

文章编号 :1009-038X(2000)02-0146-04

## 可溶性丝素粉末的制备<sup>①</sup>

倪莉, 王璋, 许时婴

(无锡轻工大学食品学院, 江苏无锡 214036)

**摘要** :研究了较大规模制备丝素粉末的方法. 以废蚕丝为原料, 经 0.5 g/dL 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液精炼后, 用质量分数为 40% 的  $\text{CaCl}_2$  溶液溶解丝素, 采用中空纤维超滤器脱盐, 丝素溶液经冷冻干燥或喷雾干燥后即制成白色的丝素粉末. 从丝素的 Sephacryl S-200 凝胶过滤图谱中可以看出: 用氯化钙溶液溶解丝素, 煮沸时间延长, 丝素相对分子质量呈下降趋势; 在超滤浓缩过程中, 丝素发生了部分缔合.

**关键词** :丝素; 超滤; 脱盐; 丝素粉末

**中图分类号** :Q512.6      **文献标识码** :A

## Preparation of Silk Fibroin Powder

NI Li, WANG Zhang, XU Shi-ying

(School of Food Science and Technology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

**Abstract** : A method suitable to prepare fibroin powder on a pilot plant scale was developed. Silk fibroin obtained from waste silk was refined in 0.5% sodium carbonate solution, then dissolved in 40% calcium chloride solution. The solution thus obtained was centrifuged and filtrated, then desalted by using ultrafiltration and dried up by using freeze-drying or spray-drying. According to the Sephacryl S-200 gel filtration chromatography, the molecular weight of fibroin decreased in the time of treating fibroin in boiling calcium chloride solution. During ultrafiltration, coagulation of fibroin occurred.

**Key words** : silk fibroin; ultrafiltration; desalt; silk fibroin powder

我国是产丝大国, 由于工艺和操作等方面的原因, 每道工序都不可避免地产生废丝下脚料, 其累积数量相当可观. 然而我国对废丝下脚料的利用还非常有限, 而且产品的附加值低, 因此亟待综合利用废蚕丝, 开发高附加值的产品.

可喜的是, 蚕丝组分中 98% 是蛋白质, 其中丝素占 70%~80%, 丝胶占 20%~30%, 因此丝素是

天然的蛋白质来源. 丝素的氨基酸组成中甘氨酸、丝氨酸、酪氨酸、丙氨酸等 4 种氨基酸的质量分数高达 85% 左右. 文献 [1~5] 的结果表明, 这几种氨基酸具有独特的生理功能: 甘氨酸具有降低血液中胆固醇浓度的作用; 丝氨酸和甘氨酸都具有解毒保肝的功效; 丙氨酸具有解酒功能; 而酪氨酸具有预防痴呆症的作用. 因而丝素可以作为一种功能性食

① 收稿日期: 1999-04-09; 修订日期: 1999-11-08.

作者简介: 倪莉 (1972 年 10 月生), 女, 福建龙岩人, 工学博士.  
万方数据

品来开发.

天然丝素不溶于水,可溶于某些高质量分数中性盐中,如铜乙二铵、氯化锂、硫氰酸锂等.若这些盐没有被完全去除,则对人体有害,不能用作食品.本研究采用较高质量分数的氯化钙溶液溶解丝素,氯化钙与普通盐类似,价格便宜,无毒无害.传统上采用透析袋脱盐,耗时长,批量少,费用高<sup>[6]</sup>.本研究比较了透析袋脱盐法和中空纤维超滤脱盐法,采用中空纤维超滤器脱盐,时间短,批量大,脱盐效率高,同时浓缩了丝素溶液,使之可以直接进行冷冻干燥或喷雾干燥制成丝素粉末.

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材料

废蚕丝为长吐或经除杂后的落棉及落白,由江苏苏龙绢纺集团提供,其它试剂均为分析纯.

#### 1.2 方法

1.2.1 制备丝素粉末的工艺流程 废蚕丝→精练→精练丝→溶解→溶丝液→离心→过滤→中空纤维超滤器超滤→丝素溶液→喷雾干燥或冷冻干燥→丝素粉末

1)精练:废蚕丝除杂后,用 50 倍体积的质量浓度为 0.5 g/dL 的 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液精练两次.用苦味酸胭脂红溶液检测精练是否完全,若丝胶脱尽,样品就染成黄色;若丝胶未脱尽,则胭脂红将丝胶染成红色<sup>[7]</sup>.

