

# 提取 L-赖氨酸离子交换平衡特性的研究

石慧东 陈 坚 伦世仪

(生物工程系)

**摘要** 研究了赖氨酸与 732<sup>#</sup> 离子交换树脂的离子交换平衡特性。测定了两种赖氨酸离子在 732<sup>#</sup> 树脂上的选择性吸附系数分别为 2.05 和 0.398, 考察了温度、pH、赖氨酸浓度对平衡吸附量的影响, 分析了发酵液中各种离子在树脂上的竞争吸附情况。

**主题词** 赖氨酸; 提取; 离子交换

**中图分类号** TQ425.9

## 0 前 言

L-赖氨酸是人体及动物自身不能合成的一种必需氨基酸, 广泛地应用于食品、饲料和医药工业。我国赖氨酸工业生产技术与国外先进水平相比, 在提取收率等方面差距较大。赖氨酸的提取方法主要有: 结晶沉淀法、有机溶剂抽提法、电渗析法和离子交换法等。国内外大多数厂家都采用离子交换法提取赖氨酸。

长期以来对离子交换法提取赖氨酸的研究主要集中在离子交换树脂在氨基酸分析中的应用上。直至 Kawakita 等从 1976 年开始对工业分离赖氨酸过程进行了系统的研究<sup>[1]</sup>。国内对于离子交换分离赖氨酸的研究仅有 pH 值、赖氨酸浓度以及树脂交联度对交换容量的影响和操作条件对动态交换容量的影响等方面的报道<sup>[2~4]</sup>。本研究采用离子交换法提取赖氨酸, 在选择出合适的离子交换树脂的基础上, 测定了不同赖氨酸离子的选择性吸附系数, 对离子交换进行了理论分析, 并通过实验对影响离子交换平衡吸附的因素和发酵液中各种离子在树脂上的竞争吸附情况进行了分析。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验方法

- 1) 树脂的预处理 见文献[5].
- 2) 静态吸附实验 在三角瓶中加入一定数量的离子交换树脂(不同类型)和 100ml

收稿日期: 1995-03-15

一定浓度的赖氨酸溶液,放在恒温摇床上振荡,直至平衡为止,以差减法计算平衡交换容量。

3) 动态吸附实验 将一定量的离子交换树脂,放在玻璃交换柱中,通入赖氨酸溶液,直到树脂饱和为止,去离子水冲去残存液体后,用 3mol 盐酸洗脱,分析洗脱液中离子含量,换算成树脂吸附量。

4) 交换速率测定采用反应瓶法 见文献[5]。

## 1.2 分析方法

1) L-赖氨酸含量的测定方法 采用酸性茚三酮法<sup>[6]</sup>。

2) 其它氨基酸含量的分析 采用 HITACHI 835 氨基酸自动分析仪测定

3) 金属离子的分析 火焰光度法。PERKIN-EIMER 3030 原子吸收分光光度计测定

4) 有机酸含量的分析 离子色谱法。

5) 总氮 微量凯氏定氮法<sup>[6]</sup>

6)  $\text{NH}_4^+$  离子浓度的测定 碱蒸馏法

7) pH pHS-203 数字式精密酸度计测定

## 1.3 实验材料

1) 树脂来源:选用国内不同厂家

2) 结晶赖氨酸 购自上海天厨味精厂

3) 发酵液来源 上海工业微生物研究所提供

# 2 结果与讨论

## 2.1 树脂筛选

实验选择 6 种强酸性树脂,其中 2 种凝胶型,4 种大孔型,分别测定了它们的交换容量,结果列于表 1。树脂均采用  $\text{NH}_4^+$  型,均以 2N 氨水转型。溶液中赖氨酸的浓度为 0.28mmol/ml, pH2, 温度为 25℃。

结果发现 732<sup>#</sup> 凝胶树脂的体积交换容量明显大于大孔树脂,高出约 20%,这对工业生产是极有意义的。732<sup>#</sup> 树脂还有价格便宜的优点。在目前我国赖氨酸成本居高不下的情况下,对 732<sup>#</sup> 树脂提取赖氨酸进行深入研究,发挥其潜力是极有价值的。

