

文章编号: 1000-5013(2010)02-0196-04

醇沉-萃取法提取(2S,5S)-2,5-己二醇

张亚武, 肖美添, 叶静, 黄雅燕

(华侨大学 化工学院, 福建 泉州 362021)

摘要: 利用醇沉-萃取法,从生物转化发酵液中提取(2S,5S)-2,5-己二醇,并考察醇沉、萃取和结晶的工艺条件.结果表明,醇沉时,加入的乙醇与浓缩发酵液的最佳体积比为 2:1,pH 值对醇沉效果影响显著,强碱和强酸条件下可使大部分杂质析出.经乙酸乙酯连续 5 次萃取,醇沉浓缩液中 2,5-己二醇的萃取率达 75.0%.通过优化后的工艺进行分离纯化,发酵液中 2,5-己二醇总提取率为 49.2%,纯度 98.0%,(2S,5S)-2,5-己二醇的光学纯度值在提纯前后均为 94.5%.

关键词: (2S,5S)-2,5-己二醇;醇沉;萃取;发酵液

中图分类号: TQ 223.16⁺2; TQ 028.3⁺3

文献标识码: A

具有特定基团的光学活性醇,是合成许多手性药物和其他手性化学品的重要手性砌块.(2S,5S)-2,5-己二醇作为一种具有光学活性的手性醇,既是降压药卡托普利、地尔硫卓的中间体^[1],也是合成手性氨基酸、离子液体、手性醇等多种手性化合物的催化剂,同时也是手性双磷杂环戊烷配体(DuPHOS)的重要配体^[2-5].目前,国外工业规模制备(2S,5S)-2,5-己二醇的方法,主要是使用脂肪酶水解拆分外消旋 2,5-己二醇,但其目标产物的最终产率为 25%.采用面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)不对称还原羰基化合物合成手性醇的方法,具有高选择性、低成本、装置简单等显著的优点.微生物转化发酵液通常成分复杂、产物浓度低,因此从中分离纯化制备高纯度手性醇是另一项重要工作.许多研究先采用离心或膜(如纤维膜)过滤去除菌体,再通过萃取剂萃取^[6]、分子筛^[7]、离子交换树脂^[8-9]、沸石膜^[10-11]或电渗析等方法去除发酵液中大部分杂质,然后通过减压蒸馏(或精馏)制备高纯度手性醇.2,5-己二醇沸点较高(212~215℃),且在发酵液中的浓度较低,利用蒸馏能耗非常大,因此,其提取通常采用先浓缩,后萃取、结晶等方法.Joan 等^[12]将发酵液浓缩后,直接用乙酸乙酯萃取获得 2,5-己二醇,目标产物得率达到 57%,纯度为 95%.本文研究醇沉-萃取法从发酵液中提取(2S,5S)-2,5-己二醇的工艺条件.

1 材料与实验方法

1.1 材料

2,5-己二酮,外消旋 2,5-己二醇(HD),(2S,5S)-2,5-己二醇(S-HD),(2R,5R)-2,5-己二醇(R-HD),S-(+)-2-苯乙基异氰酸酯(S-(+)-PEIC),均购自美国 Sigma 公司;(S)-5-羟基-2-己酮,购自瑞士 Fluka 公司;其余试剂均为国产分析纯或色谱纯.

1.2 分析方法

2,5-己二酮,5-羟基-2-己酮,2,5-己二醇浓度的测定参见文[13-14].(2S,5S)-2,5-己二醇对映体过量值的测定参见文[15].将样品在马弗炉内(600℃)灼烧 12 h 至完全灰化,进行产品的灰度测定.

1.3 2,5-己二醇的分离与纯化

取 500 mL 含 80 mmol·L⁻¹的 2,5-己二醇的生物转化发酵液,离心除去微生物细胞等悬浮物质,上清液转入旋转蒸发器中进行减压蒸馏.减压蒸馏条件:转速为 50 r·min⁻¹,真空度为 0.093~0.097

收稿日期: 2008-08-13

通信作者: 肖美添(1968-),男,副教授,主要从事生物催化与生物合成的研究. E-mail: mtxiao@hqu.edu.cn.

