

# 不同处理对猪毛角蛋白提取效果及功能特性的影响

孟少华<sup>1,2</sup>, 赵建生<sup>1,2</sup>, 马相杰<sup>1,2</sup>, 张德权<sup>3</sup>, 黄现青<sup>4</sup>, 乔明武<sup>4</sup>,  
王楠<sup>4</sup>, 李文新<sup>4</sup>, 杨迪<sup>4</sup>, 马燕<sup>1,3,4\*</sup>

(1. 河南双汇投资发展股份有限公司/河南省肉类智能分割与生物转化工程研究中心, 漯河 462005;  
2. 河南省肉品技术创新中心, 漯河 462005; 3. 中国农业科学院农产品加工研究所/农业农村部农产品  
质量安全收贮运管控重点实验室, 北京 100193; 4. 河南农业大学食品科学技术学院/河南省  
食品加工与流通安全控制工程技术研究中心, 郑州 450002)

**摘要:** **目的** 探究不同处理方式对猪毛角蛋白提取效果及功能特性的影响。**方法** 采取碱解法、酶解法、蒸汽爆破法、还原法 4 种处理提取猪毛角蛋白, 研究不同处理对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量以及角蛋白功能特性的影响。**结果** 碱解和蒸汽爆破处理下猪毛溶解率较高, 均为 65%左右, 而还原法处理的可溶性蛋白含量较高, 为 165 mg/g 左右; 不同处理对猪毛角蛋白的功能特性影响差异较大, 溶解性和持水性较好的分别是碱解和蒸汽爆破处理得到的角蛋白, 而还原法提取出的猪毛角蛋白持油性、冻融稳定性、乳化性及乳化稳定性较好。**结论** 各处理方法均有利弊, 需要根据角蛋白的用途选择合适的提取方法。本研究为猪毛角蛋白的提取及猪毛的充分利用提供了一定理论参考。

**关键词:** 猪毛; 角蛋白; 提取效果; 功能特性

## Effects of different treatments on extraction effects and functional properties of keratin from pig hair

MENG Shao-Hua<sup>1,2</sup>, ZHAO Jian-Sheng<sup>1,2</sup>, MA Xiang-Jie<sup>1,2</sup>, ZHANG De-Quan<sup>3</sup>, HUANG Xian-Qing<sup>4</sup>,  
QIAO Ming-Wu<sup>4</sup>, WANG Nan<sup>4</sup>, LI Wen-Xin<sup>4</sup>, YANG Di<sup>4</sup>, MA Yan<sup>1,3,4\*</sup>

(1. Henan Shuanghui Investment Development Co., Ltd./Henan Intelligent Meat Segmentation and Biotransformation Engineering Research Center, Luohe 462005, China; 2. Henan Meat Technology Innovation Center, Luohe 462005, China;  
3. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Risk Assessment Laboratory of Agro-products Processing Quality and Safety, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100193, China; 4. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University/Henan Engineering Technology Research Center of Food Processing and Circulation Safety Control, Zhengzhou 450002, China)

**ABSTRACT: Objective** To explore the effects of different treatment methods on the extraction effects and functional characteristics of keratin from pig hair. **Methods** Alkali hydrolysis, enzyme hydrolysis, steam explosion

**基金项目:** 2022 年漯河市重大科技创新专项(揭榜挂帅)、中国博士后科学基金资助项目(2022M711460)、河南省研究生联合培养基地项目(YJS2022JD16)、河南省高校科技创新团队项目(23IRTSTHN023)

**Fund:** Supported by the Major Scientific and Technological Innovation Special Project of Luohe City in 2022 (unveiled), the China Postdoctoral Science Foundation (2022M711460), the Henan Province Graduate Joint Training Base Project (YJS2022JD16), and the Henan Provincial University Science and Technology Innovation Team (23IRTSTHN023)

\***通信作者:** 马燕, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品营养与安全。E-mail: mayan201509@163.com

\***Corresponding author:** MA Yan, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, No.95, Wenhua Road, Jinshui District, Zhengzhou 450002, China. E-mail: mayan201509@163.com

and reduction method were used to extract keratin from pig hair. The effects of different treatments on the solubility, soluble protein content and functional properties of pig hair keratin were studied. **Results** The solubility of pig hair treated by alkali hydrolysis and steam explosion was about 65%, while the content of soluble protein was about 165 mg/g. The effects of different treatments on the functional characteristics of pig hair keratin were quite different. The keratin obtained by alkali hydrolysis and steam explosion had better solubility and water holding capacity, while the keratin extracted by reduction method had better oil holding capacity, freeze-thaw stability, emulsification and emulsion stability. **Conclusion** Each treatment method has its advantages and disadvantages, so it is necessary to select the appropriate extraction method according to the application of keratin. This study provides a theoretical reference for the extraction of keratin from pig hair and the full utilization of pig hair.

**KEY WORDS:** pig hair; keratin; extraction effects; functional characteristics

## 0 引言

猪毛是猪屠宰过程中产生的副产物之一。目前,国内外对于猪毛的利用主要集中在经过收集、水解、蒸煮、粉碎等工艺处理后作为饲料原料以及经过烘干、打毛、梳理、打板、定型、分级后制作猪鬃毛刷。此外,经过水解、浓缩分离、添加矿物质、微生物后制作有机肥和经过水解、过滤、脱色、溶解、脱色、中和过滤、结晶后提取氨基酸也是猪毛加工的发展趋势<sup>[1]</sup>。猪毛的蛋白质含量较高<sup>[2]</sup>,其中角蛋白含量高达 95%以上,且含有各种动物体所需的多种氨基酸<sup>[3-4]</sup>,近年来,不少研究开始聚焦于猪毛角蛋白的提取。角蛋白具有良好的相容性和生物降解性,可用于制备再生纤维材料、食品包装材料、人工皮肤薄膜材料、骨再生修复等<sup>[5-7]</sup>,广泛应用于医学、农业、轻工业等领域<sup>[8-9]</sup>。目前,我国猪毛仍存在被倾倒在垃圾填埋场或焚烧情况,猪毛未得到充分利用,若能从中高效提取角蛋白,不仅可减少生猪屠宰企业的废物排放,避免资源浪费,还可为企业带来附加利润。

角蛋白二级结构是由  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠构成的超螺旋多肽链,其间通过半胱氨酸残基形成的二硫键相连,这使得蛋白质分子具有三维网状结构,化学性质稳定,机械强度较高<sup>[10-12]</sup>。目前文献报道的提取角蛋白的方法主要有酸碱法、酶解法、还原法、氧化法以及离子液体、金属盐、铜氨溶液辅助法等<sup>[8,13]</sup>,提取对象以羊毛居多,还涉及鸡毛、猪毛、兔毛等。针对猪毛角蛋白的提取研究,多集中酸解、碱解、酶解单一提取工艺的优化,对不同工艺提取效果的比较少有报道,且对于猪毛角蛋白的基本功能特性研究较少。为此,本研究采取较为常见的碱解法、酶解法、蒸汽爆破法、还原法 4 种方法提取猪毛角蛋白,研究不同提取工艺对猪毛角蛋白提取效果和功能特性的影响,以期作为猪毛角蛋白的提取及猪毛的充分利用提供一定参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

