

强酸型离子交换纤维 PVF-g-SO₃H 对碱性氨基酸的分离研究^{*}

符若文¹, 杜秀英¹, 林远声², 罗智翘², 林德航²

(1. 中山大学材料科学研究所, 聚合物复合材料及功能材料教育部重点实验室, 广东 广州 510275;

2. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 研究强酸型阳离子交换纤维 PVF-g-SO₃H 对碱性氨基酸 L-组氨酸和 L-赖氨酸的吸附分离性能, 并与 732 号树脂进行比较。结果表明 PVF-g-SO₃H 纤维不仅对单组份赖氨酸或组氨酸的吸附率比 732 号树脂高约 1.5%~3.9%, 而且其洗脱率高约 12.5%~13.4%, 同时对混合氨基酸的洗脱峰既强而且分辨率高。再生后纤维和树脂的总提取率都有微小的下降, 但纤维的再生提取率仍高于 732 号树脂 10% 以上。实验的最佳洗脱条件为: 洗脱液柠檬酸-柠檬酸钠的 pH 值为 4.6, 填充柱长径比为 20, 洗脱速率为 1 mL/min。

关键词: 强酸型离子交换纤维; 碱性氨基酸; 分离

中图分类号: O647.31⁺6.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2001) 02-0045-05

氨基酸是构成蛋白质的基本结构单位, 氨基酸的分离不论在研究分析还是生产制备方面都有重要的意义。传统分离氨基酸的方法有沉淀分离、分配分离、层析分离、离子交换、电泳分离等^[1~5]。众所周知, 离子交换纤维比传统离子交换树脂有更大的交换面积, 表面基团含量高, 交换厚度很小 (近似为一维扩散)^[6,7], 所以, 离子交换纤维通常比相应树脂具有更大的交换容量和更高的交换速度。此外, 纤维还可以制成布、毡、网、线等多种形式, 使用方便灵活。近年来, 人们已经对离子交换纤维的制备及其对水溶液中各种金属离子的交换与吸附、对气体中的酸碱物质的反应等进行了大量的研究^[6~11], 然而, 至今用离子交换纤维材料来分离氨基酸的研究报道很少^[6]。充分发挥离子交换纤维高效吸附与解吸的特点, 开发其对氨基酸的分离研究不论在理论上还是工业应用上都是有积极意义的。本文在成功制备强酸型阳离子交换纤维 PVF-g-SO₃H 的基础上, 开展了对碱性氨基酸 (L-赖氨酸和 L-组氨酸) 的分离研究, 比较了 PVF-g-SO₃H 纤维和工业上常用的 732 号阳离子交换树脂对单一组分氨基酸的吸附-洗脱性能, 以及对双组分氨基酸的分离性能和材料的再生性能。同时, 还对最佳洗脱条件进行了初步的摸索。

1 实 验

1.1 材料及试剂

PVF-g-SO₃H 纤维材料参照文 [12] 方法将 PVF 纤维接枝上苯乙烯后再磺化而制得。

732 号型阳离子离子交换树脂 (沈阳有机化工厂)。将以上 2 种材料转化为钠型后方可使用。

L-赖氨酸 (简称为 lys) (上海康达氨基酸厂); L-组氨酸 (简称为 his) (上海康达氨基酸厂); 柠檬酸钠 (CP); 柠檬酸 (AR); 水合茚三酮 (上海试剂三厂)。

1.2 赖氨酸、组氨酸饱和吸附量的测定

将 pH 值为 2, 浓度为 c_0 , 体积为 V_0 的氨基酸溶液分别加入到以上 2 种分离材料填充的层析柱中 (柱直径为 1 cm), 调整流速至约 0.6 mL/min, 将流出液再次加入层析柱中, 重复 3 次, 使其充分交换吸附, 然后用一定体积的缓冲液以流速为 6 mL/min 洗柱, 将未交换的氨基酸全部洗下来, 记录流出液体积 V_1 , 用茚三酮显色法测定流出液中氨基酸的浓度 c_1 , 分离材料的吸附量用下式计算:

$$\text{吸附量} = (c_0 V_0 - c_1 V_1) / m$$

$$\text{吸附率} = (\text{总吸附量} / \text{上柱量}) \times 100\%$$

式中, m 为分离材料的质量。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (59973028); 教育部跨世纪优秀人才培养基金资助项目

收稿日期: 2000-06-15; 作者简介: 符若文 (1958—), 男, 博士, 教授。

1.3 洗脱率的测定

吸附氨基酸后的柱用 pH 为 4.6 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液洗脱, 流速为 1 ml/min, 每 6 min 收集 1 管 (6 mL), 直至收集管内氨基酸的 A_{579} 值小于 0.001. 洗脱率按下式计算:

洗脱率 = $\sum_{i=1}^n 6c_i / (c_0 V_0 - c_1 V_1) \times 100\%$

式中, c_i 表示第 i 管氨基酸的浓度.

