

# 兔毛角蛋白的制备及其在防晒化妆品中的应用

张毅, 张睿, 张昊\*, 黎淑婷

天津工业大学纺织学部 先进纺织复合材料教育部重点实验室, 天津 300387

**摘要:** 以丰富廉价的兔毛为原料, 采用物理法提取兔毛角蛋白, 将提取物作为应用于紫外防护保健品中的一种天然防晒素材。采用粒径分析, 拉曼光谱、X 射线衍射、氮元素及蛋白质含量测定、氨基酸含量分析、SDS-PAGE 凝胶电泳对提取角蛋白进行了定性及定量分析研究。分析结果表明, 提取角蛋白含量为 89%~91%; 粒径中值为 100.99 nm, 颗粒小, 分布均匀; 分子量较小, 为 10~20 KDa; 物理法提取的角蛋白二级结构发生转变, 有一定的  $\beta$ -折叠转变为  $\alpha$ -螺旋结构。紫外吸收测试结果表明以兔毛角蛋白为主要原料自制的天然防晒霜吸收紫外线性能较强且吸光度随配方中兔毛角蛋白含量的增加而提高, 将其作为一种紫外防护功能添加剂应用于化妆品领域前景良好。兔毛角蛋白中含有丰富的芳香族氨基酸可能是其具有良好紫外吸收性能的主要原因。

**关键词:** 兔毛; 角蛋白; 提取; 紫外吸收; 防晒化妆品

中图分类号: TQ936.21+5

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.1.021

## Preparation of Rabbit Hair Keratin and Its Application in Sunscreen Cosmetics

ZHANG Yi, ZHANG Rui, ZHANG Hao\*, LI Shu-ting

*College of Textile; Key Laboratory of Advanced Textile Composites of Ministry of Education, Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300387, China*

**Abstract:** Abundant and cheap rabbit hair was used as raw material to extract rabbit hair keratin using physical method. The extracted rabbit hair keratin was used as a natural sunscreen material and was applied to UV protective health care products. The qualitative and quantitative analysis of extracted keratin was carried out by particle size analysis, Raman spectra (RAM), X-ray diffraction (XRD), nitrogen and protein content, amino acid content analysis and SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). The results showed that the content of extracted keratin was 89%-91%, the median diameter was 100.99 nm, the particles were small and the distribution was uniform, the molecular weight was 10-20 KDa; the secondary structure of keratin extracted by physical method was changed, there was a certain  $\beta$ -sheet into  $\alpha$ -helix structure. UV absorption test results showed that the natural sunscreen with rabbit hair keratin as the main raw material to absorb ultraviolet light strong and absorbance with the formula in the rabbit hair keratin content increased, as a UV protective additive used in cosmetics field have a good prospect. Rabbit hair keratin is rich in aromatic amino acids may be a good reason for its excellent UV absorption.

**Key words:** rabbit hair; keratin; extraction; UV absorption; sunscreen cosmetics

长期的科学研究证明, 紫外线能改变单个细胞组分的结构或功能, 大量的紫外线对细胞的辐射, 可使该细胞丧失与周围细胞的沟通力或共同凋亡<sup>[1]</sup>。我们在生活中不时会受到过量的紫外线伤害, 这将加速皮肤晒伤及老化, 进而增加患皮肤癌的几率<sup>[2]</sup>。因此防晒用品自然成为户外不可或缺的一项保养品。由于现今市场上合成的防晒用品对皮肤

大多较易产生不良的影响, 所以寻求天然抗紫外线材料已成为未来的趋势。

天然蛋白质资源回收利用的研究开发是近年来国内外科技工作者的研究热点, 角蛋白是外胚层细胞的结构蛋白, 是不能直接为畜禽吸收利用的硬蛋白, 主要存在于动物的毛发、羽毛和蹄中, 资源非常丰富<sup>[3,4]</sup>, 兔毛纤维主要由角蛋白构成, 蛋白质含量极高<sup>[5,6]</sup>。目前从动物纤维中角蛋白的提取方法主要有: 物理法、氧化法、还原法、金属盐法、铜氨溶液法等<sup>[7,8]</sup>。兔毛纤维由角质化的扁平状角蛋白细胞组成<sup>[9]</sup>, 因此如何从兔毛纤维中提取蛋白, 并充分

收稿日期: 2017-07-06 接受日期: 2017-10-30

基金项目: 农业部财政部国家兔产业技术体系建设专项 (CARS-44-D-2); 国家自然科学基金 (5150030497)

