

DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20150253

## 微波辅助酶水解明胶制备多肽酰胺表面活性剂

吕小凤, 律喆, 彭啸, 吴燕  
(天津科技大学化工与材料学院, 天津 300457)

**摘要:** 采用微波辅助木瓜蛋白酶水解明胶制备小分子水解明胶, 再与二乙醇胺、脂肪酸反应制备多肽酰胺表面活性剂 (PAS). 以 PAS 的去污力和起泡力作为评价指标, 考察投料量比、脂肪酸类型、反应温度和反应时间的影响, 进而确定制备 PAS 的最优工艺. 实验结果表明: 水解温度 55 °C、微波酶解功率 280 W、水解时间 7 min 的情况下, 水解度为 11%, 其水解速率是普通酶水解的 8 倍以上; 在  $m(\text{二乙醇胺}) : m(\text{水解明胶}) : m(\text{月桂酸}) = 1 : 4 : 1$ 、反应时间 5 h、反应温度为 145 °C 的条件下, PAS 去污性能和泡沫性能最好, 且 PAS 具有良好的表面性能, 可应用于免水洗皮肤清洗剂的研制.

**关键词:** 多肽酰胺; 表面活性剂; 水解明胶; 皮肤清洗剂

中图分类号: TQ64 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2017)04-0041-05

## Preparation of Peptide Amide Surfactant through Microwave Assisted Enzymatic Hydrolysis of Gelatin

LÜ Xiaofeng, LÜ Zhe, PENG Xiao, WU Yan

(College of Chemical Engineering and Materials Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** Gelatin hydrolysate was prepared through microwave assisted digestion of gelatin using papaya protease. Peptide amide surfactant was synthesized with diethanol amine, gelatin hydrolysate and fatty acid. Raw materials ratio, fatty acid, reaction temperature and reaction time that may affect the properties of the resultant products were studied. The decontamination effect and foaming height were investigated. The optimum synthetic conditions were obtained as follows: the hydrolysis temperature was 55 °C, microwave power was 280 W, and the hydrolysis rate of microwave was 8 times higher than that for common enzyme hydrolysis. The best ratio of  $m(\text{diethanolamine}) : m(\text{gelatin hydrolysate}) : m(\text{lauric acid})$  is 1 : 4 : 1, 145 °C was selected as the reaction temperature, and the reaction time was 5 h. Under these conditions, PAS has the best surface properties, so it can be applied to the development of skin washing cleaner without water.

**Key words:** peptide amide; surfactant; gelatin hydrolysate; skin cleaner

经常清洗皮肤, 对于消除疲劳、预防疾病、增进身体健康、提高劳动力和战斗力都有重要的作用. 因此, 寻找一种方便的免水洗方法, 在平时、战时都有重要意义<sup>[1]</sup>. 目前国内生产的皮肤清洗剂以皂基类清洗剂为主, 这类清洗剂虽去污能力强, 但由于其具有强大的溶解皮肤油脂的能力, 对皮肤有一定的刺激和伤害作用<sup>[2]</sup>.

以蛋白质为原料生产的高分子表面活性剂是一

种具有特殊结构和良好生物降解性能的精细化工产品<sup>[3]</sup>. 生产安全、温和、易生物降解的蛋白基表面活性剂, 是表面活性剂行业重要的发展方向之一<sup>[4]</sup>. 目前, 我国已有的蛋白基表面活性剂产品为雷米邦 (Lamepon). 但由于其采用的是强碱水解胶原的工艺, 使胶原的分子结构受到破坏, 且水解物的相对分子质量等性质难以控制, 进而严重影响了产品的性能和稳定性<sup>[5]</sup>.

收稿日期: 2015-12-17; 修回日期: 2016-07-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21107080)

作者简介: 吕小凤(1993—), 女, 湖南人, 硕士研究生; 通信作者: 吴燕, 教授, wuyan@tust.edu.cn

数字出版日期: 2017-01-12; 数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1355.N.20170112.1204.010.html>

