

铬革渣资源化处理研究 VII.

蛋白质的水解及其测定

蒋挺大 甘友新 张春萍

(中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

摘要 铬革渣在碱性介质中脱鞣提取蛋白质的过程中, 当反应体系的 $\text{pH}=13$, 反应压力为 $1.4\text{kg}/\text{cm}^2$, 11h 后出现蛋白质水解产物氨基酸, 随反应时间的延长, 水解度随之增大。这种水解, 随体系的 pH 值升高而加快。实验表明, 用改进的甲醛滴定法可测定铬革渣在碱性介质中蛋白质的水解度。

关键词 铬革渣, 蛋白质, 氨基酸, 资源化。

铬革渣是制革厂在牛皮或猪皮鞣制削匀及剪裁时产生的固体有害废物。在制革工业发达的国家, 铬革渣已成为一大公害。从铬革渣提取蛋白质制成饲料蛋白质添加剂已提出了不少方法, 归纳起来不外乎是碱性提取法^[1]和酸性提取法^[2]。由蒋挺大^[3]提出的铬革渣资源化处理技术, 是有别于国内外各种工艺路线的一种新工艺, 其特点之一是铬革渣可以被全部消纳, 没有二次污染。这一技术, 已于 1987 年实现工业化, 其主产品饲料胶原蛋白粉也于同年成为商品正式进入市场, 已被批准为 1991 年度国家级重点新产品。

铬革渣中含的蛋白质以胶原蛋白为主。胶原蛋白由于其结构的特殊, 在营养学意义上有许多问题值得探讨, 而在碱性介质中提取胶原蛋白时, 又涉及到蛋白质的水解问题, 因此很有必要分析铬革渣在碱性介质中蛋白质发生水解的程度。

在蛋白质和氨基酸众多的定量分析方法中, 甲醛滴定法分析蛋白质的水解情况可以免除水解产物氨基酸与蛋白质的分离工作。为了提高方法的精确度, 实验中采用了混合指示剂和 pH 值计并用的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

- (1) 铬革渣 105℃干燥。
- (2) CaO 分析纯, 研成粉末。
- (3) 中性甲醛 分析纯, 临用前用 1mol/L NaOH 溶液中和至 $\text{pH}7.0$ (用 pH 计控制)。
- (4) 指示剂 0.1% 溴代麝香草酚蓝溶液和 0.5% 酚酞溶液。
- (5) 0.1mol/L NaOH 标准溶液。
- (6) 明胶 化学纯。

1.2 设备和仪器

- (1) 压力消毒锅, 恒定压力 $1.4\text{kg}/\text{cm}^2$
- (2) PHB-2 型便携式 pH 计。

1.3 方法

(1) 在 500ml 三角瓶中称入 20g 铬革渣, 加 100ml 水, 浸泡 5h, 然后投入计算量的 CaO , 放置过夜, 在置于压力锅之前摇匀并测定 pH 。反应压力维持 $1.4\text{kg}/\text{cm}^2$, 反应结束后趁热抽滤, 测定滤液的 pH , 用 1mol/L HCl 中和, 减压浓缩至干, 即得蛋白质(胶原蛋白)样品, 置于无水 CaCl_2 干燥器中待用。表 1 列出了各个蛋白质样品的制备条件。

(2) 甲醛滴定^[4] 样品(包括胶原蛋白、明胶、氨基酸)配成 $10\text{mg}/\text{ml}$ 的溶液, 并用酸或碱调整溶液的 pH 为 7.0。取不同量的溶液, 加去离子水至 10.0ml, 加入 5.0ml 中性甲醛摇匀, 再

