

利用废弃羊毛提取胱氨酸的研究

李闻欣^{1,2}, 魏俊发^{1,*}, 廖 君²

(1. 陕西师范大学材料科学与化学学院, 陕西 西安 710062 2. 陕西科技大学资源与环境学院, 陕西 咸阳 712081)

摘 要: 本实验对废弃羊毛提取胱氨酸的工艺进行研究。研究了预处理、酸解条件、脱色对羊毛胱氨酸提取量的影响, 得出了最佳提取胱氨酸的条件, 即在 pH 值为 10、碱液温度 50℃、烘干温度 80℃ 预处理后的羊毛, 在质量分数 32% 的盐酸、酸毛比 1.8:1、水解温度 120℃ 的条件下水解 8h。经检测, 按所优化工艺提取的胱氨酸符合标准。

关键词: 羊毛; 胱氨酸; 酸水解

Extraction of Cystine from Tannery Waste Wool

LI Wen-xin^{1,2}, WEI Jun-fa^{1,*}, LIAO Jun²

(1. School of Chemistry and Materials Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

2. College of Resources and Environment, Shaanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The technique of extracting cystine from the tannery waste wool was studied. The effects of pretreatment, acid hydrolysis and decoloring on the yield of the wool cystine were studied. The optimum conditions of extracting cystine were confirmed, as follows: the waste wool pretreatment conditions are pH10, alkali solution temperature 50℃ and dry temperature 80℃; the waste wool hydrolysis conditions are hydrochloric acid concentration 32%, acid to hairs ratio 1.8:1, hydrolysis temperature 120℃, and hydrolysis time 8h. The determination results indicated that the product accords with the standard.

Key words: wool; cystine; acid hydrolysis

中图分类号: TS251.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0260-04

胱氨酸是从人发渣和猪、牛、羊、鸡等动物废毛中提取的贵重生化产品, 价格昂贵, 素有“软黄金”之称, L-胱氨酸(L-cystine)是一种很有价值的营养药物, 在医药、食品、化妆品方面得到广泛应用, 需求量不断增加^[1]。

L-胱氨酸又称双巯基丙氨酸, 化学式为: $\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH})-\text{COOH}$, 是天然氨基酸中唯一含双硫键的 α -氨基酸。为白色六角形板状(或片状)晶体或白色粉末、无味、难溶于水, 不溶于乙醇、乙醚、氯仿等有机溶剂, 易溶于无机稀酸和稀碱中, 在热酸热碱溶液中能被分解, 胱氨酸的等电点为 5.05, 旋光度 $\alpha_{\text{D}_{20}} = -198 \sim -219^\circ$, 熔点 258~261℃ (分解)^[2]。

目前, 提取胱氨酸的主要方法有水解法、合成法和发酵法, 由于合成法中部分合成原料不易得、成本高、工艺复杂、产品质量不稳定; 发酵法的菌种产

率低, 含杂酸高, 普遍存在分离困难和收率低等问题。因此最常用的是水解法, 其中酸水解得到的胱氨酸为 L-胱氨酸, 是对人体有用的, 所以, 酸水解提取胱氨酸是目前比较理想的提取方法^[3]。到目前为止, 人发胱氨酸提取率达 6.5% 以上, 猪毛胱氨酸提取率达 5% 以上, 羊毛胱氨酸提取率则很低。目前我国主要是利用人发为原料, 但人发价格较贵, 使 L-胱氨酸生产成本上涨。因而寻找其它原料是解决当前 L-胱氨酸生产的一个重要途径。

本研究采用制革废弃的羊毛为原料, 制革生产过程中采用保毛脱毛法从皮上将羊毛脱下, 只消解毛根和表皮而不损坏毛干, 能回收完整的毛发, 由于这些毛粘过硫化碱而无纺织价值, 是制革厂的废弃物, 通常仅用于制毡或者丢弃, 在自然界中很难被降解, 会造成固体废弃物污染, 还会散发出难闻的气味。因此, 为充分利用废弃羊毛这种可再生的生物质资源, 解决制革废弃羊毛对环境的污染, 在前人对其他毛发提取胱氨

