

溶液的 pH 对离子交换法提取赖氨酸的影响

严希康 俞晓明 庄英萍 吴小燕 周文龙

(华东化工学院生化工程系, 上海)

氨基酸的分离和提取, 工业上以离子交换法为主, L-赖氨酸的提取也不例外。影响离子交换过程的因素较多, 关键是选择合适的离子交换树脂, 其次应注意选择合适的操作条件。当离子交换树脂和提取的对象已经确定, 则选择合适的操作条件就成为主要矛盾, 最重要的操作条件是交换时的 pH 值^[1]。

在 L-赖氨酸的提取上, 溶液 pH 的选择国内外相差较大, 国内不少工厂, 在强酸性树脂上吸附时, 采用上柱液 pH 为 4.0—5.0, 而日、美等国均采用 pH 为 2.0—1.0 左右上柱, 所以我们以 L-赖氨酸为对象, 进行有关研究, 以期对生产有所帮助。

本工作主要通过离子交换树脂对 L-赖氨酸交换容量的测定, 确定强酸性阳离子交换树脂为提取 L-赖氨酸的手段以及评比吸附时溶液的最佳 pH 值, 同时利用离解常数与 pH 的函数关系式, 用电子计算机进行计算, 描点绘出不同价离子的百分数与 pH 的关系图, 然后给予理论分析, 得出吸附时上柱液的最佳 pH=2.0 左右的结论。

材料与方 法

(一) 药品和试剂

L-赖氨酸结晶(含量 99.93%), 上海天厨味精厂生产。

L-赖氨酸发酵液(含量 1.5%—4.0%), 镇江制药厂生产。

强酸性阳离子交换树脂, 弱酸性阳离子交换树脂华东化工学院研制。

(二) 实验方法和设备

交换容量测定

1. 静态法: 在三角烧瓶中注入一定量的离子交换树脂(不同类型)和 100ml 一定浓度的 L-赖氨酸溶液, 放入国际型电动振荡器上振荡, 直到平衡为止, 测定残液中 L-赖氨酸浓度, 计算平衡交换容量。

2. 动态法: 将一定量的离子交换树脂, 放在玻璃交换柱中, 通入 L-赖氨酸溶液, 直到树脂饱和为止, 将收集的流出液测定其中浓度, 计算饱和和交换容量。

(三) 分析方法

L-赖氨酸含量测定: 采用酸性铜茛满三酮比色法^[2]。

结 果

(一) 强酸性阳离子交换树脂之确定

早在 1961 年, Manabu Seno 等^[3]已对不同类型的离子交换树脂, 吸附 L-赖氨酸进行了研究, 认为不同类型的树脂, 在不同的 pH 值下, 其交换容量不相同。其中酸性树脂比碱性树脂来得高, 尤以弱酸性树脂更为突出。但工业生产上, 国内外往往采用强酸树脂为多。为究其原因和确定以什么类型的树脂作为研究手段,

本工作得到镇江制药厂大力支持, 有关计算部分得到我院邵行彦副教授的帮助, 在此一并致谢。

所以我们将 L-赖氨酸纯品溶液和发酵液,在上述最适 pH 范围内,用强酸和弱酸性树脂进行吸附试验,测定其交换容量,进行分析。结果见表 1:

表 1 不同类型树脂对赖氨酸交换容量

树脂类型		强酸性树脂	弱酸性树脂
上柱 pH		2.0	8.2
交换容量 (mg/g 干树脂)	纯品液	469	620
	发酵液*	322	156

* 淀粉发酵。

从表 1 可见,树脂对 L-赖氨酸的吸附容量,在纯品溶液中与发酵液中的差别是很大的,从发酵液中分离、提取 L-赖氨酸会使树脂的交换容量大大地下降,国外也有类似的报导^[4]。

交换容量的下降,是由于在培养液中除了 L-赖氨酸外,还含有相当数量的无机和有机化

合物,其中特别是色素、焦化糖等,无疑从这样的溶液中用离子交换法分离赖氨酸是困难的,色素和其他阳离子的竞争作用是吸附容量显著下降的主要原因。

对于弱酸性树脂,因为其交换势低,所以这种影响就更为突出,尽管弱酸性树脂理论交换容量较高,但当用在发酵液中提取 L-赖氨酸时,交换容量特别低,所以各国在 L-赖氨酸生产上一般选用强酸性阳离子交换树脂作为提取的手段。我们的实验结果也是如此。

