

DOI: 10.13475/j.fzxb.20180400207

采用还原剂-甲酸法溶解制备羊毛角蛋白质溶液

李博¹, 姚金波^{2,3}, 牛家嵘¹, 王乐¹, 冯懋¹, 孙艳丽¹

(1. 天津工业大学 纺织科学与工程学院, 天津 300387; 2. 武汉纺织大学 化学与化工学院, 湖北 武汉 430073;
3. 武汉纺织大学 湖北省生物质纤维与生态染整重点实验室, 湖北 武汉 430073)

摘要 为获得纤维溶解率高且蛋白质分子质量大的羊毛角蛋白质溶液, 对溶解纤维的工艺方法进行研究和优化。在采用三羟基有机磷还原剂有效打开羊毛纤维分子内二硫键的基础上, 重点研究了还原处理后羊毛纤维在甲酸溶液中的溶解状态。对纤维溶解率、角蛋白质溶液黏度和蛋白质分子质量分布等进行测试, 获得还原剂-甲酸法溶解制备角蛋白质溶液的最优工艺, 并分析了该角蛋白质溶液的稳定性。结果表明: 在角蛋白质溶液的最优制备工艺条件下, 即预处理后的羊毛纤维质量为 5 g, 甲酸体积为 100 mL, 溶解温度为 50 °C, 溶解时间为 5 h 时, 羊毛纤维的溶解率为 65% 左右, 角蛋白质的分子质量分布主要集中在 40~50 ku、26 ku、14.4 ku 处, 且在常温环境下该羊毛角蛋白质溶液的稳定性较好。

关键词 羊毛; 角蛋白质溶液; 还原剂; 甲酸; 蛋白质分子质量

中图分类号: TS 195.5 文献标志码: A

Preparation of wool keratin solution by reducing agent-formic acid process

LI Bo¹, YAO Jinbo^{2,3}, NIU Jiarong¹, WANG Le¹, FENG Mao¹, SUN Yanli¹

(1. School of Textile Science and Engineering, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China;
2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Wuhan Textile University, Wuhan, Hubei 430073, China;
3. Hubei Key Laboratory of Biomass and Eco-Dyeing & Finishing, Wuhan Textile University, Wuhan, Hubei 430073, China)

Abstract In order to obtain the wool keratin solution with high fiber dissolution ratio and large protein molecular weight, the dissolution method of wool fibers was studied and optimized. On the basis of using organic phosphonic compounds (LKS-610) to effectively cleave the disulfide bonds in fibers, the dissolution state of pre-treated wool fibers in formic acid solution was studied. The fibers dissolution ratio, keratin solution viscosity and protein molecular weight distribution were tested as evaluation criteria, the optimal process for preparing keratin solution by using reducing agent-formic acid method was obtained, and the stability performance of keratin solution was also analyzed. The optimal dissolving process of wool fibers is that the mass of the pretreated wool fibers is 5 g, the volume of formic acid is 100 mL, the temperature is 50 °C and time is 5 h. Under the conditions, the dissolution ratio is about 65% and the molecular weights of keratin are distributed at 40–50 ku, 26 ku and 14.4 ku. In addition, the keratin solution shows good stability at normal temperature.

Keywords wool; keratin solution; reducing agent; formic acid; protein molecular weight

羊毛是一种性能优良的天然蛋白质纤维材料, 其制品被越来越广泛地应用于生活和生产中; 但羊毛的产量十分有限, 尤其是优质羊毛, 同时废弃的羊毛制品无法被有效地再次利用, 造成宝贵资源的浪

费。为此, 对羊毛纤维进行回收再生利用显得至关重要。羊毛的主要组成物为角蛋白质, 通过溶解后再生的方法可获得较纯净的蛋白质材料, 其具有优良生物活性、生物相容性以及可降解性能, 可应用

收稿日期: 2018-04-02 修回日期: 2018-11-30

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2014BAE01B02)

