



发酵法赖氨酸生产

冯容保 编著
轻工业出版社

发酵法赖氨酸生产

冯容保 编著

轻工业出版社

内 容 简 介

本书系统地介绍了发酵法生产L-赖氨酸的机理、菌种、工艺、设备、分析检验方法及技术经济指标,对于赖氨酸在食品、饲料和医药中的应用以及直接发酵制造赖氨酸浓缩饲料也作了简要的说明。

本书可供从事赖氨酸生产的工人、技术人员阅读,也可供有关科研人员及高等院校师生参考。

发酵法赖氨酸生产

冯容保 编著

轻 工 业 出 版 社 出 版
(北京阜成路3号)

通县长城印刷厂印刷
新华书店北京发行所发行
各地新华书店经售

787×1092 1/32毫米 印张: 6 16/32 字数: 143千字

1986年5月第一版第一次印刷

印数: 1—75000 定价: 1.35元

统一书号: 15042·1935

目 录

第一章 绪论	1
第一节 赖氨酸的发展	1
第二节 赖氨酸的性质	3
第三节 赖氨酸的生产方法	10
第四节 1-赖氨酸的产品规格	16
第二章 发酵法生产1-赖氨酸	17
第一节 1-赖氨酸的生产菌种	17
第二节 赖氨酸的发酵机理	26
第三节 赖氨酸发酵工艺	37
第四节 染菌, 噬菌体与回复变异	61
第五节 醋酸发酵赖氨酸	68
第六节 高糖流加法赖氨酸发酵	73
第七节 赖氨酸的提取与精制	80
第三章 赖氨酸发酵设备	94
第一节 搅拌与通气	94
第二节 发酵设备	103
第三节 发酵仪表自动控制	119
第四章 赖氨酸的酶法合成	125
第一节 酶法转化	125
第二节 酶法分割	135
第三节 化学法分割	138
第五章 赖氨酸生产的分析检验方法	140
第一节 电泳法测定	140

第二节	直接比色法测定·····	142
第三节	酶法测定·····	144
第四节	1-赖氨酸测定方法的比较·····	147
第五节	成品分析·····	149
第六节	中间分析·····	153
第六章	赖氨酸的应用·····	162
第一节	营养食品·····	162
第二节	饲料用赖氨酸·····	167
第三节	医药用赖氨酸·····	173
第七章	技术经济指标与主要设备计算·····	176
第一节	技术经济指标·····	176
第二节	生产设计与主要设备计算·····	178
第八章	直接发酵制造赖氨酸浓缩饲料·····	185
第一节	饲料赖氨酸的制造·····	185
第二节	饲料赖氨酸的组成·····	188
第三节	浓缩赖氨酸饲料的稳定性·····	190
第四节	混合培养新工艺·····	194
第五节	赖氨酸固体浓缩饲料的经济性·····	198
附录	·····	199

第一章 绪 论

第一节 赖氨酸的发展

一、赖氨酸的发现

1889年德莱赛尔(Drechsel)首先用酸水解酪素,经分离谷氨酸后,在不含氯化物的水解液中加入硝酸银,得到碱性物质,其组成为 $C_6H_{13}N_3O_2 \cdot AgNO_3 \cdot HNO_3$,其后被证实为赖氨酸与精氨酸的混合物。1891年弗雪(Fisher)及德莱赛尔分别自干酪素水解液中得到纯的赖氨酸化合物 $C_6H_{14}N_2O_2 \cdot C_2H_5OH \cdot H_2PtCl_6$,而后命名为赖氨酸。此后于1902年弗雪及韦格特(Weigert)确定赖氨酸的化学组成为 $C_6H_{14}N_2O_2$ 。赖氨酸因含有两个氨基和一个羧基,所以是一种碱性氨基酸。

