

碱法水解羽毛蛋白的工艺条件研究

尹国强¹, 崔英德², 黎新明², 贾振宇², 廖列文²

(1.西北工业大学材料科学与工程学院, 陕西 西安 710072;

2.仲恺农业技术学院绿色化工研究所, 广东 广州 510225)

摘 要: 利用亚硫酸氢钠溶液对羽毛进行预处理, 采用氢氧化钠溶液水解羽毛制得可溶性羽毛蛋白。考察了预处理剂的用量、碱液浓度、液固比、水解时间、水解温度等因素对羽毛水解所得可溶性蛋白收率的影响。得到水解最佳条件: $\omega(\text{亚硫酸氢钠}) : \omega(\text{羽毛粉}) = 30:100$ 、 $\omega(\text{氢氧化钠}) = 0.4\%$ 水溶液、 $\omega(\text{氢氧化钠溶液}) : \omega(\text{羽毛粉}) = 15:1$ 、反应温度 90°C 、反应时间 2h。在此条件下制得的可溶性羽毛蛋白的收率达 65.7%。

关键词: 羽毛; 角蛋白; 水解; 最佳条件; 蛋白质

Study on the Optimum Conditions of the Hydrolyzation of Feather Keratins by Alkaline

YIN Guo-qiang¹, CUI Ying-de², LI Xin-ming², JIA Zhen-yu², LIAO lie-wen²

(1.College of Materials Science and Engineering, North Western Polytechnical University, Xi'an 710072, China; 2.Institute of Green Chemical Engineering, Zhongkai University of Agricultural and Technology, Guangzhou 510225,China)

Abstract: A new method of extracting soluble protein from feather was introduced in the paper. Feather was preprocessed with sodium bisulfite and then hydrolysed by sodium hydroxide. After investigating the effect factors such as amounts of sodium bisulfite, alkaline solution concentration, ratio of liquid to solid, hydrolytic temperature and hydrolytic time, the optimum hydrolytic conditions were obtained as follows: $\omega(\text{sodium bisulfite}) : \omega(\text{feather}) = 30:100$, alkaline solution concentration 0.4%, $\omega(\text{liquid}) : \omega(\text{feather}) = 15:1$, hydrolytic temperature 90°C and hydrolytic time 2 h. Under these conditions, the recovery ratio of the soluble feather protein was 65.7%.

Key words: feather; keratin; hydrolysis; optimum condition; protein

中图分类号: TQ 936.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2005)09-0347-03

羽毛是禽类表皮细胞角质化的衍生物, 蛋白质含量 80%~90%, 是以角蛋白为主的动物性蛋白^[1]。据估计, 我国每年家禽屠宰加工或羽绒制品副产的羽毛、羽毛杆及其下脚料有数百万吨, 其中绝大多数被作为垃圾白白扔掉^[2]。因此, 利用废弃羽毛制备可溶性羽毛蛋白不仅充分利用了蛋白资源, 同时也大大减少了由此造成的环境污染, 具有显著的经济利益和深远的社会效益。

由于羽毛角蛋白的特殊结构^[3~5], 严重影响其开发利用。从一级结构上看, 羽毛角蛋白含胱氨酸较多(4.65%), 胱氨酸中的二硫键在肽链间形成交联结构阻碍了角蛋白的溶解; 从高级结构上看, α -螺旋状的肽链组成复合螺旋式的初原纤维, 11根初原纤维构成小原纤维, 小原纤维再平行排列大原纤维而形成角蛋白, 空间构象属纤维蛋白。由于角蛋白结构复杂, 表现出质

坚硬、不溶于水、不能酶解、不能被消化吸收, 必须通过物理或化学手段处理使之结构发生变化, 破坏角蛋白中的二硫键, 破坏蛋白质分子中的交联结构, 使之变成可溶性蛋白质, 才能在动物体内被胃蛋白酶和胰蛋白酶进一步水解, 被动物消化吸收。

本研究利用亚硫酸氢钠溶液对羽毛进行预处理, 先部分打开二硫键, 再采用氢氧化钠稀溶液破坏羽毛角蛋白稳定的空间结构, 使其水解成可溶性蛋白质、多肽及氨基酸等, 从而提高羽毛蛋白的生物学效价^[6~8]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料和试剂

