



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108699742 B

(45) 授权公告日 2021.06.01

(21) 申请号 201680081074.X

(73) 专利权人 纳幕尔杜邦公司

(22) 申请日 2016.12.05

地址 美国特拉华州

(65) 同一申请的已公布的文献号

(72) 发明人 C.撒曲英

申请公布号 CN 108699742 A

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001

(43) 申请公布日 2018.10.23

代理人 王伦伟 周齐宏

(30) 优先权数据

(51) Int.CI.

62/262625 2015.12.03 US

D04H 1/728 (2006.01)

62/262631 2015.12.03 US

A61L 2/18 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

C11D 3/386 (2006.01)

2018.08.03

C11D 3/39 (2006.01)

(86) PCT国际申请的申请数据

C12P 7/40 (2006.01)

PCT/US2016/064927 2016.12.05

C11D 17/04 (2006.01)

(87) PCT国际申请的公布数据

D01D 5/00 (2006.01)

W02017/096354 EN 2017.06.08

审查员 姚翠娥

权利要求书2页 说明书26页

(54) 发明名称

纤维构造体以及与其相关的方法

(57) 摘要

本披露涉及一种纤维构造体,该纤维构造体具有酯底物、包括多根第一水溶性纤维和过水解酶的第一网以及包括多根第二水溶性纤维和氧化剂的第二网。该过水解酶被包封在这些第一水溶性纤维中并且以基于该第一网的总重量从0.1至40wt%的量存在。该氧化剂被包封在这些第二水溶性纤维中,并且这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。在本披露的一个实施例中,该氧化剂是过氧化氢并且复合到该第二网的至少一部分上,其中该第二网包括多根聚乙烯吡咯烷酮纤维或其共聚物。

1. 一种纤维构造体,该纤维构造体包括:

a) 酯底物;

b) 第一网,该第一网包括多根第一水溶性纤维和过水解酶,其中该过水解酶被包封在这些第一水溶性纤维中并且基于该第一网的总重量以从0.1至40wt %的量存在;

c) 第二网,该第二网包括多根第二水溶性纤维和氧化剂,其中该氧化剂被包封在这些第二水溶性纤维中;并且

其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。

2. 根据权利要求1所述的纤维构造体,该纤维构造体进一步包括第三网,该第三网包括多根第三水溶性纤维,并且其中该酯底物被包封在这些第三水溶性纤维中。

3. 根据权利要求1所述的纤维构造体,该纤维构造体进一步包括第三网,该第三网包括多根第三水溶性纤维,并且其中该酯底物被吸收到该第三网的至少一部分上。

4. 根据权利要求2或3所述的纤维构造体,其中这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维独立地选自甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮、聚环氧乙烷、聚乙烯醇、支链淀粉、聚天冬氨酸、聚乳酸、聚丙烯酸、其共聚物或其混合物。

5. 根据权利要求1所述的纤维构造体,其中该酯底物被吸收到该第一网的至少一部分上或被吸收到该第二网的至少一部分上或被吸收到该第一网和该第二网两者的至少一部分上。

6. 根据权利要求1所述的纤维构造体,其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维独立地选自甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮、聚环氧乙烷、聚乙烯醇、支链淀粉、聚天冬氨酸、聚乳酸、聚丙烯酸、其共聚物或其混合物。

7. 根据权利要求1所述的纤维构造体,其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维具有从20%至54%的结晶度。

8. 根据权利要求1、2或3所述的纤维构造体,其中该氧化剂选自过氧化物、高锰酸盐、铬酸盐、重铬酸盐、四氧化锇、高氯酸盐、硝酸钾、过硼酸盐、过碳酸盐、氧化亚氮、氧化银或其混合物。

9. 根据权利要求1、2或3所述的纤维构造体,其中该酯底物选自二乙酸甘油酯、三乙酸甘油酯、乙酸乙酯、乳酸乙酯或其混合物。

10. 根据权利要求1、2或3所述的纤维构造体,其中该过水解酶的包封效率是从80%至100%。

11. 根据权利要求1、2或3所述的纤维构造体,其中该纤维构造体溶解在基于溶液的总重量百分比具有70wt %水或更多水的溶液中。

12. 根据权利要求1、2或3所述的纤维构造体,其中该过水解酶在基本上不含细胞或细胞碎片的组合物中提供。

13. 根据权利要求1、2或3所述的纤维构造体,其中该纤维构造体是呈织造网、碎裂的织造网、非织造网、碎裂的非织造网、单根纤维或其组合的形式。

14. 一种纤维构造体,该纤维构造体包括:

a) 酯底物;

b) 第一网,该第一网包括多根第一水溶性纤维和过水解酶,其中该过水解酶被包封在

这些第一水溶性纤维中并且基于该第一网的总重量以从0.1至40wt%的量存在；

c) 第二网，该第二网包括多根第二水溶性纤维和过氧化氢，其中该过氧化氢复合到该第二网的至少一部分上；

其中这些第二水溶性纤维是聚乙烯吡咯烷酮或其共聚物；并且

其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。

15. 根据权利要求14所述的纤维构造体，该纤维构造体进一步包括第三网，该第三网包括多根第三水溶性纤维，并且其中该酯底物被包封在这些第三水溶性纤维中。

16. 根据权利要求14所述的纤维构造体，该纤维构造体另外包括第三网，该第三网包括多根第三水溶性纤维，并且其中该酯底物被吸收到该第三网的至少一部分上。

17. 根据权利要求15或16所述的纤维构造体，其中这些第一水溶性纤维和这些第三水溶性纤维独立地选自甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮、聚环氧乙烷、聚乙烯醇、支链淀粉、聚天冬氨酸、聚乳酸、聚丙烯酸、其共聚物或其混合物。

18. 根据权利要求14所述的纤维构造体，其中该酯底物被吸收到该第一网的至少一部分上。

19. 根据权利要求14所述的纤维构造体，其中这些第一水溶性纤维选自甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮、聚环氧乙烷、聚乙烯醇、支链淀粉、聚天冬氨酸、聚乳酸、聚丙烯酸、其共聚物或其混合物。

20. 根据权利要求14、15或16所述的纤维构造体，其中该酯底物选自二乙酸甘油酯、三乙酸甘油酯、乙酸乙酯、乳酸乙酯或其混合物。

21. 根据权利要求14、15或16所述的纤维构造体，其中该过水解酶的包封效率是从80%至100%。

22. 根据权利要求14、15或16所述的纤维构造体，其中该纤维构造体溶解在基于溶液的总重量百分比具有70wt%水或更多水的溶液中。

23. 根据权利要求14、15或16所述的纤维构造体，其中该过水解酶在基本上不含细胞或细胞碎片的组合物中提供。

24. 根据权利要求14、15或16所述的纤维构造体，其中该纤维构造体是呈织造网、碎裂的织造网、非织造网、碎裂的非织造网、单根纤维或其组合的形式。

## 纤维构造体以及与其相关的方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2015年12月3日提交的美国专利申请号62/262625以及2015年12月3日提交的美国专利申请号62/262631的权益,这两个美国专利申请的全部披露内容通过引用结合在此。

### 技术领域

[0003] 本披露总体上涉及一种纤维构造体,并且更具体地涉及包封在纤维中的过水解酶。

### 背景技术

[0004] 通常需要酶作为各种工业中的催化剂。然而,由于酶的不稳定性,酶具有有限的应用和保质期。酶活性通常在储存或加工期间降低,从而使得它们在许多方法中的使用变得困难。

[0005] 酶通常以液体配制品形式提供。液体配制品由于若干原因而在许多情况下是优选的,这些原因包括溶解度、处理(例如,分配、倾倒、泵送或混合)的方便性以及与现有制造方法的相容性,这些现有制造方法典型地是水性方法。

[0006] 在水性液体中酶通常是生物化学上不太稳定的。当将酶加入水性介质而不采取使酶稳定的步骤时,酶典型地在水中快速变性。酶可以在水中水解并且通常将降解自身或可能存在的其他酶。在水性状态下,不希望的反应(例如,蛋白质水解、底物的过早催化转化、辅因子的损失、氧化)通常以不可接受的速率发生。水性酶配制品还可以在长期储存期间表现出物理不稳定的迹象,包括沉淀物、晶体、凝胶或浊度的形成。因此,随时间的推移观察到酶活性的损失。

[0007] 因此,需要酶长时间(搁置储存)保持其活性,并且特别是对于水性组合物而言。令人希望的是酶与其底物物理分离直到希望反应。

### 发明内容

[0008] 本披露涉及一种纤维构造体,该纤维构造体包括:

[0009] a) 酯底物;

[0010] b) 第一网,该第一网包括多根第一水溶性纤维和过水解酶,其中该过水解酶被包封在这些第一水溶性纤维中并且基于该第一网的总重量以从0.1至40wt%的量存在;

[0011] c) 第二网,该第二网包括多根第二水溶性纤维和氧化剂,其中该氧化剂被包封在这些第二水溶性纤维中;并且

[0012] 其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。

[0013] 本披露还涉及一种纤维构造体,该纤维构造体包括:

[0014] a) 酯底物;

[0015] b) 第一网,该第一网包括多根第一水溶性纤维和过水解酶,其中该过水解酶被包

封在这些第一水溶性纤维中并且基于该第一网的总重量以从0.1至40wt%的量存在；

[0016] c) 第二网，该第二网包括多根第二水溶性纤维和过氧化氢，其中该过氧化氢复合到该第二网的至少一部分上；

[0017] 其中这些第二水溶性纤维是聚乙烯吡咯烷酮或其共聚物；并且

[0018] 其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。

## 具体实施方式

[0019] 定义

[0020] 如在此所用，术语“包含 (comprises)”、“包含 (comprising)”、“包括 (includes)”、“包括 (including)”、“具有 (has)”、“具有 (having)”或其任何其他变型均旨在涵盖非排他性的包含。例如，包括要素列表的方法、工艺、制品或设备不一定仅限于那些要素，而是可以包括未明确列出的或此种方法、工艺、制品或设备所固有的其他要素。此外，除非有相反的明确说明，否则“或”是指包含性的“或”，而不是指排他性的“或”。例如，条件A或者B通过以下中的任一项满足：A为真（或存在）且B为假（或不存在），A为假（或不存在）且B为真（或存在），并且A和B都为真（或存在）。

[0021] 另外，使用“一个/种”(a/an)来用于描述本发明的要素和组分。这样做仅仅是为了方便并且给出本发明的一般意义。该描述应被解读为包括一个/种或至少一个/种，并且单数形式也包括复数形式，除非其明显地另有所指。

[0022] 如在此所用的术语“底物”旨在表示酶在其上发挥催化活性以产生产物的物质（例如，化学化合物）。

[0023] 如在此所用的术语“纤维 (fiber)”或“纤维 (fibers)”旨在表示具有至少5的长径比 (L/D) 的任何结构（例如基质或涂布结构）。

[0024] 如在此所用的术语“网”、“纤维毡”、“纤维基质”旨在表示包括多于一根纤维的结构，其中这些纤维在一个或多个点处彼此接近或接触。

[0025] 如在此所用的术语“碎裂的网”或“碎裂的非织造网”或“碎裂的织造网”旨在表示通过机械方式（例如通过研磨）或化学方式与较大网分开的纤维网，其中通过化学试剂（例如通过部分溶解）或机械方式和化学方式的组合来实现碎裂。对于肉眼来说，碎裂的网可以呈粉末或颗粒或粉末状微粒的形式，但是当使用高分辨率显微镜（例如扫描电子显微镜）观察时，碎裂的网在形态上看起来是纤维状的。