第一作者: 李博(1988—), 男, 博士生。主要研究方向为纤维结构与性能。

通信作者: 姚金波(1964—), 男, 教授, 博士。主要研究方向为纺织品清洁染整。E-mail: jinbo Yao@wtu.edu.cn。

于医学、生物和纺织等众多领域^[1]。

溶解羊毛纤维制备角蛋白质溶液是研究蛋白质再生应用的前提条件,角蛋白质溶液性能的优劣决定了再生材料的利用价值。目前研究应用较多的制备角蛋白质溶液的方法包括氧化法、还原法以及离子液体法等。孙艳丽等^[2]采用巯基乙醇与离子液体 1-烯丙基-3-甲基咪唑 氯盐([AMIM]Cl)在 120 °C 条件下共同溶解羊毛纤维获得角蛋白质溶液,溶液中蛋白质的分子质量主要分布在 14.4、31、43、66.2 ku 处。张恒等^[3]分别采用还原 C 法和离子液体法对羊毛纤维进行溶解。其中:还原 C 法是采用亚硫酸氢钠、尿素、硫脲和十二烷基磺酸钠对羊毛进行溶解,在 95 °C 条件下溶解 6 h,溶解率可达到 87%;而离子液体法采用 [AMIM]Cl 试剂对羊毛进行溶解,溶解率仅有 10%。Shavandi 等^[4]将羊毛纤维溶解于质量分数为 24% 的过氧乙酸溶液中,在常温条件下溶解 2 d 后可分别提取获得水溶性角蛋白质(提取率为 57%)和不溶性角蛋白质(提取率为 40%),其中不溶性角蛋白质含有更多的化学基团。

如何在获得较高溶解率的基础上不破坏蛋白质大分子链的完整性,是制备性能优良的角蛋白质溶液的关键。目前大部分研究者在制备蛋白质再生材料时需先将蛋白质从溶解体系中提取出来,再溶解于甲酸^[5]或者碳酸钠缓冲溶液^[6]等适于再生工艺的试剂中。这不但使得再生材料制备工序更加复杂,也使角蛋白质在二次溶解中被进一步破坏,影响再生材料的性能。为解决以上溶解方法存在的问题,首先使用弱还原剂三羟基有机磷化合物(LKS-610)破坏羊毛纤维中大分子间的二硫键,再利用甲酸试剂的强酸性和其能够有效溶解细胞间质使纤维剧烈溶胀的特性^[7-8],达到对羊毛纤维的溶解效果。本文采用单因素分析方法研究了羊毛纤维的溶解工艺,根据溶液的纤维溶解率、黏度和蛋白质分子质量分布变化确定最优的角蛋白质溶液制备方法。

1 实验部分

1.1 材料与设备

原料:羊毛纤维(直径为 23~25 μm,澳洲羊毛,浙江新澳纺织股份有限公司);透析袋(截留分子质量为 8~14 ku,北京市柠檬专业实验器材有限责任公司)。

试剂:三羟基有机磷还原剂(LKS-610,质量分数为 40%),分析纯,天津市绿源天美科技有限公司;甲酸(质量分数为 88%)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、十二烷基硫酸钠(SDS)、β-巯基乙醇(质量

分数为 99%)、盐酸(质量分数为 37%)、冰醋酸、无水乙醇,分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;蛋白质标准样(分子质量为 14.4~94.0 ku),北京天根生化科技有限公司;甘氨酸,分析纯,天津市鼎盛鑫化工有限公司;考马斯亮蓝 R250,分析纯,南京奥多福尼生物试剂有限公司。

设备:HZS-H 型恒温振荡水浴锅,哈尔滨市东联电子技术开发有限公司;BA2000 型光学显微镜,天津市二十八中仪器厂;DYY-6C 型电泳仪,北京市六一仪器厂;CVOD100 型马尔文旋转流变仪,英国马尔文仪器有限公司;L8900 型氨基酸分析仪,日本日立有限公司。

1.2 羊毛溶解工艺

1.2.1 还原剂预处理羊毛纤维

将 1 g 洗净的羊毛浸泡于体积为 10 mL 的 LKS-610 试剂中,于 80 °C 水浴锅中处理 30~60 min,处理结束后滤去纤维体系中多余的整理剂,烘干待用。通过 LKS-610 试剂对羊毛中二硫键高效的破坏作用,获得在还原体系中富含自由巯基的待溶解羊毛试样。

1.2.2 甲酸溶解羊毛纤维

采用单因素实验方法对甲酸制备角蛋白质溶液的工艺方法进行研究,将一定质量的经 LKS-610 预处理后的羊毛纤维加入到质量分数为 88% 的甲酸溶液中,分别以纤维质量、溶解温度和溶解时间作为单因素变量,以羊毛纤维的溶解率、黏度和角蛋白质溶液中蛋白质分子质量为分析依据,考察不同条件下的溶解效果。

1.3 测试方法

1.3.1 羊毛纤维氨基酸含量测试

准确称取一定量的羊毛纤维试样(200 mg)置于水解管中,加入 10 mL 盐酸(浓度为 6 mol/L),用酒精喷灯封闭水解管后置于 110 °C 烘箱中水解 24 h,待试样完全水解后取出冷却并打开水解管。将水解样品过滤后定容,吸取 2 mL 定容后的样品,置于真空脱酸仪上脱酸(温度为 60 °C)至干燥,底部留有少许固体或痕迹为止。向脱酸后的样品中加入 2 mL 缓冲液(质量分数分别为 2% 的无水柠檬酸钠,1% 的盐酸,0.5% 的硫代乙二醇,0.1% 的苯甲酸溶液),置于振荡混合器上混合均匀,然后利用针管吸取少量,通过孔径为 0.22 μm 的过滤器过滤后,采用氨基酸分析仪进行测试。