以多肽酰胺表面活性剂(PAS)为有效成分的皮肤清洗剂,具有不用清洗、去污垢能力强、对皮肤无刺激性、与皮肤的 pH 相近等优点<sup>[6]</sup>. 明胶是一种由 18 种氨基酸以肽键形式结合形成的蛋白质大分子化合物<sup>[7]</sup>,可以在酸、碱、热、酶的作用下水解得到水解明胶. 水解明胶保持明胶所固有的大部分优良的理化性能,且由于相对分子质量的降低又赋予其新的性能<sup>[8]</sup>,使其在水中溶解性提高<sup>[9]</sup>,从而更易被人体皮肤吸收,其营养功能得到进一步发挥<sup>[10]</sup>. 微波加热具有迅速均匀、不需要热传导、加热质量高、营养破坏少、安全无污染等特点<sup>[11-13]</sup>. 为此,本文采用微波辅助木瓜蛋白酶水解明胶制备小分子水解明胶,通过控制反应温度、反应时间、投料量比等参数,确定制备 PAS 的最佳工艺,再通过去污性能、泡沫性能、临界胶束浓度、表面张力对 PAS 的性能进行表征.

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

明胶,食品级,郑州丰康化工产品有限公司;木瓜蛋白酶,酶活  $6 \times 10^4$  U/g,南宁东恒华道生物科技有限责任公司;二乙醇胺,分析纯,天津市福晨化学试剂厂;油酸,分析纯,上海化学试剂厂;月桂酸,化学纯,上海化学试剂厂;硬脂酸,化学纯,上海清明化工厂;浓硫酸,分析纯,天津市江天化工技术有限公司.

SYP 型智能玻璃恒温水浴锅,巩义市予华仪器有限公司;PT0D20TP-C6 型微波炉,格兰仕微波炉电器有限公司;DZKW-D-2 型电热恒温水浴锅,北京市永光明医疗器械有限公司;DF-1013 型集热式恒温加热磁力搅拌器,山东鄄城华鲁电热仪器有限公司;K100MK3 型全自动表面张力仪,德国 Kruss 公司;白度计,杭州大吉光电仪器有限公司.

### 1.2 实验方法

实验研究的制备路线如图 1 所示,主反应方程式(以月桂酸为例)见图 2.

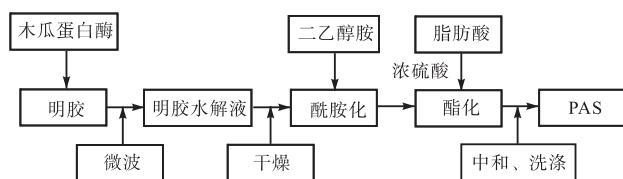


图 1 制备路线

Fig. 1 Synthetic route

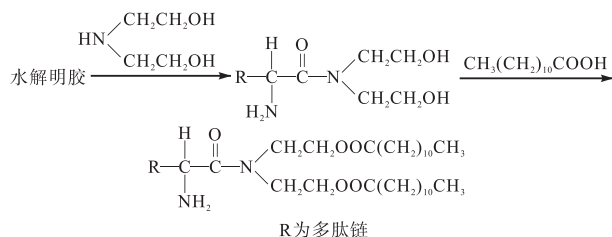


图 2 主反应方程式

Fig. 2 Main reaction equation

在脂肪酸与羟基反应的同时,并未屏蔽多肽链的氨基,脂肪酸很有可能与多肽链氨基形成酰胺结构,导致副反应的发生.

#### 1.2.1 水解明胶的制备

不同温度(50、55、60、65 °C)下明胶水解液的制备:称取 10 g 明胶,用 250 mL 的蒸馏水完全溶解.加入 0.5 g 的木瓜蛋白酶,微波功率 280 W,分别于 5、10、15、20、30、40、60、90、120 min 取样,测定其水解度,用 100 °C 的水浴灭酶 5 ~ 10 min.

不同微波功率下明胶水解液的制备:称取 10 g 明胶,用 250 mL 的蒸馏水完全溶解.加入 0.5 g 的木瓜蛋白酶,进行微波辐射.微波功率过高易因热效应明显而使酶失活;功率过低,微波对酶水解的促进作用不显著.因此探究微波功率 119、200、280、360、462 W 对明胶水解液制备的影响.以 119 W 为例,间歇辐射,使温度控制在  $(55 \pm 1)$  °C,间隔 1 min 取样,测定其水解度,最后加热至 100 °C 灭酶 5 ~ 10 min.

