

精氨酸精制重结晶过程控制与优化

黄卫清¹, 钟嘉敏¹, 钱宇²

(1. 东莞理工学院 化学与环境工程学院, 广东 东莞 523808;

2. 华南理工大学 化学与化工学院, 广东 广州 510641)

摘要:研究了 *L*-精氨酸在无外加影响因素的条件下, 结晶温度、结晶时间、搅拌速度及降温速度对 *L*-精氨酸重结晶的影响。研究表明, 在相同的条件下, *L*-精氨酸的结晶温度控制在 60℃, 结晶率可达 88% 以上; 慢速搅拌有助于晶体的生成; 采用在高温时快速冷却, 待降至一定温度后, 再慢速冷却降温, 可以保证 *L*-精氨酸结晶体的颗粒度较为均匀; *L*-精氨酸的结晶时间在 5 h 附近为宜。通过重结晶过程的控制和优化可以有效改善精氨酸的产品品质, 进一步缩小与国际先进水平的产品品质差距。

关键词: *L*-精氨酸; 重结晶; 结晶率

中图分类号: TQ028

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2014)10-0106-03

Control and optimization of recrystallization process of *L*-arginine

HUANG Wei-qing¹, ZHONG Jia-min¹, QIAN Yu²

(1. School of Chemistry and Environmental Engineering, Dongguan University of Technology,

Dongguang 523808, China; 2. School of Chemistry and Chemical Engineering,

South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: *L*-arginine production in China still lack of competitiveness compared to advanced country. In this study, some influencing factors on the recrystallization of *L*-arginine, such as the crystallization temperature/time, stirring speed and different cooling ways in the solution of *L*-arginine system are investigated. The rate of crystallization can be up to over 88% when the stirring speed and crystallization time are constant and the crystallization temperature keep at 60℃. The slow stirring speed will benefit the formation of *L*-arginine crystals. Moreover, most of *L*-arginine crystals can be provided with a certain grain size, when the solution at high temperature is rapidly quenched to a certain extent, then cooled slowly. The result shows that the proper crystallization time is about 5 hours. The purification can be improved by process control on the recrystallization of *L*-arginine, which is helpful to improve the product quality and its competitiveness.

Key words: *L*-arginine; recrystallization; crystallization rate

L-精氨酸(*L*-arginine)是一种碱性氨基酸^[1], 是合成蛋白质的重要原料, 是人体和动物体中的半必需氨基酸^[2], 在医药、食品、保健品以及化妆品工业上具有广泛用途。*L*-精氨酸具有重要的生理生化意义^[3], 如 *L*-精氨酸是生物体尿素循环的重要中间代谢产物, 是肌体合成细胞浆蛋白和核蛋白的重要物质。*L*-精氨酸也是合成神经组织中胍基丁酸的前体物质, 临床上复方氨基酸输液的主要组成成分之一, 也被广泛用于病毒性肝炎的治疗。目前, 发酵法生产精氨酸占主导地位。国际上, 日本、德国在氨基酸产量、品种和技术水平上居世界领先地位。最近, Ikeda 等^[4]以 3 株谷氨酸棒杆菌突变株为出发菌株进行基因重组, 获得高产精氨酸菌株。国内研究仍然大多采用传统选育的方法, 研究的重点也基本放在传统的诱变育种上, 通过不同抗性突变株的筛选, 提高精氨酸的产量^[5-7]。在我国, *L*-

精氨酸的生产成本高, 无法与国外同类产品相比, 市场上的 *L*-精氨酸基本依赖进口^[8-9]。*L*-精氨酸开发成功和分离提纯技术提高将会进一步完善我国氨基酸品种结构, 拓宽氨基酸在国内外市场的份额。

