

# 乙二醇二缩水甘油醚交联羊毛角蛋白\*

张玉荣<sup>1</sup>, 刘建勇<sup>1,2</sup>, 王洁<sup>1</sup>

(1 天津工业大学纺织学院, 天津 300160; 2 天津工业大学先进纺织复合材料教育部重点实验室, 天津 300160)

**摘要** 用一种新型的有机磷还原剂溶解羊毛, 用乙二醇二缩水甘油醚(EGDE)对溶解后角蛋白大分子进行交联, 发现在有机磷还原剂存在的情况下, 角蛋白分子能够交联, 但角蛋白溶液不能固化成膜。用透析后的蛋白液可以固化成膜, 对角蛋白膜进行 FTIR、SEM 和 XRD 分析发现, 在蛋白膜中蛋白大分子彼此之间发生交联。

**关键词** 乙二醇二缩水甘油醚 交联 角蛋白

## Cross-linking of Wool's Keratin by Ethylene Glycol Diglycidyl Ether

ZHANG Yurong<sup>1</sup>, LIU Jianyong<sup>1,2</sup>, WANG Jie<sup>1</sup>

(1 School of Textiles, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300160; 2 Key Laboratory of Advanced Textile Composites of Ministry of Education, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300160)

**Abstract** Wool was dissolved in a new organophosphorus reductant then the keratin in that solution was cross-linked with EGDE. The results show that the organophosphorus reductant won't interference the cross-linking reaction between keratin and EGDE but it will prevent froming of the keratin film. Keratin film was made from dialyzed keratin solution. FTIR, SEM and XRD of the keratin film were investigated, then it is concluded that keratin and EGDE in the keratin film are cross-linked with each other.

**Key words** ethylene glycol diglycidyl ether, cross-linking, keratin

## 0 引言

羊毛再利用的途径主要有用物理方法把羊毛粉碎添加到饲料或化妆品中; 用化学方法将羊毛溶解并用制得的角蛋白溶液纺丝制膜等。

本实验用有机磷还原剂溶解羊毛制得较高浓度的角蛋白溶液<sup>[1]</sup>, 用所制得的角蛋白制膜, 产物不能固化。通过透析去除有机磷还原剂, 用透析后的角蛋白溶液制膜, 并对其结构性能进行了研究, 为角蛋白在再生纤维、可降解塑料、生物医学领域和化妆品面膜等领域的潜在应用, 以及其他废弃蛋白质资源的再生利用提供新的途径。

## 1 仪器与试剂

### 1.1 仪器

MD44 型透析袋(Solarbio); CSPM5500 型原子力显微镜(本原纳米有限公司); G1 型砂芯漏斗(长春市玻璃仪器厂); TM-1000 扫描电镜(日本株式会社日立高新技术那柯事业所)。

### 1.2 试剂

纯度不小于 95% 的 SDS(天津市福晨化学试剂厂); 纯度为 98% 的有机磷还原剂(联宽精细化学品有限公司); 分析纯亚硫酸氢钠(天津市北方天医试剂厂); 纯度大于 99% 的乙二

醇二缩水甘油醚(烟台同世化工有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 羊毛角蛋白的制备

取羊毛若干放入有机磷还原剂中, 加入一定量的亚硫酸氢钠, 在浴比 1:10、温度 80 °C 的条件下保温 5 h。

### 2.2 交联度的测定

根据 O'Connell 的观点<sup>[2,3]</sup>, 蛋白质的交联度可通过在 440 nm 处进行比浊来判断。方法是将反应后的角蛋白溶液冷却, 用去离子水稀释 10 倍, 在 440 nm 处测定吸光度值, 以判断其交联度。

### 2.3 透析

将角蛋白溶液放入透析袋中封口, 将透析袋放入透析液中进行透析。

### 2.4 蛋白膜的制备

取等量的透析后的蛋白液各 25 mL, 一份加入 0.5 mL 交联剂乙二醇二缩水甘油醚, 另一份不加; 然后将蛋白液平铺在玻璃板上, 将玻璃板放入烘箱中 60 °C 烘干揭膜。

### 2.5 蛋白膜溶解率的测定

分别取 2 块蛋白膜, 未加交联剂的记为 1 号, 加入交联剂的记为 2 号, 放入已恒重的称量瓶中, 于 105 °C 的烘箱中烘至恒重( $W_0$ ), 然后将 2 块蛋白膜按 1:120 的浴比浸渍于

