

综述与专论

文章编号: 1001-8255(2001)01-0038-04

维生素 C 生产工艺进展

李春艳¹, 夏海平^{2*}, 蓝伟光^{2,3}

(1. 福建医科大学化学教研室, 福建福州 350004; 2. 厦门大学材料科学系, 福建厦门 361005;

3. 厦大三达膜科技有限公司, 福建厦门 361006)

摘要: 综述了维生素 C 生产中发酵、提取和转化过程的工艺进展, 并对高新技术——DNA 重组技术和膜分离技术在维生素 C 生产中的应用作了介绍。

关键词: 维生素 C; 2-酮-L-古洛糖酸; 发酵; 提取; 转化; 膜分离

中图分类号: TQ 466.3 文献标识码: A

维生素 C (vitamin C, 简称 Vc) 又名抗坏血酸, 不仅是一种重要的医药产品, 近年来, 其应用范围更

需求量的不断增长, 其生产工艺也得到不断的改进。Vc 生产最早是使用莱氏法^[1], 此法早在 30 年代就研究成功, 其合成路线见图 1。

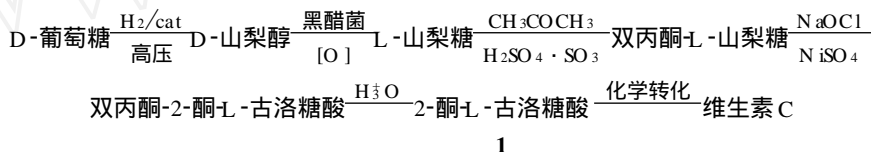


图 1 Vc 的莱氏合成路线

此法存在着工序繁多、劳动强度大等缺点。国外在此基础上已作改进, 尤其是在装备工程上的优势, 当前还用于生产。但国内已采用我国自己发明的发酵法代替莱氏法生产 Vc。

法的生产工艺一直在进行不断的改进。本文对发酵法生产 Vc 三大步骤的工艺改进及其最新研究进展作一综述。

1 发酵

发酵法生产 Vc 可以分为发酵、提取和转化三大步骤。即先从 D-山梨醇发酵, 提取出 Vc 前体 2-酮-L-古洛糖酸 (2-酮基-L-古龙酸, 1) 再用化学法将 1 转化为 Vc。国内外为提高 Vc 的质量和收率对发酵

目前, 工业上生产 Vc 采用二次发酵法^[2], 此法是在 70 年代初研究出来的, 属我国首创。其先进性已得到国际公认, 它是以生物氧化过程代替莱氏路线的部分纯化学过程。合成路线见图 2。

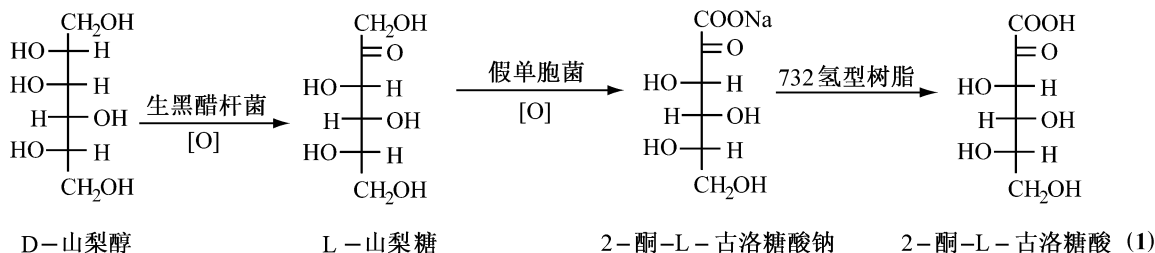


图 2 Vc 的二次发酵合成路线

此法利用假单胞菌选择地氧化 L-山梨糖 C₁ 上

的醇羟基成为羧基, 省略了丙酮保护步骤, 缩短了工艺, 节约了原料。近几年来, 国内外纷纷开展从 D-葡萄糖串联发酵^[3]产生 1 新工艺的研究。1987 年以来, 尹光琳等采用欧文氏菌和棒杆菌从 D-葡萄糖经中间体 2, 5-二酮-D-葡萄糖酸串联发酵生成 1 获得成功^[4], 其路线见图 3。

