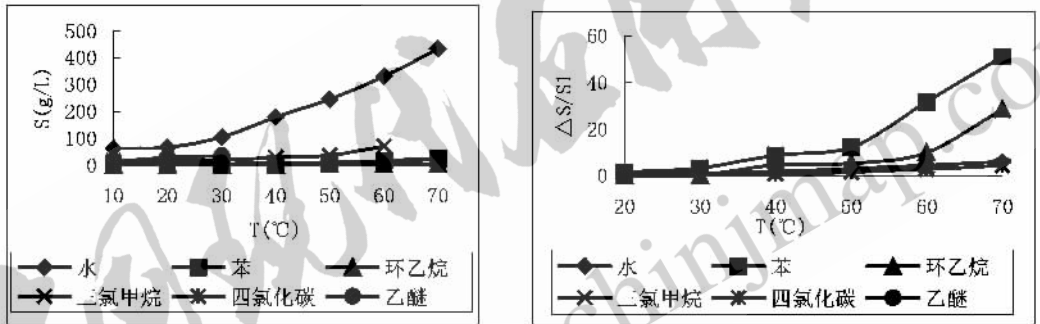


图 2 扁桃酸在非极性溶剂中 S-T 和 $\Delta S/S_1$ -T 曲线

Fig 2 S-T curve (a) and $\Delta S/S_1$ -T curve (b) of mandelic acid in nonpolar solvent

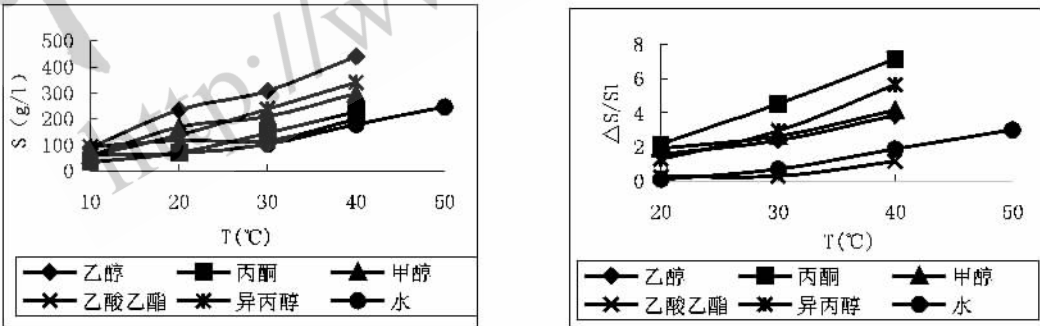


图 3 扁桃酸在极性溶剂中 S-T 和 $\Delta S/S_1$ -T 曲线

Fig 3 S-T curve (a) and $\Delta S/S_1$ -T curve (b) of mandelic acid in polar solvent

2.2.1 扁桃酸在水中溶解度曲线

图 1 显示, 在 10℃ 和 70℃ 时, 扁桃酸在水中溶解度分别为 61.69 g/L 和 433.88 g/L, 在扁桃酸的正常发酵温度 (30℃) 时, 扁桃酸的溶解度为 104.41 g/L, 仅为 10℃ 的 1.68 倍。对扁桃酸在水中的溶解度曲线进行拟合, 可得到数学表达式为: $S = 38.756 e^{0.0354 T}$, $R^2 = 0.9808$ 。

2.2.2 扁桃酸在非极性溶剂中的溶解度曲线

从图 2 可以发现, 与水为溶剂相比, 扁桃酸在所选择的非极性溶剂中的溶解度大大降低。在 10℃ 时, 扁桃酸在苯、环己烷、三氯甲烷、四氯化碳和乙醚中的溶解度分别为同温度水中溶解度的 0.75%、0.26%、23.67%、5.82% 和 19.87%。即使在 70℃ 时, 扁桃酸在苯、环己烷和四氯化碳中

的溶解度也分别仅为 23.53 g/L、4.70 g/L 和 19.15 g/L，为同温度条件下水中溶解度的 5.42%、1.08% 和 4.41%。

对扁桃酸在非极性溶剂中的溶解度曲线进行拟合，可得扁桃酸在苯、环己烷、三氯甲烷、四氯化碳和乙醚等非极性有机溶剂中溶解度曲线的数学表达式分别为： $S = 0.2746e^{0.0649T}$ ， $R^2 = 0.9914$ ； $S = 0.0584e^{0.0594T}$ ， $R^2 = 0.9325$ ； $S = 9.0019e^{0.0303T}$ ， $R^2 = 0.9087$ ； $S = 2.3634e^{0.0282T}$ ， $R^2 = 0.9626$ ； $S = 20.558\ln(T) - 34.816$ ， $R^2 = 0.9971$ 。

