

运用改性活性炭对烟叶氨基酸水解液进行脱色最佳工艺研究

田浩¹, 肖丹¹, 钊助胜², 石瑶¹, 潘俊¹, 王瀚墨¹, 李晚谊^{1*}, 夏禄华³

(1. 云南省农业科学院药用植物研究所, 昆明 650223; 2. 云南盟生药业有限公司, 昆明 650217;

3. 海正药业(杭州)有限公司, 浙江 富阳 311404)

摘要: 为提高烟草综合利用率, 以生产烟碱及茄尼醇后的烟叶废渣为原料, 通过酸水解生产氨基酸, 以不同酸碱溶液对活性炭进行改性, 以改性后的活性炭为脱色剂对氨基酸水解液进行脱色。研究活性炭脱色处理中活性炭处理方式、pH、活性炭用量、脱色温度、脱色时间等因素对各种氨基酸收率和脱色率的影响。结果表明, 最佳的脱色工艺为: 0.25% KOH 处理活性炭、pH=10、活性炭用量为 2.5%、脱色温度 20 °C、脱色 20 min, 所得产物氨基酸收率 79.14%, 脱色率达 83.89%。改性后的活性炭显著提高了 Tyr、His、Lys、Ile 和 Leu 这 5 种氨基酸的收率。

关键词: 烟草; 废弃物; 氨基酸; 活性炭; 脱色

中图分类号: S572.099

文章编号: 1007-5119 (2012) 04-0085-05

DOI: 10.3969/j.issn.1007-5119.2012.04.018

Study on the Active Carbon for Absorbing Amino Acids in Static State from Tobacco Waste Hydrolysates

TIAN Hao¹, XIAO Dan¹, CHUAN Zhusheng², SHI Yao¹, PAN Jun¹, WANG Hanmo¹, LI Wanyi^{1*}, XIA Luhua³

(1. Medical Plant Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223, China; 2. Yunnan Mengsheng Pharm Co., Ltd., Kunming 650217, China; 3. Hisun Pharmaceutical (Hangzhou) Co., Ltd., Fuyang, Zhejiang 311404, China)

Abstract: In order to enhance utilization efficiency of tobacco, the amino acid was produced by HCl hydrolysis from tobacco waste, and the amino acids solution was decolorized by activated carbon. The absorption capacity of 16 amino acids and the decoloration of tobacco waste hydrolysates by different activated carbon modified were investigated. The results showed that the optimum technology was as follow: the quantity of active carbon (with 0.25% KOH) 2.5%, temperature 20 °C, pH 10.0, time 20 min. The yield of amino acids was 79.14%, the decolorizing rate was 83.89% and the yield of total amino acids, Tyr, His, Lys, Ile and Leu had been improved greatly.

Keywords: tobacco; waste; amino acid; active carbon; decoloration

活性炭是一种应用广泛的吸附净化材料, 在水净化、食品等的精制脱色、气体吸附等领域均有应用^[1-4]。其表面含氧官能团中酸性基团越丰富, 对极性化合物吸附效率越高, 而当碱性基团较多时, 则易吸附弱极性或非极性物质^[5]。活性炭由于其优越的吸附性能, 在脱色领域发挥巨大作用。

近年来氨基酸产品发展迅速。活性炭在氨基酸水解液脱色领域发挥着重要作用, 但对部分氨基酸吸附作用过强, 导致收率极低。目前有人利用树脂吸附等方法对氨基酸水解液进行脱色, 收率提高,

但生产成本增加。研究者们用 HNO₃、HClO₂、H₂O₂、(NH₄)₂S₂O₈ 和 KOH 等试剂对活性炭进行改性处理^[6-8], 改善活性炭构造、表面官能团的种类和含量等以便控制其吸附及结合能力。本研究以烟叶废渣为原料生产氨基酸, 并采用不同改性剂对活性炭进行改性处理, 以改性后的活性炭为脱色剂对氨基酸水解液进行脱色处理, 研究改性后的活性炭对氨基酸水解液脱色效率及各种氨基酸收率的影响, 以达到活性炭表面化学性质改变提高其选择吸附性的目的。

基金项目: 昆明市科技计划项目“植物功能成分生产技术产业化研究”(昆科计字 08G040203 号)

