

模拟移动床技术分离缬氨酸和丙氨酸

万红贵 方煜宇 叶 慧

(南京工业大学制药与生命科学学院, 南京, 210009)

摘 要 研究了线性条件下模拟移动床分离缬氨酸和丙氨酸的行为, 掌握了模拟移动床的基本运行规律, 实现了 2 种中性氨基酸的分离, 分离效果远好于普通的分离方法, 得到了较高纯度的缬氨酸(98.6%)和丙氨酸(82.9%)产品, 提高了生产效率。

关键词 模拟移动床, 分离, 缬氨酸, 丙氨酸

L-缬氨酸因其特殊的结构和功能, 在代谢中占有特别重要的地位。如缺乏可引起神经障碍、停止发育、体重下降、贫血等。另外, 它在医药, 化工, 农业和食品等方面均有广泛应用^[1~3]。

目前, 国内外大批量生产 L-缬氨酸均采用微生物发酵法。但目前使用的菌株大部分是抗氨基酸结构类似物菌株, 副生杂酸比较多, 还含有 0.5% 左右的丙氨酸, 经提取后的 L-缬氨酸纯度不够, 大部分只符合食品添加剂的质量标准, 制约了其价格^[4]。由于产品(缬氨酸)和杂质(丙氨酸)均系中性氨基酸, 它们的结构相似, 等电点也接近, 这给分离带来了很大的困难。传统的分离工艺为双柱或多柱串连色谱分离, 不仅工艺繁复, 周期冗长, 而且分离效果差^[5]。

模拟移动床(SMB)色谱分离技术是 20 世纪 60 年代发展起来的一种现代化分离技术, 具有分离能力强、能耗低、总柱效高、流动相耗量少等优点, 广泛应用于石油、精细化工、制糖、食品等领域, 今年来更是在手性药物、有机酸和氨基酸等生化产品的分离中得到广泛应用^[6]。文中研究了模拟移动床分离缬氨酸的工艺技术。

1 材料与方法

1.1 实验材料

缬氨酸、丙氨酸均购自中国惠兴生化试剂有限公司; 色谱固定相为均孔强酸性苯乙烯系树脂, 由上海华震科技有限公司提供。

1.2 仪器设备

实验室搭建的小型模拟移动床系统, 配置 8 根 300×38 mm I.D. 层析柱(上海锦华), 装填树脂后测得柱子孔隙率 $\epsilon = 0.4$ 。进料和出料口的流量分别由

4 个恒流泵控制(保定兰格, BT00-100M 型)。

采样分析利用美国 Alltech 的 ELSD2000 系列色谱仪, 配备 Prevail C₁₈(5 μ m, 250 mm×4.6 mm) 色谱柱和 ELSD 检测器。

1.3 吸附等温线的测定

精确称取定量溶质置于锥形瓶中, 在其中加入定量溶剂, 配成 0.5、1、2、3、5 g/L 的溶液, 色谱仪上测定其吸收峰, 做标准曲线, 用于计算吸附后溶液内溶质的含量。将锥形瓶加入定量树脂后置于恒温摇床内, 间隔取样直至溶液中溶质的浓度不变为止。实验过程中发现, 缬氨酸和丙氨酸在树脂上 5 h 就可达到吸附平衡。将初始浓度减去平衡后浓度, 乘以溶液体积就可以得到吸附量, 进而求得单位量树脂上的平衡吸附量, 绘制吸附等温线。

1.4 模拟移动床分离缬氨酸的过程

缬氨酸和丙氨酸混合液由 BT00 型恒流泵连续压入进料口, 同时洗脱液(0.5 mol/L 的氨水)从洗脱液入口连续进入。分离得到的缬氨酸和丙氨酸分别从残余液出口和提取液出口流出, 如图 1 所示。系统运行时各个进出口以一定的切换速度沿箭头方向顺次移到下一柱的接口, 以此模拟出了固定相的相对运动。系统操作温度保持在 25℃。

2 模拟移动床的原理

模拟移动床色谱的操作单元是色谱层析, 色谱对不同组分的分离, 主要是利用各种组分在色谱柱中的迁移速率不同来完成的。假设 A 和 B 两种组分的分离, A 和 B 对固体的吸附力是不同的(其中 B 比 A 对固体的吸附力要强, 因而 B 在色谱柱中的迁移速率比 A 小)。这就有可能选择一个合适的速度(介于 A、B 两种组分迁移速率之间)让固体与溶剂作反向运动, 从而使得 A 向上游移动、B 向下游移动, 从而完成了 A 与 B 的分离。这就是移动床色谱的基本思