从图 2 还可以看出，在相同温度条件下，扁桃酸在苯中的溶解度远小于在水中的溶解度。但与水为溶剂相比，温差变化对扁桃酸在苯中的溶解度影响更大。当温度从 70℃ 降至 10℃ 时，扁桃酸在苯中的溶解度差值可高达 50.15 倍，而同条件下采用水为溶剂时，这种差值仅达 6.03 倍。对扁桃酸在水中溶解度差值曲线进行拟合，可得到数学表达式为： $\Delta S/S_1 = 0.1196T - 2.712$ ， $R^2 = 0.982$ 。对扁桃酸在苯中溶解度差值曲线进行拟合，可得到数学表达式为： $\Delta S/S_1 = 0.3688e^{0.0723T}$ ， $R^2 = 0.9853$ 。因此，在本实验条件下，苯最适合用于扁桃酸的冷却结晶和重结晶操作。

2.2.3 扁桃酸在极性溶剂中的溶解度曲线

从图 3 结果可以看出，相同条件下，扁桃酸在极性溶剂中的溶解度均不低于在水中的溶解度。40℃ 时，扁桃酸在乙醇、丙酮、甲醇、乙酸乙酯和异丙醇的溶解度分别为在水中 2.46 倍、1.28 倍、1.67 倍、1.12 倍和 1.91 倍。与 10℃ 相比，40℃ 条件下扁桃酸在所选用的极性溶剂中的 $\Delta S/S_1$ 均可达 4.0 左右，约为水中的 2.11 倍。

综合图 2 ~ 图 3 的结果，可以认为在本实验条件下，温差对扁桃酸在苯中的溶解度影响最大，在扁桃酸分离纯化工艺中，苯是最适合的溶剂，可以采用 70℃ 的热苯从扁桃酸浓缩液中抽提扁桃酸，降温到 10℃ 进行冷却结晶。

2.3 发酵液中 R-(-)-扁桃酸的分离纯化

离子交换法分离扁桃酸的主要依据是离子交换树脂对扁桃酸和杂质的亲和力的不同。离子交换树脂对扁桃酸的亲和力取决于扁桃酸的理化性质、树脂的功能团特点以及溶液中其它杂质的影响。由于扁桃酸 $pK_a = 5.28$ ，为弱酸性有机酸，根据离子交换理论，宜用碱性树脂进行分离提取。同时，由于扁桃酸发酵液中组分较复杂，不但有目标产物扁桃酸，还有大量菌体及未用完的培养基，发酵液中富含杂蛋白质和其它无机盐离子，这些杂质在分离提取时必须去除。因此，有必要对阳离子树脂去除蛋白质、色素和无机盐的效果进行探讨。

2.3.1 阳离子交换树脂的选择

由于流加发酵过程 pH 值一般控制在 6.5 左右，此时扁桃酸分子的羧基已完全解离，发酵液中扁桃酸带负电，可以采用阳离子交换树脂吸附发酵液中的金属离子以及带正电的蛋白质，能够达到除去部分杂质的目的。

因此，本文对强酸性阳离子交换树脂 732 和弱酸性阳离子交换树脂 D186 的吸附特性进行了考察，动态吸附条件为：上柱液为 2% 扁桃酸配制溶液（内含 1% $CaCl_2$ ，pH 1.6，初始

$OD_{220} 1.240$ ），玻璃柱尺寸 18mm × 300mm，上柱流速 0.5 BV/h，树脂体积 50 mL。图 4 为 732 和 D186 对扁桃酸溶液的漏出曲线。结果显示，732 树脂对扁桃酸的吸附较小，约为 0.13 mmol/mL 树脂，而 D186 树脂对扁桃酸吸附较大，约为 0.21 mmol/mL 树脂。732 树脂对扁桃酸的漏出曲线较 D186 陡，更易使扁桃酸与杂质分离开来，更适合扁桃酸的过柱转型。采用 Ca 试剂盒测定 732 树脂过柱流出液，发现 Ca 离子漏出时流出液体积约 400 mL，为 D186 树脂的 13 倍。因此选用 732 树脂用于后续发酵液的除杂与洗脱液的转型。