猪毛(河南双汇投资发展有限公司);大豆油(益海粮

油工业有限公司);透析袋(分子截留量 3500 Da,北京兰杰柯科技有限公司)。

氢氧化钠(分析纯,国药控股化学试剂有限公司);木瓜蛋白酶(3500 U/mg,合肥博美生物科技有限责任公司);尿素(分析纯,北京华茂易商文化有限公司);十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)(分析纯,上海联迈生物工程公司);硫代硫酸钠(分析纯,济南鑫源化工有限公司);考马斯亮蓝 G250(优级纯,上海宝天生物科技有限公司);牛血清蛋白(索莱宝科技有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

HH.S21-6 数显式水浴锅(上海博讯有限公司);PHB-4-pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司);SHZ-D(III)四氟型循环水式真空多用泵(山东天瑞重工有限公司);AL-104 电子分析天平(精度 0.0001 g,上海梅特勒-托利多公司);101-3AS 鼓风干燥箱(郑州安晟科学仪器有限公司);QBS-80B 蒸汽爆破机(鹤壁正道生物能源有限公司);NEO-1600 高速冷冻离心机(香港利康生物医疗公司);721 可见分光光度计(岛津企业有限公司);K130 全自动凯氏定氮仪(北京嘉盛兴业科技有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 猪毛前处理

猪毛收集后使用洗洁精清洗数次,随后用蒸馏水冲洗干净,于 60°C 下烘干后剪为 1 cm 左右,装袋备用。

#### 1.3.2 不同处理方法提取猪毛角蛋白

##### (1)碱解

分别配制 0.1~0.5 mol/L 氢氧化钠溶液 50 mL,放入 100 mL 的锥形瓶中,在每个锥形瓶中分别添加 1.00 g 的猪毛,并用锡箔纸封口将其放入水浴锅中,在 80°C 的条件下水解 2~10 h。到达相应时间后,取出水解液,将温度降至室温,再将 pH 调至 7,用蒸馏水将溶液定容至 100 mL<sup>[10]</sup>,抽滤定容后的溶液取滤液。

##### (2)酶解

取 10.00 g 猪毛和 1%~5% (*m:m*)的木瓜蛋白酶于 250 mL 锥形瓶中,分别加入 200 mL 蒸馏水,放置在水浴温度为

50°C的条件下酶解 4~12 h。到达相应时间后, 取出水解液, 待温度降至室温, 再抽滤取滤液<sup>[14]</sup>。

### (3) 蒸汽爆破

称取 100.00 g 猪毛置于蒸汽爆破机反应器中, 分别于 1.2~1.6 MPa 压力下处理 30~150 s, 然后在 0.1 s 内瞬间泄压, 收集汽爆样品, 将收集的样品溶于蒸馏水中, 抽滤取滤液<sup>[15]</sup>。

### (4) 还原法

取 4.00 g 猪毛放入含有 5% SDS、0%~100% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、0%~500% 尿素的混合溶液中, 100°C 反应相应的时间, 反应结束后将溶液进行抽滤, 取滤液进行离心, 离心 10 min (8000 r/min), 取离心后的上清液<sup>[16]</sup>。

### (5) 溶解率测定

将上述操作中得到的滤渣放进烘箱内烘干至恒重, 称量烘干后猪毛的质量, 按公式(1)计算猪毛溶解率:

$$\text{溶解率}/\% = \frac{N - N_1}{N} \times 100 \quad (1)$$

式(1)中:  $N$  表示猪毛的总质量, g;  $N_1$  表示滤渣的总质量, g。

### (6) 可溶性蛋白含量测定

可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法<sup>[17]</sup>, 以牛血清为标准品, 在 595 nm 波长下对猪毛水解液吸光系数进行了测定, 并绘制标准曲线。可溶蛋白含量按公式(2)计算:

$$\text{可溶性蛋白质含量}/(\text{mg/g}) = \frac{m \times V_1}{V \times M \times 1000} \quad (2)$$

式(2)中:  $m$  为在标准蛋白曲线上查得蛋白质的质量,  $\mu\text{g}$ ;  $V_1$  为提取液体积, mL;  $V$  为提液总体积, mL;  $M$  为被测试样质量, g。

### 1.3.3 猪毛角蛋白功能特性

将上述制得的角蛋白溶液放入透析袋中进行透析, 将透析袋放入去离子水中, 透析 72 h, 每隔 12 h 更换一次去离子水, 透析完成之后干燥制得猪毛角蛋白<sup>[18]</sup>。

#### (1) 溶解性

将蛋白样品以 1:100 的质量比溶解于蒸馏水中并调 pH 为 7.0, 室温下搅拌 2 h, 然后离心 10 min (4°C, 8000 r/min), 收集上清液。利用凯氏定氮自动分析仪对试样进行测定。以上清液中的角蛋白与试样中的角蛋白之比代表角蛋白的溶解性<sup>[19]</sup>。

#### (2) 持水性

取 1.0000 g 角蛋白样品溶于 25 mL 去离子水中, 置于离心管中混匀 2 min, 在室温下放置 1 h, 之后将其放入离心机中, 以 8000 r/min 的速度离心 20 min, 除去上清液后称量<sup>[20]</sup>。持水性按公式(3)计算:

$$\text{持水性}/\% = \frac{N_2 - N_1}{N} \times 100 \quad (3)$$

式(3)中:  $N$  为样品重量, g;  $N_1$  为管和样品的总重量, g;  $N_2$  为沉淀和管的总重量, g

#### (3) 持油性

称取 0.1000 g 角蛋白, 放入离心管中, 再添加 5 mL 大豆油, 将其搅拌均匀。室温下静置 0.5 h 后, 将样品离心 20 min 除去上清液称重。以公式(4)为依据计算出角蛋白样品持油性<sup>[21]</sup>:

$$\text{持油性}/\% = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \times 100 \quad (4)$$

式(4)中:  $M_0$  为样品重量, g;  $M_1$  为管和样品的总重量, g;  $M_2$  为沉淀和管的总重量, g。

#### (4) 冻融稳定性

取样品加入蒸馏水配制成 6% 的样品浆液, 在 75°C 水浴保温 20 min, 冷却至室温后, 将样品液在 -20°C 下冷冻 24 h 后再取出, 自然解冻 8 h 使其恢复至室温, 以 5000 r/min 离心 30 min, 去除析出的液体, 称量沉淀质量<sup>[22]</sup>。析水率按照公式(5)计算:

$$\text{析水率}/\% = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100 \quad (5)$$