收稿日期: 2005-07-08

作者简介: 尹国强(1967-), 男, 副教授, 博士生, 研究方向为精细化工。

原料：广州市场收集的新鲜白色鸡羽毛，经洗净、烘干，用粉碎机粉碎成羽毛粉(经测定蛋白质含量为86.3%)。

试剂：亚硫酸氢钠、氢氧化钠、盐酸、活性炭均为分析纯。

1.1.2 主要仪器

恒温水浴锅 上海亚荣生化仪器厂；800型离心机 江苏金坛仪器厂；JA2003型电子天平 上海良平仪器仪表有限公司；pHS-3C型精密酸度计 上海雷磁仪器厂；HN101电热鼓风干燥箱 上海沪检仪器有限公司；凯式定氮仪。

1.2 方法

1.2.1 羽毛蛋白的提取方法

将50g羽毛粉和定量的亚硫酸氢钠加入装有200ml去离子水的烧杯中，搅拌均匀，恒温40℃预处理24h，离心分离出羽毛粉；将预处理后的羽毛粉在一定温度下用不同浓度的氢氧化钠溶液进行水解，反应一定时间后，离心分离，滤液用盐酸中和至pH=7，蒸发浓缩，产品经真空干燥即得淡黄色可溶性羽毛蛋白产品。

1.2.2 可溶性蛋白质含量及收率的测定

用凯式定氮法测量可溶性水解羽毛蛋白产品中蛋白质含量^[9]，再根据所得的羽毛蛋白产品的总质量，按下式计算出可溶性蛋白质收率 η 。

$$\eta = \frac{C_2 \times M_2}{M_1 \times C_1} \times 100\%$$

式中 C_1 为羽毛粉中蛋白质的含量， M_1 为实验中干燥羽毛粉的质量， C_2 为可溶性水解羽毛蛋白产品中蛋白质含量， M_2 为所得的羽毛蛋白产品的总质量。

2 结果与讨论

2.1 预处理时亚硫酸氢钠的用量对蛋白质收率的影响

NaHSO_3 预处理羽毛的作用，主要在于预先部分打开羽毛角蛋白中起交联作用的二硫键，有利于羽毛在稀碱液中溶解，其作用方式如下^[10]：



从图1反映了预处理剂 NaHSO_3 的用量对可溶性羽毛蛋白质的收率的影响。可以看出，随着 NaHSO_3 的用量的增加，蛋白质收率先升后降， NaHSO_3 的用量达到羽毛粉质量的30%时，蛋白质收率最高。这是因为 NaHSO_3 用量增加，角蛋白中二硫键被打开的就越多，被稀碱液水解就越容易；但 NaHSO_3 用量继续增加时，由于预处理后的羽毛不能水洗(水洗可使打开的二硫键回复)，羽毛中残留的 NaHSO_3 增多，在碱水解时，碱首先会与 NaHSO_3 反应，从而使碱量减少，羽毛溶解不