## 2.2 离子交换平衡关系的研究

2.2.1 L-赖氨酸与强酸性阳离子交换树脂的离子交换平衡 离子交换平衡可以看作一种溶液与树脂之间的电解质的化学置换反应。离子之间的离子交换平衡可以用下列方程表示:  
Lys<sup>+</sup> 离子的离子交换平衡:



Lys<sup>2+</sup> 离子的离子交换平衡:



相应的选择性系数(selectivity coefficients)为:

$$S' = \frac{q_{\text{AH}_2} C_{\text{NH}_4^+}}{q_{\text{NH}_4} C_{\text{A}^+}} \quad (3)$$

$$S'' = \frac{q_{\text{AH}_3} C_{\text{NH}_4^+}^2}{q_{\text{NH}_4}^2 C_{\text{A}^{2+}}} \quad (4)$$

若只考虑赖氨酸 1 价和 2 价离子以及氢离子在树脂上的交换,则总交换当量为:

$$q_0 = q_{\text{AH}_2} + q_{\text{AH}_3} + q_{\text{NH}_4} + q_{\text{H}} \quad (5)$$

在中性条件下,溶液中主要是赖氨酸 1 价离子,2 价离子和氢离子可以忽略,这样,可以得到方程(6):

$$q_0/q_{\text{NH}_4} = 1 + S' C_{\text{A}^+}/C_{\text{NH}_4^+} \quad (6)$$

显然,  $\text{Lys}^+$  对  $\text{NH}_4^+$  的选择性吸附系数就是方程(6)的斜率。

在酸性条件下( $\text{pH} < 4$ ),溶液中 1 价的  $\text{Lys}^+$  和 2 价的  $\text{Lys}^{2+}$  共存,则强酸性树脂上的赖氨酸的交换当量为:

$$q_{\text{A}} = q_{\text{AH}_2} + q_{\text{AH}_3} \quad (7)$$

将方程(3),(4)整理后代入方程(7),可得到以下关系:

$$q_{\text{A}} = S' C_{\text{A}^+} (q_{\text{NH}_4}/C_{\text{NH}_4^+}) + S'' C_{\text{A}^{2+}} (q_{\text{NH}_4}/C_{\text{NH}_4^+})^2 \quad (8)$$

当  $S'$  和  $S''$  可以被认为是独立变量时,我们可以通过方程(8)求解  $S'$  和  $S''$ 。

**2.2.2 选择性吸附系数测定** 赖氨酸离子在强酸性阳离子交换树脂上的选择性系数,采用动态法在 25℃ 时测定<sup>[7]</sup>。当离子交换平衡达到时,溶液中  $C_{\text{A}^+}$  与  $C_{\text{NH}_4^+}$  离子的平衡浓度就是上柱液中各离子的浓度;树脂相的离子的交换当量,通过测定洗脱液浓度换算而来。用不同铵离子和赖氨酸离子比率的溶液调节不同的 pH 上柱, pH 在 6~7 之间用于测定  $\text{Lys}^+$  的选择性系数  $S'$ , pH 在 1.5~2 之间用于测定  $\text{Lys}^{2+}$  的选择性系数  $S''$ 。

图 1 为  $q_0/q_{\text{NH}_4}$  和  $C_{\text{A}^+}/C_{\text{NH}_4^+}$  的实验结果。线性回归得到直线的斜率为 0.398,即  $\text{Lys}^+$  的选择性系数  $S'$ , 为 0.398。

2 价赖氨酸离子的  $S''$  值由不同 pH 条件下的试验数据代入方程(8)求解得到平均值为 2.05。

由  $\text{Lys}^{2+}$  离子和  $\text{Lys}^+$  离子的选择性系数  $S''$  和  $S'$  的值可以看出  $\text{Lys}^{2+}$  离子与树脂的交换为优惠平衡,而  $\text{Lys}^+$  离子与树脂的交换为非优惠平衡<sup>[5]</sup>。

**2.2.3 等温吸附线的测定** 实验测定了不同温度下的等温吸附线(图 2),从图中可以看出温度升高,赖氨酸的平衡吸附量增加。Kawakita 测定了赖氨酸与铵型树脂的离子交换反应的焓变值  $\Delta H$ ,发现  $\Delta H > 0$ ,因此该反应为吸热反应<sup>[7]</sup>。升高温度有利于反应的进行。

