

等电结晶谷氨酸溶解度及晶体沉降特性对提取收率的影响*

刘乘龙, 张建华, 王正伟, 毛忠贵

(江南大学生物工程学院, 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡, 214122)

摘 要 等电法提取谷氨酸工艺中, 降低等电母液中谷氨酸浓度是提高提取收率的主要途径。文中研究了谷氨酸在等电母液中的溶解度及晶粒的沉降特性, 结果表明, 谷氨酸在等电母液中的溶解度平均比水中溶解度增加了 0.30%~1.20% (质量浓度), 而母液中因夹带谷氨酸微晶体而使得表观溶解度增加了 0.46%~0.94%, 因此, 在不改变间歇等电法提取工艺前, 减少或消除等电母液中夹带的微晶是提高提取收率的首选途径。

关键词 谷氨酸, 等电结晶, 晶体粒度分布

谷氨酸是一种酸性氨基酸, 在等电点 pH 值 3.22 时溶解度最低, 工业生产上利用这一原理, 用硫酸将发酵液 pH 值调节到谷氨酸等电点, 谷氨酸因溶解度降低而结晶析出。在等电点时, 谷氨酸在水中的溶解度仅 0.717 g/100 g 水 (20℃)^[1], 而等电母液中残留的谷氨酸含量往往高达 2.0%~2.5%, 造成等电一步提取率偏低。通过离子交换工艺, 虽可使提取总收率达到 95%, 但无形中加重了离交负荷, 硫酸、液氨消耗量成比例增大, 废水量增加。因此, 降低等电母液中残留谷氨酸浓度是提高提取收率, 并有效降低硫酸、液氨消耗的主要途径。

谷氨酸等电母液的成分非常复杂, 除未完全发酵的淀粉糖外, 还有大量的 SO_4^{2-} 、 NH_4^+ 、杂氨基酸和菌体细胞等杂质, 通常认为这些杂质对谷氨酸的增溶作用是导致等电母液中谷氨酸溶解度增加的主要因素。此外, 在谷氨酸等电结晶过程中形成的谷氨酸晶体并非是外形规整、颗粒均匀、沉降速度较快的大颗粒 α 结晶, 谷氨酸晶体其实为一种较宽粒度分布的晶体混合物。对于造成这种宽粒度分布的原因主要有 2 个: 1 是由于浓硫酸加入引起的局部过酸, 造成细小晶体瞬间出现; 2 是一些大颗粒的晶粒在与结晶器碰撞过程中接触成核, 形成细小晶粒^[2]。这些晶粒粒径很小 (甚至小于 1 μm), 虽然已经从溶液中析出, 但是较稳定地悬浮在母液中很难分离, 经常在上清液和离心液中夹带, 这是造成谷氨酸一步提取收率低的主要因素。

本文研究测定了谷氨酸在工业等电母液中的溶解度及等电晶浆中晶粒的沉降特性, 分析了杂质和结晶颗粒沉降特性对提取收率的影响, 以及影响等电提取谷氨酸收率的主要原因, 对工业上等电提取谷氨酸具有一定的指导意义。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料和设备

谷氨酸发酵液、等电母液, 由山东菱花集团提供; Na_2CO_3 、 H_2SO_4 等为市售分析纯试剂。

低温恒温槽, 宁波天恒仪器厂; 玻璃夹套杯、带夹套的沉降器; SBA-40B 生物传感器; 山东省科学院生物研究所; 磁力搅拌器: 上海司乐仪器有限公司; pH 计: 上海天达仪器有限公司; 微孔滤膜 (孔径 0.22 μm)。

1.2 实验方法

1.2.1 表观溶解度

将等电晶浆置于 $\varphi 60 \times 240$ mm 的沉降器内, 混合后于 20℃ 恒温静置, 每隔 2 h 于距沉降器顶部 2/3 高度处取样 (相当于等电罐的混浊区), 加碱液调 pH 至中性, 使微小谷氨酸晶体溶解后测定谷氨酸含量, 并换算为溶解度。定义该溶解度为谷氨酸在等电母液中的表观浓度。

1.2.2 真实溶解度

谷氨酸在母液中达到溶解平衡后的含量为谷氨酸的真实浓度。量取一定量的去离子水和 pH 3.22 的等电母液, 倒入夹套杯, 加入过量分析纯谷氨酸。恒温搅拌数小时, 每隔 5 h 取样, 用孔径 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除去微小晶体后测定谷氨酸含量, 直到溶解度不变, 并换算为溶解度。定义该溶解度为谷氨酸在等电母液中的真实浓度。

