

发酵液预处理和树脂交链度等对 L-赖氨酸吸附的影响

严希康 唐耀明 李宗德 周文龙 庄英萍

(华东化工学院生化工程研究所, 上海)

摘要 用絮凝技术预处理 L-赖氨酸发酵液, 不仅大大提高了发酵液的固液分离效果并使树脂对 L-赖氨酸的重量吸附容量增加了 25%。提高树脂的交链度 ($DVB = 10\%$) 既可使吸色率降低 19% 左右又可使其对 L-赖氨酸的体积交换容量上升 5%, 树脂对 L-赖氨酸的吸附特性还表现在上柱液中其浓度为 4% 处有一极值点, 此值比生产上所用浓度时的体交量增加约 20%, 综合效果为提高 L-赖氨酸回收率达 15% 左右, 经济效益显著。

关键词 L-赖氨酸; 树脂交链度; 交换容量

在分离和提取氨基酸的工业领域内 (其中也包括 L-赖氨酸) 离子交换吸附法的应用具有特别重要的意义。这种过程的关键在于使离子交换树脂最大限度地为氨基酸所饱和。为此, 必须选用合适的离子交换树脂, 使其符合下面两个条件: 一方面, 当无杂质存在时, 应对氨基酸有较大的吸附容量; 另一方面, 当溶液中有其他组份存在时, 能选择性地吸附氨基酸。因此除了要求离子交换树脂应有一定的孔隙度 (即交链度) 和确定树脂活性基团的型式以外; 交换条件的选择, 其中溶液的性质, 包括酸度、浓度最为重要; 在这种过程中, 预先将一些会使对氨基酸的吸附容量大大降低的杂质, 包括菌体、自溶液中除去也是很重要的。

本文主要介绍离子交换树脂交链度大小,

发酵滤液中 L-赖氨酸浓度的变化以及发酵液通过预处理后对离子交换树脂吸附 L-赖氨酸的影响, 从中选用最佳条件, 来设法提高树脂对 L-赖氨酸吸附容量和回收率。现将结果报道如下。

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—5.0%), 绍兴

本工作得到绍兴制药厂的大力支持, 得到我所俞俊堂教授、胡章助副教授的帮助, 有关 Zeta 电位的测定工作, 得到我院物理化学教研组王世容讲师的帮助, 在此一并致谢。

制药厂生产。

强酸性阳离子交换树脂: Dowex 50W, 由美国 Dow Chemical Co. 生产。

高分子絮凝剂: 由华东化工学院研制。

(二) 实验方法和设备

交换容量测定: 采用静态法和动态法测定^[1]

絮凝作用的测定: 1. 沉降管(比色管)试验。2. 过滤试验(真空吸滤器试验)。从而测得沉降速度, 澄清度, 脱色率, 滤液量和过滤用时间。

(三) 分析方法

L-赖氨酸含量测定: 采用酸性铜茱满三酮比色法^[2]。

pH 值测定: 酸度计法(雷磁 25 型)。

色度值测定: 比色法(CM-2 型数字式测色计)。

流动电位(亦称 Zeta 电位)测定: DPM-1 型微电泳仪。

结 果

(一) 离子交换树脂交链度大小对 L-赖氨酸吸附容量的影响

从发酵液中分离 L-赖氨酸在国外广泛使用强酸性阳离子交换树脂如^[3]: Ky-2 × 8, DiaionSK-16, SK-18, Diaionpk-212, AmberliteIR-120, Dowex-50W, DuoliteC-25, Permutit 等, 这些树脂的交链程度有低有高, 象苏联的 Ky-2 × 8, 其中交链剂含量为 8% 而国内一般均采用 732 树脂(1×7), 其交链剂为 7%, 到底选用交链度多少大小的树脂对 L-赖氨酸的吸附为好, 国内外未见有专门评论。为此我们选用 Dowex 50W 系列树脂对 L-赖氨酸纯品溶液和发酵液进行了静态和动态吸附试验, 从对 L-赖氨酸的吸附容量和对色素吸附能力的大小两个方面进行了评比, 静态与动态试验所得结果相类似, 详见图 1 和 2。

