

## 离子交换吸附 L-色氨酸的研究

刘 芳 谢丽敏\* 沈忠耀

(清华大学化工系 北京 100084)

L-色氨酸是含吲哚环的芳香族氨基酸,也是人类必需的氨基酸之一,目前,工业上除部分采用化学合成法外,主要采用前体发酵法和酶促转化法生产<sup>[1]</sup>。随着在医药、食品和饲料加工中应用的开拓,市场的需求量日益增加,色氨酸生产具有广阔的前途。

和其它生物工程产品一样,色氨酸工业生产也常常会受到生产成本的制约,这也是至今为止我国的色氨酸仍主要依靠进口的重要原因之一<sup>[2]</sup>。而在生产成本的构成中,分离提取等下游工程的成本占有相当的比例。据报道,从发酵液中分离色氨酸的方法有离子交换法<sup>[3~5]</sup>、结晶法<sup>[6~8]</sup>、有机溶剂萃取法<sup>[9]</sup>、活性炭吸附法<sup>[10]</sup>、碱金属盐沉淀法<sup>[11]</sup>、模拟移动床法<sup>[12]</sup>、CO<sub>2</sub>超临界萃取法<sup>[13]</sup>和毛细管电泳法<sup>[14]</sup>等。本文以离子交换吸附法对各类树脂的性能进行了系统的比较和筛选,并对筛选出的树脂进行了动态吸附和洗脱过程研究,现将结果报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 树脂

阳离子树脂:1、2、3号树脂由南开大学和上海树脂厂生产,使用前用饱和 NaCl、乙醇、HCl 及 NaOH 处理,用 HCl 转成 H<sup>+</sup>型。阴离子树脂:4、5、6号树脂,化工部成都有机硅研究中心提供,使用前处理成 OH<sup>-</sup>型。中性吸附剂:7~15号树脂,南开大学生产,使用前经 NaCl、乙醇、HCl 及 NaOH 溶液处理后洗至中性。

#### 1.2 L-色氨酸水溶液

将 L-色氨酸晶体(日本进口分装,中科院百泰公司经销),配制成所需 pH 及浓度为 6mg/ml L-色氨酸水溶液(以下简称料液)。

#### 1.3 实验方法

1.3.1 静态吸附和洗脱实验:称取经过预处理的一定量的树脂于 250ml 三角瓶中,加入一定量的料液,在空气浴恒温振荡器上,以转速 100r/min 及 25℃ 振荡,取样分析,当溶液中色氨酸浓度不变时为吸附平衡。然后,称取一定量的吸附平衡后的树脂,加入一定量的洗脱液,在 25℃、转速 100r/min 下振荡,取样分析,当溶液中色氨酸浓度不变时为洗脱平衡。

1.3.2 动态实验:柱径 0.94cm,装填高度 16.7cm,树脂装填体积(湿体积)11.6ml,上柱温度室温、料液 pH=7,洗脱剂为氨水,用自动部分收集器收集样品。

#### 1.4 分析方法

L-色氨酸浓度用福林-酚试剂法(Folin 试剂法)测定<sup>[15]</sup>。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 树脂的筛选

对 15 种树脂分别进行了吸附和洗脱性能的比较,结果见表 1~2。从表 1 可见,1、2、5、6、7、12 和 14 号树脂吸附率较高。从表 2 可见,对吸附型树脂,乙醇-水洗脱效果明显优于氨水和硫酸,其中

\* 现在中科院上海生物工程研究中心。

本文于 1995 年 2 月 24 日收到。

12 和 14 号树脂洗脱率较高。对阳离子树脂氨水是较理想的洗脱剂,而对阴离子树脂则洗脱率较低,若使用阴离子树脂,应重新选择洗脱剂。

表 1 树脂吸附性能的比较

树脂编号	离 子 型						吸 附 型								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
吸附量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$	39.89	39.86	13.33	13.33	34.32	31.82	39.74	18.24	18.31	17.73	16.63	35.90	18.74	34.99	21.07
吸附率/%	99.72	99.65	33.33	33.33	85.80	79.55	99.35	45.60	45.77	44.32	41.58	89.75	46.85	87.47	52.68

料液 pH: 1~3.3; 4~15.7。树脂用量: 1~6.1.5g; 7~15.3g。加料量: 1~6.10ml; 7~15.20ml。平衡时间: 1~6.24h; 7~15.15h

表 2 树脂洗脱性能的比较

树 脂 编 号		1	2	5	6	7	12	14
洗脱率/%	$2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氨水	89.37	86.20	37.25	39.72	4.79	30.00	29.23
	50%乙醇—水	—	—	—	—	10.09	76.53	58.60
	pH=2 硫酸	—	—	—	—	0.57	8.87	5.13