作者简介: 田浩, 男, 硕士, 主要从事药用植物成分方面的研究。*通信作者, E-mail: wanyili@yahoo.com

收稿日期: 2010-07-15

修回日期: 2011-05-20

1 材料与方法

1.1 试验材料、仪器和试剂

提取烟碱及茄尼醇后的烟叶废渣的制备：取低次烟叶用 90%乙醇超声提取，过滤，取滤渣，烘干备用^[9-10]。

Waters 高效液相色谱仪（600 型泵，717 自动进样器，2487 可变波长紫外检测器）。电子天平（Startorius），pH 仪（雷磁 PHS—3C），去离子水制备系统（ELGA 公司），电子分析天平（METTLER TOLEDO），超声波清洗仪（上海声源超声波仪器设备），真空干燥箱（上海实验仪器厂有限公司）。

AccQ—Flour™ 氨基酸专用衍生剂，玻璃样品衍生管，氨基酸对照品（批号：624—200104）（中国药品生物制品检验所提供）：色氨酸（Trp），天冬氨酸（Asp），丙氨酸（Ala），蛋氨酸（Met），赖氨酸（Lys），苯丙氨酸（Phe），谷氨酸（Glu），甘氨酸（Gly），组氨酸（His），精氨酸（Arg），异亮氨酸（Ile），亮氨酸（Leu），脯氨酸（Pro），丝氨酸（Ser），酪氨酸（Tyr），苏氨酸（Thr），缬氨酸（Val）；乙腈为色谱纯（TEDIA 公司），去离子水自制，其余试剂为分析纯。

1.2 活性炭改性处理

取活性炭各 30 g，分别加入去离子水、体积分数 3%硫酸、质量分数 0.25% KOH、体积分数 5% 醋酸 150 mL，在恒温水浴锅中 60 °C 搅拌处理 4 h，过滤、取活性炭，用去离子水洗涤至 pH 7.0，在 110 °C 烘箱中烘干至恒重，置于干燥器中备用。

1.3 氨基酸测定

1.3.1 色谱条件 采用高效液相色谱法测定各试样中的 16 种氨基酸含量。色谱条件为：色谱柱：Waters AccQ•Tag 氨基酸分析柱（3.9 mm × 150 mm，4 μm）；流速：1.0 mL/min；柱温：25 °C；检测波长：248 nm；进样量：5 μL；流动相 A：称 19.04 g 三水合乙酸钠，加 1000 mL 去离子水溶解，用 50% H₃PO₄ 将 pH 调至 5.20，加入 1 mg/mL 的 EDTA 溶液 1 mL，加入 2.37 mL 三乙胺，用 50% H₃PO₄ 将

pH 调至 4.95，流动相 B：60% 乙腈溶液；梯度洗脱程序如表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	流速/(mL·min ⁻¹)	A/%	B/%	曲线
0	1.0	100	0	*
0.5	1.0	95	5	6
23.5	1.0	91	9	6
26.0	1.0	90	10	6
36.0	1.0	85	15	6
40.5	1.0	77	23	6
50.5	1.0	72	28	6
63.5	1.0	70	30	6
66.5	1.0	0	100	6
69.5	1.0	0	100	6
70.5	1.0	100	0	6
81.0	1.0	100	0	6

1.3.2 氨基酸对照品的配制 分别准确称取一定量的 17 种氨基酸对照品，加 pH 9.00 的水溶液制成与供试品溶液相应浓度的对照品溶液，作为氨基酸对照品原液。

1.3.3 氨基酸柱前衍生方法 分别准确量取对照品溶液和供试品溶液各 20 μL，加入衍生专用管底部，加入 60 μL AccQFluor 硼酸缓冲液旋涡混匀，边混匀边加入 20 μL 衍生剂，封口放置 1 min，放入 55 °C 恒温水浴锅中准确保温 10 min，冷却至室温，待用。

1.4 脱色率测定方法

将样品处理液稀释 5 倍，在紫外-可见分光光度计进行波长扫描，选择 390 nm 为检测波长，测定其吸光度。

1.5 活性炭脱色工艺过程及参数优化

1.5.1 氨基酸水解液制备 按原料（生产烟碱及茄尼醇后的烟叶废渣）：HCl 溶液（6 mol/L）=1:18（g/mL）的比例，在 120 °C，真空条件下，水解 12 h，过滤取滤液，得氨基酸水解液。