\* 通信作者 E-mail: zhanghaoyangyong@163.com

利用天然蛋白质纤维的优良性能使其服务于人类生活的其它方面,成为最近热门的研究课题<sup>[10]</sup>。角蛋白因含有芳香族氨基酸而对紫外光具有良好的吸收性能,近年来已有关于提取人发蛋白及丝胶蛋白用于紫外防护产品研究<sup>[11,12]</sup>,日本已研发出以丝胶为主要添加剂的防晒霜,并已问世<sup>[13]</sup>。人发蛋白虽资源丰富,但是用现代检测技术检测头发可知,发中所含的金属元素多达 27 种以上,常见的有铝、钙、铁、硒、锌、铜、锰、氯、钴等<sup>[14]</sup>,直接应用在与人体相关的化妆产品上存在安全隐患。丝胶蛋白质的回收虽然可以废物利用,但回收的工序繁琐、成本高<sup>[15]</sup>。

兔毛纤维作为一种动物纤维,具有极高的蛋白质含量<sup>[16]</sup>,氨基酸种类齐全,且含有丰富的芳香族氨基酸。另外,兔毛蛋白具有良好的亲肤性、无毒性和吸附性,是实用价值很高的蛋白质资源<sup>[17]</sup>。尽管兔毛蛋白具有以上优点,其紫外防护性能以及兔毛角蛋白为主要成分的防晒产品方面的研究,在国内外却尚无报道。因此,本文以废弃兔毛为原料,采用物理法制备兔毛角蛋白,并对其理化性能包括粒径分布、角蛋白二级结构以及分子量分布等进行深入研究。同时首次以兔毛角蛋白为主要原料制备天然防晒霜,并测定其紫外吸收性能及防紫外效果,以期兔毛蛋白的综合利用及防晒保健品领域的应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

兔毛纤维(浙江嵊州);无水硫酸铜和硫酸钾(分析纯,天津市光复科技发展有限公司),硼酸、氢氧化钠、浓硫酸、盐酸(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司),溴化钾、三乙醇胺、硬脂酸单甘脂、高级脂肪醇、尼泊金甲酯,尼泊金丙酯(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。

### 1.2 仪器

高能纳米冲击磨机(秦皇岛市太极环纳米制品有限公司),FA2004 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),LA-300 激光散射粒度分布仪(日本 HORIBA 公司),inVia Reflex 拉曼光谱仪(英国 Renishaw 公司),D/max 2550V X 射线衍射仪(日本 Rigaku 公司),itachi L-8800 型氨基酸分析仪(日立公司),Vario EL cube 元素分析仪(德国 Elementar 公司),DYY-6C 电泳仪(北京六一仪器厂),UV2401PC 型紫外分光光度计(日本津岛公司)。

### 1.3 兔毛蛋白的提取

此次采用了物理法提取兔毛角蛋白,即通过物理手段,直接通过力学作用将兔毛纤维变为粉状,制备的兔毛蛋白纯度较高,且细度分布较为均匀,方法简单直接。物理法以其不添加任何杂质,并同时保留天然蛋白特性的优势而存在<sup>[18]</sup>。实验采用了高能纳米冲击磨机,可以将 10  $\mu\text{m}$  左右粒径物料粉碎成 10 ~ 500 nm 的粉末。将 2 g 兔毛与氧化锆小球按质量 1:15 放入纳米球磨仪(转速设定为 3000 rpm),连续工作 15 min,间歇 20 min,重复 4 遍,能得到 100 ~ 200 nm 级别白色兔毛蛋白粉末,样品如图 1。



图 1 物理法制备兔毛粉末

Fig. 1 Preparation of rabbit powder by physical method

### 1.4 结构和性能表征

#### 1.4.1 粒径分布测试

取少量兔毛蛋白于 10 mL 试管中,加入蒸馏水浸湿,并加入少量乙醇溶液作为分散剂,将试管放入超声分散器中,超声分散 15 min 并静置 30 min 后,用吸管吸取上层液体加入样品池中,所用光源为 650 nm 长寿命半导体激光器 5 mw,温度为 25  $^{\circ}\text{C}$ ,散射角为 90 $^{\circ}$ ,超声波装置为 15 W,28 KHZ,相关测量函数通过自动程序分析,平行测定 3 次,重现性好<sup>[22]</sup>。