[0026] 如在此所用的术语“溶液纺丝的 (solution spun)”或“溶液纺丝 (solution spinning)”旨在表示通过从喷丝头或纺丝组件挤出聚合物组合物的溶液以形成精细流体流而形成纤维，并且包括干法纺丝和湿法纺丝。通过干法纺丝，一个或多个聚合物溶液射流遇到典型地为空气的惰性气体流并蒸发溶剂。湿法纺丝类似于干法纺丝，除了一个或多个聚合物溶液射流遇到液体溶剂流或溶液流，该液体溶剂流或溶液流可与聚合物溶剂混溶但不会溶解该聚合物。术语“溶液纺丝的”或“溶液纺丝”还旨在包括来自聚合物溶液的电纺丝或来自聚合物溶液的电吹制或来自聚合物溶液的离心纺丝。

[0027] 如在此所用的术语“包封的 (encapsulated)”、“包封 (encapsulate)”、“包封 (encapsulates)”、“包封 (encapsulation)”或其他类似术语是指用另一种材料（例如，聚合物基质）至少部分地或完全包围活性物质（例如酶或氧化剂）或将该活性物质与该另一种材

料缔合,以防止或控制活性物质例如在水性组合物中的释放。

[0028] 如在此所用的术语“包封效率”是指相对于起始纺丝溶液中包含的酶固体的总质量,结合在递送系统中的酶固体(活性和非活性)的百分比(按质量计)。

[0029] 如在此所用的术语“酶有效负载”或“酶活性”是指包封在递送系统中的活性酶的质量浓度。它可以以活性单位表示,但优选地以mg/g (mg活性酶/克递送系统)的单位通过重量分析表示。

[0030] 术语“包封产率”是在包封后从递送系统回收的活性酶的质量百分比。100%的包封产率被称为“理论有效负载”,并且意味着没有包封的酶的失活。

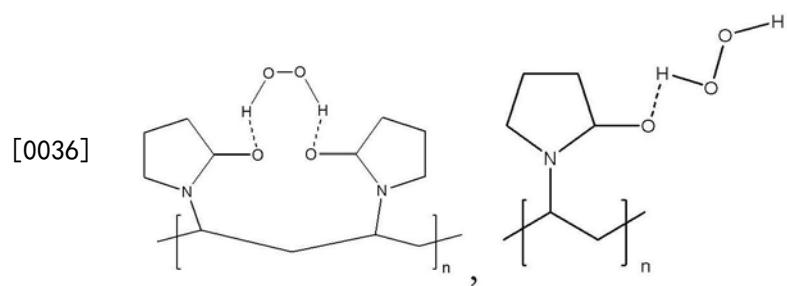
[0031] 出于本披露的目的,术语“吸收的”旨在溶解在纤维中、占据或填充网的纤维之间的或这些纤维表面上的空间,并且可以在与化学或共价固定相反的物理固定的狭义上与“固定的”互换使用。

[0032] 如在此所用的术语“悬浮(suspension)”或“悬浮的(suspended)”是指两相系统,其中不连续的固相(例如纤维)分散在连续的液相中。

[0033] 出于本披露的目的,术语“可溶的”或“溶解度”旨在表示在分子水平上完全在溶液中或部分在溶液中。“部分在溶液中”是指由离心产生的上清液中存在的材料(例如,聚合物)的量或分数。可以例如通过在离心含有材料(例如,聚合物)的水性悬浮液之后测量保留在上清液中的该材料来测量溶解度(例如,该材料可以是多根溶液纺丝纤维,如有或没有酶的纤维毡)。

[0034] 在此所用的术语“溶解(dissolution)”或“溶解(dissolve)”或类似术语是指溶液纺丝纤维或纤维递送系统变得可溶的过程。

[0035] 如在此所用的术语“复合的”旨在表示在两个或更多个分子之间形成氢键。例如,氢键可以在PVP的乙烯基吡咯烷酮(VP)侧基与过氧化氢之间形成。乙烯基吡咯烷酮侧基是具有酰胺羰基的五元内酰胺环,该酰胺羰基是强氢受体。由于过氧化氢是强氢供体,所以它将与乙烯基吡咯烷酮形成稳定的复合物。在分子水平上,过氧化氢与VP的复合物可以例如以一个分子过氧化氢与一个分子VP(1:1),以及一个过氧化氢分子与两个VP分子(1:2)形成,如以下复合物结构中所示。与过氧化氢的这种复合物可以在PVP的共聚物中形成,其中存在乙烯基吡咯烷酮作为侧基。



[0037] 当量、浓度、或者其他值或参数以范围、优选范围、或一系列上限优选值和下限优选值给出时,这应当被理解为具体披露了由任何范围上限或优选值与任何范围下限或优选值的任一配对所形成的所有范围,而不论该范围是否被单独披露。当在此描述数值范围时,除非另行说明,该范围旨在包括其端点,以及该范围中的所有整数与分数。数值应被理解为具有提供的有效数字位数的精度。例如,数字1应理解为包括从0.5至1.4的范围,而数字1.0应理解为包括从0.95至1.04的范围,包括所述范围的端点。不旨在将本发明的范围限制为

限定范围时叙述的具体值。

[0038] 在描述某些聚合物时,应当理解,有时申请人通过用来制造它们的单体或用来制造它们的单体的量来提及聚合物。尽管此类描述可能不包括用于描述最终聚合物的具体命名或可能不含以方法限定物品的术语,但对单体和量的任何此类提及应被解释为是指聚合物由那些单体制成,除非上下文另外指明或暗示。

[0039] 除非另外说明,在此的材料、方法和实例仅是说明性的,而非旨在限制性的。虽然可以使用与在此所述的那些类似或等效的方法和材料,但是在此描述了合适的方法和材料。

[0040] 本披露涉及一种纤维构造体,该纤维构造体包括:

[0041] a) 酯底物;

[0042] b) 第一网,该第一网包括多根第一水溶性纤维和过水解酶,其中该过水解酶被包封在这些第一水溶性纤维中并且基于该第一网的总重量以从0.1至40wt%的量存在;

[0043] 第二网,该第二网包括多根第二水溶性纤维和氧化剂,其中该氧化剂被包封在这些第二水溶性纤维中。

[0044] 在一些实施例中,该氧化剂是过氧化氢,并且该过氧化氢复合到包括多根第二水溶性纤维的第二网的至少一部分上,其中这些第二水溶性纤维是聚乙烯吡咯烷酮或其共聚物,并且其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。

[0045] 在一些实施例中,该纤维构造体包括第三网。该第三网包括多根第三水溶性纤维。

[0046] 纤维

[0047] 本披露的纤维是使用水溶性树脂或水溶性树脂的混合物来生产的。可以使用至少一种水溶性树脂和非水溶性树脂的混合物来生产这些纤维,以使得各自的量被定制为实现所希望的溶解度(快速释放或受控释放)。

[0048] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维独立地选自甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚环氧乙烷、聚乙烯醇(PVA)、支链淀粉、聚天冬氨酸、聚丙烯酸、聚乳酸、其共聚物或其混合物。

[0049] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维独立地选自甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮、聚环氧乙烷、聚乙烯醇、支链淀粉、聚天冬氨酸、聚丙烯酸、其共聚物或其混合物。

[0050] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维独立地选自聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、支链淀粉或其混合物。

[0051] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维独立地选自聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、支链淀粉或其混合物。在一些实施例中,这些第二水溶性纤维是由聚乙烯吡咯烷酮或其共聚物形成的。

[0052] 在一个实施例中,这些第一水溶性纤维是完全水解的聚乙烯醇。完全水解旨在表示98%水解或更高。在一个实施例中,这些第一水溶性纤维具有从20%至54%的结晶度。在一个实施例中,这些第一水溶性纤维是结晶度从20%至54%的完全水解的聚乙烯醇。在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维具有小于35%的结晶度。在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维是结晶度小于35%的完全水解的聚乙烯醇。

[0053] 在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是完全水解的

聚乙二醇。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维具有20%至54%的结晶度。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是结晶度为20%至54%的完全水解的聚乙二醇。在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是结晶度介于以下中的任两者之间且任选地包括以下的完全水解的聚乙二醇:20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、以及54%。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维具有小于35%的结晶度。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是结晶度小于35%的完全水解的聚乙二醇。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是结晶度小于30%的完全水解的聚乙二醇。

[0054] 在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维是完全水解的聚乙二醇。

[0055] 在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维具有从20%至54%的结晶度。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维是结晶度从20%至54%的完全水解的聚乙二醇。在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维是结晶度介于以下中的任两者之间且任选地包括以下的完全水解的聚乙二醇:20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、以及54%。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维具有小于35%的结晶度。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维是结晶度小于35%的完全水解的聚乙二醇。在又另一个实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维是结晶度小于30%的完全水解的聚乙二醇。

[0056] 在这些第二水溶性纤维是聚乙二醇吡咯烷酮或其共聚物的一些实施例中,这些第一水溶性纤维和第三水溶性纤维可以是聚乙二醇,如完全水解的聚乙二醇。在此类实施例中,聚乙二醇可以在一些情况下具有小于30%或介于以下中的任两者之间且任选地包括以下的结晶度:20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、以及54%。

[0057] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维是为水溶性的多糖或任何其他天然存在的树脂。

[0058] 一些酶以及其他活性剂不能耐受熔融纺丝纤维所需的高温。因此,至少本披露的第一水溶性纤维是溶液纺丝纤维。在一些实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的,并且在其他实施例中,这些第一水溶性纤维、第二水溶性纤维和第三水溶性纤维是溶液纺丝的。

[0059] 在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维是干纺的。在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维是湿纺的。在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维是电纺丝的。在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维是离心纺丝的。在又另一个实施例中,这些溶液纺丝纤维是电吹制的。术语“电吹制的 (electroblown)”或“电吹制 (electroblowing)”或“电吹制纺丝 (electro-blown spinning)”可以互换使用,并且旨在表示其中聚合物-酶溶液被朝向纺丝喷嘴进料,经由该纺丝喷嘴或喷丝头排出该聚合物溶液,该纺丝喷嘴或喷丝头带有高压,同时经由该纺丝喷嘴的下端注入压缩空气,并且收集典型地以网形式纺丝的纤维。用于电吹制的技术的实例在例如美国专利号7,618,579和7,582,247中进行了披露,这些美国专利的全部披露内容特

此通过引用结合在此。

[0060] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是电吹制水溶性纤维。在一些实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维是电吹制水溶性纤维。

[0061] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有25微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有25微米或更小的平均直径。

[0062] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有20微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有20微米或更小的平均直径。

[0063] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有5微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有5微米或更小的平均直径。

[0064] 在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有1微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有1微米或更小的平均直径。