1.5.2 活性炭脱色工艺过程 将滤液分成若干等分，加 10 mol/L 的氢氧化钠，调节至一定 pH，过滤，得滤液，加入一定量的经不同改性处理的活性炭，在一定温度与 pH 条件下吸附一段时间，过滤，得滤液，用 HCl 或 NaOH 溶液调 pH 至 9.00，检测其色素吸光度及氨基酸含量。

2 结果与讨论

2.1 改性剂的确定

由图1可见,在本试验条件下(pH 7.00, 脱色温度 40 °C, 活性炭用量 1.5%, 脱色 40 min), 经过水处理的活性炭脱色效率最好, 但是其氨基酸的收率较低。作为好的活性炭, 应该考察其氨基酸收率较高及脱色能力强。综合考虑, 0.25% KOH 溶液处理的活性炭, 其氨基酸收率最高, 而且脱色能力较强。因此, 本研究选用 0.25% KOH 溶液处理的活性炭作为继续研究的材料。

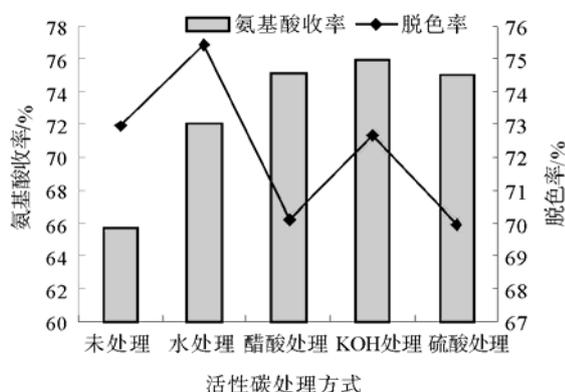


图1 活性炭改性剂处理对氨基酸收率及脱色率的影响

Fig. 1 The effect of active carbon modifier on absorption and de-coloration rates of amino acids

2.2 pH

由图2可见, 以 0.25% KOH 改性处理的活性炭为脱色剂, 在脱色温度为 40 °C, 活性炭用量 1.5%, 脱色 40 min 条件下, 随着 pH 的升高, 氨基酸的收率逐渐增加, 并且脱色率也逐渐增加。综合考虑, 最佳 pH 为 10.0。此与前人所得出的活性炭在 pH < 5.0 时脱色效果最佳的结论^[11-12]不完全一致, 可能是因为活性炭经过 KOH 溶液改性后, 其内部空隙结构及表面官能团被改变, 使其最佳脱色 pH 偏碱性。氨基酸的收率随着 pH 的升高, 在 pH 8 时达到最大, 在 pH 10 时, 略有减少。因此, 经过 0.25% KOH 溶液改良活性炭在 pH 10.0 条件下, 有最好的脱色性能及较高的氨基酸收率。

2.3 活性炭用量

由图3可见, 在 pH 为 10.0, 脱色温度为 40 °C, 脱色 40 min 条件下, 活性炭脱色率随活性炭用量的

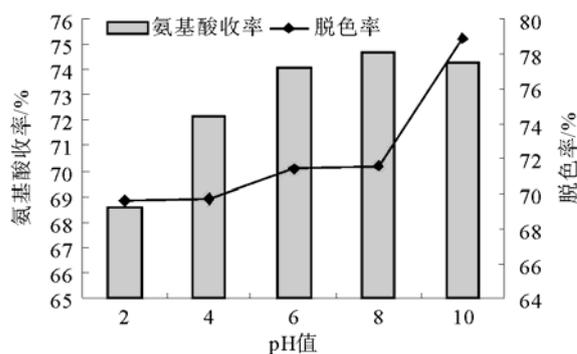


图2 pH对氨基酸收率及脱色率的影响

Fig. 2 The effect of pH on absorption and de-coloration rates of amino acids

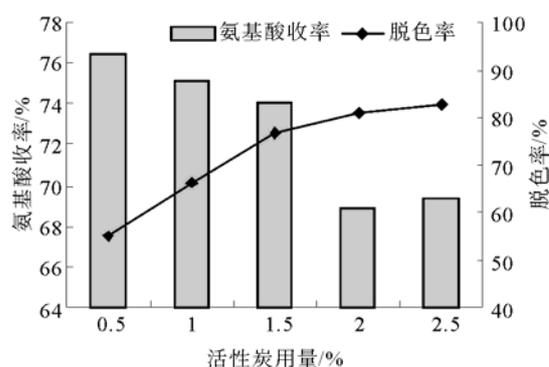


图3 活性炭用量对氨基酸收率及脱色率的影响

Fig. 3 The effect of active carbon rate on absorption and de-coloration rates of amino acids