基金项目: 福建省自然科学基金 (C9910003)

收稿日期: 2000-03-28

作者简介: 李春艳 (1965), 女, 理学学士, 讲师, 现为厦门大学访问学者, 从事膜分离技术在医药工业中的应用研究。

* Tel: 0592-2180471

* E-mail: hp Xia@jingxian.xmu.edu.cn

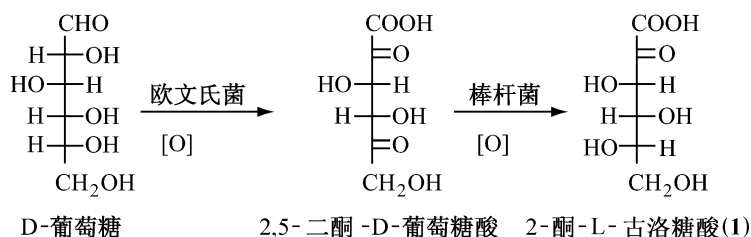


图3 Vc 的二步串联发酵路线

这种二步串联发酵法直接从D-葡萄糖开始,省去了氢化反应,生产工序简便,但其与二次发酵法相比,在原料和菌体处理等方面均有待改进提高,因此仍未能工业化。

用发酵法合成,发酵过程中需具备高产率的优良菌种、适宜的培养基和合适的发酵条件。目前研究的重点在于优良菌种的培育。Anderson^[5]和Grindly^[6]分别应用DNA重组技术使棒杆菌2,5-二酮-D-葡萄糖酸还原酶基因在欧文氏菌中表达,构建成基因工程菌,直接一步转化D-葡萄糖为1,此工程菌的小试结果表明葡萄糖的转化率可达47.7%^[7],但目前仍停留在研究阶段,距工业应用尚有距离^[8]。

2 提取

经过二次发酵,发酵液中1含量仅约8%,且残留菌丝体、蛋白质和悬浮微粒等杂质,分离提纯比较困难。后处理的费用占总成本的很大比例,因此研究后处理技术,对降低Vc的生产成本,非常重要。

2.1 加热沉淀法^[2]

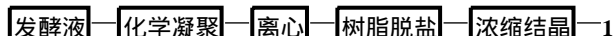
此法是提取1的传统工艺,分离手段较为落后。它是将发酵液经静置沉降后通过732氢型离子交换树脂柱,部分酸化1的钠盐,调节pH至蛋白质等电点,并加热使蛋白质凝固,然后用高速离心分离出凝聚的菌丝、蛋白和微粒,清液再次通过阳离子交换柱,全部酸化为1水溶液,再进行浓缩结晶:



此工艺通过用氢型树脂调pH值至蛋白质等电点后加热除蛋白,既要耗能,又造成有效成分的降解损失,发酵液直接通入离子交换柱,使树脂表面污染严重,交换容量下降,且两次通过树脂柱,带进大量水分,增大浓缩时的能耗。因此,提出了化学凝聚法。

2.2 化学凝聚法^[4]

此法选择合适的絮凝剂和合适条件来除去蛋白质、菌体、色素等杂质,其工艺流程为:



此法避免了加热沉降引起的能耗和损失,仍存

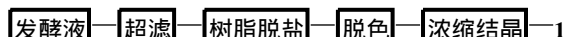
在如下不足:

经化学凝聚后,上层清液中仍存在一定量的可溶性蛋白。会随着溶液pH值的变化而逐步析出,影响树脂的交换当量及1的质量。如果在发酵过程中染菌,则化学凝聚后,上层清液仍然混浊,严重影响产品的收率和质量。化学凝聚时加入新的化学物质,增加了环境污染。