树脂用量: 1.5g; 洗脱剂用量: 10ml; 洗脱平衡时间: 1, 2, 5, 6, 24h; 7, 12, 14, 20h。

2.2 离子交换吸附条件的研究

2.2.1 料液 pH 值对树脂吸附量的影响: 分别测定了 0.5g 1、2、5、12 和 14 号树脂吸附 10ml 不同 pH 值料液的吸附量, 结果见图 1。从图 1 可知, 料液 pH 值对几类树脂吸附性能的影响都不明显, 1、2 号树脂的吸附量为 100mg/g, 5、12 和 14 号树脂在 30~50mg/g 之间。

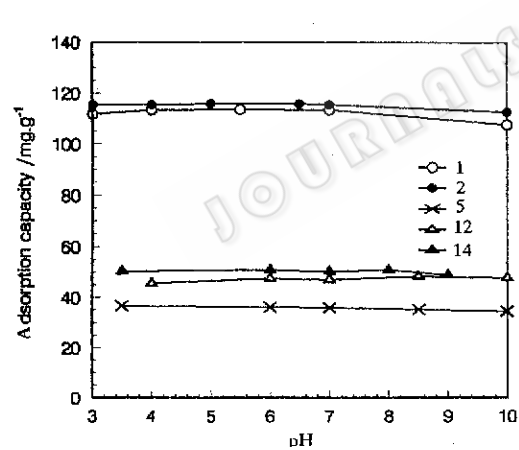


图 1 pH 值对树脂吸附量的影响

2.2.2 加料量对树脂吸附率的影响: 为对各种树脂的吸附潜力进行比较, 测定了加料量对树脂吸附率的影响, 结果见表 3。从表 3 可见, 随着加料量的增加, 5、6、12 和 14 号树脂的吸附率都明显下降, 而 1 号和 2 号树脂的吸附率无明显变化, 说明阳离子树脂的吸附潜力明显大于其他两类树脂。

表 3 加料量对树脂吸附的影响

树脂编号		1	2	5	6	12	14
吸 附 率 / %	加 10	99.72	99.65	85.80	79.55	89.75	87.47
	料 15	99.93	99.60	73.16	70.36	81.92	83.73
	量 20	99.38	99.40	63.13	61.12	74.78	80.15
	/ml 30	94.44	98.38	55.90	57.57	67.29	73.64

树脂用量: 1.5g; 料液 pH: 1-2, pH=3; 5, 6, 12, 14, pH=7。

2.2.3 树脂动力学性质的比较: 图 2 描述了各类树脂的静态吸附速率曲线 (树脂用量 1.5g, 加料量 10ml)。从图 2 上可以看到, 阳离子树脂 1 号和 2 号的吸附速率远远大于 5 号和 12 号树脂, 即阳离子树脂达到吸附平衡所需的时间短, 各类树脂的吸附动力学方程见表 4。

表 4 各类树脂的吸附动力学方程

树脂编号	1	2	5	12
方程	$\ln (C-0.15)=0.08-0.008t$	$\ln (C-0.095)=-0.785-0.004t$	$\ln (C-2.585)=0.36-0.003t$	$\ln (C-1.918)=0.324-0.005t$

$C/\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $t/\text{min}$

综合以上实验结果, 适合于从水溶液中吸附色氨酸的是 1 号 2 号阳离子树脂。

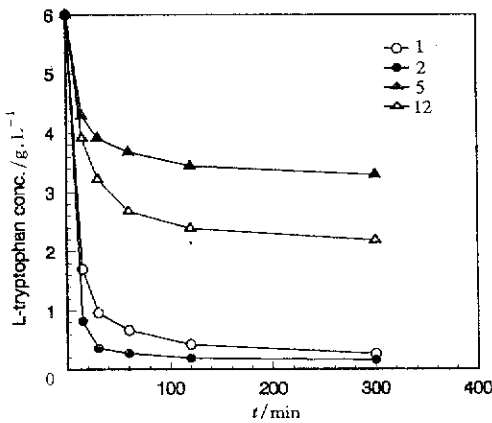


图 2 各类树脂的吸附动力学曲线

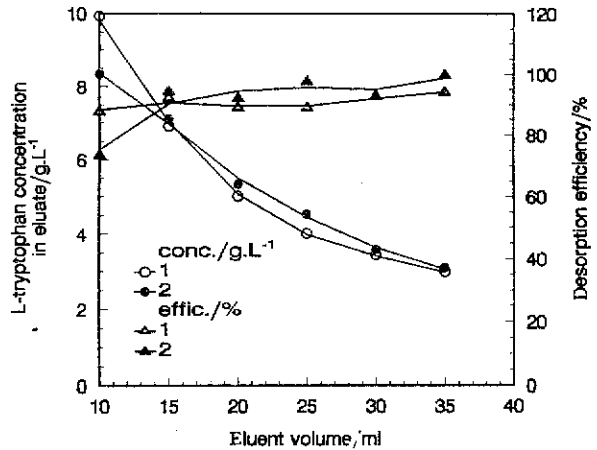


图 3 洗脱剂用量对树脂洗脱性能的影响

2.2.4 洗脱剂用量对洗脱率的影响：图 3 给出了当 2mol/L 氨水用量从 10ml 提高到 35ml 时，1 号和 2 号树脂洗脱率的变化曲线（树脂用量 1.5g，料液 10ml）。图 3 表明，洗脱剂用量增加，洗脱率提高，但洗脱液中色氨酸浓度下降。

