

赖氨酸的提取精制

刘 幸 林文奎 王世平

(化学化工系)

摘 要

用甘蔗糖蜜为碳源发酵生产赖氨酸提取精制工艺是关系到总回收率和产品质量的问题。本文用国产 732 强酸性阳离子交换树脂对糖蜜发酵液中赖氨酸的吸附和洗脱进行了初步的研究。试验结果表明:树脂对赖氨酸的交换量,工业纯溶液在赖氨酸主要呈正一价离子的酸碱度时,发酵液在赖氨酸主要呈正二价离子的酸碱度时为最大。用#1洗脱剂洗脱结果最好。配合使用#1洗脱剂时采用 732 铵型树脂可以省去树脂的转型步骤,工艺上最为合理。

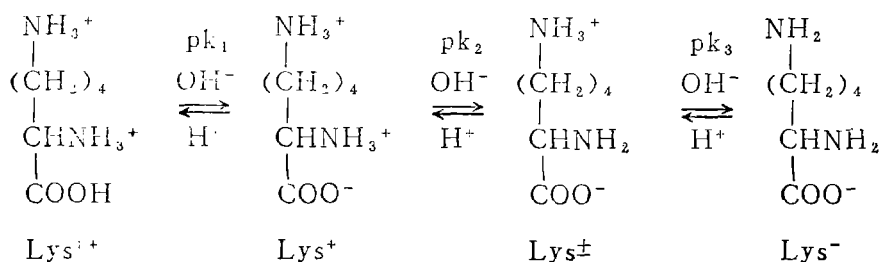
前 言

L-赖氨酸作为人体八种必需氨基酸之一,在营养价值的作用已经充分肯定,从而被广泛用作食品营养强化剂和动物饲料添加剂,成为氨基酸工业生产中在产量上仅次于谷氨酸的第二大产品。目前赖氨酸的世界年产量已达三万吨以上,几乎全部用碳源发酵法生产。国内近年在采用糖蜜为碳源直接发酵制取赖氨酸的研究方面取得了较大的进展,並有若干单位进行过中试规模的技术鉴定^[1-3]。

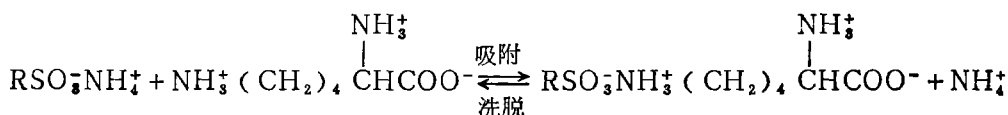
国外有关赖氨酸发酵菌种和发酵条件的报道较多,但关于产品提取精制的系统研究甚少,尤其以全糖蜜为碳源的赖氨酸发酵生产产品的提取精制方面,具体的工艺条件未见报道。在以糖蜜为原料发酵生产赖氨酸研究^[1]的基础上,我们进行了产品提取精制的工艺探讨。

用离子交换树脂法提取氨基酸具有工艺简单,设备原料易得,操作方便,不需预先分离菌体,产品质量较高等优点,是适用于工业生产的重要方法。

赖氨酸分子具有两个氨基和一个羧基,属于碱性氨基酸,在不同酸碱度的水溶液中有如下的离解方式



其中 $pK_1 = 2.18$, $pK_2 = 8.95$, $pK_3 = 10.5$ 。因此等电点 $pI = \frac{pK_2 + pK_3}{2} = \frac{8.95 + 10.50}{2} = 9.73$ 。随着溶液中 PH 值的变化, 赖氨酸能以正负价数各不相同的四种离子形式存在。 PH 在低于 8.95 范围内变化时, 赖氨酸主要以正一价和正二价离子的形式存在, 可与阳离子交换树脂产生交换作用, 吸附在树脂上。用水冲洗除去不溶性的固体物和未被吸附的杂质, 然后用洗脱剂在适当的条件下将赖氨酸洗脱下来。洗脱是吸附的相反过程。以苯乙烯型磺酸铵树脂与一价赖氨酸离子的吸附和洗脱为例