1.4 单组分或双组分氨基酸洗脱曲线的测定

将单一氨基酸溶液或混合氨基酸溶液 ($V(\text{lys}) : V(\text{his}) = 1 : 1$) 加入层析柱中, 使其充分吸附后用一定 pH 值的洗脱液以预定的洗脱速率洗脱, 每 6 mL 洗脱液收集为一管 (一个级分), 测定每管氨基酸的浓度, 以洗脱液浓度对洗脱体积绘制洗脱曲线.

2 结果与讨论

2.1 PVF-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂对单一组分氨基酸的吸附-洗脱性能

吸附率和洗脱率是衡量吸附分离材料性能的重要指标, 为此首先对单一组分氨基酸在 PVF-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂 2 种材料上的吸附-洗脱性能进行了研究. 从表 1 可看出, PVF-g-SO₃H 纤维对 lys 和 his 的吸附率比 732 号树脂高约 1.5%~3.9%, 而洗脱率高约 12.5%~13.4%.

表 1 PVF-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂对碱性氨基酸的吸附及洗脱性能

Tah 1 The adsorption and desorption properties of PVF-g-SO₃H fiber and 732 resin

材 料	PVF-g-SO ₃ H 纤维		732 号树脂	
	lys	his	lys	his
吸附率/ %	96.2	94.3	92.3	92.8
洗脱率/ %	86.2	86.1	72.8	73.6
洗脱峰时间/ h	0.5	1.9	0.5	1.5

图 1 分别为 PVF-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂对单组分氨基酸的洗脱曲线. 从这 2 组曲线可以看出, 无论是对赖氨酸还是对组氨酸, 以 PVF-g-SO₃H 纤维为分离材料时, 洗脱峰既高又尖锐, 洗脱峰值时间赖氨酸为 0.5 h (30 mL), 组氨酸为 1.9 h (114 mL), 而以 732 号树脂为分离材料时, 洗脱峰较低而矮, 洗脱峰值时间赖氨酸为 0.5 h (30 mL), 组氨酸为 1.5 h (90 mL).

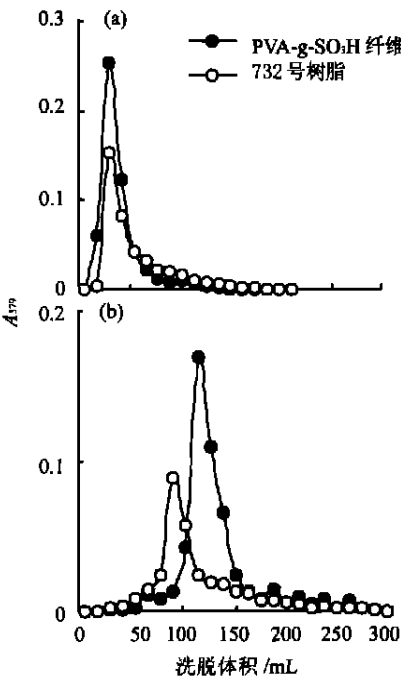


图 1 赖氨酸 (a) 和组氨酸 (b) 在 PVA-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂上的洗脱曲线

Fig. 1 The elution curves of lysine (a) and histidine (b) over PVA-g-SO₃H fiber and No. 732 resin

分离条件: 上柱量 1 mg; 柱高 20 cm;
洗脱液为柠檬酸-柠檬酸钠;
pH 4.6; 洗脱速度 1 mL/min

2.2 纤维和树脂对双组分氨基酸的分离性能

图 2 比较了 PVF-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂在同样条件下对赖氨酸-组氨酸混合溶液的分离结果, 可以看到, 纤维分离混合氨基酸时两种氨基酸的洗脱峰既强而且基本完全分开, 而树脂的分离效果明显较差, 其洗脱峰既低而且两个峰有明显的重叠.

PVF-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂具有相同的官能团-SO₃H, 但 PVF-g-SO₃H 纤维直径小 (约 20 μm) 且比较均匀, 比表面积较大, 732 号树脂的直径较大 (约 30~80 μm) 且分布较纤维宽, 从而 PVF-g-SO₃H 纤维分离氨基酸时吸附和脱附速度都较快^[7], 洗脱峰比 732 号树脂的洗脱峰更尖锐, 对氨基酸的分离效率提高.

