

几种 L- α -氨基酸的消旋化作用及结构分析

张应年，李生英，徐飞

(兰州师范高等专科学校化学系 绿色化学实验与教学研究所,甘肃兰州 730070)

摘要 选择 L-Lys、L-Met、L-Trp、L-Phe、L-Leu 为代表,固定反应时间为 1h,试验了在不同 pH 及温度条件下 L- α -氨基酸的消旋化程度。结果表明 不同 L- α -氨基酸在一定条件影响下的消旋化程度不同,而 R-基团的不同电子效应及空间位阻的影响是造成这种差异的主要原因。

关键词 L- α -氨基酸 消旋化 结构解释

Abstract: L-Lys, L-Met, L-Trp, L-Phe and L-Leu were selected as the representatives of L- α -amino acid. Their racemization degrees were tested in 1h reaction time and at different pH and temperature. The results indicated that different L- α -amino acid has different racemization degrees. The reasons for this were electronic effect and steric hindrance of R-group in aminophenol.

Key words: L- α -amino acid; racemization; structural analysis

中图分类号: TS201.2⁴ 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2005)12-0151-03

天然蛋白质水解所得氨基酸中,除甘氨酸外,其他所有 α -碳原子均具有手性而有旋光性,且多为 L 型结构^[1]。L- α -氨基酸在食品加工中条件不当如碱性、高温条件下随时间增长会发生构型异构,转变为无营养价值的 D-氨基酸,并致使旋光度下降(外消旋),即为 L- α -氨基酸的消旋化作用^[2-4]。L- α -氨基酸消旋化作用与 pH、温度、反应时间等诸因素有关。本文分别对 L-Lys、L-Met、L-Trp、L-Phe、L-Leu 五种氨基酸在不同 pH 及温度条件下固定反应时间(1h)的消旋化程度进行了实验比较,并从结构理论上探讨了消旋化的规律性。

1 几种 L- α -氨基酸消旋化实验

1.1 实验操作

精确称量 L-Lys 5.000g 和 L-Met、L-Trp、L-

收稿日期: 2005-03-16

作者简介: 张应年(1948-),男,教授,研究方向:食品分析及应用。

Phe、L-Leu 各 1.000g, 分别溶解于 4mol/L 浓度的 HCl 溶液中, 定容到 50mL, 放置至室温, 测旋光度 $[\alpha]$, 并以此为各 L-氨基酸的旋光度起始值。按量值重新称量以上各 L-氨基酸各两份, 分别以定量 NaOH(s) 调节 pH 达 8~9 及 10~11 两个档次(以 pHS-2C 酸度计测值), 溶液体积定容为 50mL。将两档不同 pH 的 L- α -氨基酸溶液置于 50~60℃ 恒温水浴槽及沸腾回流两种条件下各保持 1h, 反应结束后将各种反应液晾至室温, 并分别用 12mol/L 浓 HCl 中和至中性, 再通过计算用浓 HCl 调整溶液酸浓度仍为 4mol/L, 并定容至 100mL, 冷却到室温测旋光度 $[\alpha]$, 与起始旋光度 $[\alpha]$ 值对比, 计算出消旋化百分率。测定用旋光仪为 WZX-1 型, 旋光管长为 2dm。

1.2 实验结果

表 1 和表 2 分别为五种 L- α -氨基酸在不同反应条件下的旋光度及消旋化百分率数值。

由表可见, 不同 L- α -氨基酸在一定条件影响下消旋化程度有差异:L-Lys 极易消旋化, 且与 pH 呈明显正相关性; L-Met 和 L-Leu 虽较易消旋化, 但与 pH 无明显相关性, 而却对温度较敏感; L-Trp 和 L-Phe 不易消旋化, 但与 pH、温度均呈正相关性。

