

文章编号 :1009 - 038X(2000)05 - 0430 - 03

曲酸提取工艺

孙微, 傅莺莺, 许正宏, 孙克, 陶文沂

(无锡轻工大学生物工程学院, 江苏无锡 214036)

摘要:对发酵法生产曲酸中提取流程及脱色工艺进行了研究,获得了曲酸在不同温度下的溶解度以及脱色过程中活性炭的种类、用量、脱色温度、最佳脱色 pH 值等工艺条件,针对与曲酸有络合作用的 Fe^{3+} 等金属离子采用了强酸型阳离子树脂脱色的工艺,通过不同提取流程的比较选择,获得 91.8% 的脱色效果与 72.4% 的产品得率。

关键词:曲酸;脱色;提取

中图分类号:O622

文献标识码:A

A Study of Extracting Procession of Kojic Acid

SUN Wei, FU Yin-yin, XU Zheng-hong, SUN Ke, TAO Wen-yi

(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract: In this article, extracting procession and depigmentation on kojic acid production were studied. The solubility of kojic acid, type of active carbon as depigmentary agent, dosage, temperature and pH value were studied. For removing the chelated Fe^{3+} and other metal ions on kojic acid, the cation exchange resin 732 could be used. After comparing four different extracting processions, the optimum depigmentation rate 91.8% and the expecting recovery yield 72.4% were obtained.

Key words: kojic acid; depigmentation; extraction

曲酸(kojic acid)是微生物产生的一种具有抗菌作用的有机酸,化学名称为 5-羟基-2-羟甲基- γ -吡喃酮(2-Hydroxymethyl-5-hydroxy- γ -pyrone)^[1]。20 世纪 60 年代曲酸曾广泛用于增香剂,杀虫抗菌剂,铁分析试剂,胶片去斑剂中,近年来国外将曲酸及其衍生物用于美白化妆品,食品护色、果蔬保鲜、鲜切花保鲜延长货架期及制药等方面,曲酸产品日益受到重视^[2~4]。

传统的曲酸的提取方法有锌盐或铜盐沉淀法,此法操作复杂,其中还要用到二氧化硫,污染严重。由于曲酸在水中溶解度梯度较大,是一种比较容易降温结晶的有机酸,所以可采用提取成本较低且较为方便直接浓缩结晶的方法来提取曲酸。作者报

道了从曲酸发酵液中提取曲酸的研究结果。

1 材料与方法

1.1 材料

曲酸标准样品为瑞士 Riedl-deHaën 公司产品;各类活性炭、离子交换树脂均为国产。

1.2 方法

1.2.1 曲酸测定 参考文献[5]将显色剂中硫酸改为盐酸,取 1 mL 样品稀释液加 4 mL 蒸馏水和 1 mL 1% $FeCl_3 \cdot HCl$ 显色剂,于 500 nm 处测吸光 OD 值,以蒸馏水代替样品作为空白,用标准品作工作曲线进行曲酸含量测定。

收稿日期:1999-12-13;修订日期:2000-06-22。

基金项目:国家轻工业局轻工业科技发展计划项目(轻科 96050)

作者简介:孙微(1971-),男,江苏无锡人,工学硕士,助理研究员。

1.2.2 还原糖测定 费林滴定法测还原糖⁶¹。

1.2.3 色泽测定 560 nm 处测吸光 OD 值,以蒸馏水作空白。

1.2.4 溶解度的测定 在烧杯中放入过量曲酸晶体,分别用水浴锅、可致冷式恒温箱,设置由高到低不同温度,将上述曲酸饱和溶液保温 2 h 以上,测清液中曲酸质量浓度。

1.2.5 铁含量测定 采用邻菲罗啉显色法⁷¹。

2 结果与讨论

2.1 温度对溶解度的影响

研究曲酸在不同温度下的溶解度对于采用发酵液菌液分离后直接浓缩结晶的提取过程中溶解与结晶操作有指导作用。

使用降温法测得曲酸溶解度变化曲线,见表 1。

表 1 不同温度下曲酸的溶解度

Tab.1 The solubility of kojic acid in different temperature

温度/°C	溶解度/(g/L)	温度/°C	溶解度/(g/L)
50	166.4	26	56.0
42	134.1	21	51.6
35	101.1	10	31.8
30	81.0	2	20.5