式(5)中:  $M_0$  为样品浆液质量, g;  $M_1$  为沉淀物质量, g。

#### (5) 乳化性及乳化稳定性

称取 0.2000 g 角蛋白于 50 mL 蒸馏水中, 在上述处理样品中分别加入体积分数为 25% 的大豆油, 搅拌乳化 1 min, 最终形成均匀的乳化液, 然后从底部取 50  $\mu\text{L}$  该乳化液, 加入 5 mL 0.1% 的 SDS 溶液, 快速摇匀后立即测定样品在 500 nm 波长处的吸光度( $A_0$ ) (以 SDS 溶液为空白), 10 min 后再从底部取 50  $\mu\text{L}$  乳化液, 稀释同样的倍数, 并测定吸光度( $A_1$ )<sup>[23]</sup>。乳化性以  $A_0$  表示。用公式(6)来计算乳化稳定性:

$$\text{乳化稳定性} = \frac{A_1}{A_0 - A_1} \times t \quad (6)$$

式(6)中:  $t$  为静置时间, 10 min;  $A_0$  为均质后 0 min 乳化液吸光度;  $A_1$  为均质后 10 min 乳化液吸光度。

## 1.4 数据处理

实验数据均为 3 次平行测量的平均值 $\pm$ 标准偏差, 采用 SPSS 19.0 软件进行数据处理, 对样品均值之间进行单因素方差分析( $P < 0.05$ ), 用 Origin 2022 进行作图。

## 2 结果与分析

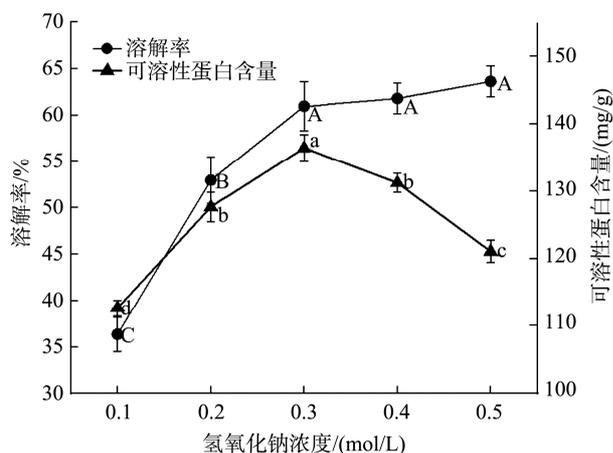
### 2.1 不同处理对猪毛角蛋白提取效果的影响

#### 2.1.1 碱解处理对猪毛角蛋白提取效果的影响

##### (1) 碱液浓度对猪毛水解效果的影响

氢氧化钠浓度对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响如图 1 所示。随着氢氧化钠浓度的增加, 猪毛的溶解率逐渐增高, 这表明, 氢氧化钠浓度的升高有利于猪毛的溶解, 但是随着氢氧化钠浓度到达 0.3 mol/L 之后, 猪毛溶解率增加幅度趋于平缓, 0.3~0.5 mol/L 氢氧化钠浓度对猪毛

溶解率无显著性差异。可溶性蛋白含量随着氢氧化钠浓度呈先上升后下降的变化趋势。当氢氧化钠浓度继续增大时, 虽然其溶解猪毛的能力有所提高, 但可溶性蛋白含量反而降低, 可能是由于碱法采用氢氧化钠等强碱溶液, 既可破坏二硫键, 也会破坏肽键<sup>[13]</sup>, 碱浓度越高越有利于猪毛中肽链的断裂, 但是过高的碱浓度, 容易促进水解后的肽链的疏水端聚合, 因而会在一定程度上阻碍猪毛蛋白的肽链进一步水解<sup>[10]</sup>。综合来看, 当氢氧化钠浓度为 0.3 mol/L 时猪毛溶解率和可溶性蛋白质含量均处于较高水平, 因此选择氢氧化钠浓度为 0.3 mol/L 为猪毛角蛋白较佳提取浓度。



注: 不同大小写字母表示各组内差异显著( $P < 0.05$ ), 下同。

图1 氢氧化钠浓度对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响

Fig.1 Effects of sodium hydroxide concentration on the solubility and soluble protein content of pig hair

(2)碱解时间对猪毛水解效果的影响

随着反应时间的增加, 猪毛的溶解率呈不断上升趋势, 在 6 h 之后, 溶解率增加趋于稳定(图 2)。可溶性蛋白的含量则呈现先上升后下降的趋势, 碱解可有效破坏猪毛蛋白中精氨酸与其他氨基酸形成的肽键, 因而可以促进猪毛角蛋白的提取, 但是, 随着水解程度的增加, 水解产生的多肽羧基端易与氢氧化钠发生中和反应, 因而在一定程度上会抑制碱对猪毛的水解<sup>[10]</sup>。综合来看, 当时间为 6 h 时, 猪毛的溶解率较高, 同时可溶性蛋白也保持在较高的水平, 因此选择 6 h 为较佳碱解时间。

2.1.2 酶解处理对猪毛角蛋白提取效果的影响

(1)加酶量对猪毛水解效果的影响

加酶量对猪毛溶解率及可溶性蛋白的影响如图 3 所示。随着酶量的增加, 猪毛的溶解率逐渐增高后趋于稳定, 这与前人研究结果不太一致<sup>[14]</sup>, 其原因在于本研究是单一酶解体系, 而非高温酸解辅助酶解猪毛。可溶性蛋白含量随着加酶量呈先上升后下降的变化趋势, 在加酶量为 3% 时达到了最高, 之后又逐渐减小。这是因为随着加酶量的

增大, 部分蛋白质可能被酶解成短肽和氨基酸, 从而造成可溶性蛋白质含量降低, 这与乔羽等<sup>[14]</sup>的研究结果一致。综合猪毛溶解率及可溶性蛋白含量的变化来看, 当加酶量为 3% 时二者均处于较高水平, 因此选择加酶量 3% 为较佳用量。

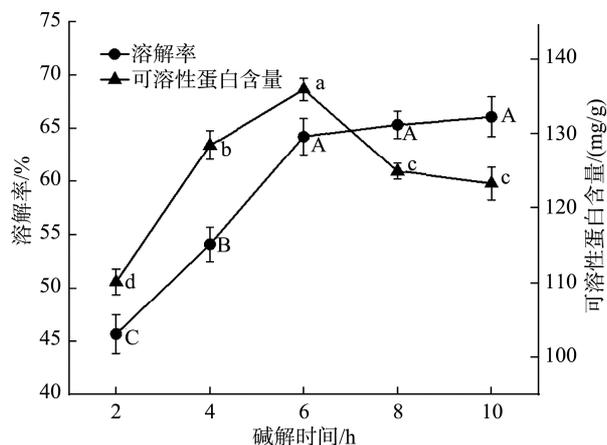


图2 碱解时间对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响

Fig.2 Effects of alkalisysis time on the solubility and soluble protein content of pig hair