\*天津市科委支撑计划项目(10ZCKFSH00800)

张玉荣: 女, 1987 年生, 硕士, 研究方向为纺织化学 E-mail: zhangyurong1220@126.com 刘建勇: 通讯作者, 男, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为纺织化学 E-mail: jianyong1964@126.com

去离子水中,于 37 ℃ 恒温振荡 24 h,然后取出未溶解的试样,于 105 ℃ 烘干至恒重,称量其质量(W),则溶解率为  $(W_0 - W)/W_0$  [4]。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 角蛋白溶液中角蛋白分子的交联

##### 3.1.1 加入交联剂后蛋白液的吸光度变化

取 2.1 节中制好的蛋白液 50 mL 离心 20 min,分别取上层清液 20 mL 放入 2 个烧杯中,其中 1 个烧杯中加 0.5 mL 的交联剂。按 2.2 节所述方法测吸光度,结果如图 1 所示。

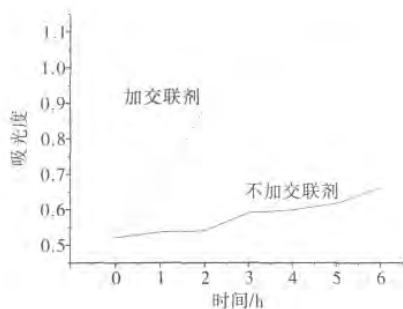


图 1 角蛋白溶液的吸光度随时间的变化

Fig. 1 The change of keratin solution's absorbance with time

从图 1 可以看出,加入交联剂后蛋白液的吸光度都大于不加交联剂的蛋白液的吸光度。加入交联剂后吸光度在 1~2 h 之间变化最大,说明在这段时间发生的交联反应最多;吸光度在 5~6 h 之间变化不大,说明交联反应基本反应完全。未加交联剂的蛋白液的吸光度也在逐渐变大,这是因为蛋白大分子之间的巯基在环境中氧气的作用下又重新生成二硫键,彼此之间发生交联反应,致使吸光度变大。

##### 3.1.2 加入交联剂后角蛋白分子的表现形态变化

图 2(a)是离心后加入交联剂的角蛋白的原子力显微镜图,图 2(b)是离心后未加交联剂的角蛋白的原子力显微镜图。从图 2 中可发现,未加交联剂的角蛋白为球形,直径大约为 50 nm;加入交联剂后角蛋白变为线型,长约 1100 nm,宽约 100 nm,尺寸远大于未加交联剂的角蛋白分子。这说明在交联剂作用下球状角蛋白分子彼此之间发生交联形成棒型角蛋白分子。

上述分析表明在有机磷还原剂存在的情况下,乙二醇二缩水甘油醚和蛋白大分子能够发生交联反应,但是在有乙二醇二缩水甘油醚存在的情况下蛋白液依然不能成膜,由此推测其原因不是分子之间不能发生交联,而是有机磷还原剂的存在。有机磷的沸点为 330 ℃,由于蛋白在高温条件下会变性,一般制膜温度不会超过 100 ℃,故有机磷还原剂会以液体的形式大量残留下来,这时有机磷所起到的作用是外增塑剂。已有研究指出,影响蛋白膜增塑效果的主要因素是增塑剂分子量而不是羟基数量,溶解羊毛所用的浴比为 1:10,所以有大量的有机磷还原剂,使得成膜物质的玻璃化温度过低而不能成膜。因此,为制得蛋白膜,需要用透析的方法将有机磷还原剂除去。