结晶是纯化物质的有效手段, 在工业结晶中, 生物产品的多晶型现象也必须给予足够的重视, 因为许多情况下, 只有特定的晶体形态才具有药理作用^[10-11]。目前国产 *L*-精氨酸产品要提高药用级精氨酸的产品质量, 主要存在的问题是: 有些产品有色泽泛黄, 不够白, 脱色效果不好, 纯度也不够高; 结晶均一性有待提高, 各批产品结晶晶型不均匀; 晶体存放时容易结块。针对以上问题, 笔者主要研究了 *L*-精氨酸在无外加影响因素的条件下, 结晶温度、结晶时间、搅拌速度及降温速度对 *L*-精氨酸重结晶的影响。并通过重结晶过程的控制和优化有效改善精氨酸的产品品质。

收稿日期: 2014-05-25

基金项目: 广东省绿色化学产品技术重点实验室开放基金项目(GC201204)

作者简介: 黄卫清(1983-), 男, 博士, 讲师, 主要从事化工系统工程和产品工程研究, huangwq@dgut.edu.cn。

1 实验部分

1.1 主要试剂与仪器

饲料级粗 *L*-精氨酸(无锡一诺化工产品有限公司生产)。电子天平;HH-1 型电动搅拌器;SH60-S 型恒温水浴锅;电热恒温鼓风干燥箱。

1.2 实验方法

1.2.1 单因素影响实验

固定其他实验条件不变,先后改变 *L*-精氨酸的结晶温度、结晶时间、搅拌强度和降温方式,进行单一因素试验研究。

1.2.2 正交试验

在完成单因素实验的基础上设定正交实验,选取改变的因素分别为 *L*-精氨酸的结晶温度、结晶时间、搅拌强度和降温方式,且每个因素选取较优的 3 个水平值,做四因素三水平正交试验。

2 结果与讨论

2.1 单因素实验分析

2.1.1 结晶温度对 *L*-精氨酸结晶的影响

在众多影响晶体生长速率的因素中,温度是重要的影响变量,晶体的形成与生长都会出现在降温的时候。根据溶解度与温度的关系,在一定的温度条件下,当溶液处于过饱和状态时,结晶相将会从溶液中析出,形成结晶核。对结晶温度进行单因素小组实验,温度对 *L*-精氨酸结晶率的影响如表 1 所示。

表 1 不同温度下 *L*-精氨酸的结晶率

结晶温度/°C	40.0	50.0	55.0	60.0	65.0	70.0	80.0
结晶率(1)/%	73.2	76.6	86.1	88.3	84.8	80.8	76.5
结晶率(2)/%	74.1	76.2	87.0	87.6	83.6	81.7	76.2
结晶率(3)/%	74.4	76.1	86.4	88.0	85.4	82.3	75.3
结晶率(平均值)/%	73.9	76.3	86.5	88.0	84.6	81.6	76.0

由表 1 可知,随着温度的升高,*L*-精氨酸的结晶率随之升高,在 60°C 达到最大值;60°C 以后,随着温度升高,*L*-精氨酸的结晶率随之下降,故 *L*-精氨酸的最佳结晶温度为 60°C。

2.1.2 结晶时间对 *L*-精氨酸结晶的影响

结晶时间过短,较易形成固液平衡的状态,这样形成的晶粒会较小;结晶时间足够长对晶粒的持续形成有促进作用,但结晶时间过度延长,会使已析出的 *L*-精氨酸晶体容易结成块状晶簇,同时也会增大能耗。对结晶时间进行单因素小组实验,结果如

表 2 所示。

表 2 不同结晶温度和结晶时间下的结晶率

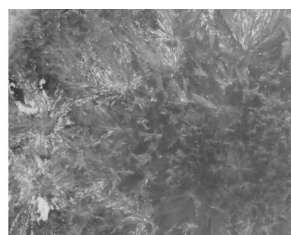
结晶时间/h	1	2	3	4	5	6	12
55°C 结晶率/%	52.3	64.5	79.1	84.7	86.5	86.6	86.7
60°C 结晶率/%	49.6	66.7	80.5	86.56	88.09	88.12	88.17
65°C 结晶率/%	46.55	62.8	76.34	83.01	84.56	84.63	85.01