基金项目: 福建省泉州市科技计划重点项目(2006G05)

MPa, 温度为 55 ~ 60 。发酵液浓缩一定时间后倒出, 待其自然冷却后加入一定量无水乙醇, 调节 pH 值并搅拌 30 min, 静置 4 h 后于离心机 (4 000 r · min⁻¹) 中离心分离沉淀物。沉淀物用乙醇洗涤数次, 合并上清液进行减压蒸馏 (条件同上)。蒸馏出大部分乙醇后, 浓缩液用以体积比为 2 : 1 的乙酸乙酯连续萃取数次, 合并萃取液, 浓缩、结晶后得到 2,5-己二醇粗产品。粗产品经重结晶, 可得到高纯度产品。

图 1 是 2,5-己二醇分离纯化的工艺流程图。在砂芯上放棉花、滤纸, 将样品放在滤纸上; 圆底烧瓶中加入溶剂, 加热回流, 溶剂经冷凝管冷凝后与样品接触, 将其溶解、过滤后放入圆底烧瓶中。经不断的溶解、过滤和溶剂回流, 达到重结晶的目的。此装置用于微量物质的重结晶, 损失较少。

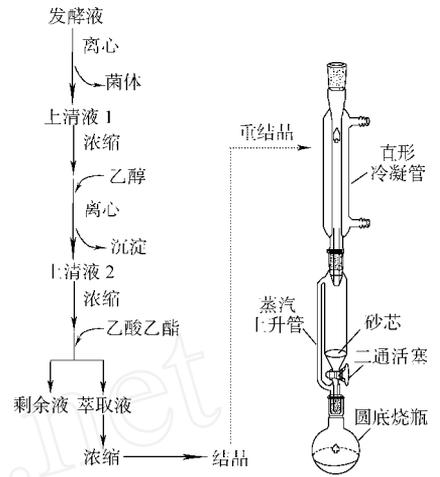


图 1 醇沉-萃取工艺流程图

Fig. 1 Process flow diagram by a combination of alcohol precipitation and extraction

2 实验结果与讨论

2.1 乙醇加入量的确定

发酵液成分复杂, 经离心除去微生物细胞的发酵液中除了含有 2,5-己二醇外, 还含有多种盐和微生物代谢产生的甲酸、乙酸、乙醇、乳酸、蛋白质等杂质。减压浓缩时, 随着发酵液中低沸点的乙醇和水分被不断蒸出, 残留的蛋白质、核酸和多糖等大分子物质与有机盐及无机盐的浓度会逐渐升高, 以至呈现浆糊状, 使萃取、结晶操作难以继续, 2,5-己二醇的收率降低。所以, 在萃取前要除去这些杂质。由于蛋白质、核酸、多糖、有机盐及无机盐等物质不溶于乙醇, 所以选用乙醇作为沉淀剂。

取 5 mL 浓缩液, 考察乙醇与浓缩液体积比对分离沉淀物干质量 (m) 的影响, 如图 2 所示。从图 2 可以看出, 当乙醇加入量增加时, 沉淀物干质量也随着增加; 当乙醇与浓缩液体积比超过 2 : 1 后, 沉淀物干重增加不明显。因此, 醇沉时, 乙醇与浓缩液的最佳体积比为 2 : 1。

2.2 pH 值对醇沉效果的影响

取 5 mL 浓缩液, 加入 10 mL 无水乙醇, 搅拌均匀后分别用 15 mol · L⁻¹ NaOH 溶液或浓盐酸调节混合溶液的 pH 值。考察 pH 值对醇沉效果的影响, 如图 3 所示。从图 3 可以看出, 强碱或强酸条件下沉淀效果较好。经检测发现, 在碱性和酸性条件下沉淀出的杂质成分不同, 碱性条件下的沉淀大部分是蛋白质、核酸等, 酸性条件下的沉淀大部分是无机盐和有机盐。因此, 在醇沉的过程中, 先在溶液中加入强碱去除蛋白质、核酸等杂质, 再加入强酸去除盐类杂质。