[0065] 在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有0.9微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有0.9微米或更小的平均直径。

[0066] 在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有0.5微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有0.5微米或更小的平均直径。

[0067] 在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有0.4微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有0.4微米或更小的平均直径。

[0068] 在另一个实施例中,这些第一水溶性纤维的至少一部分或这些第二水溶性纤维的至少一部分或这些第三水溶性纤维的至少一部分具有0.3微米或更小的平均直径。在另一个实施例中,各自具有0.3微米或更小的平均直径。

[0069] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维或这些第二水溶性纤维或这些第三水溶性纤维具有介于以下中的任两者之间且任选地包括以下的平均纤维直径:0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、以及1.0微米。在一些实施例中,这些第一水溶性纤维或这些第二水溶性纤维或这些第三水溶性纤维具有从0.2至1.0微米的平均纤维直径。在一些实施例中,各自具有介于以下中的任两者之间且任选地包括以下的平均纤维直径:0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、以及1.0微米。

[0070] 对于上述纤维直径,用于制备这些水溶性纤维的方法优选地通过如先前所述的溶液纺丝方法进行。然而,本领域技术人员将认识到,取决于待包封的活性物质和水溶性聚合物树脂的稳定性,可能有可能使用其他方法如通过离心熔融纺丝方法来形成纤维。

[0071] 纤维溶解度

[0072] 发现含有和不含酶的聚乙烯醇(PVA)纤维基质(在此也称为“网”或“纤维毡”)在水

和水-有机溶剂混合物(包括不同含水量的水-丙二醇混合物和水-乙醇混合物)中可以具有不同的溶解度和碎裂行为。这些行为与纤维尺寸和纤维结晶度有关,并且对酶渗出具有影响。

[0073] 已知PVA的水溶解度受PVA的水解度影响(Briscoe B, Luckham P, Zhu S. The effects of hydrogen bonding upon the viscosity of aqueous poly(vinyl alcohol) solutions[氢键合对聚(乙烯醇)水溶液的粘度的影响]. Polymer. [聚合物] 2000; 41: 3851-3860)。随着水解度增加,疏水性乙酸酯基团的量减少,因此PVA溶解度增加。一般来说,水解度低于70%的PVA变得不可溶。当增加至70%水解度以上时,PVA溶解度增加到最大值(约90%),在该最大值下PVA溶解度由于强链间和链内氢键合的强力效应而开始降低,从而使得聚合物为高度结晶的。已经发现,对于包封在PVA纤维毡中的酶,可以通过PVA聚合物结晶度和PVA纤维尺寸来控制包封的酶的释放。

[0074] 根据本领域技术人员已知的技术,可以使用动态扫描量热法(DSC)来测定纤维的结晶度%。使用来自TA仪器公司(TA Instruments)的Q1000调制DSC,根据实例7中描述的程序测定PVA纤维和粉末的结晶度。

[0075] 在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维具有从20%至54%的结晶度。在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维具有从20%至54%的结晶度,并且水溶性聚合物树脂是完全水解的聚乙烯醇。

[0076] 在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维具有小于35%的结晶度。在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维具有小于35%的结晶度,并且水溶性聚合物树脂是完全水解的聚乙烯醇。

[0077] 可以用于适用于本申请中的溶液纺丝纤维的适合PVA的实例包括ELVANOL 80-18和ELVANOL 70-30. ELVANOL 80-18是PVA(聚乙烯醇)和另一种单体的98%至98.8%水解的共聚物并且可从可乐丽有限公司(Kuraray Co., Ltd.)获得. ELVANOL 70-03是98%至98.8%水解的PVA(聚乙烯醇)并且也可从可乐丽有限公司获得。

[0078] 如实例7中进一步描述的,通过视觉检查且定量地测定从该制造商获得的PVA纤维毡相较于PVA粉末的在水中的溶解度行为。从该制造商获得的ELVANOL 70-03和ELVANOL 80-18两者在室温和低温下在水中都不溶解或崩解。

[0079] 当转化为纤维时,出人意料地发现,存在聚乙烯醇纤维在水中的快速碎裂和最终视觉消失。

[0080] 根据实例7中描述的程序定量地测定这些纤维的溶解度行为,其中在受控制的温度和纤维浓度下将已知量的纤维置于由在以下范围内的水和丙二醇组成的溶液中:0wt%水/100wt%丙二醇至100wt%water/0wt%丙二醇。将该溶液在所希望的温度下保持所希望的时间且然后离心,并且使用在公开的期刊文章“Simple spectrophotometric method for determination of polyvinyl alcohol in different types of wastewater[用于测定不同类型的废水中的聚乙烯醇的简易分光光度法], L. Procházková, Y. Rodríguez-Muñoz, J. Procházka, J. Wanner, 2014, Intern. J. Environ. Anal. Chem. [国际环境分析化学杂志], 94, 399-410”中描述的分光光度法来分析上清液的PVA含量。这种方法是基于根据普里查德(Pritchard)方法与碘复合,该方法先前已在包括以下的以前出版物中进行了描述:I.F. Aleksandrovich和L.N. Lyubimova, Fibre Chem. [纤维化学] 24, 156 (1993); D.P. Joshi, Y.L. Lan-Chun-Fung和J.G. Pritchard, Anal. Chim. Acta. [分析化学学

报]104,153(1979);Y.Morishima,K.Fujisawa和S.Nozakura,Polym.J.[聚合物杂志]10,281(1978);J.G.Pritchard和D.A.Akintola,Talanta.[塔兰塔]19,877(1972)。

[0081] 如实例7中所描述,在室温(约25°C)下在2分钟内、在15°C下在2.5至5分钟之间、在10°C下在3至7分钟之间、在5°C下在5至10分钟之间以及在接近0°C下在10至20分钟之间,置于水中的PVA纤维毡用肉眼不再可见。不受任何特定理论的束缚,两种可能的因素可能促成这一点:与PVA粉末相比PVA纤维的高表面面积和这些纤维中PVA链的结晶度降低。纤维毡溶解度性质可以有利地用于冷水清洁技术,包括冷水衣物洗涤剂应用。

[0082] 在一些实施例中,这些溶液纺丝纤维在从30°C至0°C的温度下在水中具有7.7mg/mL或更低的溶解度。在一些实施例中,完全水解的聚乙烯醇的溶液纺丝纤维在从30°C至0°C的温度下在水中具有7.7mg/mL或更低的溶解度。

[0083] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是在30°C至0°C的温度下在水中具有7.7mg/mL或更低的溶解度的溶液纺丝的水溶性纤维。

[0084] 在一些实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维是在30°C至0°C的温度下在水中具有7.7mg/mL或更低的溶解度的溶液纺丝的水溶性纤维。

[0085] 酶

[0086] 本披露的纤维构造体含有过水解酶,该过水解酶被包封在包括多根水溶性纤维的网中。在一些实施例中,该过水解酶是过水解酶变体。变体蛋白质因少量氨基酸残基而与亲本蛋白质和/或彼此不同。在一些实施例中,不同氨基酸残基的数目是约1、2、3、4、5、10、20、25、30、35、40、45或50个中的任一个。在一些实施例中,变体相差约1至约10个氨基酸。在一些实施例中,相关蛋白质,如变体蛋白质包含至少约35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、97%、98%、99%或99.5%氨基酸序列一致性中的任一者。

[0087] 过水解酶被包封在第一水溶性纤维中。过水解酶以基于第一网的总重量从0.1至40wt%的量存在。在一些实施例中,过水解酶以介于以下中的任两者之间且包括以下的量存在:基于第一网的总重量0.1、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、以及40wt%。在一些实施例中,过水解酶以基于第一网的总重量从0.1至30wt%的量存在。在一些实施例中,过水解酶以基于第一网的总重量从0.1至15wt%的量存在。在一些实施例中,过水解酶以介于以下中的任两者之间且包括以下的量存在:基于第一网的总重量0.1、0.17、0.5、1.0、1.7、2.0、2.2、2.5、以及3.5wt%。

[0088] 包封效率是基于用于纺丝的起始溶液中包含的酶固体(活性和非活性)的总质量,包封在酶递送系统中的酶固体(活性和非活性)的质量百分比。包封效率可以被计算为:

$$\text{包封效率} (\%) = 100 \times \frac{\text{(纤维毡中酶的总量)}}{\text{(纺丝溶液中酶的总量)}}$$

[0089]

[0090] 更高的包封效率百分比意味着更大量的起始酶被包封。例如,100%效率意味着起始溶液中的所有酶都被包封在纤维中。如在此实例1中进一步描述的,据发现包封效率可以是95%±10%。据信100%效率对比观察到的效率之间的差异可以在统计或随机误差范围内。因此,在此所描述的酶包封方法可以比用于酶的常规包封方法如喷雾干燥和流化床方法更有效。在一些实施例中,过水解酶的包封效率是从80%至100%。

[0091] 根据实例1中描述的程序,使用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 方案或利姆里 (Laemmli) 方法 (Laemmli, U.K. (1970)) 通过直接测量蛋白质含量来测定纤维毡中过水解酶的分布。实例1中的分析表明,纤维毡中过水解酶的酶分布是高度均匀的。

[0092] 酶活性和渗出

[0093] 还有利的是在包封后保留酶活性(酶有效负载)。术语“酶有效负载”或“酶活性”是指包封在递送系统中的活性酶的质量浓度。典型地,它被表示为活性酶的质量/递送系统的总质量。如在此叙述的术语“在包封后的酶活性%”是指活性酶的包封产率,或换言之,相对于在包封前的起始酶活性或起始酶有效负载,在包封后测定的酶活性或酶有效负载。在包封前的起始酶活性或起始酶有效负载有时被称为理论有效负载。包封的酶的酶活性可以使用本领域技术人员熟知的技术来测定。通过将酶递送系统(例如,具有包封的酶的纤维毡)添加到适合的液体中来测定在此的酶活性,其中例如在剧烈搅拌(如通过大于4000的相对离心力)下使所有的酶释放或者可及,且然后根据本领域技术人员熟知的技术测定酶。

[0094] 在一些实施例中,包封后活性酶的百分比(即,包封产率)是介于以下中的任两者之间且包括以下:60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%至100%。

[0095] 在一些实施例中,包封后活性过水解酶的百分比是从60%至100%。在另一个实施例中,包封后活性过水解酶的百分比是从65%至95%。

[0096] 在另一个实施例中,在包封于第一水溶性纤维中后的过水解酶活性与溶液中游离酶的过水解酶活性相当。在一些实施例中,与游离过水解酶相比,包封后的过水解酶活性不会降低超过10%,并且在一些实施例中,可以观察到增加。

[0097] 在包封后过水解酶保留其初始活性(在包封之前)的至少70%、85%、90%、91%、92%、93%、95%、95%、96%、97%、98%、99%或100%。在包封后过水解酶保留其在溶液中作为游离过水解酶的初始活性的70%至100%。在一些实施例中,在包封后过水解酶保留其在溶液中作为游离过水解酶的初始活性的介于以下中的任两者之间且任选地包括以下:70%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、以及100%。在另一个实施例中,在包封后过水解酶保留其在溶液中作为游离过水解酶的初始活性的90%至100% (包封产率)。