由表 2 可知,*L*-精氨酸的结晶率随着结晶时间的延长而增大,当结晶时间超过 5 h,*L*-精氨酸的结晶率上升得很慢,且 60°C 的结晶率几乎都高于同时期的其他结晶温度的结晶率。

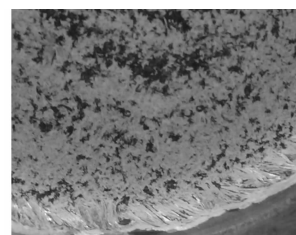
2.1.3 降温方式对 *L*-精氨酸结晶的影响

当其他条件固定不变时,溶液的降温速率会对形成的晶粒大小有所影响,因而在实验过程中必须选择合适的降温速度,从而达到形成的晶体具有均一粒度大小的效果。

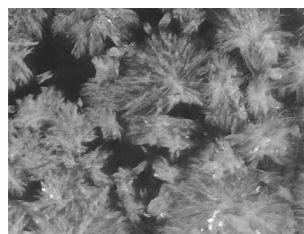
采取自然冷却降温至恒温结晶温度以及快冷却降温至恒温结晶温度 2 种降温方式。实验所得结果如图 2 所示。从析出晶体形状可看出,自然冷却至 60°C 恒温结晶得到的晶体粒度较大;而快速冷却至 60°C 恒温结晶而得到的大部分是较小的晶粒,也存在少许较大的颗粒,大小不一;而采用在高温时先快速冷却至一定温度后再慢速冷却至恒定温度进行恒温结晶的方法得到的晶体粒度较为均匀,得到的产品也能明显看出是 *L*-精氨酸原本应有的斜方晶型。故为保证得到的 *L*-精氨酸晶体多数为具有一定粒度的颗粒,应选择在高温时快速冷却,待降至一定温度后,选择慢速冷却方法。



(a) 自然冷却至 60°C 结晶



(b) 快速冷却结晶至 60°C 结晶



(c) 先快速冷却至 70°C 再自然冷却至 60°C 结晶

图 2 冷却结晶方式对精氨酸晶型的影响

2.1.4 搅拌强度对 *L*-精氨酸结晶的影响

在晶核开始生成的过程中对溶液进行一定的搅拌,起到促进晶核快速形成。实验中发现,搅拌强度过大时虽不会改变晶体的形状,但是会对一些较早析出的晶体造成一定的磨损,形成破碎的微粒。为了不使聚集体遭到破坏,在晶体大量析出阶段应该停止搅拌,这样也能起到降低耗能的作用。需要注意的是搅拌强度过弱时,析出的晶体容易结成块状的晶簇,这样使部分母液裹藏在晶粒之间,明显降低产品的纯度。

表 3 不同搅拌速度下 *L*-精氨酸的结晶率

搅拌强度	无搅拌	慢速	中速	快速
结晶率(1)/%	88.13	87.9	87.9	87.5
结晶率(2)/%	88	88.2	87.73	87.7
结晶率(3)/%	87.9	88.29	88.01	87.66
结晶率(平均值)/%	88.01	88.13	87.88	87.62

由表 3 可发现,慢速搅拌得到 *L*-精氨酸的结晶率比无搅拌时的略高,说明对溶液进行一定搅拌有助于 *L*-精氨酸晶体的形成。当搅拌强度较大时,结晶率反而下降,而快速搅拌和中速搅拌所得到的结晶率均低于无搅拌时。故在第一阶段(100 ~ 70℃)采用慢速搅拌,并快速降温;而第二阶段(70 ~ 60℃)停止搅拌,并缓慢降温至 60℃。

2.2 正交试验

在单因素试验基础上,选取 4 因素(结晶温度、结晶时间、搅拌速度、降温方式)进行正交试验,各因素均取 3 水平。对 *L*-精氨酸重结晶影响因素进行多组实验研究所得的结晶率进行极差(Range)分析,结果显示,影响 *L*-精氨酸的结晶率的因素主次顺序为:结晶温度 > 结晶时间 > 搅拌速度 > 降温方式。即对 *L*-精氨酸结晶率影响最大的因素是结晶温度和结晶时间,而搅拌强度的影响力次之,降温方式对 *L*-精氨酸的结晶率造成的影响最低。由试验结果可知,*L*-精氨酸重结晶的最优组合因素控制条件为:选择最终恒温结晶的温度为 60℃,选取结晶