2.3.2 阴离子交换树脂的选择

由于扁桃酸发酵液中除扁桃酸离子外，还有 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 等阴离子和杂蛋白，这些离子对树脂的亲力和存在一定差异，在选择阴离子交换树脂时，可采取 2 个思路：①选择对无机离子和杂蛋白亲和力较强，而对扁桃酸亲和力较弱的树脂。当发酵液上柱时，大量的无机离子杂质和部分蛋白质被吸附在树脂上，而扁桃酸大量流出，起到一个过柱的目的。②或者相反，上柱时，树脂大量富集扁桃酸，然后通过酸或碱解吸的方式，而达到与杂质分离的目的。

本文代表性地选择了强碱性阴离子交换树脂 711（苯乙烯系），弱碱性阴离子交换树脂 D315（丙烯酸系）、D345（酚醛系）和 335（环氧系），进行扁桃酸漏出曲线的考察，动态吸附条件为：上柱液为 2% 扁桃酸配制溶液（含 2% NH_4Cl ，pH 0.41， $OD_{220} = 1.236$ ），玻璃柱尺寸 18mm × 300mm，树脂体积 30 mL，上柱速度 0.5 mL/min。结果（示于图 5）显示，所选树脂对扁桃酸吸附亲和力由大到小依序为：711 > D345 > 335 > D315。虽然 D315 对扁桃酸的吸附能力较弱，很快扁桃酸就开始漏出，似乎较适合于采用第①种思路，但由于扁桃酸漏出后约 1 倍床层体积时， Cl^- 也开始漏出，无法达到扁桃酸和 Cl^- 的有效分离，D345 和 335 树脂的情况也类似。采用 711 树脂时，扁桃酸漏出曲线相对较平缓，且 Cl^- 漏出点很后面，较适合于采用第②种思路进行分离。因此选用 711 树脂用于后续的扁桃酸分离纯化。

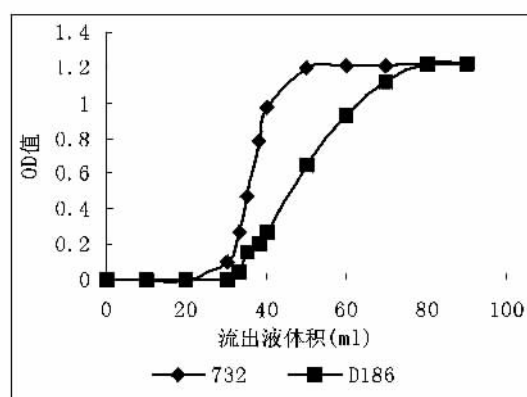


图 4 阳离子交换树脂对扁桃酸的漏出曲线

Fig 4 Permeable curve of mandelic acid at cation exchange resin

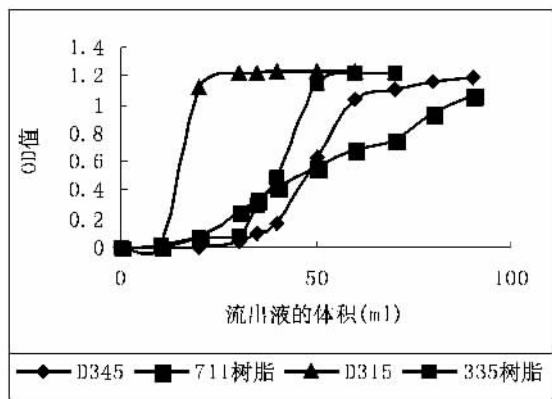


图5 阴离子交换树脂对扁桃酸的漏出曲线

Fig 5 Permeable curve of mandelic acid at anion resin

2.3.3 711 树脂吸附工艺的选择

① 吸附方式的选择

树脂吸附有静态吸附和动态吸附两种方式,预试验发现,静态吸附虽然也能达到对发酵液中扁桃酸的有效吸附的目的,每 mL 树脂吸附扁桃酸也能达到动态吸附的 85%。但采用动态吸附时,由于 711 树脂对 Cl^- 的吸附集中在柱子的上半部分,更有助于后续的洗脱条件的选择,因此后续研究中选用动态吸附、动态解吸的工艺。

② 树脂型式的选择

711-Cl 型和 711-OH 型两种树脂对扁桃酸吸附能力并无显著差异,但是由于 711-OH 在吸附过程中不断有 OH^- 交换到溶液中,能使体系 pH 逐渐上升,有助于扁桃酸进一步发生解离和富集,同时可以采用 pH 值的变化特征作为终点判断的一个依据。因此,选择 711-OH 型用于后续研究中。

