

树脂吸附法从发酵液中提取红霉素的工艺分析

蔡黎明 努尔买买提·库达巴尔地 袁彬青 (伊犁川宁生物技术有限公司, 新疆 伊犁 835000)

摘要: 本文选用红霉素发酵液作为原材料, 探究并完善了不同单元操作的工艺条件和现实成效。具体是用无机陶瓷膜对发酵液进行预处理, 树脂吸附技术对滤液内的有效成分进行浓缩、富集化处理, 结晶后获得的红霉素硫氰酸盐纯度和原始工艺相比提升了 2.32%。

关键词: 红霉素; 发酵液; 膜过滤工艺; 树脂吸附

0 引言

红霉素是基于红霉素链霉菌生成的一种广谱抗生素, 早在上个世纪中叶就被成功分离。本品药物的作用机制是通过和细菌的数十个核糖体亚单位相整合, 进而对细菌蛋白质的合成过程形成抑制作用。在工业生产实践中, 基本上是利用微生物发酵形式分离、提取得到红霉素原料。溶媒方法萃取是工业提取红霉素的传统方法, 多采用乙酸丁酯作为有机溶媒, 最后获得的产品质量欠佳, 通常需要历经丙酮重结晶过程后获得达标产品。

树脂吸附技术方法在选择性、溶剂耗用量、再生处理过程便捷性等方面占据优势, 是其在红霉素提取领域广泛应用的主要原因^[1]。而膜分离技术应用阶段能耗低、分离高效、产品品质优良、对环境污染较小等, 有将常规絮凝法、离心法取代的趋势, 是提取发酵液产物的有效方法之一。本文将红霉素发酵液作为研究对象, 把提升过程收率与产品品质为目标, 配合使用膜过滤与树脂吸附技术处理滤液。

1 材料和方法

1.1 材料

选用大孔吸附树脂 (HZ816), 颗粒直径、比表面积、孔径分别是 0.55mm、850m²/g、15mm。

陶瓷管式膜分离装置 (孔径 50mm), 光度计 (752 型), 玻璃层析柱 (∅ 2.6cm × 40cm); 恒流泵 (RT00-300T), 振荡器 (DHZ-DA)。

1.2 分析方法

硫酸显色法、考马斯亮蓝法分别检测红霉素效价、可溶性蛋白。色度检测方法: 取适量颜色相对较深的试样并进行稀释处理, 采用光度计在 480nm 波长下检测出其吸光度值, 利用去离子水作为空白对照。

1.3 实验操作方法

先采用膜过滤技术对中性红霉素发酵液进行预处理, 将其内的杂质颗粒与局部菌体去除, 确保其和树脂吸附操作条件相吻合, 而后利用大孔吸附树脂对滤液进行吸附处理 (该过程需要配合使用床层体积是 165mL 的固定床)^[2]。吸附操作结束后, 利用硼砂-NaOH 缓冲液 (pH=10.0) 洗涤树脂, 而后在现有工艺基础上, 选用乙酸丁酯作为洗脱剂, 洗下柱内红霉素, 并使其结晶成硫氰酸盐。

2 统计与分析结果

2.1 膜过滤试验

通过 5 组实验过程统计分析了膜过滤阶段中色素与蛋白质各自的去除率, 测算出红霉素收率。利用孔径 50nm 无机陶瓷膜过滤红霉素发酵液, 脱色率、脱蛋白率均值分

别是 54.2%、67.6%, 红霉素平均收率达到了 92.6%。通过观察后确认滤液是深红色的透明状液体, 其内没有残留任何固体颗粒, 较好的符合了大孔树脂的吸附条件要求。

2.2 采用树脂吸附法由滤液内提取红霉素

2.2.1 确定最佳吸附 pH 值

经膜过滤处理后, 红霉素发酵液的 pH 值没有出现明显改变, 依然是 7.0, 将该种滤液不经处理、直接进柱, 对其进行吸附与洗脱处理后, 探查存在着洗脱率较低的问题。鉴于以上情况, 决定利用间歇对比实验区考量红霉素滤液差异化 pH 值下树脂对红霉素产生的吸附量及乙酸丁酯洗脱情况形成的影响^[3]。