从图可知, 强酸性阳离子交换树脂对 L-赖氨酸的吸附是: 1. 随着交链度的增加, 重量交换容量下降而体积交换容量上升, 在低交链度

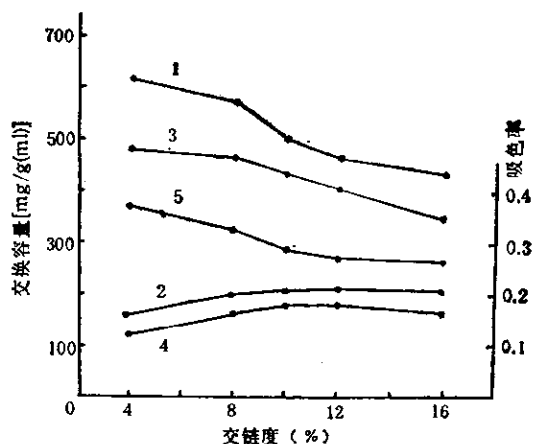


图 1 Dowex50W 系列树脂对赖氨酸溶液静态吸附比较

- 1, 2: 纯品溶液 (重交量和体交量)
3, 4: 发酵液 (重交量和体交量)
5: 吸色率

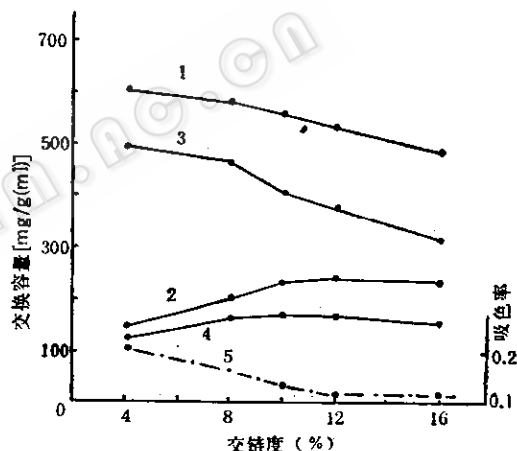


图 2 Dowex50W 系列树脂对赖氨酸溶液动态吸附比较

- 1, 2: 纯品溶液 (重交量和体交量)
3, 4: 发酵液 (重交量和体交量)
5: 吸色率

时如 4%, 虽重量交换容量很高, 但体积交换容量很低, 而在高交链度时如 16%, 体积交换容量不是很高, 而重量交换容量下降得很厉害, 对于工业生产来讲, 往往以体积交换容量作为主要指标。2. 树脂吸附色素的能力, 随着交链度的增加而减少, 所以树脂的交链度在 8—12% 之间对 L-赖氨酸的吸附都是可以的, 但从提高树脂的选择性, 减少因树脂的膨胀度给交换柱中层高带来的不稳定性, 使 L-赖氨酸峰谱窄而对称, 同时使交换时扩散过程进行得较快, 可考

表 1 不同浓度 L-赖氨酸纯品溶液对树脂吸附的影响

溶液浓度 (%)	0.865	1.639	2.392	2.930	3.596	4.190	4.392	5.072
重交量 (mg/g 干树脂)	414.5	462.6	469.2	487.0	563.6	714.5	626.3	516.4

注: pH = 2.0, 氢型树脂。

表 2 不同浓度 L-赖氨酸发酵液对树脂吸附的影响

发酵液浓度 (%)	1.152	1.790	2.450	3.738	4.162	4.296
重交量 (mg/g 干树脂)	298.8	399.1	417.6	434.7	504.2	452.3
体交量 (mg/ml 湿树脂)	123.8	165.3	173.0	180.1	208.8	187.3

虑改用 10% 的交链度代替目前生产上使用的 7% 交链度为好, 这时树脂的吸色率可降低 19% 左右而对 L-赖氨酸的体交量可增加 5%,

(二) 溶液中 L-赖氨酸的浓度对树脂吸附的影响

根据一般规律, 高价离子随着溶液的稀释, 吸附量随之增加, 低价离子则随着溶液中浓度的增加, 吸附量增加^[4]。L-赖氨酸溶液, 当 pH 为 2 左右时, 溶液中一价阳离子占 39.76%, 二价阳离子占 60.24%, 应该在什么溶液浓度范围吸附才好, 为此我们用不同浓度的 L-赖氨酸纯品溶液和发酵液进行吸附试验, 结果见表 1、2。

