

高效液相色谱在羊毛防毡缩整理中的应用研究

陆必泰 陈明珍

(武汉科技学院, 武汉, 430074)

摘要:介绍羊毛细胞间填充物结合领域的划分状况及其功能, 高压液相色谱用于氨基酸含量分析的条件及羊毛细胞间填充物的提取方法。试验结果表明: 经聚氨酯整理剂整理后的羊毛, 其提取物蛋白质成分含量较少, 从而起到了保护羊毛细胞间填充物的作用。

关键词: 高效液相色谱 羊毛 防毡缩整理 应用

中图分类号: TS 195.56 文献标识码: A 文章编号: 0253-9721(2004)04-0020-03

羊毛纤维由鳞片层和皮质层组成, 鳞片层由片状角质细胞组成, 是羊毛纤维的外壳; 而皮质层主要是由 O(Ortho) 和 P(Para) 2 种皮质细胞组成。皮质细胞(CX)和鳞片层的表皮细胞(CU)的接合部可分为 CX-CX、CX-CU 和 CU-CU 3 个领域, 而这些细胞间的填充物又由 δ 层和 β 层组成, 它们起到连接细胞的作用, 并延伸到纤维内部, 同时还具有导水管的功能^[1,2]。其结构示意图如图 1 所示。

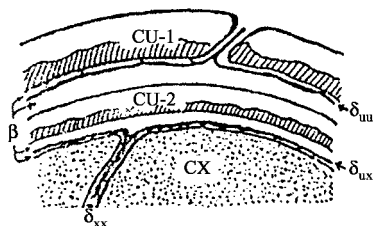


图 1 羊毛细胞间接合部示意图

羊毛 CU-CU 接合部的填充物 δ_{CU} 层, 如果用纯甲酸溶液进行提取, 可以得到疏水性的蛋白质物质 δ_L , 若进一步用醋酸水溶液提取则可得到亲水性的

蛋白质物质 δ_H ^[3]。羊毛在加工以及服用过程中 δ_{CU} 成分容易从细胞间接合部中流出, 为了保持羊毛纤维原有的优良特性, 在对羊毛进行防毡缩整理的同时, 保护 δ_{CU} 不遭破坏是非常必要的。

羊毛防毡缩整理所使用的整理剂除必须具有能和 δ_{CU} 蛋白质侧链上的碱性基反应的基团外, 还不能降低 δ 层的导水管的功能。本研究使用聚氨酯预聚体整理剂, 对羊毛进行防毡缩整理, 并用高压液相色谱法进行分析探讨。

1 实验

1.1 材料

羊毛: 64 支脱脂澳毛; 药品: 已二异氰酸酯、聚乙二醇、咪唑、二噁烷、 I_m -PEG- I_m (自制)。

1.2 防毡缩整理

防毡缩整理时, 先将羊毛用非离子表面活性剂溶液进行清洗、脱水, 然后用 5 mol/L 的整理剂进行处理; 浴比 1: 50, 温度 20℃, 时间为 4 h。处理完毕

后对羊毛进行充分水洗、烘干,处理后的羊毛记为 PU-W。

1.3 羊毛细胞间填充物的提取

先用纯甲酸溶液进行处理,然后用 3%醋酸溶液处理。甲酸:浴比为 1:25,温度 25℃,振荡处理时间 5 h。醋酸:浴比为 1:25,温度 80℃,振荡处理时间 7 h。整理及未整理的羊毛都按上述同样的方法进行提取。处理后的甲酸溶液分别装入粘胶膜透析袋中,用蒸馏水进行充分透析,并将透析袋内的沉淀物分离出,冻结干燥,脱脂后回收,并将其沉淀物分别称为 PU- δ_L 和 δ_L 。同时醋酸处理液也经过透析、冻结干燥,脱脂后回收,将其称为 PU- δ_H 和 δ_H 。

1.4 羊毛提取物 δ 氨基酸含量分析

使用高压液相色谱仪对提取物进行氨基酸含量分析,仪器型号为 HPLC 岛津 LC-3 型,分离柱为岛津 ISO-07 型,分离方法为 pH 梯度法。

1.4.1 仪器分析条件 移动相组成(4 相):A 液:pH 为(3.25 ± 0.01) 缓冲溶液;B 液:pH 为(4.25 ± 0.01) 缓冲溶液;C 液:pH 为 9 缓冲溶液;D 液:8.0 g/L NaOH 水溶液。

反应相组成(2 相):A 液:次氯酸钠溶液(用 pH 为 10 的缓冲溶液配制);B 液:OPA 溶液(C₈H₆O₂)。

分离条件:移动相流量:0.5 mL/min;反应相流量:A 液:0.3 mL/min;B 液:0.3 mL/min;分离柱恒温槽温度:55℃;输液泵压力:100 kg/cm²;试料注入量:20 μ L。

1.4.2 分析试料的制备 将提取物 δ_L 、 δ_H 、PU- δ_L 和 PU- δ_H 各 2 mg 分别装入专用的玻璃分解管内,加入 5 mL 浓度为 6 mol/L 的盐酸,排气密封后,在 110℃条件下水解 24 h。然后将水解产物浓缩干燥后,再溶解于 pH 为 2.2 的 5 mL 的盐酸溶液中,并将试料浓度调为 0.4 mL/L。