1.3.2 纤维在甲酸溶液中的溶解状态观察

为比较 LKS-610 预处理对甲酸溶解羊毛纤维效果的影响,以及研究羊毛纤维在甲酸溶液中的溶解状态,分别取未处理和 LKS-610 预处理后的羊毛纤

维各 1 g, 浸没于 20 mL 的甲酸溶液中, 在 60 °C 水浴锅中进行搅拌溶解。溶解过程中, 每间隔 60 min 取少量纤维试样置于载玻片上, 用光学显微镜进行观察。

1.3.3 纤维溶解率测试

羊毛纤维在甲酸溶液体系中溶解完成后, 对溶液体系进行抽滤, 分别称量过滤前后干燥滤纸的质量, 记为 m_1 、 m_2 。溶解前羊毛的质量为 m , 则溶解率 K 的计算公式为

$$K = \frac{m - m_2 + m_1}{m} \times 100\%$$

1.3.4 凝胶电泳测试

由于本文制备的角蛋白质溶液中含有甲酸, 其强酸性会对电泳胶体产生破坏, 影响凝胶电泳的测试结果, 因此, 测试前需先通过透析得到纯角蛋白质粉末, 再对其进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺 (SDS-PAGE) 凝胶电泳测试。其中: 分离胶质量分

数为 12%; 浓缩胶质量分数为 5%; 加样 10 μ L, 测试电压为 80 V。电泳完成后, 对试样进行染色、脱色、水洗等处理后拍照记录。

1.3.5 角蛋白质溶液黏度测试

采用马尔文旋转流变仪对离心过滤后的澄清角蛋白质溶液进行黏度测试, 并且在测试前保证待测溶液的质量分数一致。设置测试温度为 25 °C, 剪切应力恒定为 60 Pa, 实验夹具采用锥角为 4°、直径为 40 mm 的锥板。

2 结果与讨论

2.1 预处理后纤维的氨基酸含量变化分析

通过对还原剂 LKS-610 处理后的羊毛试样进行氨基酸含量测试, 分析试样中胱氨酸含量的变化, 研究还原剂对二硫键的作用效果, 测试结果如表 1 所示。

表 1 LKS-610 处理羊毛纤维试样的氨基酸含量测试结果

Tab.1 Amino acid content test results of wool fiber samples

氨基酸名称	未处理羊毛		处理 30 min 羊毛		处理 60 min 羊毛	
	质量/ (g · (100 g) ⁻¹)	占氨基酸 百分比/%	质量/ (g · (100 g) ⁻¹)	占氨基酸 百分比/%	质量/ (g · (100 g) ⁻¹)	占氨基酸 百分比/%
天门冬氨酸	5.164 2	6.26	5.427 2	7.46	5.283 8	7.59
苏氨酸	4.830 5	5.88	4.174 5	5.74	3.897 3	5.60
丝氨酸	7.030 1	8.52	5.970 2	8.21	5.603 0	8.05
谷氨酸	11.074 4	13.42	11.209 0	15.42	10.819 0	15.54
甘氨酸	4.407 4	5.34	3.896 1	5.36	3.645 3	5.24
丙氨酸	3.342 3	4.05	4.474 2	6.15	4.673 6	6.71
胱氨酸	8.325 0	10.09	1.123 7	1.55	0.732 3	1.05
缬氨酸	3.990 8	4.83	3.701 1	5.09	3.440 8	4.94
蛋氨酸	0.627 3	0.76	0.497 1	0.68	0.415 6	0.60
异亮氨酸	2.664 2	3.23	2.552 4	3.51	2.484 0	3.57
亮氨酸	6.958 6	8.43	7.016 1	9.65	6.907 8	9.92
酪氨酸	4.257 3	5.16	3.748 4	5.16	3.572 4	5.13
苯丙氨酸	3.173 6	3.84	2.604 7	3.58	2.631 0	3.78
赖氨酸	2.865 8	3.47	2.926 5	4.03	2.957 0	4.25
NH ₃ (色氨酸分解)	1.241 7	1.50	1.179 5	1.62	1.130 5	1.62
组氨酸	0.941 7	1.14	0.846 3	1.16	0.806 4	1.16
精氨酸	7.870 2	9.53	7.990 8	10.99	7.777 1	11.17
脯氨酸	3.775 5	4.57	3.369 1	4.63	2.825 1	4.06
氨基酸总量	82.545 3	100.00	72.706 8	100.00	69.602 1	100.00