#### 1.2.2 多肽酰胺表面活性剂的制备

将二乙醇胺加入到四口烧瓶中,开启搅拌、加热,使二乙醇胺升温到 100 °C.然后逐步加入干燥后的水解明胶,体系温度升至一定温度,进行反应.反应一定时间后逐步加入脂肪酸,以浓硫酸为催化剂,控制在相同的温度下反应,使酯化反应朝着正反应方向进行.整个反应过程中充入氮气进行保护.

#### 1.2.3 分析方法

由于反应过程中有水生成,故本文通过酰胺化和酯化反应过程中生成的水的体积(量取分水器中生成的水),再经过物料守恒计算出酰胺化反应和酯化反应的产率.

## 1.3 性能测试

### 1.3.1 去污力测定

根据 GB/T 13174—2008《衣料用洗涤剂去污力及循环洗涤性能的测定》测定产品白度值,按式(1)计算其去污力(R).测试在 25 °C 下进行,以蒸馏水作

空白,以市面上常用肥皂作为对照样品。

$$R = \frac{\text{污染布洗涤后的白度} - \text{污染布的白度}}{\text{白的确良的白度} - \text{污染布的白度}} \times 100\% \quad (1)$$

### 1.3.2 起泡力测定

将产品配制成相同浓度的溶液,量取15 mL待测液置于50 mL的具塞量筒中,上下振荡具塞量筒20次,振荡幅度保持一致,记录溶液泡沫到达的高度<sup>[14]</sup>。

### 1.3.3 表面张力及临界胶束浓度测定

根据 GB/T 22237—2008《表面活性剂·表面张力的测定》和 GB/T 11276—2007《表面活性剂·临界胶束浓度的测定》测定产品的表面张力及临界胶束浓度。将产物配制成一系列不同浓度的溶液,利用全自动表面张力仪测定不同浓度的溶液的表面张力,并据此计算产物的临界胶束浓度(CMC)和临界胶束浓度下的表面张力( $\gamma_{\text{cmc}}$ )。测试在25℃进行,以蒸馏水作为空白。

## 2 结果与讨论

### 2.1 水解明胶的制备

在本实验条件下采用木瓜蛋白酶可以有效地制得水解明胶,不同温度、不同微波功率下的明胶水解度如图3、4所示。

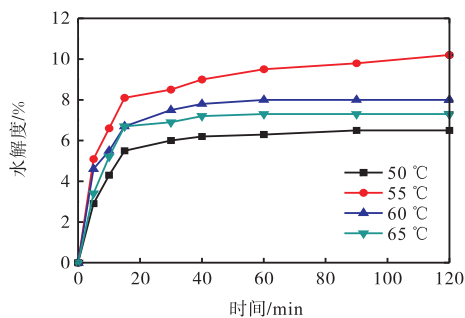


图3 不同温度下水解时间与水解度的关系

Fig. 3 Relationship between reaction time and the degree of hydrolysis at different temperature

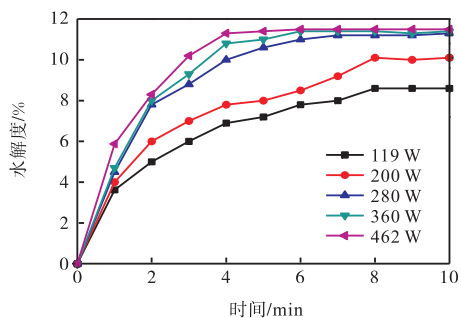


图4 不同微波功率下水解时间与水解度的关系

Fig. 4 Relationship between reaction time and the degree of hydrolysis with different microwave power

从图3可见:温度在55℃时出现最大水解度。这是因为低温时体系黏度较大,高温时酶的反应活性逐渐丧失。从图4可见:功率越高,明胶水解速率越快。微波酶解功率为280 W时,水解时间为7 min,此时明胶分子的水解度为11.0%,采用黏度法<sup>[15]</sup>测定其相对分子质量为2 000~6 000。结果表明:用微波辐射7 min水解度就达到了不用微波辐射下反应1 h的水解度,其水解速率是普通酶水解的8倍以上。明胶在水解的过程中,暴露出大量的活性基团,这不仅使水解明胶具有良好的水溶性,而且为其疏水基团提供了所需作用的位点,进而为PAS的制备建立了必要前提。