具体操作时依次在 420mL pH 在 6.2~9.4 范围、红霉素效价达 2635u/mL 滤液内依次添加预处理质量达标的 4.0g 树脂, 在 20℃ 条件持续摇床振动 24h, 而后检测出树脂对红霉素的吸附量。针对吸附工序整体结束后留下的树脂, 对其进行抽滤处理后, 将其放进 2000mL 乙酸丁酯溶液内进行解吸处理, 恒温条件 (20℃) 下持续震荡 2h, 用于检测乙酸丁酯对红霉素的作用情况, 利用洗脱率去反应。统计发现当 pH 值是 6.2、7.8、9.4 时, 大孔树脂的吸附量依次是 7.61×10^4 u/g、 8.56×10^4 u/g、 1.11×10^5 u/g; 乙酸丁酯的洗脱率是 53.4%、69.1%、99.8%。

通过分析以上统计到的数据, 不难发现伴随滤液 pH 值的上升, 不论是树脂对红霉素的吸附量, 还是乙酸丁酯的洗脱率均表现出不断升高的趋势^[4]。对以上现象的成因进行分析, 主要是因为这种红霉素是弱碱性物质, 伴随溶液碱性增加过程, 红霉素的解离程度有不断增加趋势, 此时溶液内的游离碱数目也同步增多, 参照相似相容机理, 非极性大孔树脂上红霉素的吸附量增多, 低极性洗脱剂内其溶解率提高。因树脂上红霉素的吸附过程表现出非平衡性的特征, 伴随吸附时间的延长, 碱性过大的溶液可能会对红霉素自身的稳定性形成负作用。鉴于以上情况, 后期实验阶段建议把上柱液 pH 值设定在 9.4 左右。

2.2.2 固定床的吸附情况

利用 1mmol/L NaOH 溶液将红霉素溶液 pH 值调节至 9.4 以后, 利用每小时 2 倍床层体积 (2BV/h) 流动速度执行固定床的吸附过程, 观测吸附处理前后红霉素溶液性质的改变情况。吸附前后滤液的穿透效价、过柱体积不变, 分别是 400u/mL、2755mL; 吸附前滤液的 pH、色度、蛋白质浓度、红霉素自身效价分别是 9.3、0.682、316μg/mL、4670u/mL; 吸附后过柱液以上四项指标对应值分别是 8.1、0.812、257μg/mL、97u/mL。

通过分析以上数据, 树脂对红霉素的吸附量达到了

$1.25 \times 10^7 \text{ u}$, 在饱和吸附量中占比 66.3%, 损失 $2.6 \times 10^5 \text{ u}$, 损失率 2.11%。滤液内 73.4% 色素、13.6% 蛋白质随同红霉素被吸附至树脂上, 和蛋白质相比较, 色素被吸附的数量更多, 主要是因色素分子大小和红霉素更相近的缘故。针对过滤后过柱液 pH 值降低的原因, 可能是滤液内很多呈弱碱性的红霉素陆续被吸附到大孔树脂上的原因^[5]。

2.2.3 洗涤杂质

利用硼砂-NaOH 缓冲液进行该项操作。通过观察 pH、红霉素洗涤曲线图, 不难发现伴随流出液 pH 值上升过程, 红霉素浓度不增反降。整个洗涤阶段红霉素的损失率是 1.31%。洗涤 4BV 后, 流出液内色素与蛋白含量均不再出现明显变化, 该过程对大孔树脂内色素和蛋白的去除率依次是 42.3%、88.8%。

2.2.4 洗脱红霉素

针对洗涤过程获得到的树脂, 在常温条件下, 选用乙酸丁酯基于 0.5BV 流速对其进行洗脱处理, 绘制所获得的红霉素洗脱曲线图 (图 3)^[6]。

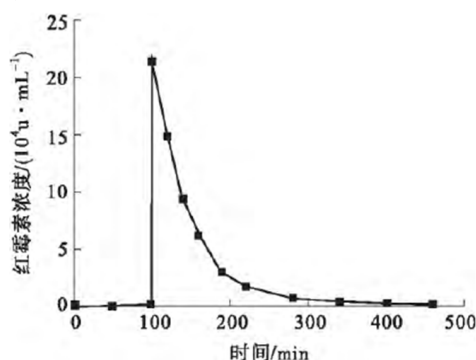


图 1 红霉素洗脱曲线图

从图中不难发现, 酯相洗脱经 2BV 以后便能实现对树脂吸附的红霉素分子的洗脱, 洗脱率达到了 95.86%。到该步骤时, 由滤液提取红霉素过程中, 整个树脂吸附方法的收率达到了 92.7%。洗脱所获得的第 1BV 洗脱液结晶形成盐类物质后, 检测发现红霉素的效价是 805.5u/mg, 相比传统生产工艺生产出的红霉素效价 787.1u/mg, 经测算产品质量提升了 2.32% 左右。