由表 1 可看出: 羊毛纤维经过还原剂 LKS-610 处理 30 min 后, 胱氨酸的质量分数由 10.09% 骤降至 1.55%; 继续延长处理时间, 质量分数的减小变缓。由此说明预处理过程中纤维内大部分的二硫键被还原断开并以其他形式存在^[9], 与文献 [10-11] 报道相比, 还原剂 LKS-610 在相对一致的条件对二硫键的破坏作用更加有效。同时, 从表 1 中可发现, 其他种类的氨基酸含量并没有明显减少, 证明 LKS-610 对二硫键的作用效果具有一定的专一性。

选择在 80 °C 条件下处理 60 min 作为还原剂 LKS-610 预处理羊毛纤维的最优工艺, 进一步研究预处理后纤维在甲酸溶液中的溶解状态。

2.2 预处理纤维在甲酸溶液中的溶解状态

图 1、2 示出 LKS-610 预处理前后羊毛纤维在甲酸溶液中溶解不同时间后的光学显微镜照片。

从图 1 可以看出: 溶解 1 h 后羊毛纤维的外观和形态并未发生明显的变化; 溶解时间达到 2 h 时, 纤维的鳞片层发生了部分的翘起和脱落, 纤维的主

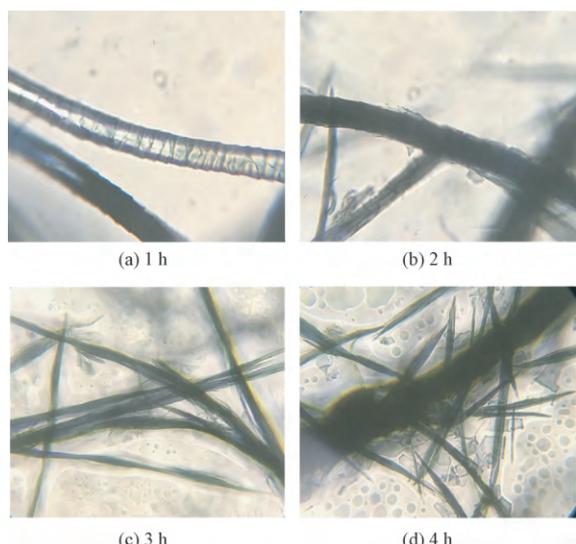


图 1 未处理羊毛纤维在不同甲酸溶解时间下的溶解状态
Fig.1 Dissolving state of untreated wool fibers in formic acid solution under different dissolution time

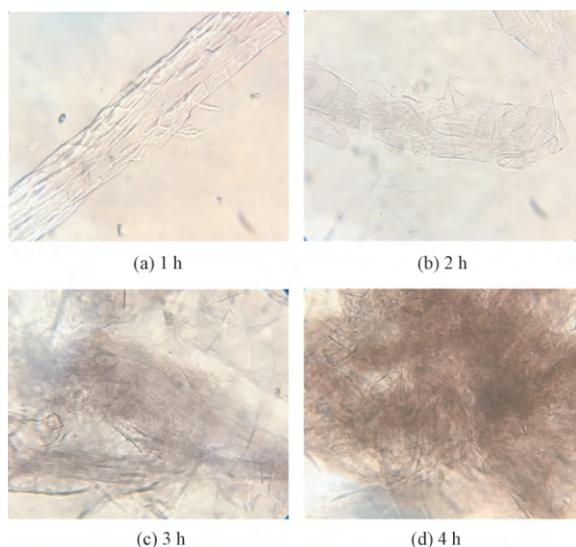


图 2 LKS-610 处理后羊毛纤维在不同甲酸溶解时间下的溶解状态
Fig.2 Dissolving state of LKS-610 treated wool fibers in formic acid solution under different dissolution time

体也有一定程度的溶胀;继续延长处理时间,纤维结构在甲酸作用下发生破坏并逐渐分解为纤维残片和细胞、巨原纤结构单元^[8](见图 1(c)、(d))。从图 2 可以发现:预处理过的羊毛纤维在甲酸溶液中溶解 1 h 后发生了明显的溶胀,同时有部分原纤结构从纤维主体脱离出来;溶解 2 h 后,纤维的主体结构在甲酸作用下被显著破坏;当溶解时间达到 3 h 后,已有部分纤维被溶解,图中深色的团聚部分便是被溶解的羊毛纤维;继续溶解更长时间后,大部分的纤维均已被破坏溶解,仅有部分纤维残渣存在于溶液体