二、赖氨酸的营养价值

赖氨酸是人体必需的八种基本氨基酸(又称必需氨基酸,它们是赖氨酸,苏氨酸,亮氨酸,异亮氨酸,蛋氨酸,缬氨酸,苯丙氨酸及色氨酸)之一。赖氨酸及苏氨酸是动物营养中最主要的氨基酸,因为其他几种氨基酸一般均能为其 α -酮基或羟基的类似物或d-型光学异构体所代替。但赖氨酸在八种氨基酸中是唯一的仅l-型成分才能有效利用的。由于赖氨酸不能在人体中由还原胺化作用或转氨作用来生成,必

须由食物中摄取，因此它是一种最重要的基本氨基酸。

由表 1 可见，在谷类蛋白质中，必需氨基酸的比例不平衡，而赖氨酸的百分比含量最低，故称为第一限制氨基酸。由于谷类蛋白质的氨基酸配比不足，影响蛋白质的有效利用，

表 1 食物中八种必需氨基酸的组成(单位为蛋白质中每克
氮所含氨基酸的毫克数，括号内以人奶为100作比较)

名 称		异亮 氨酸	亮氨酸	赖氨酸	苯丙氨 酸，酪 氨酸	蛋氨酸 胱氨酸	苏氨酸	色氨酸	缬氨酸
人	乳	320 (100)	620 (100)	420 (100)	580 (100)	220 (100)	270 (100)	100 (100)	370 (100)
牛	乳	320 (100)	590 (97)	480 (114)	630 (109)	200 (91)	270 (100)	92 (92)	410 (111)
全	蛋	330 (103)	530 (87)	440 (105)	660 (114)	380 (173)	290 (107)	100 (100)	410 (111)
牛	肉	300 (94)	550 (90)	570 (136)	600 (103)	215 (98)	280 (104)	81 (81)	340 (92)
大	米	280 (88)	520 (85)	210 (50)	670 (116)	270 (123)	220 (81)	80 (80)	370 (100)
玉	米	240 (75)	780 (128)	170 (40)	650 (112)	260 (118)	240 (89)	47 (47)	340 (92)
面	粉	260 (81)	440 (72)	150 (36)	480 (83)	210 (95)	170 (63)	69 (69)	270 (73)

表 2 谷类蛋白质的限制氨基酸

名 称		第一限制氨基酸	第二限制氨基酸	第三限制氨基酸
小	麦	赖 氨 酸	苏 氨 酸	缬 氨 酸
大	麦	赖 氨 酸	苏 氨 酸	蛋 氨 酸
大	米	赖 氨 酸	苏 氨 酸	—
玉	米	赖 氨 酸	色 氨 酸	苏 氨 酸
高	粱	赖 氨 酸	苏 氨 酸	—
燕	麦	赖 氨 酸	苏 氨 酸	蛋 氨 酸

如能补充赖氨酸，就能提高蛋白质的利用率，因而提高其营养价值。谷类蛋白质的限制氨基酸见表 2。

三、赖氨酸生产的发展

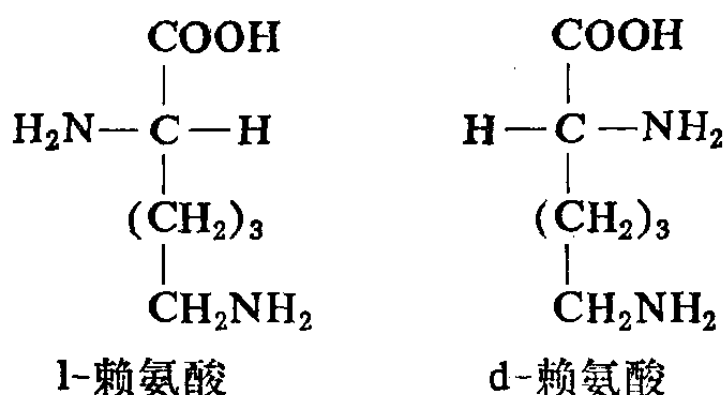
赖氨酸广泛存在于动植物蛋白质中，其含量以干酪素中最高，玉米胶蛋白中最少。过去一般都自血粉中提取赖氨酸（猪血粉中赖氨酸含量约 9~10%）。但采用这种方法，需用酸将蛋白质水解后，再进一步用树脂分离提取，工艺比较复杂，其产量受到了限制，用途不能扩大。自 1960 年日本用营养缺陷型的谷氨酸菌种直接发酵生产赖氨酸以来，产量有大幅度地增加，目前世界上赖氨酸的年产量已达到 20,000~30,000 吨，在氨基酸生产中占第三位，仅次于年产 200,000 吨的谷氨酸与年产 60,000~70,000 吨的 dl-蛋氨酸（合成法生产）。日本的赖氨酸年产量约为 15,000 吨，其他如美国，法国，西德，意大利及巴西等国也有生产。1977 年，日本东丽公司以合成的氨基己内酰氨为原料，用酶法生产 l-赖氨酸已投入生产，赖氨酸被广泛地用于饲料、营养食品、食品强化剂及医药等方面，预计今后赖氨酸的产量还将有更大幅度地提高。