③ 树脂吸附条件的选择

选用动态吸附工艺时,当离子交换树脂及其型式确定后,影响树脂吸附能力的主要因素为上柱时的 pH 值、上柱液浓度和上柱流速。由于发酵过程结束时,发酵液 pH 值相对恒定于 6.3~7.2 范围内,扁桃酸浓度可达到 60~130 mmol/L。因此,取某批发酵液(扁桃酸浓度为 55.3 mmol/L, pH 6.85)通过外加扁桃酸纯品和稀 HCl 调 pH 的方法进行正交实验。

表 1 所示为 711 树脂动态吸附扁桃酸正交因素水平编码表。评价时综合考虑了扁桃酸漏出时的体积,单位树脂对扁桃酸的吸附量和对杂质的吸附量等三个因素。对实验结果进行方差分析后显示,在本编码条件下,正交因素显著性排序为上柱流速 > 扁桃酸浓度 > pH 值,711 树脂最适上柱吸附条件为:扁桃酸浓度 100 mmol/L、上柱流速 0.5 Bv/h、上柱

表1 动态吸附正交试验因素水平编码表

Tab 1 List about dynamic adsorption experiment

因素	水平	1	2	3
扁桃酸浓度 (mmol/L)		60	100	150
pH		5.6	6.4	7.2
流速 (BV/h)		0.5	1.0	1.5

时 pH 值 6.4~7.2。结果表明,后续研究中可以采用发酵液原液直接上柱吸附,但上柱流速有待进一步优化。

2.3.4 711 树脂解吸工艺的选择

发酵液经 711 树脂吸附后,可以采用稀 HCl 或稀 NaOH 两种方式进行解吸。用稀 HCl 解吸时,由于 Cl^- 对 711 树脂的亲合力大于扁桃酸,因此 Cl^- 能将扁桃酸置换到洗脱液中,当流出液中出现 Cl^- 漏出时,表明大部分树脂已为 Cl^- 所吸附,此时可以结束解吸。当用稀 NaOH 进行解吸时,解吸液中 OH 首先把集中于柱子上半部分的 Cl^- 置换出来,置换出来的 Cl^- 又再一次在柱子下面部分交换到树脂上,而把原来吸附在树脂上的扁桃酸置换出来。同样地,当流出液中出现 Cl^- 漏出时可结束解吸。因此,本文对采用稀 NaOH 进行动态解吸的正交因素(表 2)进行考察,结果显示,711 树脂最适解吸条件为 2.0% NaOH、流速 0.5 BV/h。

表2 动态解吸正交试验因素水平编码表

Tab 2 List about dynamic desorption experiment

因素	水平	1	2
NaOH 浓度 (%)		1.0	2.0
流速 (BV/h)		0.5	1.0

2.3.5 扁桃酸分离纯化工艺确认实验

据方法 1.3.6 和 1.3.7,采用 2.3 的研究结果所选择的最优条件,对 145 mL pH 值为 6.85、浓度为 67.5 mmol/L 的扁桃酸发酵液,以 0.5 BV/h 流速过 30 mL 的 711 树脂,进行发酵液中扁桃酸的分离提取和洗脱液的浓缩和热苯萃取结晶,得到结晶产品 1.2812 g。

称取一定量的扁桃酸晶体成品,重新溶解在去离子水中,用液相色谱检测扁桃酸晶体的纯度,结果显示,扁桃酸结晶成品中只有扁桃酸一种组分,在副产物和底物苯乙酮的位置未出峰,也未见其它杂质峰。对扁桃酸晶体成品的钙离子、硫酸根离子和氯离子残留情况进行了检测,结果发现除有少量氯离子外,其余两种离子均未检测出。

分析整个工艺的扁桃酸收率:145 mL pH 值为 6.85、扁桃酸浓度为 67.5 mmol/L 的发酵液上 711 树脂柱后吸附率为 97.1%,洗脱收率为 91.1%,浓缩后热苯重结晶得到产品为 1.2812g,整个工艺流程扁桃酸的收率为 87.8%,纯度 $\geq 98\%$ 。

参考文献

- [1] 李生正,王云彩,周钢,等.扁桃酸结晶工艺的改进[J] 西北药学杂志,1997,12(4):176.
- [2] 黄雅燕,肖美添,郭养浩等.毛细管电泳测定发酵液中扁桃酸的对映体含量[J].药物分析杂志,2004,24(5):460-463.
- [3] 肖美添,黄雅燕,郭养浩等.生物不对称合成 R-(-)-扁桃酸的影响因素[J].过程工程学报,2004,4(1):32-36.
- [4] 陈剑锋,郭养浩,孟春等.手性药物扁桃酸的理化特性测定[J].福州大学学报,2005,33(3):395-399.

收稿日期:2005-04-30