

文章编号 :1009-038X(2001)04-0335-05

离子交换法从发酵液中提取丙酮酸

李 寅 , 傅为民 , 陈 坚

(江南大学 工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214036)

摘 要 :选择 122 树脂用于丙酮酸发酵液的脱色 ,在发酵液丙酮酸质量浓度为 60 g/L、pH 3.0、脱色空间流速为 1.8 mL/(mL·h)的条件下可取得较好的脱色效果 ,丙酮酸损失率低于 6%。从 8 种碱性阴离子交换树脂中筛选出 330 弱碱性阴离子树脂(氯型) ,用于从发酵液中提取丙酮酸。考察了不同操作条件对固定床离子交换效果的影响 ,上柱料液 pH 的变化对流出曲线的形状影响不大。当上柱料液的 pH 和丙酮酸质量浓度分别控制在 4.0 和 40 g/L 时 ,可以获得较高的有效体积交换容量(分别为 0.534 mol/L 树脂和 0.530 mol/L 树脂) ,实验范围内体积流量对交换过程的影响不大 ,在较低的离子交换空间(0.44 mL/(mL·h))下有效体积交换容量较高(0.604 mol/L 树脂) ,考察了固定床洗脱工艺条件对洗脱效果的影响 ,当洗脱剂盐酸的浓度为 2 mol/L、洗脱空间流速控制在 0.44 mL/(mL·h)左右时洗脱效果较好 ,采用较佳的工艺条件进行固定床单柱操作 ,实验得到离子交换单元的丙酮酸收率为 97.0%。

关键词 :丙酮酸 ;离子交换 ;提取 ;工艺条件

中图分类号 :TQ921.7

文献标识码 :A

Recovery of Pyruvate from Fermentation Broth by Using Ion-Exchange Resin Chromatography

LI Yin , FU Wei-min , CHEN Jian

(The Key Laboratory of Industrial Biotechnology , Ministry of Education , Southern Yangtze University , Wuxi 214036 , China)

Abstract :122 resin was chosen to decolor the pyruvate fermentation broth. Excellent decoloration result was achieved under the following conditions :pH 3.0 , 60 g/L pyruvate concentration of broth , 1.8 mL/(mL·h). 330 weakly-basic anion resin was selected for its superior separation performance to purify pyruvate. In the fixed-bed ion-exchange operation , high total exchange capacity was obtained when pH and pyruvate concentration of the influent were kept around 4.0 and 40 g/L , respectively. High effective exchange capacity(0.604 mol/L) was achieved under lower flow rate of influent. Elution experiments demonstrated that 2 mol/L hydrochloric acid and lower flow rate (0.44 mL/(mL·h)) benefit high elution efficiency. Under the optimal conditions , the recovery percent of pyruvate from fermentation broth achieved 97.0% in ion-exchange operation unit.

Key words :pyruvate ; ion-exchange ; recovery ; process conditions

收稿日期 2001-04-11 ; 修订日期 2001-06-22.

基金项目 :江苏省“九五”工业重大科技攻关项目(BG98015-3)资助课题.

作者简介 :李 寅(1974-),男,上海人,工学博士,副教授.

丙酮酸是一种重要的工业原料,广泛用于制药、化工和食品添加剂等领域.工业上生产丙酮酸主要采用酒石酸脱水脱羧法,但是用此法生产丙酮酸的成本较高.为此,国外学者在发酵法生产丙酮酸方面进行了大量的研究.由于丙酮酸在细胞代谢中的特殊位置,使得丙酮酸高产菌的选育十分困难^[1].作者选育出一株能利用无机氮源的光滑球拟酵母 WSH-IP303,对该菌株发酵生产丙酮酸的工艺进行了全面研究^[2~5],并已完成了 5 m³ 规模的中试.

