

分子短程蒸馏分离银杏叶聚戊烯醇的研究



WANG Cheng-zhang

王成章¹, 王婉苓², 叶建中¹, 郑光耀¹, 周昊¹, 陈西娟¹

(1. 中国林业科学研究院林产化学工业研究所; 国家林业局林产化学工程重点开放性实验室, 江苏南京 210042; 2. 武汉大学电子信息学院; 湖北武汉 430079)

摘要: 以银杏叶为原料, 采用皂化反应、溶剂萃取和冷冻制备聚戊烯醇不皂化物, 皂化剂为 5% NaOH-EtOH, 石油醚软膏与皂化剂的比例为 1:5 (g:mL), 首次采用分子短程蒸馏分离聚戊烯醇不皂化物, 最佳工艺为: I 级分子蒸馏, 工艺参数为冷凝温度 2.5 °C, 循环水温度 60 °C, 物料加热温度 60 °C, 蒸馏温度 160 °C, 进料速率 180 mL/h, 刮膜转速 200 r/min, 蒸馏真空度 0.5 ~ 1.0 Pa; II 级分子蒸馏, 工艺参数为循环水温度 80 °C, 物料加热温度 60 °C, 蒸馏温度 280 °C, 进料速率 180 mL/h, 刮膜转速 300 r/min, 蒸馏真空 0.1 ~ 0.5 Pa。结果表明: 溶剂中聚戊烯醇为 55.6%, 银杏叶聚戊烯醇 (GP) 回收率为 98.5%, 馏余物中聚戊烯醇的含量由不皂化物中的 46.2% 提高到 83.7%, 而且无溶剂残留, 是工业化制备高纯度聚戊烯醇理想的分离方法。

关键词: 银杏叶; 聚戊烯醇; 不皂化物; 分子短程蒸馏

中图分类号: TQ91

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2008)03-0023-05

Studies on Separation of Polyprenols from leaves of *Ginkgo biloba* L. by Molecular Short Distillation

WANG Cheng-zhang¹, WANG Wan-ling², YE Jian-zhong,
ZHENG Guang-yao¹, ZHOU Hao¹, CHENG Xi-zhuan¹

(1. Institute of Chemical Industry of Forest Product, CAF; Key and Open Lab. on Forest Chemical Engineering, SFA, Nanjing 210042, China; 2. School of Electronic Information, Wuhan University, Wuhan 430079, China)

Abstract: Non-saponifiable matter of polyprenols from *Ginkgo biloba* L. was obtained by saponification, extraction and solvent refrigeration, using 5% NaOH-EtOH as saponifier, ratio of paste of petroleum ether to saponifier 1:5 (g:mL). Molecular short distillation was first used to purify non-saponifiable matter of polyprenols. For the I grade molecular distillation, the optimum operation parameters were: condensation temperature 2.5 °C, circulating-water temperature 60 °C, feed temperature 60 °C, distillation temperature 160 °C, feed flow rate 180 mL/h, scraper rate 200 r/min, operation pressure 0.5-1.0 Pa. For the II grade molecular distillation, the optimum parameters were: feed temperature 60 °C, circulating water temperature 80 °C, distillation temperature 280 °C, feed flow rate 180 mL/h, scraper rate 300 r/min; operation pressure 0.1-0.5 Pa. The results showed that content of polyprenols in solution was raised to 55.6%, recovery rate of polyprenols from *G. biloba* L. (GP) was 98.5%, content of polyprenols in distillate residue could be raised from 46.2% to 83.7% of non-saponifiable matter, and there was no solvent residue. Thus, this method would be an ideal separation method to prepare high-purity polyprenols industrially.