从表 1、2 可见, 树脂对 L-赖氨酸的吸附容量随着溶液中浓度的增加而增加, 在 4% 时有一最大值, 随后又下降, 这一结果与溶液中两价赖氨酸离子和一价赖氨酸离子共存有关, 这一吸附特征是平衡了一价离子和两价离子影响的结果, 所以有一个高峰。目前我国有些工厂将发酵液稀释后再上离子交换柱吸附, 我们认为大可不必, 最好控制在浓度 4% 左右上柱, 这样可比现行工艺的树脂体交量增加约 20% 左右。

(三) 发酵液的预处理对树脂吸附的影响

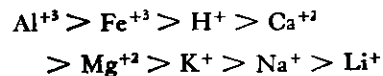
在 L-赖氨酸发酵液中, 其它氨基酸的含量较少, 但还含有相当数量无机和有机化合物, 其中包括钙、镁、钾等离子, 大量菌体、蛋白质、色素和残糖等, 这些杂质的存在都会影响离子交换树脂的吸附性能和操作。选用一些无机和有机絮凝剂对发酵液进行预处理, 以便除去一些悬浮的和可溶性的杂质, 改善固液分离和离子

交换吸附过程。

L-赖氨酸发酵液为非牛顿型胶体溶液, 用 DPM-1 型微电泳仪测得其胶体粒子带负电, 由于双电层而使胶粒产生的流动电位 (亦称 Zeta 电位) 测得为 -12.1 mV。流动电位的存在, 使胶粒间互相排斥而抵制凝聚。用无机及有机絮凝剂处理, 使 Zeta 电位绝对值降低而凝结, 加上高分子絮凝剂的吸附、架桥作用使粒子变大, 形成凝聚块而凝聚沉降^[5]。

1. 酸及无机盐处理

(1) 酸处理: 由于强酸性阳离子交换树脂对赖氨酸吸附的最适 pH 为 2 左右, 用酸调节发酵液至不同的 pH 值, 结果发现随着 pH 的下降, 发酵液中聚凝的固形物量增加, 在 pH=2 时最多, 这时测得的 Zeta 电位为 -7.9 mV, 比原始发酵液的 Zeta 电位 -12.1 mV 绝对值为小, 可见 H⁺ 离子起到中和胶体颗粒电性的作用, 因而有大量固形物聚凝。胶体溶液聚沉作用的大小和电解质的浓度有关, 也和电解质的离子本性有关。所以氢离子浓度愈大即 pH 愈低, 聚沉愈好, 根据几种阳离子对带负电荷的胶体聚沉能力大小的次序:



可见氢离子 (即无机酸) 也是具有较大聚沉能力的电解质。因此在发酵液预处理时, 先用酸调节 pH 进行凝聚是合理的。

(2) 无机盐处理: 采用黄血盐和硫酸锌产生共沉淀而使 L-赖氨酸发酵液中杂质聚凝, 实验结果发现可使胶体颗粒聚凝, 但由于无机盐

表3 高分子絮凝剂的初步筛选

絮凝剂的编号和类型	非离子		阳离子		阴离子	对 照
	4	6	8	10	12	
絮凝剂用量 (ppm)	10	10	10	10	10	0
透光率(%)	18.5	18.4	18.7	19.0	26.2	18.4
滤速 (ml/min)	—	—	3.08	3.29	4.88	2.92
滤饼重 (g)	—	—	0.210	0.221	0.237	0.202

注: 试验在 100ml 带有刻度的比色管内进行, 发酵液体积为 100ml, 非离子絮凝剂为聚丙烯酰胺, 阳离子絮凝剂为含季胺基聚苯乙烯衍生物, 阴离子絮凝剂为丙烯酸共聚物。试验时 pH 为各絮凝剂使用时应具的最适 pH 范围。

的加入, 使溶液中无机阳离子量有所增加, 在树脂吸附时, 与赖氨酸阳离子发生竞争作用, 使树脂对赖氨酸的交换容量明显下降, 所以这种办法是不可取的。

2. 用高分子电解质絮凝: 上述加酸预处理的办法, 是使胶体脱稳而聚沉, 但所生成的聚集体较小, 发现其沉降和过滤性能仍较差, 所以使用高分子电解质作进一步处理, 由于它的凝聚能力强, 除了能使胶体蛋白质发生沉聚以外, 还能部分地除去色素等可溶性的大分子杂质, 同时不吸附和破坏发酵液中的产物, 因此是较理想的溶液净化剂。