丙酮酸提取方法主要有减压蒸馏法^[6],有机溶剂提取法^[7],反渗透膜分离法^[8]和离子交换法^[9],其中离子交换法由于具有产品纯度高、能耗低、提取过程无相变、操作简便、成本低廉等优点而成为最具吸引力的方法.但该方法还存在提取总收率不高以及各种因素对交换过程的影响程度较为模糊等^[9].作者以丙酮酸发酵液为研究对象,确定了较优的离子交换法提取精制工艺.

1 材料与方法

1.1 材料

离子交换树脂:201×7(717#),无锡市华东化学试剂公司分装;D201、D202、D301,浙江杭州争光树脂有限公司生产;D290,南开大学化工厂生产;D302、365 B、330,山东东大化学工业(集团)公司生产.脱色剂为活性炭和 122 脱色树脂,购自无锡市华东化学试剂公司.

1.2 脱色剂和树脂的处理

参见文献[10].

1.3 脱色方法

分别取经预处理的活性炭和 122 树脂 30 mL,在流动情况下,装于 D 16 mm×300 mm 的层析柱中,制成脱色柱.将发酵液配成 pH 值不同、质量浓度均为 60 g/L 接近发酵结束时的丙酮酸质量浓度的脱色原液,在常温常压下,各取 150 mL 原液过脱色柱,上柱体积流量为 54 mL/h,进行动态洗脱,收集脱色液进行分析.

1.4 静态交换实验

精确量取经预处理的离子交换树脂 10 mL,分别放入内盛 100 mL 不同质量浓度的丙酮酸溶液的 500 mL 锥形瓶中,置于恒温摇瓶柜中,在 25 ℃,200 r/min 转速下摇瓶交换 24 h,以差减法计算平衡交换容量.

1.5 固定床离子交换工艺

离子交换柱采用 D 16 mm×800 mm 的玻璃层

析柱,树脂装填量为 130 mL,床层高度为 600 mm.将经过处理的发酵液上柱交换,树脂饱和后用纯水洗去柱中残留的发酵液,以盐酸洗脱,收集流出液、洗脱液,测定其中丙酮酸的含量,计算交换容量.

1.6 分析方法

1.6.1 丙酮酸质量浓度的测定 乳酸脱氢酶法^[2].

1.6.2 丙酮酸钠纯度测定 按化工部部颁标准 HG3-1166-78 规定的方法^[11].

1.6.3 透光率测定 在 450 nm 处用比色法测定.

2 结果与讨论

2.1 脱色工艺的确定

2.1.1 脱色剂的确定 目前,有机酸、氨基酸发酵工业上常用活性炭和 122 树脂进行发酵液的脱色,故采用这两种脱色剂进行比较研究.分别测定在这两种脱色剂作用下,发酵液的脱色效果和丙酮酸在脱色过程中的损失,如表 1 所示.活性炭虽然脱色效果显著,但丙酮酸在脱色过程中的损失太大;而用 122 树脂脱色,丙酮酸损失率很小,脱色效果也令人满意.故选择 122 树脂作进一步的研究.

表 1 活性炭和 122 树脂的脱色效果比较

Tab.1 Comparison of the decoloration effect by 122 resin and active carbon

脱色剂	脱色液透光率 / %	丙酮酸损失率 / %
活性炭	89.6	19.7
122 树脂	84.9	6.4

2.1.2 发酵液 pH 值对脱色效果的影响 采用不同的 pH 值发酵液上脱色柱,收集脱色液,脱色效果及丙酮酸在脱色过程中的损失情况见表 2.当控制发酵液的 pH 值为 3.0 时,能兼顾脱色效果和丙酮酸的回收率两方面的要求.