为了克服这些不足,基于膜分离技术的1提取新工艺应运而生。

2.3 超滤

超滤是一种膜分离技术。由于无相变、节能、操作简便、不造成新的环境污染等优点,该技术已获得广泛应用。有许多将超滤用于发酵液的提取、浓缩等的报道^[9-14]。1钠盐发酵液通过超滤膜,使1钠盐溶液与菌丝、蛋白及悬浮微粒等大分子杂质分离,可简化提取工艺:



超滤工艺收率约98%,在超滤前后发酵液中1的钠盐含量几乎不变。此工艺用膜分离代替传统工艺中的加热除蛋白,1收率提高近4%。整个过程通过夹套冷却的方法保持在常温下操作,能耗低,成本降低。在用膜除蛋白过程中,无任何新化学物质加入,减少了树脂的污染和损耗,降低了酸碱用量,减少了三废排放。更值得指出的是,超滤法对已染菌的Vc发酵液仍可保证最终成品质量,而其它工艺却难以实现。

我们认为膜分离技术可以在Vc发酵液提取中进一步应用和推广:

随着膜材料的进一步开发,选择最适宜的膜设备、膜组件和膜分离条件,可使产品的收率和质量进一步提高。选择抗堵塞的超滤膜组件,消除发酵液的预处理步骤,降低成本。可尝试应用反渗透或纳滤技术代替真空浓缩。

此外,还有仍处于小试阶段的离子交换法和溶媒萃取法的研究报道:

离子交换法^[2]:采用弱碱性离子交换树脂从发

醇液中直接提取 1, 用甲醇-硫酸溶液洗脱, 将洗脱液直接用于甲酯转化, 省去浓缩结晶步骤。本法洗脱收率可达 96% 左右, 洗脱液浓度比原始液提高 4 倍。

溶媒萃取法^[15]: 采用 0.5 mol/L DOA-20% 正庚醇-醋酸混合溶剂三级逆流萃取和一级反萃取从发酵液中提取 1, 萃取收率达 90% 以上, 反萃取液与原始发酵液相比, 1 的浓度可增加 5 倍以上, 且反萃取液中除 HCl 以外, 杂质很少, 可以将反萃取直接用于酸转化, 也省去浓缩结晶步骤, 节约大量能耗。