Key words: leaves of *Ginkgo biloba* L.; polyprenols; non-saponifiable matter; molecular short distillation

聚戊烯醇广泛存在于高等植物中, 有研究表明, 聚戊烯醇在我国主要存在于银杏叶和绿色针叶中, 但在银杏叶中的含量高达 2.0%, 其次在马尾松、雪松、黑松等针叶中含有 1.0% 左右^[1-2]。银杏叶和绿色针叶聚戊烯醇是一类由一系列异戊烯基单元和终端异戊烯醇单元组成的类脂化合物, 具有桦木聚戊烯醇的化学结构^[1], 即 $\omega-(trans)_2-(cis)_n-cis(\alpha)$, 其中 n 为 10 ~ 20, α 为异戊烯醇, 它和人体及哺乳动物脏器中所含的多萜醇结构接近, 并可在人体中代谢成多萜醇^[3-4]。国内外报道了植物聚戊烯醇提

收稿日期: 2007-08-06

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划(2006BAD06B09); 科技部成果转化项目(2007GB24320415); 国家林业局推广项目(2007-80)

作者简介: 王成章(1966-), 男, 湖北汉川人, 研究员, 博士, 从事天然产物的化学加工、保健产品及药物开发; E-mail: wangczhs@sina.com。

取分离方法,大多采用溶剂提取和硅胶柱分离,制备50%以上聚戊烯醇。日本研究了银杏叶聚戊烯醇的化学成分和分离方法,采用多种溶剂萃取银杏叶,硅胶柱分离制备聚戊烯醇乙酸酯、再水解和硅胶柱分离90%以上聚戊烯醇,产品得率仅有0.1%~0.3%,工艺复杂,成本高,无法工业化生产^[4]。杨克迪用NKA大孔树脂和硅胶柱层析的方法,将聚戊烯醇含量小于50%的银杏叶软膏精制到70%以上^[5]。以上制备方法,银杏叶聚戊烯醇油状物中都存在溶剂的残留问题。

分子短程蒸馏分离植物聚戊烯醇国内外没有研究报道,更没有产业化应用。本研究采用分子蒸馏分离技术将聚戊烯醇含量低于50%的软膏,精制至70%~95%的聚戊烯醇油状物,工业批量生产更未见报道。本研究报道将有利于我国银杏叶聚戊烯醇的加工利用,加快银杏叶新产品的开发,提高银杏叶资源的高效利用。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

1.1.1 仪器 Specification KDF-5型分子蒸馏装置,德国UIC GmbH公司;高效液相色谱(HPLC)系统:岛津公司LC-10A,色谱分析柱5 μ C18(ϕ 0.4 cm \times 25 cm)为大连依利特公司,N2000色谱工作站为浙江大学智达信息工程有限公司。

1.1.2 原材料和试剂 银杏叶聚戊烯醇软膏由中国林科院林产化学工业研究所制备;聚戊烯醇标准样品Dodecaprenol(C₆₀, Prenol-12),纯度98%;聚戊烯醇标准混合样(C₇₅、C₈₀、C₈₅、C₉₀、C₉₅、C₁₀₀、C₁₀₅),纯度95%;购于瑞典Larodan Fine Chemicals公司;异丙醇、甲醇、正己烷等为市购色谱纯试剂,蒸馏水为重蒸水。

1.2 分析方法

银杏叶聚戊烯醇软膏中聚戊烯醇类化合物的定性方法,采用薄板层析(TLC)和HPLC。TLC:展开剂为石油醚-乙酸乙酯(体积比95:5),碘显色,与聚戊烯醇标准品对照。HPLC:ODS C18柱,UV检测,流动相为异丙醇-甲醇-正己烷-水(体积比50:25:15:5)。

$$\text{聚戊烯醇含量} = (Y - B) \times c_e \times \eta / A \times V \times c \times 100\%$$

式中:Y—HPLC中C₈₀、C₈₅、C₉₀、C₉₅、C₁₀₀5个主要聚戊烯醇面积的总和;V—样品的进样量, μ L;c—称样样品的质量浓度,g/L;c_e—标准品的质量浓度,g/L; η —标准品的纯度,%;A—标准曲线回归方程的斜率;B—标准曲线回归方程的截距。