收稿日期: 2007-05-30

*通讯作者

基金项目: 陕西省教育厅自然科学基金项目(06JK333)

作者简介: 李闻欣(1968-), 女, 副教授, 博士研究生, 主要从事制革固体废弃物资源化利用及胶原蛋白复合材料研究。

酸的研究基础上^[4], 研究利用制革废弃羊毛提取胱氨酸。

1 材料与方法

1.1 仪器

85-2型恒温磁力搅拌器 上海司乐仪器厂, PHS-25型数字式 pH 计 上海日岛科学仪器有限公司; VEC-TOR22 型傅立叶红外光谱仪 德国 BRUKER 公司。

盐酸(化学纯)、氨水(分析纯)、硅藻土、活性炭、醋酸钠、EDTA。

1.2 方法

取 20g 废弃羊毛预处理后投入到锥形瓶中并装上回流冷凝管, 加入盐酸, 将该锥形瓶置于由恒温磁力搅拌器加热的甘油油浴中在 118~122℃ 水解, 直至水解完全, 得到水解液。按流程进行实验, 考察主要实验步骤对水解反应、胱氨酸提取率的影响。

废羊毛→预处理→水解→过滤→一次中和→过滤

粗品2←过滤←二次中和←一次脱色←粗品1

↓
二次脱色→三次中和→过滤→晶体→水洗→纯品

2 结果与分析

2.1 预处理的影响

根据正交表进行试验, 并对试验结果进行极差分析, 来确定预处理对胱氨酸收率的影响, 结果见表 1。

表 1 预处理正交试验 $L_9(3^3)$ 结果及分析
Table 1 Results and analysis of $L_9(3^3)$ pretreatment orthogonal test

试验号	因素			20g 羊毛中 胱氨酸量 (g)
	A 碱液 pH 值	B 碱液温度(℃)	C 烘干温度(℃)	
1	8.0	50	80	0.6719
2	8.0	60	90	0.5909
3	8.0	70	105	0.7105
4	9.0	50	90	0.7675
5	9.0	60	105	0.5334
6	9.0	70	80	0.8396
7	10.0	50	105	0.8111
8	10.0	60	80	0.6611
9	10.0	70	90	0.6901
K_1	0.6578	0.7501	0.7242	$\Sigma=6.2761$
K_2	0.7135	0.5951	0.6828	
K_3	0.7208	0.7472	0.6850	
R	0.0630	0.1550	0.0414	

由正交试验结果知, 预处理的最优水平为 pH 值为 10、碱液温度 50℃、烘干温度 80℃, 在这种条件下, 胱氨酸的得率最高。又知, $R_B > R_A > R_C$, 即各因素影响大小顺序依次为碱液温度 > pH 值 > 烘干温度, 这

说明在所有的因素中, 碱液温度为主要影响因素, 而烘干温度影响较小。

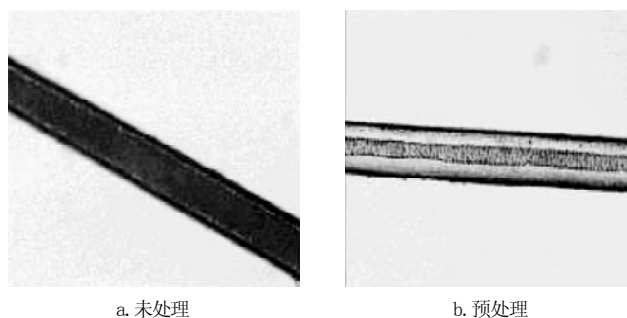


图 1 未处理和预处理的羊毛多媒体显微镜图片(均放大 400 倍)
Fig.1 Multimedia microscope picture of untreated and pretreatment wool (all enlarging 40000%)