1.4.3 标准氨基酸溶液的配制 H 型氨基酸混合液(日本合光制备)含有 17 种 α -氨基酸,使用时用试料稀释剂稀释 50 倍。测试时注入 25 μ L,样品中各氨基酸的含量为 1×10^{-9} mol。

2 结果及分析

2.1 聚氨酯预聚体整理剂的合成

聚氨酯预聚体整理剂的合成方法参照文献[4]。

2.2 整理后羊毛细胞间填充物 δ_{CU} 的稳定性

δ_L 、 δ_H 、PU- δ_L 和 PU- δ_H ,其提取率即对试料羊毛的质量分数如表 1 所示。

表 1 括弧中的数值是去除 PU 成分后的值即用

表 1 整理及未整理羊毛细胞间填充物的提取率 (%)

试料	甲酸提取物	甲酸-乙酸提取物
W	0.64	0.14
PU-W	1.27(0.29)	0.06(0.06)

高压液相色谱仪测定氨基酸含量所得出的值。由实验结果可知:经过整理剂整理后,在羊毛表皮层形成的聚合体大部分能溶解在甲酸处理液中,在透析过程中作为可溶性物质被透析掉,只有约 1%(对羊毛质量而言)的聚合体和 δ_L 成分发生共价结合即 PU- δ_L 而沉积在透析袋内。此外,从表 1 数据还可知:经预聚体整理剂整理后羊毛表皮细胞间填充物的提取率比未整理羊毛的要低 50%以上,因此可以认为:该部分填充物与整理剂发生了反应,存留在 CU-CU 间,从而获得了稳定性。

2.3 氨基酸含量分析

δ_L 、 δ_H 、PU- δ_L 和 PU- δ_H 的氨基酸含量分析值(摩尔百分率)如表 2 所示。

由表 2 可知:PU-W 和 W 用甲酸处理后的提取物中碱性氨基酸含量明显降低即下降了 4.4%;进一步用乙酸处理后的提取物中碱性氨基酸含量下降了 1.9%。由此说明这部分碱性氨基酸和整理剂发生了化学反应,存留在细胞间接合部,不仅使羊毛细胞间填充物 δ_{CU} 的稳定性获得了提高,而且还保障了其导水管的功能。

表 2 羊毛细胞间填充物的氨基酸含量 (%)

氨基酸	δ_L	δ_H	PU- δ_L	PU- δ_H				
非极性	Gly	14.4	23.0	28.4	19.5			
	Ala	7.4	5.0	2.8	9.9			
	Val	4.6	2.9	1.9	3.2			
	Leu	7.9	3.9	9.0	4.3			
	Ile	3.9	6.3	1.6	2.0			
	Phe	4.5	0.76	5.6	1.8			
	Pro	3.5	46.2	5.8	47.7	2.6	51.9	4.2
碱性	Lys	4.5	1.9	1.6	1.35			
	His	2.3	1.3	2.2	1.9			
	Arg	5.5	12.3	3.8	7.0	4.1	7.9	1.8
酸性	Asp	8.6	5.6	3.3	6.4			
	Glu	10.5	19.1	5.8	11.4	4.8	8.1	13.7
极性	Ser	8.6	12.5	12.4	22.2			
	Thr	4.8	3.5	2.0	4.8			
	Tyr	7.2	16.2	17.4	2.3			
	Met	1.3	0.49	-	0.32			
	1/2Cys	0.46	22.4	1.4	34.1	0.43	32.2	0.29

3 结论

1.整理及未整理羊毛细胞间填充物用甲酸进行提取的提取率分别为 0.64%和 0.24%;用乙酸处理后的提取率分别为 0.14%和 0.06%。整理后的提

取率明显降低,因此可以认为:该部分填充物与整理剂发生了反应,存留在 CU—CU 间,从而使羊毛获得了稳定性。

2.通过高压液相色谱仪进行氨基酸含量分析的结果同样表明:经整理后羊毛细胞间填充物中碱性氨基酸含量明显降低,说明这部分碱性氨基酸和整理剂发生了化学反应,存留在细胞间接合部,不仅使羊毛细胞间填充物 δ_{CU} 的稳定性获得了提高,而且还保障了其导水管的功能。

3.选用 pH 梯度法,采用高压液相色谱仪进行

氨基酸含量分析,其选定的分离条件对羊毛细胞间填充物 - 蛋白质的分析是很有效的。

参 考 文 献

- 1 Y. Nakamura et al. Proc. 5th Inter. Wool Text. Res. Conf., Aachen, 1975 (30) :223 .
- 2 Y. Nakamura et al. Text. Res. J., 1971 .41 :1001 .
- 3 Y. Nakamura et al. Proc. 7th Inter. Wool Text. Res. Conf., Tokyo, 1985 (37) :1171 .
- 4 陆必泰等.稳定性聚氨酯预聚体对羊毛细胞间填充物的保护.日本福井大学学报,1989(26) :71 ~ 79 .