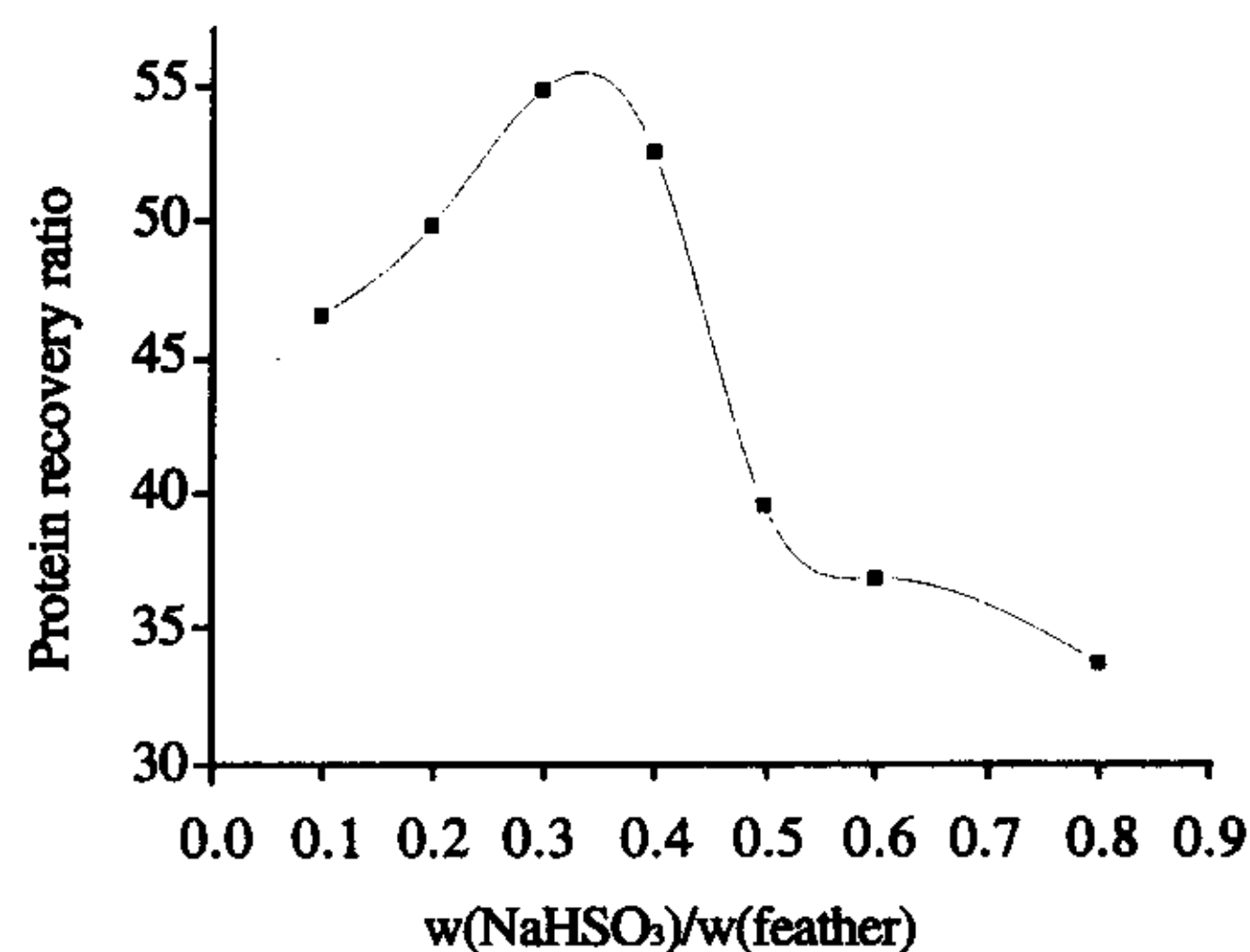


图1 NaHSO_3 的用量对蛋白质的收率的影响

Fig.1 The influence of NaHSO_3 amounts on protein recovery ratio

足，蛋白质收率下降；同时， NaHSO_3 过多，预处理过程中因溶解损失的蛋白质增加。进一步研究发现，用 NaHSO_3 预处理，还能加快羽毛碱水解的速度，缩短水解反应时间。

2.2 碱液浓度的影响

碱液浓度是影响羽毛水解的重要因素。羽毛粉经30% NaHSO_3 预处理后，在其他条件相同(反应温度80℃，反应时间2h，液固比为10:1)的情况下，仅改变氢氧化钠溶液的浓度，实验结果如图2所示。从图2中可以看出，即碱液浓度 $\omega(\text{氢氧化钠}) = 0.4\%$ ，蛋白质收率较高；碱液浓度太低，羽毛溶解不足；碱浓度太大时，导致蛋白质和氨基酸分解，损失增加，蛋白质收率反而降低。