2 L- α -氨基酸消旋化规律的理论解释

2.1 L- α -氨基酸消旋化的结构理论解释—“碳负离子”形成学说^[5]

2.1.1 α -C⁰ 的形成过程解释 α -C 上的活泼氢在碱性溶液中易被离去而形成 α -C 负离子(其 α -H 的 pK 值一般均低于 20, 其活泼性大于丙酮的 α -H), 且 pH 越高, 温度越高, 反应时间越长, α -C⁰ 形成量越多, 消旋化程度越高。

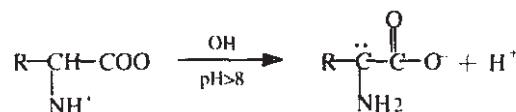


表 1 五种 L- α -氨基酸在不同反应条件下的 $[\alpha]$ 值(反应时间 1h)

名称	起始 $[\alpha]$ 值	沸陏回流 $[\alpha]$ 值		50~60℃恒温 $[\alpha]$ 值	
		pH8~9	pH10~11	pH8~9	pH10~11
L-Lys	+4.50 (右旋)	2.04	1.96	2.05	1.97
L-Met	+0.92 (右旋)	-0.77	-0.68	-0.81	-0.70
L-Trp	+0.36 (右旋)	0.34	0.33	0.355	0.35
L-Phe	-0.18 (左旋)	-0.14	-0.12	-0.15	-0.14
L-Leu	+0.49 (右旋)	0.25	0.25	0.275	0.27

表 2 五种 L- α -氨基酸的消旋化百分率(%)

名称	沸陏回流		50~60℃恒温	
	pH8~9	pH10~11	pH8~9	pH10~11
L-Lys	54.3	56.5	54.2	56.3
L-Met	42.4	43.5	39.2	39.2
L-Trp	5.56	8.34	1.40	2.80
L-Phe	22.3	33.4	16.7	22.3
L-Leu	49.0	49.0	43.9	44.9

2.1.2 L- α -碳负离子构型转变($Csp^3 \rightarrow Csp^2$) α -C⁰(Csp^3)形成后,其碳原子上电子云密度较大,呈不稳定结构,电子云易向羧基碳原子转移,共振重排为非手性的烯胺构型:



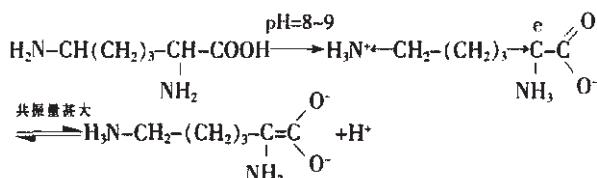
α -C⁰随即由 sp^3 杂化态变为 sp^2 杂化态。不同 L- α -氨基酸有不同的 R-基团,其电子效应不同,对形成 α -C⁰ 后构型的共振转变数量会有不同影响。R-基团具斥电子效应,使形成 α -C⁰ 更趋不稳定,共振异构转变量大,导致 L- α -氨基酸消旋化百分率增大;R-基团具吸电子效应,使形成 α -C⁰ 上负电荷分散趋相对稳定状态,共振异构转变量小,故 L- α -氨基酸消旋化百分率降低。

2.2 五种 L- α -氨基酸消旋化率差异的具体探讨

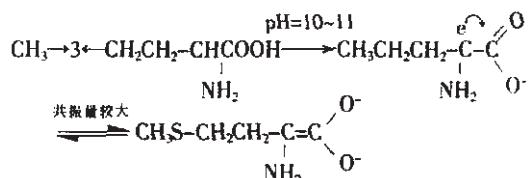
五种 L- α -氨基酸的 R-基团(即构成蛋白质或多肽链中的支链部分)^①的不同电子效应及空间位阻的影响是不同氨基酸在一定反应条件下消旋化率差异的原因。

2.2.1 L-Lys 极易消旋化,其分子结构中含较长的烷烃基链,显示较强斥电子效应。当 pH=10~11 时, $-NH_2$ 仅显示极弱吸电子效应,故生成 α -C⁰ 的不稳定,显示出很高的消旋化率。当 pH 降到 8~9 时,由于 L-Lys 的等电点 pI=9.74,会使 L-Lys 显示部分正电性,且 $-NH_2$ 也可获部分正电荷使其吸电子效应有所增强,从而使生成的 α -C⁰ 稳定性有所增强,消旋化比率也适当降低。反应过程为:

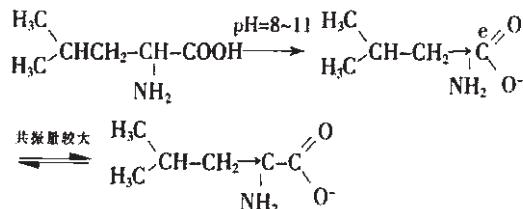
2.2.2 L-Met 属易消旋化的限制氨基酸,消旋化率与 pH 无明显相关性,但对温度较为敏感。其原因是 L-Met 分子中 γ -碳原子上连有-SCH₃ 基,虽然 S 原子



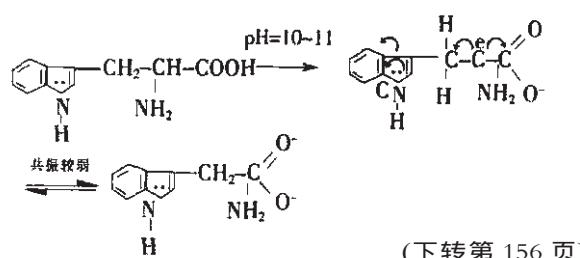
有一定电负性,但其吸电子效应会被甲基斥电子效应所抵消,且分子中较长的碳链也产生电子效应的缓冲作用,故在高 pH 条件下,不会增强斥电子效应,造成结果是 L-Met 的消旋化率与 pH 改变无明显相关性。但温度升高则会破坏分子结构中 d-p 反馈键的形成,在相同 pH 下比低温条件更易消旋化。



2.2.3 L-Leu 属易消旋化的必需氨基酸,是因为分子中 R 基为异丁基,具明显斥电子作用,使 α -C⁰ 离子稳定性减弱的缘故。但异丁基的电子效应与 pH 并无明显相关性,而温度升高却可适当加速 α -C⁰ 的生成,相应消旋化率也会适当增大。反应过程为:



2.2.4 L-Trp 属最不易消旋化的限制氨基酸,其原因是分子中 R 基为吲哚基团,结构中亚甲基与吡咯环之间会产生 σ - π 超共轭效应,从而使 β -C 原子上的电子云向吡咯环转移。同时,吡咯环上氮原子的孤电子对又与苯环产生 p- π 共轭效应而使电子进一步向



(下转第 156 页)

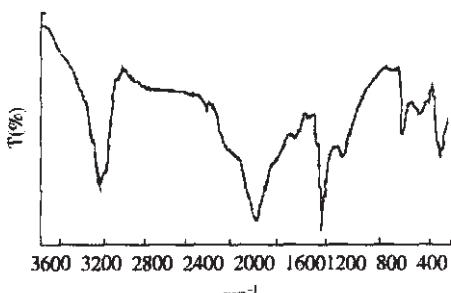


图4 产品草酸的IR谱图

完全一致,加上熔点、定性和外观等实验的结果,因此综合分析可以确定产物草酸。

4 结束语

4.1 本工艺采用了复合水解新方法,复合水解条件温和,均在常温常压下进行,而且避免了直接酸解时由于酸的浓度高、水解不很彻底、条件不易控制可能出现液泛和产生一些难闻的有害气体等使生产环境恶化等缺点;另外,还能使原料水解更彻底,使原料利用率提高。

4.2 在综合利用上,本工艺一方面对母液采用了重复使用的方法,对反应过程中产生的尾气采取空气氧化后通入氧化反应釜的办法,这样既减少了原材料的消耗,提高了草酸产率,同时还减少了废液处理和排放,有效地防止了污染。另外对反应后的残渣采用先用氨中和,然后制成含有硝态和铵态氮、微量元素钼等多农作物营养素的多元复合肥料,既可增加经济效益,又增加环境效益。

