

文章编号 1000-5013(2004)01-0071-04

亲水有机相/含盐水体体系萃取 L-赖氨酸

谭平华 林金清 陈培钦 林其忠

(华侨大学材料科学与工程学院, 福建 泉州 362011)

摘要 以乙醇、磷酸氢二钾和水形成亲水有机相/含盐水体体系,用该体系萃取分离 L-赖氨酸,实验考察其可能性和影响因素.结果表明,赖氨酸在该体系的分配系数 K ,随体系成相磷酸二氢钾浓度的增加而减小,随体系 pH 值的增大而增大,而添加 NaCl 带来的影响却很小.该体系在 $w_{K_2HPO_4} = 0.25$, $w_{C_2H_5OH} = 0.20$ 和 pH = 13 时,赖氨酸的分配系数 K 可达 12.8. 这为赖氨酸的分离和精制提供了一种新可能.

关键词 L-赖氨酸, 乙醇, 磷酸氢二钾, 萃取, 分配系数

中图分类号 TQ 922+.3 TQ 028.4

文献标识码 A

L-赖氨酸(L-lysine)是一种重要的生物化学产品.它广泛应用于医药、食品、饲料等工业生产中.传统分离赖氨酸的离子交换法,存在着周期长、三废严重、收率低、成本高等弊病,因而在一定程度上限制了赖氨酸工业的发展.于是,研究开发其分离技术一直是人们关注的课题.乙醇/无机盐/水混合溶液在适当的浓度条件下产生分相,形成稳定的液液相平衡体系.该体系与有机溶剂萃取体系相比,两相有很高的含水率,因而部分文献称之为双水相体系^[1~3].但是,这类液液相平衡体系的成相机理,与高聚物/无机盐双水相体系的成相机理又有些本质的区别.前者的无机盐和有机物都是亲水性,后者只有盐是亲水性,而高聚物却是疏水性.因此,本文称之为亲水有机相/含盐水体体系.这类萃取体系用于生物物质的分离和纯化的研究,国内外刚起步,但已表现出良好的分离性能.例如, Louwrier^[4]用它萃取 BSA 和 α 酪蛋白,以及核糖核酸酶等生物物质; TAN^[5]、霍清等^[6],用它萃取甘草有效成分;李全民^[7]、高云涛等^[8],用类似的体系萃取金属络合物或金属离子,所有这些,都得到相当满意的结果.而且,这类萃取体系与传统的双水相体系相比,具有如下 3 个显著优点.(1)大幅度降低原料成本,解决双水相萃取技术原料成本偏高这一关键性问题.(2)省去反萃取步骤,降低操作费用.(3)试剂低毒、低粘度,传质和分相速度快,无两相乳化现象.与有机物/水体体系相比,这类体系具有体系环境比较温和,可用于部分生物物质的分离的优势.因此,这类体系有望取代部分溶剂萃取体系,用于物质的分离和纯化.本文研究乙醇、磷酸氢二钾和水形成的亲水有机相/含盐水体体系萃取分离赖氨酸,探讨了磷酸氢二钾浓度、pH 值及外加无机盐(NaCl)对赖氨酸在该体系中分配系数 K 的影响.

1 实验部分

1.1 主要实验药品及仪器

(1) 原料. L-赖氨酸(AR 级,上海化学试剂公司),无水乙醇(AR 级,纯度 99.7%,广东汕头市西陇化工厂),磷酸氢二钾(AR 级,纯度 99.0%,广东汕头市西陇化工厂),氢氧化钠,氯化钠,茚三酮,均为 AR 级,上海化学试剂公司.蒸馏水,自制.(2) 仪器. Sartorius BS110S 型电子天平,北京赛多利斯天平有限公司;501 超级恒温槽,上海实验仪器厂;78-1 型磁力加热搅拌器,上海南汇电讯器材厂;PHT-P 型 pH 计,上海雷磁仪器厂;721 型光度计,上海第三仪器厂.