2)溶解:精练丝置于沸腾的质量分数为 40% 的 CaCl<sub>2</sub> 溶液中,控制不同的处理时间.

3)中空纤维膜超滤:溶丝液经离心、过滤后用中空纤维膜超滤脱盐.TP-10-20 型蠕动泵和截留相对分子质量 10 000 的中空纤维超滤器(50 mm×300 mm 或 90 mm×1 000 mm)均购自天津纺织工学院膜分离工程研究所.超滤装置流程见图 1.

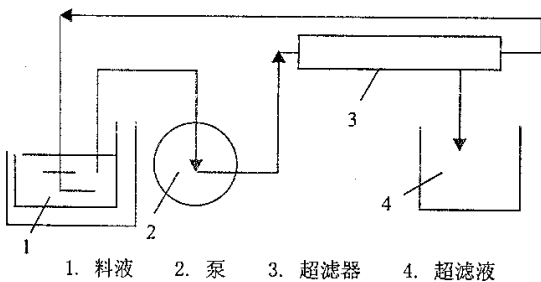


图 1 超滤装置流程图

Fig.1 Flow Diagram of ultrafiltration system

4)冷冻干燥:Consol 24 真空冷冻干燥机,美国 Consol 公司制.

5)喷雾干燥:QZR-5 型喷雾干燥器,无锡市林洲喷雾干燥器厂制.

#### 1.2.2 Sephacryl S-200 和 HPLC 凝胶过滤图谱

1)凝胶 Sephacryl S-200,色谱柱 D 1.6 cm×150 cm;洗脱液 0.1 mol/L 磷酸缓冲溶液,pH 7.0;体积流量 19.6 mL/h;检测波长 220 nm.

2)高压液相色谱 Waters 2790 Separations Modle;色谱柱 Shodex 公司的 Protein KW-803 (D 8 mm×300 mm),粒径 7 μm,相对分子质量分级范围 100~150 000;洗脱液 50 mmol/L 磷酸盐缓冲溶液,0.3 mol/L NaCl,pH 7;体积流量 1.0 mL/min;检测波长 280 nm.

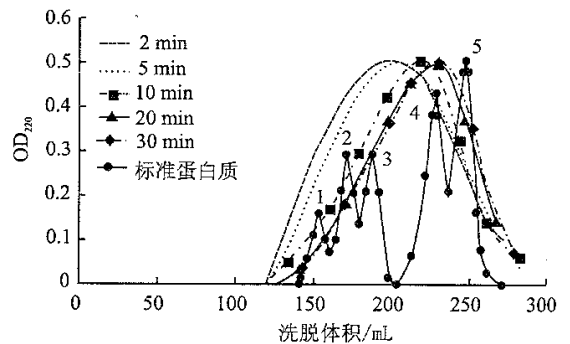
1.2.3 丝素粉末的氨基酸组成分析 采用 835-50 氨基酸自动分析仪(Hitachi 公司制)进行测定.

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同煮沸时间对丝素相对分子质量的影响

2.1.1 样品的制备 将精练长吐置于沸腾的质量分数为 40% 的氯化钙溶液中,于不同的煮沸时间取样,迅速冷却后置于透析袋中,用流动水透析 2~3 d,然后用去离子水透析至氯离子不被检出为止,离心,上清液冷冻干燥即制得各样品.

2.1.2 不同煮沸时间所得的丝素样品的凝胶过滤图谱 不同煮沸时间所得的丝素样品的凝胶过滤图谱见图 2.