当 50 °C 饱和的曲酸被冷却至 2 °C 时,87.7% 的曲酸可以结晶出来,所以采用直接浓缩结晶的办法可以方便地获得曲酸晶体。日本北田牧夫首先报道了在大规模提取曲酸中采用直接浓缩结晶的方法提取曲酸,获得了 78.4% 的总提取收率(含二次母液全部再浓缩结晶)。

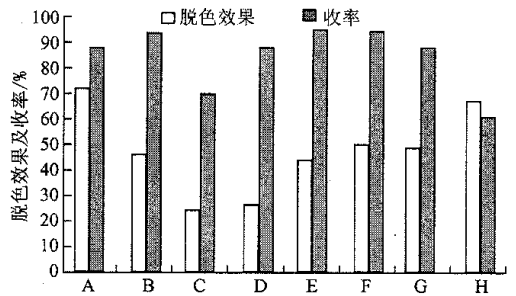
2.2 脱色工艺的研究

直接浓缩结晶方法的主要问题是产品色泽深,因此在曲酸的提取中脱色是直接浓缩最为关键的一步。对于曲酸的脱色,由于曲酸与铁等金属离子有络合颜色反应,所以采用了离子交换树脂去除杂质阳离子及活性炭吸附脱色的方法。

2.2.1 活性炭的选择 不同品种的活性炭及不同厂家与来源的活性炭在脱色效果上有很大不同,为选择适合曲酸脱色的活性炭,我们使用江苏溧阳活性炭厂的 8 种活性炭进行试验。利用 10% 浓度摇瓶发酵曲酸溶液为实验对象,活性炭用量为溶液含曲酸质量的 3%,保温脱色温度 50 °C。实验结果如图 1 所示。

由图 1 可知:767 活性炭(江苏溧阳活性炭联合工厂)脱色效果最好,脱色率达 70%,且脱色收率也较好,达 89.2%。各类活性炭中以药用炭脱色收率最高,为 95.5%。综合考虑,以 767(S)作为以下实验

中脱色用活性炭。



A 767; B 702; C 工业炭; D 味精炭; E 磷酸炭; F 药用炭; G 粉末炭; H Vc 炭

图 1 不同活性炭脱色效果的比较

Fig.1 The decolor effect of different type of active carbon

2.2.2 活性炭用量选择 以所选得的 767 活性炭为实验对象,称取 5 g 发酵罐发酵所得曲酸粗结晶,溶于 50 mL 水中,分别加入活性炭 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 g 进行与上相同条件的脱色实验。结果如图 2 所示。

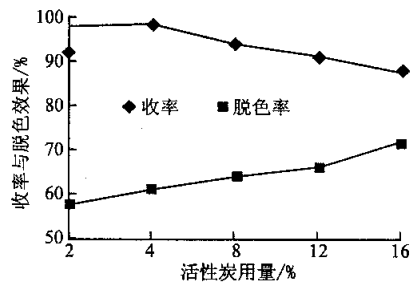


图 2 活性炭用量的确定

Fig.2 The determination of the amount of active carbon

图 2 是相对粗曲酸结晶所需用的活性炭量,由图看出当添加粗曲酸量 4% 的活性炭就可除去大部分的颜色,曲酸损失极小,而增加活性炭用量虽然可提高脱色率,但损失率也更大了。

2.2.3 活性炭脱色温度 30 g 粗结晶溶于 300 mL 蒸馏水中,分别量取 50 mL 于数个 250 mL 三角瓶中,各加入 0.6 g 767 活性炭,不同温度下保温脱色 45 min,保温过滤后,测定脱色前后液体的色泽 OD 值和曲酸含量,计算脱色效果和脱色收率以选择最佳脱色温度。

图 3 结果表明,以 80 °C 脱色效果和脱色收率较好,温度高时(90 °C)脱色效果反而有所降低。

2.2.4 活性炭脱色 pH 的影响 有些活性炭在不同 pH 时对脱色物质的吸附能力有所不同,767 活性炭属酸性炭,为考察此炭在曲酸脱色时 pH 的影响,进行了不同 pH 值条件下脱色的实验。

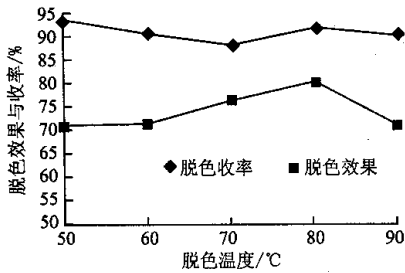


图3 脱色温度对脱色效果及收率的影响

Fig.3 The effect of decolor temperature on extraction rate

表2 不同pH对脱色的影响

Tab.2 The effect of different pH values on decoloration

pH	脱色效果 / %	脱色收率 / %
1.96	60.6	89.9
2.63	63.6	91.9
3.38(自然)	65.9	97.4
4.22	69.7	93.4