收稿日期 2003-07-27

作者简介 谭平华(1972-),男,硕士研究生,主要从事化工热力学及分离工程的研究. E-mail: hdljq@hqu.edu.cn

基金项目 福建省自然科学基金资助项目(E0210022)

1.2 实验方法

在温度为 35℃ 下,测定了乙醇/磷酸二氢钾/水液液相平衡体系的分相数据.其乙醇与磷酸二氢钾的相图,如图 1 所示^[9].根据此相图,我们配制了适当浓度的亲水有机相/含盐水体体系,萃取赖氨酸.由于在这亲水有机相/含盐水体体系混合液中,pH 值漂移严重,稳定性差,因而给测定工作带来一定的困难.为此,本文首先测定磷酸氢二钾与赖氨酸混合液的 pH 值,然后加入乙醇混合、搅拌.也即在 100 mL 锥形瓶中加入 1 mL 浓度为 $0.1 \text{ kg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的赖氨酸溶液和适当浓度的磷酸氢二钾溶液,用 NaOH 或 HCl (但 NaOH, HCl 加入量很少,可忽略其对相平衡的影响)调 pH 值到指定数值.再加入乙醇,在磁力搅拌器上搅拌 0.5 h 后,放在恒温箱里静置至上、下相澄清为止.然后,分别取上、下相分析.上相浓度与下相浓度之比就是分配系数 K ,即 $K = C_{\text{下}} / C_{\text{上}}$, $C_{\text{上}}$, $C_{\text{下}}$ 分别是上、下相赖氨酸的浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$).

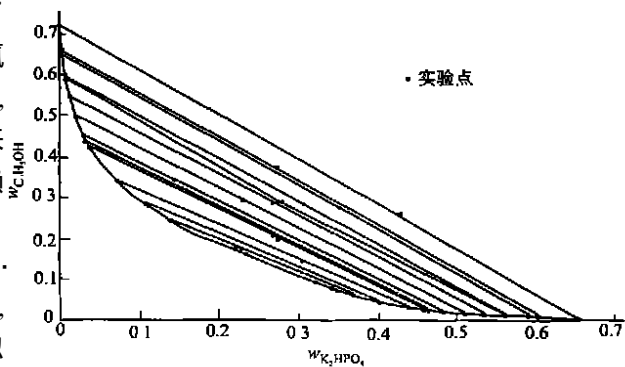


图 1 K_2HPO_4 与 $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 的相图

1.3 分析方法

用茚三酮比色法^[10],于 570 nm 处分别测定上、下相赖氨酸的浓度.

2 结果与讨论

2.1 初始磷酸氢二钾浓度对分配系数的影响

初始磷酸氢二钾和乙醇浓度改变,体系的相行为都会发生相应的变化.磷酸氢二钾和乙醇浓度增加,均有利于两相的分相.从 Gibbs 相律可知,恒温恒压下,三元体系的自由度为 1,只有一个组分是独立变化的.即当磷酸氢二钾浓度改变时,平衡体系中乙醇浓度也将发生相应的变化.因此,本文只考察初始磷酸氢二钾质量分数的 ($w_{\text{K}_2\text{HPO}_4}$) 变化对赖氨酸分配系数 K 的影响,实验结果如图 2 所示.从图 2 可以看出,相同 pH 值条件下,随着磷酸氢二钾浓度的增加,赖氨酸在体系中的分配系数 K 依次递减.但在不同 pH 值下,磷酸氢二钾浓度对分配系数 K 的影响是不同的.pH 值为 11 的体系相比于 pH 值为 10 的体系,其 K 值变化更加显著.这是因为随着体系磷酸氢二钾浓度的增加,上相中水的含量递减,乙醇含量递增,而赖氨酸在乙醇的溶解度是微小的,因此分配系数 K 逐渐降低.由此可见,磷酸氢二钾和乙醇浓度对分配系数 K 的影响,归根结底是平衡上相中水的浓度对分配系数的影响.即上相中水的浓度越高,分配系数越大.平衡上相中水浓度高对赖氨酸的萃取有利,而磷酸氢二钾和乙醇浓度高则对赖氨酸萃取不利.