1.3 实验方法

1.3.1 银杏叶聚戊烯醇软膏的制备 取干燥银杏叶15 kg,破碎成0.5 cm。加150 kg石油醚(沸程60~90 $^{\circ}$ C),70 $^{\circ}$ C热回流提取,时间4 h,第二次提取加100 kg石油醚,重复以上操作。合并提取液,50 $^{\circ}$ C下减压回收尽溶剂,得石油醚抽提物660 g,加6 L 5% NaOH-EtOH溶液,采用65 $^{\circ}$ C热回流搅拌,搅拌速度为150 r/min,时间85 min,石油醚软膏与皂化剂的比例为1:5(g:mL),制备聚戊烯醇不皂化物225 g,收率1.5%。

1.3.2 分子蒸馏分离方法 取不皂化物225 g,聚戊烯醇含量46.2%,分次加入KDF-5型分子蒸馏装置的加料器内预热,在刮膜器的作用下,均匀地分布于蒸发器表面,蒸发表面温度由导热油精确控制。在高真空条件下,轻组分以气体状态径直飞向中间冷凝器并凝结成液体,进入轻组分收集器,为馏出物;重组分沿筒体内壁进入重组分收集器,为馏余物。以不同的进料速度、进料温度、蒸馏真空度和刮膜转速进行单因素试验,按1.2节中的公式计算馏出物和馏余物中GP的收率和含量。

2 结果与讨论

2.1 分子蒸馏分离银杏叶聚戊烯醇(GP)的机理

采用分子蒸馏技术纯化GP,是根据银杏叶非极性溶剂提取物的化学成分不同,其相对分子质量(M_r)和分子平均自由程差异大的原理。研究表明:银杏叶非极性溶剂提取软膏为脂溶性成分,由精油、

酸性物和中性物组成。主要为高级脂肪酸和少量的有机酚酸。中性物在银杏叶石油醚提取软膏中占 76.8%,经皂化可分为结合酸和不皂化物^[6-7]。不皂化物主要由色素类(包括胡萝卜素、叶黄素)、蜡质、高级脂肪醇、聚戊烯醇类、萜烯醇类、甾醇类、含氧多功能化合物(如醛类、酮类)等组成。各类化合物极性不同,尤其是 M_r 不同,其中精油、蜡质、酸性物、酯类、脂肪醇、甾醇等 M_r 小于 500,分子平均自由程小,沸点相对较低,而聚戊烯醇和色素 M_r 相对大,尤其是聚戊烯醇类化合物平均 M_r 大于 1 000,分子平均自由程大,沸点高。因此,可利用分子短程蒸馏技术在很低的蒸馏温度和真空下将小分子的有机溶剂、精油、烷基酚酸、脂肪醇、甾醇首先蒸馏出,馏余物为聚戊烯醇等高沸点集分,再升高蒸馏温度和降低真空度,将馏余物采用多级蒸馏,达到纯化聚戊烯醇的目的。银杏叶脂溶性成分分子蒸馏分离情况如下:当压力为 10~100 Pa、温度 80~160 °C 时,馏出物为黏度低的淡黄色油状物,主要成分为精油、蜡质、酸性物、脂肪醇和少量溶剂等;当压力为 0.5~100 Pa、温度 180~300 °C 时,馏出物为黏度低的黄色油状物,主要成分为甘油三酯、甾醇、叶黄素等;当压力为 0.5~100 Pa、温度 240~300 °C 时,馏出物为较稠的深棕色油状物,主要成分为聚戊烯醇富集段(聚戊烯醇类)。

各馏分经 TLC 和 HPLC 进一步分析,结果表明,聚戊烯醇集中在馏余物中,因此,为了提高聚戊烯醇的纯度,必顺尽可能地提高温度蒸馏出杂质,馏出物的百分数愈高,馏余物中聚戊烯醇的含量越高。

2.2 进料温度对馏出物的影响

进料温度是影响分子蒸馏效果的一个重要因素。图 1 是在操作压力 0.5 Pa,冷凝面温度 25 °C、循环水温度 70 °C、刮膜转速为 250~300 r/min、进料速率 200 mL/h 条件下,不同操作温度时对不皂化物馏出率的影响。