第一作者: 研究员, 国家生化中心副主任。

收稿日期: 2005-09-26, 改回日期: 2005-12-02

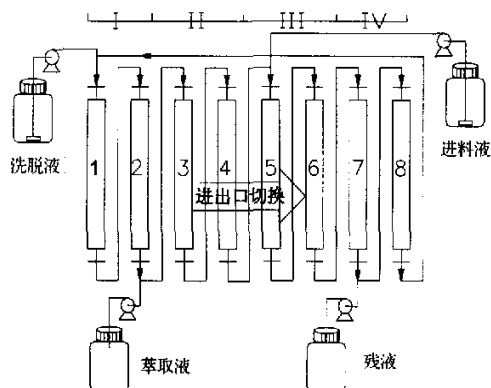


图1 实验SMB示意图

想^[7]。图2是一个移动床色谱的示意图,固体和溶剂逆流流动并各自循环,在进样点处A、B混合物连续进料,B和A的纯组分分别在2个采出点连续采出。

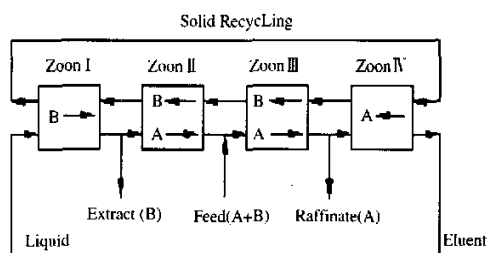


图2 移动床色谱示意图

模拟移动床色谱是相对于真实移动床色谱而言的,在真实移动床中固体和流体相对运动,固体的磨损消耗严重而且需要颗粒回收及输送设备,这就导致了运行费用的急剧增长。模拟移动床的出现很好地解决了这些问题,它将多根较短的色谱柱首尾相联而成一个环,给定一个切换时间 τ ,周期性地把进样点位置和采出点位置沿着流动相的运动方向向前移动,这样一个柱一个柱的推进,如此循环,就模拟出了固定相和流动相的相对移动^[8]。这种模拟逆流系统实现了与真实移动床色谱相近的效果。它一方面保持了移动床连续操作、分离效果好的优点,另一方面又避免了固体真正逆流的困难。并且采用逆流操作能够充分利用填料从而提高了分离效率。

由于SMB和TMB操作的等效性,就可以利用TMB途径来实现SMB的操作优化^[9]。考虑一个满足线性平衡的TMB单元用于二组分分离(如图2),忽略轴向扩散和传质效应^[10]。为了在残液中回收弱吸附组份A(丙氨酸)和在萃取液中回收强吸附组份B(缬氨酸),使它们得到分离必须要满足以下条件:分区I中B组分在液相中含量必须大于固相中含量,

即B组分净流必须向右移动;分区II中A组分在液相中含量必须大于固相中含量,即A组分的净流必须向右移动,而且B组分净流必须向左移动;分区III中B组分在液相中含量必须小于固相中含量,即B组分净流必须向左移动,而且A组分净流必须向右移动;分区IV中A组分在液相中含量必须小于固相中含量,即A组分的净流必须向左移动。这些条件可以用不等式来表示如下^[11]:

$$\begin{aligned} \text{区 I: } & \frac{Q_I C_{BI}}{Q_S q_{BI}} > 1 \\ \text{区 II: } & \frac{Q_{II} C_{AII}}{Q_S q_{AII}} > 1, \text{ 和 } \frac{Q_{II} C_{BII}}{Q_S q_{BII}} < 1 \\ \text{区 III: } & \frac{Q_{III} C_{AIII}}{Q_S q_{AIII}} > 1, \text{ 和 } \frac{Q_{III} C_{BIII}}{Q_S q_{BIII}} < 1 \\ \text{区 IV: } & \frac{Q_{IV} C_{AIV}}{Q_S q_{AIV}} > 1 \end{aligned} \quad (1)$$

取无量纲值 $m_j = \frac{Q_j}{Q_S}$, 则上述约束条件变为:

$$\begin{aligned} \text{区 I: } & m_I > \frac{q_{BI}}{C_{BI}}; \\ \text{区 II: } & \frac{q_{AII}}{C_{AII}} < m_{II} < \frac{q_{BII}}{C_{BII}} \\ \text{区 III: } & \frac{q_{AIII}}{C_{AIII}} < m_{III} < \frac{q_{BIII}}{C_{BIII}}; \\ \text{区 IV: } & m_{IV} < \frac{q_{AIV}}{C_{AIV}} \end{aligned} \quad (2)$$

式中, q_{ij} 和 C_{ij} 分别是 i 组分在 j 区的液相浓度和平均固定相浓度, Q_j 是 j 区的内部液相流率, Q_S 是固定相的相对流率(相对于进出口的切换)。