第二节 赖氨酸的性质

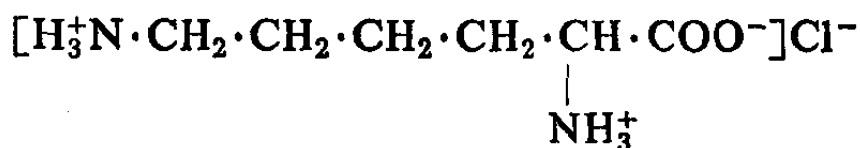
一、理化性质

赖氨酸的化学名称为 2,6-二氨基己酸，或 α, ϵ -二氨基己酸，其化学组成为 $C_6H_{14}O_2N_2$ ，含碳 49.29%，含氢 9.65%，含氧 21.89%，含氮 19.16%，分子量为 146.2。

因具有不对称的 α -碳原子，故有两种光学活性的异构体。



dl-赖氨酸则是等分子 l-型及 d-型的混合物。因游离的赖氨基易吸收空气中的二氧化碳，故制取结晶比较困难。一般商品都以赖氨酸盐酸盐的形式生产。l-赖氨酸盐酸盐的化学式为 $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_2\text{N}_2\text{Cl}$ 或 $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_2\text{N}_2 \cdot \text{HCl}$ ，含氮 15.34%，含氯 19.41%（或含 HCl 19.97%），分子量为 182.65，其结构式可写成



1. 熔点

263°C。

2. 结晶

单斜晶系。

3. 比旋光度

$[\alpha]_D^{20} = +21^\circ$ [C(浓度) = 8 克/100 毫升, 6 NHCl]。

4. 溶解度

在水溶液中的溶解度，0°C 时为 53.6 克/100 毫升，25°C 时为 89 克/100 毫升，50°C 时为 111.5 克/100 毫升，70°C 时为 142.8 克/100 毫升。在酒精中的溶解度为 0.1 克/100

毫升。

5. 水溶液的 pH 值:

5~10%水溶液的 pH 为 5~6 (C=3 克/100 毫升, t=25°C时, pH=5.2)。

6. 溶液中游离赖氨酸的解离常数

在水溶液中:

$$pK_1=2.20(\text{羧基 } -\text{COOH})$$

$$pK_2=8.90(\alpha\text{-氨基 } -\text{NH}_2)$$

$$pK_3=10.28(\epsilon\text{-氨基 } -\text{NH}_2)$$

等电点 $pI=9.49$

在酒精溶液中

$$48\%\text{酒精中: } pK_1=2.75$$

$$pK_2=8.95$$

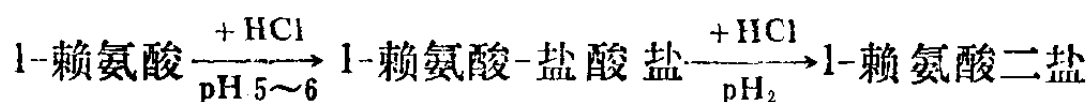
$$pK_3=10.53$$

$$84\%\text{酒精中: } pK_1=3.56$$

$$pK_2=8.95$$

$$pK_3=10.49$$

7. 与酸反应



酸盐。

8. 稳定性

1-赖氨酸结晶在 60°C以下及相对湿度 60%以下稳定, 相对湿度在 60%以上时容易吸水生成 $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 。1~5%的赖氨酸盐酸盐水溶液在 pH 3~11 之间于 120°C加热 30 分钟, 不着色, 也不分解。3.3%浓度的赖氨酸水溶液在 100°C加热 3 小时, 残存率为 97%。在 121°C加热两小时的