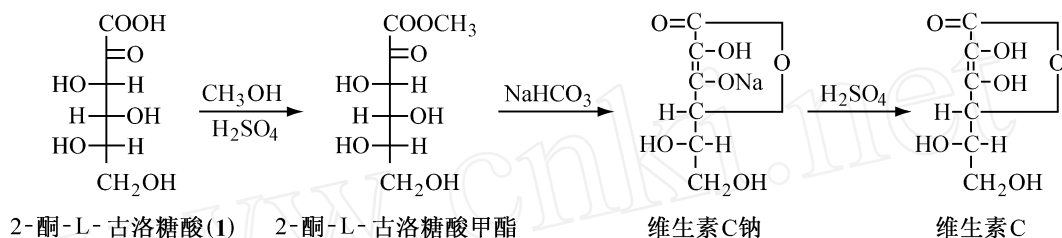


图 4 Vc 的碱转化路线

西安制药厂在此基础上对转化工艺进行了改进, 即用甲醇-甲醇钠法^[16]转化(图 5)。

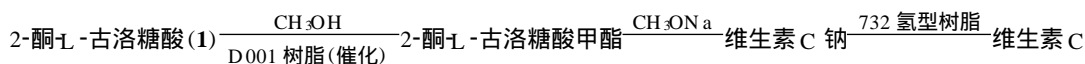


图 5 Vc 的碱转化的改进

此法转化率为 92.6%, 设备腐蚀小, 操作简便, 树脂可以循环套用, 适合于大量生产。但产品质量较差, 且由于甲醇钠贵, 转化成本高。

其中 Vc 钠盐转化成 Vc, 原用 H₂SO₄ 酸化, 经改进采用氢型离子交换树脂酸化。但离子交换法仍存在着需经常用酸再生树脂, 设备庞大, 操作复杂, 耗酸量大, 废液大量排放等缺点。因此可尝试用双极性膜电渗析法^[17] (bipolar membrane electrodialysis, 简称 BME) 来取代传统酸化工艺。它是利用在直流电场作用下, 双极性膜中的水被分解成 H⁺ 和 OH⁻, H⁺ 和 Vc 钠盐中的 Vc 酸根结合成离解度小的 Vc, Vc 钠盐中的 Na⁺ 在电场中通过阳离子交换膜从 Vc 钠盐中分离出来, 并和双极性膜侧出来的 OH⁻ 结合生成 NaOH (图 6)。

BME 可以在无外加物料的条件下, 将 Vc 钠盐转化成 Vc, 过程简单, 能耗低, 设备体积小, 投资少, 操作简单, 转化率可高达 99%, 其副产品 NaOH 稀溶液可有效利用, 无环境污染。此法可望推广到各种有机酸的制备^[18], 目前试验者不少, 例如, 可以用此法将前述的 1 的钠盐转化为 1, 但均未见工业装置报道。

综上所述, 对 Vc 生产工艺, 可以通过发酵提取和转化 3 个方面改进, 以求不断提高产品质量和

3 转化

由 1 转化为 Vc, 有酸转化和碱转化两种方法。

3.1 酸转化

将 1 置于浓 HCl 中转化成 Vc。由于设备腐蚀严重, 污染环境, 影响产品质量, 已改用碱转化法。

3.2 碱转化

是将 1 在甲醇中用浓硫酸催化酯化生成 1 的甲酯, 再用 NaHCO₃ 将 1 的甲酯转化为 Vc 钠盐, 再用 H₂SO₄ 酸化成 Vc (图 4)。

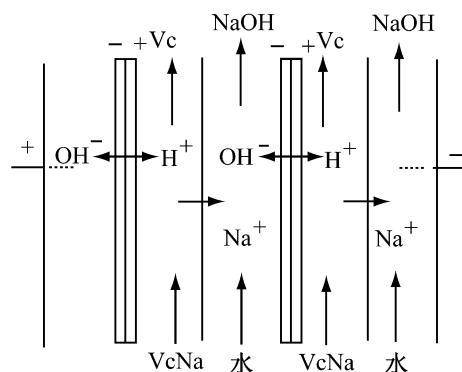


图 6 Vc 的双极性膜电渗析法转化的工作原理
率, 降低成本, 使其在国际上成为更有竞争力的产品。

参考文献:

[1] 四川医学院 药物化学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1979, 385

[2] 顾觉奋, 李丽燕, 刘叶青, 等 分离纯化工艺原理[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1996, 317-320