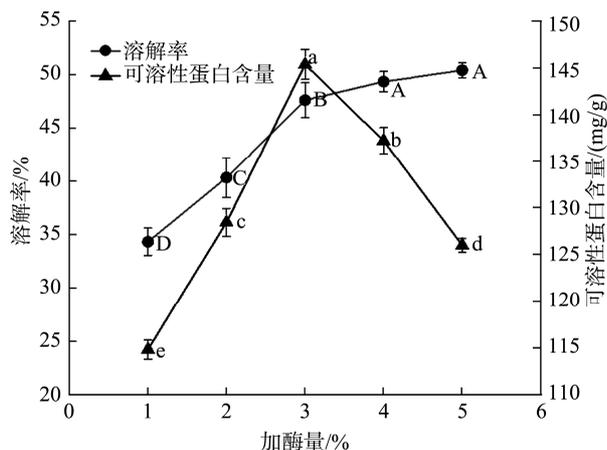


图3 加酶量对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effects of enzyme dosage on the solubility and soluble protein content of pig hair

(2)酶解时间对猪毛水解效果的影响

随着反应时间的增加, 猪毛的溶解率逐渐增大, 而可溶性蛋白的含量呈现先上升后下降的趋势, 这是因为溶解之后提取出的角蛋白可能被酶解成短肽和氨基酸, 从而造成可溶性蛋白质含量降低。综合来看, 当时间为 8 h 时, 猪毛的溶解率较高, 同时可溶性蛋白含量也保持在较高的水平(图 4)。因此, 选择 8 h 作为较佳酶解时间。

2.1.3 蒸汽爆破处理对猪毛角蛋白提取效果的影响

(1)爆破压力对猪毛角蛋白提取效果的影响

爆破压力对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响如图 5 所示。随着爆破压力的增加, 猪毛的溶解率逐渐增高。当爆破压力在 1.2~1.6 MPa 时上升幅度较大, 在 1.8 MPa 后

增幅减缓, 逐渐趋于稳定, 这表明爆破压力的增加有利于猪毛的溶解, 这与 ZHANG 等<sup>[24]</sup>的研究结果一致。可溶性蛋白含量却随着压力的增大呈先上升后下降的变化趋势, 这是因为角蛋白不断的受压力的影响而降解, 因此表现为先上升后下降。综合猪毛溶解率及可溶性蛋白含量的变化来看, 当爆破压力为 1.6 MPa 时二者均处于较高水平, 因此选择爆破压力为 1.6 MPa 时为最佳提取条件。

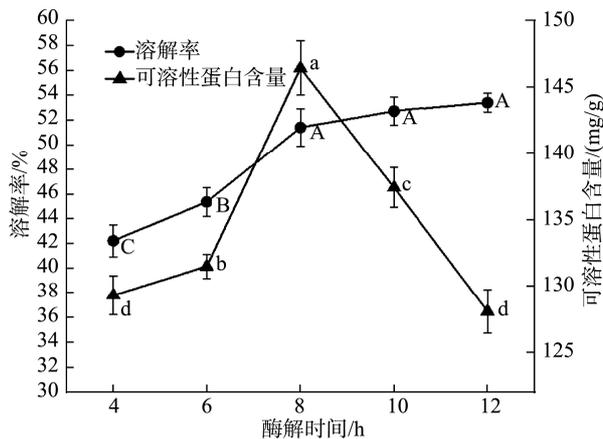


图4 酶解时间对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响

Fig.4 Effects of enzymolysis time on the solubility and soluble protein content of pig hair

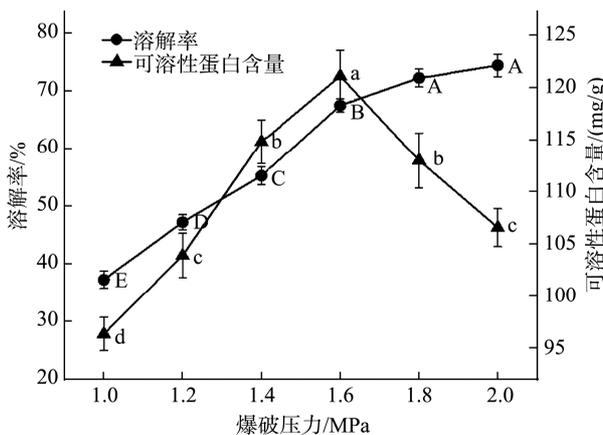


图5 爆破压力对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响

Fig.5 Effects of bursting pressure on the dissolution rate and soluble protein content of pig hair

#### (2) 爆破时间对猪毛角蛋白提取效果的影响

随着爆破时间的增加, 猪毛的溶解率逐渐增高, 当爆破时间在 30~90 s 时上升幅度较大, 90 s 后上升幅度降低(图 6), 这表明爆破时间的增加有利于猪毛的溶解, 这可能是由于蒸汽爆破过程中温度较高, 热处理使得猪毛角蛋白酸性基团增加以及中性基团减少<sup>[24]</sup>。而可溶性蛋白含量却随着压力的增大呈先上升后下降的变化趋势。综合猪毛溶解率及可溶性蛋白含量的变化来看, 当爆破时间为 90 s 时二者均处于较高水平, 因此选择爆破时间为 90 s 时为最佳提取条件。

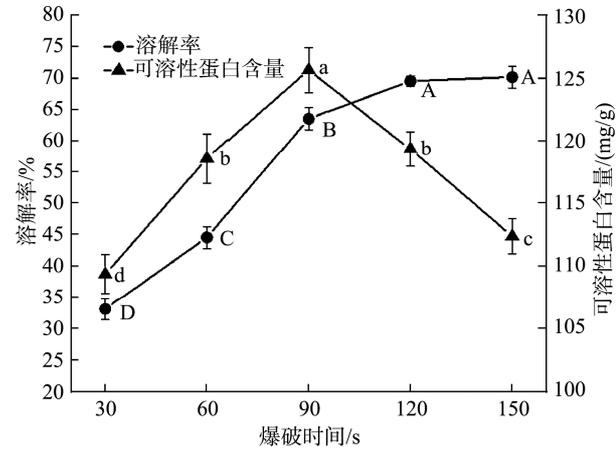


图6 爆破时间对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响

Fig.6 Effects of blasting time on the dissolution rate and soluble protein content of pig hair