#### 1.4.2 拉曼光谱(RAM)表征

使用拉曼光谱仪对兔毛纤维和兔毛蛋白进行拉曼光谱分析,测量前无需预处理,直接取少量兔毛蛋白及剪取少量兔毛纤维分别放于载玻片放入拉曼光谱仪激光器的聚焦支架,所用光源为氦氖激光器,激发波长为 632.8 nm,谱仪的分辨率设置为 3  $\text{cm}^{-1}$ ,波数范围 300 ~ 3600  $\text{cm}^{-1}$ ,选用 180 $^{\circ}$ 背散射配置,50 倍目镜,积分时间为 10  $\times$  3 ms,扫描后可获得该样品的拉曼光谱。

#### 1.4.3 X 射线衍射

采用 Rigaku D/max 2550V X 射线衍射仪进行图谱分析,直接取少量兔毛蛋白及剪取少量兔毛纤维

维分别放于载玻片放入凹槽中, CuK $\alpha$  靶, 观察所用管压 40 kV, 管流 30 mA, 发散狭缝 DS = 1°, 接受狭缝 RS = 0.3 mm, 散射狭缝 SS = 1°, 扫描速度 8(°)/min, 扫描范围 5° ~ 60°, 步宽 2 $\theta$  = 0.02°。

#### 1.4.4 兔毛蛋白的氮元素及蛋白质含量测定

分别采用元素分析法和凯氏定氮法来测定兔毛蛋白的氮元素及蛋白质含量<sup>[19,20]</sup>。在元素分析法中, 使用德国 elementar 公司的 VARIO MICRO cube 元素分析仪进行氮含量测定, 将兔毛蛋白及兔毛纤维放入不同燃烧反应管, 分别通入少量的纯氧助燃使其转化为各种可检测气体, 混合气体经过色谱分离柱进行分离, 再通过 TCD 热导检测器完成检测, 平行测定三次得到含氮量。

在凯氏定氮法中, 根据国家标准 GB 5009. 5-2010 中的方法对角蛋白的氮含量进行测定。分别量取 0.2 g 提取的兔毛蛋白置于凯氏烧瓶中, 加入 0.5 g 的硫酸铜和硫酸钾(质量比 3:1)混合物及 10 mL 浓硫酸, 加 4~5 颗玻璃珠, 酒精灯缓慢加热, 直至溶液溶解, 产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵。碱化蒸馏使氨游离, 用硼酸吸收后以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定, 平行测定三次。

$$\text{氮量}(\%) = \frac{c(V_2 - V_1) \times 0.014}{m} \times \frac{\text{煮解液总量}(mL)}{\text{反应时煮解液用量}(mL)} \times 100$$

表 1 防晒化妆品配方

Table 1 Sunscreen cosmetic formula

序号 Serial number	组分 Component	质量百分数 Mass fraction
A	蒸馏水 Distilled water	80.5/75.5/70.5
	三乙醇胺 Triethanolamine	1.8
B	尼泊金甲酯 Methyl paraben	0.2
	硬脂酸单甘脂 Stearic acid monoglyceride	12
	高级脂肪醇 Advanced fatty alcohol	0.4
	尼泊金丙酯 Nipasol	0.1
	兔毛蛋白 Rabbit hair	5/10/15

将自制的兔毛蛋白防晒霜与某品牌防晒霜(SPF50)分别配成 2.5 mg/mL 浓度溶液, 并使用紫外分光光度计测量吸光度(波长范围 200 ~ 320 nm, 吸光度范围 0 ~ 3)来比较配方的防紫外线能力。

样品 1: 某品牌防晒霜(SPF50), 样品 2: 配方中不含兔毛蛋白(空白样品), 样品 3: 配方中含 5% 兔

毛蛋白, 样品 4: 配方中含 10% 兔毛蛋白, 样品 5: 配方中含 15% 兔毛蛋白。

$$w(\text{角蛋白})/\% = N\% \times k$$

式中:  $k$  为换算系数, 毛发中取值为 6.25<sup>[23]</sup>。

#### 1.4.5 兔毛中氨基酸的成分及含量分析

准确称取 30 mg 兔毛纤维, 放在硬质玻璃水解管中, 加入 5 mL 5 mol/L 盐酸后抽至真空状态, 用酒精喷灯封住管口, 在 110 °C 烘箱中水解 24 h, 用 0.01 mol/L 盐酸将水解液转移蒸发皿中, 并于 80 °C 水浴中浓缩蒸干, 用 pH = 2.2 的柠檬酸缓存液稀释, 定容 10 mL。取 0.5 mL 样品置于 Hitachi L-8800 型氨基酸分析仪进行氨基酸成分及含量分析。