表 2 不同 pH 值对脱色效果的影响

Tab. 2 Effect of different pH on decoloration

发酵液 pH 值	脱色液透光率 / %	丙酮酸损失率 / %
2.0	84.0	9.9
3.0	83.9	5.6
4.0	82.1	6.3
5.0	81.5	6.7
6.0	78.6	7.4

2.1.3 体积流量对脱色效果的影响 不同体积流量对脱色效果及对丙酮酸损失率的影响见图 1.脱色液的透光率(T)随体积流量的增大急剧下降,而丙酮酸的损失率变化则近似一条抛物线.兼顾脱色

效果和丙酮酸的回收率两个因素 ,将发酵液的体积流量控制在 54 mL/h 左右的范围内比较适宜.

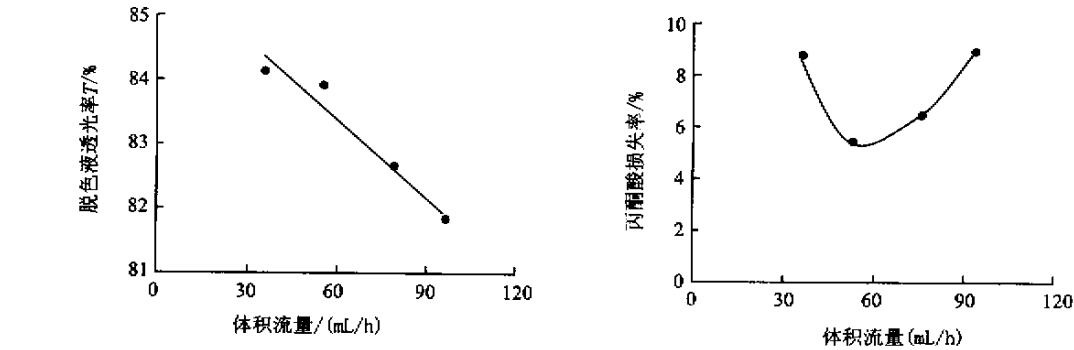


图 1 流速对脱色效果的影响

Fig.1 Effect of velocity on the decoloration result

根据以上实验结果 ,脱色条件初步定为 :当发酵液丙酮酸质量浓度为 60 g/L 时 ,采用 122 树脂脱色 ,控制发酵液 pH 值为 3.0 ,脱色体积流量为 54 mL/h ,脱色空间流速为 1.8 mL/(mL·h)时 ,可以取得较为满意的脱色效果 ,此时丙酮酸的损失率也只有 5.6% .

2.2 离子交换树脂的确定

国外用于提取丙酮酸的树脂主要有 :PA-316 (日本) PA-412(日本) MP-500(德国) IR-45(美国) IRA-93(美国) KA-900(美国) WA-30(日本) . 这几种树脂性能分别相当于国内的 D201、D202、301×6、D306、D301、D307 树脂. 作者在此基础上选择了 8 种阴离子交换树脂 ,分别测定了它们的体积交换容量并加以比较 ,结果见表 3. 由于丙酮酸在碱性条件下不稳定 ,因此树脂不能处理成 OH⁻ 型而只能采用 Cl⁻ 型.

表 3 不同树脂的交换容量比较

Tab. 3 Comparison of the exchange capacity by different resin

树脂名称	树脂类型	树脂体 积/ mL	料液体 积/ mL	体积交换容量/ (mol/L 树脂)
201×7	强碱凝胶型	10	100	0.6842
D201	强碱大孔型	10	100	0.7767
D202	强碱大孔型	10	100	0.8063
D290	强碱大孔型	10	100	0.8094
D301	弱碱大孔型	10	100	0.8513
D302	弱碱大孔型	10	100	0.8942
365B	弱碱大孔型	10	100	0.8778
330	弱碱凝胶型	10	100	1.0730
330	SO ₄ ²⁻ 型	10	100	0.5687
330	Ac ⁻ 型	10	100	1.1520

注: 1 mol/L 盐酸转型 ,丙酮酸质量浓度为 50 g/L ,pH 值 5.0 ,温度为 25℃.