[0098] 还令人希望的是使随时间推移渗出纤维构造体的酶的量在其储存期间最小化。还令人希望的是酶释放仅在所希望的触发剂下发生。

[0099] 如在此所用的酶渗出是指从纤维构造体或纤维构造体的一部分(如网)释放的活性酶的量或分数(其可以表示为重量百分比)。在此的披露内容中,酶渗出通常被表示为相对于包封在纤维构造体中的活性酶的原始量(按质量计)渗出的活性酶的质量百分比。

[0100] 纤维构造体或纤维构造体的一部分(如网)的酶渗出可以通过采用已知量的具有已知量的活性酶(即,初始酶有效负载)的纤维构造体并且将该纤维构造体给予到已知量的水性组合物中来测定。该水性组合物可以储存在不同条件下如温度下,且然后在给定时间点针对酶渗出到该水性组合物中进行分析。可以通过本领域技术人员已知的技术来测定渗出到水性组合物中。例如,可以通过测量在中等条件下(例如,约1000的相对离心力)下使含有纤维构造体的水性组合物离心以从本体水性组合物中分离颗粒后保留的所得上清液的酶活性来确定酶渗出。可以例如通过使用赛默科技 (ThermoScientific) 考马斯Plus<sup>TM</sup> 布拉得福测定试剂盒(赛默科技产品23236)来测定酶活性。如先前所提及,用于酶渗出的分析可以在

给定的时间点和在水性组合物的不同储存条件下进行。

[0101] 对于本披露的纤维构造体，酶渗出是随时间推移稳定的。如果发生渗出，则它主要发生在第一天，然后在接下来的200天内保持稳定。在一些实施例中，第14天的酶渗出百分比与第200天相同。在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含35wt%水或更少的水溶液中200天后，总酶渗出是21%或更低，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。在另一个实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含35wt%水或更少的水溶液中200天后，总酶渗出是10%或更低，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。在另一个实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含35wt%水或更少的水溶液中200天后，总酶渗出是4%或更低，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。

[0102] 在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含35wt%水或更少的水溶液中14天后，总酶渗出是21%或更低，并且其中该水溶液是在从20°C至30°C的温度。

[0103] 在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含70wt%水或更少的水溶液中30分钟后，酶渗出是介于以下中的任两者之间且包括以下：10%、11%、12%、12.2%、13%、14%、15%、20%、25%、30%、31%、32%、以及35% (基于初始酶有效负载)，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。

[0104] 在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含70wt%水或更少的水溶液中30分钟后，酶渗出是小于32% (基于初始酶有效负载)，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。

[0105] 在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含70wt%水或更少的水溶液中30分钟后，酶渗出是小于13% (基于初始酶有效负载)，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。

[0106] 在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含100wt%水或更少的水溶液中30分钟后，酶渗出是介于以下中的任两者之间且包括以下：20%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、以及35% (基于初始酶有效负载)，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。

[0107] 在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含100wt%水或更少的水溶液中30分钟后，酶渗出是小于28% (基于初始酶有效负载)，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。

[0108] 在一些实施例中，当将纤维构造体悬浮在基于水溶液的总重量包含100wt%水或更少的水溶液中30分钟后，酶渗出是小于26% (基于初始酶有效负载)，并且其中该水溶液是从20°C至30°C。

[0109] 用于从纤维中释放过水解酶、氧化剂(如过氧化氢)和任选的包封的或吸收的酯底物的引发剂将取决于水的量和水溶液的温度。在一些实施例中，具有大于90wt%水并伴有剧烈搅拌(大于2000的相对离心力)的水溶液是用于从这些纤维中释放过水解酶、氧化剂(如过氧化氢)和任选的包封的或吸收的酯底物的引发剂。

[0110] 在一些实施例中，具有大于70%水和从20°C至30°C的温度的水溶液是引发剂。在另一个实施例中，具有40%至70%水和大于30°C的温度的水溶液可以是引发剂。

[0111] 在一些实施例中，该引发剂可以随所希望的最终用途应用而变化。

[0112] 该纤维构造体可以被储存在水溶液(或配制品,如液体洗涤剂组合物)中,其中水的量是70wt%或更少。水可以用于稀释该水溶液,以便使水的量增加至大于70wt%,从而引发酶从这些纤维中释放。

[0113] 酯底物

[0114] 酯底物是含有酯键联的过水解酶底物。包含脂肪族和/或芳香族羧酸和醇的酯可以用作具有过水解酶的底物。在一些实施例中,酯源是乙酸酯。在一些实施例中,该酯源选自以下中的一种或多种:丙二醇二乙酸酯、乙二醇二乙酸酯、三乙酸甘油酯、乙酸乙酯、以及三丁酸甘油酯。在一些实施例中,该酯源选自以下酸中的一种或多种的酯:甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、戊酸、己酸、辛酸、壬酸、癸酸、十二烷酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、以及油酸。在一些实施例中,该酯底物选自二乙酸甘油酯、三乙酸甘油酯、乙酸乙酯、乳酸乙酯或其混合物。

[0115] 在一个实施例中,该酯底物被吸收到第一网的至少一部分上或被吸收到第二网的至少一部分上或被吸收到该第一网和该第二网两者的至少一部分上。

[0116] 该第一网或该第二网可以浸没在液体酯底物中或固体酯底物的液体溶液中,以通过吸收或吸收性包封或吸涨将该液体酯底物或该溶解在液体溶液中的固体酯底物结合到该网中。吸收容量和吸收率是非织造网中要考虑的性能参数。吸收容量主要由这些纤维之间的间隙空间、材料的吸收和溶胀特性以及湿润状态下网的弹性来决定。吸收率受毛细管所施加的力与纤维表面所提供的摩擦阻力之间的平衡控制。对于非溶胀材料,这些性质在很大程度上通过流体毛细吸着到结构中直到达到饱和进行控制(L.F.Fryer,B.S.Gupta, Determination of Pore Size Distribution in Fibrous Webs and its Impact on Absorbency[纤维状网中的孔径分布的测定及其对吸收性的影响],Proceedings of 1996 Nonwovens Conference[1996年非织造织物会议会刊],1996,321-327)。这些纤维(亲水性或疏水性)的聚合物类型影响网的固有吸收性质。亲水性纤维提供经由纤维吸涨吸收液体的能力,从而引起纤维溶胀。它还吸引并保持在纤维外部、毛细管和结构空隙中的液体。另一方面,疏水性纤维仅具有它通常可用的后一种机制(Gupta,B.S.,和Smith,D.K.,Nonwovens in Absorbent Materials[吸收性材料中的非织造织物],Textile Sci.and Technol.[纺织科学与技术]2002,13,349-388)。因此,可以利用每质量和每体积的网和三维多孔网络,该网的亲水性、高表面积和高孔隙率来吸收或吸涨溶解在液体溶液中的液体酯底物或固体酯底物。

[0117] 吸收涉及纤维基质浸没在液体酯底物中或溶解在液体溶液中的固体酯底物中,或液体酯底物或溶解在液体溶液中的固体酯底物与纤维基质在所希望的纤维网:酯底物比率下的紧密物理接触,从而允许液体被吸收在3D多孔网络内,或部分吸收在单根纤维内和/或吸附在纤维表面上。

[0118] 在另一个实施例中,该纤维构造体另外包括第三网,该第三网包括多根第三水溶性纤维,并且其中酯底物被吸收到该第三网的至少一部分上。

[0119] 在另一个实施例中,该纤维构造体另外包括第三网,该第三网包括多根第三水溶性纤维,并且其中酯底物被包封在这些第三水溶性纤维中。

[0120] 在又一个实施例中,酯底物可以用过水解酶包封,只要该酶在将溶解酯底物和聚合物的有机溶剂下继续存在。在此类实施例中,该有机溶剂选自但不限于丙酮或氯仿。

[0121] 为了将酯底物(固体或液体)包封到水溶性聚合物树脂中,必须根据实例1中描述的程序和本领域中已知的溶液纺丝的其他程序来使酯底物与水溶性聚合物一起溶解在用于溶液纺丝的普通溶剂中。例如,三乙酸甘油酯(CAS#102-76-1)(一种几乎不溶于水(在25°C下70g/L)的液体酯底物)和聚乙烯吡咯烷酮(一种水溶性聚合物)两者均可以溶解于醇(包括但不限于甲醇、乙醇和异丙醇)中,并且也可以溶解于氯仿和二氯甲烷中。

[0122] 包封的或吸收的酯底物在酶促反应中产生过乙酸方面是有活力的,该酶促反应涉及三乙酸甘油酯作为酯底物和过氧化氢作为通过过水解酶催化的氧化剂。

[0123] 在一些实施例中,酯底物以介于以下中的任两者之间且包括以下的量存在:基于第三网的总重量5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、84、以及85wt%。在一些实施例中,酯底物以基于第三网的总重量从5至80wt%的量存在。在另一个实施例中,酯底物以基于第三网的总重量从5至60wt%的量存在。在另一个实施例中,酯底物以基于第三网的总重量从5至45wt%的量存在。在另一个实施例中,酯底物以基于第三网的总重量从5至30wt%的量存在。

[0124] 在另一个实施例中,酯底物以基于第三网的总重量从5至60wt%的量存在,其中该第三网是电吹制的。在另一个实施例中,酯底物以介于以下中的任两者之间且包括以下的量存在:基于第三网的总重量5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、以及60wt%,其中该第三网是电吹制的。在又一个实施例中,酯底物以基于第三网的总重量从5至30wt%的量存在,其中该第三网是电吹制的。

[0125] 在一些实施例中,具有包封的酯底物的第三水溶性纤维具有通过扫描电子显微镜测定的介于以下数字中的任两者之间且任选地包括以下数字的平均纤维直径:0.5、1、1.5和2微米。

#### [0126] 氧化剂

[0127] 氧化剂选自过氧化物、高锰酸盐、铬酸盐、重铬酸盐、四氧化锇、高氯酸盐、硝酸钾、过硼酸盐、过碳酸盐、氧化亚氮、氧化银或其混合物。在一些实施例中,氧化剂是过氧化氢。

[0128] 氧化剂被包封在第二水溶性纤维中。

[0129] 在一些实施例中,氧化剂是过氧化氢源,该过氧化氢源可以自发地或酶促地产生过氧化氢。

[0130] 在一些实施例中,过氧化氢复合到该第二网的至少一部分上。本领域中众所周知的是,PVP和过氧化氢在接触时形成复合物,如在此先前所描述(G.K.Surya Prakash, Anton Shakhmin, Kevin G.Glinton, Sneha Rao, Thomas Mathew, 以及George A.Olah.Green Chem. [绿色化学] 2014, 16, 3616-3622.; E.F.Panarin, K.K.Kalnin'sh, 以及V.V.Azanova.Polym.Sci.Ser.A.[聚合物科学系列A] 2007, 49(3), 275-283; M.A.Zolfigol, G.Chehardoli, M.Shiri.Reac.Func.Polym. [反应性和功能性聚合物] 2007, 67, 723-727; F.Haaf, A.Sanner, 以及F.Straub.Polym.J.[聚合物杂志] 1985, 17(1), 143-152.)

