



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 106967165 A

(43) 申请公布日 2017. 07. 21

(21) 申请号 201610020960. 3

(22) 申请日 2016. 01. 13

(71) 申请人 天津工业大学

地址 300387 天津市西青区宾水西道 399 号

(72) 发明人 张毅 黎淑婷 张转玲 张睿

张昊

(51) Int. Cl.

C07K 14/47(2006. 01)

C07K 1/14(2006. 01)

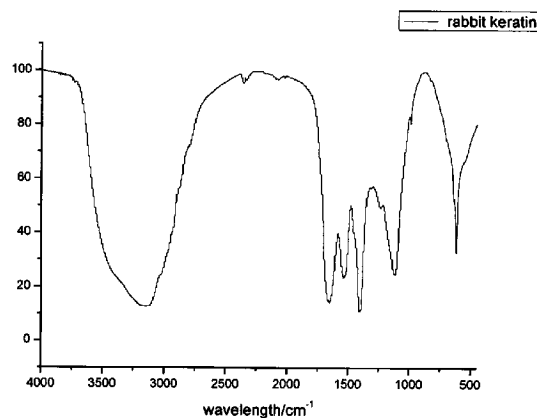
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

(54) 发明名称

一种以半胱氨酸作还原剂从兔毛纤维中提取角蛋白的方法

(57) 摘要

本发明公布了一种从兔毛纤维中提取蛋白质的方法,它涉及兔毛资源的应用技术领域。该方法是将兔毛在 8mol/l 尿素和 0.15mol/l 半胱氨酸混合液中 75℃ 水解 5h, 过滤掉未溶兔毛, 得到兔毛蛋白水解液。将兔毛蛋白液注入透析袋并在蒸馏水中透析 3d, 换入 18% 聚乙二醇 20000 溶液透析 1d, 取出冷冻干燥即可得到兔毛蛋白粉。本发明提供了一种提取率高、无污染、绿色环保的角蛋白提取方法, 最后得到兔毛角蛋白含量高达 91.75%。



1. 一种以半胱氨酸作还原剂从兔毛中提取角蛋白的方法其特征在于使用了半胱氨酸作为一种绿色环保的还原剂从兔毛中提取角蛋白,这个发明对于提高兔毛的利用价值有着深远的意义。

2. 根据权利要求书1所述,从2g兔毛中提取角蛋白的特征在于将洗净后的兔毛剪成1cm长度的片段,加入100ml的含有8mol/l的尿素和0.15mol/l的半胱氨酸的溶液中。

3. 根据权利要求书2所述,将上述的浸泡着兔毛的溶液置于75℃下水浴加热5h,取出过滤掉未溶兔毛,得到兔毛蛋白液。

4. 根据权利要求书3所述,将收集的兔毛蛋白液注入透析袋中,蒸馏水放置3~5d后,再放入18%聚乙二醇20000溶液1d直至大部分溶液透析掉。

5. 根据权利要求书4所述,将得到的浓缩蛋白液置于冷冻干燥机干燥,最后得到白色的兔毛角蛋白粉末。

一种以半胱氨酸作还原剂从兔毛纤维中提取角蛋白的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及提取蛋白质的技术领域,是一种提取兔毛纤维中角蛋白的方法。

背景技术

[0002] 角蛋白材料是天然蛋白质,具有优良的生物的亲和性,亲肤性以及无毒性,其内含大量的亲水性基团。在生物医药、纺织业、工程领域和美容等的应用表现出良好的前景。角蛋白广泛存在于动物的羽毛、毛发、指甲等的角蛋白质属于外胚层细胞的结构蛋白,而且角蛋白资源含量相当丰富。角蛋白在正常条件下都不溶于水、稀酸、稀碱或盐溶液。这些角蛋白通常情况下不能被动物所利用,要角蛋白在高温、高压以及酸碱酶处理后水解为游离的氨基酸,短肽才能被动物所用。角蛋白含有较多的胱氨酸,其含二硫键也随之增多。由于这些二硫键在蛋白质肽链中起交联作用,因此角蛋白的化学性质非常稳定,并有高机械强度,被认为具有较高的营养价值和质量稳定的潜在优质蛋白源。