时间为 5 h,控制在晶体形成的初始阶段对溶液进行慢速搅拌,降温方式则选用先快速降温至 70℃,再缓慢冷却降温至 60℃ 进行恒温结晶。

3 结语

通过改变结晶温度、结晶时间、搅拌速度和降温方式对 *L*-精氨酸重结晶的影响规律进行研究,并对重结晶过程进行控制和优化可以有效改善精氨酸的产品品质,进一步缩小与国际先进水平的产品品质差距,提高国际竞争力。

参考文献

- [1] Ikeda M. Amino acid production processes[J]. Adv Biochem Eng Biotechnol, 2003, (79): 1-35.
- [2] Adrian Barbul. 精氨酸:生物化学、生理学及治疗学意义[J]. 氨基酸杂志, 1987, (2): 39-43.
- [3] Takashi Utagawa. Production of arginine by fermentation[J]. The Journal of Nutrition, 2004, 134: 2854S-2857S.
- [4] Ikeda M, Mitsuhashi S, Tanaka K, et al. Reengineering of a corynebacterium glutamicum *L*-arginine and *L*-citrulline produce[J]. Appl Environ Microbiol, 2009, 75(6): 1635-1641.
- [5] 饶志明, 徐美娟, 陆元修, 等. 钝齿棒杆菌精氨酸琥珀酸酶编码基因 *argH* 的克隆表达及其重组菌发酵产精氨酸研究[J]. 中国生物工程杂志, 2010, 30(9): 49-55.
- [6] Xu M J, Rao Z M, Dou W F, et al. Site-directed mutagenesis studies on the *L*-arginine-binding sites of feedback in *N*-acetyl *L*-*L*-glutamate kinase (NAGK) from *Corynebacterium glutamicum*[J]. Curr Microbiol, 2012, 64(2): 164-172.
- [7] Dou W F, Xu M J, Cai D M, et al. Improvement of *L*-arginine production by overexpression of a bifunctional ornithine acetyltransferase in *Corynebacterium crenatum*[J]. Appl Biochem Biotech, 2011, 165(3/4): 845-855.
- [8] 伊廷存, 袁建国, 李峰, 等. 精氨酸产生菌的代谢机制及选育进展[J]. 食品与药品, 2010, 12(3): 202-205.
- [9] 于向鹏, 刘静, 刘洁, 等. *L*-精氨酸合成及高产菌选育与发酵研究进展[J]. 微生物学杂志, 2012, 32(1): 70-74.
- [10] 张金龙, 王静康, 尹秋响. 氨基酸的提取与精制[J]. 化学工业与工程, 2004, 21(2): 101-106.
- [11] Black S N, Davey R J. Crystallization of amino acids[J]. Journal of Crystal Growth, 1988, 90: 136-144. ■

日本旭化成导电弹性聚氨酯推进可穿戴技术

据东京报道,日本旭化成株式会社利用聚氨酯发明出一种可拉伸并拥有像人体皮肤一样弹性的电线。旭化成称该发明能彻底改变看护以及仿人机器人皮肤。

公司还表示研究发现人体皮肤能以 1.5 的系数拉伸。“如果我们能制造出同样拉伸系数的电缆,就能用于可穿戴电子产品或是为仿人机器人皮肤接线。”旭化成纤维部经理

Shunji Tatsumi 如是说。

公司称被这种名为 Roica 的聚氨酯弹性纤维拥有“超强的回复特性”。

Asahi Kasei 称该发明代号 Robo Power。人们期望机器能像人类一样自由活动,例如,希望吸尘器在远离电源的地方也能活动。正是源于这种需求,才刺激了这项发明。(张力)