[0131] 过氧化氢-聚乙烯吡咯烷酮(PVP)复合物是在PVP的乙烯基吡咯烷酮(VP)侧基与过氧化氢之间形成的氢键键合的复合物。乙烯基吡咯烷酮侧基是具有酰胺羰基的五元内酰胺环,该酰胺羰基是强氢受体。另一方面,过氧化氢是强氢供体,因此它将与乙烯基吡咯烷酮形成稳定的复合物。在分子水平上,过氧化氢与VP复合,如先前所描述的。

[0132] 呈粉末或颗粒形式的PVP-过氧化氢可作为商业产品(Peroxydone<sup>TM</sup>,阿什兰

(Ashland) ) 获得。本披露的PVP-过氧化氢复合物呈纤维毡(包括纳米纤维毡)的形式。这种纤维形式的优点是相对于粉末或薄膜,纤维中每体积或每质量的表面积更高。PVP-过氧化氢复合物可以通过制备PVP纤维毡(通过电吹制或前面描述的其他溶液纺丝技术)且然后在溶剂中进行与过氧化氢复合来获得,在该溶剂中该聚合物不可溶的,而过氧化氢是可溶的。因为购买的过氧化氢呈水溶液形式,并且PVP纤维溶解在水溶液中,所以可以将过氧化氢萃取到溶剂中。发现许多适合的萃取溶剂(包括二乙醚和乙酸乙酯)是有用的。在室温下通过在温和搅拌(小于100的相对离心力)下混合所希望量的99%纯乙酸乙酯和29wt%水性H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>来从过氧化氢的水溶液中萃取过氧化氢。

[0133] 在PVP纤维中复合的过氧化氢在过水解反应中作为过氧化氢源是有活性的和有活力的,该过水解反应涉及三乙酸甘油酯作为酯底物和过氧化氢作为通过过水解酶催化的氧化剂。

[0134] 在一些实施例中,在第二水溶性纤维中复合的过氧化氢是基于第二网的总重量从0.1至20wt%。在一些实施例中,在第二水溶性纤维中复合的过氧化氢是基于第二网的总重量从5至15wt%。在一些实施例中,在第二水溶性纤维中复合的过氧化氢是基于第二网的总重量从0.1至10.4wt%。

[0135] 在一些实施例中,过氧化氢可以复合到碎裂的网上。碎裂的网可以由第二网制成,然后使过氧化氢复合到该碎裂的第二网的至少一部分上。

[0136] 包封的过水解酶基本上不与酯底物反应。当酯底物、过水解酶和氧化剂(如过氧化氢)接触时,它们反应以产生过乙酸。过乙酸用于清洁、漂白、消毒或灭菌应用/组合物中。过水解酶催化过水解反应以产生过乙酸。

[0137] 纤维构造体

[0138] 在一个实施例中,通过将第一网和第二网和/或第三网同时溶液纺丝到收集器上来制成该纤维构造体。制备聚合物-酶溶液和聚合物氧化剂溶液。将每种溶液通过喷丝头挤出,该喷丝头由孔口或毛细管喷嘴组成。溶液从每个喷嘴的尖端出来,以形成纤维,并且这些纤维被收集到收集器上的网中。当形成纤维时,溶剂从溶液中蒸发。

[0139] 在一个实施例中,通过将第一网和第二网和/或第三网同时电纺丝到接地收集器上来制成该纤维构造体。制备聚合物-酶溶液和聚合物氧化剂溶液。将每种溶液通过喷丝头挤出,该喷丝头由在其中施加高电压的孔口或毛细管喷嘴组成。典型地,电压在20至110kV的范围内。溶液从每个喷嘴的尖端出来,以形成纤维,并且这些纤维作为网被收集在接地收集器上。当形成纤维时,溶剂从溶液中蒸发。

[0140] 在一个实施例中,通过将第一网和第二网和/或第三网同时电吹制到接地收集器上来制成该纤维构造体。制备聚合物-酶溶液和聚合物氧化剂溶液。将每种溶液通过喷丝头挤出,该喷丝头由在其中施加高电压的孔口或毛细管喷嘴组成。当溶液从喷嘴的尖端出来时,使压缩空气直接吹向溶液以形成纤维,并且这些纤维被收集到接地收集器上的网中。当形成纤维时,溶剂从溶液中蒸发。电压、外壳温度、工艺空气流量在20至110kV、室温至60°C以及0至20 scfm的范围内操作或设定。

[0141] 在另一个实施例中,该纤维构造体是如任何以上实施例中所描述制成,但是代替使纤维同时地纺丝,这些网是通过顺序纺丝制成的。两种方法都是众所周知的,并且在本文中不再详细论述。

[0142] 在存在第三网的实施例中,第三网是根据以上描述的任何方法制成的,其中酯底物被包封。或者,第三网是在没有酯底物的情况下根据以上描述的任何方法制成的,且然后在制成第三网后,将酯底物吸收在该第三网的至少一部分上。

[0143] 在一些实施例中,第二网是根据以上描述的任何方法制成的,然后将过氧化氢复合到该第二网的至少一部分上。

[0144] 该纤维构造体溶解在基于溶液的总重量百分比具有70wt%水或更多水的溶液中。过水解酶和氧化剂(以及在酯底物被包封时任选的酯底物)被释放并且将彼此接触,从而反应以产生过乙酸。

[0145] 在另一个实施例中,该纤维构造体呈织造网、碎裂的织造网、非织造网、碎裂的非织造网、单根纤维或其组合的形式。

[0146] 本披露的另一个实施例提供了一种包含在此所描述的任何纤维构造体的水性组合物,其中该水性组合物包含基于水性组合物的总重量95、90、80或70wt%或更少的水。在其他实施例中,该水性组合物含有在此所描述的任何纤维构造体和从35wt%至70wt%或从40wt%至70wt%的水。

[0147] 在一个实施例中,一种纤维构造体,该纤维构造体包括:

[0148] a) 酯底物;

[0149] b) 第一网,该第一网包括多根第一水溶性纤维和过水解酶,该过水解酶被包封在这些第一水溶性纤维中并且基于该第一网的总重量以从0.1至40 wt%的量存在;

[0150] c) 第二网,该第二网包括多根第二水溶性纤维和氧化剂,其中该氧化剂被包封在这些第二水溶性纤维中。

[0151] 其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。

[0152] 在其他实施例中,提供了一种纤维构造体,该纤维构造体包括:

[0153] a) 酯底物;

[0154] b) 第一网,该第一网包括多根第一水溶性纤维和过水解酶,其中该过水解酶被包封在这些第一水溶性纤维中并且基于该第一网的总重量以从0.1至40wt%的量存在;

[0155] c) 第二网,该第二网包括多根第二水溶性纤维和过氧化氢,其中该过氧化氢复合到该第二网的至少一部分上;

[0156] 其中这些第二水溶性纤维是聚乙烯吡咯烷酮或其共聚物;并且

[0157] 其中这些第一水溶性纤维和这些第二水溶性纤维是溶液纺丝的水溶性纤维。

[0158] 在另一个实施例中,如所描述的纤维构造体除了在此先前描述的第一网和第二网外还包括含有多根第三水溶性纤维的第三网,其中酯底物被包封在这些第三水溶性纤维中或被吸收到该第三网的至少一部分上。

[0159] 在替代实施例中,该酯底物可以被吸收到第一网的至少一部分上或被吸收到第二网的至少一部分上或被吸收到该第一网和该第二网两者的至少一部分上。

[0160] 在一些实施例中,在此所描述的纤维构造体中的任一种的这些第一水溶性纤维、第二水溶性纤维和任选的第三水溶性纤维独立地选自甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、瓜尔胶、藻酸盐、聚乙烯吡咯烷酮、聚环氧乙烷、聚乙烯醇、支链淀粉、聚天冬氨酸、聚丙烯酸、其共聚物或其混合物。在其他实施例中,这些第一水溶性纤维、第二水溶性纤维和任选的第三水溶性纤维独立地选自聚乙烯吡咯烷酮、聚乙烯醇、支链淀粉或其混合物。在其他实施例

中,这些第一水溶性纤维、第二水溶性纤维和任选的第三水溶性纤维具有从20%至54%的结晶度。

[0161] 在该纤维构造体的一些实施例中,包封在多根第二水溶性纤维中的氧化剂至少选自过氧化物、高锰酸盐、铬酸盐、重铬酸盐、四氧化锇、高氯酸盐、硝酸钾、过硼酸盐、过碳酸盐、氧化亚氮、氧化银或其混合物。在其他实施例中,包封的氧化剂至少包括过氧化氢。

[0162] 在其他实施例中,包含在纤维构造体中的酯底物包括至少一种选自二乙酸甘油酯、三乙酸甘油酯、乙酸乙酯、乳酸乙酯或其混合物的酯。

[0163] 在在此所述的纤维构造体的其他实施例中,过水解酶被包封,包封效率为从80%至100%。其他实施例中的纤维构造体可以按90%至100%的包封产率将过水解酶包封在第一网中。

[0164] 根据任何上述实施例的纤维构造体可以具有通过电纺丝制成的第一水溶性纤维、第二水溶性纤维和第三水溶性纤维。在其他实施例中,这些第一水溶性纤维、这些第二水溶性纤维和这些第三水溶性纤维可以通过电吹制法制成。

[0165] 在一些实施例中,该纤维构造体溶解在基于溶液的总重量百分比具有70wt%水或更多水的溶液中。

[0166] 在其他实施例中,该纤维构造体的过水解酶在基本上不含细胞或细胞碎片的组合物中提供。

[0167] 尽管与在此所述的方法和材料类似或等效的方法和材料可以用于本发明的实践或测试中,但是在此描述了适合的方法和材料。

[0168] 实例

[0169] 除非另外说明,在此的材料、方法和实例仅是说明性的,而非旨在限制性的。

[0170] 聚合物树脂的描述

[0171] ELVANOL 80-18是PVA(聚乙烯醇)和另一种单体的98%至98.8%水解的共聚物并且可从可乐丽有限公司获得。ELVANOL 70-03是98%至98.8%水解的PVA(聚乙烯醇)并且也可从可乐丽有限公司获得。

[0172] 纤维直径测量

[0173] 如下测量溶液纺丝纤维的纤维直径。使用OPC-80T锇等离子体涂布机用约1至3nm的锇对纤维样品进行等离子体涂布,且随后使用具有热离子发射枪和肖特基场(Schottky-Field)发射枪的Hitachi SU3500和Hitachi SU5000可变压力(VP)显微镜通过SEM进行分析,这些显微镜分别在5至10kV(SU3500)或1至5kV(SU5000VP)下60至120Pa范围内的压力下操作。通过测量每个样品中来自至少100根纤维的直径来确定平均纤维直径。

[0174] 实例1

[0175] 实例1表明,包封在纤维中的酶显示与游离酶几乎相同的酶活性,并且纤维中的酶分布是高度均匀的。

[0176] 所使用的聚乙烯醇聚合物是ELVANOL 80-18。将一份液体过水解酶变体浓缩物(约3.5wt%)添加至九份15wt%的ELVANOL 80-18PVA水溶液中以产生聚合物-酶溶液。使用电吹制来制备含过水解酶的聚乙烯醇(PVA)纤维。将该聚合物-酶溶液通过喷丝头挤出,该喷丝头由在其中施加高压的孔口或毛细管喷嘴组成。当溶液从喷嘴的尖端出来时,使压缩空气直接吹向溶液以形成纤维,并且这些纤维被收集到接地收集器上的网中。当形成纤维