由图 1a 和 b 对比看出, 预处理后的羊毛表面鳞片层被轻微破坏, 在多媒体显微镜下很容易就看到羊毛的皮质层和髓质层, 而未处理的表面有较厚的鳞片层, 毛内部结构看不到。推测预处理对后面的水解实验有较明显的影响。

测定预处理后的毛与未预处理的毛分别在同一时间的水解情况, 结果如图 2 所示, 可见预处理可以明显加快水解反应的速度。

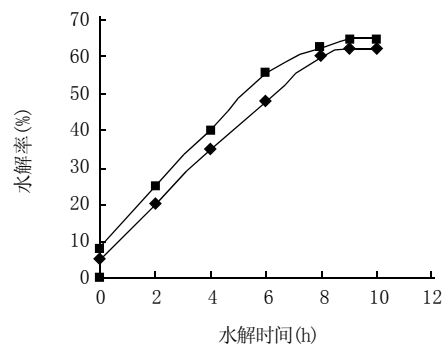


图 2 预处理过的与未预处理的毛在同一时间的水解率
Fig.2 Rate of hydrolysis of untreated and pretreatment waste wool at same time

2.2 水解条件的优化

2.2.1 水解终点的确定

用 CuSO_4 法来判断水解的终点, 抽取水解进行一定时间后的水解液 2ml, 置于 10ml 试管中, 加入 2ml 10% NaOH , 滴加 4~5 滴 2% 的 CuSO_4 溶液, 摇匀, 如仍显蓝色, 表明水解完全。如变色, 即表明水解不完全, 需要延长水解时间^[5]。

2.2.2 酸解条件的优化

根据前期实验和参考文献[6~8], 选取了三个因素即水解温度、水解时间、盐酸浓度来考察, 各因素选

取了三个水平,选水解温度 110、115、120℃;水解时间选 7、8、9h;盐酸质量分数选 28%、30%、32%,采用 $L_9(3^3)$ 正交表设计试验。其他条件为 20g 预处理后的羊毛,加入 0.6g 硅藻土做催化剂,酸毛比为 1.8:1^[1]。

表 2 酸解条件实验结果及分析
Table 2 Results and analysis of acid hydrolysis test

试验号	因素			20g 羊毛中 胱氨酸量 (g)
	A 水解温度(℃)	B 水解时间(h)	C 盐酸质量分数(%)	
1	110	7	28	0.50
2	110	8	30	0.68
3	110	9	32	0.58
4	115	7	30	0.53
5	115	8	32	0.70
6	115	9	28	0.61
7	120	7	32	0.65
8	120	8	28	0.57
9	120	9	30	0.67
K_1	0.5867	0.5600	0.5600	$\Sigma=5.49$
K_2	0.6133	0.6500	0.6267	
K_3	0.6300	0.6200	0.6433	
R	0.0433	0.0900	0.0833	

由表 2 可知, $R_B > R_C > R_A$, 因素 B 即水解时间对提取胱氨酸的量影响最大, 因素 C 即盐酸的质量分数影响较大, 在所选取的温度范围内, 温度的影响较小。确定出最佳的水解条件应为 $A_3B_2C_3$, 即水解时间 8h, 盐酸质量分数 32%, 水解温度 120℃。

2.3 中和

一次中和: 取相同水解条件下的水解液 50ml, 在 40℃ 下分别用氨水中到不同的 pH 值, 找出产生胱氨酸量最多的点。结果如下图 3 所示。

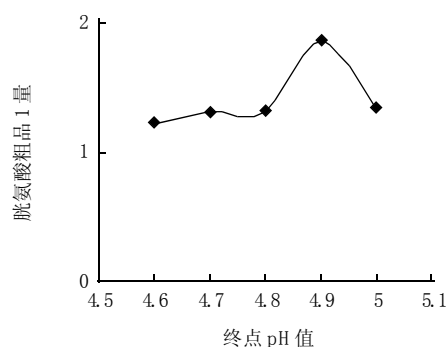


图 3 中和终点 pH 值对胱氨酸产量的影响
Fig.3 Effects of neutralisation point pH value on cystine yield

