

L-脯氨酸发酵液的脱色研究

严希康 易向群 杨雅琴 沈林南 张勤彦

(华东化工学院生化工程研究所, 上海 200237)

摘要 对 L-脯氨酸发酵液的脱色过程进行了研究, 筛选到了具有脱色效果好, 解吸容易, 脯氨酸损失小等特点的 XD 型树脂并对有关脱色条件和吸附等温线进行了试验、分析, 求得其最佳值; 从解脱曲线的多峰型表明为非单一性色素。

关键词 色素; 脱色; L-脯氨酸; 离子交换树脂; 吸附

L-脯氨酸发酵液中的颜色来源于培养基, 如糖蜜、玉米浆等, 或微生物代谢过程中产生^[1]。从发酵液中制备出浅色乃至无色的 L-

脯氨酸产品及其制剂或对中间品进行分析, 都必须部分以至全部除去色素, 否则会影响产品质量、干扰分析结果, 为此, 对 L-脯氨酸发酵

液的脱色进行了研究。

材料与方 法

(一) 试剂

L-脯氨酸发酵液：本所脯氨酸发酵组提供。

吸附剂：离子交换树脂，由本所树脂室提供；活性炭，上海活性炭厂产品。

(二) 实验方法和设备

吸附容量的测定(吸附剂对色素的吸附)：

静态法：取处理好的吸附剂，脱气后甩干，准确称取5克，加入100 ml L-脯氨酸发酵液，在室温下振荡6小时，取样测吸光度。

动态法：取处理好相同体积、不同种类的吸附剂各7.5 ml，装入玻璃柱中，后用电子微量泵恒流加料，流出液由分部收集器收集，测定吸光度。

(三) 分析方法

L-脯氨酸含量测定：用Chinard茚三酮显色法^[2]。

pH值测定：PHS-2C型酸度计。

吸光度A和透光率：用721分光光度计在波长515nm处测定，对照用去离子水。

结 果

(一) L-脯氨酸发酵液中色素测定方法的确定

由于色素的多样性和组成成分复杂，目前尚无确切的方法进行测定，往往以相对值来表示。在实验中我们以某一批发酵滤液的色素浓度为100%，作为标准品，进行标准曲线的绘制等。

首先将有色的发酵滤液，在各种波长下进行扫描，实验结果表明无最大吸收峰。将上述滤液稀释不同倍数，在不同波长下，把它们对光的吸收强度与其相对应的浓度作图，选择线性关系最好的波长作为比色法测定L-脯氨酸发酵滤液色素的最佳波长，实验结果表明为515nm(图1,2)。

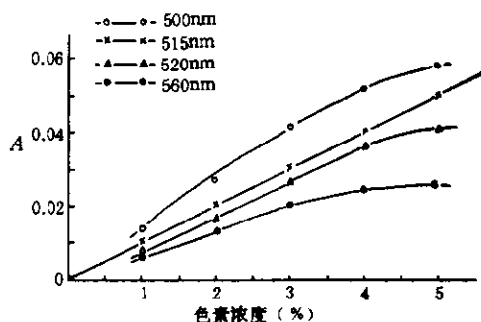


图1 不同波长下色素浓度与吸光度关系

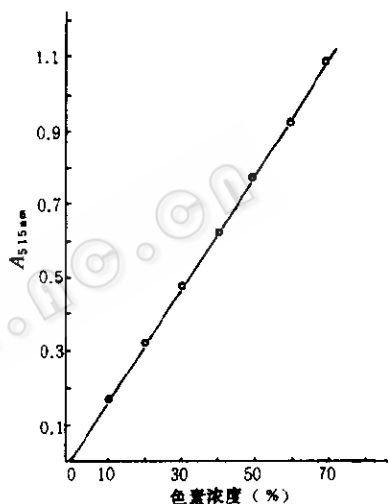


图2 测定色素浓度的标准曲线

(二) 发酵液的脱色试验

1. 脱色剂的筛选：选用四种脱色剂，用静态吸附法进行对比试验，结果见表1。

表1 4种脱色剂脱色效果比较

脱色剂种类	OTT	GD-46	XD	活性炭
脱色后色素浓度(%)	5.86	20.1	5.50	39.4
脱色后脯氨酸浓度(%)	2.83	2.95	2.96	2.84

注：脱色前滤液色素浓度经721分光光度计测得的吸光度查标准曲线为62.4%，Proline浓度为3.09%

由表1可见XD树脂是一种优良的脱色剂，它吸附色素最多而L-脯氨酸损失甚少，此外还具有解吸容易，机械强度大，流体阻力小等优点，具体指标见表2。

2. 溶液的pH对XD树脂脱色的影响：XD树脂为一弱酸性吸附树脂，在不同pH下的脱色效果

表 2 XD 型树脂性能指标

含固量 %	~25	树脂重量交换量 meq/g H 型干树脂	4.6
H→Na 型膨胀率 %	~62.03	树脂容积总交量 meq/ml H 型树脂	0.7557
Na 型树脂湿视密度	0.6077	H 型树脂湿真密度	1.0561
Na 型树脂湿真密度	1.0654	H 型树脂水分含量 %	~73.03