加 2 滴溴代麝香草酚蓝指示剂和 4 滴酚酞指示剂,摇匀,用 0.1mol/LNaOH 标准溶液滴定至蓝紫色。按下式计算氨基酸态氮。

表 1 蛋白质的制备条件

样品编号	反应时间(h)	CaO(g)
1-1	4	1.0
1-2	8	1.0
1-3	12	1.0
1-4	16	1.0
1-5	20	1.0
1-6	24	1.0
2-1	8	1.0
2-2	8	1.2
2-3	8	1.4
2-4	8	1.6
2-5	8	1.8
2-6	8	2.0

$$\text{氨基酸态氮}(\%) = \frac{(V_2 - V_1) \times c \times 14.0067 \times 100}{W}$$

式中, V_1 ——参照物(明胶)消耗 NaOH 的体积(ml)。

V_2 ——样品消耗 NaOH 的体积(ml)。

c ——NaOH 标准溶液的浓度(mol/L)。

14.0067——氮的原子量。

W ——样品重量(mg)。

2 结果与讨论

2.1 甲醛滴定法的适用性验证

2.1.1 以明胶为参照物的浓度与滴定度的关系

用甲醛滴定法测定氨基酸总量,是借助于甲醛把氨基加以保护,破坏由羧基与氨基形成的内盐,从而使羧基暴露,用 NaOH 溶液来滴定羧基。当蛋白质溶液中存在游离氨基酸时,由于肽链上具有酸性侧基,也会消耗一定量的 NaOH。尤其是铬革渣中的蛋白,主要是胶原蛋白,其中含侧羧基的谷氨酸和天门冬氨酸占氨基酸总量的近 1/3^[5],所以在滴定时由胶原蛋白消耗的 NaOH 本底值较高。由于明胶是与铬革渣中的蛋白质相同的胶原蛋白,而且明胶基本上是在近中性条件下提取的,不易发生水解产生游离氨基酸,因此可以选用明胶作为参照物来比较从铬革渣中提取蛋白质时是否出现了游离氨基酸。

由图 1 可见,明胶浓度与滴定消耗的 NaOH 基本是线性关系,可选择任意浓度作为本底浓

度,本实验中以 1ml 含 2.0mg 明胶的溶液作为本底浓度,其相应的 NaOH 消耗量为参照本底值。

当用 1-1 号蛋白质样品按同样方法滴定时,含 2.0mg 样品的 1ml 溶液消耗 NaOH 的量与明胶的本底值相同,这表明铬革渣在此反应条件下提取的蛋白质中不存在游离氨基酸,同时表明以明胶作为铬革渣中提取蛋白质的参照物是可行的。

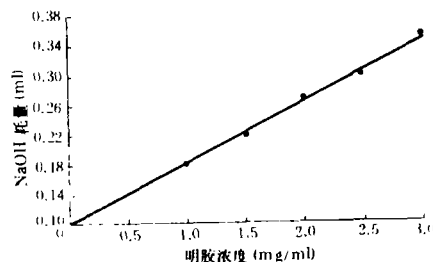


图 1 明胶浓度与 NaOH 耗量关系曲线

2.1.2 蛋白质中游离氨基酸的测定

蛋白质是高分子电解质,在稀溶液中可呈舒展的链状,亦可呈卷曲状或线团状。当用甲醛滴定法测定蛋白质溶液中的游离氨基酸时,被包裹起来的游离氨基酸很难被滴定,达到平衡的时间较长,但是,由图 2 和图 3 可见,在 1ml 含 2.0mg 明胶的溶液中,外加的甘氨酸(一元酸)和谷氨酸(二元酸)的量与 NaOH 耗量呈线性关系。