2.3 纤维和树脂的再生性能比较

2 种材料的再生实验结果列于表 2, 可以看出, 再生后纤维和树脂的总提取率都有微小的下降, 再生纤维的提取率仍高于 732 号树脂 10% 以上. 纤维再生后提取率下降的原因是由于纤维

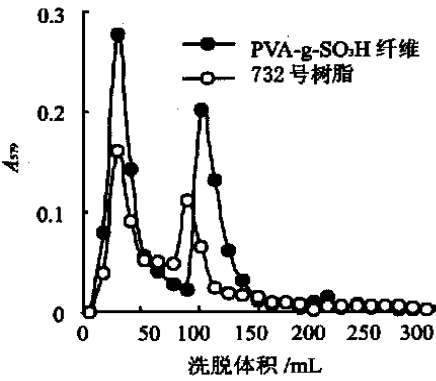


图 2 赖氨酸-组氨酸混合物在 PVA-g-SO₃H 纤维和 732 号树脂上的洗脱曲线

Fig 2 The elution curves of lysine/histidine over PVA-g-SO₃H fiber and No. 732 resin

分离条件：上柱量 1 mg；柱高 20 cm；
洗脱液为柠檬酸-柠檬酸钠；
pH 4.6；洗脱速度 1 mL/min

上的官能团是以侧链的形式连接在纤维上的，它的机械强度较小，在洗脱过程中容易发生断裂，因此如何提高纤维的机械强度是下一步需要解决的问题。

表 2 PVF-SO₃H 纤维和 732 号树脂对赖氨酸-组氨酸混合溶液的再生吸附性能比较

Tab 2 The comparison of regeneration property of PVF-g-SO₃H fiber and No. 732 resin for the separation of lysine and histidine

材 料 使用次数	PVF-g-SO ₃ H 纤维		732 号树脂	
	1	2	1	2
总吸附量 ¹⁾	1 855.65	1 849.94	1 831.93	1 831.93
总洗脱量 ¹⁾	1 648.19	1 621.98	1 374.38	1 360.16
总洗脱率/%	88.82	81.10	75.02	74.24
总提取率/%	82.41	81.10	68.72	68.01

1) 总吸附量和总洗脱量的单位为 μg·g⁻¹

2.4 PVF-g-SO₃H 纤维对混合氨基酸分离条件的研究

至今为止，732 号树脂仍是用于工业上分离氨基酸的主要材料之一。但是，以上的研究结果表明，PVF-g-SO₃H 用于分离氨基酸显然比于 732 号树脂更优越。为优化分离工艺，本工作进一步对 PVF-g-SO₃H 纤维分离混合氨基酸的工艺条件进行研究。

2.4.1 洗脱液 pH 值的影响 采用不同 pH 值的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液洗脱，研究 pH 值对

PVF-g-SO₃H 纤维分离混合氨基酸效果的影响，结果如图 3 所示，可见，随洗脱液 pH 值的增大，2 个分离峰逐渐靠拢，并变得尖锐。

对化合物的分离效果的好坏通常可用分辨率 R_r 来表示。R_r 可用下式计算^[13]：

$$R_r = \frac{V_a - V_b}{\sigma_a - \sigma_b} \tag{1}$$

V 为洗脱体积，σ 可用 (2) 式计算^[7]：

$$\sigma = W_{0.5} / (8 \ln 2)^{1/2} \tag{2}$$

W_{0.5} 表示在峰高一半处峰的宽度。

根据洗脱曲线求出 pH 值 4.0、4.6、5.0 洗脱时 PVF-g-SO₃H 纤维对赖氨酸-组氨酸混合氨基酸的分离分辨率分别为 2.93、2.21、2.16。可见在实验范围内 pH 增大分辨率减小，不利于赖氨酸-组氨酸的分离。

根据吸附量和洗脱峰的面积计算得 pH 值 4.0、4.6、5.0 洗脱时所对应的总提取率分别为 77.81%、81.12%、81.51%。综合考虑总提取率和分辨率，洗脱液 pH 值选 4.6 较合适。

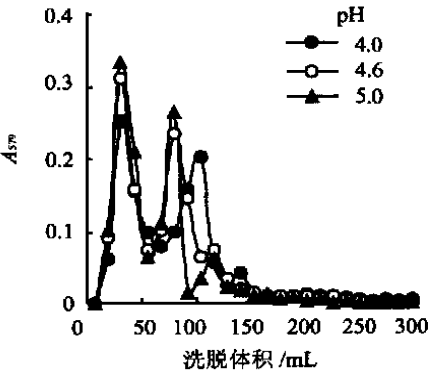


图 3 洗脱液 pH 值对 PVA-g-SO₃H 纤维柱上赖氨酸/组氨酸洗脱曲线的影响

Fig 3 The effect of elution pH on elution curves of lysine/histidine over fiber column