系中。

由以上分析可以发现,羊毛纤维在甲酸溶液中虽然发生了结构的分解和破坏,但仍保持一定的细胞结构体,由此证明甲酸溶液无法达到单独溶解羊毛纤维的效果,它对羊毛纤维的作用主要体现在溶解细胞间质从而溶胀纤维和分解纤维结构。而经 LKS-610 处理后纤维便可较好地溶解于甲酸溶液中,这是由于前期研究证明 LKS-610 能够有效破坏羊毛中的二硫键,减小了蛋白质大分子间的作用力,再通过甲酸溶液的强酸性和溶解细胞间质的能力使得羊毛纤维被有效溶解,因此, LKS-610 预处理过程对于甲酸溶解羊毛纤维显得尤为重要,通过 LKS-610 试剂和甲酸的共同作用可达到有效溶解羊毛纤维的效果。

2.3 甲酸溶解羊毛纤维的优化工艺

2.3.1 甲酸试剂对不同质量羊毛纤维的溶解效果

分别取不同质量的羊毛纤维(3、4、5、6 g)溶解于体积为 100 mL 的甲酸溶液(质量分数为 88%)中,研究甲酸试剂对不同质量羊毛纤维的溶解效果。溶解温度为 60 ℃,溶解时间为 5 h。表 2 示出不同质量纤维的溶解率和角蛋白质溶液剪切黏度变化。

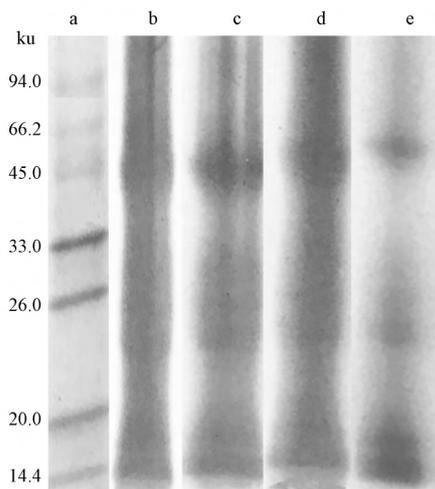
表 2 不同质量羊毛纤维在甲酸中的溶解率和溶液黏度变化

Tab.2 Dissolution rate and viscosity changes of wool with different mass dissolved in formic acid

溶液中羊毛质量/g	纤维溶解率/%	溶液黏度/(Pa·s)
3	72.3	0.023
4	70.6	0.040
5	66.7	0.054
6	—	—

从表 2 可以看出:随着溶解羊毛纤维质量的增加,角蛋白质溶液的溶解率逐渐降低。当羊毛质量为 6 g 时,溶解率下降明显,溶解体系呈凝胶状态,已无法测试溶液的溶解率和黏度。溶解率的降低主要是由于一定质量的甲酸溶液对羊毛纤维的溶解能力有限,而未溶解的物质为羊毛纤维内的高硫部分,这部分中含有大量二硫键,极难溶解而易于呈现凝胶状态^[12]。当置于甲酸溶液中的羊毛过多时,甲酸将难以使纤维充分溶胀进而溶解,因此,当羊毛质量达到 6 g 时,羊毛的溶解率大幅降低。角蛋白质溶液的黏度变化则是由于溶解于甲酸溶液中的角蛋白质含量有所增加,在假设蛋白质大分子舒展状态相同的情况下,则体系的黏度随角蛋白质含量的增加而增大。由于本文实验中不同溶液的溶解浴比无法一致,因此,黏度测试结果不能作为分子质量大小的判断依据。

图3示出 SDS-PAGE 凝胶电泳的测试结果。可以看出: 4 组试样的蛋白质分子质量分布大致相同, 主要分布在 45~66 ku、20~33 ku、14.4~20 ku 这三个范围内。羊毛纤维质量为 6 g 时, 试样是取凝胶状物质进行制样和测试, 其中含有部分未完全溶解的纤维, 因此, 实际参与电泳测试过程的蛋白质较少, 其对应的电泳条带染色后颜色较浅。对比文献 [13-14] 报道中角蛋白质溶液的分子质量分布结果可以证实, 采用本文方法溶解羊毛能够获得具有较高分子质量的角蛋白质溶液, 同时也说明羊毛纤维溶解于甲酸溶液中的质量百分比对溶解后蛋白质分子质量分布影响不大。综上所述, 羊毛纤维在 100 mL 甲酸中溶解效果最佳时的质量为 5 g。



a 为标准蛋白质谱带; b~e 分别为纤维质量等于 3、4、5、6 g 的试样的电泳谱带。

图3 不同溶解纤维质量下试样的 SDS-PAGE 凝胶电泳测试结果

Fig.3 SDS-PAGE gel electrophoretogram of samples with different dissolved mass fraction