2.2 初始磷酸氢二钾溶液的 pH 值对分配系数的影响

根据图 2 可知,确定低浓度磷酸氢二钾的体系更有利于赖氨酸的萃取.为此,如图 3 所示的实验结

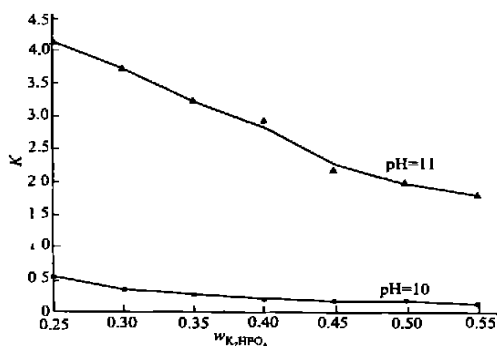


图 2 K_2HPO_4 浓度对 K 的影响

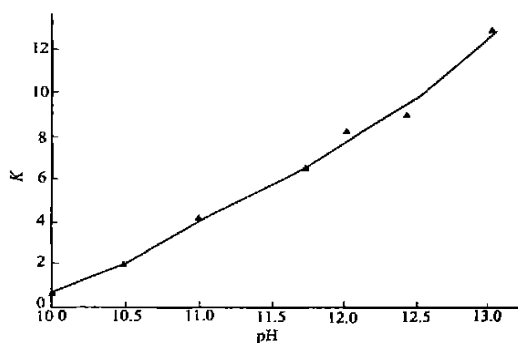
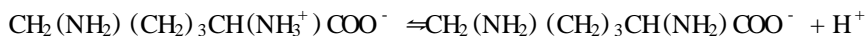
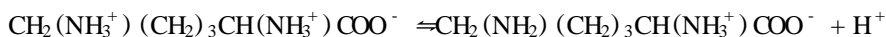


图 3 初始溶液 pH 值对 K 值的影响

果,我们只考察了低磷酸氢二钾体系(其质量分数 $w_{K_2HPO_4} = 0.25$)下,pH 值对赖氨酸的分配影响.从图 3 可以看出,随着初始磷酸氢二钾溶液 pH 值的增加,赖氨酸的分配系数 K 依次递增.这可能与赖氨酸的离解平衡有关.由于赖氨酸是一种碱性氨基酸,有两个氨基、一个羧基及一个侧链.其在水溶液中存在以下 3 个离解平衡,即



若以 $[A^{2+}]$, $[A^+]$, $[A^-]$ 和 $[A^\pm]$ 分别代表 L-赖氨酸在水溶液中相应的各种离子形式的浓度,则 3 个离解常数可以表示为

$$K_{a1} = \frac{[A^+][H^+]}{[A^{2+}]}, \quad K_{a2} = \frac{[A^\pm][H^+]}{[A^+]}, \quad K_{a3} = \frac{[A^-][H^+]}{[A^\pm]}.$$

在 25℃ 时 $pK_{a1} = 2.18$, $pK_{a2} = 8.95$, $pK_{a3} = 10.53$ ^[11]. 根据以上电离平衡关系,可以计算得到 L-赖氨酸水溶液中各种存在形式的摩尔分数 (n) 随 pH 值的变化关系.赖氨酸的离解分布曲线,如图 4 所示.从图 4 可以看出,当溶液的 pH 改变时,赖氨酸的存在形式也随之发生变化.当 pH 值等于 10 时,赖氨酸以 $[A^+]$, $[A^-]$, $[A^\pm]$ 形式存在,其中 $[A^\pm]$ 占优势;当 pH 值大于 10 时,随 pH 值增加, $[A^-]$ 也逐渐增加,最后以 $[A^-]$ 占绝对优势.可能是 $[A^-]$ 离子形式更容易分配在低含量的磷酸氢二钾上相溶液,因而使分配系数逐渐增大.赖氨酸分配系数 K 随 pH 值改变而改变的现象,与 Louwrier^[4] 用该体系萃取 BSA 和 α -酪蛋白及核糖核酸酶等生物物质一样,是一个 pH 值控制的体系.至于具体影响机理,有待进一步深入研究.从实验结果还可以看出,当 $w_{K_2HPO_4} = 0.25$, $w_{C_2H_5OH} = 0.20$, pH = 13 时,分配系数 $K = 12.8$.因此,用乙醇/磷酸氢二钾形成的亲水有机相/含盐水体萃取分离 L-赖氨酸是可能的.