分离条件：上柱量 1 mg；柱高 20 cm；洗脱液为柠檬酸-柠檬酸钠；洗脱速度 1 mL/min

2.4.2 填充柱长径比对分离的影响 图 4 为不同长径 (L/D) 比的 PVF-g-SO₃H 纤维柱分离赖氨酸-组氨酸混合氨基酸的洗脱曲线。从图中看到，随填充柱长径比为 20 和 25 时洗脱曲线的 2 个峰的间距比 15 时增大，但洗脱峰变矮，根据公式 (1) 和 (2) 计算分辨率 R_r，得到长径比为 15、20、25 时 PVF-g-SO₃H 纤维对赖氨酸/组氨酸混合氨基酸的分离分辨率分别为 2.21、3.43、3.29。而且，根据吸附量和洗脱峰的面积计算得柱长径

比 15, 20, 25 时所对应的总提取率分别为 81.12%, 82.41%, 78.41%。可以看出柱长径比选择 20 是较合适的。

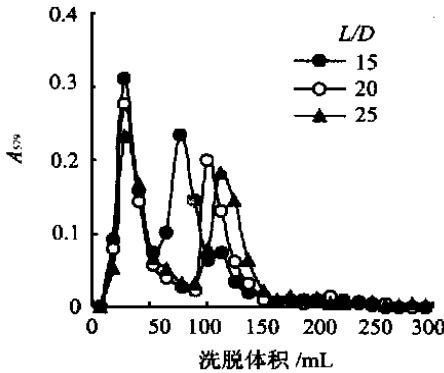


图 4 PVA-g-SO₃H 纤维柱长径比

对赖氨酸/组氨酸洗脱曲线的影响

Fig 4 The effect of fiber column L/D ratio

on elution curves of lysine/ histidine

分离条件: 上柱量 1 mg; 柱高 20 cm;

洗脱液为柠檬酸-柠檬酸钠;

pH 4.6; 洗脱速度 1 mL/min

2.4.3 洗脱液洗脱速率的影响 从图 5 不同洗脱速率条件下 PVF-g-SO₃H 纤维分离赖氨酸-组氨酸混合物的结果看到, 当洗脱速率从 1 mL/min 下降到 0.67 mL/min 时, 洗脱曲线上 2 种氨基酸峰距减小, 半峰宽增大, R_r 从 3.34 下降到 3.00, 对应的总提取率基本一样, 分别为 82.41%和 82.35%。但如果从洗脱曲线的出峰时间来考虑, 洗脱速率为 1 mL/min 时 2 个峰的峰值时间分别为 0.5 h 和 1.7 h, 而洗脱速率为 0.67 mL/min 时 2 个峰的峰值时间分别为 1.05 h 和 2.55 h, 生产效率有所下降。因此采用 1 mL/min 的洗脱速率更合适一些。

3 结 论

PVF-g-SO₃H 纤维对单组份赖氨酸或组氨酸的吸附率比 732 号树脂高约 1.5%~3.9%, 洗脱率约 12.5%~13.4%。纤维分离混合氨基酸时 2 种氨基酸的洗脱峰既强而且分辨率高, 而树脂的洗脱峰既低而且 2 个峰有明显的重叠。再生后纤维和树脂的总提取率都有微小的下降, 但纤维的再生提取率仍高于 732 号树脂 10%以上。洗脱条件对 PVF-g-SO₃H 纤维的分离混合氨基酸的效果有影响, 本实验的最佳条件下为: 洗脱液柠檬酸-柠檬酸钠的 pH 值为 4.6, 填充柱长径比为

20, 洗脱速率为 1 mL/min。

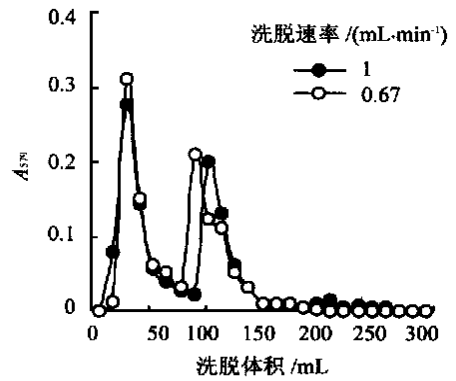


图 5 洗脱速度对 PVA-g-SO₃H 纤维

柱上赖氨酸/组氨酸洗脱曲线的影响

Fig 5 The effect of elution rate on elution curves

of lysine/ histidine over fiber column

分离条件: 上柱量 1 mg; 柱高 20 cm;

