用铬革渣制备 L-脯氨酸等六种氨基酸*

蒋挺大　　张春萍
（中国科学院生态环境研究中心）

摘要　铬革渣经碱性处理提取蛋白质，用 6 mol HCl 水解，活性炭脱色，调节 pH，由 732# 阳离子交换树脂初步分离，得到的脯氨酸组分再由 717# 阴离子交换树脂分离，所得 L-脯氨酸洗脱液减压蒸发浓缩，用无水乙醇结晶，得色谱纯 L-脯氨酸．在 732# 阳离子交换树脂上最后流出的是精氨酸，经处理得色谱纯 L-精氨酸盐酸盐．在 717# 阴离子交换树脂上分离可分别获得 L-谷氨酸、L-天门冬氨酸、L-丙氨酸和甘氨酸．

L-脯氨酸是一种重要的天然氨基酸，由于结构比较特殊，较难用化学合成法或发酵法生产，目前一般从天然蛋白质水解分离制备．然而，大多数天然蛋白质中 L-脯氨酸含量不高．

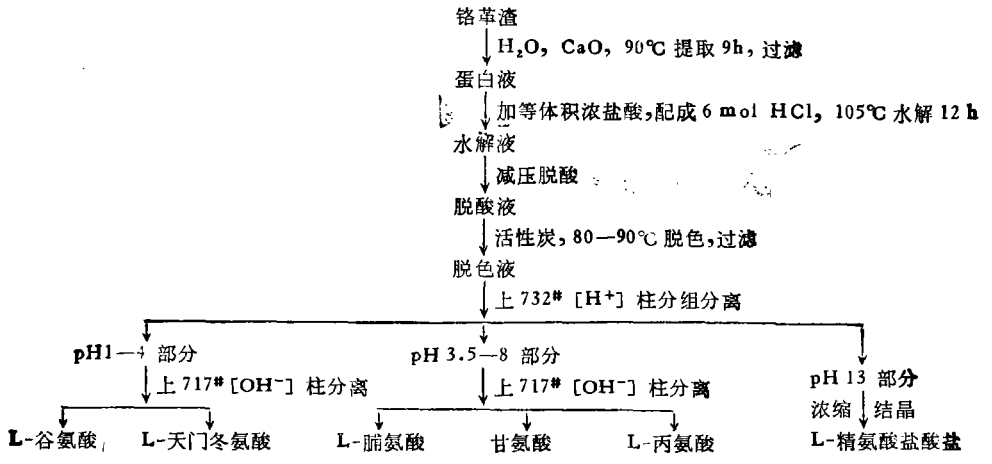
明胶是含 L-脯氨酸最多的蛋白质，目前主要是用明胶水解来分离提取 L-脯氨酸，但明胶价昂，使 L-脯氨酸的生产成本降不下来．近来有人用鸡毛水解制取 L-脯氨酸[1]，可能是一种较好的方法．但鸡毛的来源会受到限制．

制革工业产生大量的固体废弃物铬革渣（包括革屑、革块），其量约占原料革的 20%，其中含蛋白质 30% 以上，主要是胶原蛋白．

铬革渣经碱液处理，既可脱铬（即脱鞣），又可将蛋白质提取出来，经水解、分离，可提取 L-脯氨酸、L-精氨酸、L-天门冬氨酸、L-谷氨酸、L-丙氨酸和甘氨酸．这条工艺路线，既能消纳一部分环境污染物铬革渣，又为生产 L-脯氨酸找到了一种新原料，有较好的环境效益和经济效益，便于组织工业生产．

实　验　部　分

一、工艺路线



二、上柱液的制备

称取 500 g 牛皮铬革渣（含水 20%），加水 5000 mL，生石灰 20 g，升温到 90℃ 时加入催化剂，保温 9h，趁热过滤，滤液为亮黄

* 郭富堂和郭卫红同志参加了部分实验工作．

色，体积为 3910 mL．凯氏定氮，含蛋白质 209 g，减压浓缩至 1250 mL，加 1250 mL 浓盐酸，105℃ 回流 12 h，减压脱酸两次．在残渣中加入 2000 mL 水，使全溶，加入 100 g 活性炭，在 80—90℃ 下搅拌脱色 1.5 h，抽滤，用沸水洗涤活性炭，合并滤液和洗涤液，总体积为 2480 mL，pH 1.5．