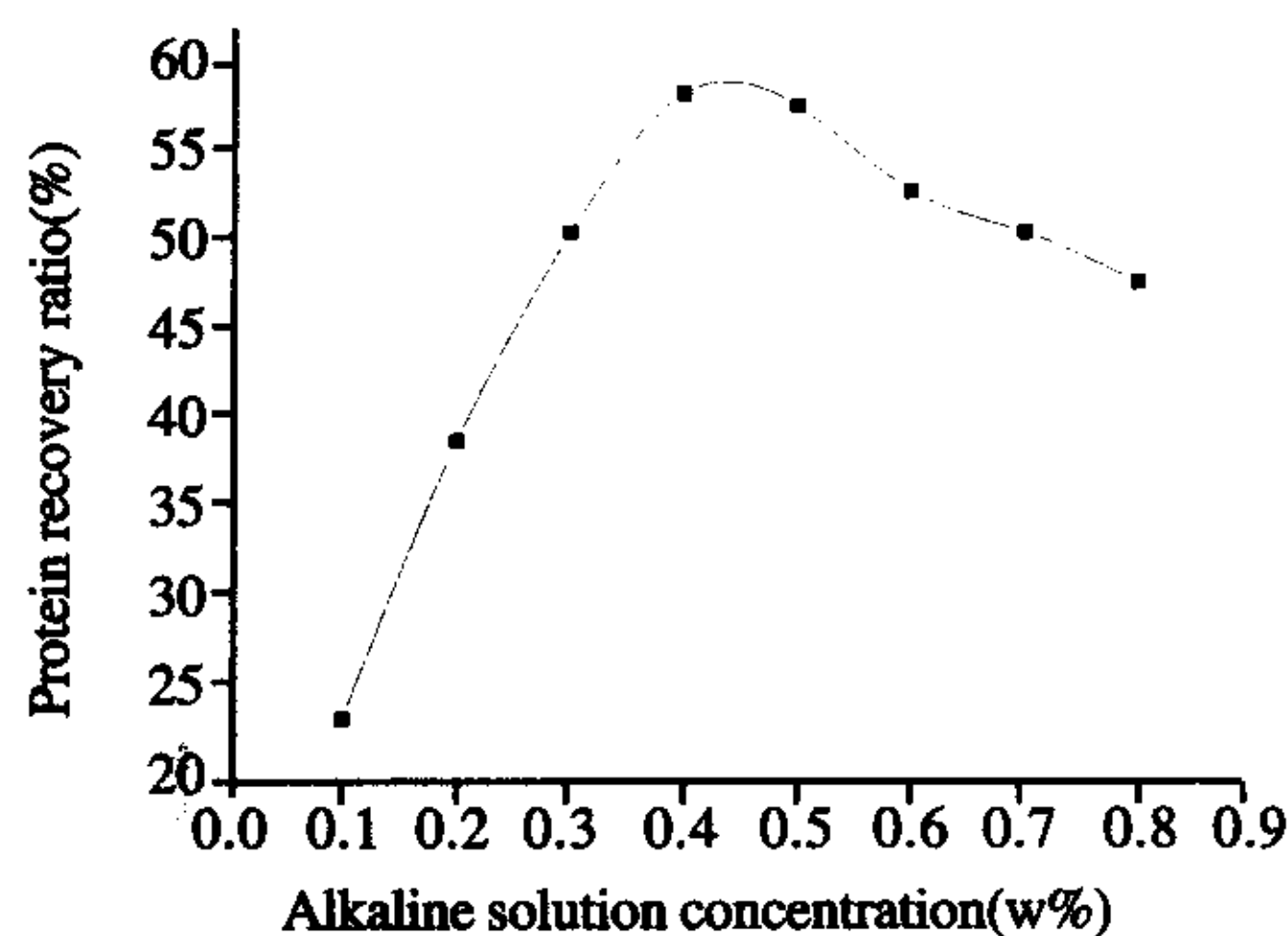


图2 碱液的浓度对蛋白质的收率的影响

Fig.2 The influence of alkaline solution concentration on protein recovery ratio

2.3 液固比的影响

向羽毛粉中加入碱溶液的比例直接影响蛋白质的收率。在其它条件相同时，采用不同的液固比 $\omega(\text{氢氧化钠溶液}) : \omega(\text{羽毛粉})$ 进行水解，实验结果如表1所示。由表1可见，液固比对蛋白质收率的影响较大。采用液固比为15:1的水解羽毛粉，蛋白质收率比液固比5:1的增加32%。