增加而增加, 但氨基酸收率逐渐降低, 在 0.5% ~ 1.5% 范围内, 脱色率随活性炭用量的增加而增加, 而氨基酸收率略有减少, 在 1.5% ~ 2.5% 的范围内, 随着活性炭用量的增加, 脱色率仅有小幅度增加, 而氨基酸收率明显降低。因此, 当活性炭用量达 1.5% 时, 氨基酸的收率及溶液脱色率达到最佳。

2.4 脱色温度

由图4可见, 在 pH 为 10.0, 活性炭用量为 1.5% 的脱色 40 min 条件下, 温度对活性炭的脱色能力影响不大, 在 80 °C 时脱色效果最佳。但温度对氨基酸收率影响较大, 在 60 °C、80 °C 下, 氨基酸收率有较大增高, 综合考虑, 选 80 °C 为最佳脱色温度。

2.5 脱色时间

由图5可见, 在上述最佳条件下, 随着脱色时间的增加, 氨基酸收率及脱色率均呈现先增加后减少的趋势, 在 40 min 是氨基酸的收率及氨基酸的脱色率达到最佳, 因此, 脱色 40 min 为优选。

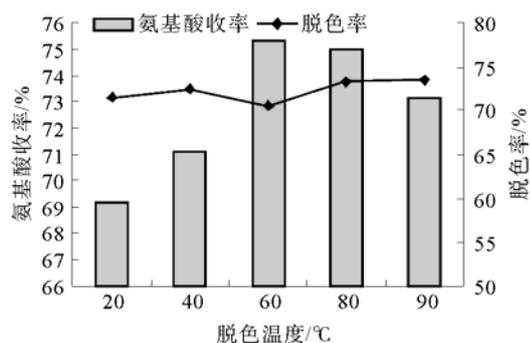


图4 脱色温度对氨基酸收率及脱色率的影响

Fig. 4 The effect of de-coloration temperature on absorption and de-coloration rates of amino acids

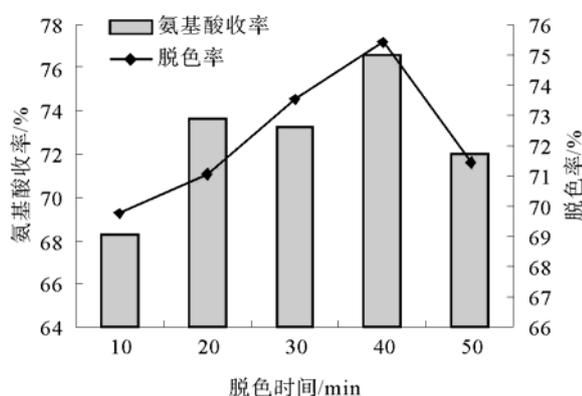


图5 脱色时间对氨基酸收率及脱色率的影响

Fig. 5 The effect of de-coloration time on absorption and de-coloration rates of amino acids

2.6 不同活性炭处理对各种氨基酸的吸附

在上述单因素试验的基础上, 选用正交试验,

研究这5个因素对烟草工业废弃物水解液中氨基酸收率及脱色率的综合影响, 最终确定最佳的生产工艺为: 0.25% KOH 溶液处理活性炭、pH 10、活性炭用量为 2.5%、脱色温度 20 °C、脱色 20 min。所得产物氨基酸收率 79.14%, 脱色率达 83.89%。

根据以上试验步骤, 确定未处理活性炭、水处理活性炭、硫酸处理活性炭及醋酸处理活性炭为最佳脱色工艺。同时在最佳条件下, 比较各种处理方法的活性炭对该氨基酸水解液中各氨基酸吸附率的影响, 结果见表 2。由于氨基酸的结构中均有 -COOH 和 -NH₂ 结构, 所以各种处理方式的活性炭对各种氨基酸均有不同程度的吸附, KOH 处理的活性炭对总氨基酸的吸附量最小为 20.86%。其中 Tyr 和 Phe 由于其结构中含有芳环, 所以最容易被吸附, 因此吸附率最大, 而通过 KOH 改性后活性炭大大降低了活性炭对 Tyr 的吸附率。经过处理的活性炭 His、Lys、Ile、Leu 这 4 种氨基酸的吸附率都有所下降, 收率提高, 提升了活性炭性能。