三、树脂的处理和再生

1. 新树脂的处理

新离子交换树脂，先用自来水浸泡过夜，并洗至水无色，然后按下法处理．

阳离子交换树脂先用 2 mol HCl 浸泡过夜，接着用自来水洗至中性(许多地方的自来水偏酸性可洗至与自来水 pH 值相同)．再用 2 mol NaOH 浸泡过夜，用自来水洗至中性，然后又用 2 mol HCl (用蒸馏水配制)浸泡过夜，最后用蒸馏水洗至中性，即可装柱待用．此时该树脂为 $[H^+]$ 型．

阴离子交换树脂需先用 2 mol NaOH 浸泡过夜，用自来水洗至中性，然后用 2 mol HCl 浸泡过夜，用自来水洗至中性，再用 2 mol NaOH 浸泡过夜，用蒸馏水洗至中性，即可装柱待用，此时该树脂为 OH^- 型．

树脂的处理，可用静态法，也可用动态法．静态法是在烧杯中进行，动态法是在柱子中进行．静态法消耗水多，处理不彻底，最好加以搅拌，但搅拌速度不能太快，以免打破树脂．动态法能克服静态法的缺点，但在处理阳离子交换树脂时要特别小心，树脂体积变化很大，易于胀裂玻璃柱．在柱中处理阴离子交换树脂时，易产生气泡，致使处理不均匀．

各次酸碱的用量，为树脂理论交换容量的 1.5 倍．在实际操作时，可视酸碱不再被消耗为度．

2. 树脂的再生

树脂在分离使用后，要及时进行再生，否则易发生霉变．再生之前，需先将树脂用自来水清洗，漂去浮起的破碎树脂．由于阳离子树脂在使用时是用氨水淋洗的，已成 NH_4^+ 型，再生时先用 2mol NaOH 处理，自来水洗至中性，再用 2 mol HCl 处理，用蒸馏水洗至中性，便恢复为 H^+ 型，即可使用．阴离子树脂在使用时是用盐酸淋洗的，已成 Cl^- 型，再生时只需用 2 mol NaOH 处理，用蒸馏水洗至中性，便成 OH^- 型，即可使用．

3. 中毒树脂的复活

树脂在使用多次后，各种杂质积聚增多，致使树脂中毒，交换容量下降，分离效果也差，再用一般的再生方法不能奏效，必须采取去毒复活的措施．

树脂的复活在烧杯中进行，先用自来水洗净，然后用 2 mol HCl 在 70—80℃ 下慢速搅拌 4—8 h，用自来水洗至中性．接着用含有 8% NaCl 的 2 mol NaOH 在 70—80℃ 下慢速搅拌 4—8 h，用自来水洗至中性．对于阴离子树脂来说，再用 2 mol NaOH 在 70—80℃ 下慢速搅拌 4—8 h，用蒸馏水洗至中性即可使用．而阳离子树脂则要用 2 mol HCl 在 70—80℃ 下慢速搅拌 4—8 h，用蒸馏水洗至中性即可使用．

树脂经过多次再生或复活后有一定损失，要及时补充经处理过的新树脂．这样，树脂可以长期使用．若发现复活后的树脂交换容量仍然下降很多，则必须更换新树脂．

四、阳柱分组分离

732# 阳离子交换树脂按常规处理成 $[H^+]$ 型，装柱，ϕ 40 × 1500 mm．

将上述上柱液以 10 mL/min 的速度上阳柱．开始流出液为中性，然后 pH 逐渐下降，至 pH 1 时，需经常用茚三酮试剂检查，待呈阳性反应时，立即停止上柱．共上柱 2023 mL，约相当于 170 g 纯蛋白质．

用无离子水淋洗柱子 (10 mL/min)，并接收淋洗液．pH 逐渐上升到 4.1 时，将 pH 1—4.1 的接收液合并，共 1550 mL．此部分为酸性部分，含有 L-谷氨酸和 L-天门冬氨酸等氨基酸．

移去无离子水，改用 0.2 mol NH_4OH 以 8 mL/min 继续淋洗．开始流出的仍是 pH 4—4.1，然后突然下降至 3.5．此时将 pH4—4.1 的接收液 3950 mL 与上述 pH 1—4 部分合并，总体积 5500mL，减压浓缩至 3780 mL．