时,溶剂从溶液中蒸发。电压、外壳温度、工艺空气流量分别在20至110kV、室温至60°C以及0至20标准立方英尺/分钟的范围内操作或设定。这对应于具有2.2wt%包封的酶的所得纤维毡。

[0177] 将一份液体过水解酶变体浓缩物(约3.5wt%)添加至九十份15wt%的ELVANOL80-18 PVA水溶液中,并且以与以上描述的相同方式产生纤维毡。这对应于具有0.2wt%包封的酶的所得纤维毡。

[0178] 根据先前描述的方法对包封酶的PVA纤维的纤维直径进行分析。通过测量每个样品中来自至少100根纤维的直径来确定平均纤维直径。结果显示在表1中。

[0179] 表1

[0180]	PVA 纤维 (0 wt%酶)	PVA 纤维 (0.2 wt%酶)	PVA 纤维 (2.2 wt%酶)
	平均直径	359 ± 214 nm	507 ± 269 nm
			585 ± 336 nm

[0181] 使用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)方案或利姆里(Laemmli)方法(Laemmli, U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. [在噬菌体T4的头部组装期间裂解结构蛋白质] Nature [自然] 227 (5259) : 680-685)通过直接测量蛋白质含量来测定纤维毡中过水解酶的分布。从纤维毡的不同区域切割十个小切片(约0.4英寸×约0.4英寸),其含有2.2wt%的包封的过水解酶变体。通过SDS-PAGE测量了10个切割切片中的每一个的酶含量,并与起始纺丝溶液中使用的酶的已知量(理论量)进行了比较。表2提供了SDS-PAGE分析的结果,从而表明纤维毡中的酶分布是高度均匀的,其中与理论量0.90μg相比,平均值为0.86±0.09μg。

[0182] 测定了包封效率,并且该包封效率是相对于如前所述的用于纺丝的起始溶液中使用的酶的量,包封在纤维毡中的酶的量的量度。纤维毡的所有测量的切割切片的平均封装效率非常高,在95%±10%下、接近100%,其中差异可以在统计或随机误差范围内,从而证明该包封方法可能比常规包封方法像喷雾干燥和流化床方法更有效。结果显示在表2中。

[0183] 表2

样品	来自 SDS-PAGE 的酶质量 (μg)	理论质量 (μg)	包封效率 (%)
1	0.89	0.90	99
2	1.06	0.90	118
3	0.92	0.90	102
4	0.87	0.90	97
5	0.86	0.90	96
6	0.76	0.90	84
7	0.81	0.90	90
8	0.75	0.90	83
9	0.88	0.90	98
10	0.78	0.90	87
平均值	<b>0.86</b>	<b>0.90</b>	<b>95</b>
标准偏差	± 0.09	0.90	± 10

[0185] 通过在纤维毡与三乙酸甘油酯和过氧化氢反应时在缓冲水性介质中产生过乙酸来测定含有2.2wt%的过水解酶变体的纤维毡的PVA纤维中包封的过水解酶的活性。如上所述制备由酶含量为2.2wt%的ELVANOL 80-18组成的新纤维毡。使用了由样品尺寸范围为从25mm<sup>2</sup>至1cm<sup>2</sup>(相应的重量范围为从1至80mg)组成的切割电吹制纤维毡。反应介质含有4mL的含有150至200mM三乙酸甘油酯和过氧化氢(30至200mM)的缓冲液(100mM磷酸钠, pH 7.2)。将相当于80μg/mL过水解酶的一定量的纤维毡添加到反应介质中。通过将180uL反应溶液转移到含有20uL的1.0M磷酸的小瓶中以终止酶反应来在0、5、15、30、60和105分钟时对反应物取样。将酸淬灭的溶液离心(12,000rpm, 5分钟)。将上清液(0.010至0.050mL)转移到含有0.300mL HPLC级水的螺旋盖玻璃HPLC小瓶中, 以用于随后改良的卡斯特(Karst)衍生化方案(Pinkernell, U. Effkemann, S. Karst, U. Simultaneous HPLC determination of Peroxyacetic acid and hydrogen peroxide [过氧乙酸和过氧化氢的同时HPLC测定], 1997, Anal. Chem. [分析化学] 69 (17), 3623-3627)。为了起始第一卡斯特衍生化反应, 使用正位移移液管添加0.100mL的含20mM MTS(甲基-对甲苯基-硫化物)的乙腈。将小瓶加盖并轻轻混合内容物, 然后在黑暗中在约25°C孵育10分钟。随后, 向每个小瓶中加入0.400mL乙腈和0.100mL含49mM TPP(三苯基膦)的乙腈。将小瓶涡旋以混合内容物, 并将小瓶在黑暗中在约25°C孵育30分钟。然后使用正移位移液管加入内标溶液, 即0.100mL的含2.5mM DEET(N,N-二乙基-间甲苯酰胺)的乙腈, 重新盖上小瓶并剧烈振荡内容物以混合。通过HPLC评估样品并分析MTSO(甲基-甲苯基-亚砜)。

[0186] 还进行了两个对照反应以将过水解反应的速率和程度与纤维包封的过水解酶的速率和程度进行比较。一个对照是涉及ELVANOL 80-18的PVA纤维毡而没有包封的过水解酶的过水解反应, 并且另一个对照是涉及溶液中的游离酶的过水解反应。表3总结了通过测量过乙酸产生来测定酶含量为2.2wt%的ELVANOL 80-18中过水解酶活性的结果。每次测量通常至少三次重复的平均值。纤维中的包封酶显示与溶液中的游离酶几乎相同的酶活性, 如通过过水解反应中产生的过乙酸所指示, 其证明通过电吹制法在聚合物纤维中包封酶对酶没有任何有害影响, 并且当置于水溶液中时, 包封的酶是可及的。不含酶的纤维显示出非常有限的过乙酸产生。结果显示在表3中。

[0187] 表3

时间 (分钟)	过乙酸产生 (ppm)		
	溶液中的游离酶 (对照)	纤维中包封的纤维	纤维中没有酶 (对照)
0	0	0	0
5	6564	6160	135
15	6654	6986	292
30	6821	6347	439
60	6346	6365	494

[0189] 实例2

[0190] 实例2展示了包封在支链淀粉纤维中的0.17%和1.7%过水解酶, 其中酶活性得以保持。使用如实例1中的电吹制方法制备了含有过水解酶的支链淀粉纤维。支链淀粉是由通过 $\alpha$ -1,6糖苷键联结合的连续麦芽三糖单元组成的水溶性多糖。将购自日本林原有限公司

(Hayashibara Co.,Ltd.)的白色粉末和无味食品级支链淀粉在搅拌下溶解在水中以制备支链淀粉溶液。将一份液体过水解酶浓缩物(约3.5wt%)添加到7.5份20wt%支链淀粉水溶液中。这对应于具有1.7wt%包封的酶的所得纤维毡。在另一个中,将一份液体过水解酶浓缩物(约3.5wt%)添加到75份15wt%支链淀粉水溶液中。这对应于具有0.17wt%包封的酶的所得纤维毡。根据先前描述的方法分析包封酶的支链淀粉纤维的纤维直径。通过测量每个样品中来自至少100根纤维的直径来确定平均纤维直径。结果显示在表4中。

[0191] 表4

[0192]	支链淀粉纤维 (0wt%酶)	支链淀粉纤维 (0.17wt%酶)	支链淀粉纤维 (1.7wt%酶)
	平均直径944±540nm	平均直径833±251nm	平均直径417±237nm

[0193] 使用与实例1中相同的程序来评估支链淀粉纤维中过水解酶的活性。表5总结了通过测量过乙酸产生来测定包封在支链淀粉纤维中的过水解酶活性的结果。样品A表示含有0.17wt%的过水解酶的6.3mg支链淀粉纤维毡,其相当于过水解反应中总共0.011mg的过水解酶。样品B表示含有1.7wt%的过水解酶的2.7mg支链淀粉纤维毡,其相当于过水解反应中总共0.046mg的过水解酶。数据表明含有支链淀粉的纤维的两种样品的过乙酸产生实质上远高于不含酶的纤维,从而证明了保持的酶活性。过乙酸产生随着反应溶液中酶含量增加而增加。结果显示在表5中。

[0194] 表5

[0195]	时间 (分钟)	过乙酸产生 (ppm)		
		样品 A 包封在支链淀粉纤维中的酶 (0.17wt%)	样品 B 包封在支链淀粉纤维中的酶 (1.7wt%)	
	0	0±0	0±0	0±0
	1	10±3	74±8	550±25
	5	23±1	769±209	1520±13
	15	39±2	1070±414	1971±71
	31	60±2	1066±329	1920±13
	60	103±2	1185±510	1924±11

[0196] 实例3

[0197] 实例3表明,液体酯底物三乙酸甘油酯可以被吸收并结合到溶液纺丝纤维网中,并且溶液纤维网中吸收的三乙酸甘油酯在酶促反应中产生过乙酸方面是有活力的,该酶促反应涉及三乙酸甘油酯作为酯底物和过氧化氢作为通过过水解酶催化的氧化剂。

[0198] 制备了三种纤维网来吸收三乙酸甘油酯:1.不含包封的酶的聚乙烯吡咯烷酮(PVP)纤维网,2.不含包封的酶的ELVANOL 80-18纤维网和3.具有2.2wt%包封的过水解酶的ELVANOL 80-18纤维网。如实例1中所描述,使用电吹制法从三种不同的纺丝水溶液制备了所有三种纤维网。所有三种纺丝水溶液均在电阻率为18.2MΩ.cm且从线内Millipore Synergy®UV水净化系统获得的高纯度水中制备。PVP纺丝溶液由添加至5.67份高纯水中的1份PVP(MW=1300kDa,购自西格玛-奥德里奇公司(Sigma-Aldrich)并且不经进一步纯化即使用)组成,在室温下剧烈搅拌该混合物以获得含15wt%PVP的澄清溶液。ELVANOL 80-18纺丝溶液由添加至5.67份高纯度水中的1份ELVANOL 80-18组成,在室温下剧烈搅拌该混合物

以获得含15wt%ELVANOL 80-18的澄清溶液。如实例1中所描述制备了具有过水解酶的ELVANOL80-18纺丝溶液。

[0199] 酯底物的吸收可通过将纤维基质浸没在液体酯底物中或溶解在液体溶液中的固体酯底物中,或液体酯底物与纤维基质在所希望的纤维网:酯底物比率下的紧密物理接触来实现,从而允许液体被吸收在3D多孔网络内,或部分吸收在单根纤维内并且吸附在纤维表面上。液体酯底物(例如三乙酸甘油酯)容易润湿有或无包封的过水解酶的聚乙烯醇(PVA)和PVP纳米纤维基质。实验表明可以从SEM图像中观察到纤维网中的三乙酸甘油酯的润湿以及在吸收性包封之前和之后的纤维形态:固定化三乙酸甘油酯存在时纤维直径增加(几乎加倍),并且该基质中的纤维之间的开放空间被覆盖。