洗脱液经进一步加工精制, 如脱色、浓缩、结晶, 得赖氨酸纯品。

离子交换吸附是提取过程的重要步骤, 一种树脂在不同 pH 值下与不同价数的赖氨酸正离子有着不同的交换形式和交换量。工业生产上不仅要求采用价格低廉, 来源易得, 使用寿命长的离子交换树脂, 并且要求选择最好的工艺条件, 使树脂对发酵液中的主产物有最大的吸附量, 容易洗脱, 收率高, 对杂质的吸附量少, 树脂容易再生等特点。

赖氨酸糖蜜发酵液一般含有 3—4% 的主产物赖氨酸, 还有各种杂质, 例如其它氨基酸、残糖、有机酸、色素、蛋白质和 NH_4^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{++} 、 Ca^{++} 、 Fe^{++} 、 Cl^- 、 SO_4^{--} 、 PO_4^{---} 等正负离子, 以及菌体和其它固体物质。这些杂质的存在, 会使树脂对赖氨酸的交换量大幅度降低。本文用国产 732 强酸性阳离子交换树脂对不同 pH 值的工业纯赖氨酸溶液和发酵液进行了交换和洗脱条件的对比试验。

直接影响提取效果的还有洗脱剂的种类, 用量和温度, 以及树脂再生的处理方法等条件。试验采用三种不同成分的洗脱剂进行比较。

糖蜜发酵液中所含的色素比淀粉糖发酵液所含的色素成分复杂、数量多。尤其是从废蜜中带来的拟黑色素和焦糖是结构复杂很难处理的深色物质^[4-5]。要得到符合食用和医用品级的产品, 必须进行脱色精制。我们采用粉末活性炭、颗粒活性炭等脱色剂对洗脱液进行脱色精制试验。