4个区的条件对SMB的性能有着很大影响,任一区的条件改变都将影响其他各区的分离状态,因此各区的流率控制及其复杂。为了简化分析,研究了当吸附等温线为线性时的系统分离情况。在线性条件下, $q_i = H_i C_i$, H 为亨利平衡常数。此时整个分离系统只需满足以下4个条件:

$$\begin{aligned} \text{区 I: } & H_B < m_I < \infty \\ \text{区 II: } & H_A < m_{II} < H_B \\ \text{区 III: } & H_A < m_{III} < H_B \\ \text{区 IV: } & m_{III} < m_{IV} \end{aligned} \quad (3)$$

另外,为了保证液流的方向一致,要满足:

$$H_A < m_{II} < m_{III} < H_B \quad (4)$$

3 结果与讨论

3.1 吸附等温线

实验表明,当溶液浓度低于 20 g/L 时,缬氨酸(A组分)和丙氨酸(B组分)其吸附等温线均为线性:

$$q_A = 2.75 c_A, q_B = 4.49 c_B$$

3.2 模拟移动床的分离

从式(3)和式(4)可以看出,II、III区的流率相互关联在SMB分离性能上起着重要作用,而I、IV区的控制较为独立。根据Massimo的三角形理论可以把 m_{II} 、 m_{III} 的关系用图形表示出来^[12](图3)。

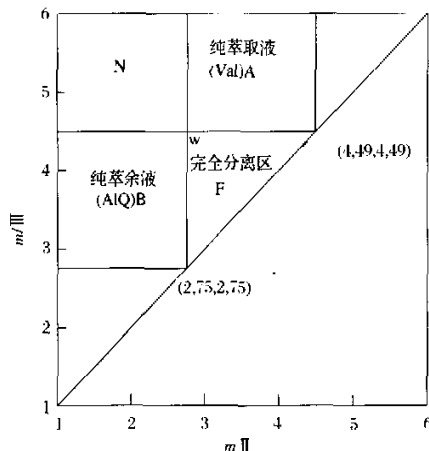


图3 三角理论中的完全分离区域

由图3可以看出,当操作点落在F区时,在萃取液出口和残液出口都可得到纯的产品。而当操作点落在A区或B区时,则只能在1个出口得到纯的产品。当操作点落在N域时,则在2个出口都无法得到纯的产品。

由图3可以清楚看出,W(2.75, 4.49)是理论上最佳的操作点。这时洗脱液的消耗量最小而且SMB的生产能力最大,但是该操作点也是最不稳定的一个点,当系统条件稍微改变都会导致分离效率的下降^[12]。因此在实际操作中常将该操作点往内移动10%,从而加强SMB系统的稳健性。通过实验的调节,找到了最佳的操作条件,见表1。

表1 SMB实际工作参数

参数	数值
操作温度/℃	25
切换时间 t/min	5
进料液流量 $Q_F/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	5.6
洗脱液流量 $Q_E/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	36.4
萃取液流量 $Q_{Ex}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	31.8
萃余液流量 $Q_R/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	10.2
循环液流量 $Q_{rec}/\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$	38.2

在该实验条件下,最终在萃取液出口得到98.6%的缬氨酸,其平均质量浓度为19.6 g/L,在残液出口得到82.9%的丙氨酸,其平均质量浓度为8.9 g/L。图4给出了当SMB分离系统达到动态平衡时,切换周期中的色谱柱内部浓度分布图。从图中可

以看出,由于各区流量不同,使得缬氨酸和丙氨酸分布在系统的不同部分,从而得到连续分离。

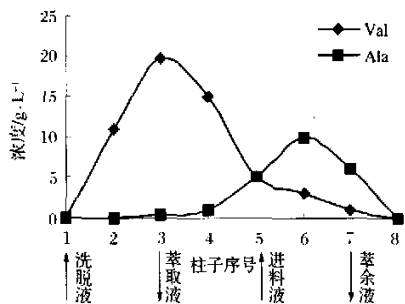


图4 SMB系统内部浓度分布图

图5和图6为提余液出口及提取液出口产物随时间的变化曲线。可以看出,约经过160 min(4个循环周期)后,SMB系统即可达到动态平衡,随着物料进出的切换,产物质量浓度也在周期性地变化。