#### 2.1.4 还原法处理对猪毛角蛋白提取效果的影响

##### (1) 还原剂用量对猪毛角蛋白提取效果的影响

还原剂用量对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响如图 7 所示。猪毛的溶解率随着  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量的增加而逐渐增高, 这表明  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量的增加有利于猪毛的溶解。可溶性蛋白含量却随着  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量呈先上升后下降的变化趋势, 在 0%~50% 之间可溶性蛋白含量增加幅度较快, 还原剂用量大于 50% 时, 可溶性蛋白含量随  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量的增加而逐渐降低, 这主要是因为还原剂可以在溶胀过程进入猪毛纤维内部, 使其二硫键等多种化学键断裂提取角蛋白, 一定浓度范围内  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量的逐渐增加会显著促进猪毛纤维化学键的断裂, 但  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量过大虽能断开猪毛纤维中的大部分化学键增加提取液中蛋白含量, 但所得角蛋白分子量太小, 影响测定结果, 且在后续透析过程中也会被去除。因此 50% 的  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  用量较为合适。

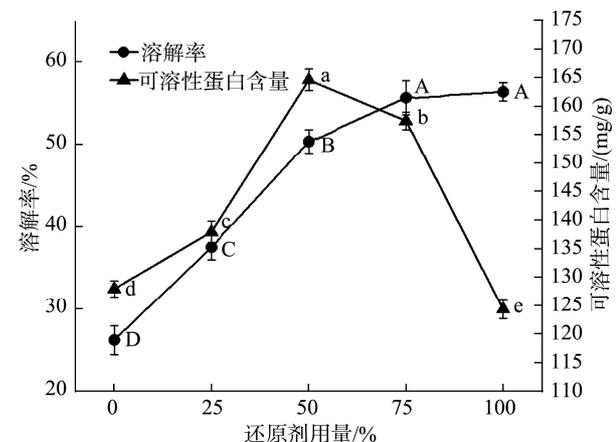


图7 还原剂用量对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响

Fig.7 Effects of reducing agent dosage on the solubility and soluble protein content of pig hair

(2) 尿素用量对猪毛角蛋白提取效果的影响

尿素用量对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响如图 8 所示。随着尿素用量的增加, 猪毛的溶解率逐渐增高, 一直处于上升阶段, 当尿素用量在 100%~300% 时, 上升幅度较大, 这表明, 尿素用量的增加有利于猪毛的溶解, 这主要是因为尿素可以促进猪毛纤维的溶胀过程从而促进还原剂进入猪毛纤维内部, 加速了猪毛纤维中二硫键等各种化学键的断裂<sup>[16]</sup>。可溶性蛋白含量却随着尿素用量呈先上升后下降的变化趋势。综合来看, 当尿素用量为 300% 时二者均处于较高水平, 因此选择尿素用量为 300% 时为较佳提取条件。

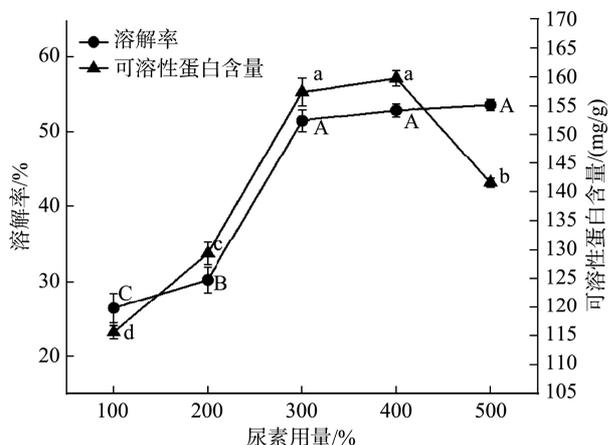


图 8 尿素用量对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响  
Fig.8 Effects of urea dosage on the dissolution rate and soluble protein content of pig hair

(3) 反应时间对猪毛角蛋白提取效果的影响

随着反应时间的增加, 猪毛的溶解率逐渐增高, 一直处于上升阶段, 当反应时间在 60~90 min 时上升幅度较大, 这表明反应时间的增加有利于猪毛的溶解。可溶性蛋白含量却随着反应时间呈先上升后下降的变化趋势(图 9)。这是因为反应时间会造成猪毛纤维中化学键的残留数量不同, 猪毛的破坏程度也不同, 当反应时间较短时, 还原剂还不能充分发挥作用, 二硫键等断裂不完全, 猪毛纤维破坏程度较小, 因而可溶性蛋白含量较低, 但是当提取时间过长时, 猪毛纤维被过度破坏, 角蛋白的相对分子质量过小<sup>[16]</sup>。综合来看, 当反应时间为 90 min 时二者均处于较高水平, 因此选择反应时间为 90 min 时为较佳提取条件。

综上, 对于不同工艺探究出较佳提取参数分别为: 氢氧化钠浓度为 0.3 mol/L、反应时间为 6 h、反应温度为 80°C, 此时猪毛溶解率为 64%, 可溶性蛋白含量为 135 mg/g; 加酶量为猪毛干重的 3%、反应时间为 8 h、反应温度为 50°C, 此时猪毛溶解率为 51%, 可溶性蛋白含量为 146 mg/g; 爆破压力为 1.6 MPa、爆破时间为 90 s、此时猪毛溶解率为 65%左右, 可溶性蛋白含量为 123 mg/g 左右; Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 为猪毛干重的 50%、尿素用量为猪毛干重的 300%、反应时间

为 90 min、反应温度为 100°C, 此时猪毛溶解率为 50%左右, 可溶性蛋白含量为 165 mg/g 左右。

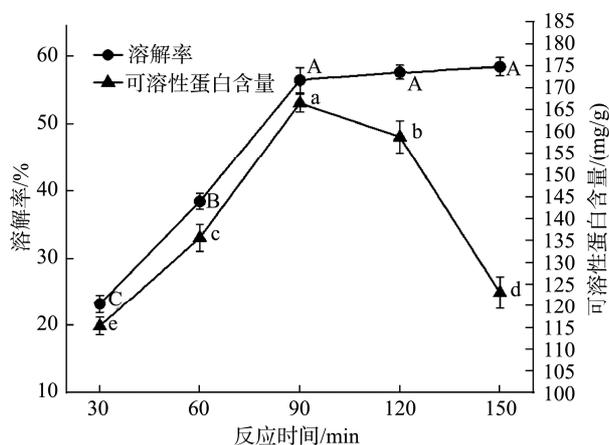
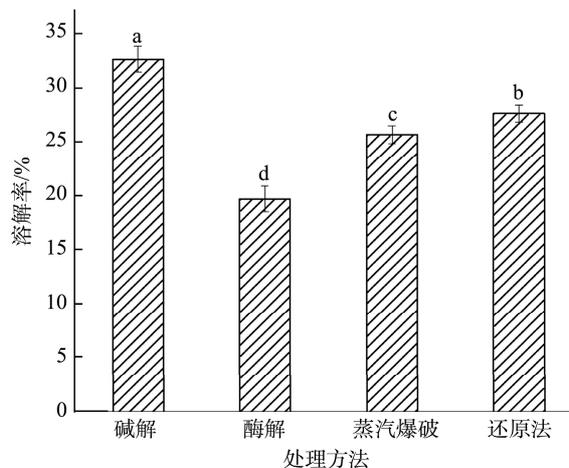