### 2.2 投料量比对PAS性能的影响

#### 2.2.1 投料量比对去污性能的影响

在反应时间5 h、反应温度145℃、脂肪酸选用月桂酸的条件下,改变投料量比( $m$ (二乙醇胺): $m$ (水解明胶): $m$ (月桂酸))制备PAS,其去污性能结果见表1。

表1 不同投料量比制备的PAS去污力的比较

Tab. 1 Comparison of PAS decontamination with different raw material ratio

样品	白度/%			去污力/%
	白的确良	污染后	清洗后	
1#	83.02	41.01	62.47	51.08
2#	82.58	36.96	63.44	58.04
3#	81.53	42.74	62.14	50.01
肥皂	80.55	41.53	62.73	54.33
蒸馏水	81.68	38.83	43.08	9.92

注:1#、2#、3#投料量比分别为1:3:1、1:4:1和1:4:2。

根据相似相溶原理,清洗时利用油相物溶解油溶性的脂垢,水相物溶解水溶性的污垢,游离态表面活性剂具有润湿、分散、发泡、去污、乳化等作用,协同油相物与水相物共同除去皮肤的汗渍、油垢、皮屑等,保持皮肤的卫生健康。对于非离子表面活性剂来说,只有当浓度达到CMC以上时,从固体表面去污的作用才明显显现,而只有在浓度高于CMC数倍时,才能达到最佳的去污效果。 $m$ (二乙醇胺): $m$ (水解明胶): $m$ (月桂酸)分别为1:3:1、1:4:1和1:4:2时的CMC值分别为1.07、0.58、1.25 g/L, $m$ (二乙醇胺): $m$ (水解明胶): $m$ (月桂酸)为1:4:1条件下的CMC值最低,去污效果最好。

#### 2.2.2 投料量比对泡沫性能的影响

在反应时间5 h、反应温度145℃、脂肪酸选用月桂酸的条件下,改变投料量比( $m$ (二乙醇胺): $m$ (水解明胶): $m$ (月桂酸))制备PAS,其泡沫性能结

果如图 5 所示. 泡沫是一种热力学上的不稳定体系, 评价泡沫性能一般从两个方面考虑, 即起泡性和稳定性. 起泡性是指泡沫形成的难易程度和生成泡沫的多少; 而稳定性是指生成泡沫的持久性, 即消泡的难易程度, 表示泡沫存在“寿命”的长短. 由图 5 可以看出: 水解明胶用量对起泡力有一定的影响. 当水解明胶用量较大时, 得到的 PAS 的起泡力较大, 但变化不大. 这是因为起泡力与 PAS 的表面张力有关, 低表面张力有利于泡沫的生成, 生成相同总面积的泡沫, 可以少做功<sup>[16]</sup>.

综合考虑,  $m(\text{二乙醇胺}) : m(\text{水解明胶}) : m(\text{月桂酸}) = 1 : 4 : 1$  较为适宜.

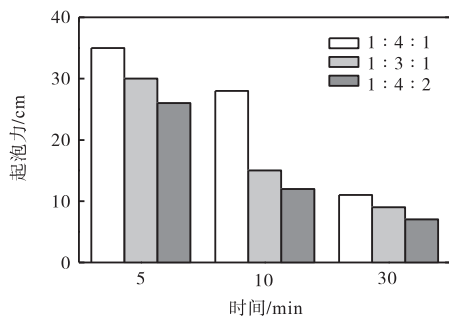


图 5 不同投料量比制备 PAS 的起泡效果

Fig. 5 Foaming ability of PAS with different raw material ratio

### 2.3 脂肪酸类型对 PAS 性能的影响

#### 2.3.1 脂肪酸类型对去污性能的影响

保持投料量为  $m(\text{二乙醇胺}) : m(\text{水解明胶}) : m(\text{脂肪酸}) = 1 : 4 : 1$  不变, 反应时间 5 h, 反应温度 145 °C, 探讨不同脂肪酸对去污性能的影响, 结果见表 2.

表 2 不同脂肪酸类型制备的 PAS 的去污力的比较

Tab. 2 Comparison of PAS decontamination with different fatty acids

样品	白度/%			去污力/%
	白的确良	污染后	清洗后	
4#	83.25	41.95	66.13	58.55
5#	81.53	42.74	62.14	50.01
6#	81.97	40.88	50.61	23.68
肥皂	82.64	42.09	63.65	53.17
蒸馏水	83.02	37.84	42.01	9.23

注: 4#、5#、6# 的脂肪酸分别为月桂酸、油酸和硬脂酸.