第一作者: 硕士研究生 (毛忠贵教授为通讯作者)。

* 国家 863 高新技术研究与发展计划项目 (2006AA020303-02)

收稿日期: 2008-06-16, 改回日期: 2008-10-20

1.3 分析方法

1.3.1 谷氨酸测定方法

取 250 μL 样品,加入适量 8% 的 Na_2CO_3 溶液中和至 $\text{pH}7.2\sim7.8$,置于 25 mL 的容量瓶中定容,摇匀。静置 1 h 后取 1 mL 在 11 000 r/min 高速离心,取 25 μL 上层清液,用生物传感器测定其谷氨酸含量。计算公式如下:

$$C_{\text{GA}} = \frac{A_{\text{SBA}} \times B}{100\ 000} \quad (1)$$

A_{SBA} :SBA 示数,mg/100 mL 溶剂; B :样品的稀释倍数; C_{GA} :谷氨酸质量百分数,g/100 mL(水)。

1.3.2 扫描电子显微镜检测方法

无水乙醇清洗晶体颗粒,戊二醛前固定后再用四氧化二锇固定,酒精梯度脱水之后,经磷酸异戊酯过渡,临界点干燥后用扫描电子显微镜观察。

2 结果与讨论

2.1 杂质对谷氨酸溶解度及谷氨酸提取收率的影响
在谷氨酸等电点时,谷氨酸在等电母液和去离子

表 1 等电母液主要杂质检测结果

项目	NH_4^+	SO_4^{2-}	乳酸	杂氨基酸	菌体	其它
含量(g/100 mL 等电液)	1.57%	5.83%	0.5%	1.53%	0.743%	5.61%

以一元二次方程对图 1 中 2 条谷氨酸溶解度曲线进行拟合,得到谷氨酸在等电母液和去离子水中的溶解度随温度变化曲线:

$$Y_1 = 0.001\ 5t^2 - 0.025t + 0.983\ 9 \quad (2)$$

$$Y_2 = 0.000\ 7t^2 - 0.001\ 3t + 0.467\ 4 \quad (3)$$

Y_1 :谷氨酸在等电母液中的溶解度随温度变化曲线, t :温度($^{\circ}\text{C}$)。

Y_2 :谷氨酸在去离子水中的溶解度随温度变化曲线, t :温度($^{\circ}\text{C}$)。

$$\Delta Y = Y_1 - Y_2 = 0.000\ 8t^2 - 0.023\ 7t + 0.516\ 5 \quad (4)$$

ΔY :谷氨酸在去离子水中的溶解度随温度变化曲线, t :温度($^{\circ}\text{C}$)。

ΔY 为不同温度下谷氨酸等电母液和去离子水中的溶解度差,如图 2 所示。工业生产中一般等电操作终温在 10°C 左右, 10°C 时去离子水中溶解度为 $0.55\ \text{g}/100\ \text{g}$ 水,从图 2 可知,此时等电母液中谷氨酸增溶了约 0.36% 。按成熟发酵液谷氨酸浓度 10% 计算,则降低提取收率 3.6% ,以去离子水中溶解度计算理论提取收率应为 94.5% ,考虑杂质的增溶作用,提取收率也应能达到 90.9% ,而实际工业生产中