[0200] 在有或无包封的酶的纤维网吸收后三乙酸甘油酯含量在从5wt%至84wt%的范围内,其分别等效于纤维网重量的0.05倍至5.25倍的吸收的三乙酸甘油酯,而纤维基质仍然感觉并看起来“干”。

[0201] 通过使用如实例1中所描述的卡斯特HPLC测定来测定含有2.2wt%过水解酶的ELVANOL 80-18纤维网中吸收的三乙酸甘油酯产生过乙酸的能力,在上述过水解酶反应中测试了该三乙酸甘油酯的活力和可及性。结果显示在表6中,并且证明纤维网中吸收的三乙酸甘油酯在酶促反应中是可及的和有活力的,并且产生过乙酸的时间达一小时。这也证明了具有吸收的三乙酸甘油酯的包封的过水解酶在酶促反应中是有活性的和有活力的并且产生过乙酸(PAA)。还将吸收的三乙酸甘油酯的酶活性和PAA产生与纯液体三乙酸甘油酯进行了比较,并且它们显示接近的一致性,从而证明纤维基质中吸收的三乙酸甘油酯与纯液体三乙酸甘油酯一样可利用的且有活力的。

[0202] 表6

[0203]	时间 (分钟)	过乙酸产生 (ppm)	
		包封在 纤维+液体三乙酸甘 油酯中的过水解酶	包封在 纤维+吸收的三乙酸甘油 酯中的过水解酶
	0	0 ± 0	0 ± 0
	1	676 ± 352	526 ± 63
	5	1315 ± 469	1315 ± 107
	15	1541 ± 198	1525 ± 18
	30	1510 ± 92	1487 ± 85
	60	1407 ± 26	1448 ± 127

[0204] 实例4

[0205] 实例4表明,液体酯底物甘油三乙酸酯可以包封在溶液纺丝纤维中,并且溶液纺丝纤维中包封的三乙酸甘油酯在酶促反应中产生过乙酸(PAA)方面是有活力的,该酶促反应涉及三乙酸甘油酯作为酯底物和过氧化氢作为通过过水解酶催化的氧化剂。

[0206] 聚乙烯吡咯烷酮聚合物(MW=1300kDa)、三乙酸甘油酯(>99%纯度)和乙醇(>99%纯度)购自西格玛奥德里奇公司(Sigma Aldrich)并且不经进一步纯化和加工即使用。在一种制备中,将由一份三乙酸甘油酯和2.33份聚乙烯吡咯烷酮(PVP)聚合物组成的纺丝

溶液A添加到十份乙醇中。在另一制备中,将由一份三乙酸甘油酯、2.33份聚乙烯吡咯烷酮组成的纺丝溶液B添加到12.67份乙醇中。充分搅拌纺丝溶液混合物A和B,直到获得澄清溶液。根据实例1中所描述的方法对溶液混合物进行纺丝。

[0207] 如实例1中所描述,获得溶液纺丝纤维并使用扫描电子显微镜分析它们的纤维直径。从纺丝溶液B获得的平均纤维直径是 $1.46 \pm 0.57 \mu\text{m}$ 。通过使用如实例1中所描述的卡斯特HPLC测定来测定PVP纤维中包封的三乙酸甘油酯产生过乙酸的能力,在过水解酶促反应中测试了该三乙酸甘油酯的活力和可及性。在此测定中,该酶促反应中的三乙酸甘油酯底物的来源是PVP纤维中包封的三乙酸甘油酯,而过水解酶和 $\text{H}_2\text{O}_2$ 两者均呈液体溶液的形式。结果显示在表7中,并且它们显示纤维基质中包封的三乙酸甘油酯在酶促反应中是有活力的并且产生过乙酸的时间达一小时。

[0208] 表7

[0209]

时间 (分钟)	过乙酸产生 (ppm)
0	0
1	160
5	473
15	759
31	788
60	781

[0210] 实例5

[0211] 实例5表明过氧化氢可以复合并固定在聚乙烯吡咯烷酮纤维中,并且复合并固定的过氧化氢在参与涉及高锰酸盐的反应或涉及三乙酸甘油酯和过水解酶的酶促反应以产生过乙酸中是有活性的和有活力的。

[0212] 本领域众所周知,PVP和过氧化氢在接触时形成复合物。过氧化氢-聚乙烯吡咯烷酮(PVP)复合物是在PVP的乙烯基吡咯烷酮(VP)侧基与过氧化氢之间形成的氢键键合的复合物。乙烯基吡咯烷酮侧基是具有酰胺羰基的五元内酰胺环,该酰胺羰基是强氢受体。另一方面,过氧化氢是强氢供体,因此它将与乙烯基吡咯烷酮形成稳定的复合物。在分子水平上,过氧化氢和VP可以形成处于一比一(1:1)和一比二(1:2)比例的复合物,如反应机制中所观察到。与过氧化氢的这种复合然后可以在PVP的共聚物中形成,其中存在乙烯基吡咯烷酮侧基。

[0213] 呈粉末或颗粒形式的PVP-过氧化氢可作为商业产品(Peroxydone<sup>TM</sup>,阿什兰)获得,但在本披露中,PVP-过氧化氢复合物将呈纤维毡,如纳米纤维网的形式。这种纤维形式的优点是相对于粉末或薄膜,纤维中每体积或每质量的表面积更高。为了制备PVP-过氧化氢纤维毡,如实例3中所描述制作了PVP纤维毡(通过电吹制法或先前描述的其他溶液纺丝技术),且然后在溶剂中进行了与过氧化氢的复合,其中聚合物是不可溶的,并且过氧化氢是可溶的。因为购买的过氧化氢呈水溶液形式,并且PVP纤维溶解在水溶液中,所以必须将过氧化氢萃取到溶剂中。适合的溶剂包括但不限于二乙醚或乙酸乙酯(EtOAc)。

[0214] 对于此实例,使用乙酸乙酯(>99%,西格玛奥德里奇)萃取了过氧化氢水溶液(30%,西格玛奥德里奇)。将配备有磁力搅拌棒的10ml圆底烧瓶放置在天平上。将烧瓶的重量去皮重,并经由移液管添加1g乙酸乙酯。将烧瓶放置在磁力搅拌板上,并且经由塑料移液

管缓慢添加1ml的30wt%过氧化氢。将溶液在室温下搅拌0.5至2小时。在所需时间后,将溶液置于5ml闪烁瓶中并静置15分钟以使不混溶层分离。经由微量移液管小心地除去有机层。

[0215] 出于安全原因,通常制备五(5)份溶液。将有机层合并,并在两次使用之间在化学冰箱中保持冷却。经由本领域中已知的KMnO<sub>4</sub>滴定法且经由卡斯特HPLC(Pinkernell, U.; Effkemann, S.; Karst, U. Simultaneous HPLC determination of peroxyacetic acid and hydrogen peroxide[过氧乙酸和过氧化氢的同时HPLC测定]Anal. Chem. [分析化学] 693623-3627 (1997) )对萃取后的过氧化氢浓度进行评价,并且两种测定程序良好一致。结果示于表8中。

[0216] 表8

[0217] 在萃取后乙酸乙酯中过氧化氢的浓度

[0218]	样品	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 浓度 (wt%)	
		KMnO <sub>4</sub> 滴定	卡斯特 HPLC
	在乙酸乙酯中萃取的 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	10.2	9.5

[0219] 通过将PVP纤维毡浸没在过氧化氢-乙酸乙酯溶液中来进行与PVP纤维的过氧化氢复合。向20-ml玻璃广口瓶中装入10-ml乙酸乙酯。然后将广口瓶置于分析天平上,并且根据以下表9添加所希望量的新鲜制备的过氧化氢-乙酸乙酯。

[0220] 表9:纤维中PVP-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>复合物的制备

[0221]	PVP 纤维 (g)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -EtOAc (g)	EtOAc (ml)	产量 (g)
	0.1517	1.7311	5	0.1521
	0.1680	2.1286	10	0.1787
	0.1590	1.7433	5	0.1719
	0.1524	1.6355	10	0.1754
	0.1528	1.2588	10	0.1745

[0222] 轻轻涡旋过氧化氢-乙酸乙酯溶液,之后使用不锈钢镊子小心地添加称重的PVP纤维(2×2cm)。在置于过氧化氢-乙酸乙酯溶液中后,纤维立即收缩。将这些纤维在溶液中静置0.5至1小时。在所希望的时间后,倾析上清液并保持用于分析。将这些纤维用乙酸乙酯冲洗,之后置于真空烘箱中用于在环境温度下干燥(1至2小时)。在PVP纳米纤维和过氧化氢在乙酸乙酯中的复合反应之后,所得纤维毡的尺寸减小或收缩,然而,仍然保持纤维形态,如通过扫描电子显微镜(SEM)成像的。PVP-过氧化氢纳米纤维基质在水中的溶解度低于前体PVP纳米纤维。

[0223] 经由本领域中已知的KMnO<sub>4</sub>滴定法且经由卡斯特HPLC(Pinkernell, U.; Effkemann, S.; Karst, U. Simultaneous HPLC determination of peroxyacetic acid and hydrogen peroxide[过氧乙酸和过氧化氢的同时HPLC测定]Anal. Chem. [分析化学] 693623-3627 (1997) )对纤维中的过氧化氢浓度进行评价,并且两种测定程序良好一致。结果示于表10中。

[0224] 表10

[0225] 在浸没1小时后PVP纤维中H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的浓度

[0226]	样品	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 浓度 (wt%)	
		KMnO <sub>4</sub> 滴定	卡斯特 HPLC
	PVP 纤维- H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 复合物	9.1	10.4

[0227] 实例6

[0228] 实例6证明,在PVP纤维中复合的过氧化氢在过水解反应中作为过氧化氢源是有活性的和有活力的,该过水解反应涉及三乙酸甘油酯作为酯底物和过氧化氢作为通过过水解酶催化的氧化剂。

[0229] 将实例5中制备的平均过氧化氢浓度为9.8wt%的干燥过氧化氢-PVP纤维毡用作过水解反应中的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>源,并且如实例1中所描述根据卡斯特测定测量了过乙酸产生。使用来自过氧化氢-PVP纤维毡的两种不同水平的过氧化氢浓度(18.0mM和29.5mM),其分别等效于25.0mg和41.0mg质量的过氧化氢-PVP纤维毡。过乙酸产生的结果显示在表11中,从而证明PVP纤维中的复合过氧化氢是有活性的和有活力的。

[0230] 表11

[0231] 通过PVP纤维中复合的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>产生过乙酸

[0232]	时间 (分钟)	过乙酸产生 (ppm)	
		18.0 mM 来自 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -PVP 纤维	29.5 mM 来自 H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -PVP 纤维
	0	0 ± 0	0 ± 0
	1	522 ± 124	1097.5 ± 131.9
	5	887.5 ± 218.5	1344.5 ± 13.8
	15	767 ± 203.6	1168.5 ± 8.8
	30	632 ± 169.7	983.5 ± 1.8
	60	482.5 ± 143.5	784 ± 4.9