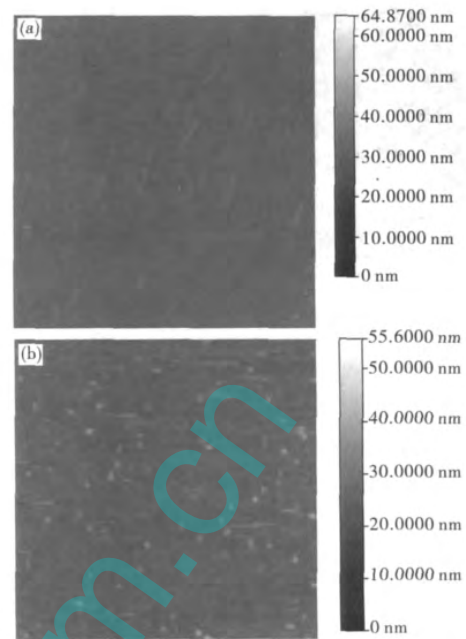


图 2 离心后的蛋白大分子的原子力图

Fig. 2 The AFM of keratin after centrifugation

#### 3.2 蛋白膜中角蛋白分子的交联

##### 3.2.1 交联前后角蛋白膜的溶解率

按照 2.5 节所述的方法测得 1 号和 2 号膜的溶解率(见表 1)。

表 1 蛋白膜的溶解率

Table 1 The dissolution ratio of keratin film

样品	1 号	2 号
溶解率/%	84.21	64.13

羊毛蛋白是一种高分子物质,它和适当的液体接触时会自动地吸收液体而膨胀变软,经无限膨润后就会溶解于液体。通过加入交联剂增加大分子之间的作用力,可以有效减小蛋白膜的溶胀进而减少溶解。从表 1 可以看出加入交联剂后的角蛋白膜的溶解率有了明显的降低,说明交联剂乙二醇二缩水甘油醚与蛋白分子之间发生了交联反应,从而阻止了蛋白膜的溶胀乃至溶解。

##### 3.2.2 角蛋白膜的扫描电镜分析

将导电胶贴在样品台上,将 2.4 节制得的蛋白膜贴在导电胶上,放入样品室内,在相同的倍数下观察蛋白膜的表面形貌。

图 3(a)是角蛋白透析后未加交联剂得到的蛋白膜的 SEM 图,可以看出蛋白膜中有一束束的白色物质,彼此之间分散开来。其原因可能是部分蛋白大分子在水分子离开的过程中依靠范德华力、斥水力相互聚集。图 3(b)是加入交联剂后的蛋白膜的 SEM 图,可以看出整个膜的表面比较均匀,没有出现图 3(a)中的白色物质,其原因可能是蛋白大分子在交联剂的作用下彼此之间发生交联,形成了立体的网状结构,而不再是蛋白大分子的聚集。

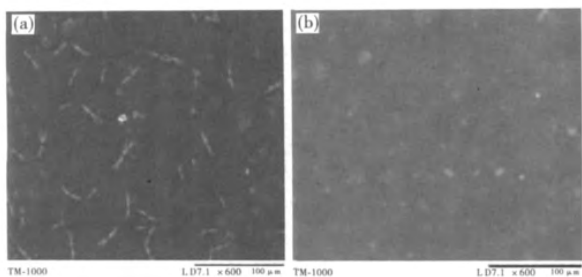


图 3 角蛋白膜的 SEM 图

Fig. 3 SEM images of keratin films

3.2.3 角蛋白膜的红外分析

乙二醇二缩水甘油醚属于环醚,它的特征吸收是  $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{as})$  吸收带。图 4 是乙二醇二缩水甘油醚的红外光谱,其中  $848.90 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收为  $\nu(\text{C}-\text{O}-\text{C}, \text{as})$  吸收带,另外,因为是三元环故其  $\nu(\text{CH})$  吸收对应频率较高,位于  $3116.41 \text{ cm}^{-1}$  [5]。角蛋白膜的红外光谱(图 5)中这 2 个吸收峰消失,说明三元环打开了。图 5 中  $3065.94 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰为伯胺中的  $\nu(\text{N}-\text{H}, \text{as})$  吸收带,由于交联反应在碱性环境中进行,这时伯氨基和乙二醇二缩水甘油醚发生亲核加成反应,随着反应的进行伯氨基逐渐被消耗掉,因此当反应完全后  $3065.94 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰消失,如图 6 所示。