从图 1 可知,当进料温度较低时(小于 80 °C),原料的黏度较大,在蒸馏器中用于预热原料的蒸发面积增加,馏出物很少。随着进料温度的升高,用于预热原料的蒸发面积减少,有效蒸发面积增大,轻组分被切除得比较充分,馏出物的质量增加,重组分中聚戊烯醇和甾醇质量分数和纯度都有增加。馏出率曲线在 160 和 280 °C 有两个拐点,馏出率增幅开始平缓,在 160 °C 的馏出物主要是精油、蜡质、酸性物、脂肪醇和少量溶剂等,馏出率为 16.8%,在 160 和 280 °C 间馏出物主要含甾醇类化合物,馏出率为 38.3%,因此考虑综合分离精油、甾醇和聚戊烯醇,采用二级分子蒸馏的分离方法。先除去 16.8% 精油等集分,再次蒸馏可馏出 22% 的甾醇类集分,馏余物中聚戊烯醇可提高 40% 左右。

2.3 进料速率对馏出物的影响

进料速率主要影响物料在蒸发器壁面上的停留时间。图 2 是在操作压力 0.1 Pa,刮膜转速为 300 r/min,冷凝面温度 25 °C、循环水温度 80 °C、蒸馏温度 280 °C 条件下,不同进料速率对不皂化物馏出率的影响。

从图 2 可知,进料速率与馏出率成反比关系,由于进料速率减少,停留时间变长,总的馏出物增大,有利于提高聚戊烯醇的纯度;相反,由于进料速率增加,停留时间过短,许多低沸点杂质来不及蒸发,导

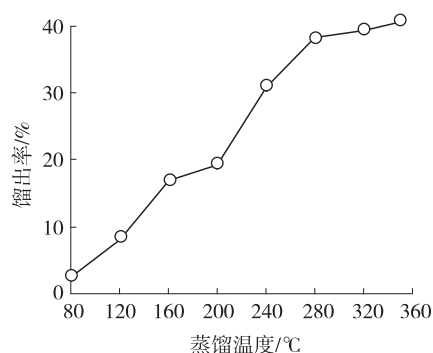


图 1 蒸馏温度对不皂化物馏出率影响

Fig. 1 Effect of distillation temp. on distillation yield

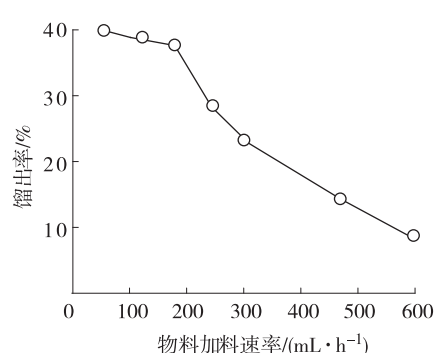


图 2 进料速率对馏出率的影响

Fig. 2 Effect of feed rate on distillation yield

致产品中聚戊烯醇的含量下降。馏出率曲线表明,在 60~180 mL/h 时,馏出率变化不大,从 40.6% 下降至 37.8%,随后下降较快,因此,选择 180 mL/h 是比较适合的加料速率。

2.4 刮膜转子速率对馏出物的影响

刮膜器转子的搅拌速率主要影响物料在蒸发器壁上分散成液膜和停留时间。图 3 是在操作压力 0.1 Pa、冷凝面温度 25 °C、循环水温度 80 °C、蒸馏温度 280 °C、进料速率 180 mL/h 条件下不同刮膜转速对不皂化物馏出率的影响。

从图 3 可知,刮膜器转子的搅拌速率对分子蒸馏馏出物的质量和聚戊烯醇含量有很大影响,当转速低于 50 r/min,物料在蒸发表面不能形成薄膜,传热和传质效果不好,物料直接沿蒸发器壁流下进入重组分,不能分离。随着刮膜转子搅拌速率的提高,物料形成均匀的液膜,有利于传热和传质,蒸发效率明显提高。当转子转速达到 200 r/min 后,馏出率达到 32.7%,再增加转速,对馏出物质量分数的影响明显减小。当转子速率达到 500 r/min 时,能观察到部分液体直接被刮膜器甩到冷凝器上,而不是从蒸发面蒸发出来然后在冷凝面上冷凝,将聚戊烯醇带入到馏出物中,所以,适宜转速选择 200~300 r/min。