**2.2.4 吸附速率曲线的测定** 离子交换速度是树脂使用工艺中的一个重要参数,交换速率快,操作过程中可加大流速,缩短工艺周期。

图 3 为采用反应瓶法测定的赖氨酸浓度随时间变化曲线。从图 4 可以看出,随温度升高,交换速度加快。由此可以看出树脂与赖氨酸离子的交换速率受颗粒内扩散控制,由于温度升高,分子热运动加剧,使分子扩散速度增加,导致传质速率增大,进而提高了交换速度。

### 2.3 影响离子交换平衡的因素分析

**2.3.1 pH 对离子交换平衡吸附量的影响** pH 的改变可以影响赖氨酸不同解离形式在溶液中的分布,而不同形式的离子对铵型树脂的选择性系数是不一样的。因此改变 pH 会明显影响赖氨酸离子在树脂上的吸附量,图 4 为不同 pH 条件下的 732# 树脂的交换容量,可以看出,在 pH=2 条件下,赖氨酸的交换容量最高。因为在此条件下,赖氨酸主要以 2 价离

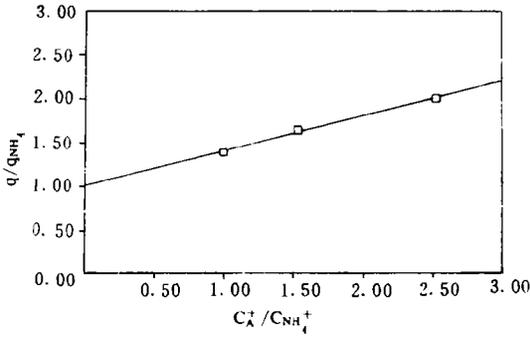


图 1  $q_0/q_{NH_4^+}$  与  $C_{A^+}/C_{NH_4^+}$  的关系

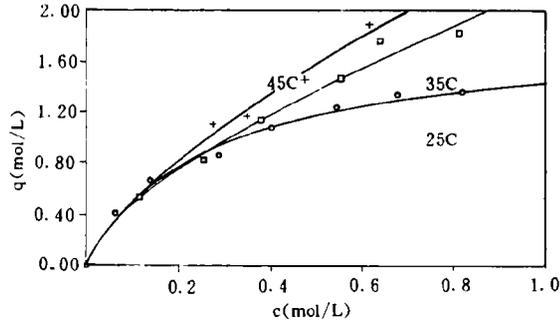


图 2 不同温度下的等温吸附线

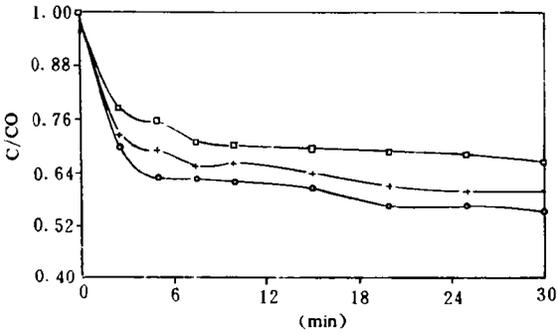


图 3 吸附速率变化曲线

□ 25°C + 35°C ● 45°C

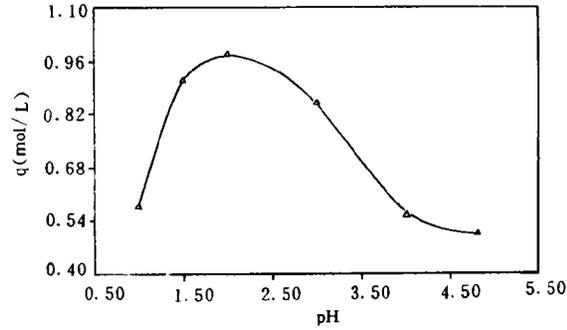


图 4 不同 pH 值下的平衡交换容量

子形式存在,而 2 价离子的选择性系数较高,有效地抑制了其它离子被树脂吸附。但在低 pH 条件下,需要两个树脂吸附位点才能交换一个赖氨酸 2 价离子,因此 pH 小于 1.5 以后树脂的交换容量下降,并且即使在 pH=2 时树脂的交换容量也只约为树脂全交换容量的一半左右。pH=4 时溶液中大部分为赖氨酸 1 价离子只有小部分 2 价离子,此时赖氨酸的吸附不占优势。