表面活性剂的洗涤能力随疏水链增长而增加, 同时, 表面活性剂亲水基的属性对去污能力也有很大影响. 碳链被包围会影响吸附的定向排列, 从而影响洗涤效果. 因此, 欲配制免洗型皮肤清洗剂, 就不能选择亲油基过长的表面活性剂. 在相同条件下, 以月桂

酸为原料制备的 PAS 的去污力达到 58.55%, 可应用于免洗型皮肤清洗剂的研制.

#### 2.3.2 脂肪酸类型对泡沫性能的影响

保持投料量为  $m(\text{二乙醇胺}) : m(\text{水解明胶}) : m(\text{脂肪酸}) = 1 : 4 : 1$  不变, 反应时间 5 h, 反应温度 145 °C, 探讨不同脂肪酸对泡沫性能的影响, 结果如图 6 所示.

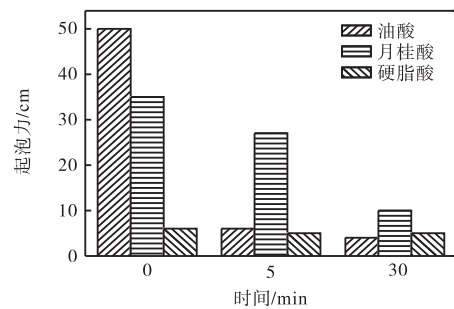


图 6 不同脂肪酸制备的 PAS 的起泡效果

Fig. 6 Foaming ability of PAS with different fatty acids

表面活性剂随着疏水基长度增加, 其分子间的内聚力可使液膜弹性及强度增加, 起泡性降低, 稳泡性增强<sup>[17]</sup>; 疏水链过长, 则表面活性剂的水溶性下降, 膜强度虽然增加, 由于形成固态膜, 从而造成膜弹性降低, 易于破泡. 所以, 通常表面活性剂都存在最佳稳泡链长. 由图 6 可以看出: 脂肪酸为月桂酸制备的 PAS 的起泡性能最好. 月桂酸为碳十二酸, 属于饱和脂肪酸, 且对皮肤刺激性小. 综合考虑, 选择月桂酸制备 PAS.

#### 2.4 反应时间对去污性能的影响

保持  $m(\text{二乙醇胺}) : m(\text{水解明胶}) : m(\text{月桂酸}) = 1 : 4 : 1$  不变, 反应温度 145 °C, 考察不同的总反应时间对去污性能的影响, 结果见表 3.

表 3 不同反应时间制备的 PAS 的去污力的比较

Tab. 3 Comparison of PAS decontamination with different reaction time

样品	白度/%			去污力/%
	白的确良	污染后	清洗后	
7#	80.94	39.48	59.57	48.46
8#	81.53	42.74	64.14	55.17
9#	83.10	41.88	64.56	55.02
肥皂	82.91	42.93	64.69	54.43
蒸馏水	83.02	37.84	42.03	9.27

注: 7#、8#、9# 反应时间分别为 4、5、6 h.

由表 3 可以看出: 反应时间对产品的去污效果有一定的影响, 在确定的时间内反应加速正向进行. 反应时间少于 5 h 时, 反应不完全, 产品去污效果较差; 当反应时间高于 5 h 时, 产品的去污力不再发生较大

变化.当反应时间为5 h时,产品的去污力为 55.17%,比市面上畅销的肥皂的去污效果要好,故选定反应时间为 5 h.

## 2.5 反应温度对去污性能的影响

由于温度过低不能保证反应的正向进行,温度过高会导致碳化,因此保持  $m(\text{二乙醇胺}) : m(\text{水解明胶}) : m(\text{月桂酸}) = 1 : 4 : 1$  不变,反应时间 5 h,改变反应温度制备 PAS,考察反应温度对去污性能的影响,结果见表 4.

表 4 不同反应温度制备的 PAS 的去污力的比较

Tab. 4 Comparison of PAS decontamination at different reaction temperature

样品	白度/%			去污力/%
	白的确良	污染后	清洗后	
10#	83.32	40.37	60.45	46.75
11#	82.58	36.96	63.44	58.04
12#	83.00	40.83	63.86	54.61
肥皂	82.91	42.93	63.94	52.55
蒸馏水	82.52	37.84	42.01	9.33

注: 10#、11#、12#反应温度分别为 140、145、150 °C.