表 3 溶液 pH 的变化对 XD 树脂脱色效果的影响

pH 值	2	3	4	5
脱色后色素浓度 (%)	10.0	48.3	53.6	67.2
脱色后脯氨酸浓度 (%)	2.93	2.90	2.78	2.61

注：脱色前色素浓度为 72.0%，Proline 浓度为 3.00%

pH 2 时，XD 树脂脱色效果很好，L-Proline 损失很小，因为此时树脂上的活性基团被遏制不解离，借助于范德华分子引力吸附溶液中色素分子。

3. 不同流速对 XD 树脂脱色效果的影响：在溶液 pH 2 时，以不同流速：SV 为 1/10, 1/20, 1/30, 1/40(每分钟流出液的体积是树脂体积的几分之几)，通过装有 XD 树脂固定床，观测其脱色效果。从图 3 可知，当流出液体积相同时，流速慢其流出液中的色素较少，吸光度小，即去除色素较多，但流速过慢则生产周期长，并不经济，权衡各个方面，以 SV=1/20—1/30 为佳。

4. 吸附等温线 [3]：有很多公式可以表示吸附等温线，其中 Fleundlich 经验式最为方便，表示式为： $\frac{x}{m} = KC^{1/n}$ 。式中 C 为滤液中色素的平衡浓度，x 为吸附过程前后滤液的吸光度差，m 为树脂用量 (g/L),K 和 n 均为常数。以不

图 4 所示吸附等温线。经线性回归可得 $K=59.2$, $1/n=0.85$ 。据文献介绍， $1/n$ 在 0.1—0.8 之间表示吸附易进行， $1/n>2$ 则表示吸附难进行 [1]。

5. 动态脱色试验

(1) 色素吸附曲线：使用 7.5ml 处理好的 XD 树脂，上发酵液 500ml、调 pH 至 2，然后每 50ml 收集一管，测吸光度做吸附曲线 (图 3)。从图 3 可知 XD 树脂的脱色效果是很好的，当发酵滤

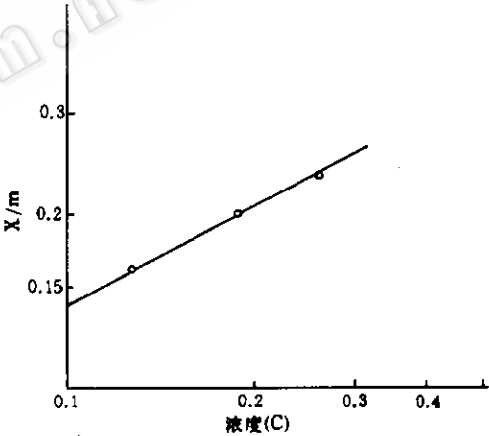


图 4 吸附等温平衡线

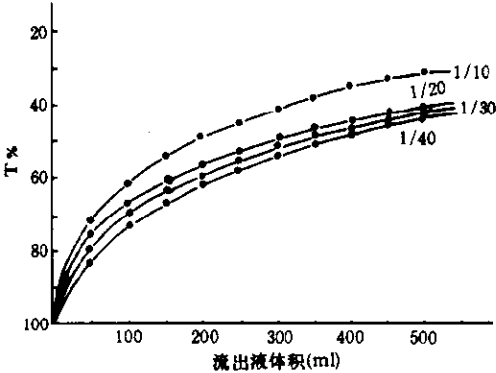


图 3 不同流速下，XD 树脂的脱色曲线

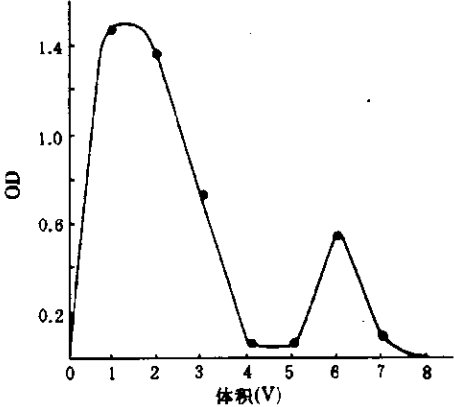


图 5 色素吸附曲线

同用量树脂，处理一定初始吸光度料液，可得如

液通量为树脂 70 倍时, 进出固定床的色素浓度才相等。

(2) 洗脱曲线: 采用碱性丙酮作为洗脱剂, 洗脱速度 $SV=1/40$, 每隔 10ml 收集一管测吸光度做洗脱曲线。由图 5 可见, 有二个洗脱峰, 说明色素并非单一性物质, 有待进一步研究。

讨 论

1. 本研究结果发现, 因 L- 脯氨酸发酵液中至少有二种有色物质, 故在各种波长下扫描时无最大吸收峰, 只能采用线性关系表示最好的波长 (515nm) 为分析时最佳波长。

2. 本研究筛选到的 XD 型树脂具有脱色效果好, L- 脯氨酸损失少, 简便易行, 经再生可反复使用等优点。

3. 采用 XD 树脂固定床吸附技术, 解决 L- 脯氨酸发酵液的脱色工作, 获得的最佳工艺条件和吸附等温线, 为生产和设计提供了可靠的依据和基础。

参 考 文 献

1. 焦瑞身等, 生物工程概论, 化学工业出版社, p.315 1991.
2. Chinard F P: *J. Biom. Chem.*, 199:91, 1952.
3. 北川浩, 铃木谦一郎著, 鹿政理译: 吸附的基础与设计, 化学工业出版社, p.281, 1983.

(1992-3-16 收稿)