2.3.2 温度对溶解效果的影响

在确定羊毛质量为 5 g, 甲酸溶液质量分数为 88%、体积为 100 mL, 溶解时间为 5 h 的条件下, 分析不同溶解温度对溶解效果的影响规律, 结果如表 3 所示。

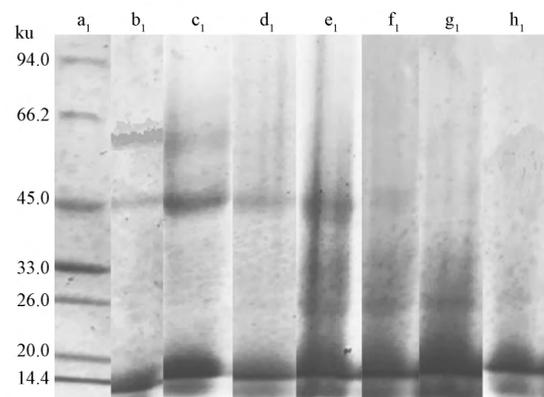
表 3 不同溶解温度下纤维的溶解率和溶液黏度变化

Tab.3 Dissolution rate and viscosity change of samples at different dissolved temperatures

溶解温度/℃	纤维溶解率/%	溶液黏度/(Pa·s)
20	52.9	0.015
30	54.7	0.052
40	56.3	0.045
50	63.5	0.066
60	67.2	0.048
70	72.9	0.030
80	80.6	0.014

由表 3 看出: 纤维在甲酸中的溶解率随着溶解温度的升高而逐渐提升; 溶解温度在 20~40 ℃ 时, 纤维溶解率较低且变化不大; 当溶解温度达到 50 ℃ 以后, 溶解率由 56.3% 升高到 63.5%; 而溶解温度为 80 ℃ 时, 纤维的溶解率高达 80.6%。说明当温度达到一定程度后, 羊毛纤维在甲酸溶液中会更容易和快速地发生溶胀分解, 同时伴随着蛋白质大分子结构的降解和破坏, 纤维溶解率得到显著提升。从表 3 还可看出: 蛋白质溶液的黏度变化则是随着溶解温度的升高呈现出先增大后减小的规律; 当溶解温度为 50 ℃ 时, 溶液体系的黏度达到最大值。这是因为当温度由 20 ℃ 升高为 50 ℃ 的过程中, 溶液中溶解的羊毛纤维含量越来越多, 蛋白质含量的增加使溶液的黏度逐渐增大; 当溶解温度超过 60 ℃ 以后, 角蛋白质溶液的黏度下降明显, 这显然与高温导致大分子酸性降解有关。

图 4 示出不同试样的凝胶电泳测试结果。可以看出: 溶解温度为 20、30、40 ℃ 时, 试样的分子质量主要分布于较高的位置, 在 45.0~66.2 ku 范围内有较为明显的条带, 而在低分子质量位置除了 14.4 ku 及以下处有分布外, 其他位置几乎没有分布; 溶解温度为 50、60 ℃ 时, 蛋白质大分子主要分布于 45、33、26 ku, 说明随着温度升高, 蛋白质大分子出现一定程度的降解; 当温度提升至 80 ℃ 时, 蛋白质分子几乎都聚集于电泳谱带的底端, 进一步说明温度过高会导致蛋白质分子在甲酸溶液中剧烈降解。综上所述, 50 ℃ 是羊毛纤维比较适宜的溶解温度。



a₁ 为标准蛋白质谱带; b₁~h₁ 分别为溶解温度为 20、30、40、50、60、70、80 ℃ 时试样的电泳谱带。

图 4 不同溶解温度下试样的 SDS-PAGE 凝胶电泳测试结果

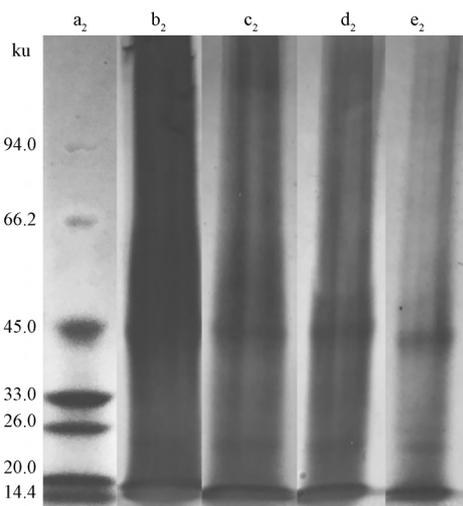
Fig.4 SDS-PAGE gel electrophoretogram of samples at different dissolved temperatures