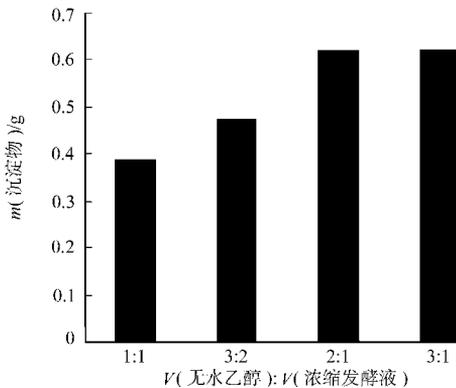


图 2 乙醇加入量对沉淀效果的影响

Fig. 2 Effect of alcohol addition on dry weight of precipitate

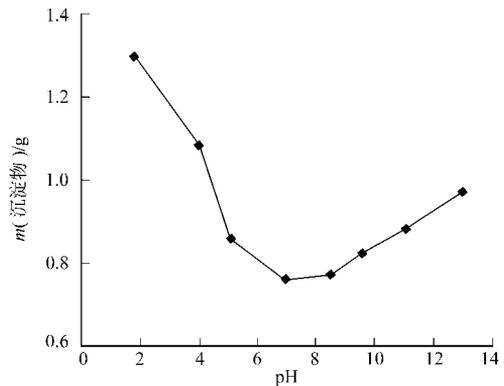


图 3 pH 值变化对沉淀效果的影响

Fig. 3 Effect of pH value on dry weight of precipitate

2.3 萃取次数对 2,5-己二醇萃取率的影响

将去除了大部分杂质的含 2,5-己二醇的乙醇溶液减压浓缩, 蒸去大部分乙醇后, 加入 2 倍浓缩液体

积的乙酸乙酯进行萃取.连续萃取6次,每次萃取后合并萃取液,分别测定每次合并的萃取液中2,5-己二醇的量,并计算其萃取率(η).萃取次数(n)对2,5-己二醇萃取率的影响,如图4所示.由图4可知,经过5次萃取,2,5-己二醇的萃取率达75.0%;其后,再增加萃取次数,2,5-己二醇的萃取率增加不明显.因此,确定乙酸乙酯萃取次数为5次.

2.4 重结晶及2,5-己二醇的纯度检测

含2,5-己二醇的乙酸乙酯萃取液经浓缩后,可结晶出2,5-己二醇粗产品,纯度达85%~90%.如果要得到纯度更高的2,5-己二醇,需要进行重结晶.重结晶及真空干燥后,所得到最终产品的红外光谱(IR)如图5所示.从图5可知,精制产品的红外光谱图与标准品的基本一致,可知最终产品已达到较高的纯度.

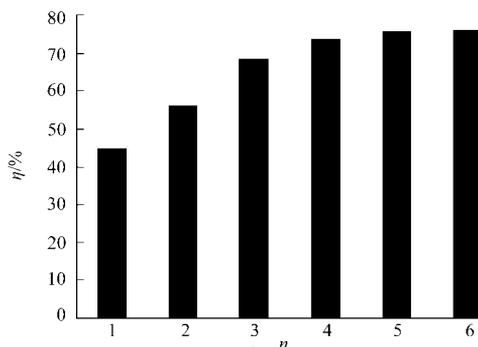


图4 萃取次数对产物萃取率的影响

Fig. 4 Effect of extraction number on yield of product

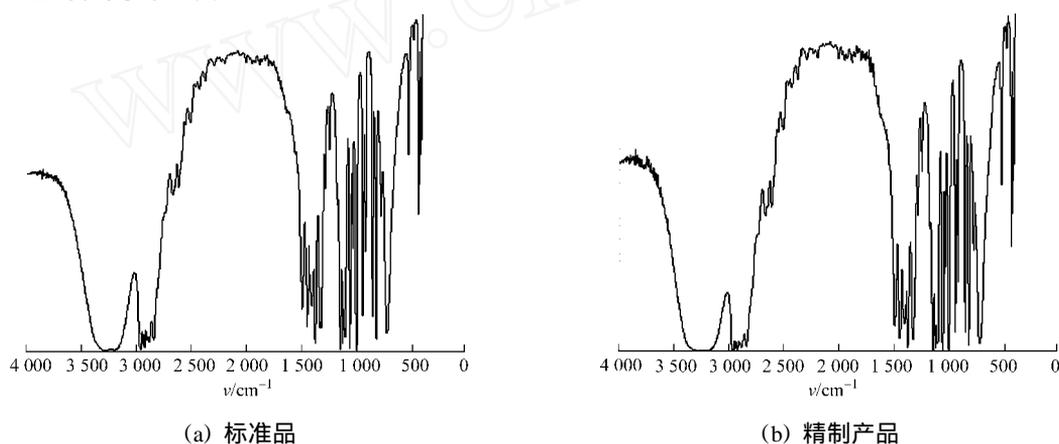


图5 2,5-己二醇的红外图谱

Fig. 5 IR spectrums of standard sample and refined product

最终精制产品的气相色谱图,如图6所示.由图6可知,产品在气相色谱图上基本上为单一的对称峰,未见其他物质的色谱峰.经计算,最终产品的纯度大于等于98.0%.另外,灰化测定表明,产品中不含盐类物质.由气相色谱检测可知,分离及纯化过程的目的产品——(2S,5S)-2,5-己二醇的光学纯度没有变化,提纯前后的光学纯度值均为94.5%.

3 结束语

所提出的工艺路线具有设备投资少、工艺简单的特点,可为生物转化发酵液中醇类化合物的分离纯化提供参考.在研究中还发现,生物转化过程中未反应完全的中间产物和葡萄糖会影响分离提纯,所以需使中间产物和葡萄糖反应完全.另外,发酵液中2,5-己二醇的浓度高,提取率也较高.

华侨大学化工学院金春英和李夏兰老师给予指导和帮助,特此致谢.

参考文献:

- [1] KIM B H, LEE H B, HWANG J K, et al. Asymmetric induction in the conjugate addition of thioacetic acid to methacrylamides with chiral auxiliaries[J]. Tetrahedron, 2005, 16(6): 1215-1220.