洗脱液为柠檬酸-柠檬酸钠;

pH 4.6; 洗脱速度 1 mL/min

参考文献:

- [1] 中山大学生物系生化微生物学教研室编. 生化技术导论[M]. 北京: 人民教育出版社, 1978.
- [2] 赵永芳. 生物化学技术原理及其应用[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 1994.
- [3] 王寿亭, 王补森, 何炳林. AASI 新型吸附树脂对芳香氨基酸的吸附、洗脱性研究[J]. 离子交换与吸附, 1990, 6(2): 81.
- [4] 王寿亭, 王补森, 何炳林. 弱碱阴离子交换树脂对酸性氨基酸分离性能的研究[J]. 离子交换与吸附, 1990, 6(6): 412.
- [5] 潘秋霞, 王春生. 用 732 号型阳离子交换树脂提取碱性氨基酸工艺研究[J]. 氨基酸杂志, 1994, 16(4): 23.
- [6] SOLDATOV V S, SHUNKEVICH A A, SERGEEV G I. Synthesis, structure and properties of new fibrous ion-exchangers[J]. Reactive Polymers, 1988(7): 159.
- [7] LIN W, PHISIEH Y L. Kinetics of metal ion adsorption on ion-exchange and chelating fibers[J]. Ind Eng Chem Res, 1996, 35: 3817.
- [8] 周绍箕. 离子交换纤维的性能和应用[J]. 离子交换与吸附, 1987(5): 51.
- [9] ZENG H M, LU Y, FU R W, et al. Advanced comaterials — functional fibers[A]. In: SOMIYA S, et al eds. Proceedings of IUMRS-ICAM-93[C]. Elsevier Science Publisher, 1993.
- [10] MENZELINTSEVA N V, ZHELTOBRYUKHOV V F. Ion-exchange fiber sorbents for purification of air-gas mixtures

[J] . Izv Vyssh Uchebn Zaved, Tekhnol Tekst Prom-sti, 1997(4) : 63.

[11] POLOVIKHINA L A, ZVEREV M P. Sorption capacity of VION anion-exchange fibers in an aqueous medium[J] . Khim Volokna, 1995(6): 42.

[12] 符若文,王菲,杜秀英,等.强酸弱碱型两性离子交换纤维的制备 I . 苯乙烯和 4-乙烯基吡啶的接枝共聚[J] .合成纤维工业,2000(4): 4.

[13] KARGER B L, SNYDER L R, HORVATH C. An introduction to separation science[M] . New York: Wiley, 1973. 121.

Studies on the Separation of Basic Amino Acids
by Strong Acidic Ion Exchange Fiber PVF-g-SO₃H

FU Ruo-wen¹, DU Xiu-ying¹, LIN Yuan-sheng², LUO Zhi-qiao², LIN De-hang

(1. Materials Science Institute, Key Laboratory of Polymeric Composite
and Functional Materials of the SEMC, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;
2. Department of Biochemistry, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The adsorption and separation properties of strong acidic ion exchange fiber PVF-g-SO₃H for basic amino acids lysine and histidine were investigated by comparison with general used No. 732 resin. The experimental results showed that not only the adsorption rates of PVF-g-SO₃H fiber are 1.5% ~3.9% higher, but also its elution rates are 12.5% ~13.4% higher than No. 732 resin for single component lysine or histidine. Moreover, the strength of elution peak and resolution of lysine/histidine mixture over PVF-g-SO₃H fiber column were obvious higher than that over No. 732 resin. Although the total extraction rates of both fiber and resin are slightly decreased after regeneration, the former still keeps over 10% higher elution rates than the latter. In this study, the optimum elution conditions were as follows: citric acid-triple sodium citric acid buffer with pH 4.6, length/diameter ratio of column 20 cm, elution rate 1 mL/min.

Keywords: strong acidic ion exchange fiber; basic amino acids; separation

·简 讯·

本刊加入“万方数据——数字化期刊群”

为了实现科技期刊编辑、出版发行工作的电子化,推进科技信息交流的网络化进程,本刊已入网“万方数据——数字化期刊群”,所以,向本刊投稿并录用的稿件文章,将一律由编辑部统一纳入“万方数据——数字化期刊群”,进入因特网提供信息服务.凡有不同意见者,来稿时请声明,本刊将另作处理.本刊所付稿酬包含刊物内容上网服务报酬,不再另付.

“万方数据——数字化期刊群”是国家“九五”重点科技攻关项目.本刊全文内容按照统一格式制作,读者可上网查询浏览本刊内容,并征订本刊.

(本刊编辑部)