2.4 水解温度的影响

控制氢氧化钠溶液浓度0.4%、液固比为15:1和水解时间2h，分别在60、70、80、90、95℃和微沸腾

表1 液固比对蛋白质收率的影响
Table 1 The influence of ratio of liquid to solid on protein recovery ratio (%)

ω (liquid): ω (feather)	5:1	10:1	15:1	20:1
Protein recovery ratio	33.7	54.6	65.8	57.9

(约 99℃)状况下进行了水解试验, 结果如图 3 所示。当温度由 60℃增高到 90℃时, 蛋白质收率随温度升高而上升, 而当水解温度超过 95℃时, 水解液会逸出氨味, 蛋白质收率反而略有下降, 这是由于蛋白质的分解所造成的。因此, 最佳的水解温度定为 90℃。

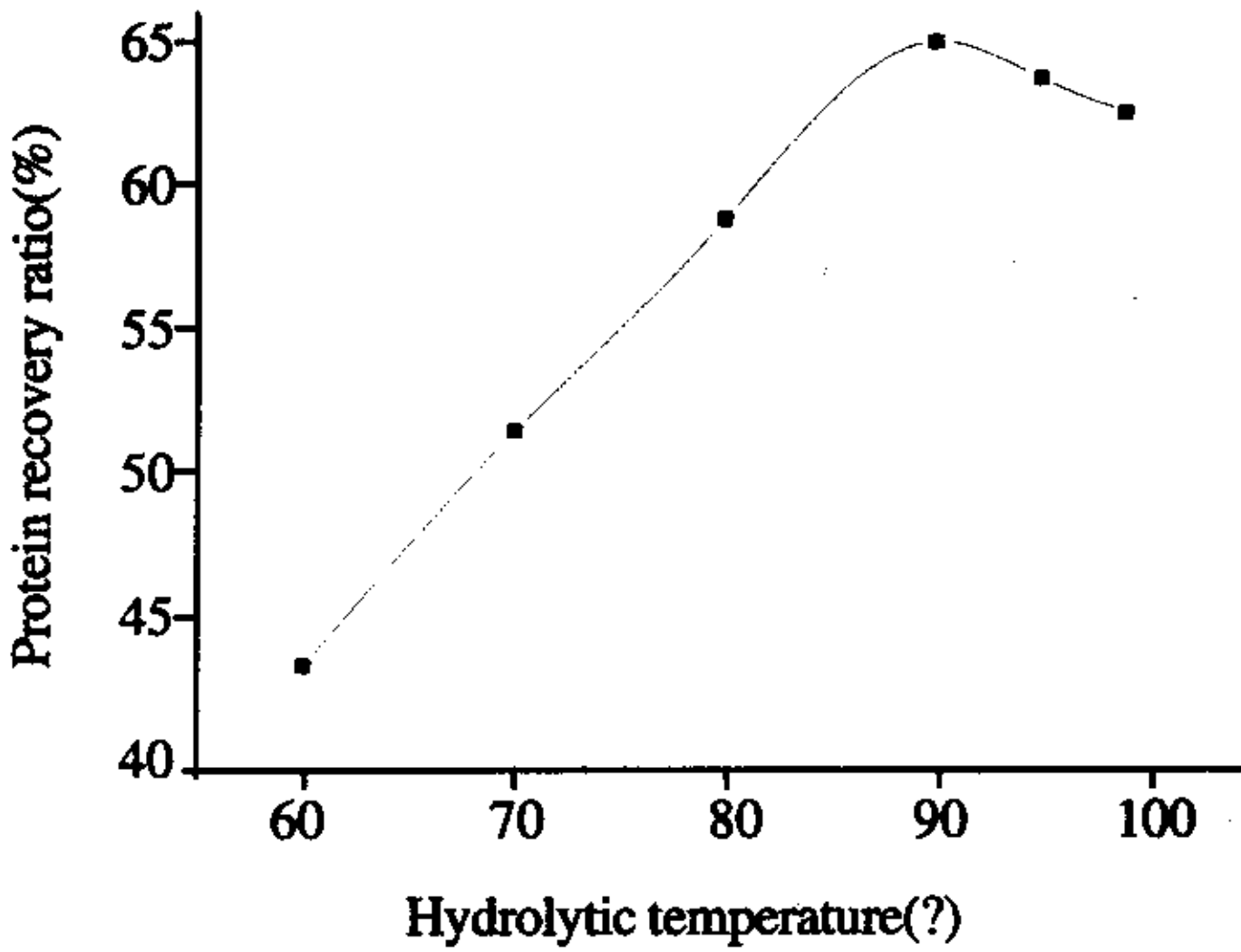


图3 水解温度对蛋白质收率的影响
Fig. 3 The influence of hydrolytic temperature on protein recovery ratio

2.5 碱水解时间的影响

在氢氧化钠溶液浓度为 0.4%, 液固比为 15:1, 反应温度 90℃时, 考察水解反应时间对可溶性羽毛蛋白质收率的影响。图 4 表示亚硫酸氢钠溶液预处理和未预处理的羽毛粉在不同水解时间下可溶性蛋白质收率情况。从图 4 可以看出, 羽毛粉等经 NaHSO₃ 预处理后, 其纤

