

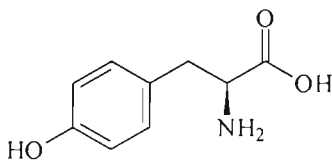
# Nghiên cứu chiết tách L-tyrosin từ dịch thủy phân keratin

Nguyễn Đình Luyện, Nguyễn Thị Thu Cúc  
Trường đại học Dược Hà Nội

## Đặt vấn đề

Trong một nghiên cứu trước đây, từ dịch thủy phân một số nguồn keratin (tóc, sừng, lông gia súc) chúng tôi đã tách riêng được L-cystin làm nguyên liệu bán tổng hợp N-acetyl-L-cystein<sup>[1]</sup>. Phần dịch thủy phân sau khi tách L-cystin vẫn còn lại một số acid amin, trong đó L-tyrosin còn 3-6%<sup>[2,3]</sup>. L-tyrosin là một acid amin có nhiều ứng dụng trong thực tế như làm nguyên liệu để bán tổng hợp thyroxin (T4), liothyronin (T3) là hai thuốc điều trị thiếu năng tuyến giáp được dùng phổ biến hiện nay. Ngoài ra, nó còn được dùng để bổ sung vào thành phần một số sữa dùng cho trẻ em để giúp phát triển trí tuệ.

Chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu tách L-tyrosin từ dịch thủy phân keratin nhằm góp phần làm giảm giá thành của quá trình bán tổng hợp N-acetyl-L-cystein và tạo nguyên liệu bán tổng hợp T3 và T4.



L-tyrosin

## Nguyên liệu và phương pháp:

### Máy móc và thiết bị:

- Máy đo pH Cyber Scan 500 (Singapor)
- Máy đo nhiệt độ nóng chảy Gallenkamp (Đức)
- Tủ sấy Memmert (Đức)
- Phân cực kế A-KRUSS P1000-Đức
- Máy cất quay Buchi B-480 (Thụy Sĩ)
- Máy đo phổ hồng ngoại Perkin Elmer
- Máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân Bruker Av 500

## Nguyên liệu và hoá chất:

- Nguyên liệu keratin (tóc, phơi sừng, lông lợn)
- Acid hydrocloric (Trung Quốc)
- Natrihydroxyd (Trung Quốc)
- Than hoạt (Nhật)
- L-cystin (Merck)
- L-tyrosin (Merck)

## Phương pháp thực nghiệm:

- Nguyên liệu keratin được thủy phân bằng acid hydrocloric 20% đến khi quá trình thủy phân xảy ra hoàn toàn (phản ứng Biuret âm tính)<sup>[4]</sup>.

- Việc tách riêng L-cystin và L-tyrosin được thực hiện bằng phương pháp điều chỉnh pH của dịch thủy phân keratin (bằng dung dịch NaOH hoặc Na acetat) đến các giá trị thích hợp để kết tủa các acid amin riêng biệt<sup>[2,3,5,6]</sup>.

## Thực nghiệm và kết quả

### Xác định pH và hiệu suất kết tủa L-tyrosin và L-cystin:

a) Hòa tan 1,0g L-tyrosin vào 20ml HCl 1M. Dùng dung dịch NaOH 1M điều chỉnh để dung dịch có kết tủa hoàn toàn (pH=2,5). Lọc thu kết tủa, sấy đến khối lượng không đổi. Thu được 0,90g L-tyrosin. Hiệu suất kết tủa đạt 90%.

b) Hòa tan 1,0g L-cystin vào 20ml dung dịch HCl 1M. Dùng dung dịch NaOH 1M điều chỉnh để dung dịch có kết tủa hoàn toàn (pH=4,5). Lọc thu kết tủa, sấy đến khối lượng không đổi. Thu được 0,93g L-cystin. Hiệu suất kết tủa đạt 93%.

c) Hòa tan 1,0g L-tyrosin và 1,0g L-cystin vào 40ml dung dịch HCl 1M. Điều chỉnh pH của dung dịch hỗn hợp hai chất về pH=2,5 bằng dung dịch NaOH 1M, để yên ở nhiệt độ phòng 3 giờ cho L-tyrosin kết tủa hoàn toàn. Lọc thu kết tủa. Tinh chế lại bằng cách hoà tan trong HCl

# ● Nghiên cứu - Kỹ thuật

1M, sau đó chỉnh pH=2,5 để kết tủa L-tyrosin. Lọc và sấy đến khối lượng không đổi.

Dịch lọc sau khi kết tủa L-tyrosin tiếp tục dùng NaOH 1M điều chỉnh về pH=4,5 và để kết tủa L-cystin 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Lọc thu kết tủa và tinh chế giống trường hợp trên.

Kết quả thu được:

- 0,79g L-tyrosin (79%), phân huỷ ở nhiệt độ >300°C.

- 0,83g L-cystin (83%), nhiệt độ nóng chảy 258°C.

