

采用膜分离技术高效分离提取 L-亮氨酸*

谢希贤¹, 曹华杰², 杜 军², 陈传云², 刘淑云¹, 石维忱²

1(天津科技大学生物工程学院, 天津, 300457) 2(中国发酵工业协会, 北京, 100037)

摘 要 为提高 L-亮氨酸提取得率, 文中采用微滤、离交、超滤和反渗透技术对亮氨酸发酵液进行处理, 重点研究了有机膜分离提取亮氨酸的工艺。确定膜分离工艺为: 进料温度控制在 45℃, pH 调节至 4.0; 微滤压力 0.1 MPa, 超滤压力 0.25 MPa, 反渗透压力 1.5 MPa; 反渗透浓缩倍数 3~4 效果最好。应用有机膜技术提取亮氨酸, 其收率可达 86.75%, 产品纯度达 98.58%。

关键词 L-亮氨酸, 膜分离, 微滤, 超滤, 反渗透

目前我国氨基酸发酵的整体水平与欧美、日本等发达国家相比尚有一定的差距, 尤其是产品的后提取工艺更是落后世界先进水平 10~20 年, 后提取收率普遍偏低。近年来, 由于行业竞争加剧, 迫切要求不断改进现有技术及开发新技术, 以提高产品质量, 降低生产成本。在这种形势下, 膜分离技术以其节能、高效、无相变的特点, 在氨基酸发酵液的除菌体、除盐、浓缩和产品精制等方面, 正在成为研究和应用的热点之一^[1,2]。

膜分离过程作为一门新型的分离、浓缩、提纯技术, 近 30 年已在各个工业领域及科学研究中取得广泛的应用^[3,4]。随着膜材料、膜工艺、膜装置、膜过程和应用技术不断涌现, 膜技术已从单一膜过程的应用到膜集成过程, 再到和其他化工分离过程连用^[5]。国内有关氨基酸的膜分离技术的研究刚刚起步, 研究内容和研究水平与国外还有很大差距。本文以亮氨酸发酵液为原料, 采用微滤、离交、超滤和反渗透等技术分离提取亮氨酸, 重点研究了有机膜分离提取亮氨酸的工艺, 获得了一些可以借鉴的工业化设计参数。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

微滤膜(0.2 μm), 管状超滤膜(截留分子质量 Molecular Weight of Cut-Off, 简称 MWCO5000), 反渗透膜: MWCO<90, 均为安徽普朗膜技术有限公司产品, 相关指标见表 1。离子交换树脂为氨基酸专用树脂, 购自皖东化工公司。

第一作者: 博士, 副教授(石维忱教授为通讯作者)。

* 国家“863”计划项目(2007AA02Z200)

收稿日期: 2008-09-03, 改回日期: 2008-11-07

表 1 实验膜元件的相关指标和适用范围

指标	膜材料	膜面积 /m ²	最高工作 温度/℃	最高工作压 力/MPa	pH 范围	截留分子量 /MWCO
微滤	PVDF	0.7	45	0.5	2~12	10~30 万
超滤	PVDF	16	45	2.5	2~11	5 000
反渗透	PVDF	17	45	3.0	3~10	90