从表2可知,pH对脱色影响不大,当pH值为3.38(自然)时,脱色效果和脱色收率效果较好,几乎无曲酸损失,所以在曲酸脱色时不必专门调节pH值。

2.2.5 离子交换树脂脱色 由于设备材质或质量的原因,发酵液中金属离子及各种杂质含量高,曲酸会络合大量铁等金属离子,使颜色较深,只用活性炭脱色效果不能达到要求,作者用723强酸性阳离子交换树脂除去络合的铁离子与颜色。

1)脱色液收集方法:比色板上滴一滴 $\text{FeCl}_3 \cdot \text{HCl}$ 显色剂,当离交柱中流出液与之反应显色时,开始收集脱色液,脱色完毕后用蒸馏水洗出柱内残留曲酸,待流出液与 $\text{FeCl}_3 \cdot \text{HCl}$ 不显色或显色很淡时,停止收集。

2)离交终点判断:在透明离交柱上可以看到吸附了铁的树脂由原来黄色变为深红色,所以很容易判断交换带的移动,当交换带移至接近柱底部时停止加入料液,用水洗出柱内残余。

3)离交柱的再生:离交柱失效后,以2 mol/L HCl进行再生,当流出液与5 g/L黄血盐无显色反应时,停止操作,让柱内树脂在2 mol/L HCl中浸泡1 h,顺向通水洗至流出液pH值在4以上,柱可重

新使用。

用上述方法对颜色较深的发酵液所得的脱色效果为71.48%,此步曲酸收率为90.59%,脱色肉眼观察已基本无红色,为浅黄色液体。

2.2.6 几种直接浓缩提取流程的比较 在曲酸提取实验中,进行不同流程直接浓缩提取的研究。

流程1:发酵液→过阳离子交换树脂柱→浓缩→结晶→活性炭脱色→重结晶→干燥

流程2:发酵液→过阳离子交换树脂柱→浓缩→活性炭脱色→浓缩→4℃冷却结晶→干燥

流程3:发酵液浓缩(约2倍)→加0.2%活性炭脱色→滤液继续浓缩至原体积的1/5→4℃冷却结晶→干燥

流程4:发酵液→加0.2%活性炭脱色→浓缩(约4倍)→4℃冷却结晶→干燥

4个流程在精制总收率、母液按80%回收的预期总得率以及脱色效果的比较如表3所示。

表3 不同流程在得率和脱色效果方面的比较

Tab.3 The comparison of extraction rate and effect of decoloration during different processes %

流程序号	精制总收率	预期得率	脱色效果
1	53.1	72.4	柱 71.5 炭 91.8
2	63.3	75.4	柱 76.1 炭 78.9
3	38.8	69.9	炭 52.4
4	73.0	81.4	炭 37.4

流程1脱色效果最好,得到的结晶质量也最佳,其收率也较为理想;流程2由于少了一步结晶操作,母液损失减小,得率略高,但成品纯度与色泽不能完全满足;流程3由于发酵液中杂质在浓缩后使脱色后发酵液难以过滤且导致曲酸损失较大,流程4中脱色效果差,还需要再次重结晶脱色。

3 结 语

在有机酸结晶精制过程中,利用活性炭与离子交换树脂是一种常见的手段,但对于不同的产品,工艺条件与流程也有所不同,作者主要研究了发酵法生产曲酸时产品提取精制过程中的一些工艺条件,对曲酸的工业生产有较为现实的指导意义。

参考文献

- [1]陈陶声.有机酸发酵生产技术[M].北京:化学工业出版社,1987.
- [2]杨跃飞.曲酸及其衍生物在美白化妆品中的应用[J].日用化学工业,1995,1:28~32.
- [3]孙微,陶文沂.曲酸在食品添加中的应用[J].食品与发酵工业,1997.
- [4]无锡轻工业学院.工业发酵分析[M].北京:中国轻工业出版社,1994.
- [7]帅桂兰.葡萄酒铁含量的测定[J].酿酒,1997(1):29~31.

(责任编辑 朱 明)