## Tách và tinh chế L-tyrosin từ dịch thủy phân keratin

- Lấy 100g nguyên liệu keratin cho vào bình cầu 1 lít, thêm vào đó 300ml HCl 20%. Đun hồi lưu khoảng 20 giờ cho đến khi phản ứng Biuret trở nên âm tính để thủy phân hoàn toàn keratin. Tẩy màu khỏi phản ứng bằng 4g than hoạt, lọc nóng. Để nguội, vừa khuấy vừa thêm từ từ dung dịch NaOH 20% vào dịch thủy phân để điều chỉnh đến pH=5. Để yên hỗn hợp này ở nhiệt độ phòng trong 3 ngày. Lọc lấy tủa, tủa này gồm có cả L-tyrosin và L-cystin.

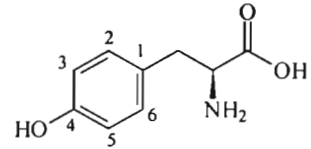
- Hòa tan tủa thu được trong 150 ml HCl 1M và tẩy màu bằng 3g than hoạt ở nhiệt độ 70-80°C. Nếu dịch lọc vẫn có màu vàng thì tẩy màu tiếp một lần nữa với 1g than hoạt. Điều chỉnh dịch lọc về pH=3 bằng NaOH 1M và để kết tủa L-tyrosin ở nhiệt độ phòng khoảng 3-5 giờ. Lọc lấy tủa đem tinh chế, dịch lọc giữ lại để tiếp tục thu L-cystin. Tinh chế sản phẩm L-tyrosin bằng cách hòa tan lại trong HCl 1M rồi đưa về pH=3 bằng NaOH 1M. Sau đó lọc và sấy L-tyrosin ở nhiệt độ 60°C đến khối lượng không đổi. Dịch lọc sau khi thu L-tyrosin, dùng NaOH 1M đưa về pH=5 để kết tủa L-cystin.

Tiến hành thí nghiệm với 3 loại nguyên liệu là tóc, sừng và móng, chúng tôi thu được kết quả sau:

STT	Nguyên liệu	Lượng nguyên liệu (g)	Lượng L-tyrosin thu được (g)	Hiệu suất (%)
1	Sừng	100	2,8	2,8
2	Móng lợn	100	2,5	2,5
3	Tóc	100	2,4	2,4

Sản phẩm L-tyrosin phân huỷ ở nhiệt độ >300°C,  $[\alpha]_D^{20} = -11,9^\circ$  (c=4 trong HCl 1N).

Kết quả phân tích cấu trúc:



## - Phổ IR.

L-tyrosin điều chế được $\nu_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	L-tyrosin chuẩn $\nu_{max}$ (cm <sup>-1</sup> )	Nhóm chức
3206,5	3205,5	-NH <sub>2</sub>
2961,0	2960,7	-OH
1588,7	1589,4	-C=O

- Phổ <sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O+CF<sub>3</sub>COOD): δ 3,16-3,27 (2H, d, -CH<sub>2</sub>), 4,27 (1H, t, -CH), 6,91 (2H, d, C<sub>2</sub>H + C<sub>6</sub>H), 7,21 (2H, d, C<sub>3</sub>H + C<sub>5</sub>H).

## Kết luận

Bằng phản ứng thủy phân một số nguồn keratin trong môi trường acid và lựa chọn pH kết tủa thích hợp, chúng tôi đã phân riêng được hai acid amin quan trọng từ dịch thủy phân là L-cystin và L-tyrosin. Sơ bộ xác định một số hằng số vật lý và đã chứng minh được cấu trúc của sản phẩm L-tyrosin thu được.

## Summary

Two essential aminoacids, L-tyrosine and L-cystine, were separated from keratin hydrolyzates. The proposed separation process was simple and appropriate. The structure of L-tyrosine was confirmed by IR, <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy.

## Tài liệu tham khảo

- Nguyễn Đình Luyện, Nghiêm Thanh Hoàng, Nguyễn Thị Trinh Lan, Nguyễn Thị Ninh, Nguyễn Thị Minh Hà, Phan Tiến Thành, Đào Nguyệt Sương Huyền: Nghiên cứu điều chế L-cystin từ một số nguồn keratin và bán tổng hợp N-acetyl-L-cystein, Hội nghị Hoá dược toàn quốc lần thứ nhất, Hà Nội - 2008, tr 77.
- Stanosek J., Zkiewicl S. and Farbiszewski E: Method for isolation of cystine and tyrosine from hair hydrolyzates, Farm. Polska, 1957, p. 13.
- Cardinal E. V.: Separation of cystine and tyrosine, US. 2,650,242.
- Vogel's text book of practical organic chemistry, 4<sup>th</sup> edition, Longman, London and New York, p. 560 (1985).
- Tsuchiya Y.: Separation of cystine and tyrosine, JP. 173,747.
- Chenglong L., Yucai W., Liqian L. et al: Recovery of L-cystine and L-tyrosine from mother liquor of cystine preparation, CN. 1,062,347