1.2 工艺流程

本文采用微滤、离交、超滤和反渗透膜技术集成分离亮氨酸, 工艺流程见图 1。

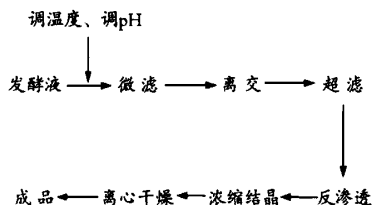


图 1 亮氨酸发酵液分离工艺流程图

1.3 实验方法

1.3.1 发酵液的预处理

将 200 L 的发酵液先加热至 80℃, 然后降至 45℃并保持膜分离全过程, pH 调节至 4.0。

1.3.2 亮氨酸分离

预处理好的发酵液依次通过微滤、离交、超滤和反渗透工艺进行亮氨酸提取, 系统总的运行时间约 13h。离子交换柱分离亮氨酸工艺见参考文献[6]。

1.3.3 蛋白氮含量

凯氏定氮法。

1.3.4 氨基酸含量测定

采用 Elite-AAA 氨基酸分析仪测定。

1.3.5 色度测定方法

将发酵液直接稀释 100 倍, 于 480nm 处测定其

透光率。

1.3.7 计算方法

蛋白质去除率/%=[1-(滤后蛋白含量/滤前蛋白含量)]×100

色素去除率/%=[1-(滤后色素含量/滤前色素含量)]×100

亮氨酸截留率/%=[1-(反渗透后清液亮氨酸含量/反渗透原液亮氨酸含量)]×100

亮氨酸收率/%=[(滤后亮氨酸含量×滤后体积)/(滤前亮氨酸含量×滤前体积)]×100

2 结果与讨论

2.1 压力对亮氨酸微滤工序的影响

料液温度控制在膜通量稳定时的 45℃,本文重点考察了操作压力对微滤工序的影响,结果如表 2 所示。

表 2 不同操作压力对微滤的影响

操作条件	操作压力/MPa	最大膜通量/ $L \cdot (m^2 \cdot h)^{-1}$	蛋白质去除率/%	色素去除率/%	亮氨酸收率/%
1	0.12	56	13.64	11.24	99.62
2	0.10	52	14.32	11.38	99.45
3	0.08	34	14.93	11.69	98.88
4	0.06	20	15.67	12.32	98.58

从表 1 可以看出,操作压力的高低对蛋白质去除率、色素去除率、L-亮氨酸收率都没有很大的影响,但对膜通量影响较大。当操作压力很低时,过滤速度就很慢,特别到了后期,过滤速度会变得更慢,影响到过滤时间,直接影响到过滤的效率。综合考虑,为保证微滤膜件持续、稳定工作,本实验选择批次 2 的操作条件。

2.2 压力对亮氨酸超滤工序的影响

由于超滤过程近似于一定操作条件下的机械筛分过程,膜两侧的操作压力作为过程推动力,对超滤膜分离特性具有较大影响。本实验利用 MWCO5000 的管状超滤膜对亮氨酸微滤液进行超滤实验,在进料浓度和操作时间相同的条件下,分别在不同操作压力条件下进行超滤工序操作,结果见图 2。

由图 2 看出,随着操作压力的增大,膜通量也随之增加,当压力达到 0.25 MPa 以上后,超滤通量趋于稳定。这可能因为操作压力增大到一定程度时,浓差极化使膜表面溶质浓度达到凝胶浓度,膜面形成凝胶层,增大了料液通透阻力,使渗透通量稳定在一定的水平。另外,30 min 前膜通量随压力加大而增加,30 min 后 0.30 MPa 下的膜通量出现异常,低于同时刻 0.25 MPa 下的膜通量,原因可能是较高的操作压

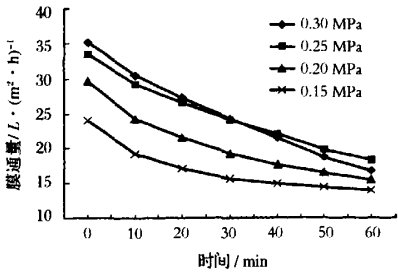


图 2 不同压力下超滤膜通量曲线

力使膜的压密程度变大,从而使膜污染加重,造成衰减系数变大。

表 3 不同操作压力对超滤的影响

操作条件	操作压力/MPa	蛋白质去除率/%	色素去除率/%	L-亮氨酸收率/%
1	0.30	87.18	48.45	94.22
2	0.25	89.32	50.68	94.15
3	0.20	92.93	51.69	93.72
4	0.15	93.67	52.32	92.95

表 3 显示不同操作压力对超滤的影响。亮氨酸的收率随着压力增大而增加,但同时蛋白和色素的去除率却随着压力增大而减少。综合膜通量、亮氨酸收率和杂质去除率,选择 0.25 MPa 为超滤的最佳操作压力。

2.3 压力及浓缩倍数对亮氨酸反渗透工序的影响

超滤后的清液仍具有较高的盐分和较多的氨基酸等小分子物质,本实验选用 MWCO<90 的管式反渗透膜件对超滤清液进行脱盐和浓缩。实验结果表明:随着操作压力增加,渗透通量基本上呈线性增加,而整个过程亮氨酸截留率都在 98.5% 以上,这可能是因为超滤过程中大分子蛋白去除较彻底,没有形成大分子凝胶层,此条件下渗透通量主要取决于操作压力,故渗透通量随操作压力的增加基本上呈线性变化。而亮氨酸截留率主要取决于滤膜截留孔径的大小,根据筛分机理可知截留率变化不大。本实验选择较高的操作压力 1.5 MPa,重点研究了浓缩倍数对反渗透膜性能的影响,结果见图 3。