2.3 外加盐 NaCl 对分配系数的影响

不同种类的盐对体系相行为的影响有所不同^[3].基于赖氨酸发酵液中常含有 Cl^- 等无机盐离子,因而在实验中考察了 NaCl 用量 (m) 对赖氨酸在乙醇/磷酸氢二钾体系分配的影响,实验结果如图 5 所示.对于低浓度的无机盐如 NaCl,可以忽略其对相分离的影响.文献^[3]试验表明,NaCl 分相能力很差.因

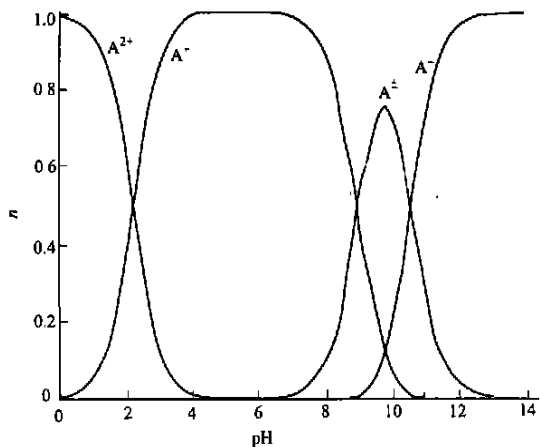


图 4 水相 pH 值对赖氨酸离子存在形式的影响

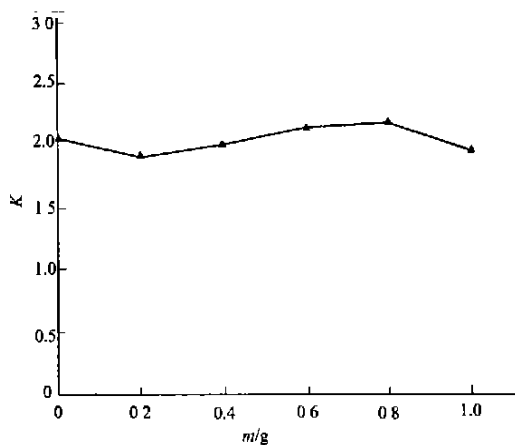


图 5 NaCl 用量对 K 的影响

此,实验配制了 pH = 10.5 的 K_2HPO_4 (10 g), H_2O (22 g) 而 NaCl 依次递增 (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g) 的磷酸氢二钾共 6 个溶液.然后,加入 C_2H_5OH (8 g) 组成的体系.从图 5 可以看出,低浓度的氯化钠对赖氨酸在该体系的分配影响甚小.在实际的萃取过程中,可以忽略 NaCl 的影响.

3 结束语

(1) 本文通过实验可以表明,赖氨酸在磷酸氢二钾、乙醇和水形成的亲水有机相/含盐水体中的分配,主要取决于体系的 pH 值和上相中水的浓度.也就是说,即 pH 值越高,上相水浓度越大,越有利于赖氨酸的萃取分离.

(2) 含 $w_{\text{K}_2\text{HPO}_4} = 0.25$, $w_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = 0.20$ 的体系, 在 $\text{pH} = 13$ 时, 赖氨酸分配系数可达 12.8. 这表明以磷酸氢二钾、乙醇和水形成亲水有机相/ 含盐水体系, 用该体系萃取分离 *L*-赖氨酸是可能的.