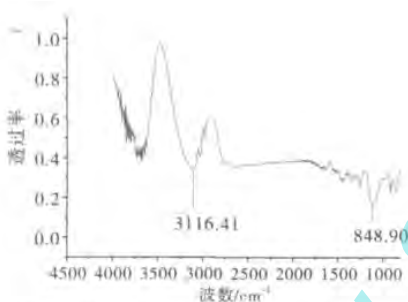


图 4 乙二醇二缩水甘油醚的红外光谱

Fig. 4 FTIR spectrum of EGDE

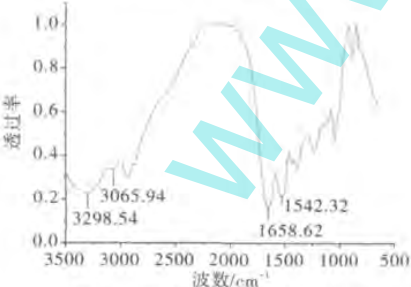


图 5 角蛋白膜的红外光谱

Fig. 5 FTIR spectrum of keratin film

据文献报道<sup>[6,7]</sup>,通过酰胺 I 带的谱峰可以判断蛋白质的分子结构:  $1658\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$  处为  $\alpha$  螺旋,  $1537 \text{ cm}^{-1}$  处为无规卷曲。分析图 6 可知在角蛋白膜中  $1653.50 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰为  $\alpha$  螺旋结构,  $1537.20 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰为无规卷曲,因此推断蛋白膜中 2 种结构并存。

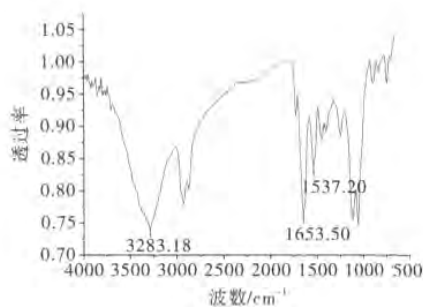


图 6 加交联剂后得到的角蛋白膜的红外光谱

Fig. 6 FTIR spectrum of keratin film with cross-linking agent

3.2.4 角蛋白膜的 XRD 分析

羊毛和角蛋白膜的 X 射线衍射谱如图 7 所示。从图 7 中可以看出,羊毛纤维的谱线在  $2\theta$  为  $8.70^\circ$  和  $19.17^\circ$  附近出现 2 个强衍射峰,而  $19.77^\circ$  附近的峰更宽,可能是由于 2 种典型的  $\beta$ -折叠结构重叠而造成的<sup>[7,8]</sup>。角蛋白膜的谱线在  $2\theta$  为  $8.70^\circ$  附近的衍射峰基本消失,  $19.17^\circ$  附近的宽峰在角蛋白膜的谱线中面积变小,说明羊毛溶解后角蛋白的结晶度减小。

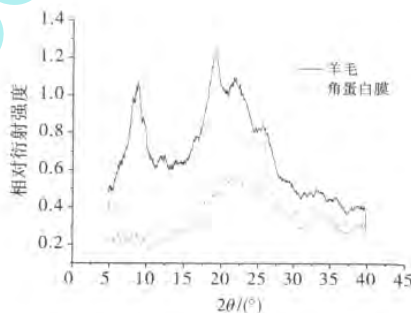


图 7 羊毛和角蛋白膜的 XRD 谱

Fig. 7 XRD patterns of wool and keratin film

4 结论

(1)通过测试加入交联剂后的角蛋白溶液的吸光度和在原子力显微镜下观察角蛋白大分子的形态,发现即使在有机磷还原剂存在的情况下角蛋白大分子与乙二醇二缩水甘油醚仍然发生交联。有机磷还原剂会阻碍溶解后的角蛋白固化成膜。

(2)通过对所制得的角蛋白膜的溶解率测试和扫描电镜观察,发现乙二醇二缩水甘油醚不仅降低了蛋白膜的水溶性,而且使制得的蛋白膜更加均匀。

(3)XRD 结果显示在所制得的蛋白膜中有  $\beta$ -折叠结构,但蛋白膜的结晶度较羊毛有所下降。需要在以后的实验中优化制膜工艺,以制得具有良好力学性能和使用价值的蛋白膜。

参考文献

1 王江波. 基于新型还原剂羊毛角蛋白的高效溶解[J]. 材料导报:研究篇, 2012, 26(3): 7

(下转第 244 页)

(3)POM 发动机件。汽车发动机是产生高温和动力的地方,其零件宜用 POM 复合材料制造。如今国外一些发动机制造公司正在研发聚合物制造的发动机零件,随着科技的进步,POM 的缺点将被克服,最终能够用于发动机件的制作。