其后自 pH 3.5 开始接收直至 pH 8，停止淋洗，合并接收液共 6940 mL．此为中性部分，含有 L-脯氨酸、甘氨酸和 L-丙氨酸等氨基酸．

改用 1mol NH_4OH 继续淋洗，用薄层色谱跟踪监测，至组分逐渐减少时，大约 pH 12，换 2 mol NH_4OH 继续淋洗，pH 上升至 13.5，直至茚三酮检验为阴性，停止淋洗，将 pH 13—13.5 的接收液（薄层检查为一个斑点即 L-精氨酸）合并，共 4140 mL，此为碱性部分，浓缩至干即得 L-精氨酸．

五、酸性部分的分离

I 号 717# 阴离子交换柱：ϕ 40 × 1500 mm，按常规处理成 [OH^-] 型．

在阳离子交换柱上初步分离的酸性部分淋洗液，用浓氨水调至 pH 7—8 之间．高于 pH 8 则会产生浑浊沉淀．用此液以 4—5 mL/min 流速上 I 号柱．至茚三酮反应为阳性，停止上柱，共上柱 1750 mL．接收液弃去．

用除去 CO_2 的无离子水以 4—5 mL/min 流速淋洗柱子，直至茚三酮反应呈阴性，共用 1810 mL 水．接收液留存．然后改用 0.12 mol HCl 以 4—5 mL/min 流速洗脱，分瓶收集淋洗液，每瓶 100 mL，测定 pH 值，用茚三酮试剂跟踪检查．淋洗 3700 mL 后，茚三酮反应开始呈阴性．每瓶收集液用薄层色谱鉴定，分别合并谷氨酸和天门冬氨酸的接收液．

六、中性部分的分离

制备三根 717# [OH^-] 型阴离子交换柱，分别为：

II 号：ϕ40 × 1500 mm

III 号：ϕ 40 × 800 mm

IV 号：ϕ 35 × 800 mm

在阳离子交换柱上初步分离的中性部分接收液 6940 mL 减压浓缩为 1320 mL，用 20 g 活性炭在 80—90℃ 下脱色 20 min，用 100 mL 煮沸的无离子水洗涤活性炭，合并滤液和洗涤液，冷至室温，用浓氨水调 pH 为 8，将此液以 4—5 mL/min 的流速上 II 号柱，流出液 pH 由 7 升到 11，至茚三酮检查时呈阳性反应，即停上柱，共上柱 960 mL．

将 III 号柱和 IV 号柱与 II 号柱串联，用 200 mL 除去 CO_2 的无离子水淋洗，然后改用 0.12 mol HCl 以 4—5 mL/min 的速度淋洗至茚三酮反应呈阳性，分瓶接收，每瓶 100 mL，同时用薄层色谱鉴定．将一个斑点的 Rf 值相同部分合并，得到 L-脯氨酸、L-丙氨酸和甘氨酸三部分的接收液．

七、氨基酸精制

1. L-精氨酸盐酸盐

由阳离子交换树脂柱分离的精氨酸接收液减压浓缩至干，加 500mL 无离子水溶解后再浓缩至干，确认无氨味后，加入 200 mL 无离子水溶解，用 6mol HCl 小心调 pH 至 4.1，加入 2 g 活性炭，在 80—90℃ 下搅拌半小时，抽滤，用少量热水洗涤活性炭，减压浓缩至剩少量液体，取下冷却至室温，出现结晶，置于冰箱中过夜，使结晶完全．抽滤至干，用无水乙醇 20 mL × 3 次洗涤，80℃ 烘干，得白色精氨酸盐酸盐 12.54 g（得率 3.14%）薄层色谱确认为一点纯．

2. L-脯氨酸

将 L-脯氨酸接收液减压浓缩至干，用无水乙醇加热溶解，趁热过滤，滤液冷却至室温后置冰箱中过夜．滤出结晶，用冷无水乙醇 20 mL 洗涤，70℃ 烘干，得白色 L-脯氨酸 7.83 g（得率 1.96%）．薄层色谱确认为一点纯．

3. L-谷氨酸，L-天门冬氨酸，L-丙氨酸和甘氨酸

将这四种接收液分别减压浓缩至干，用

无水乙醇洗涤，抽干，70℃ 烘干，分别得 8.80 g（得率 2.20%）L-谷氨酸，5.43 g（得率 1.36%）L-天门冬氨酸，15.66g（得率3.92%）甘氨酸和 8.54 g（得率 2.14%）L-丙氨酸。