3 结论

经 0.25% KOH 溶液改性处理的活性炭脱色的最佳工艺为: 0.25% KOH 溶液处理活性炭、pH=10、活性炭用量为 2.5%、脱色温度 20 °C、脱色 20 min。

表2 不同处理活性炭对氨基酸的吸附率

%

Table 2 The different modified active carbon on adsorption rate of amino acids

名称	未处理	水处理	硫酸处理	KOH 处理	醋酸处理
Asp	2.96	26.37	8.21	27.66	21.18
Ser	6.42	0.02	0.06	0.02	0.05
Glu	7.03	8.80	18.72	11.38	12.7
Gly	3.17	0.09	0.07	0.03	4.52
His	57.83	49.34	75.80	0.40	21.83
Thr	0.31	0.02	0.02	0.01	0.05
Arg	72.42	57.25	43.33	51.88	69.38
Ala	0.07	0.32	0.07	0.02	0.04
Pro	0.22	0.13	0.03	0.01	0.02
Val	3.55	0.07	0.01	0.05	0.03
Tyr	88.86	93.60	91.38	54.59	83.13
Met	52.20	45.30	39.72	32.97	54.36
Lys	24.32	0.13	0.03	0.09	0.03
Ile	37.34	8.97	1.37	1.46	16.47
Leu	44.02	9.05	4.38	2.69	19.69
Phe	94.80	95.10	91.01	84.42	91.62
总氨基酸	33.70	31.03	30.41	20.86	29.65

所得产物氨基酸收率 79.1%，脱色率达 83.89%。经 0.25% KOH 溶液改性处理的活性炭，提高了氨基酸的收率，大大减少了活性炭对 Tyr、His、Lys、Ile 和 Leu 这 5 种氨基酸的吸附率。

参考文献

- [1] Manuel Fernando R Pereira, Samanta F Soares, José J, et al. Adsorption of dyes on activated carbons: influence of surface chemical groups[J]. Carbon, 2003, 41(4): 811-821.
- [2] Satoshi Mitani, Sang-Ick Lee, Seong-Ho Yoon, et al. Activation of raw pitch coke with alkali hydroxide to prepare high performance carbon for electric double layer capacitor[J]. J. Power Sources, 2004, 133: 298-303.
- [3] Pupier O, Coetz V, Fiscal R. Effect of cycling operation on an adsorbed natural gas storage[J]. Chem. Eng. Proc., 2005, 44: 71-79.
- [4] 周建斌,张合玲,张齐生. KOH 改性活性炭对木糖液脱色性能的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 255(3): 95-99.
- [5] Yin C W. Review of modifications of activated carbon for enhancing contaminant uptakes from aqueous solutions[J]. Separation and Purification Technology, 2007, 52: 403-415.
- [6] Morawski A W, Inagaki M. Application of modified synthetic carbon for adsorption of trihalomethanes from water [J]. Desalination, 1997, 114: 23-27.
- [7] Vinke P, Van Verbree M, Voskamp A F, et al. Modification of the Surface of gas-active carbon and a Chemically activated carbon with HNO₃[J]. Carbon, 1994, 32(4): 675-686.
- [8] 范顺利,孙剑辉,李红星. 改性活性炭的吸附性能变异探讨[J]. 河南师范大学学报, 1995(4): 48-50.
- [9] 祖元刚,赵春建,李春英,等. 鲜法匀浆萃取烟叶中茄尼醇的研究[J]. 高效化学工程学报, 2005, 19(6): 757-761.
- [10] 中南大学. 从废次烟草中同时提取高纯天然烟碱和茄尼醇的方法: 中国, CN101050212A[P]. 2007-10-10.
- [11] 孙颀,何慧,谢笔钧. 活性炭脱色对灵芝水提液活性成分的影响[J]. 化学工业与工程技术, 2001, 22(1): 5-8.
- [12] 孙淑斌,王传怀. 活性炭对氨基酸混合液吸附脱色的研究[J]. 中国生化药物杂志, 1995, 16(4): 180-181.