(1) 各类高分子絮凝剂的初步筛选: 高分子絮凝剂按离子的性质可分为阴离子型、非离子型及阳离子型。絮凝作用如按电性中和机制来考虑, 对于赖氨酸发酵液似应用阳离子絮凝剂, 但由于我们所收集到的阳离子絮凝剂有局限性, 加上絮凝作用机制也不完全是单纯的电性中和, 还有吸附架桥和去溶剂化作用。在许多情况下, 负电颗粒可以由非离子和阴离子絮凝剂加以絮凝。这时, 某种专属吸附机理在发生作用, 所以我们对阴、阳、非离子三种絮凝剂都进行了筛选, 结果如下(表3):

由表3可见, 以12号絮凝剂为最好, 为此我们作进一步条件试验。

(2) 12号絮凝剂最佳使用条件的确定: 根据小型定型试验结果确定: 发酵液的pH、温度和絮凝剂的投加量对胶体颗粒的絮凝作用影响较大, 故对每一因子、选三个水平进行 $L_9(3^4)$ 正交试验(正交试验表从略), 其结果为: i. 加热能增加胶体粒子的功能和相互碰撞的机会,

同时使蛋白质变性, 所以对絮凝是有利的。因此其絮凝量增大, 还能使脱色率上升; 过滤速度提高, 其中以45℃时最佳, 比室温时提高80%左右。由于生产上发酵结束后要升温杀菌, 所以在45℃下进行絮凝也是可行的。

ii. 发酵液的pH对絮凝作用的影响较大, 当pH=2时, 无论是过滤速度、脱色率还是含固量都是最大。

iii. 絮凝剂用量过低或过高都是不利的, 过低达不到絮凝效果, 过高可使颗粒电荷再次升高而使之相互排斥, 使絮凝体再分散, 另外还应从经济角度选用其用量, 在实验中以10ppm较好, 此时絮凝的固形物最多, 过滤速度也最快。

在上面絮凝工作结束后, 我们测定了发酵液中赖氨酸的含量, 发现与原始溶液中含量相当, 没有损失, 相反用絮凝后的清液进行静态吸附试验, 测得对赖氨酸的重量交换容量比未絮凝时增加25%左右。

讨 论

1. 在当前赖氨酸生产上, 由于国内离心设备跟不上, 往往采用不过滤提取, 这样对树脂的吸附和操作都带来较大的影响, 通过试验我们认为采取无机酸和阴离子型高分子电解质并用絮凝的方法, 可改善过滤性能, 分离去除菌体和一些杂质并改变滤液性质, 利于后继步骤操作, 提高了树脂对赖氨酸重量交换容量达25%左右。

2. 在发酵液预处理以后, 选择合适的离子交换树脂, 事关重要, 为减少树脂对色素等有机大分子吸附和提高树脂的交换容量和选择性,

宜将其交链度提高到 10%，这样既使吸色率降低了 19% 左右，体交量增加了 5%，又改善了固定床操作。

3. 最后应该选择合适的操作条件，其中最重要的是交换时溶液的 pH 值，已在本刊 1985 年第六期上发表，其次是溶液中赖氨酸的浓度，由于现生产上采用不过滤提取，往往将发酵液稀释后上柱，从我们实验结果看应以 4% 浓度最好，既增大了树脂的吸附平衡速度又提高了交换容量。

在综合上述各条件试验下，可使回收率提

高 15%。

参 考 文 献

- [1] 严希康等：微生物学通报，12(6)：246—249，1985。
- [2] 秋保マ：日本特许公报，昭和 50-20874，1975。
- [3] Аре, Р. Ю. и ДР.: Получение Микробных Метаболитов. Обзор. М., Онтитэимикробнопром, 1979, 72С。
- [4] Самсонов, Г. В.: Сорбция и Хроматография Антибиотиков, изд. АН СССР; 1960。
- [5] Верникова, Л. М. и др: Антибиотики 3: 298--304, 1980。