从表 3 可以看出 ,330 树脂(Cl⁻ 型) 的体积交换容量比其它树脂高出约 20% 以上 ,这对工业生产是很有实际意义的. 而且 ,330 树脂的价格适中 ,故确定 330 树脂为研究对象. 从表 3 还知 ,醋酸根型的 330 树脂的体积交换容量比氯型的高 7.4% ,但在后续的动态操作中 ,采用盐酸做洗脱剂比采用醋酸的成本低得多 ,当然转型的成本也相应低得多. 因此 ,在保证高洗脱率的前提下 ,应尽量采用氯型.

2.3 固定床离子交换工艺

2.3.1 上柱料液 pH 值对离子交换过程的影响
料液 pH 值是影响交换平衡关系的一个重要因素. 实验分析了上柱发酵液的 pH 值对离子交换平衡的动态影响 ,结果发现 ,pH 为 4.0 时有效体积交换容量最大(0.534 mol/L 树脂) .

2.3.2 上柱料液质量浓度对离子交换过程的影响
如图 2 所示. 随着入口丙酮酸质量浓度的增加 ,流出曲线变陡 ,穿透时间缩短. 由表 4 可知 ,当入口丙酮酸质量浓度为 40 g/L 左右时 ,丙酮酸在树脂上的有效体积交换容量较高 ,为 0.530 mol/L 树脂.

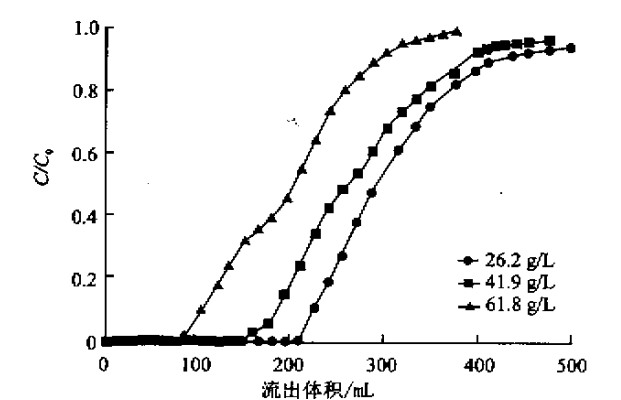


图 2 进口料液质量浓度对流出曲线的影响

Fig.2 Effect of influent concentration on effluent curve

表 4 图解积分得到的体积交换容量的比较
Tab.4 Comparison of the exchange capacity by integration

丙酮酸质量 浓度/(g/L)	有效体积交换容 量/(mol/L 树脂)	饱和体积交换容 量/(mol/L 树脂)
26.2	0.428	0.541
41.9	0.530	0.761
61.8	0.390	0.775

2.3.3 固液接触时间对离子交换过程的影响

为了进行有效的交换,离子交换过程中必须使固液两相有充分的接触时间,如果液相的流速增加,固液接触时间缩短,树脂与料液来不及交换,就会导致交换区高度的拉长,表现为流出曲线波形的拉平展开,当 pH 4.0 $c_0=40$ g/L 时,则如图 3 所示。

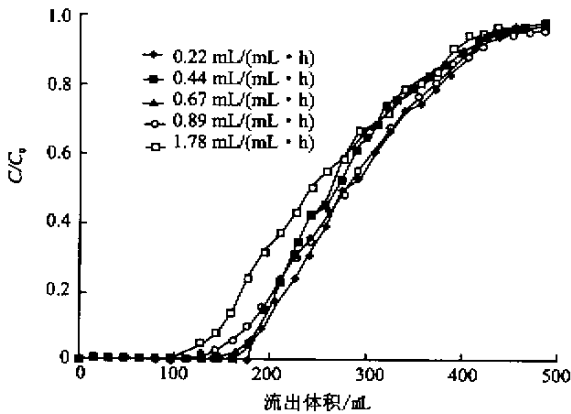


图 3 离子交换空间流速对流出曲线的影响
Fig.3 Effect of space velocity on the effluent curve

图 4 为相同离子交换空间流速下不同树脂装填高度的流出曲线。由于 300 mm 柱的床层体积减少了一半,故其体积交换容量也只有 600 mm 柱的一半左右。在离子交换动态操作中,体积流量适当加快,有利于膜扩散,提高生产效率。但由于所用的离子交换树脂为弱碱型,交换速度慢,延长固液接触时间有利于增大体积交换容量,因此尽量采用较低体积流量。