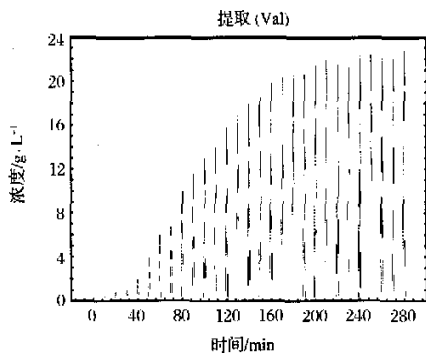


图5 萃取液浓度历史曲线

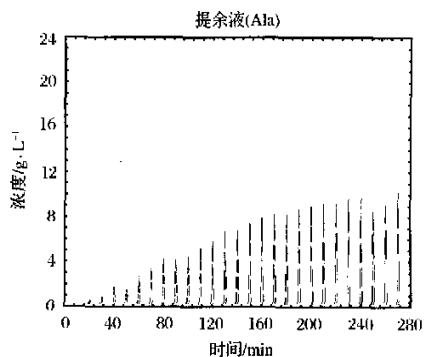


图6 萃余液浓度历史曲线

4 结论

线性条件下的SMB色谱分离是较为简单的情况,但是通过对它进行分析研究可以掌握基本的SMB运行规律。可以看到,要实现线性条件下的分离进料浓度要求很低,约为20 g/L。如果高浓度的工业化分离必须要稀释后进行。缬氨酸和丙氨酸得

到了分离,两种产品的纯度都高于通常的离交方法。虽然产品丙氨酸的纯度还不是特别高,但可以通过增加 III 区的柱数来改善。还有在非线性条件下的 SMB 分离情况远比线性条件复杂,这都有待今后进一步深入开展研究工作。

参 考 文 献

- 1 陈 刚,王开国,浦军平. 改进 L-缬氨酸发酵工艺的实验研究[J]. 大连轻工业学院学报,2003,22(1):40~43
- 2 张伟国,钱 和. L-缬氨酸发酵条件的研究[J]. 氨基酸和生物资源,2001,23(3):28~31
- 3 肖承侃. 50 吨罐工业发酵 L-缬氨酸工艺初探[J]. 发酵科技通讯,1998,27(1):23~25
- 4 汤家芳,鲁伟,张世伟,等. L-缬氨酸发酵中放提炼总结[J]. 氨基酸杂质,1992(1):1~3
- 5 蔡洪年. 单柱法分离 L-缬氨酸的工艺研究[J]. 氨基酸杂质,1990(4):14~18
- 6 万红贵,方煜宇. 连续制备色谱及其在氨基酸工业中的应用[J]. 食品与发酵工业,2005, 31(1):97~100
- 7 Michael Schulte. Preparative enantio separation by simulated moving bed chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2001,906:399~416
- 8 Markus Juza. Simulated moving-bed chromatography and its application to chirotechnology [J]. Tibtech March, 2000,18
- 9 Pais L S, Loureiro J M, Rodrigues A E. Modeling Strategies for Enantiomers Separation by SMB Chromatography [J]. AIChE,1998,44 (3):561~569
- 10 Zhong C, Guiochon G Analytical solution for the linear ideal model of simulated moving bed chromatography[J]. Chem Eng Sci,1996,51:4 307
- 11 Mazzotti M, Storti G. Morbidelli. Supercritical fluid simulated moving bed chromatography [J]. Journal of Chromatography A,1997,786:309~320
- 12 SM Lai, RR Loh. Quick method for the determination of the optimal operating conditions of a simulated moving bed unit [J]. Chrom & Rel Technol,2002,25(3):

Separating Valine and Alanine with Simulated Moving Bed Technology

Wan Honggui Fang Yuyu Ye Hui

(College of Pharmacy and Life Science, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

ABSTRACT The SMB (simulated moving bed) technology was used to separate valine and alanine. It is seen that good performance was obtained under linear condition. The separation principle and behavior on SMB was studied. The purity of valine and alanine reaches 98.6% and 82.9%, respectively. The productivity was also greatly improved.

Key words simulated moving bed, separation, valine, alanine

信
息
窗

仪器信息网“促销仪器”栏目正式开通

“网上仪器展览(<http://www.netshow.com.cn>)”自 2001 年开通以来,受到了广大用户和厂商的大力支持和积极参与,获得了一致的好评,目前,400 多家参展厂商、4000 多台参展仪器、7000 多种配件耗材的详细资料均可在此平台上查到。

为使广大用户单位能更方便快捷地购买到价格实惠的仪器产品,并帮助仪器厂商更好地运用好促销宣传的营销方式、降低运营成本,近日我们正式开通了“促销仪器”栏目平台。本栏目及时发布厂家正在促销的仪器产品信息,这些产品有的是仪器厂家成立几周年,为答谢新老客户搞的促销活动;有的是全球统一促销,真正让利给广大用户;还有的是新品上市做的限量促销…有些降价的幅度甚至超过万元。

目前本栏目已经收集了 100 多个仪器产品的促销价格信息,由于很多促销都是一两个月内有效,所以对仪器采购单位来说,真是“机不可失,时不再来”!

欢迎访问:<http://promotion.instrument.com.cn>

另外,本栏目由于刚刚开通,所以可能还有很多服务功能不够完善,如果您在访问本栏目时有好的建议,或您知道仪器特价促销信息,请立即与我们联系:

E-mail:show@instrument.com.cn

服务热线:010-51654077-12