**2.3.2 溶液中赖氨酸浓度对树脂吸附量的影响** 由于在一定 pH 条件下的赖氨酸溶液中,1 价离子与 2 价离子以一定的分率存在,赖氨酸浓度的改变会引起两种离子的分率的变化<sup>[1]</sup>。因此作者配制不同浓度的赖氨酸溶液在 pH=2 条件下与树脂进行交换,实验结果列于图 5 中。从图中可以看到,随溶液中赖氨酸浓度增大,树脂的交换容量增加,但在赖氨酸浓度大于 0.4mol/L 时树

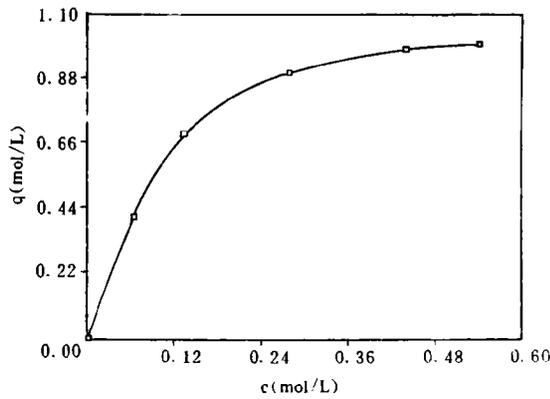


图 5 pH2 时吸附平衡曲线

脂交换容量的增加幅度明显减少。由此可见在赖氨酸浓度大于 0.4mol/L 以后增加赖氨酸浓度对交换容量的提高效果不大。

**2.3.3  $\text{NH}_4^+$ 与赖氨酸浓度比的影响** 由于培养基成分中含有一定数量的无机铵离子,进行流加发酵时,还要流加氨水,调节 pH,补充氮源。因此在发酵结束后,发酵液中含有相当数量的铵离子。铵离子的存在影响了赖氨酸与铵型树脂的离子交换平衡,表 2 说明了这种影响。不论在 pH2 或

表 2  $\text{NH}_4^+$ 与赖氨酸浓度比对交换的影响

$\text{C}_{\text{Lys}}/\text{C}_{\text{NH}_4^+}$	pH2 交换量 {mol/L}	pH6 交换量 {mol/L}
1	0.65	0.41
1.7	0.7	0.56
2.6	0.76	0.65

pH6 条件下,随着铵离子与赖氨酸离子的比率的上升,赖氨酸的平衡吸附量均下降。

**2.3.4 杂质对交换容量的影响** 赖氨酸发酵液是多种成分的混合体,除了赖氨酸外,还有菌体、培养基的残留物、残糖、无机离子以及色素物质。实验过程中发现随树脂循环使用的次数增加,树脂颜色逐渐加深。且色素与树脂的交换不可逆,常规方法不易洗脱。另外 Ca, Mg 离子在用氨水作洗脱剂时很难洗脱,循环使用会造成积累。为确定杂质对离子交换容量的影响程度,作者分析测定了发酵液成分,见表 3、表 4,并对发酵液中各种成分的竞争吸附情况进行了初步分析。

表 3 发酵液成分分析

	赖氨酸 (mol/L)	氨基酸 (mol/L)	有机酸 (ppm)	$\text{Ca}^{2+}$ (ppm)	$\text{Mg}^{2+}$ (ppm)	$\text{Na}^+$ (ppm)	$\text{K}^+$ (ppm)	$\text{NH}_4^+$ (mol/L)	总氮 (mol/L)
自来水	—	—	—	2.00	2.30	6.80	3.70	—	—
发酵液 A	0.34	—	—	1260	232	—	—	0.20	1.16
发酵液 B	0.39	0.05	2107	285	175	467.5	1300	0.17	0.75

A 上海工微所摇瓶发酵液; B 上海工微所 16L 发酵罐发酵液

表 4 发酵液中氨基酸、有机酸分析(mg/ml)