结果与讨论

一、蛋白质的水解

由铬革渣碱性脱铬提取的蛋白质，水解时间对水解液中氨基酸含量有一定的影响，尤其是 L-天门冬氨酸、L-谷氨酸、甘氨酸、L-丙氨酸、L-脯氨酸和 L-精氨酸六种含量较高的氨基酸影响较大。由表 1 可见，用 6 mol HCl 在 105℃ 下回流 12 h，水解液中上述六种氨基酸含量最高，这样有利于这六种氨基酸与其它氨基酸的分离。或者说在分离这六种氨酸时受其它氨基酸的干扰较小。水解时间短，可减少热能的消耗，有利于降低生产成本。

表 1　蛋白质水解时间对氨基酸含量（%）的影响

氨基酸	12h	16h	20h	24h	36h	48h
天门冬氨酸	9.37	8.84	5.93	9.36	8.92	8.54
苏氨酸	2.40	2.31	1.28	2.46	2.27	2.17
丝氨酸	4.76	4.37	2.12	4.60	3.77	3.62
谷氨酸	16.37	14.30	11.59	15.74	14.59	11.67
甘氨酸	41.51	40.47	31.81	40.81	39.40	36.26
丙氨酸	16.53	15.72	13.62	15.85	15.39	14.49
缬氨酸	4.26	3.29	2.73	5.47	4.38	4.50
蛋氨酸	1.22	0.66	0.17	—	0.56	0.70
异亮氨酸	2.20	1.45	0.67	2.16	1.69	2.00
亮氨酸	3.98	2.81	1.92	3.36	2.92	3.16
酪氨酸	0.57	0.80	0.32	0.70	0.97	1.18
苯丙氨酸	0.87	0.47	0.22	0.89	0.82	0.82
赖氨酸	5.41	5.09	3.92	5.38	5.02	4.76
组氨酸	0.91	0.70	0.52	0.84	0.77	0.77
精氨酸	10.79	7.15	5.49	9.76	7.98	7.61
脯氨酸	15.52	14.64	11.97	14.42	13.88	13.00

二、鉴定方法

用离子交换树脂法分离氨基酸，一般都用纸层析跟踪鉴定洗脱液中的氨基酸。考虑到纸层析速度太慢，做一次双向层析要一昼夜时间，不利于及时跟踪鉴定。尤其在夏天，氨基酸接收液放置时间长，容易产生微生物发酵，影响氨基酸收率。考虑到本实验条件下洗脱液中氨基酸组份较简单，使用高效硅胶薄层色谱双向展开亦能达此目的，故在实验中均采用薄层色谱法。在产品鉴定时，与纸色谱对照，结果一致。这样可以使色谱鉴定时间缩短到数十分钟至一个多小时，大大提高了工作效率。

硅胶薄层板：GF 100 × 75 mm，江苏福山生化试剂厂。

薄层展开剂：正丁醇:甲醇:水=15:3:2 (V/V) 正丁醇:12% 氨水:95% 乙醇=13:3:3 (V/V)。

三、最终产品

所得的六种色谱纯氨基酸中，L-脯氨酸和 L-精氨酸价值最高。而且 L-精氨酸由阳离子柱直接分离得到，收率也高，相对来说成本最低。从成本角度考虑，在生产上，可以制取 L-脯氨酸和 L-精氨酸为目的。这样在阳离子柱上初步分离时可得 L-精氨酸，而中性部分只要进行一次阴离子柱分离，L-脯氨酸又是首先被分离出来的组份。此后改用浓度稍大的盐酸将甘氨酸和 L-丙氨酸等氨基酸直接洗脱出来。将各部分混合氨基酸接收液合并，减压浓缩，可得不含杂质的混合氨基酸，另作他用。亦就是说，通过两次分离，可获得 L-脯氨酸、L-精氨酸盐酸盐和混合氨基酸三种最终产品。

用离子交换树脂来分离氨基酸，已成为工业生产上常用方法，操作方便。以上实验部分列出的六种氨基酸的总收率为 14.72%，这是实验中的最低收率，实际上，随着操作熟练程度的提高，以后每次的实验收率都高于这个数。12 次重复实验表明，要想提高氨基酸的收率，关键是树脂要处理得好，否则交换容量明显下降，分离能力也随着变差。我们开始用静态法再生树脂，发现树脂交换容量