水中的溶解度随温度变化趋势如图 1 所示,谷氨酸在 2 种溶液中的溶解度变化趋势基本一致,温度越高,溶解度越大,但谷氨酸在等电母液中的溶解度明显大于去离子水。

和去离子水比较,谷氨酸等电母液中含有大量的有机、无机离子以及菌体蛋白等杂质,表 1 测定了等电母液中主要杂质浓度,显然,这些杂质对谷氨酸有明显的增溶作用。

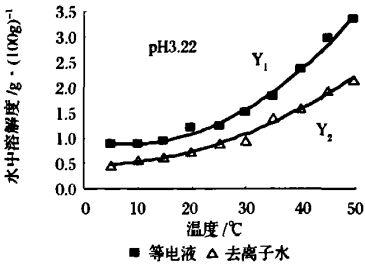


图 1 谷氨酸在去离子水中和等电母液 (pH 3.22) 中的溶解度与温度关系

的一步等电收率仅 $78\%\sim80\%$ ^[1],因此,除杂质增溶的影响之外,还应该存在着其它更重要的影响因素。

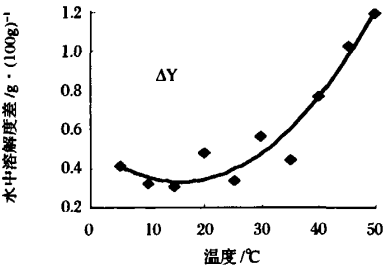


图 2 等电母液与去离子水中谷氨酸溶解度之差

2.2 细晶对谷氨酸溶解度及谷氨酸提取收率的影响

由图 3 可以看出,表观溶解度明显高于真实溶解度。在自然沉降过程中,等电母液中谷氨酸的真实溶解度基本保持不变,而表观溶解度随着沉降时间延长而降低,这是因为等电母液中含有大量的微小结晶颗粒,由于菌体细胞的吸附或较大颗粒沉降引起的液体扰动、返混等现象,颗粒沉降速度较小。扫描电镜照片(图 5)也证明等电母液中细晶的存在,大颗粒 α -晶体的直径约 $30\sim90\ \mu\text{m}$,细小 α -晶体的直径仅有 $1\sim10\ \mu\text{m}$ 。尽管随着沉降时间的延长,表观溶解度和真

实溶解度将趋向一致,但工业生产中,过度延长沉降时间将降低设备利用率,因此,沉降时间一般仅 6~10 h。2 种溶解度的差值平均值为 0.763%,同样按成熟发酵液谷氨酸浓度 10% 计算,则降低提取收率 7.63%(忽略体积变化),显然,其对提取收率的影响要大于等电母液中杂质对谷氨酸的增溶作用,等电母液中央夹带细小晶体是影响提取收率的又一主要因素。

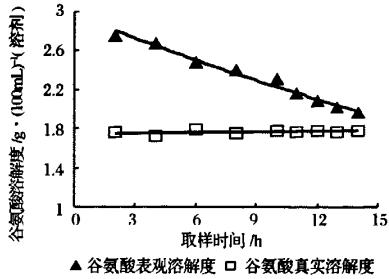


图 3 等电母液及清液中谷氨酸浓度与取样时间的关系

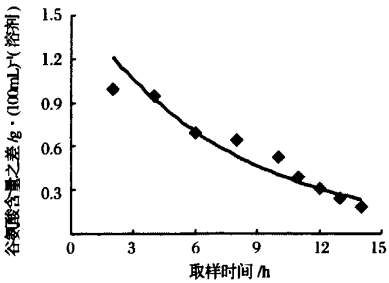


图 4 谷氨酸表现、真实溶解度之差

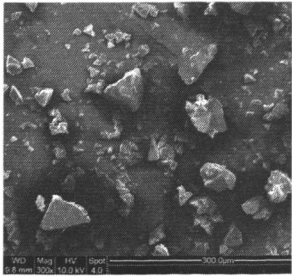


图 5 谷氨酸晶体颗粒电镜照片

2.3 谷氨酸等电母液静置分层情况及沉降特性

谷氨酸晶浆沉降中可分为 3 个区,如图 6,由上至下依次为:清液区、混浊区和沉淀区。清液区高度与沉降时间以及颗粒的沉降特性有关,清液区中已无固体颗粒,悬浮的不可溶固形物最少,透光率最大,密度最小。混浊区部分的密度介于清液区和沉淀区之间,该区内愈往下悬浮微晶粒愈多愈大。沉淀区即晶体堆积区。

目前广泛采用的等电法提取谷氨酸中不可避免

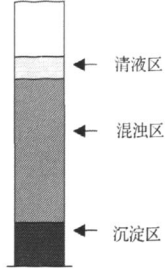


图 6 谷氨酸等电母液静置分层示意图

的是谷氨酸晶体以较宽的粒度分布,如图 7 所示,悬浮在等电母液中的小晶体的颗粒范围在 0.3~7.1 μm ,在粒度为 2.18 μm 处出现峰值。这一部分既包含有粒径在此范围内的微细谷氨酸晶体颗粒,还包括一部分谷氨酸棒杆菌[细胞大小(0.7~0.9) $\mu\text{m} \times (1.0 \sim 2.5) \mu\text{m}$]^[1]。颗粒粒径大于 7.1 μm 的颗粒已经沉降到取样口所在液层以下。

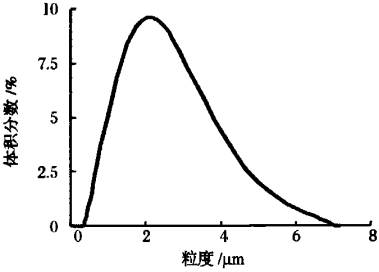


图 7 等电母液颗粒分布频率曲线

将谷氨酸晶体颗粒近似的看作表面光滑的刚性球形颗粒,在静止的流体介质中,如果颗粒的密度大于流体的密度,则颗粒将在流体中降落。此时颗粒受到 3 个力的作用,即:重力、浮力和阻力(也称曳力)。一定流体中,重力和浮力是一定的,而阻力却随颗粒的降落速度而变。颗粒开始沉降的瞬间,速度 u 为 0,因此阻力 F_d 也为 0。颗粒开始沉降后,阻力随运动速度 u 的增加而增加,直至 3 个作用力的合力为 0,沉降达到平衡^[4]。