图 9 反应时间对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响  
Fig.9 Effects of reduction time on the dissolution rate and soluble protein content of pig hair

2.2 不同处理对猪毛角蛋白功能特性的影响

2.2.1 不同处理对猪毛角蛋白溶解性的影响

不同处理得到的猪毛角蛋白的溶解性如图 10 所示。4 种方法提取的角蛋白均具有一定的溶解性。其中, 碱解提取得到的角蛋白具有较高的溶解性。酶解提取得到的角蛋白的溶解性明显低于其他 3 种方法。碱解提取出的角蛋白溶解性最高, 可能是因为在强碱的作用下, 角蛋白的净负电荷增多, 电荷间强烈的排斥作用引起角蛋白的各种次级键断裂, 角蛋白的紧密构象变成松散的无序状态<sup>[25]</sup>, 从而使角蛋白的溶解性增加。



注: 不同小写字母表示组间具有显著性差异, P<0.05, 下同。

图 10 不同处理对猪毛角蛋白溶解性的影响  
Fig.10 Effects of different treatments on the keratin solubility of pig hair

### 2.2.2 不同处理对猪毛角蛋白持水性的影响

不同处理方式下角蛋白样品的持水性如图 11 所示。蛋白质的持水性容易受到环境因素如蛋白质浓度、离子强度、相对湿度和温度等<sup>[25]</sup>的影响。4 种方法提取的角蛋白均具有一定的持水性。其中, 蒸汽爆破提取得到的角蛋白具有较高的持水性, 碱解提取得到的角蛋白的持水性明显低于其他 3 种方法。

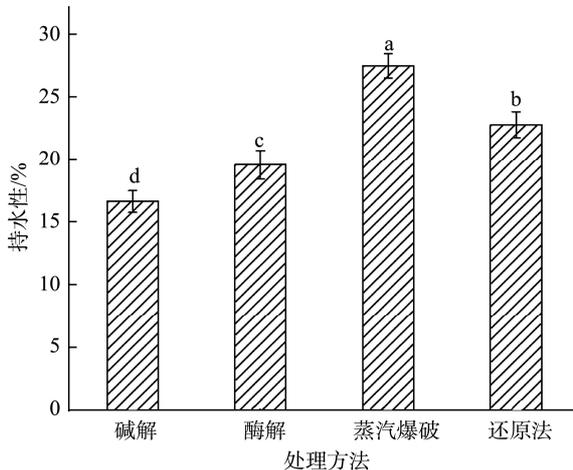


图11 不同处理对猪毛角蛋白持水性的影响

Fig.11 Effects of different treatments on the water retention of pig hair keratin

### 2.2.3 不同处理对猪毛角蛋白持油性的影响

不同处理方式下角蛋白样品的持油性如图 12 所示。4 种方法提取的角蛋白均具有一定的持油性。其中, 还原法提取得到的角蛋白具有较高的持油性, 酶解提取得到的角蛋白的持油性明显低于其他 3 种方法。一般而言, 角蛋白产品的持油性与角蛋白中的非极性基团的疏水作用有关, 还原法提取得到的角蛋白持油性最高, 说明还原法提取出的角蛋白中的非极性基团的疏水作用比较大。

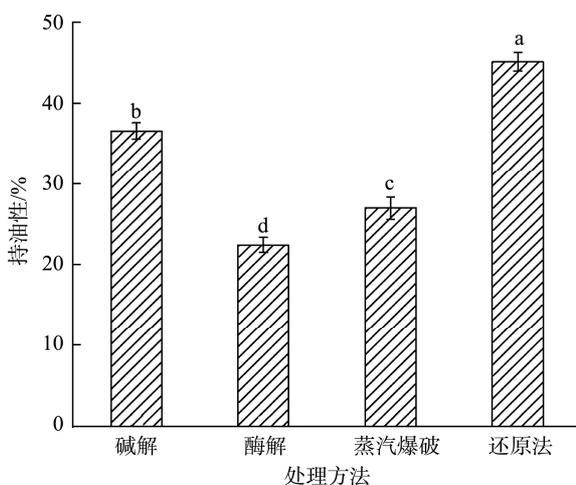


图12 不同处理对猪毛角蛋白持油性的影响

Fig.12 Effects of different treatments on the oil retention of pig hair keratin

### 2.2.4 不同处理对猪毛角蛋白冻融稳定性的影响

不同处理方式下角蛋白样品的析水率如图 13 所示。析水率越大, 表明冻融稳定性越差。冻融稳定性受环境因素、加工条件、界面结构等因素的影响<sup>[26]</sup>。4 种方法提取的角蛋白均具有一定的冻融稳定性。其中, 还原法提取得到的角蛋白具有较高的冻融稳定性, 酶解提取得到的角蛋白的冻融稳定性明显低于其他 3 种方法。

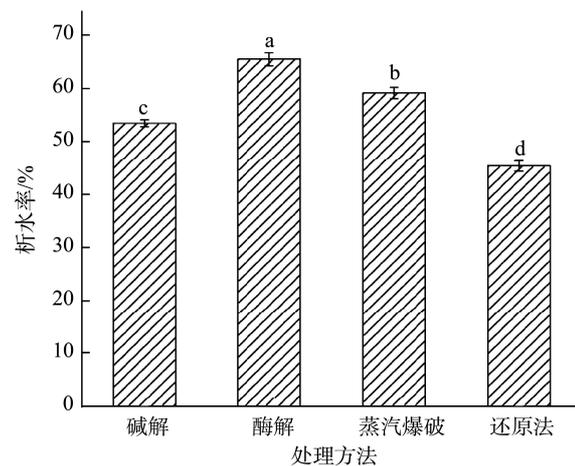
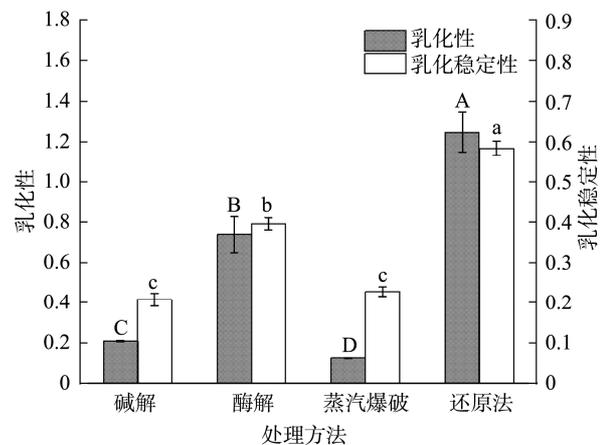


图13 不同处理对猪毛角蛋白析水率的影响

Fig.13 Effects of different treatments on the water extraction rate of pig hair keratin