3 结束语

本课题开展阶段以提升色素、蛋白质去除率及红霉素产品的收率为目标, 观察并总结了陶瓷膜对红霉素发酵液的过滤情况。所获得的滤液以上三项指标的均值分别是 54.2%、67.6%、92.6%。将过滤处理所得滤液为研究对象, 利用大孔树脂吸附法提取红霉素并分析, 产品的收率达到了 92.7%, 与传统生产工艺相比较, 获得的产品质量有 2.32% 的提升。希望本文论述的内容, 对红霉素产品工业生产过程能提供一定理论性指导。

参考文献:

- [1] 韦琛鸿, 徐道明, 温兰兰, 等. 树脂吸附法处理低浓度含氟废水 [J]. 安徽化工, 2019(6).
- [2] 孙艳艳, 黄冬冬, 刘建飞, 等. 大孔吸附树脂技术分离纯化中药多糖的研究进展 [J]. 离子交换与吸附, 2020, v.36 (04):91-99.
- [3] 王亚东, 王监宗, 颜秉迅, 等. 树脂吸附法处理 K 酸废水及资源化技术 [J]. 山东化工, 2020(10).
- [4] 陈奇, 张弘, 孙彦琳, 等. 紫胶树脂铵盐为壁材的微胶囊制备及性能研究 [J]. 应用化工, 2019, 48(01):80-85.
- [5] 王佳烨, 王晓丽, 王新婷, 等. 不同提取方法对五味子中木脂素成分提取率的影响 [J]. 北华大学学报 (自然科学版), 2019, 20(4):459-462.
- [6] 杨军, 王自强, 王云山, 等. 大孔树脂吸附法提取羟基钴胺素 [J]. 过程工程学报, 2019(4).

作者简介:

蔡黎明 (1973-), 男, 民族: 汉, 籍贯: 山东莱州市, 学历: 本科, 职称: 工程师, 研究方向: 抗生素及中间体的提取与合成。

努尔买买提·库达巴尔地 (1982-), 男; 民族: 维吾尔族, 籍贯: 新疆伊宁, 学历: 硕士, 职称: 中级工程师, 研究方向: 抗生素药物合成及应用研究。

袁彬青 (1986-), 女, 民族: 汉, 籍贯: 四川, 学历: 硕士, 职称: 中级工程师, 研究方向: 抗生素发酵及应用研究。

(上接第 65 页) 50.1 万元。免污染一体化工具现场应用 15 井次, 工艺成功率达到 100%, 平均单井缩短施工周期 72h, 保护了下部油气层。节约作业费用 90 万元。

应用快速挤堵工艺缩短了作业时间。优化无机堵剂应用 51 井次, 工艺成功率达到 100%, 缩短钻塞时间; 研制应用有机复合堵剂实施挤堵 1 口成功, 缩短施工周期 240h, 节约作业及材料费用 33 万元。

3 认识及结论

快捷填砂挤堵一体化工具有效保护了下部生产层, 并且实现丢手和填砂、冲砂和打捞等多个作业环节的结合, 缩短了施工周期, 起到了保护油层的目的。

桥式分流装置解决了油水井高压低渗层挤堵困难的难题; 胶塞定位技术实现了精确控制和少留塞, 避免了过量顶替造成挤堵失败的问题; 井口胶塞总成实现了不停泵即可实现投胶塞, 避免了挤堵等停造成灌香肠等工程事故;

推广应用前景很好。

4 结束语

通过这两项技术的使用, 是挤堵工艺技术大大所缩短了周期, 节约了费用, 杜绝了事故的发生, 并且具有可操作性强, 工艺技术简捷的特点, 属于一线采油厂实用技术。

参考文献:

- [1] 曲红莲. 多层一次性酸化管柱研究与应用 [J]. 石油矿场机械, 2007, 36(9):105-107.
- [2] 吴波. 内管注水泥固井的研究与应用 [J]. 石油矿场机械, 2007, 36(9):86-88.
- [3] 古光明等. 可洗井可泄流的皮碗式逐层酸化工具 [J]. 石油机械, 2005, 33(2):46-47.

作者简介:

闫惠兰 (1978-) 女, 本科, 工程师, 从事开发生产工作。