(二) 强酸性阳离子交换树脂提取 L-赖氨酸时,溶液 pH 的影响

这方面的研究国外已做了一定的工作,但国内还未见到有关文献报道,所以我们分别用 H⁺ 型和 NH₄⁺ 型的阳离子交换树脂,在不同 pH 下对 L-赖氨酸进行吸附试验,测定其静态和动态交换容量,进行比较。结果见表 2 和表 3。

表 2 静态法测定溶液的 pH 与交换容量的关系

树脂型	交换容量	溶液 pH					
		1.0	2.0	3.0	3.9	4.5	5.6
NH ₄ ⁺ 型树脂	重交换(mg/g 抽干树脂)	284.2	353.8	200.4	147.8		
	体交换(mg/g 抽干树脂)	117.7	146.6	83.0	61.2		
H ⁺ 型树脂	重交换(mg/g 抽干树脂)	356.7	462.0	444.0		384.1	362.3
	体交换(mg/g 抽干树脂)	128.9	167.9	159.6		139.5	129.7

发酵液浓度为 3.7%。

表 3 动态法测定溶液的 pH 与交换容量的关系

交换容量 (mg/ml 湿树脂)	pH		
	1.0	2.0	3.0
H ⁺ 型树脂体积交换容量	156.5	261.2	212.8

发酵液浓度为 1.5%。

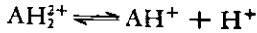
从上述结果可见,无论是 H⁺ 型树脂,还是 NH₄⁺ 型树脂,是静态吸附还是动态吸附,从发酵液中吸附赖氨酸,对于强酸性阳离子交换树脂,最佳 pH 都在 2 左右。

理论计算

(一) 吸附机理

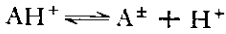
L-赖氨酸在发酵液中,是以单盐酸盐形式存在,交换结果其溶液是酸性的,因此其吸附机理可理解为氨基酸的阳离子被吸附在氢型阳离子交换树脂上,氢离子从树脂上被释放出来并使氨基酸离子完全离解而产生氨基酸阳离子这一结果,使得下一步氨基酸阳离子进一步与 H⁺ 交换得以实现。这一离子交换的平衡就是通过如此反复过程而达到的。

(二) L-赖氨酸盐酸盐离解形式和 pK 值



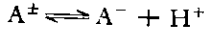
$$K_1 = \frac{[\text{AH}^+][\text{H}^+]}{[\text{AH}_2^+]} \quad (1)$$

$$\text{p}K_1 = 2.18$$



$$K_2 = \frac{[\text{A}^\pm][\text{H}^+]}{[\text{AH}^+]} \quad (2)$$

$$\text{p}K_2 = 8.95$$



$$K_3 = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{A}^\pm]} \quad (3)$$

$$\text{p}K_3 = 10.76$$

(三) 计算公式导出

令浓度单位为 m mol/ml, 由上述各式整理后可得下列各式:

$$[\text{AH}_2^+] = \frac{[\text{AH}^+][\text{H}^+]}{K_1} \quad (4)$$

$$[\text{A}^\pm] = \frac{K_2[\text{AH}^+]}{[\text{H}^+]} \quad (5)$$

$$[\text{A}^-] = \frac{K_2K_3[\text{AH}^+]}{[\text{H}^+]^2} \quad (6)$$

若溶液中赖氨酸的总量为 1m mol 即:

$$[\text{AH}_2^+] + [\text{AH}^+] + [\text{A}^\pm] + [\text{A}^-] = 1\text{m mol},$$

上述(4),(5),(6)式代入并整理后可得下式:

$$[\text{AH}^+] \left(\frac{[\text{H}^+]^3 + K_1[\text{H}^+]^2 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1K_2K_3}{K_1[\text{H}^+]^2} \right) = 1$$

$$\text{令: } f(X) = [\text{H}^+]^3 + K_1[\text{H}^+]^2 + K_1K_2[\text{H}^+] + K_1K_2K_3,$$

则:

$$[\text{AH}^+] = \frac{K_1[\text{H}^+]^2}{f(X)} = f(B)$$

$$[\text{AH}_2^+] = f(B) \times \frac{[\text{H}^+]}{K_1} = f(A)$$

$$[\text{A}^\pm] = f(B) \frac{K_2}{[\text{H}^+]} = f(C)$$

$$[\text{A}^-] = f(B) \frac{K_2K_3}{[\text{H}^+]^2} = f(D)$$

设氢离子浓度为 X, 则 A, B, C, D 都是 X

的函数。这样就可用电子计算机进行演算。

(四) 计算步骤与框图

1. 标识符说明:

I 为整型变量。

K, K₁, K₂, K₃ 是电离平衡常数。

X, B, A, C, D[1:28] 表示 pH, 不同价离子量数组。

2 框图: (略)