#### 1.4.6 电泳分析

采用 SDS-PAGE 凝胶电泳分析方法对兔毛蛋白的分子量进行测定, 分离胶: 质量分数 15% 的丙烯酰胺, 浓缩胶: 质量分数 5% 的丙烯酰胺, 兔毛蛋白加样量 10  $\mu$ L, 电压为 80 V, 用质量分数 0.25% 考马斯亮蓝 R-250 染色<sup>[24]</sup>。

### 1.5 防晒霜配方与紫外吸收性能测定

按照表 1 配方制备兔毛蛋白防晒霜。将 A、B 分别均匀搅拌, 置于 70 °C 加热并保温, 搅拌下将 A 倒入 B 中, 在 45 °C 下充分混合均匀即成成品。

毛蛋白, 样品 4: 配方中含 10% 兔毛蛋白, 样品 5: 配方中含 15% 兔毛蛋白。

## 2 结果与讨论

### 2.1 粒径分布测试分析

激光粒度测定法是基于富郎费衍射和 MIE 散

射的原理,结合现代计算机技术发展起来的快速测定方法。它通过测量颗粒群的空间频谱来分析其粒度分布<sup>[25]</sup>。纳米级别兔毛蛋白颗粒尺寸远小于紫外线的波长,其蛋白粒子可将作用于其上的紫外线向各个方向散射,从而减少照射方向的紫外线强度,这种散射紫外线的规律符合 Rayleigh 光散射定律:

$$\frac{I_s}{I_i} a \frac{d^6}{\lambda^6} \left| \frac{m^2 - 1}{m^2 + 1} \right|^2$$

$I_s$ :透过光强度,  $I_i$ :照射光强度,  $d$ :粒子粒径,  $\lambda$ :光的波长,  $m$ :相关折射指数

根据 Rayleigh 光散射定律,兔毛蛋白对不同波长紫外线的最大散射能力则存在一最佳粒径,取决于其原始粒径、二次粒径和颗粒形状<sup>[26,27]</sup>。纳米化妆品是采用纳米级原料,或应用纳米技术生产的化妆品。目前我国还没有严格的标准,但通常颗粒直径在 200 nm 以上就称为亚纳米,因此,化妆品中颗粒直径尺寸小于 200 nm 就可称为纳米级化妆品<sup>[28]</sup>。

兔毛蛋白的粒径分布曲线如图 2 所示。除了因团聚产生了粒径较大的团块外,产物粒径集中在 100 ~ 200 nm 之间,经相关测量函数通过自动程序分析得到:100 ~ 200 nm 粒径的颗粒占 54.2%,其中最小粒径为 5.122 nm,中值粒径为 100.9982 nm,粒径分布比较宽,分散比较均匀,说明其细度小,因此应用在化妆品中既能增强对紫外线的散射作用,又易于皮肤毛孔将其分散吸收,避免了由于颗粒粒径大而堵塞毛孔的问题。

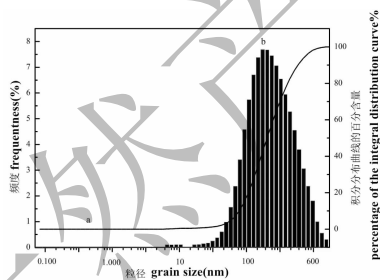


图 2 兔毛蛋白的粒径分布曲线

Fig. 2 Particle size distribution curve of rabbit hair protein

注:a-积分分布曲线的百分含量%;b-频度%

Note:a-The percentage of the integral distribution curve;b-Frequentness

## 2.2 RAM 分析

拉曼光谱属分子振动光谱,对于蛋白质等对称性较低的生物大分子变形振动十分敏感,故对蛋白质分子的结构认定十分有效,是研究蛋白质的二级结构的一种有效的工具<sup>[29]</sup>。拉曼光谱主要研究的酰胺 I 与酰胺 III 谱带<sup>[30]</sup>。目前谱峰指认比较成熟