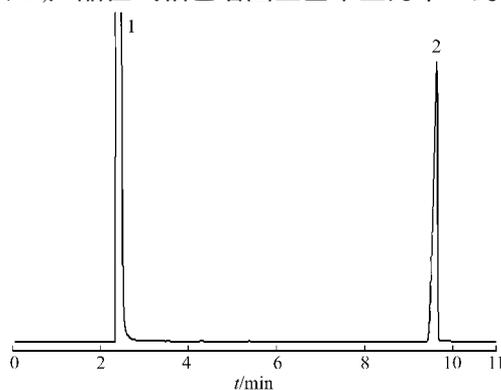


图6 精制产品的气相色谱图

Fig. 6 Gas chromatogram of the refined product

- [2] COBLEY C J ,LENNON I C ,MC C R . On the economic application of DuPHOS rhodium() catalysts: A comparison of COD versus NBD precatalysts[J]. *Tetrahedron Lett* ,2001 ,42(42) :7481-7483.
- [3] BURK M. Modular phospholane ligands in asymmetric catalysis[J]. *Acc Chem Res* ,2000 ,33(6) :363-372.
- [4] 乐长高,胡焱. DuPHOS在不对称催化氢化中的研究进展[J]. *化工时刊* ,2002 ,16(10) :18-21.
- [5] 梅余霞,谢晓兰,万宁,等. 木糖醇发酵液脱色的优化工艺[J]. *华侨大学学报:自然科学版* ,2000 ,21(4) :394-398.
- [6] JANUSZ J M. Evaluation of liquid extraction potentials for downstream separation of 1,3-propanediol[J]. *Biotechnol Tech* ,1999 ,13(1) :127-130.
- [7] NORTON T,CORBIN D R. Process to separate 1,3-propanediol or glycerol or a mixture thereof from a biological mixture:US,6603048[P]. 2003-08-05.
- [8] ROTURIER J M,FOUACHE C,BERGHMANS E. Process for purification of 1,3-propanediol from a fermentation medium:US,6428992[P]. 2000-11-14.
- [9] HILAL Y A K,BINDER T P. Method of recovering 1,3-propanediol from a fermentation broth:US,6479716[P]. 2005-03-15.
- [10] LI S,TUAN V A,FALCONER J L,et al. Separation of 1,3-propanediol from glycerol and glucose using a ZSM-5 zeolite membrane[J]. *J Membr Sci* ,2001 ,191(1) :53-59.
- [11] LI S,TUAN V A,FALCONER J L,et al. X-type zeolite membranes: Preparation, characterization, and pervaporation performance[J]. *Microporous Mesoporous Mater* ,2002 ,53(1/3) :59-70.
- [12] JOAN K,LIESER. A simple synthesis of (S,S)-2,5-hexanediol[J]. *Synthetic Communications* ,1983 ,13(9) :765-767.
- [13] 肖美添,连少鸿,张亚武,等. 气相色谱法测定酵母转化2,5-己二酮发酵液中的主要成分[J]. *分析实验室* ,2009 ,28(21) :94-97.
- [14] 连少鸿,肖美添,张亚武,等. 面包酵母催化不对称还原2,5-己二酮[J]. *化学研究与应用* ,2008 ,20(1) :45-48.
- [15] 董建勋,肖美添,连少鸿,等. 柱前衍生化-毛细管柱气相色谱法分离2,5-己二醇对映体[J]. *分析实验室* ,2006 ,5(10) :79-82.

Extraction of (2S,5S)-2,5-Hexanediol Via a Combination of Alcohol Precipitation and Extraction

ZHANG Ya-wu , XIAO Mei-tian ,
YE Jing , HUANG Ya-yan

(College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: The technological conditions of extracting (2S,5S)-2,5-hexanediol from fermentation broth by a combination of alcohol precipitation and extraction was investigated. The refined product 2,5-hexanediol was obtained from fermentation broth by centrifugation, alcohol precipitation, extraction, crystallization and recrystallization. The results showed the optimal volume ratio of alcohol to condensed fermentation broth in alcohol precipitation was 2:1. The pH value of broth had great effect on precipitation, most impurities could be precipitated under strong acidity or basicity condition. And, after five consecutive extractions from concentrated liquid with ethyl acetate, the yield of 2,5-hexanediol could reach 75.0%. By using the optimal process of separation and purification from fermentation broth, the yield of 2,5-hexanediol was 49.2%, and its purity could be up to 98.0%. The optical purity value of the refined product (2S,5S)-2,5-hexanediol could be kept at 94.5% after purification process.

Keywords: (2S,5S)-2,5-hexanediol; alcohol precipitation; extraction; fermentation broth

(责任编辑:黄晓楠 英文审校:陈国华)