### 2.2.5 不同处理对猪毛角蛋白乳化性及乳化稳定性的影响

不同处理方式下角蛋白样品的乳化性及乳化稳定性如图 14 所示。4 种方法提取的角蛋白均具有一定的乳化性和乳化稳定性。其中, 碱解和蒸汽爆破提取得到的角蛋白乳化性及乳化稳定性较低, 还原法较高, 可能是因为还原法保留了猪毛角蛋白的完整结构, 保留了蛋白质的大分子特性, 乳化特性也较好。



注: 不同大写字母表示组间处理的乳化性具有显著性差异, 不同小写字母表示组间的乳化稳定性具有显著性差异,  $P < 0.05$ 。

图14 不同处理方式下猪毛角蛋白的乳化性及乳化稳定性

Fig.14 Emulsification and emulsification stability of the pig hair keratin under different treatments

综上, 碱解处理得到的角蛋白溶解性较好; 蒸汽爆破处理得到的角蛋白持水性较好, 还原法提取出的猪毛角蛋白持油性、冻融稳定性、乳化性及乳化稳定性较好。

### 3 讨论与结论

猪毛角蛋白中富含半胱氨酸, 多个链段之间通过二硫键相互连接形成稳定的立体网状交联结构, 且链段之间大量存在的氢键、盐键等进一步加强了网状结构的稳定性, 给溶解猪毛提取角蛋白造成一定的困难<sup>[27]</sup>, 目前已对此研究了多种提取方法。本研究探讨了碱解、酶解、蒸汽爆破以及还原法对猪毛溶解率及角蛋白提取效果的影响, 不同处理方法对猪毛溶解率和可溶性蛋白含量的影响不同: 碱解处理和蒸汽爆破处理的猪毛溶解率较高, 但可溶性蛋白含量差异较大, 碱性法是比较传统的角蛋白提取方法, 主要利用氢氧化钠等强碱性物质溶解纤维原料, 由于碱在破坏二硫键的同时也会使肽键水解, 故常常会出现产率高但产物分子量低的矛盾<sup>[28]</sup>。蒸汽爆破通过机械作用对猪毛纤维进行加压和加热, 利用机械力破坏纤维中的二硫键, 从而获得可溶性角蛋白, 通过蒸汽爆破制得的角蛋白分子量一般较低, 甚至只能得到易于消化的多肽混合物<sup>[29]</sup>。酶解和还原法处理后羊毛的溶解率接近, 都相对较低, 但是可溶性蛋白含量差异较大, 酶解处理得到可溶性蛋白含量略高于碱解, 但显著低于还原法。提取角蛋白通常需要选用具有专一性的生物酶让其有选择性地破坏角蛋白之间的键<sup>[30]</sup>, 以达到高效率的目的。还原法利用 SDS 表面活性剂胶束保护二硫键还原成的巯基不被氧化, 另外还有利于还原剂与猪毛充分接触, 因此虽然猪毛溶解率较低但可以得到分子量较高的角蛋白浓溶液<sup>[27]</sup>。

不同处理对猪毛角蛋白的功能特性影响区别较大, 碱解处理得到的角蛋白溶解性较好, 可能是因为在强碱的作用下, 角蛋白的各种次级键断裂, 紧密构象变成松散无序状态<sup>[25]</sup>, 从而使角蛋白的溶解性增加; 蒸汽爆破处理得到的角蛋白持水性较好, 可能是因为蒸汽爆破使更多包裹于蛋白质中的亲水基团暴露, 增加了基团之间与水之间的作用力<sup>[23]</sup>。还原法提取出的猪毛角蛋白持油性、冻融稳定性、乳化性及乳化稳定性较好。乳化性和乳化稳定性分别反映了水油结合形成乳化液的能力以及乳状液维持稳定的能力, 二者受加工方式、温度和蛋白质质量浓度等多种因素影响<sup>[31]</sup>。还原法得到的角蛋白乳化性和乳化稳定性较高, 可能与其蛋白质质量浓度高有关, 蛋白质向油-水界面扩散能力增强, 蛋白质表面覆盖率提高, 形成更多的乳状液, 因此乳化性增加<sup>[32]</sup>, 同时液滴之间的空间和静电排斥力增强而防止蛋白质聚集, 可以有效地防止增加的界面蛋白质液滴之间的絮凝, 提高乳化稳定性, 而碱解和蒸汽爆破得到的角蛋白分子量相对较小, 不利于其在油-水界面扩散且吸附能力弱, 因而乳化性和乳

化稳定性较差。

综上, 各处理方法均有利弊, 因此, 在提取角蛋白的过程中, 不仅要考虑原料的溶解率, 也要兼顾角蛋白的产率和分子量, 采取先进工艺或多种提取工艺相结合, 在破坏分子间二硫键、氢键和盐键的同时减少肽键断裂, 尽可能保持角蛋白分子主链完整, 以提高角蛋白功能特性。

### 参考文献

- [1] 李亚娟. 猪毛加工现状及前景展望[J]. 河南农业, 2019, (34): 52.  
LI YJ. Current situation and prospect of pig hair processing [J]. Agric Henan, 2019, (34): 52.
- [2] DAROIT DJ, BRANDELLIA. A current assessment on the production of bacterial keratinases [J]. Crit Rev Biotechnol, 2014, 34(4): 371-384.
- [3] 刘标, 尹红梅, 刘惠知. 猪毛角蛋白降解菌的分离筛选及其降解特性研究[J]. 农业工程学报, 2019, 35(7): 311-316.  
LIU B, YIN HM, LIU HZ. Isolation, screening and degradation characteristics of pig hair keratin-degrading bacteria [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2019, 35(7): 311-316.
- [4] LI QF, HE YF, WANG RM. A facile extraction of keratin from pig hair and its properties [J]. Biologia, 2019, 74(5): 563-571.
- [5] WANG RR, TONG H. Preparation methods and functional characteristics of regenerated keratin-based biofilms [J]. Polymers, 2022, 14(21): 4723.
- [6] LI H, OH JS, SINHA TK, *et al.* Synergistic influence of keratin and TPU: An approach towards bioinspired artificial skin [J]. Mater Chem Phys, 2019, 223: 196-201.
- [7] ZHAO X, LUI YS, CHOO CKC, *et al.* Calcium phosphate coated keratin-PCL scaffolds for potential bone tissue regeneration [J]. Mat Sci Eng C, 2015, 49: 746-753.
- [8] SENTHILKUMAR N, CHOWDHURY S, SANPU P. Extraction of keratin from keratinous wastes: Current status and future directions [J]. J Mater Cycles Waste, 2023, 25: 1-16.
- [9] YAN RR, GONG JS, SU C, *et al.* Preparation and applications of keratin biomaterials from natural keratin wastes [J]. Appl Microbiol Biot, 2022, 106: 2349-2366.
- [10] 郭思亚, 向鹏妍, 吴婷, 等. 酶辅助碱解猪毛提取角蛋白工艺优化[J]. 农产品加工, 2017, (15): 19-23.  
GUO SY, XIANG PY, WU T, *et al.* Process optimization of enzyme assisted alkaline hydrolysis to extract keratin from pig hair [J]. Farm Prod Process, 2017, (15): 19-23.
- [11] ALAHYARIBEIK S, ULLAH A. Methods of keratin extraction from poultry feathers and their effects on antioxidant activity of extracted keratin [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 148: 449-456.
- [12] YAN RR, GONG JS, SU C, *et al.* Preparation and applications of keratin biomaterials from natural keratin wastes [J]. Appl Microbiol Biot, 2022, 106(7): 2349-2366.
- [13] 孙丽莹, 高文伟, 李珊, 等. 角蛋白提取方法进展及提取技术应用选择建议[J]. 皮革科学与工程, 2020, 30(3): 20-27.  
SUN LY, GAO WW, LI S, *et al.* Progress of keratin extraction methods and suggestions on application of extraction technology [J]. Leather Sci Eng, 2020, 30(3): 20-27.