由图 3 可知,随着浓缩倍数的增加,亮氨酸截留率变化不大,亮氨酸的收率均在 98.3% 以上。但是,随浓缩倍数的增加,料液质量分数增大,膜面处的凝胶层形成加快,以及由此产生的浓差极化现象,使得膜面污染情况加重;另一方面,料液质量分数增加引起渗透压增加,此两者均导致渗透通量迅速下降。由于膜污染过度,将加大随后的清洗恢复的难度,所以综合考虑,反渗透的浓缩倍数控制在 3~4 为宜。

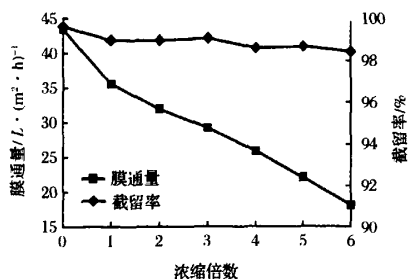


图3 浓缩倍数对反渗透膜性能的影响

3 结 论

(1)采用 $0.2\mu\text{m}$ 微滤膜可以有效地去除发酵液中的菌体和其它颗粒杂质,微滤可以看做是超滤过程的预处理过程。操作压力的高低主要影响膜通量,而对 *L*-亮氨酸收率没有很大的影响。

(2)超滤过程可以去除微滤液中大部分的蛋白和色素。操作压力对亮氨酸微滤液超滤通量影响较大。亮氨酸的收率随着压力增大而增加,但同时杂质去除率却随着压力增大而减少。

(3)反渗透操作起到浓缩和纯化作用,操作压力对通量产生较大影响,但对亮氨酸截留率影响不大。浓缩倍数对反渗透膜的分离性能影响较大,浓缩倍数

以 3~4 为宜。

(4)经过微滤、离交、超滤、反渗透操作,再经结晶、干燥处理,得到亮氨酸成品,提取得率 86.75%,高于传统提取方法,产品纯度达 98.58%,品质有很大改善。

参 考 文 献

- 1 Timmer J, Speelmans M, Van Der H. Separation of amino acids by nanofiltration and ultrafiltration membranes [M]. Separation and Purification Technology, 1998, 14 (1): 122~144
- 2 谢柏明,楼永通,方丽娜,等.膜分离技术在氨基酸生产上的应用[J].发酵科技通讯,2006,35(1):40~42
- 3 时钧,袁权,高从楷.膜技术手册[M].北京:化学工业出版社,2001
- 4 李锡源,漆宝林,韩贵安.超滤法在抗生素提炼中的应用[J].水处理技术,1996,22(1):213
- 5 Kazuhisa S. Effects of the feed solution concentration on the separation degree in Donnan dialysis for binary systems of amino acids[J]. Journal of Membrane Science, 2002, 196(2): 211~220
- 6 刘 辉,陈 宁.离子交换法从发酵液中提取 *L*-亮氨酸[J].离子交换与吸附,2008,24(3):240~245

L-leucine Extraction by Membrane Separation

Xie Xixian¹, Cao Huajie², Du Jun², Chen Chuanyun²,
Liu Shuyun¹, Shi Weichen²

1(College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

2(China Fermentation Industry Association, Beijing 100037, China)

ABSTRACT To increase the extraction yield of *L*-leucine, microfiltration (MF), ion exchange chromatography, ultrafiltration (UF) and reverse osmosis (RO) were applied. The main focus was on the extraction process with multiple organic membranes. The optimal operation condition was as follows: feeding temperature 45°C , pH 4.0; MF pressure 0.1 MPa, UF pressure 0.25 MPa, RO pressure 1.0 MPa; RO concentration multiple between 3~4. By multiple membranes, the yield of leucine reached to 86.75%, and the purification could be reached to 98.58%.

Key words *L*-leucine, membrane separation, microfiltration, ultrafiltration, reverse osmosis