[0233] 实例7

[0234] 实例7展示PVA溶解度的定量测量,该定量测量是使用在公开的期刊文章“Simple spectrophotometric method for determination of polyvinyl alcohol in different types of wastewater[用于测定不同类型的废水中的聚乙烯醇的简易分光光度法], L. Procházková, Y. Rodríguez-Muñoz, J. Procházka, J. Wanner, 2014, Intern. J. Environ. Anal. Chem. [国际环境分析化学杂志], 94, 399-410”中描述的分光光度法,基于根据普里查德方法与碘复合来进行的,该普里查德方法已在包括以下的以前出版物中进行了描述:I.F.Aleksandrovich和L.N.Lyubimova,Fibre Chem.[纤维化学]24,156(1993);D.P.Joshi,Y.L.Lan-Chun-Fung和J.G.Pritchard,Anal.Chim.Acta.[分析化学学报]104,153(1979);Y.Morishima,K.Fujisawa和S.Nozakura,Polym.J.[聚合物杂志]10,281(1978);J.G.Pritchard和D.A.Akintola,Talanta.[塔兰塔]19,877(1972)。

[0235] 定量PVA溶解度分析

[0236] 如实例1中所描述制备了来自ELVANOL 80-18的电吹制塑纤维毡样品。将这些纤维毡真空干燥过夜,称重,并置于20-ml闪烁瓶中。丙二醇购自西格玛奥德里奇公司,并且电阻

率为 $18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 的高纯度水是从线内Millipore Synergy®UV水净化系统获得的。将在从0%、15%、30%、40%、50%、70%和100%范围内的不同含水量的水-丙二醇混合物添加到小瓶中以得到混合物中3.5wt%和0.5wt%的最终固体浓度，并且搅拌至少24小时。将混合物离心，并且取出等分试样以用于PVA测定。

[0237] 经由基于上述期刊文章的UV-Vis分光光度法使用硼酸和碘如下测量PVA含量：将 $500\mu\text{l}$ 等分试样添加到5-ml埃彭道夫管中。加入 $1500\mu\text{l}$ 的硼酸( $0.04\text{g}/\text{ml}$ )，并且涡旋该溶液。加入 $2000\mu\text{l}$ 蒸馏的Millipore水以使最终体积达到 $4000\mu\text{l}$ 。涡旋该溶液，并且加入 $1000\mu\text{l}$ 碘溶液且涡旋。将溶液孵育15分钟并测量 $590\text{nm}$ 处的吸光度。样品一式两份制备。

[0238] 测量的结果显示在表12中。总体溶解度以两种方式表示：初始固体的wt%，其表示置于溶解的溶剂混合物中的初始固体的百分比量；以及 $\text{mg}/\text{ml}$ ，其表示溶解在每 $\text{ml}$ 溶剂中的固体的量( $\text{mg}$ )。随着混合物中水含量增加直至50%，对于混合物中的3.5wt%固体浓度水平，PVA溶解度从0wt%增加至19wt%或等效于0至 $6.6\text{mg}/\text{ml}$ ；并且对于混合物中0.5wt%固体浓度水平，PVA溶解度从0wt%增加至21wt%或等效于0至 $1.0\text{mg}/\text{ml}$ 。这些是令人感兴趣的结果，因为它们表明虽然如从肉眼观察到纤维毡崩解、收缩和/或消失，但并非所有纤维毡都在理论上或定量上溶解。可能的是，消失的未溶解的PVA太小而不能用肉眼观察到。

[0239] 通过视觉检查测定从该制造商获得的PVA纤维毡相较于PVA粉末的在水中的溶解度行为。从该制造商获得的ELVANOL70-03和ELVANOL80-18两者在室温和低温下在水中都不溶解。

[0240] 为了溶解ELVANOL 70-03和ELVANOL 80-18，建议在加入PVA之前将水溶剂加热至至少 $90^\circ\text{C}$ ，且然后建议将PVA-水混合物在搅拌下持续加热。当转化为纤维时，出人意料地发现存在ELVANOL 70-03和ELVANOL 80-18纤维在水中快速碎裂并最终消失。

[0241] 通过在0.1wt%的PVA浓度下在大约1.2英寸 $\times$ 1.2英寸的 $150\text{ml}$ 烧杯中放置在电阻率为 $18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 的从线内Millipore Synergy®UV水净化系统获得的高纯度水中的方形纤维切片来测定这些纤维的溶解度行为。将水在 $250\text{mL}$ 夹套式反应釜中填充有50:50水：乙二醇的循环浴(热电公司(Thermo Electron Corporation),Neslar Merlin M25)中冷却至所希望的温度，并且用连接至数字读出显示器(Fluke 52II)的80PK-1温度探针监测。将在所希望的温度下冷却的水倾析并用于视觉溶解度测量中。使用精确至 $\pm 1^\circ\text{C}$ 的酒精温度计来监测水-PVA混合物的温度。

[0242] 在室温(约 $25^\circ\text{C}$ )下在2分钟内、在 $15^\circ\text{C}$ 下在2.5至5分钟之间、在 $10^\circ\text{C}$ 下在3至7分钟之间、在 $5^\circ\text{C}$ 下在5至10分钟之间以及在接近 $0^\circ\text{C}$ 下在10至20分钟之间，置于水中的纤维毡在视觉上消失。

[0243] 表12显示使用分光光度法从可乐丽有限公司收到的ELVANOL 80-18纤维毡和粉末的定量溶解度测量值。

[0244] 表12

样品	丙二醇-混合物组成 (%)	总体溶解度 (基于初始固体的 wt 的 wt%)	总体溶解度 (mg/ml)
<b>在混合物中在 3.5 wt% 固体中的 ELVANOL 80-18 纤维毡 (35 mg/ml)</b>			
<b>1</b>	0%水	0.0%	0.0
<b>2</b>	15%水	0.1%	0.0
<b>3</b>	30%水	11.6%	4.1
<b>4</b>	40%水	15.0%	5.2
<b>5</b>	50%水	18.8%	6.6
<b>6</b>	70%水	18.6%	6.5
<b>7</b>	100%水	19.7%	6.9
<b>在混合物中在 0.5 wt% 固体中的 ELVANOL 80-18 纤维毡 (5 mg/ml)</b>			
<b>1</b>	0%水	0.1%	0.0
<b>2</b>	15%水	0.1%	0.0
<b>3</b>	30%水	13.3%	0.7
<b>4</b>	40%水	19.3%	1.0
<b>5</b>	50%水	21.2%	1.1
<b>6</b>	70%水	21.2%	1.1
<b>7</b>	100%水	19.3%	1.0
<b>在混合物中在 3.5 wt% 固体中的 ELVANOL 80-18 粉末 (按来样) (35 mg/ml)</b>			
<b>1</b>	0%水	0.0%	0.0
<b>2</b>	15%水	0.1%	0.0
<b>3</b>	30%水	0.1%	0.0
<b>4</b>	40%水	0.2%	0.1
<b>5</b>	50%水	0.2%	0.1
<b>6</b>	70%水	0.4%	0.1
<b>7</b>	100%水	0.8%	0.3

[0247] 纤维结晶度和尺寸对溶解度的影响

[0248] 可以通过诸如PVA聚合物结晶度和纤维尺寸的此类参数控制PVA聚合物溶解度来控制包封的活性物质如酶的释放。

[0249] 使用动态扫描量热法(DSC)来测量纤维样品的结晶度。为了优化DSC池中干燥过程的温度和时间,在75°C和100°C下对样品进行的实验很少,时间为5和10分钟。所选择的用于干燥的最佳温度和时间是100°C和10分钟。

[0250] 为了测量干燥的PVA粉末和纤维样品的熔化焓,以5°C/分钟从20°C至100°C进行DSC实验。然后将样品在100°C下保持10分钟,然后以10°C/分钟冷却至0°C。然后使用来自TA仪器公司的Q1000DSC,在N<sub>2</sub>气氛中以10°C/分钟在从0°C至250°C的一个加热温度曲线中对

干燥的样品继续进行实验。

[0251] 表13显示在恒定纤维直径下随结晶度变化的PVA纤维毡的不同溶解度。随着纤维结晶度增加,溶解度降低。为了确保在测量结晶度时恒定的纤维直径,将来自同一纤维毡的样品在120°C和150°C下退火1小时,并且将退火的纤维毡的结晶度测量值与参考未退火的纤维毡样品进行比较。

[0252] 表13

样品	玻璃化转变 温度	平均纤维尺寸	初始结晶度	H <sub>2</sub> O 溶解度	H <sub>2</sub> O 溶解度
	T <sub>g</sub> (°C)	(μm)	(%)	(初始固体的 wt %)	(mg/ml)
ELVANOL 70-03 纤维	80.4	0.278 ± 0.199	34.7%	22.5	7.9
ELVANOL 70-03 纤维-退火@120°C	81.0	0.278 ± 0.199	48.8%	9.8	3.4
ELVANOL 70-03 纤维-退火@150°	81.4	0.278 ± 0.199	54.2	1.5	0.5

[0254] 表14显示在恒定结晶度下随纤维尺寸变化PVA纤维的溶解度的影响。随着纤维尺寸增加,溶解度下降。如由Sakurada, I. Polyvinyl alcohol fibers [聚乙烯醇纤维]. 1985, Marcel Dekker, Inc. [马塞尔德克尔出版社]NY [纽约]所描述,使用湿法纺丝制备了具有相似结晶度的20微米尺寸的纤维。

[0255] 表14

样品	玻璃化转变 温度	初始结晶度	平均纤维尺寸	H <sub>2</sub> O 溶解度	H <sub>2</sub> O 溶解度
	T <sub>g</sub> (°C)	(%)	(μm)	(初始固体的 wt %)	(mg/ml)
ELVANOL 80-18 纤维	78.3	28.1%	0.901 ± 0.8	18.8	6.6
ELVANOL 80-18 纤维	76.0	22.0%	1.652 ± 0.7	16.3	5.7
ELVANOL 80-18 湿纺纤维	79.9	31.6%	20.0 ± 2.0	11.0	3.0

[0257] 应注意的是,并不是所有的以上在一般性描述或实例中所描述的活动都是必需的,一部分具体活动可能不是必需的,并且除了所描述的那些以外,还可进行其他活动。此外,列举每一个活动的顺序不必是它们实施的顺序。在阅读本说明书之后,熟练的技术人员将能够确定哪些活动可用于他们具体的需求或期望。

[0258] 在前述说明书中,已参考具体实施例描述了本发明。然而,本领域的普通技术人员理解,在不脱离以下权利要求中所规定的本发明范围的情况下可作出各种修改和改变。

[0259] 因此,说明书应被认为是示例性的而非限制性的,并且所有的此类修改均旨在包括于本发明的范围内。

[0260] 上面已经关于具体实施例描述了益处、其他优点和问题的解决方案。然而,益处、优点、问题的解决方案、以及可能引起任何益处、优点、或解决方案出现或使其变得更明显

的一个或多个任何要素不会被解释为任何或所有权利要求的关键的、必要的或基本的特征或要素。