3 程序: BEGIN

```
REAL XI, K1, K2, K3;
```

```
INTEGER I;
```

```
ARRAY X, B, A, C, D[1:28]
```

```
FILE pH2(KIND=PRINTER);
```

```
FORMAT PRT2(5F13.6)
```

```
I:=1;
```

```
FOR XI:= -0.5 STEP -0.5
```

```
UNTIL -14 DO
```

```
BEGIN X[I]:= 10 * * XI;
```

```
I:=I + 1 END;
```

```
K1:= 6.6 * 10 * * (-3);
```

```
K2:= 1.13 * 10 * * (-9)
```

```
K3:= 1.73 * 10 * * (-11)
```

```
FOR I:= 1 STEP 1 LINTIL 28 DO
```

```
BEGIN
```

```
B[I]:= K1 * X[I] * * 2 / (X[I]
```

```
* * 3 + K1 * * X[I] * *
```

```
2 + K1 * K2 * * [I] + K1
```

```
* K2 * K3);
```

```
A[I]:= B[I] * X[I] / K1;
```

```
C[I]:= K2 * B[I] / X[I];
```

```
D[I]:= K2 * K3 * B[I] / X[I]
```

```
* * 2;
```

```
WRITE(pH2, PRT2, X[I],
```

```
B[I], A[I], C[I], D[I]);
```

```
WRITE(pH2)
```

```
END
```

```
END。
```

(五) 计算结果

将计算结果描点作图如下(图 1)。

由图可见, 在 pH = 2.0 时, 溶液中一价赖

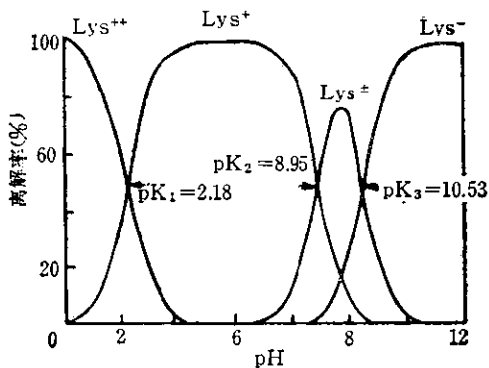


图1 赖氨酸的解离曲线

氨酸阳离子占 39.76% (或 0.3976m mol), 二价赖氨酸阳离子占 60.24% (或 0.6024m mol)。

讨 论

1. 首先根据吸附平衡常数或选择性系数 $K_{H^{2+}}^{Lys^{2+}}$ 的实验值: $K_{H^{2+}}^{Lys^{2+}} = 0.80$; $K_{H^{1+}}^{Lys^{2+}} = 23.6$, 即二价离子的系数, 大大地大于一价阳离子的系数; 可知树脂应优先吸附二价赖氨酸阳离子, 并对溶液中其他一价或二价杂质离子的竞争作用也居优势。

2. 二价离子和树脂的相互作用, 不仅表现在对被吸附离子的选择性上, 而且使树脂也受到一定的变形。在变形的树脂上交换能量损耗

下降, 从而增加了被交换离子和树脂的结合能, 使吸附容量有所增加^[5]。

3. 如果吸附的是二价离子, 树脂上必须有二个活性中心才能与一个二价赖氨酸阳离子结合, 这样势必会使交换容量下降。另外要使溶液中二价阳离子的浓度增加, 必须要降低溶液的 pH 即增加 H^+ 离子的浓度, 但随着 H^+ 离子浓度的增加, H^+ 离子与赖氨酸离子的竞争作用增加。所以要使赖氨酸比较好的吸附在树脂上, 必须兼顾上述各方面的因素。具体的措施就是要选择一个适当的 pH 来进行吸附才是。

从我们的实验结果来看, 以 pH=2 左右为好, 这时既兼顾了二价阳离子吸附的优势, 又减少了 H^+ 离子的竞争作用, 也保持了一定比例的一价阳离子, 使交换容量达到了较大的值。所以我们建议: 在当前国内赖氨酸生产上应选择 pH 为 2 左右的吸附条件为好。

参 考 文 献

- [1] 郭行彦等编:《抗菌素生产工艺学》, 化学工业出版社, 北京, 1982年, 第238页。
- [2] 秋保ツ: 日本特许公报, 昭和 50-20874, 1975。
- [3] Manabu SENO and Takeo Yamabe: *Bul Chem Soc Japan*, **34**(7):1021-1026, 1961。
- [4] Самсонов, Г.В. и др. Ионный обмен Сорбция Органических Веществ, 336Л., Наука, 1969。
- [5] Немцова Н. Н. и др.: *Ж.П.Х.* **4**:953-958, 1980。