2.3.3 溶解时间对溶解效果的影响

在确定羊毛质量为 5 g,溶解温度为 50 ℃ 的条件下,考察溶解时间对溶解效果的影响。选取处理时间分别为 3、4、5、6 h 进行测试分析,结果如表 4 和图 5 所示。

表 4 不同溶解时间下纤维的溶解率和溶液黏度变化
Tab.4 Dissolution rate and viscosity change of samples under different dissolving time

纤维溶解时间/h	纤维溶解率/%	溶液黏度/(Pa·s)
3	47.9	0.047
4	52.7	0.050
5	62.5	0.060
6	68.9	0.039



a₂ 为标准蛋白质谱带; b₂~e₂ 分别为纤维溶解时间为 3、4、5、6 h 后试样的电泳谱带。

图 5 不同溶解时间下试样的 SDS-PAGE 凝胶电泳测试结果

Fig.5 SDS-PAGE gel electrophoretogram of samples under different dissolved time

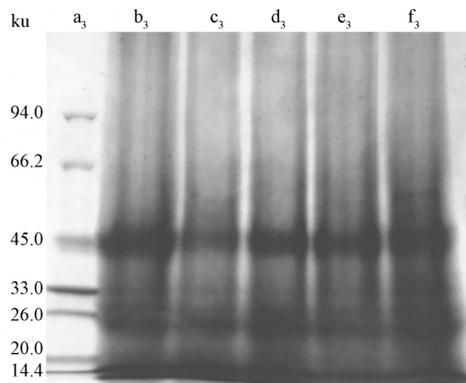
由表 4 看出,随着溶解时间的延长,羊毛纤维的溶解率显著提高,而溶液体系的黏度则有所降低,显然过长的溶解时间会使蛋白质大分子降解严重。由图 5 可以看出:随着溶解时间的延长,角蛋白质的分子质量分布逐渐减小;纤维溶解时间为 3~6 h 的 4 组测试样谱带在分子质量为 66.2、20.0、14.4 ku 3 处都有明显的分布;溶解时间为 3 h 试样的分子质量较多地分布在 66.2 ku 附近,甚至分子质量更大;溶解时间为 4~5 h 的试样分子质量分布比较相近,66.2 ku 范围的分子质量分布较溶解 3 h 试样较少,在 20~26 ku 范围内的分子质量分布则有所增多,证明随着溶解时间的延长,蛋白质大分子在甲酸溶液中有所降解;当溶解时间达到 6 h 后,在 20 ku 范围附近出现多条条带,且小于 14.4 ku 处的条带颜色也较深,由此说明溶解时间达到 6 h 后角蛋白质大

分子链降解严重,这与黏度的测试分析一致。综合溶解率、黏度以及凝胶电泳的测试结果,确定 5 h 是较为理想的溶解时间。

通过对以上单因素实验结果的分析,获得甲酸溶液溶解预处理后羊毛纤维的最佳工艺:羊毛纤维质量为 5 g,甲酸质量分数为 88%、体积为 100 mL,溶解温度 50 ℃,溶解时间为 5 h。溶解后获得的角蛋白质溶液具有较高的溶解率,同时也保证其具有较高的分子质量分布。

2.4 角蛋白质溶液的稳定性

由于质量分数为 88%的甲酸具有强酸性,需要进一步验证溶解制备的角蛋白质溶液中蛋白质多肽大分子是否会在放置过程中发生严重的降解,因此,本文研究中采用上述优化工艺溶解制得羊毛角蛋白质溶液并静置于常温环境中,每隔一定时间取部分溶液透析获得再生蛋白质,测试分子质量的变化以表征溶液的稳定性,结果如图 6 所示。



a₃ 为标准蛋白质谱带; b₃~f₃ 分别为角蛋白质溶液静置 0、1、3、7、14 d 后试样的电泳谱带。

图 6 羊毛角蛋白质溶液室温下静置不同时间后的分子质量分布

Fig.6 Molecular weight distribution of keratin solution after standing at room temperature for different time periods

由图 6 看出,5 条不同试样的电泳谱带中蛋白质的分子质量分布大致相同,分别在 45.0、26.0、14.4 ku 处出现较明显的分布条带,与溶解工艺优化实验的分子质量分布结果基本一致。试样 b₃~e₃ 电泳谱带无明显区别,而静置 14 d 的试样 f₃ 中在 33.0 ku 处以下位置的颜色加深且条带模糊变粗,说明溶液中小分子质量的蛋白质含量有所增加,角蛋白质在甲酸溶液中发生了一定程度的降解,但分子质量整体分布变化不大。通过以上实验证明,本文研究中采用甲酸溶解制备的羊毛角蛋白质溶液具有较好的稳定性,在常温环境下不会由于强酸性导致溶液中的蛋白质大分子快速降解,具有一定的实际