一次中和在中和到 pH 值为 4.9 时, 其胱氨酸的提取率最高。胱氨酸是在强电解质溶液中析出的, 由于水解液的成份比较复杂, 离子强度很高, 有一定盐效应, 这就降低了胱氨酸的过饱和度或过饱和系数。而

处于较稳状态下的时间随着过饱和系数的减小而大大延长。再者, 水解液组成复杂, 胱氨酸在水中的溶解度较低(在 20℃ 时的溶解度为 0.0094), 趋向于生成稳定的过饱和溶液。所以在中和、结晶过程中, 存在着“结晶与溶解”这样一对矛盾。为了使胱氨酸结晶完全, 就要尽可能减少溶解趋势。为此, 除控制中和速度, 以结晶出较大颗粒胱氨酸外, 还要严格掌握中和时的 pH 值, 不管哪一种氨基酸在其等电点的情况下溶解度最小。

二次中和时由于胱氨酸粗品 1 的量较少, 当 pH 值调节到 2.8~3.2 之间时, 产量较多, 若继续滴加氨水, 产量反而减少, 因此在中和时将 pH 值调节到 2.8~3.2 之间。

三次中和时通过观察发现, 当 pH 值调节到 3.5~4.0 之间时, 产量最多。

胱氨酸在热碱溶液中最易被破坏, 为了得到较高收得率, 在两次中和过程中, 一要防止溶液过热, 二要防止局部碱液过浓。碱的滴加速度要缓慢, 否则会影响 L-胱氨酸的析出; 搅拌速度要适中, 防止溢出泡沫或飞溅液体, 影响产率。

2.4 脱色对胱氨酸提取率的影响

2.4.1 盐酸质量分数的影响

脱色时盐酸质量分数对胱氨酸提取量的影响结果如表 4 所示。

表 4 脱色时盐酸质量分数对胱氨酸提取量的影响

Table 4 Effects of hydrochloric acid concentration on extraction quantity of cystine in decoloring

试样号	盐酸质量分数(%)	结晶量(g)
1	4	0.68
2	5	0.72
3	6	0.78
4	7	0.74
5	8	0.70

可以看出, 在脱色时, 采用质量分数为 6% 的盐酸溶解粗品时, 得到的胱氨酸产率最高。

2.4.2 脱色温度

通过实验发现, 在温度为 80~85℃ 时, 脱色效果最好, 与文献资料符合。

2.4.3 活性炭的用量

活性炭用量对胱氨酸提取量的影响如表 5 所示。

从表 5 可以看出, 虽然活性炭的用量较少时, 其结晶量多, 但是, 脱色效果较差, 综合考虑, 采用活性炭质量为粗品的 15% 时既脱色效果好, 又对胱氨酸的损失较小。

2.5 红外光谱检测

表5 活性炭用量对胱氨酸提取量的影响
Table 5 Effects of amount of active carbon on extraction quantity of cystine in decoloring

试样号	活性炭用量(g)	结晶量(g)	脱色效果
1	0.10	0.75	较差
2	0.12	0.74	较好
3	0.15	0.74	好
4	0.18	0.72	非常好
5	0.20	0.69	非常好

将提取的胱氨酸与L-胱氨酸标准样(北京方草医药研制公司)进行红外光谱比对,如图4所示。由红外光谱图可以看出,在两条光谱的特征区,在 3449cm^{-1} 左右有强的吸收峰,该峰为 $-\text{NH}_2$ 的特征峰,在 3028cm^{-1} 左右有强的吸收峰,该峰为饱和C-H伸缩振动;在指纹区, 1487cm^{-1} 处为 $-\text{CH}_2-$ 的吸收峰, 1337cm^{-1} 处为 $-\text{CH}-$ 的吸收峰,这些吸收峰都是胱氨酸的基团所有的