(3) 利用简单、易得、低成本、安全的磷酸氢二钾/ 乙醇亲水有机相/ 含盐水体系, 可为分离赖氨酸提供了一种新的可能.

参 考 文 献

- 1 Cheluget E L, Marx S, Weber M E, et al. Equilibrium in biphasic aqueous systems: A model for the excess gibbs energy and data for the system $\text{H}_2\text{O}-\text{NaCl}-1\text{-propanol}$ at 25°C [J]. *Journal of Solution Chemistry*, 1994, 23(2): 275 ~ 305
- 2 Zafarani-Moattar M T, Salabat A. Thermodynamics of magnesium sulfate-polypropylene glycol aqueous two-phase system experiment and correlation [J]. *Fluid Phase Equilibria*, 1998, 152(1): 57 ~ 65
- 3 王志华, 马会民, 马泉莉等. 双水相萃取体系的研究[J]. *应用化学*, 2001, 18(3): 173 ~ 175
- 4 Louwrier A, Model phase separations of proteins using aqueous/ ethanol components [J]. *Biotechnology Techniques*, 1998, 12(5): 363 ~ 365
- 5 Tan Tianwei, Huo Qin, Ling Qiang. Purification of glycyrrhizin from glycyrrhiza uralensis fisch with ethanol/ phosphate aqueous two phase system [J]. *Biotechnology Letters*, 2002, 24(17): 1417 ~ 1420
- 6 霍清, 林强, 赵玉娥. 利用双水相乙醇-磷酸氢二钾体系萃取甘草有效成分的研究[J]. *精细化工*, 2002, 19(2): 65 ~ 67
- 7 李全民, 张志洁, 耿新华等. 氯化钠-碘化钾-丙醇体系萃取分离汞[J]. *应用化学*, 2001, 18(3): 241 ~ 243
- 8 高云涛, 王伟, 吴立生. 丙醇-氯化钠-水体系萃取铈()-氯化亚锡-2-巯基苯并噻唑络合物的研究与应用[J]. *分析测试学报*, 2002, 21(3): 75 ~ 77
- 9 谭平华, 林金清, 陈培钦等. $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}-\text{K}_2\text{HPO}_4-\text{H}_2\text{O}$ 三元体系的溶解度和液液相平衡[J]. *福建化工*, 2002, 105(4): 45 ~ 48
- 10 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京: 轻工业出版社, 1989. 58 ~ 60
- 11 Hano Y, Ohtake T, Matsumoto M, et al. Extraction equilibrium of amino acid with quaternary ammonium salt [J]. *J. Chem. Eng. of Japan*, 1991, 24(1): 20 ~ 24

Extraction of *L*-lysine by Means of a Hydrophilic Organic Phase/ Salt Containing Aqueous System

Tang Pinghua Lin Jianqing Chen Peiqin Lin Qizhong

(College of Mater. Sci. & Eng., Huaqiao Univ., 362011, Quanzhou, China)

Abstract A hydrophilic organic phase/ salt containing aqueous system is formed by ethanol and dipotassium hydrogen phosphate and water. An experimental investigation is made on the possibility and the influencing factors of lysine extraction and separation by using this system. As indicated by the results, the partition coefficient K of *L*-lysine decreases with the increase of the concentration of potassium dihydrogen phosphate during phase formation in the system, and increases with the increase of pH value of the system; but it is influenced very little by the addition of sodium chloride. The partition coefficient of lysine can be increased up to 12.8 when the system is under the conditions of $w_{\text{K}_2\text{HPO}_4} = 0.25$, $w_{\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}} = 0.20$ and $\text{pH} = 13$. This provides a new possibility for the separation and refining of lysine.

Keywords *L*-lysine, ethanol, dipotassium hydrogen phosphate, extraction, partition coefficient