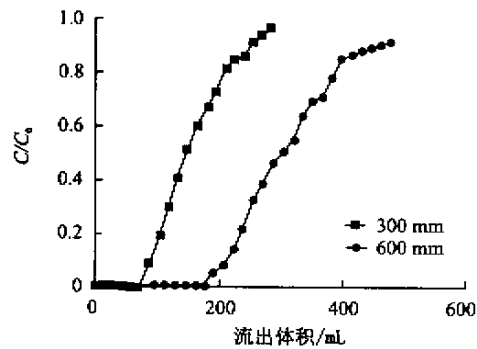


图 4 不同树脂装填高度对流出曲线的影响
Fig.4 Effect of resin height on the effluent curve

综上所述,确定离子交换工艺为:上柱料液 pH 4.0 $c_0=40$ g/L,离子交换空间流速为 0.44~0.67 mL/(mL·h)。

2.4 洗脱工艺的研究

2.4.1 洗脱剂浓度的确定 在本研究中,由于采用氯型树脂,用盐酸洗脱,可以直接完成离子交换柱的再生,简化了工艺。实验发现,当盐酸的浓度为 2 mol/L 时,洗脱效果较好。

2.4.2 洗脱空间流速对洗脱工艺的影响 由图 5 可见,洗脱空间流速越慢,洗脱峰越集中。但洗脱空间流速太慢,工业生产上会延长生产周期。因此洗脱空间流速不宜太慢,控制在 0.44 mL/(mL·h)左右较好。

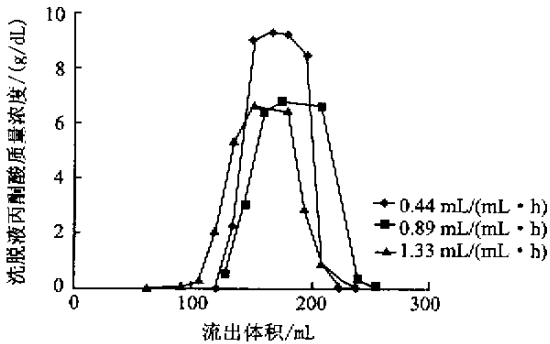


图 5 洗脱空间流速对洗脱效果的影响
Fig.5 Effect of elution velocity on elution curve

2.5 固定床(单柱)操作工艺的验证

采用已经得到的离子交换和洗脱工艺对整个离子交换过程进行了验证性实验,结果如表 5 所示。离子交换条件为:氯型 330 树脂, D 16 mm×800 mm 柱,床层高度 600 mm。发酵液脱色后,用 NaOH 溶液调节 pH 值为 4.0,上柱液体积 150 mL,起始丙酮酸质量浓度为 40 g/L 左右,体积流量为 60 mL/h。用 200 mL 纯水洗涤离子交换柱,体积流量 120 mL/h,2 mol/L 的 HCl 洗脱,体积流量为 60 mL/h,分段收集洗脱液。

表 5 离子交换提取结果

Fig. 5 The recovery ratio in the whole ion-exchange process

类别	体积/ mL	丙酮酸质量 浓度/(g/L)	丙酮 酸质量/g	收率/ %
脱色后发酵液	150	34.0	5.10	—
透过液	150	0.10	0.02	—
水洗液	200	0.09	0.02	—
洗脱液 85~115 mL 段	30	1.90	0.06	1.10
洗脱液 115~145 mL 段	30	44.4	1.30	26.1
洗脱液 145~175 mL 段	30	95.8	2.90	56.4