- 1) 二磷酸果糖酶(Aldolase) 相对分子质量 158 000
- 2) 牛血清蛋白(Bovine serum albumin) 相对分子质量 68 000
- 3) 鸡蛋白蛋白(Egg albumin) 相对分子质量 45 000
- 4) 胰凝乳蛋白酶原(Chymotrypsinogen A) 相对分子质量 25 000
- 5) 细胞色素 C(Cytochrome) 相对分子质量 12 500

图 2 不同煮沸时间所得的丝素样品的凝胶过滤图谱

Fig.2 Gel chromatography on a sephacryl S-200 column of fibroin treated with boiling calcium chloride solution in different time

### 2.2 影响超滤脱盐效果的因素

2.2.1 丝素溶液前处理的影响 从图 2 可以看

出,氯化钙溶液溶解丝素时,延长煮沸时间会使丝素相对分子质量下降.当煮沸 5 min 以后,丝素溶液中相对分子质量在 10 000 左右的组分所占比例增加.为尽量减少丝素肽键被破坏,煮沸时间应短于 5 min.选用截留相对分子质量为 10 000 的中空纤维超滤器,这样既能获得较高的透液速率,又能保证丝素较高的回收率.

**2.2.2 粘度的影响** 由于采用质量分数为 40% 的氯化钙溶液溶解丝素,溶丝液粘度较高,容易在膜上形成凝胶而导致透液速率降低.将溶丝液稀释 6~10 倍,然后过滤,体系粘度降低,有利于超滤的进行.

**2.2.3 操作温度的选择** 随着温度的升高,料液的粘度降低,扩散及传质系数提高,透液速率加快.本研究使用的聚砜膜的推荐使用的最高温度为 60~70 ℃.一般蛋白质在较高温度下易变性而使膜受到污染,而丝素在 70 ℃ 以下时都呈很好的溶解状态,因而选用操作温度在 50 ℃ 左右,这样既考虑了膜的使用寿命,又大大提高了透液速率,同时又能避免微生物的繁殖.

**2.2.4 操作压差的选择** 溶丝液用水稀释 10 倍后,在 50 ℃ 下超滤,操作压差对透液速率的影响见图 3.结果表明,操作压差小于 0.07 MPa 时,透液速率随操作压差保持线性增加,当压差超过 0.08 MPa 时,速率增加变缓.该膜推荐使用的操作压差为 0.08~0.09 MPa,为减少因浓差极化而对膜产生的污染,选择操作压差为 0.06~0.07 MPa,这样既可以达到较高的透液速率,又能延长膜的使用寿命.

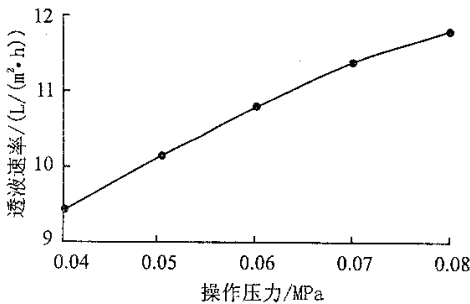
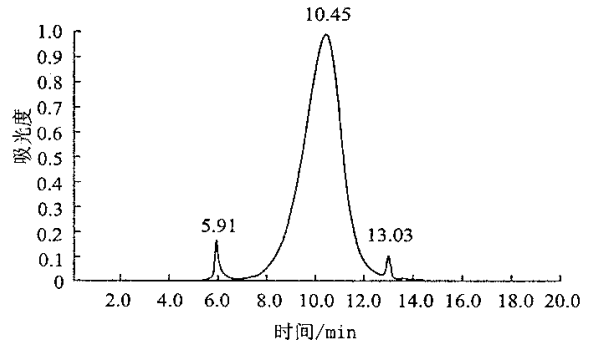


图 3 操作压力对透液速率的影响

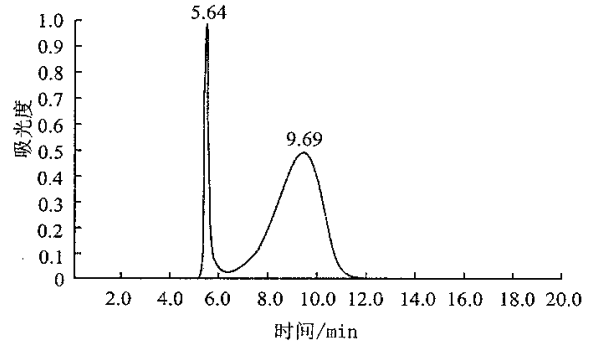
Fig.3 Effect of pressures on the flux

**2.2.5 超滤法制备的丝素样品的凝胶过滤图谱** 图 4 是透析法与超滤法制备的丝素样品的凝胶过滤图谱.超滤法制备的丝素样品的洗脱峰与透析法制得的样品相比,明显地往前移.由 Shodex 公司提供的同一条件下蛋白质的标准图谱可知,丝素主要相对分子质量由 2~3 万左右变成了 4~5 万左右,相对分子质量极大的聚合物所占的比例也增加了.