结果见表 3。

赖氨酸盐酸盐碱性溶液在还原糖存在的情况下加热则被分解。赖氨酸盐酸盐在加有 0.05 M 葡萄糖水溶液中,在100℃加热两小时的破坏程度见表 4。

表 3 赖氨酸水溶液的热稳定性

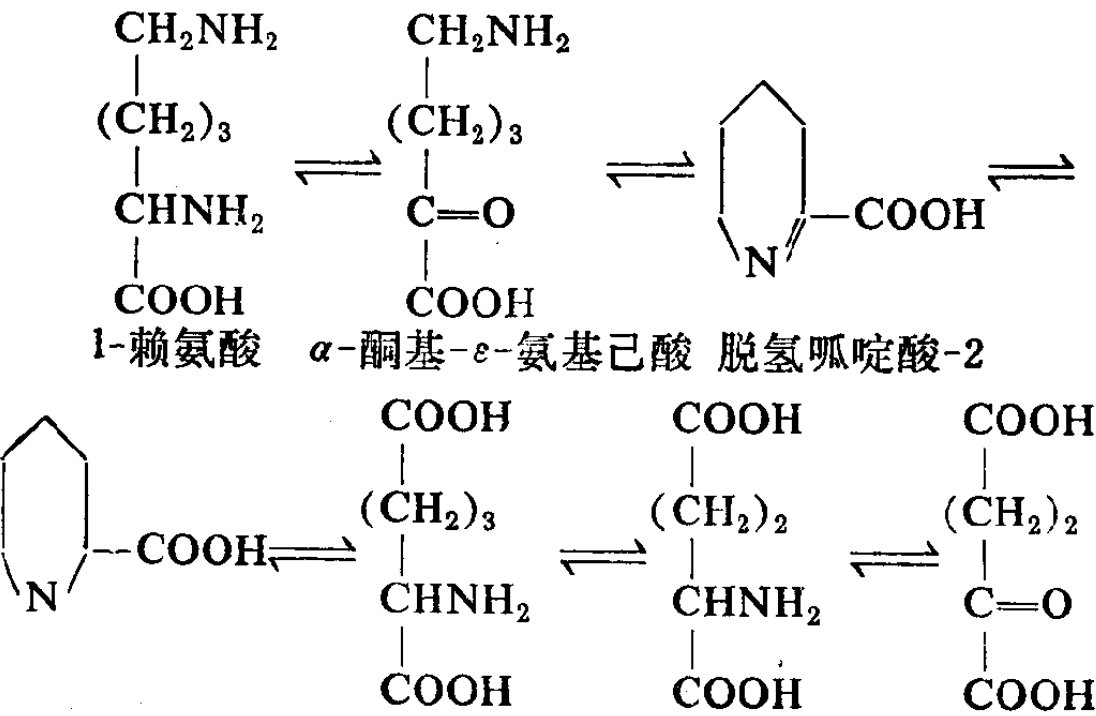
pH	3.1	5.7	6.8	7.7	8.8	10.0	10.9
残存率%	101	100	102	100	99	99	101