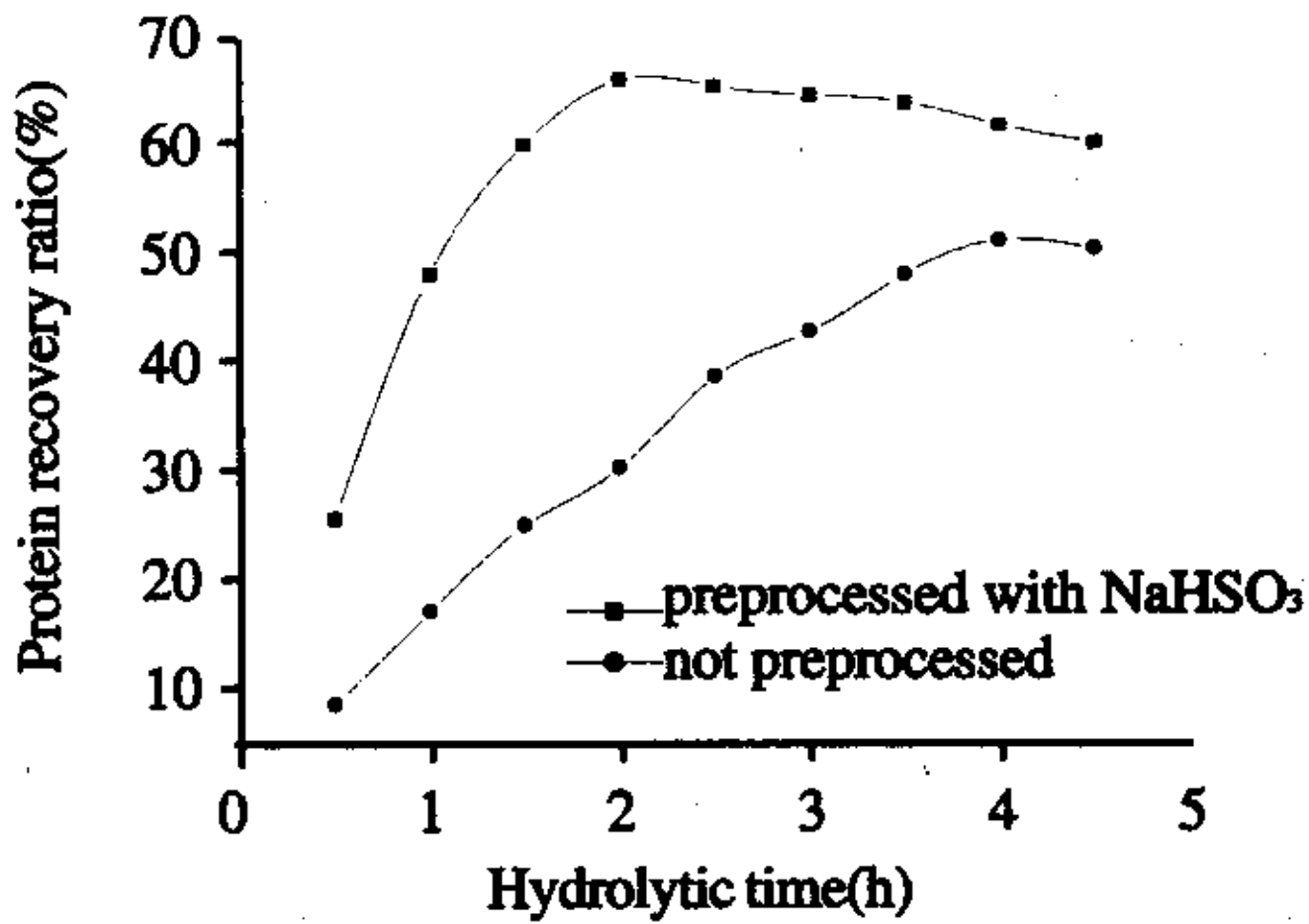


图4 水解时间对羽毛蛋白质收率的影响
Fig. 4 The influence of hydrolytic time on protein recovery ratio

维已有一定程度的松散, 双硫键也已被部分打开, 此时加碱溶解, 剩余的双硫很容易被破坏, 羽毛的溶解率随着时间快速升高, 因而收率也快速升高。但当溶解时间达到 2h 时, 溶解率已达到很高的程度, 延长溶解时间, 溶解率提高甚微, 而碱对肽键的降解作用导致蛋白质分子变小, 并使部分氨基酸脱氨基而分解, 因而蛋白质损失在加重, 收率反而下降。而未经亚硫酸氢钠预处理的羽毛粉, 在相同条件下水解速度要低得多, 蛋白质收率也低 15% 以上。

3 结 论

3.1 利用亚硫酸氢钠溶液对羽毛进行预处理, 能有效地打开羽毛角蛋白中部分二硫键, 羽毛能快速、均匀地溶解, 缩短水解时间, 提高了蛋白质收率。

3.2 利用氢氧化钠溶液水解羽毛粉制备可溶性蛋白质的最佳工艺条件: 预处理剂亚硫酸氢钠的用量 ω (亚硫酸氢钠): ω (羽毛粉) 为 30:100、氢氧化钠浓度为 0.4%、液固比 15:1、反应温度 90℃、反应时间 2h。在此条件下制得的可溶性羽毛蛋白的收率达 65.7%。

参考文献:

[1] 吕世明, 谭艾娟. 木瓜蛋白酶水解羽毛蛋白的最佳作用条件探索[J]. 贵州畜牧兽医, 2001, 25(3):1-2.

[2] 张扬, 郑东戈, 李志强. 羽毛角蛋白改性研究[J]. 皮革科学与工程, 1995, 5(1):1-5.

[3] 沈国鹏, 吴平格, 童岩. 饲料用可溶性羽毛蛋白制备新工艺的研究[J]. 郑州工程学院学报, 2003, 24(3):81-87.

[4] 陈莹, 王宇新. 角蛋白及提取[J]. 材料导报, 2002, 16(12): 65-67

[5] 姚金波, 何天虹. 羊毛角蛋白溶液的制备[J]. 毛纺科技, 2003, (4): 16-19.

[6] 刘让同, 徐博. 巯基乙醇还原法溶解羊毛角蛋白[J]. 毛纺科技, 2004, (2):5-8.

[7] 辛中印. 改性羽毛蛋白涂饰剂的研究[J]. 中国皮革, 23(1): 33-36.

[8] 孙君社, 刘清培. 羽毛蛋白粉高效利用[J]. 农业工程学报, 2001, 17(3): 125-129

[9] 胡新华. 羽毛蛋白的提取研究[J]. 皮革科学与工程, 1997, 7(3): 5-12.

[10] 王家宏, 冯贵颖, 呼世斌. 利用羽毛蛋白制备复合氨基酸的工艺研究[J]. 西北农林科技大学学报, 31(10): 106-109.