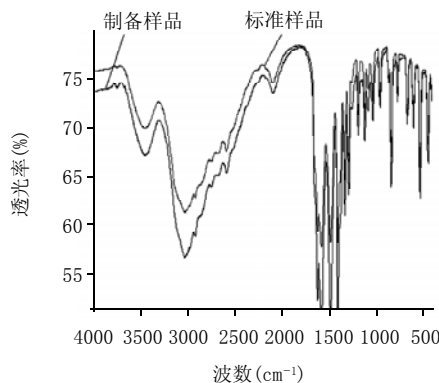


图4 制备样品与标准样品红外光谱图
Fig.4 IR of sample of preparation and standard

特征峰,通过与标准胱氨酸红外光谱的对照,可以看出:两条光谱的形状完全一样,证明按实验生产工艺所制得的产品确实是胱氨酸。

3 结论

废弃羊毛是一种可持续利用的生物资源,利用制革废弃羊毛提取胱氨酸是处理制革固体废弃羊毛的一种可行的途径,有广阔的应用前景。为了提高胱氨酸的提取率,应控制提取的最佳条件,以减少胱氨酸的提取损失。本研究采用预处理的方法有利地缩短了羊毛水解时间;水解的最优条件是:32%盐酸、酸毛比1.8:1、水解温度 120°C 、水解时间8h。

参考文献:

- [1] 张亚雄,王程辉,胡滨.毛发提取胱氨酸酸解条件的研究[J].生物技术,1999,9(2):46-47.
- [2] 黄兆华,肖德宝,黄曦.猪毛制取L-胱氨酸研究(1)—水解条件[J].福州大学学报:自然科学版,1997,25(4):92-94.
- [3] 杨新科.从角蛋白提取胱氨酸水解终点的确定[J].宝鸡文理学院学报:自然科学版,1996,16(2):6.
- [4] 戴红,张宗才,张新申.制革废弃物中氨基酸的提取和分离[J].氨基酸和生物资源,2003,25(3):46-48.
- [5] 许瑞波,刘玮玮,工明艳,等.从鸡羽毛中提取L-胱氨酸的研究[J].淮海工学院学报,2003,12(4):38-43.
- [6] 施小会,褚道葆.硫酸水解角蛋白制取L-胱氨酸的研究[J].安徽师范大学学报:自然科学版,2000,23(4):351-353.
- [7] 沈国鹏,杜斌,韩志慧,等.水解法制取L-胱氨酸的研究[J].中南药学,2003,1(3):147-149.
- [8] 孙江华.由人发制备胱氨酸的工艺研究[J].氨基酸和生物资源,2003,25(2):61-62.

信息

抗氧化剂可防止糖尿病患者健康长期受损

糖尿病即使在患者血糖水平得到控制后仍可能长期危害健康。英国科学家最新研究发现,可以通过使用VC等抗氧化剂来防止糖尿病长期危害患者健康。

英国华威大学的研究人员在最新一期《新科学家》杂志上报告说,对于糖尿病患者来说,当细胞受到高含量葡萄糖影响后,细胞线粒体中的蛋白质会遭受永久性破坏,而且会产生活性氧。活性氧在体内循环,会攻击和破坏人体组织。即使患者体内的葡萄糖含量恢复到正常水平后,活性氧仍可能导致患者罹患糖尿病的并发症。

由安东尼奥领导的研究小组在实验室中获得了受高含量葡萄糖影响的受损细胞线粒体。研究发现,活性氧可以被中和,方法是使细胞接触抗氧化剂。在对36名接受胰岛素治疗的I型糖尿病患者进行的实验中,研究人员发现,注射VC,可以中和活性氧。

安东尼奥说,抗氧化剂有助于捕获并中和活性氧,生成活性很低的化学物质。研究人员目前正在寻找可阻止活性氧产生的药物。