[0003] 兔毛是一种性能优良的动物纤维,具有质地柔软,光滑轻薄,洁白鲜亮,保暖性,透气性和吸湿性较好等优点,是非常好的纺织原料。但是在纺织加工过程中,由于兔毛纤维本身的特性,出现了许多的落毛,如果废弃,不仅污染环境,而且浪费了宝贵的蛋白中的氨基酸资源。兔毛纤维作为一种动物纤维,蛋白质含量在90%以上,是提取角蛋白的良好材料。然而,目前提取角蛋白的方法有多种,其中还原法是效果较好,最为广泛使用的,常用的还原剂有巯基乙醇、TCEP、和亚硫酸氢钠等,前两种为具有毒性的还原剂,而亚硫酸氢钠提溶解率较低,都存在着各种各样的问题。因此,寻找一种新的提取角蛋白方法是迫切需要的。

发明内容

[0004] 本发明的目的就是针对上述存在的问题提供一种采用半胱氨酸作为还原剂法从兔毛中提取角蛋白的方法。通过本发明的制备方法,兔毛溶解率高达74.12%,最后提取的兔毛角蛋白纯度高达91.75%。

附图说明

[0005] 图1兔毛角蛋白的双缩脲反应显色反应

[0006] 图2兔毛角蛋白的红外光谱图

[0007] 提取工艺

[0008] 本发明是采用半胱氨酸作为还原剂从兔毛纤维中提取角蛋白,具体操作工艺

[0009] 如下:

[0010] 预处理取5g兔毛泡在温水中反复清洗除去纤维中含有的少量杂质,洗净后70℃恒温烘箱中干燥,并剪成1cm长的小片段;

[0011] 提取工艺:将5g预处理后的兔毛置于浴比为1:5的40%尿素溶液中,使用NaOH溶液将其pH值调至10,75℃下水解5h。取出过滤未溶解的兔毛纤维,将兔毛角蛋白液溶液注入透析袋(截留分子量8000-14000)在蒸馏水中透析3天除杂,每隔4h换一次水,再置于18%聚乙

二醇溶液1d出去过多的水分,冷冻干燥得到角蛋白粉末。

[0012] 1.溶解率的测定

[0013] 将未溶解的兔毛用蒸馏水多次清洗,70℃下烘干称量质量。其溶解率如下:

$$[0014] \quad C = \frac{M - m_1}{M}$$

[0015] 其中,M兔毛溶解前质量g; m_1 未溶解兔毛质量g。

[0016] 经测定5g兔毛纤维经过上述水解后,其溶解率为74.12%。

[0017] 2.双缩脲显色反应

[0018] 双缩脲试剂(以1.5g硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)和6.0g酒石酸钾钠($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$),用500ml蒸馏水溶解,在搅拌下缓慢加入300ml10%NaOH溶液,用水稀释到1L。

[0019] 量取5ml的双缩脲显色剂加入试管中,再加入1ml的兔毛蛋白水解液,以未加入兔毛角蛋白的双缩脲溶液为空白对照组,如图1所示,通过颜色比较,溶液由蓝色变为紫色,说明溶液中蛋白类物质含有的肽键与双缩脲试剂发生络合反应,生成紫红色的络合物。

[0020] 3.兔毛角蛋白样品的红外光谱分析

[0021] 由上图可以分析在特征频率区内,在 $3200\text{cm}^{-1} \sim 3400\text{cm}^{-1}$ 附近有明显的吸收带,峰形宽大,此处属于蛋白质中的酸性基团中成氢键的羟基与碱性基团中的氨基的伸缩振动吸收。重要的是,在 1650cm^{-1} 处出现极为强烈的吸收峰为酰胺I带,由C=O键振动伸缩导致的;而在 1546cm^{-1} 处同样有较为明显的振动吸收峰,由C-N键的伸缩振动以及N-H的弯曲振动引起的,属于酰胺II带;另外在 1250cm^{-1} 处也有微弱的振动吸收峰,属于酰胺III带的特征吸收,分别是来自C-N、C-O的伸缩振动和O=C-N的弯曲振动。以上的特征吸收峰均为蛋白质的特征官能团引起的。

[0022] 4.克达尔定氮

[0023] 量取0.1994g的提取的兔毛角蛋白粉置于凯氏烧瓶中,加入0.5g的硫酸铜和硫酸钾(质量比3:1)混合物及10ml浓硫酸,加4~5颗玻璃珠,酒精灯缓慢加热,直至溶液溶解,并由黑色转置无色透明,并继续加热约1h,取出冷却至室温。往烧瓶中缓慢加入50ml蒸馏水,溶解未溶的盐,冷却转入100ml的容量瓶中,多次用蒸馏水冲洗烧瓶并入容量瓶,加水配置刻度,摇匀。