2.5 蒸馏真空度对馏出物的影响

蒸馏真空度主要影响物料的沸点,在高真空度下,物料的沸点可以降低,提高温度有利于馏出物质量的增加。图 4 是分子蒸馏冷凝面温度 25 °C、循环水温度 80 °C、蒸馏温度 280 °C、进料速率 180 mL/h、刮膜转速 300 r/min 时,不同真空度对不皂化物馏出率的影响。

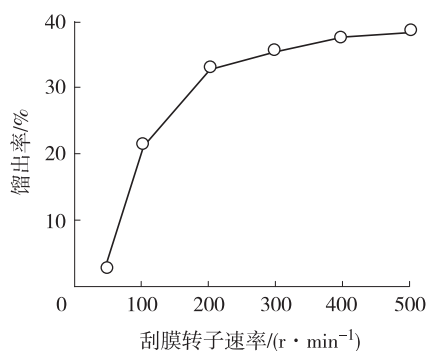


图 3 分子蒸馏刮膜转子速率对馏出物的影响

Fig.3 Effect of wiper speed on distillation yield

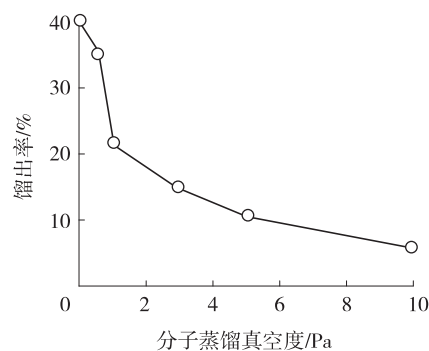


图 4 分子蒸馏压力对馏出率的影响

Fig.4 Effect of pressure on distillation yield

从图 4 得知,蒸馏真空度在 0.1~0.5 Pa 馏出率为 35% 以上,而 1.0~10 Pa 馏出率在 21.4%~5.6%,对于高沸点物质来说,操作压力越低,分离效率越高。因此,最佳操作压力为系统的极限压力 0.1 Pa。

2.6 分子蒸馏分离级数的影响

由于实验所用分子蒸馏装置只有一个理论分离级,考虑综合分离精油、甾醇和聚戊烯醇,同时聚戊烯醇要达到一定纯度要求,因此需要采用多级分离操作。采用二级分子蒸馏不皂化物,Ⅰ级分子蒸馏工艺参数:冷凝面温度 25 °C,循环水温度 60 °C,物料加热温度 60 °C,蒸馏温度 160 °C,进料速率 180 mL/h,刮膜转速 200 r/min,蒸馏真空度 0.5~1.0 Pa。Ⅱ级分子蒸馏工艺参数:冷凝面温度 25 °C,循环水温度 80 °C,物料加热温度 60 °C,蒸馏温度 280 °C,进料速率 180 mL/h,刮膜转速 300 r/min,蒸馏真空度 0.1~0.5 Pa。馏余物中聚戊烯醇经 TLC 和 HPLC 分析,其结果见表 1。

表 1 不皂化物经Ⅱ级分子蒸馏的蒸馏变化

Table 1 Variation of mass fraction of unsaponifiable matter separated by II stage molecular distillation

分子蒸馏组分 molecular distillations	物料量/g material dose	汽化物量/g vaporized substances	馏出物量/g distillate	馏余物 residues/g	
				总量 total	聚戊烯醇量 polyprenol
Ⅰ级 I stage	250	11	56	180	59.2
Ⅱ级 II stage	180	1.5	45	133	83.7

从表1可知,不皂化物经II级分子蒸馏,甾醇主要在馏出物集分中,聚戊烯醇主要在馏余物中,经HPLC分析,聚戊烯醇含量由不皂化物中的46.2%提高到83.7%,而且无溶剂残留,是工业化制备高纯度聚戊烯醇理想的分离方法。