应用价值。

3 结 论

1) 甲酸可溶解羊毛纤维内的细胞间质使其结构被破坏而分解,但无法达到溶解纤维的效果,而经还原剂 LKS-610 预处理后羊毛纤维可快速有效地溶解于甲酸溶液中。

2) 质量分数为 88% 的甲酸溶液对预处理后的羊毛纤维溶解的最优工艺为: 羊毛纤维质量 5 g, 甲酸溶液体积 100 mL, 溶解温度 50 °C, 溶解时间 5 h。在此条件下,可获得溶解率为 65% 左右,分子质量主要集中在 40~60 ku、26 ku 和 14.4 ku,具有较高分子质量的羊毛角蛋白质溶液。

3) 制备的羊毛角蛋白质溶液在常温环境中具有一定的稳定性,溶液内的蛋白质多肽不会发生快速的降解,具有一定的应用价值。 **FZXB**

参考文献:

- [1] 蔡再生. 纤维化学与物理 [M]. 北京: 中国纺织出版社, 2009: 195-208.
CAI Zaisheng. Chemistry and Physics of Fibers [M]. Beijing: China Textile & Apparel Press, 2009: 195-208.
- [2] 孙艳丽,姚金波,李博,等. 羊毛角蛋白质溶液的离子液体法制备 [J]. 纺织学报, 2015, 36(5): 59-62.
SUN Yanli, YAO Jinbo, LI Bo, et al. Preparation of wool keratin solution with ionic liquid [J]. Journal of Textile Research, 2015, 36(5): 59-62.
- [3] 张恒,李戎,王魁,等. 还原法与离子液体溶解法制备羊毛角蛋白膜 [J]. 纺织学报, 2015, 36(6): 55-59.
ZHANG Heng, LI Rong, WANG Kui, et al. Preparation of wool keratin membranes prepared by ionic liquid method and reduction C method [J]. Journal of Textile Research, 2015, 36(6): 55-59.
- [4] SHAVANDI A, CARNE A, BEKHIT A A, et al. An improved method for solubilisation of wool keratin using peracetic acid [J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2017, 5(2): 1977-1984.
- [5] ZHU H, LI R, WU X, et al. Controllable fabrication and characterization of hydrophilic PCL/wool keratin nanonets by electronetting [J]. European Polymer Journal, 2017, 86: 154-161.
- [6] XU H, MA Z, YANG Y. Dissolution and regeneration of wool via controlled disintegration and disentanglement of highly crosslinked keratin [J]. Journal of Materials Science, 2014, 49(21): 7513-7521.
- [7] ALUIGI A, ZOCCOLA M, VINEIS C, et al. Study on the structure and properties of wool keratin regenerated from formic acid [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2007, 41(3): 266.
- [8] FAN J, YU W D. Investigation in the swelling and disintegration of wool fiber in formic acid [J]. Journal of Xi'an Polytechnic University, 2009, 23(2): 310-314.
- [9] SVAGERA Z, HANZL K D, SIMEK P, et al. Study of disulfide reduction and alkyl chloroformate derivatization of plasma sulfur amino acids using gas chromatography-mass spectrometry [J]. Analytical & Bioanalytical Chemistry, 2012, 402(9): 2953.
- [10] 高普,刘建勇. TCEP 羊毛低温染色助剂的性能 [J]. 印染, 2012, 38(17): 12-16.
GAO Pu, LIU Jianyong. Properties of TECP for low temperature dyeing of wool fabric [J]. China Dyeing & Finishing, 2012, 38(17): 12-16.
- [11] 湛海玲,郭艺雯,于伟东. 基于还原法的羊毛溶解及其效果表征 [J]. 纺织学报, 2009, 30(10): 37-40.
ZHAN Hailing, GUO Yiwen, YU Weidong. Wool dissolution based on reduction method and characterization of its effect [J]. Journal of Textile Research, 2009, 30(10): 37-40.
- [12] 王江波,刘建勇,王洁,等. 基于新型还原剂羊毛角蛋白的高效溶解 [J]. 材料导报, 2012, 26(6): 7-9.
WANG Jiangbo, LIU Jianyong, WANG Jie, et al. The efficient dissolution of wool based on new reductant [J]. Materials Review, 2012, 26(6): 7-9.
- [13] TONIN C, ALUIGI A, VINEIS C, et al. Thermal and structural characterization of poly (ethylene-oxide) / keratin blend films [J]. Journal of Thermal Analysis & Calorimetry, 2007, 89(2): 601-608.
- [14] HILL P, BRANTLEY H, VAN D M. Some properties of keratin biomaterials: kerateines [J]. Biomaterials, 2010, 31(4): 585-593.