表 5 合成产物(PAS)和雷米邦(LMP)的基本特性和表面性能的比较

Tab. 5 Comparison of basic properties and surface properties of PAS and LMP

样品	颜色	pH	去污力/%	起泡力/cm	CMC/(g·L <sup>-1</sup> )	$\gamma_{\text{cmc}}/(\text{mN}\cdot\text{m}^{-1})$
PAS	土黄色	6~8	55.17~58.55	35~50	0.58	30.66
LMP	棕褐色	9~10	50.16~55.37	40~50	1.14	38.75

## 2.7 FTIR 谱图分析

最优工艺条件下制备的 PAS 的 FTIR 谱图如图 7 所示.

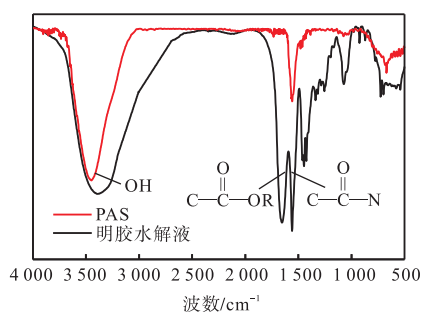


图 7 FTIR 谱图

Fig. 7 FTIR spectrum

PAS 在  $1680\text{ cm}^{-1}$  处存在酰胺基的吸收峰,且其强度比明胶水解液大,说明有酰胺键的生成,证明酰胺化反应向正反应方向进行.在  $1725\text{ cm}^{-1}$  处为酯基的吸收峰,且吸收峰较强,说明发生了酯化反应.

由表 4 可以看出:随着温度的增加,去污力有极大值.温度低于  $145\text{ °C}$ ,反应不完全,产品去污效果较差;当温度高于  $145\text{ °C}$  时,可能是因为分子间的碰撞加剧,特别是脂肪酸很有可能与多肽链氨基形成酰胺结构,导致副反应的生成,去污力下降,但下降幅度较小.同时在此温度下产品逐渐变黑,影响产品的使用效果.反应温度为  $145\text{ °C}$  时,反应完全,产品的去污效果最好.综合考虑,选择  $145\text{ °C}$  作为制备 PAS 的最佳反应温度.

## 2.6 最优工艺下制备 PAS 的性能及转化率

采用最优工艺制备 PAS,其基本特性和表面性能见表 5.可以看出:制备得到的多肽酰胺表面活性剂(PAS)与雷米邦(LMP)相比,PAS 的 pH 更接近皮肤的 pH,对皮肤的刺激性小,性能更加温和;PAS 较 LMP 相比具有更低的临界胶束浓度,在此浓度下 PAS 的表面张力更低,表明 PAS 的表面性能优于 LMP.

经过测量,在最优的反应工艺条件下,酰胺化反应的转化率为  $86.37\%$ ,酯化反应的转化率为  $83.69\%$ .

## 3 结论

采用微波辅助木瓜蛋白酶水解大分子明胶得到小分子水解明胶,再与二乙醇胺、脂肪酸制备多肽酰胺表面活性剂,制备多肽酰胺表面活性剂的最佳条件为水解温度  $55\text{ °C}$ 、微波酶解功率  $280\text{ W}$ 、水解时间  $7\text{ min}$ ,该条件下水解度为  $11\%$  左右,其水解速率是普通酶水解的 8 倍以上;在  $m(\text{二乙醇胺}) : m(\text{水解明胶}) : m(\text{月桂酸}) = 1 : 4 : 1$ 、反应温度  $145\text{ °C}$ 、反应时间  $5\text{ h}$  的条件下,PAS 的去污效果最好,泡沫性能最优,PAS 的临界胶束浓度为  $0.58\text{ g/L}$ ,在此浓度下表面张力为  $30.66\text{ mN/m}$ ,具有良好的表面性能,可应用于免水洗皮肤清洗剂的研制.

## 参考文献:

- [1] 齐宗伦,谭明胜,石胜尧,等.皮肤清洗剂的研制[J].人民军医,1985(7):28-31.

(下转第 62 页)