3 结论

3.1 分子蒸馏分离聚戊烯醇的最佳工艺为:I级分子蒸馏工艺参数:冷凝面温度25℃,循环水温度60℃,物料加热温度60℃,蒸馏温度160℃,进料速率180 mL/h,刮膜转速200 r/min,蒸馏真空度0.5~1.0 Pa;II级分子蒸馏工艺参数:冷凝面温度25℃,循环水温度80℃,物料加热温度60℃,蒸馏温度280℃,进料速率180 mL/h,刮膜转速300 r/min,蒸馏真空度0.1~0.5 Pa。

3.2 采用二级分子蒸馏的分离方法,先除去16.8%精油等集分,再次蒸馏可馏出22%的甾醇类集分,馏余物中聚戊烯醇由不皂化物中的46.2%提高到83.7%,而且无溶剂残留,是工业化制备高纯度聚戊烯醇理想的分离方法。

参考文献:

- [1] SWIEZEWSKA E, SASAK W, MANKOWSKI T. The search for plant polyprenols[J]. Acta Biochim Polon, 1994,41:221-260.
- [2] 王成章,沈兆邦. HPLC归一化法研究树叶中聚戊烯醇含量[J]. 林产化工通讯, 1994,28(6):3-7.
- [3] 王成章,沈兆邦,陈祥. 银杏叶聚戊烯醇化学研究[J]. 林产化学与工业, 1992,12(4):279-286.
- [4] IBATA K, MIZUNO M, TAKIGAWA T, et al. Long-chain betulaprenol-type polyprenols from the leaves of *Ginkgo biloba*[J]. Biochem J, 1983(213):305-311.
- [5] 杨克迪,刘自力,童张法. 银杏叶聚戊烯醇类化合物分离工艺研究[J]. 广西大学学报:自然科学版, 2002,27(2):33-36.
- [6] 王成章,沈兆邦. 银杏叶中脂肪酸含量及化学组成[J]. 林产化工通讯, 2000,34(1):24-27.
- [7] 周雄尊,程从球,罗申·维·依. 银杏叶与杉木绿冠提取物化学组分研究[J]. 林产化学与化工, 1997, 17(1):61-66.

学会园地

会议纪要

中国林学会林化分会活性炭专业委员会在宁常委于2008年4月28日在中国林科院林化研究所举行了会议。参加会议的有中国林学会林化分会宋永芳秘书长,活性炭专业委员会蒋剑春主任委员、高尚愚副主任委员、邓先伦副主任委员兼秘书长、戴伟娣副秘书长和中国林产工业协会活性炭分会顾瑞生秘书长。会上通报和交流了筹备召开“2008年中国活性炭学术研讨会”的进展情况,现将有关事项通报如下。

一、由中国林学会林化分会活性炭专业委员会和中国兵工学会活性炭专业委员会共同主办的“2008年中国活性炭学术研讨会”是两个活性炭学术组织今年要抓的重要的学术活动,一定要抓紧落实办好。

二、在广泛征求意见的基础上,会议地点定在浙江省杭州市。

三、会议时间拟定于2008年10月中、下旬(具体日程另行通知)。

四、为了保证本次会议顺利召开,确保论文集按时审稿出版,需要筹备一定的经费,筹备组请有关单位大力支持和赞助。经商定:

(一)凡赞助2000~5000元的单位和个人均为协办单位,名单在论文集上公布,减半收取一人会务费。

(二)凡赞助5000元以上的(包括5000元)单位和个人均为协办单位,名单在论文集上公布,在论文集中用一个版面刊登单位概况并免收一位参会人员会务费。

赞助经费请于7月30日前汇至中国林科院林产化学工业研究所。具体联系方式如下:

地址:210042 南京市锁金五村16号 林化所内 传真:025-85413445

联系人:顾瑞生:025-85482408 13016962032;戴伟娣:025-85482485 13814078666 E-mail:Lily-dwd@163.com