这是由于溶丝液在超滤脱盐的过程中,丝素浓度增加,丝素亚基发生了部分缔合的缘故.



a 透析法 (Fibroin solution desalted by dialysis)



b 超滤法 (Fibroin solution desalted by ultrafiltration)

图 4 丝素样品在 280 nm 波长下的凝胶过滤图谱

Fig.4 Gel chromatography of silk fibroin in 280 nm wave length

2.3 丝素的氨基酸组成

表 1 是本研究的丝素产品和日本丝素样品的氨基酸组成分析.

表 1 丝素的氨基酸组成

Tab.1 Amino acid composition of fibroin

氨基酸	简写	本研究各种氨基酸的质量分数/%	日本丝素样品中氨基酸的质量分数/%
天门冬氨酸	Asp	2.41	2.45
苏氨酸	Thr	1.08	1.12
丝氨酸	Ser	8.40	10.23
谷氨酸	Glu	2.44	2.95
甘氨酸	Gly	36.12	35.56
丙氨酸	Ala	28.91	26.59
半胱氨酸	Cys	0.83	1.01
缬氨酸	Val	3.01	3.13
蛋氨酸	Met	0.38	0.56
异亮氨酸	Ile	0.99	1.22
亮氨酸	Leu	0.66	0.98
酪氨酸	Tyr	10.48	10.37
苯丙氨酸	Phe	1.50	1.63
赖氨酸	Lys	0.49	0.52
组氨酸	His	0.22	0.28

续表 1 丝素的氨基酸组成

Continued Tab.1 Amino acid composition of fibroin

氨基酸	简写	本研究各种氨基酸 的质量分数/%	日本丝素样品中 氨基酸的质量分数/%
精氨酸	Arg	0.67	0.84
脯氨酸	Pro	0.97	—
色氨酸	Try	0.45	0.56

两种样品的氨基酸组成大同小异,甘氨酸、丝氨酸、酪氨酸、丙氨酸等 4 种主要氨基酸的质量分数之和都在 85% 左右.许多功能性实验证实了这几种氨基酸以及含有这几种氨基酸的多肽具有独特的生理功能<sup>[2]</sup>.丝素不仅具有营养价值而且具有许多功能性质,以废蚕丝为原料,可以开发出 21 世纪的高科技食品——蚕丝食品.

## 参考文献

- [1] KAILI CHEN, KATSUHIRO IURA, RYO TAKAO. Effect of fibroin administration on the blood cholesterol level of rats loaded with cholesterol[J]. *J Seric Sci Jpn*, 1993, 62(1): 56~60
- [2] 平林洁, 渡道诚, 铃木诚. 絹のゲル化その应用(食品 I)[J]. 纤维学会志, 1989, 45(6): 19~23
- [3] 岸本康. 生命をつくる物質[M]. 东京: 讲谈社, 1973. 221
- [4] 西村桂一, 福岛信, 山本信. 抗体产生细胞抑制剂及びそれを含有する組成物[P]. 日本专利: JP 平 9-188629, 1997-07-22.
- [5] TANIGUCHI KOUKICHI, TOMITA TSUGIO, YAMAGAMI YASUHIRO. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from silk protein[J]. *Meiji Daigaku Nogakubu*, 1997, 112: 1~19
- [6] 平林洁. 絹の可溶化とその纓用[J]. *Bio Ind*, 1989, 6(10): 27~32
- [7] 苏州丝绸工学院, 浙江丝绸工学院编. 制丝化学[M]. 北京: 纺织工业出版社, 1979. 1

(责任编辑:李春丽)