名称	Lys	Glu	Gly	Ala	Val	Ile	Leu	His	Arg	乳酸	甲酸	乙酸
浓度	56.6	1.94	0.35	1.52	2.66	0.13	0.20	0.15	0.64	1.67	0.18	0.25

由表 5 可见发酵液中的杂质离子数量很多,特别是无机离子。从树脂吸附情况来看,钙离子在树脂上的吸附量最大,说明钙离子对铵型树脂的吸附能力比赖氨酸离子要强。而 Na, K 离子的吸附受到了赖氨酸离子的抑制<sup>[1]</sup>,因而吸附量较小。对于铵根离子,在前面已

表 5 pH2 条件下树脂吸附情况分析(mol/L 树脂)

名称	总氮	赖氨酸	氨基酸*	乳酸	$\text{Ca}^{2+}$	$\text{Mg}^{2+}$	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{NH}_4^+$	总当量
浓度	1.63	0.79	0.055	0.089	0.157	0.009	0.20	0.047	0.178	1.93

\* 赖氨酸以外的其它氨基酸的浓度和。

经讨论过了。由于赖氨酸离子与铵离子的离子交换平衡存在,树脂饱和后仍有一部分铵离子没有被洗脱。此外,从总氮含量大于氨基酸及铵态氮之和可以看出,树脂上还吸附了一些其它含氮化合物。它们与树脂的吸附机制,可能是离子交换,也可能是物理吸附。由此可见,杂质的存在使交换容量下降了很多。

### 3 结 论

1) 732<sup>#</sup> 阳离子交换树脂的体积交换容量比其它几种大孔型离子交换树脂高出 20%, 更适合于工业生产。

2) 2 价和 1 价赖氨酸离子在 732<sup>#</sup> 树脂上的选择性吸附系数分别为 2.05 和 0.398。说明 2 价赖氨酸离子与树脂的交换为优惠平衡, 1 价赖氨酸离子与树脂的交换为非优惠平衡。

3) 赖氨酸离子与树脂的交换受内扩散控制, 升高温度可以增加平衡交换容量, 并提高交换速度。

4) pH 值 2 左右时最有利于树脂吸附赖氨酸。增加溶液中的赖氨酸浓度有利于增加树脂吸附量, 但当赖氨酸浓度大于 6% 以后, 这种影响不明显。

5) 由于杂质的存在, 树脂的实际交换容量显著下降。特别是 Ca, Mg 等金属离子、铵离子以及色素物质对交换容量影响很大, 因此对赖氨酸发酵液进行合适的预处理, 尽可能多地去除杂质离子对提高交换容量极为有利。

#### 参 考 文 献

- 1 Maruyama M, Matsuishi T, Kawakita T. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 1976, 50: 253
- 2 严锡康等. 溶液 pH 对离子交换法提取赖氨酸的影响. 微生物学通报, 1985, 12(6): 246~249
- 3 严锡康等. 发酵液预处理及树脂交联度对提取赖氨酸的影响. 微生物学通报, 1987, 14(2): 54~58
- 4 陈恒青, 刘法良. 离子交换法提高 L-赖氨酸回收率的一些研究. 离子交换与吸附, 1985, 1(1): 36~40
- 5 姜志新, 谌竟清, 宋正孝. 离子交换分离工程. 天津大学出版社, 1992
- 6 蔡武城, 袁厚积. 生物物质常用化学分析法. 科学出版社, 1982
- 7 Kwakita T, Ogura T, Sacki M, Hayasaki H. Selectivity Coefficient of Amino Acids for the Ammonium Ion on a Strong Cation Exchange Resin. Agric. Biol. Chem. 1990, 54(1): 1~8

## Studies on Equilibrium Characteristics of Ion-exchange Resin for Lysine Extraction

Shi Huidong Chen Jian Lun Shiyi  
(Dept. of Bioengineering)

**Abstract** The equilibrium characteristics of ion exchange resin for lysine extraction was studied. The selectivity coefficients of resin for both mono and divalent form of lysine were determined. The effects of pH, temperature, concentration of lysine on the exchange capacity as well as adsorption of other component in fermentation broth to ion exchange resin were investigated.

**Subject-words** Lysine; Abstractions; Ion exchanging