- [14] 乔羽, 陈华彬, 肖静. 高温酸解辅助酶解猪毛工艺的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2019, (5): 49–54, 60.  
QIAO Y, CHEN HS, XIAO J. Study on high temperature acid hydrolysis assisted enzymatic hydrolysis of pig hair [J]. Food Feed Ind, 2019, (5): 49–54, 60.
- [15] 董烨, 张益奇, 姚洪正, 等. 预处理方式对鳙鱼骨蛋白酶解液游离氨基酸和挥发性成分的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(8): 179–185.  
DONG Y, ZHANG YC, YAO HZ, *et al.* Effects of pretreatment methods on free amino acids and volatile components of bighead bone protease hydrolysate [J]. Food Sci, 2021, 42(8): 179–185.
- [16] 申保雷. 羊毛角蛋白的提取及其功能纤维材料的制备工艺[D]. 河北: 河北科技大学, 2019.  
SHEN BL. Extraction of wool keratin and preparation of functional fiber materials [D]. Hebei: Hebei University of Science and Technology, 2019.
- [17] 聂昌宏, 郑欣, 阿依居来克·卡得尔, 等. 考马斯亮蓝法检测不同乳中乳清蛋白含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1138–1142.  
NIU CH, ZHENG X, AYIJULAIKE KDE, *et al.* Determination of whey protein content in different kinds of milk by coomassie brilliant blue method [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(5): 1138–1142.
- [18] 房启海. 羊毛角蛋白的提取及其应用[D]. 青岛: 青岛大学, 2016.  
FANG QH. Extraction and application of wool keratin [D]. Qingdao: Qingdao University, 2016.
- [19] 吴甜甜, 易军鹏, 董晶寅, 等. 蒸汽爆破预处理对芝麻粕蛋白结构与功能特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(23): 194–200.  
WU TT, YI JP, DONG JY, *et al.* Effect of steam blasting pretreatment on protein structure and functional properties of sesame meal [J]. Food Ferment Ind, 2022, 48(23): 194–200.
- [20] 吴坤远. 马面鲈鱼皮胶原结构、功能及流变性能的研究[D]. 福建: 福建农林大学, 2020.  
WU KY. Study on the structure, function and rheological properties of the collagen in the skin of Marmofish [D]. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University, 2020.
- [21] 赵佳佳, 王梦, 李言, 等. 乌饭树叶蓝黑色素对大米蛋白理化性质的影响[J]. 食品与机械, 2022, 38(10): 37–42.  
ZHAO JJ, WANG M, LI Y, *et al.* Effects of blue and black pigment on physicochemical properties of rice protein in leaves of the rice tree [J]. Food Mach, 2022, 38(10): 37–42.
- [22] 黄正芬. 猪皮蛋白粉的理化、功能特性及其应用研究[D]. 广西: 广西大学, 2014.  
HUANG ZF. Study on physicochemical, functional properties and application of pig skin protein powder [D]. Guangxi: Guangxi University, 2014.
- [23] 张善英, 徐鲁平, 郑丽丽, 等. 蒸汽爆破辅助提取油茶籽蛋白及其功能性质分析[J]. 中国油脂, 2019, 44(9): 47–53.  
ZHANG SY, XU LP, ZHENG LL, *et al.* Steam blasting assisted extraction of camellia seed protein and its functional properties [J]. China Oils Fats, 2019, 44(9): 47–53.
- [24] ZHANG YQ, ZHAO W, YANG RJ. Steam flash explosion assisted dissolution of keratin from feathers [J]. ACS Sustain Chem Eng, 2015, 3(9): 2036–2042.
- [25] 韩玮. 微生物发酵法制备胶原蛋白及其性质和应用研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.  
HAN W. Preparation of collagen by microbial fermentation and its properties and application [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.
- [26] 刘明艳. 超声糖基化强化蚕蛹蛋白乳液冻融稳定性研究[D]. 江苏: 江苏科技大学, 2022.  
LIU MY. Study on freeze-thaw stability of silkworm pupa protein emulsion enhanced by ultrasonic glycoylation [D]. Jiangsu: Jiangsu University of Science and Technology, 2022.
- [27] 姜智能. 羊毛角蛋白的提取、提纯及性质表征[D]. 青岛: 青岛大学, 2019.  
JIANG ZN. Extraction, purification and characterization of wool keratin [D]. Qingdao: Qingdao University, 2019.
- [28] 贾桂芹. NaOH 溶液对羊毛和金属纤维溶解度的影响[J]. 纺织科技进展, 2006, (2): 80–81.  
JIA GQ. Effect of NaOH solution on solubility of wool and metal fiber [J]. Prog Text Sci Technol, 2006, (2): 80–81.
- [29] WHITTOCK NV, EADY RA, MCGRATH JA. Genomic organization and amplification of the human epidermal type II keratin genes K1 and K5 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 274(1): 149–152.
- [30] CĂLIN M, CONSTANTINESCU-ARUXANDEI D, ALEXANDRESCU E, *et al.* Degradation of keratin substrates by keratinolytic fungi [J]. Electron J Biotechnol, 2017, 28: 101–112.
- [31] LIU H, GUO YJ, XU X, *et al.* Comparative assessment of bone collagen recovered from different livestock and poultry species: Microstructure, physicochemical characteristics and functional properties [J]. Int J Food Sci Technol, 2023, 58(3): 1597–1610.
- [32] GUO Q, MU TH. Emulsifying properties of sweet potato protein: Effect of protein concentration and oil volume fraction [J]. Food Hydrocolloid, 2011, 25(1): 98–106.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

## 作者简介

孟少华, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品营养与安全。  
E-mail: 2328038618@qq.com

马 燕, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品营养与安全。  
E-mail: mayan201509@163.com