的是:1640 ~ 1660  $\text{cm}^{-1}$  为  $\alpha$ -螺旋,1660 ~ 1680  $\text{cm}^{-1}$  为  $\beta$ -折叠和无规则卷曲(酰胺 I 带);1265 ~ 1310  $\text{cm}^{-1}$  为  $\alpha$ -螺旋,1230 ~ 1260  $\text{cm}^{-1}$  为  $\beta$ -折叠和无规则卷曲(酰胺 III 带)<sup>[31]</sup>。兔毛纤维的酰胺 I 与酰胺 III 带的散射峰分别位于 1645  $\text{cm}^{-1}$  与 1273  $\text{cm}^{-1}$  处,落于  $\alpha$ -螺旋的谱峰范围内(图 3)。相比之下,兔毛蛋白粉的酰胺 I 散射峰向高波数移动至 1665  $\text{cm}^{-1}$ ,而酰胺 III 峰则向低波数移动至 1240  $\text{cm}^{-1}$ ,落于  $\beta$ -折叠和无规则卷曲的特征范围。这说明经物理法提取后兔毛角蛋白的二级结构发生了经由  $\alpha$ -螺旋向  $\beta$ -折叠的变化。这可能是在物理法提取过程中,蛋白质大分子的分子间氢键受到一定程度的削弱,较难维持紧密且依赖氢键的  $\alpha$ -螺旋结构,故而向较为松散的  $\beta$ -折叠及无规则卷曲结构转变。

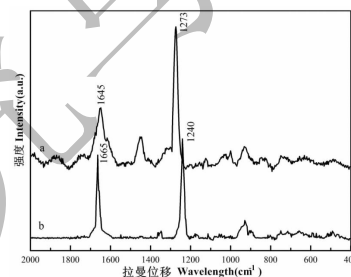


图 3 兔毛纤维和兔毛蛋白的拉曼光谱图

Fig. 3 Raman spectra of rabbit hair fibers and rabbit hair protein

注:a-兔毛纤维;b-兔毛蛋白

Note:a-rabbit hair fiber;b-rabbit hair protein

## 2.3 XRD 分析

图 4 显示兔毛纤维及兔毛蛋白粉 X 射线衍射(XRD)光谱,从图中可明显观察到兔毛纤维及兔毛蛋白粉均具有两种特征结晶结构。 $\alpha$ -螺旋结构所示峰值一般出现在  $2\theta = 9^\circ$  和  $17.8^\circ$ ,而  $\beta$ -折叠结构峰出现在  $2\theta = 9^\circ$  和  $19^\circ$ <sup>[32,33]</sup>。与兔毛纤维相比,可以看出兔毛蛋白粉  $17.8^\circ$  附近衍射强度减弱变小而在  $19.5^\circ$  左右峰值变大。此外,兔毛蛋白粉在  $2\theta = 22.5^\circ$ ,  $2\theta = 29^\circ$  附近还出现了新的衍射峰,对应无规则卷曲结构<sup>[34,35]</sup>。上述现象于 RAM 光谱观察到的结果向一致,即经物理法提取的兔毛角蛋白二级结构发生了由  $\alpha$ -螺旋向  $\beta$ -折叠及无规则卷曲的转变。这可能是由于提取过程使蛋白质大分子的分子间氢键作用减弱,使兔毛角蛋白原有的紧密有序的聚集态结构向更为疏松无序的结构转变。这种结构的转变对于提高兔毛蛋白在化妆品中的保湿性、与其它组分

的相容性及人体对其的吸收性能具有积极作用。

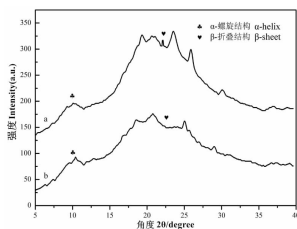


图4 兔毛纤维和兔毛蛋白的X射线衍射图

Fig. 4 X-ray diffraction of rabbit hair fibers and rabbit hair protein

注: a—兔毛蛋白; b—兔毛纤维

Note: a-rabbit hair protein; b-rabbit hair fiber

表2 兔毛纤维和兔毛蛋白的氮元素含量及蛋白质含量

Table 2 N content and protein content of rabbit hair fibers and rabbit hair proteins

测试样品 Test sample	凯氏定氮法 Kjeldahl method (%)	元素分析法 Elemental analysis (%)	蛋白质含量 Protein content (%)
兔毛纤维 Rabbit hair Fibers	14.37	14.64	89.81-91.05
兔毛蛋白 Rabbit hair proteins	14.61	15.31	88.68-91.31