脱色液的浓缩结晶是对赖氨酸生产的总回收率有重要影响的步骤, 我们也作了若干条件的探讨试验。所得 L 赖氨酸产品符合食用级的标准。

试 验 方 法

一、原材料及仪器

1. 赖氨酸试液

(1) 工业纯赖氨酸溶液; (2) L-赖氨酸糖蜜发酵液。

2. 离子交换树脂柱

(1) 732 氢型、钠型和铵型树脂; (2) 离子交换柱。

3. 洗脱剂

洗脱剂#1、#2、#3，三种洗脱剂。

二、试验方法

1. 离子交换提取 动态法顺流上柱。
2. 赖氨酸的洗脱 动态法顺流上柱。

三、分析方法

1. 赖氨酸含量测定 印三酮比色法^[6]。
2. 树脂水分的测定 重量法。
3. 树脂总交换容量 酸碱容量法。
4. pH 值测定 酸度计法。

试验结果及讨论

一、732 铵型树脂对工业纯赖氨酸溶液在不同 pH 值下的吸附结果见图 1。分别用#1洗脱剂洗脱，相应的洗脱结果见图 2。

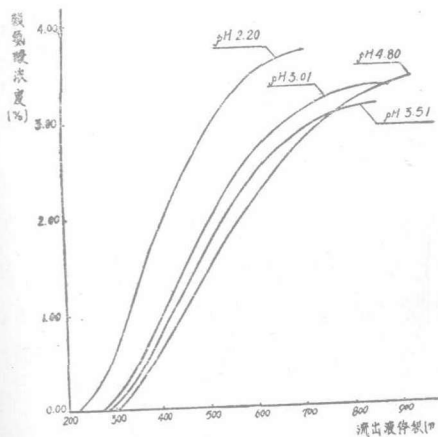


图 1 732 铵型树脂对工业纯赖氨酸溶液在不同 pH 值下的吸附流出曲线

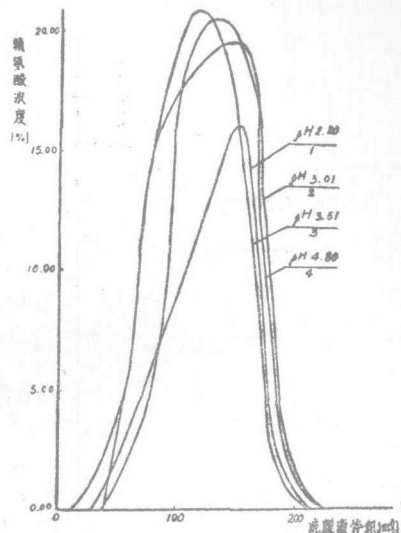


图 2 732 铵型树脂对工业纯赖氨酸溶液在不同 pH 值下吸附用#1 洗脱剂的洗脱曲线

1. 吸附结果 (图 1 曲线) 表明, 对工业纯赖氨酸溶液在 $\text{pH} = 4.80$, 赖氨酸主要呈正一价离子时比在 $\text{pH} = 2.20$, 赖氨酸大半呈正二价离子时吸附量多。这一结果符合 732 树脂与正价离子等当量交换的原则。

2. #1 洗脱剂的洗脱结果 (图 2 曲线) 表明, 对于工业纯溶液以正一价离子吸附的赖氨酸比以正二价离子的吸附赖氨酸容易被 #1 洗脱剂洗脱, 前者洗脱收率为 86.0%, 后者为 81.0%。

二、732 铵型树脂在不同酸碱度下, 对糖蜜发酵液中赖氨酸的吸附结果见图 3。分别用

*1洗脱剂洗脱,相应的洗脱结果见图4。

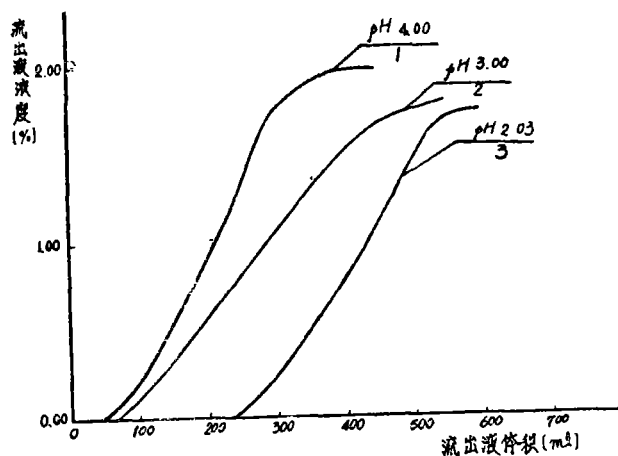


图8 723铵型树脂对糖蜜发酵液在不同pH值下的吸附流出曲线

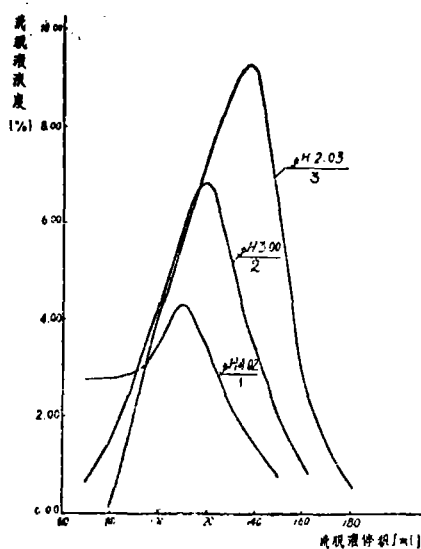


图4 723 铵型树脂对糖蜜发酵液在不同pH值下吸附用*1洗脱剂的洗脱曲线

1. 吸附结果(图3曲线)表明,对于糖蜜发酵液与工业纯溶液中赖氨酸的吸附情况正好相反,在 $\text{pH}=2.03$,赖氨酸主要以正二价离子存在时比 $\text{pH}=4.00$,赖氨酸主要以正一价离子存在时吸附量多。这取决于发酵液中有各种可离解杂质的存在。正二价的赖氨酸离子比正一价的赖氨酸离子对树脂有较大的亲和力,在与电离杂质的竞争及排除大分子物的干扰时,正二价赖氨酸离子具有较大优势,故吸附量大。