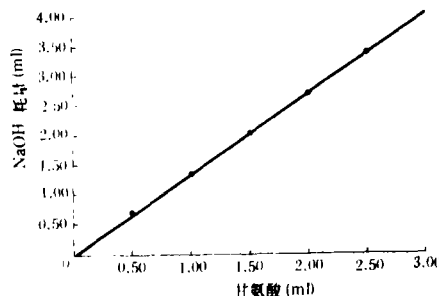


图 2 明胶中的甘氨酸浓度与 NaOH 耗量关系曲线

由铬革渣中提取的蛋白质经酸水解,离子交换树脂纯化后所得的混合氨基酸,加入到 1ml 含

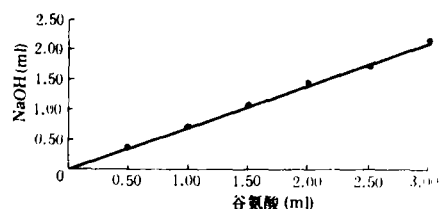


图 3 明胶中的谷氨酸浓度与 NaOH 耗量关系曲线

2.0mg 明胶的溶液中,滴定结果亦是混合氨基酸量与 NaOH 耗量呈线性关系(图 4)。

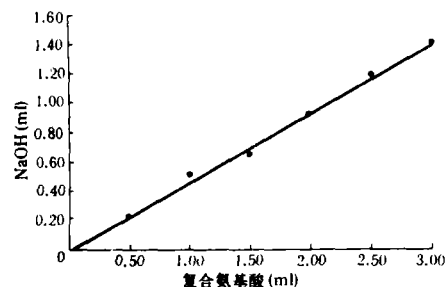


图 4 明胶中的复合氨基酸浓度与 NaOH 耗量关系曲线

当用 1-1 号蛋白质样品代替明胶时,得到同样的线性关系,且斜率也相同(图 5)。

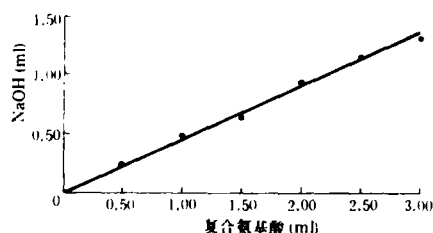


图 5 1-1 号蛋白质中复合氨基酸浓度与 NaOH 耗量关系曲线

把胶原蛋白与混合氨基酸的总量为 20mg,配成 10ml 溶液,改变胶原蛋白与混合氨基酸的组成比例,可得到不同组成比与 NaOH 耗量的相关性(图 6)。这种线性关系,即可用来确定蛋白质的水解度。

2.2 蛋白质提取过程中的水解度测定

2.2.1 反应时间对蛋白质水解的影响

图 7 是样品 1-1-6 即不同反应时间铬革渣中胶原蛋白发生水解的情况。具体方法是各反应时间提取的胶原蛋白用去离子水配制成 10mg/ml 浓度的溶液,准确吸取各样品溶液 2.0ml 按上法操作,按滴定消耗的 NaOH 标准溶