表 4 赖氨酸葡萄糖水溶液的热稳定性

pH	3	6	7	9	11
残存率%	98	93	84	70	55

二、生理性能

1. 赖氨酸在人体内的代谢过程



呱啶酸-2 α -氨基己二酸 1-谷氨酸 α -酮戊二酸

2. 安全性

口服半致死量 $LD_{50}=4.0$ 克/公斤

大白鼠口服：雄大白鼠 $LD_{50}=13.45$ 克/公斤体重

雌大白鼠 $LD_{50}=11.68$ 克/公斤体重

大白鼠静脉注射：雄大白鼠 $LD_{50}=4.47$ 克/公斤体重

雌大白鼠 $LD_{50}=3.57$ 克/公斤体重

大白鼠皮下注射：雄大白鼠 $LD_{50}=6.84$ 克/公斤体重

雌大白鼠 $LD_{50}=7.99$ 克/公斤体重

小白鼠口服：雄小白鼠 $LD_{50}=16.76$ 克/公斤体重

雌小白鼠 $LD_{50}=15.67$ 克/公斤体重

而其他必需氨基酸的 LD_{50} 值分别为：

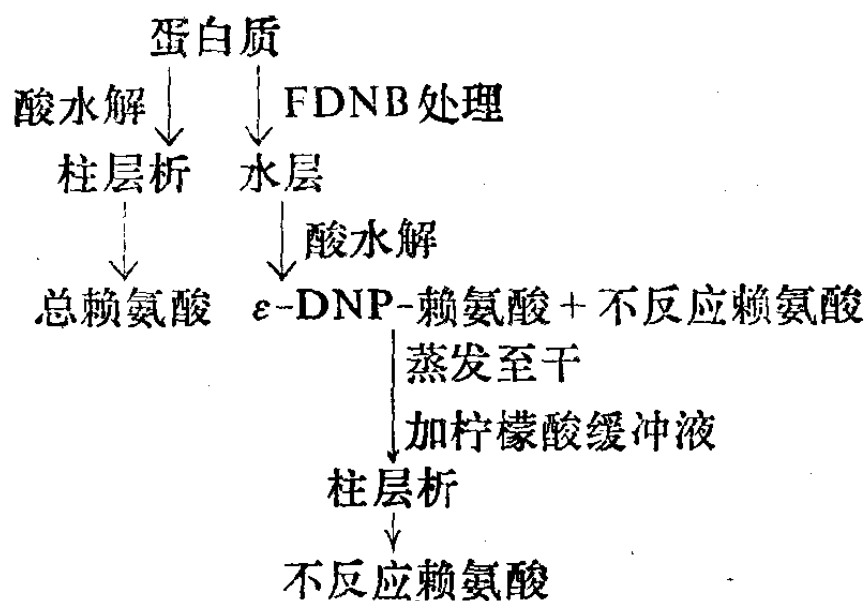
色氨酸 1.6 克/公斤体重 苯丙氨酸 5.3 克/公斤体
重

亮氨酸 5.4 克/公斤体重 异亮氨酸 6.8 克/公斤体
重

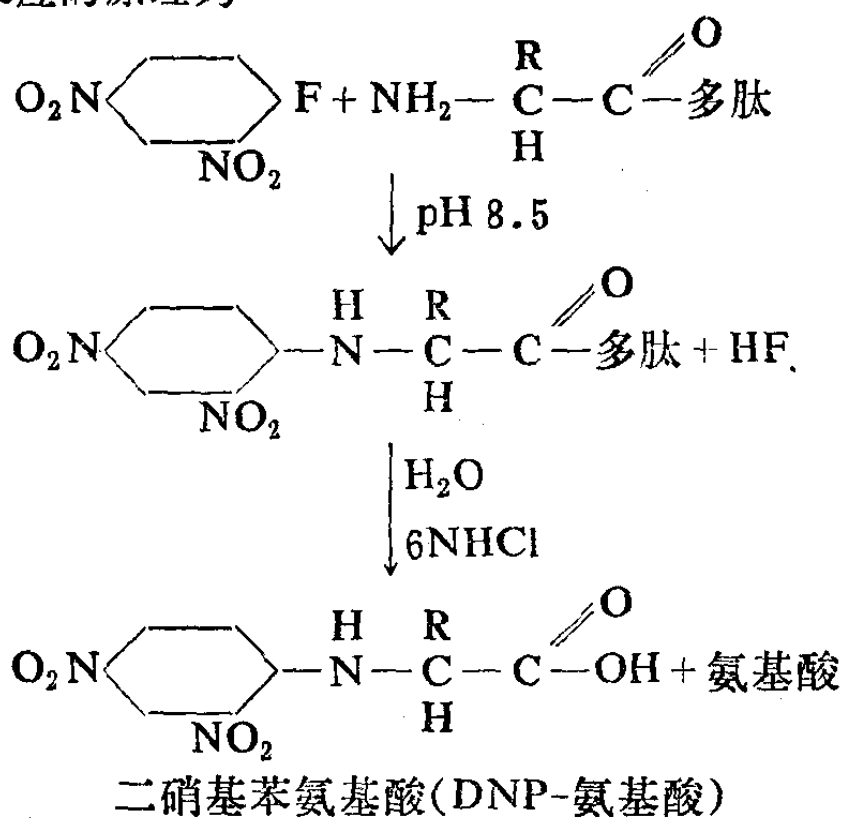
缬氨酸 5.4 克/公斤体重 苏氨酸 3.1 克/公斤体
重
蛋氨酸 4.3 克/公斤体重