[0024] 量取20ml的煮解液加入蒸汽发生器中,加入20ml40%的NaOH溶液中和过多的浓硫酸,直至溶液变黑。冷凝管下端放置装入30ml15%的硼酸溶液的锥形瓶并滴入4滴溴甲酚绿甲基红指示剂。加热使得反应器反应生成氨气并通过冷凝管流入锥形瓶中,使得溶液由粉红色变成绿色,测定流出液的pH值为中性后并继续反应0.5h即可停止。

[0025] 取出溶液用0.11285mol/l盐酸溶液滴定,使得溶液由绿色变成紫红色,读取盐酸用量。

$$[0026] \quad \text{氮量}(\%) = \frac{c(V_2 - V_1) \times 0.014}{m} \times \frac{\text{煮解液总量(ml)}}{\text{反应时煮解液用量(ml)}} \times 100$$

[0027] 式中,c:滴定盐酸浓度mol/l; V_1, V_2 :盐酸溶液前后读数ml;m:兔毛角蛋白粉的质量g;

[0028] 经过计算测得含氮量为14.68%,根据蛋白质含量的计算

[0029] 蛋白质% = 总含氮量% * k,

- [0030] 其中k为换算因素,毛发中k值为6.25。
- [0031] 经过计算测得含蛋白质含量91.75%。

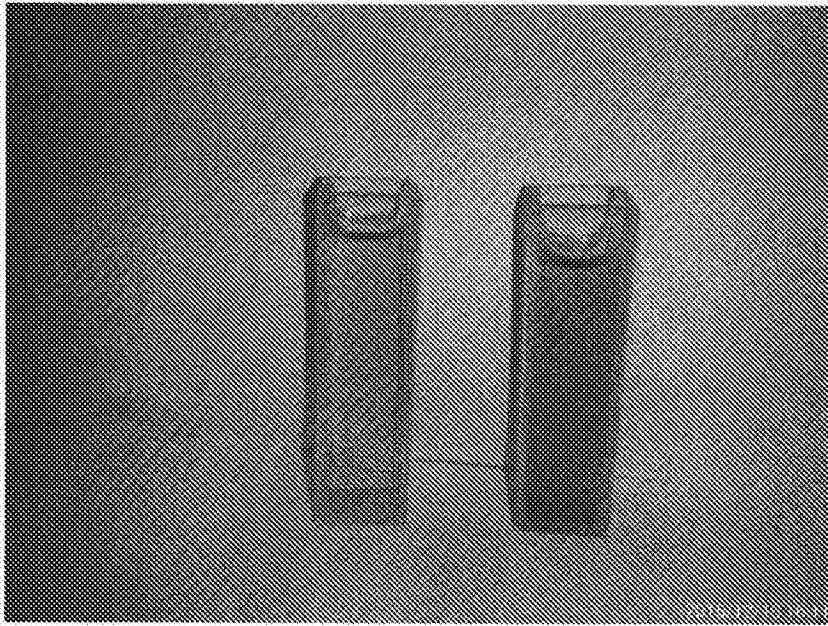


图1

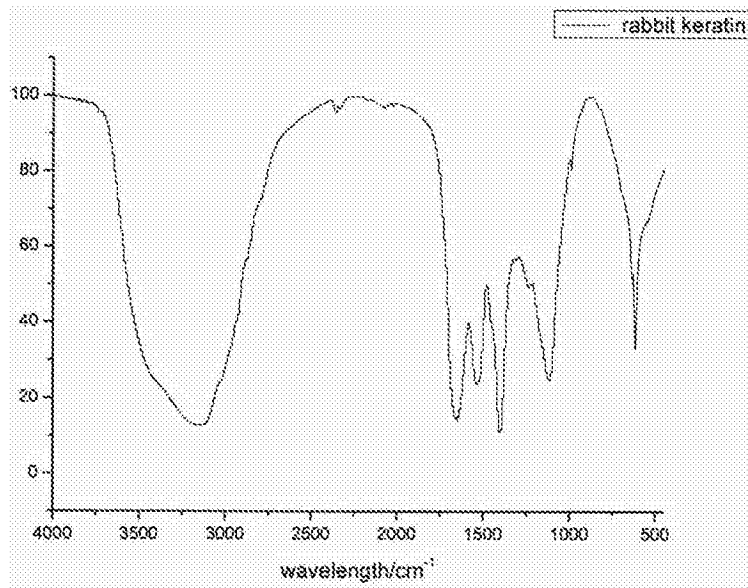


图2