（下转第 85 页）

数学模型的方法较多，一般研究者根据各自不同的研究对象和目的，可以采用各种不同的数学模型方法．较常用的有：

1.矩阵法　这是美国地质调查所 L. Leopold 等人曾用的方法．他们把 100 项关于人类活动的项目定为横坐标，把88种环境特征列为纵坐标，把人类活动的影响分为 10 级．这种方法比较容易从矩阵中看出某一项人类活动对各项自然环境的影响．

2.叠加法　即把各别的环境因素制成透明图，然后互相叠加起来，以评价环境质量．黑龙江省环境质量模型图和北京市西郊环境质量模型图都用这种方法．目前，这种方法正在向采用电子计算机自动化制图方向发展．

3.数学模式法　这是当前自然科学中迅速发展起来的一种新的研究方法．在美国环境数学模式的研究中常用的有：

(1) 战略环境分析系统 (SEAS)　美国的战略环境分析系统是一种研究环境污染和经济关系的模式．1974 年美国环境保护局用来进行能源利用和环境污染关系的研究，建立预测环境残余物产生和治理成本的模式，这种模式和美国的经济输入与输出的模式相联系．这一模式可由很多子模式组成．例如，残余物产生模式；治理成本模式；交通运输模式；取暖模式和固体废物模式等．

利用 SEAS 模式，可以通过改变实验因素(经济增长的变化、控制污染实施计划方案的改变)，了解它对环境质量指标(系数)的影响．

(2) 能源系统的残余矩阵(MERES)　这是由环境质量委员会、布鲁克海文国家实验室、国家科学基金会、环境保护局和能源发展总局共同研究的一种环境模式．这种模式从多方面分析能源供应情况对环境的直接影响．这种模式把能源系统即空气污染的主要来源，由开采、选矿、提炼、运输到使用的每一个环节联系起来，分析对环境质量的影响．这种模式主要反映了污染物的产生的全过程中各个步骤的变化．

利用模型，可以把错综复杂的环境问题概念化、系统化，并使之接近事物本身，从而达到了解、评价环境各个要素，以提出最优化方案的目的．有人认为模型的最重要的用途之一是产生假设．模型还可用来检验野外的测定以及我们根据这些数据所提出的假定的正确性．模型的一个最重要的用途是帮助我们做出最优化的环境决策．

环境科学是一门新兴科学，它诞生至今不过二、三十年左右的历史，虽然发展迅速，但终究尚未成熟．可以这样认为：环境科学的全盛时期不是已经过去，而是还未到来，无数重要的环境问题正有待我们去研究解决，许多理论和方法问题需要作深入的探讨．

主要参考文献

[1] 郭方等，环境科学研究与进展，科学出版社，1980 年．

[2] 巴巴拉·沃德等，只有一个地球，石油化工出版社，1976 年．

[3] A.N.斯特拉勒等，环境科学导论，科学出版社，1983 年．

[4] J.D.贝尔纳，科学的社会功能，商务印书馆，1985 年．

[5] G.O.巴尼等，公元 2000 年环境，科学出版社，1986 年．

[6] 中国自然资源研究会编，自然资源研究的理论和方法，科学出版社，1986 年．

[7] 曲格平，中国环境问题及对策，中国环境科学出版社，1984 年．

[8] 余文涛等，中国的环境保护，科学出版社，1987 年．

[9] 王翊亭著，环境学导论，清华大学出版社，1985 年．

[10] 余谋昌，当代社会与环境科学，辽宁人民出版社，1986 年．

[11] «2000 年研究»小组，公元 2000 年的中国，科学技术文献出版社，1984 年．

[12] 马世骏等，中国科学院环境科学技术研究的发展，中国环境科学，5(2)，49(1985)．

[13] Sharif, N. ed., An Introduction of Modeling, Wiley & Sons, New York, 1978.