### 2.3 树脂动态性能的研究

2.3.1 动态吸附曲线：图 4 为 0.01、0.02 和 0.04ml/ml·min 三种流速下 2 号树脂的动态吸附曲线。由图积分得饱和吸附容量分别为 135.7、132.6 和 129.1mg/ml（湿树脂）。可见，流速对饱和吸附容量影响不大。

2.3.2 动态洗脱曲线：采用 4 种方法进行洗脱：  
1. 0.5mol/L 氨水 0.01ml/ml·min 恒速洗脱；  
2. 氨水浓度梯度洗脱；  
3. 0.5mol/L 氨水变速洗脱；  
4. 1mol/L 氨水变速洗脱，结果见表 5。综合比较可知，第四种方法最佳。

表 5 几种洗脱方法比较

方法	洗脱率/%	浓缩倍数/倍	操作时间/h	氨水用量/mol
1	99.8	1.79	10	0.085
2	99.2	3.73	2.9	0.075
3	98.5	3.72	6.5	0.068
4	99.4	3.68	2.8	0.070

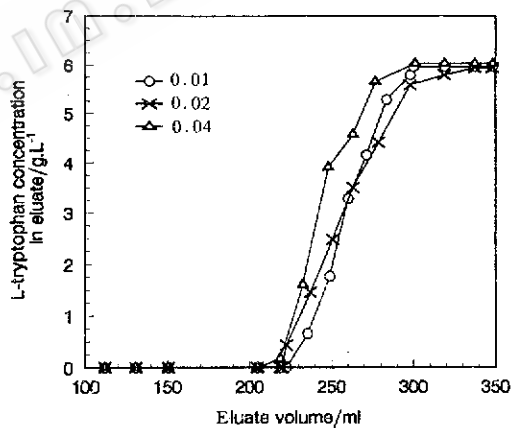


图 4 2 号树脂在不同流速下的动态吸附曲线

## 参 考 文 献

- (1) 张炳荣. 氨基酸工业大全, 北京: 轻工业出版社, 1991, 84~87.
- (2) 吴志纯. 生物工程进展, 1989, 9 (5): 24~28.
- (3) Shokei N, Naohiro M, Kiyoo M. EP428984, 1991.
- (4) Ohaku M, Yoshikawa Y, Kawashima N *et al.* FR2557872, 1985.
- (5) Bernard B, Guy G, Alexandre L C *et al.* FR2581654, 1986.
- (6) Yoshinari S, Ryuta T, Masaru S. WO9009372, 1990.
- (7) Terumi O, Futoshi T, Michio S. JP9147160, 1991.
- (8) Shuichi A, Shoji A, Takeshi S *et al.* JP8700288, 1987.
- (9) Stierman T J, and Mattison P L. EP353728, 1990.

- [10] Seiya I, Shinji O, Hiroshi K *et al.* JP9016990, 1990.  
[11] Ohoka M, Yoshikawa Y, Kawashima N *et al.* FR2557873, 1985.  
[12] Kentaro H, Yoshia F, and Sadao H. US4923616, 1990.  
[13] Teruo S, Masatoshi Y, Nariyuki E *et al.* JP902238887, 1990.  
[14] Salvatore F, and Petr B. *Electrophoresis*, **11** (9): 757~760, 1990.  
[15] 鲁子贤. 蛋白质和酶学研究方法, 北京: 科学出版社; 3~4, 1989.

## Study on Adsorption of L-tryptophan by Ion Exchange

Liu Fang Xie Limin Shen Zhongyao

(Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

**Abstract** Two cation exchangers were selected out for separating L-tryptophan from aqueous solution by comparing thermodynamic and kinetic properties among fifteen ion-exchangers and adsorption resins. They had stronger adsorption capacity for L-tryptophan when pH was between 3 and 10. Dynamic test of cation exchanger showed that the saturated adsorption capacity kept almost constants when the flow rate varied from 0.04 to 0.01 ml/ml · min. The adsorption efficiency achieved 99.4% and the eluate was condensed 3.68 times by using 1 mol/L ammonia solution at the flow rate from 0.05 to adsorption 0.025 ml/ml · min. The total yield of L-tryptophan was 95% in the process.

**Key words** L-tryptophan, ion-exchange, adsorption