三、有效赖氨酸

赖氨酸含有 α -及 ϵ -两个氨基，其 ϵ -氨基必须为游离（非结合）状态时，才能被动物所利用，故具有游离 ϵ -氨基的赖氨酸称为有效氨基酸。因 1-氟-2,4-二硝基苯 (FDNB) 对 ϵ -氨基有特殊的化学反应，故可用作各种蛋白质中有效赖氨酸（即赖氨酸中 ϵ -氨基未与其他物质结合者）的含量的测定。其测定方法如下：



其化学反应的原理为



饲料中有效赖氨酸的含量比例见表 5。

食品或饲料在加工过程中，因受热或热处理后，其有效赖氨酸含量均会减少。如豆饼在 120℃ 加热 2 小时，3 小时，其有效赖氨酸比例由原来的 74% 分别降低至 54% 及 44%。同样，鱼粉经过加热，有效赖氨酸的残存率也随加热时间的延

表 5 饲料中的有效赖氨酸含量

名 称	粗蛋白质(%)	赖氨酸中有效赖氨酸比例(%)
鱼 粉	58.30	72.15
谷 蛋 白	56.93	80.91
豆 饼	41.54	77.98*
棉 子 饼	34.50	63.53
花 生 饼	48.49	98.94
芝 麻 饼	35.39	50.69
亚麻仁饼	33.56	84.72
红 花 饼	17.14	78.77

* 热榨豆饼。

表 6 乳制品中有效赖氨酸的含量

乳 制 品	蛋白质中赖氨酸(%)	有效赖氨酸(%)
全脂乳粉(冷冻干燥)	8.3	8.4
浓缩牛乳(蒸发)	7.6	5.5
乳粉(喷雾干燥)	8.0	8.2
乳粉(低温滚筒干燥)	7.6	5.5
乳粉(中温滚筒干燥)	7.1	4.6
乳粉(高温滚筒干燥)	6.1	1.9

长而减少，经过 20，40，60，80 及 100 分钟，其有效赖氨酸的含量依次为 84%，55%，40%，36% 及 33%。在食品加工过程中，有效赖氨酸含量也因加工条件不同而降低(见表6)。

故食品在加工过程中，要特别注意防止有效赖氨酸受热破坏而影响其使用价值。

第三节 赖氨酸的生产方法

一、提 取 法

即酸水解法。动植物蛋白质中均含有一定量的赖氨酸，而以动物蛋白质的赖氨酸含量较高。生产上，一般自乳酪素或血粉中提取，而以血粉使用得最多。提取法制取的都是1-赖氨酸。

1. 树脂分离法

血蛋白用盐酸水解后，多次加水进行真空浓缩，赶走氯化氢，然后浓缩并滤去不溶解的中性氨基酸(主要为亮氨酸)，再经适当稀释后上离子交换柱分离后进行精制。其流程如下：

蛋白质 $\xrightarrow{\text{HCl}}$ 水解 $\xrightarrow[\text{去HCl}]{+\text{H}_2\text{O}}$ 减压浓缩 $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 稀释 $\rightarrow$
pH 1.8~2.0 $\rightarrow$ 离子交换(RSO_3H) $\rightarrow$ 水洗至组氨酸全部流出 $\rightarrow$ 3 N 氨水洗脱 $\rightarrow$ 离子交换(RSO_3NH_4) $\rightarrow$ 水洗 $\rightarrow$
浓氨水洗脱 $\rightarrow$ 真空浓缩 $\rightarrow$ 脱色 $\xrightarrow{\text{HCl}}$ pH 5~6 $\rightarrow$ 1-赖氨酸盐酸盐。