(收稿日期：1988 年 6 月 15 日)

(上接第 20 页)

明显下降，后改为动态法处理，重复使用 12 次未见交换容量下降，而且随着操作的熟练，每次氨基酸的收率均有所提高。

参 考 文 献

[1] 曹者瑜，张振家，氨基酸杂志，(1)(1986)．

(收稿日期：1988 年 9 月 5 日)

Abstracts

HUANJING KEXUE Vol. 10 No. 4, 1989
Chinese Journal of Environmental Science

Controlling the Spread of Environmental Pollution and Ecological Deterioration ——Comment on the Third Conference of Environmental Protection

Guo Fang (Vice-director, The Committee of Environmental Science, Academia Sinica, Beijing)

Based on the current environmental situation in China and the environmental goals till 1992 and 2000, which have been pronounced in the Third National Conference of Environmental Protection, the author encourages environmental scientific and technological workers especially those in the Chinese Academy of Sciences should strive to fulfill the tasks. (See pp. 10—13)

Effective Factors of Deep Oxidation of Methanol on Pt/Al_2O_3 Catalyst

Jin Yun, Yu Qiquan and Cao Peilie (Department of Chemistry, Peking University, Beijing)

The effect of intraparticle diffusion of catalyst has been investigated in a flow-recirculation gradientless reactor. The kinetics of deep oxidation of methanol with 30-40 mesh catalyst on Pt/Al_2O_3 in the kinetic regime obeyed the Langmur-Hinshelwood model of adsorption of methanol and oxygen with inhibition of carbon dioxide. When the temperature of reaction increased to 80°C and the particle size of catalyst increased to 6×2 mm, the deep oxidation of methanol occurred on the regime of intraparticle diffusion. The effect of intraparticle diffusion increased as reaction temperature increased. The values of catalytic effective factors were measured as 0.44—0.22. The effect of intraparticle diffusion has been interpreted with the approximation method of general reaction rate forms (See pp. 6—9)

Effect of Mercury on the Growth and Physiological Function of Wheat Seedlings

Zhang Zhijie, Lu Qiufen and Fang Fang (Xi'an Institute of Metallurgy and Construction Engineering, Xi'an, Shaangxi Province)

It has been observed that mercury depressed the germinant rate of wheat and its seedling growth, decreased its transpiration and chlorophyll content. Degrees of the influence was directly related with the mercury concentrations in wastewater and the content of it in the seedlings. In low concentration of mercury, the respiratory rate of seedlings increased, but it decreased or increased considerably in accordance with its high concentrations. Moreover, the respiratory rate in the growth and stages of the seedlings. The result showed that mercury caused a change of peroxidase isozyme pattern. The effects of mercury on wheat seedlings were a physiological reaction due to injury of mercury. (See pp. 10—13)

An Automatic and Continuous Analyzer of COD

Zhu Wansen et al. (Department of Chemistry, Fudan University, Shanghai)

An automatic COD analyzer has been designed. A pump is used as a driving force to control operation of the eletromagnatic valves in the pipeline, by which volume control of wastewater samples and reagents, digestion, photometric measurement and cleaning in the process are carried out orderly. These procedures can be automatically repeated for continuous monitoring. This instrument is convenient for rapid determination of COD, 5—8 samples per hour can be analyzed. The results match with the ones abtained by the standard methods, relative standard deviation is 1.9% for 10 samples determined. (See pp. 13—16)

Reclamation of L-Proline and Other Amino-Acids from Chrome Leather Scraps

Jiang Tingda and Zhang Chunping (Research Center for Eco-Environmental Sciences, Academia Sinica, Beijing)

The scraps of chrome leather is a tanning waste. The process of reclaiming six amino-acids was operated as follows: de-chroming of the scraps was adopted by basic hydrolysis with calcium oxide, and the protein extracted; the protein was hydrolyzed with 6 mol HCl; the hydrolysate was declorized with activated carbon; then separated by 732 cation exchange resin (H form) and 717 anion exchange resin (OH form) respectively. L-Arg, L-Pro, L-Asp, L-Ala and Gly were obtained. (See pp. 17—20)

Distribution and Migration of Redioactive Nuclides in Paddy Food Chains

Wang Liang et al. (Shaanxi Provincial Research Institute of Preventive Medicine, Xi'an)

On the basis of what radioactive levels existing in soil and rice around Hanzhong region of Shaanxi Province were studied as the references (1) and (2), the following problems have been discussed in this paper: the transmitted coefficient of radioactive nuclides from soil to rice, U-Ra equilibrium coefficient in soil and rice, the relationship between nuclide content in rice and the paddy species, the ratio of nuclide contents in rice and in rice bran, rice polluted by radioactive nuclides in the course of harvesting and husking, and viriations of nuclide content in rice after washing. (See pp. 21—24)

Regional Contaminant Features of Suspended Particulates in Beijing-Tianjin Area