液量,从图 6 上查找出相应的蛋白质氨基酸组

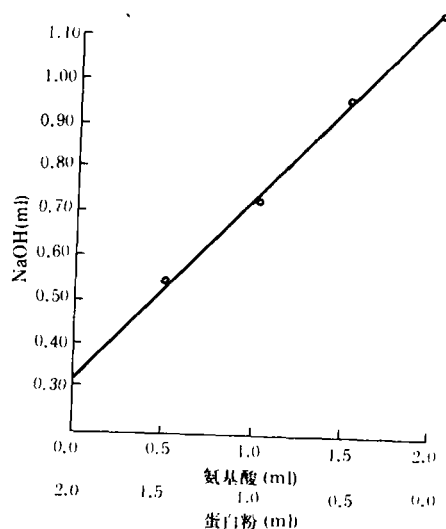


图 6 蛋白粉和氨基酸配比与 NaOH 耗量关系曲线

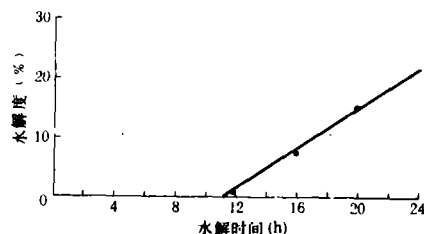


图 7 反应时间与水解的关系

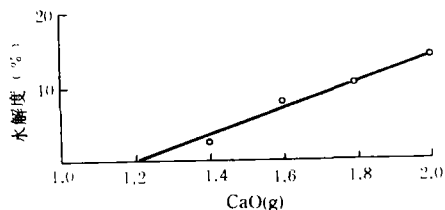
条件:压力 1.4kg/cm²CaO1.0g

成,氨基酸在蛋白质和氨基酸总量中的百分数即设定为水解度。

由图 7 可见,在该反应条件下,反应 11h 之后开始出现游离氨基酸,反应 24h,也只有 22% 的胶原蛋白水解为游离氨基酸。

2.2.2 CaO 用量与胶原蛋白水解的关系

CaO 的用量,决定了反应体系的 pH 值,而 pH 值的高低,将直接影响反应速度、Cr(Ⅲ)的溶解度及胶原蛋白的水解程度。由图 8 可见,在该反应条件下,CaO 用量在 1.2g 以下(为铬革渣的 6%),胶原蛋白没有水解出游离氨基酸,1.2g 以上,则随着 CaO 用量的增加,水解度也增大。但是,即使 CaO 增加至 2.0g(铬革渣的 10%),水解度也仅增至 14%,这说明由于 CaO 的溶解度很小,反应体系的碱性增大不很显著。

图 8 体系碱性¹与水解关系曲线条件:压力 1.4kg/cm² 反应时间 8h

3 结论

(1)用改进的甲醛滴定法可以测定铬革渣在碱性介质中蛋白质的水解度,为铬革渣资源化处理的实验和工业化生产提供了一种快捷的定量分析方法;

(2)铬革渣在碱性介质中长时间加热,其中

的蛋白质会水解成氨基酸。当反应压力为 1.4kg/cm²,CaO 加入量为铬革渣的 5%时,反应 11h 后便出现游离氨基酸;反应压力不变,在反应 8h 的情况下,CaO 用量超过铬革渣量的 6%时,也出现游离氨基酸。

参 考 文 献

- 1 Francis H D. Recovery and separation of nutritions hydrolysate and chromium from chrome leather scrap. *US patent* 4100154, 1978.
- 2 张修全. 黑龙江畜牧兽医. 1987,(10):8
- 3 蒋挺大. 环境科学学报. 1989,9(3):346
- 4 北京大学编写组. 生物化学实验. 北京:高等教育出版社,1980:45
- 5 Jiang Tingda, Mo Dihua, Chen Yiwan and Zhang Chunping. *Animal Feed Science and Technology*. 1992,37:175

海底潮轮发电

据英国政府能源技术支持机构一份新的报告称,放置在海底的“潮轮”通过利用潮汐能,可以产生英国 1/5 的电力。但甚至已确定的最佳位置——苏格兰北部沿海奥克尼群岛外的彭特兰湾也可以按现有 2 倍以上的速度发电。该报告称,一个拥有大约 5000 个直径各为 20m 的大型涡轮的奥克尼潮汐场,可以发电大约 25 ×

109kW·h。仅奥克尼就能满足英国 1/10 的电力需求。该报告的作者之一 Peter Fraenkel,目前正在安装苏格兰原子能委员会支持的一个 30 万美元项目中的、世界上第二台潮轮。从一个浮标上挂下的一个直径 4m 的试验性涡轮机,仅可发电 10kW。

小康译自 *ES&T*. 1993,27(6):995

捷克共和国 CO₂ 排放量大减

据位于布拉格的捷克科学院普通能源研究所(IGER)预测,自 1989 年“温和革命”以来已大大下降的捷克共和国的 CO₂ 排放量,可能再也不会回升到旧的水平。1988 年,前捷克斯洛伐克国内生产总值的单位能耗为美国的 2 倍。但通过检查 3 种排放方案,IGER 已得出结论:即便是最糟的设想,2020 年的 CO₂ 排放量也将比 1990 年下降 13%。通过增加除煤炭之外的燃料的使用

量,CO₂ 排放量会再下降 12%。IGER 的研究结果是最近在英国牛津召开的国际能源机构温室气体研究与发展规划的一次会议上提出的。即便在 1989 年革命(它已使国内生产总值下降 24%)之前,捷克共和国的 CO₂ 排放量就在下降。1991 年 CO₂ 排放量为 1985 年 CO₂ 排放高峰的 83.5%。

小康译自 *ES&T*. 1993,27(6):995

Prediction on Enviromental Noise in Tour Parks. Pan Zhonglin, Zhang Bangjun et al. (Department of Physics, Hangzhou University 310028); *Chin. J. Environ. Sci.*, **14** (5), 1993, pp. 1--4

A survey and investigation was made on the environmental noise at main parks in Hangzhou, it has been found that the noise level will increase by 3.2 dB when the density of tourists at scenery sites raised to 2.7 times. Regression equations are given in this paper. Using the equations to predict the noise level in other parks, the results are agree with the actual data well.