2. 苦味酸盐沉淀法

血粉用硫酸水解后，加石灰中和，沉淀，去除干扰物质。浓缩后，析出大量中性氨基酸，过滤，滤液中加入一定量的苦味酸，使成1-赖氨酸的苦味酸盐沉淀($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{C}_6\text{H}_3\text{N}_3\text{O}_7$)。因1-赖氨酸苦味酸盐在冷水中的溶解度较低，仅为0.54%，故结晶比较完全。再经盐酸处理，制得1-赖氨酸二盐酸盐。具体流程如下：

干血粉 + 25% 硫酸 → 水解 $\xrightarrow{\text{CaO}}$ 过滤 → 浓缩 → 过滤
(1:3)

→ 滤液浓缩至浆状 → 脱色 → 加热至 80°C $\xrightarrow{\text{加苦味酸}}$ 冷却
5°C, 12 小时结晶 → 分离 → 冷水洗 → 沉淀溶解 → 脱
色 → 热过滤 → 冷却结晶 → 1-赖氨酸苦味酸盐 $\xrightarrow{\text{HCl}}$ 过滤
回收苦味酸 → 浓缩, 结晶 → 1-赖氨酸二盐酸盐。

二、发 酵 法

1. 概述

1957 年日本开始采用野生菌株发酵法生产谷氨酸, 1960 年用谷氨酸棒杆菌的高丝氨酸缺陷型变异菌株发酵生产赖氨酸, 通过代谢途径的控制调节, 能积累大量超过细菌生长所必需的各种氨基酸(见表 7)。一般情况下, 微生物细胞体内游离代谢的中间产物很少, 在体外更不会积累大量的中间代谢产物, 只有当代谢失调时, 才有可能积累。突破微生物本身的调节控制, 可采用营养缺陷型突变菌株, 由于合成途径中某一步发生缺陷, 合成反应不能完成, 或最终产物不能积累到引起反馈的浓度, 从而能积累所需的中间产物。

表 7 细菌生长必需的氨基酸量与发酵产量

产 物	生长必需量(毫克/升)	产量(毫克/升)	对 比
l-谷氨酸	300	60,000	200 倍
l-赖氨酸	250	42,000	170 倍

根据发酵条件的控制不同, 其最终产物也不同, 见表 8。

表 8 发酵条件与产物的生成

控 制 因 子	高丝氨酸或苏氨酸	产 物
生物素过量	过 量 限 量	乳 酸 赖 氨 酸
生物素限量	过 量 限 量	谷 氨 酸 谷氨酸及赖氨酸

表 9 赖氨酸的发酵产率

碳 源	菌 种	产 酸 率 (毫克/毫升)	转化率(%)
葡萄糖	黄色短杆菌(AEC*抗性)	32	32
	谷氨酸棒杆菌(高丝氨酸缺陷型, 亮氨酸缺陷型, AEC 抗性)	39	39
醋 酸	黄色短杆菌(丙氨酸缺陷型, AEC 抗性)	61	—
乙 醇	乳糖发酵杆菌(AEC 抗性)	66	28
石 蜡	诺卡氏菌 No.258	34	34

* AEC 为 S-氨基乙基-1-半胱氨酸, 又称硫赖氨酸, 系赖氨酸的类似物。

2. 直接发酵法

赖氨酸的一步发酵可使用不同菌种, 不同碳源, 其产酸率及转化率见表 9。

其生产流程如下:

斜面菌种——>种子培养——>发酵——>离子交换——>氨水洗脱——>真空浓缩 $\xrightarrow{\text{HCl}}$ pH 5~6——>粗赖氨酸盐酸盐——>重结晶, 脱色——>1-赖氨酸盐酸盐。

3. 两步发酵法