4.3 用菠萝加工废弃物作原料,采用复合水解-氧化-水解新工艺制取草酸是可行的。其最佳工艺条件是:复合水解是先在温度 $40\pm5^{\circ}\text{C}$ 、试样水分不低于35%、 $\text{pH}5\sim7$ 、酶用量0.005%~0.015%条件下用复合酶酶解8~12h,然后以质量分数为25%~40%的硫酸、

温度 $40\pm5^{\circ}\text{C}$ 下水解4~6h,氧化在4#复合催化剂用量为0.25~0.4g下以混酸(硝酸:硫酸:水=28~32:42~38:30)料液质量比为1:1.0~1.4、温度 $60\pm5^{\circ}\text{C}$ 下氧化60~90min,结晶纯化后可制得二水合草酸,其得率和纯度分别为62.8%~63.2%、99.5%以上,制得的草酸经检验各项指标均与市售分析纯标准品相一致。

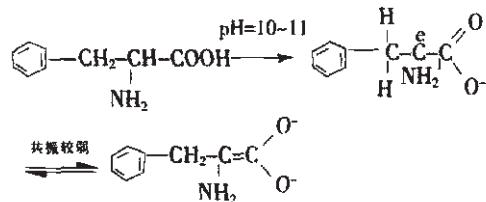
4.4 本工艺方法简单,操作平稳安全,反应条件温和,原料易得,经济效益可观和环境效益高;但本工艺方法是否适用于其它果蔬废料和农作物的秸秆等副产物,还有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 季清荣. 碳水化合物催化氧化制草酸[J]. 化学世界, 1988(11):491~493.
- [2] 陈建初. 从葡萄糖母液中制草酸研究[J]. 化学世界, 1990(3):128~130.
- [3] 陈永, 曹红霞, 张明. 用淀粉和稀硝酸制取草酸的新方法[J]. 开封大学学报, 1996(2):39~40.
- [4] 郭学阳. 玉米秆制取草酸的研究[J]. 天然气化工, 1990(4):38~43.
- [5] 化工部情报所编. 化工产品手册[M]. 北京:化学工业出版社, 1985.
- [6] 王俏, 闫宗光, 董武. 植物纤维制取草酸新工艺[J]. 日用化学工业, 2001(6):59~60.
- [7] sanchaisurinya P, Thammabut B. Effect of pineapple waste in growing-finishing pig diets[J]. Kaen Kaset Agriculture Journal, 1994, 2(4):193~197.
- [8] 杨礼富, 谢贵水. 菠萝加工废料——果皮渣的综合利用[J]. 热带农业科学, 2002, 22(4):67~71.
- [9] 武汉大学主编. 分析化学实验(第四版)[M]. 北京:高等教育出版社, 2002.

(上接第152页) 苯环分散,两种共轭效应共同作用的结果使生成的 $\alpha\text{-C}_6$ 的电子云密度大降,稳定性大增,这种共轭生成烯胺构型的量也降到最少,形成了在强碱性溶液中最难消旋化的结果。

2.2.5 L-Phe属不易消旋化的必需氨基酸,R基为苯基,同样因 $\sigma\text{-}\pi$ 超共轭效应, $\beta\text{-C}$ 上的电子云向苯环转移。造成 $\alpha\text{-C}^{\beta}$ 上电子密度得到一定程度分散而更趋稳定,结果使烯胺型共振构型中间体形成量减少,消旋化率也较低。反应过程为:



参考文献:

- [1] 曾昭琼主编. 有机化学(第三版)[M]. 北京:高等教育出版社, 2004. 611~617.
- [2] Masters Patricia M J. Racemization of Aa in alkali-treated food protein[J]. Agric Food Chem, 1979, 27(3):507~511.
- [3] Liardon Remy, Hurrell Richard F. Aa recemicization in heated and alkali-treated proteins[J]. Agric Food Chem, 1983, 31(2):432~437.
- [4] Jenkins. Nutritional characteristics of alkali-treated zein [J]. J Agric Food Chem, 1984, 32(5):1035~1041.
- [5] 刘至皋主编. 食品营养学[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1991. 130~131.