## 5 结束语

近年来,改性聚甲醛在汽车工业的应用呈不断增加的趋势,国内主要聚甲醛制造商开始逐步进军汽车用改性聚甲醛领域<sup>[19]</sup>。但是由于发展时间较短,核心技术与国际知名聚甲醛供应商相比仍有较大差距,主要表现在产品少、质量差等方面,难以取代进口产品。面对我国汽车工业良好的发展势头,以及改性聚甲醛在汽车应用上不断增加的良好契机,聚甲醛和改性聚甲醛企业应抓住机遇,不断加大在改性聚甲醛产品的研发和应用上的投入,使更多的国内改性聚甲醛产品在汽车工业中得到广泛应用。国内高性能汽车用聚甲醛产品的开发应在以下两个方向努力:(1)通过合成或共混改性等方法提高聚甲醛产品性能以适应高速、高温、高压等极端工作环境,扩大聚甲醛及其改性产品在汽车工业的应用范围。(2)开发新的聚甲醛改性产品以代替金属和其他工程塑料在汽车工业中的应用。

## 参考文献

- 高存生,徐泽夕,曹志奎,等. 浅谈塑料在汽车工业上的应用[J]. 塑料工业,2012,40(8):7
- 燕来荣. 工程塑料开创汽车塑化新时代[J]. 橡塑资源利用,2006(1):26
- 姚亚峰,徐泽夕,邱生见,等. 浅谈聚甲醛的应用[J]. 塑料工业,2012,40(5):13
- 王晓明,徐泽夕,王越峰,等. 聚甲醛的生产和应用[J]. 塑料工业,2012,40(3):46
- 钱知勉. 聚甲醛的改性方向及其应用[J]. 上海塑料,2005(3):31
- 刘莉,徐开杰. 聚甲醛改性研究现状[J]. 工程塑料应用,2008,36(2):71
- 曹志奎,李建通,张富伟,等. 聚甲醛增韧改性研究进展[J]. 塑料工业,2012,40(5):1
- 任显诚,张勤英,杨德文. 聚氨酯增韧聚甲醛的研究[J]. 塑料工业,2004,32(6):14
- 于建. 聚甲醛的合金化及复合增强研究[J]. 工程塑料应用,2001,29(7):47
- 张志坚,章建忠,叶凤林,等. 玻璃纤维增强聚甲醛复合材料性能与结构的研究[J]. 工程塑料应用,2009,37(4):6
- 李琦,徐泽夕,王越峰,等. 聚甲醛基耐磨复合材料的研究进展[J]. 塑料工业,2012,40(4):10
- 田一政,李武斌,刘常进,等. 聚甲醛的阻燃研究新进展[J]. 塑料工业,2011,39(9):1
- 胡丹丹,叶昌明. 聚甲醛工程塑料的制备、改性及应用[J]. 化工生产与技术,2001,8(2):39
- 庞绍龙,林桂芳. 工程塑料聚甲醛的生产及其应用研究[J]. 化学工程与装备,2010(3):120
- 胡献国,江龙英,袁光成,等. 聚甲醛自润滑材料的发展概况[J]. 高分子通报,1997(2):109
- 张玉龙,刘寿华,张振英. 1991~1992 国外工程塑料进展[J]. 工程塑料应用,1993,21(3):46
- 徐泽夕,王晓明,姚亚峰,等. 改性聚甲醛在煤矿井下的应用前景[J]. 塑料工业,2012,40(1):1
- 杨炳训,徐卫兵,宋汝鸿,等. 车用改性聚甲醛的研究[C]//第六届全国摩擦学学术会议. 西安,1997
- 徐泽夕,李武斌,曹志奎,等. 聚甲醛产品的市场分析[J]. 塑料工业,2012,40(S1):28
- Xie M X, Liu Y. Studies on the hydrogen bonding of aniline's derivatives by FT-IR[J]. Spectrochim Acta A: Mol Biomol Spectrosc,2002,58(13):2817
- 苟明霞. 羊毛角蛋白膜的制备及其结构性能的研究[D]. 苏州:苏州大学,2011
- Aluigi A, Zoccola M, Vineis C, et al. Study on the structure and properties of wool keratin regenerated from formic acid [J]. Int J Biol Macromol,2007,41:266

(上接第 232 页)

- O'Connell J, et al. Proposed mechanism for the effect of polyphenols on the heat stability of milk [J]. Int Dairy, 1999,9(8):523
- 康宇杰. 几种多糖和交联剂对可食性大豆分离蛋白膜性能的影响[J]. 食品科技,2004(2):66
- 李庆春. 丝胶蛋白基水凝胶膜的合成及性能研究[J]. 轻纺工业与科技,2011,40(2):5
- 李润卿. 有机结构波谱分析[M]. 天津:天津大学出版社,2002:97