续表 5

类别	体积/ mL	丙酮酸质量 浓度/(g/L)	丙酮 酸质量/g	收率/%
洗脱液 175~205 mL 段	30	20.3	0.60	12.0
洗脱液 205~235 mL 段	30	2.40	0.07	1.40
洗脱液 85~235 mL	—	—	—	97.0

由表 5 结果可见 ,目前得到的操作工艺条件可使离子交换单元的收率达 97.0% .对浓缩成品工艺进行了初步研究 ,纯度达到 98% 以上的成品丙酮酸钠在浓缩制成品阶段的收率为 80% 左右 .

3 结 论

在发酵液丙酮酸质量浓度为 60 g/L、pH 3.0、脱色空间流速为 1.8 mL/(mL·h)的条件下 ,用 122 树脂可取得较好的脱色效果 .控制上柱料液的 pH 值和丙酮酸质量浓度分别为 4.0 和 40 g/L、洗脱剂盐酸的浓度为 2 mol/L、洗脱空间流速为 0.44 mL/(mL·h)时 ,用 330 弱碱性阴离子树脂(氯型)从发酵液中提取丙酮酸的单元收率达到 97.0% ,纯度达到 98% 以上的成品丙酮酸钠在浓缩制成品阶段的收率为 80% 左右 .

参考文献 :

[1] MIYATA R , YONEHARA T . Improvement of fermentative production of pyruvate from glucose by *Torulopsis glabrata* IFO 0005 [J] . *J Ferment Bioeng* , 1996 , 82 : 475~479 .

[2] LI Y , CHEN J , LUN S , *et al* . Efficient production of pyruvic acid by *Torulopsis glabrata* : key role of vitamin levels and its ' optimization [J] . *Appl Microbiol Biotechnol* , 2001 , 55 (6) : 384~390 .

[3] LI Y , CHEN J , LIANG D , *et al* . Effect of nitrogen source and nitrogen concentration on the production of pyruvic acid by *Torulopsis glabrata* [J] . *J Biotechnol* , 2000 , 81 : 27~34 .

[4] 李寅 , 陈坚 , 梁大芳等 . 营养条件对光滑球拟酵母发酵生产丙酮酸的影响 [J] . 生物工程学报 , 2000 , 16 (2) : 225~228 .

[5] 李寅 , 陈坚 , 伦世仪等 . 维生素在丙酮酸过量合成中的重要作用 [J] . 微生物学报 , 2000 , 40 (5) : 528~534 .

[6] 谭佩幸 , 陶宗晋 , 祁国荣等编 . 现代化学试剂手册 [M] . 北京 : 化学工业出版社 , 1988 .

[7] UCHIO R , KIKUCHI K , ENEI H . Process for producing pyruvic acid by fermentation [P] . U. S. Patent : 3993543 , 1976-05-10 .

[8] MATSUNO H , GOTO M , SASAKI M . Purification of pyruvic acid [P] . JP Patent 06306011 , 1994-10-06 .

[9] MATSUNO H , GOTO M , YONEHARA T . Purification of pyruvic acid by weakly-basic amion exchange resin [P] . JP Patent 06345683 , 1994-11-12 .

[10] 石慧东 . 离子交换法提取赖氨酸的研究 [D] . 无锡 : 无锡轻工大学 , 1996 .

(责任编辑 朱 明 , 李春丽)

启 事

经教育部批准 ,无锡轻工大学、江南学院、无锡教育学院于 2001 年 2 月 13 日合并成立江南大学。对于本校作者在本刊发表的论文 ,2001 年 2 月 12 日及其以前所投稿件 ,刊登时署并校前原单位名称 ;2001 年 2 月 13 日及其以后所投稿件 ,刊登时一律署江南大学。

特此说明。