根据 Stokes 定律,沉降速度和颗粒直径之间的关系可表达为:

$$u = \frac{d^2(\rho_s - \rho)g}{18\mu} \quad (5)$$

式中: u ,颗粒沉降速度(m/s); d ,颗粒直径(m)。

由旋转黏度计测得 20℃ 时等电母液的黏度 $\mu = 3 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 。

由单位体积等电液的体积得到 20℃ 时等电母液的密度 $\rho = 1\,122.68 \text{ kg/m}^3$ 。

谷氨酸结晶颗粒的密度按 $\rho_s = 1\,538\text{ kg/m}^3$ 计算^[1]。

计算不同直径谷氨酸颗粒的沉降速度,并推算不同时间的沉降高度,结果如表 2。

表 2 颗粒粒度与沉降的关系

颗粒粒度 d / μm	沉降速度 / $\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$	经过 1 h 沉降距离 /m	经过 2 h 沉降距离 /m	经过 4 h 沉降距离 /m	经过 6 h 沉降距离 /m
0.1	2.72×10^{-6}	2.72×10^{-6}	5.43×10^{-6}	1.09×10^{-5}	1.63×10^{-5}
0.5	6.79×10^{-5}	6.79×10^{-5}	1.36×10^{-4}	2.72×10^{-4}	4.07×10^{-4}
1	2.72×10^{-4}	2.72×10^{-4}	5.43×10^{-4}	1.09×10^{-3}	1.63×10^{-3}
5	6.7×10^{-3}	6.7×10^{-3}	1.36×10^{-2}	2.72×10^{-2}	4.07×10^{-2}
10	2.72×10^{-2}	2.72×10^{-2}	5.43×10^{-2}	0.11	0.16
20	0.11	0.11	0.22	0.44	0.65
40	0.44	0.44	0.87	1.74	2.61
55.4	0.83	0.83	1.67	3.33	5
60	0.98	0.98	1.96	3.91	5.87
80	1.74	1.74	3.48	6.95	10.43
100	2.72	2.72	5.43	10.90	16.29
120	3.91	3.91	7.82	15.60	23.47

工业等电提取过程中,一般要将等电液静止 6~10 h 使谷氨酸颗粒沉降。从表 2 计算结果看,若等电罐高度按照 5 m 计算,则经过 6 h 沉降之后,仅颗粒粒度大于 $55.4\mu\text{m}$ 的谷氨酸晶体颗粒会沉降到结晶罐底部,小于此粒径的晶体颗粒将随等电母液排放到离子交换工段。这一颗粒沉降特性不仅严重影响了等电提取收率,而且也加重了离子交换工段的负荷,增加了硫酸、液氨的消耗。

3 结 论

等电母液中的杂质对谷氨酸溶解度有明显增溶作用,但等电母液中夹带的微细晶体颗粒对提取收率

的影响更大。在工业生产中,杂质浓度难以改变,因此,如何减少或消除等电母液中夹带的细晶将是新一代谷氨酸结晶装备研究开发的方向。

参 考 文 献

1 于信令. 味精工业手册[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1995
2 张克旭. 氨基酸工艺学[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1992
3 赵亮富,赵玉龙. 宽粒度分布的细颗粒沉降[J]. 化学反应工程与工艺,1997,13(3):304~309
4 姚玉英. 化工原理[M]. 天津:天津科学技术出版社,2004

The Effect of Glutamate Solubility and Particle Sedimentation on Isoelectric Point Crystallization Extraction Rate

Liu Chenglong, Zhang Jianhua, Wang Zhengwei, Mao Zhonggui

(Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Jiangnan University, Wuxi 214122,China)

ABSTRACT Decreasing the *L*-glutamate concentration of isoelectric point crystallized mother liquid is the main way on glutamate isoelectric point precipitation method. Solubility of glutamate in isoelectric point crystallized mother liquid and particle sedimentation were researched in this paper. The experimental results show that solubility of glutamate in isoelectric point crystallized mother liquid increases by 0.30%~1.20% and solubility increases by 0.46%~0.94% for suspended particles. Reducing or eliminating suspended particles is the primary way to increase extraction rate in batch isoelectric point precipitation tank.

Key words wider size distribution particle, glutamate, isoelectric point precipitation