2. *1洗脱剂的洗脱结果(图4曲线)表明,对于发酵液以正二价吸附之赖氨酸的洗脱量比以正一价吸附之赖氨酸的洗脱量大。从曲线中体积小浓度高低的情况可以看出,这不

是前者比后者容易洗脱,而是以正一价离子吸附之赖氨酸在与发酵液中电离性杂质形成吸附平衡后,用水冲洗除去杂质时产生赖氨酸损失的结果。因此,在采用 732 铵型树脂提取糖蜜发酵液中赖氨酸並以*1洗脱剂洗脱时,发酵液的酸碱度应在使赖氨酸离解成正二价离子的范围为好。这样,赖氨酸吸附和洗脱收率高,杂质的吸附量相应就少。

三、不同洗脱剂的洗脱液浓度-体积曲线见图 5, 浓度-pH 曲线见图 6。

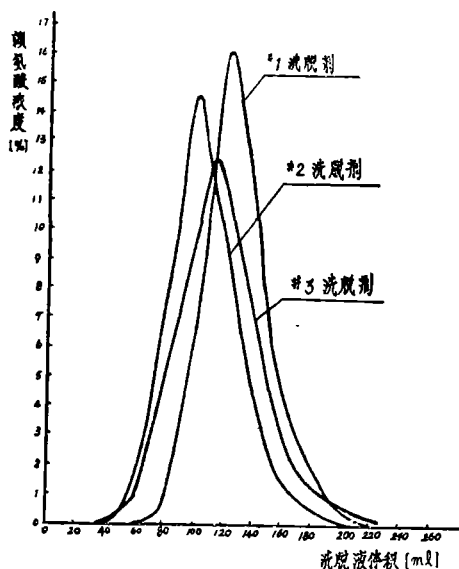


图 5 不同洗脱剂的洗脱浓度-体积曲线图

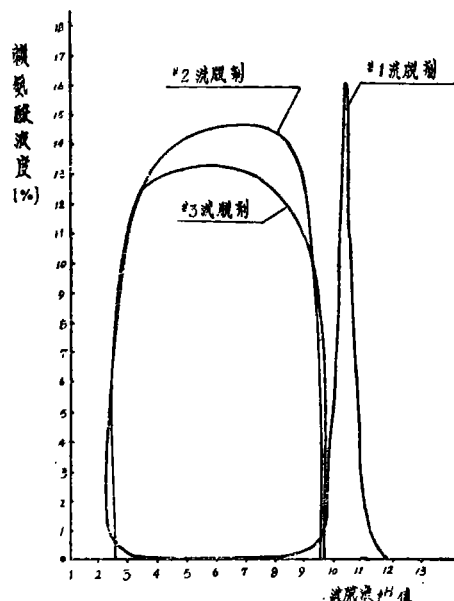


图 6 不同洗脱剂的洗脱浓度-pH 曲线图

图 5 和图 6 曲线表明, *1 洗脱剂具有最好的洗脱性能。同时*1洗脱剂为含有 NH_4^+ 离子的水溶液, 在洗脱完毕后 732 树脂即转变为铵型, 经用水冲洗后即可重新使用, 可以省去树脂的转型步骤。

四、试验结果还表明, 732 氢型、钠型和铵型树脂具有十分近似的吸附和洗脱结果。为了配合使用*1洗脱剂, 省去树脂的转型步骤, 以使用铵型树脂为最合理。

赖氨酸提取精制研究工作仍在继续, 本文是阶段性的成果报道, 今后将陆续发表有关的试验结果报告。

试验所用糖蜜赖氨酸发酵液, 承泉州第二制药厂供给, 谨致谢意。

参 考 文 献

- [1] 林文燮等, 福建甘蔗糖蜜生物合成 L-赖氨酸的研究, 华侨大学学报, 1 (1982), 52—59.
- [2] 王纯盗, 福建科技参考资料, 1980 年 9 月.
- [3] Daniel I. C. Wang et. al., Fermentation and Enzyme Technology, (1979), 华侨大学化学化工系生化工程教研室中译本, 福建省科技出版社, (1983).
- [4] C. A, 96: 124876s, (1982).
- [5] 无锡轻工业学院等合编, 甘蔗制糖工艺学, 轻工业出版社, (1982).
- [6] 过世澄, 直接比色法测定发酵液中赖氨酸的含量, 氨基酸通讯, 8 (1980), 59—60.