[3] 宋友礼 水溶性维生素微生物合成法进展[J]. 中国医药工业杂志, 1995, 26(6) 278-282

[4] 王毅武, 尹光琳 维生素C 发酵新工艺中 2-氧代-L-古洛糖酸发酵液絮凝处理研究[J]. 中国医药工业杂志, 1997, 28(6) 243-288

[5] Anderson S, Marks C, Lazarics R, et al. Production of 2-ke-

- to-L-gulonate, an intermediate in L-ascorbate synthesis, by a genetically modified *Erwinia herbicola* [J]. Science, 1985, **230** 144
- [6] Grindley JF, Payton MA, Van de Pol H, *et al* Conversion of glucose to 2-keto-L-gulonate, an recombinant strain of *Erwinia citreus* [J]. Appl Environ Microbiol, 1988, **54** 1770
- [7] 熊宗贵, 白秀峰, 徐系民, 等. 发酵工艺原理 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1995, 368-371.
- [8] 徐诗伟. 微生物转化在药物合成中的应用前景 [J]. 中国医药工业杂志, 1996, **27**(9) 422-430
- [9] 严荣庆, 李一通, 马承继, 等. 超滤应用于维生素 C 提取工艺 [J]. 中国医药工业杂志, 1990, **21**(1) 1-3
- [10] 周杏华, 付桂华, 王树平, 等. 超过滤应用于麦迪霉素提炼的研究 [J]. 医药工业, 1985, **16**(10) 433-434
- [11] 王树平. 超过滤技术提纯抗菌素的研究 [J]. 膜科学与技术, 1988, **8**(2) 6-10
- [12] 李锡源, 栾宝林, 韩贵安. 超滤法在抗生素提炼中的应用 [J]. 水处理技术, 1996, **22**(4) 213
- [13] Vrana DL, Meagher MM, Hutkies RW, *et al* Pervaporation of model acetone-butanol-ethanol fermentation product solutions using polytetrafluoroethylene membrane [J]. Sep Sci Technol, 1993, **28** 13-14
- [14] Rodriguez M, Luque S, Alvarez JR, *et al* Extractive ultrafiltration for the removal of valeric acid [J]. J Membrane Sci, 1996, **120** 1
- [15] 钱卫国, 沈金玉, 高春满, 等. 溶媒萃取氧代-古龙酸的初步工艺研究 [J]. 中国医药工业杂志, 1992, **23**(6) 247-250
- [16] 西安制药厂中心实验室. 改进维生素丙转化工艺: 甲酯-甲醇钠法 [J]. 医药工业, 1980, **11**(9) 28
- [17] 林爱光, 蒋维钧, 余立新. 双极性膜电渗析技术在维生素生产中的应用研究 [J]. 膜科学与技术, 1998, **18**(5) 24-27
- [18] 蒋维钧, 林爱光, 文梅. 有机酸制造新工艺——双极性膜电渗析法制造有机酸 [J]. 膜科学与技术, 1995, **15**(4) 7-11.

Progress in Vitamin C Production Process

LI Chun-Yan¹, XIA Hai-Ping^{2*}, LAN Wei-Guang^{2,3}

(1. Dept of Chemistry, Fujian Medical University, Fuzhou 350004; 2. Dept of Material Science, Xiamen University, Xiamen 361005; 3. Sutar Membrane Science Technology Co. Ltd., Xiamen University, Xiamen 361006)

ABSTRACT: Developments in the processes for fermentation, extraction and conversion in vitamin C production are reviewed. Especially, the applications of the advanced technology of DNA recombinant and membrane separation are introduced.

Key Words: vitamin C; 2-keto-L-gulonic acid; fermentation; extraction; conversion; membrane separation

文章编号: 1001-8255(2001)01-0041-04

大孔吸附树脂在药学领域的应用

张虹¹, 柳正良², 王洪泉¹

(1. 上海铁道大学医学院附属甘泉医院, 上海 200065; 2. 第二军医大学医学院, 上海 200433)

摘要: 介绍了大孔吸附树脂的基本原理及其在抗生素、维生素、生化药物等领域的分离、纯化, 以及中成药的制备与质量控制中的应用。

关键词: 大孔吸附树脂; 药学; 应用

中图分类号: O 652.3 **文献标识码:** A

大孔吸附树脂的是 60 年代末离子交换技术领

域的重要发展之一, 目前主要应用于废水处理、医药工业、化学工业、分析化学、临床鉴定等领域。本文就大孔吸附树脂的基本原理及其在抗生素、维生素、天然产物、生化药物的分离、纯化, 以及中成药的制备与质量控制等方面的应用作一概述。

收稿日期: 1999-12-10

作者简介: 张虹 (1967), 女, 主管药师, 主要从事药物学方面研究。

Tel: 021-56051080 * 3202 或 3200