Key words: parks, environmental noise, noise prediction.

Improvement of Biochemical Oxygen Demand (BOD₅) Determination Method and Graphical Method of Handling BOD Test Results. Shi shaoqi, Zhu wanpeng et al. (Department of Environmental Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084); *Chin. J. Environ. Sci.*, **14**(5), 1993, pp. 5--8

This paper deals with the principle, process, experimental conditions and instruments of Graphical Method (GM) for determining BOD₅. The BOD₅ tests of some State Ceritified Reference Samples (SCRS) and representative wastewater samples were run with Standard Method (SM) and Graphical Method respectively. The BOD values of SCRS obtained by GM are in the range of known BOD values. The results from GM are compared with the results obtained by SM, the errors are within 5% or less. Experimental results show that Graphical Method simplifies the operation of BOD₅ determination, reduces the error and makes the determination more precise.

Key words: graphical method, standard method, biochmical oxygen demand.

Reclamation Treatment of the Scraps of Chrome VI.

The hydrolysis of Protein and the Determination. Jiang Tingda et al. (Research Centre for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085); *Chin. J. Environ. Sci.*, **14**(5), 1993, pp. 9--12

In the process of extracting protein by the dechroming of chrome leather scrap in basic medium, contributed to the hydrolysis of protein, amino acids appear in 11 h when the pH value is 13, and the reaction pressure is 1.4 kg/cm². The hydrolysis degree of protein increases as the reaction is proceeding and it also increases when the pH value is raised. The experiments demonstrate that, in a basic medi-

um, the hydrolysis degree of chrome leather scrap can be determined with a modified formaldehyde titration method.

Key words: reclamation treatment, Scraps of chrome.

Correlative Analysis between the Reflection Spectrum and Pollution Coefficients of Water in the Grand Canal through Southern Jiangsu. Fu Jiang et al. (Jiangsu Provincial Institute of Environmental Science, Nanjing 210029); *Chin. J. Environ. Sci.*, **14**(5), 1993, pp. 13--18

In the remote sensing study on water pollution of the Grand Canal through southern Jiangsu, 17 cross sections of water body of the canal, from which were simultaneously taken the samples for the determination of water quality, were synchronously measured using a field spectrum analyzer and the aerophotography. The correlative analysis and multiple regression analysis were carried out on the TM wave band and water organic pollution coefficients such as DO, CODMn, BOD₅, NH₃-N, NO₂-N and A value as a comprehensive evaluation A value of oil and organic pollution. Results show that the reflection spectrum of water body was highly correlated with the organic pollution coefficient; and A value, BOD₅, DO and CODMn made the highest contribution to R_{TM2 TM1}, which provide a scientific basis for water remote sensing study, interpretation, classification and the remote sensing quantitative analysis of water quality.

Key words: Grand Canal through Southern Jiangsu, water organic pollution, remote sensing.

Catalytic Hydrogenation of Carbon Dioxide and Characterization of ReY Supported Bimetal Catalysts. Xiaolong Yin et al. (Dept. of Appl. Chem., Taiyuan Univ. of Tech., Taiyuan 030024); *Chin. J. Environ. Sci.*, **14**(5), 1993, pp. 19--23

This work primarily concerned with the REY and ZSM-5 supported bimetal catalysts for the hydrogenation of carbon dioxide by autoclave experiments. The catalytic properties of the catalysts were tested and the activities decreased in the following order; for carbon dioxide methanation: Ru/REY > NiRu/REY > NiPd/REY > NiIr/REY; for synthesis of alcohols: NiCu/REY > Ni/REY > NiMn/REY > NiCo/REY. The conversion of carbon dioxide to methane is up to 76% over the 2% Ru/REY catalyst at 473 K, 3.9 MPa, ratio of hydrogen gas/carbon dioxide = 5, in a 20 hour run. The influence of reaction