表3 兔毛角蛋白中氨基酸的组成与含量结果

Table 3 Composition and content of amino acids in rabbit hair proteins

氨基酸 Amino acids	含量 Content
天冬氨酸 Asp	10.56
苏氨酸 Thr	2.15
丝氨酸 Ser	3.16
谷氨酸 Glu	14.25
甘氨酸 Gly	5.8
丙氨酸 Ala	5.32
胱氨酸 Cys	2.73
缬氨酸 Val	4.09
蛋氨酸 Met	3.23
异亮氨酸 Ile	3.42
亮氨酸 Leu	9.53
酪氨酸 Tyr	7.32
苯丙氨酸 Phe	5.59
赖氨酸 Lys	3.57
组氨酸 His	1.21
精氨酸 Arg	8.32
脯氨酸 Pro	5.21
色氨酸 Trp	4.67
芳香族氨基酸 Aromatic amino acid	17.58
总量 Total	91.13

## 2.4 蛋白质含量分析

分别利用凯氏定氮法和元素分析法对兔毛纤维和兔毛蛋白进行氮元素含量对比测定,与兔毛纤维的氮元素的含量对比发现,其含量较为接近。其结果如表2所示,从表中可以看出,经凯氏定氮法与元素分析法测得的兔毛纤维蛋白质含量在89%~91%之间,说明其蛋白质及氨基酸含量十分丰富。经物理法提取后的兔毛角蛋白含量变化不大,说明物理方法提取过程中不会引起兔毛角蛋白的破坏或损失。另外,凯氏定氮法和元素分析法的测定结果一致性较高,说明本文中对兔毛纤维及其提取物中角蛋白含量测定结果较为准确。

## 2.5 兔毛中氨基酸的成分及含量分析

由表3可知,兔毛中角蛋白由18种氨基酸组成,其中人体必需氨基酸(缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、色氨酸、苏氨酸及蛋氨酸)及半必需氨基酸(精氨酸和组氨酸)含量很高,总量为91.13%。其氨基酸含量丰富并且种类齐全,尤其是含有丰富的芳香族氨基酸,如酪氨酸、苯丙氨酸及色氨酸含量都较高,占17.58%。由于芳香族氨基酸侧基芳香环的共轭结构对紫外光具有较强的吸收,所以兔毛蛋白中较高的芳香族氨基酸含量,为其具有良好的紫外防护性能提供了有力的理论依据<sup>[36-38]</sup>。

## 2.6 SDS-PAGE 凝胶电泳分析

试验提取的兔毛蛋白的相对分子质量大小及分布如图5所示。由图5可知,兔毛蛋白的相对分子质量呈连续分布,主要集中在10~20 kDa,分子量相对较小,易于被人体表皮吸收。此外,本文制备的兔毛角蛋白分子量分布范围较窄,亦说明其具有较高的纯度,适于作为防晒化妆品中的主要成分使用。

## 2.7 以兔毛角蛋白为主要成分的防晒霜配方防紫外线性能分析

本文通过测定不同配方在紫外光波长200~320 nm下的吸光值<sup>[39]</sup>,来检测其紫外吸收能力,结果如图6。

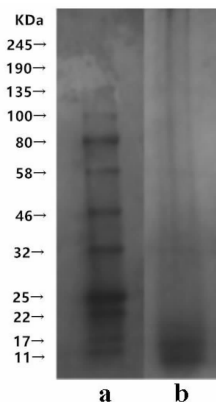


图5 兔毛蛋白 SDS-PAGE 凝胶电泳谱图

Fig. 5 SDS-PAGE pattern of rabbit hair protein

注: a—Marker; b—兔毛蛋白

Note: a—Marker; b—rabbit hair protein

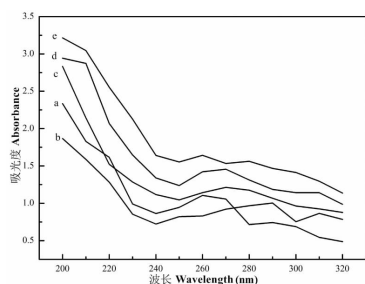


图6 5种防晒霜的吸光能力比较图

Fig. 6 Comparison of absorbance ability of 5 sunscreens

注: a—某品牌防晒霜; b—添加0%兔毛蛋白; c—添加5%兔毛蛋白; d—添加10%兔毛蛋白; e—添加15%兔毛蛋白

Note: a—A brand sunscreen; b—Add 0% rabbit hair protein; c—Add 5% rabbit hair protein; d—Add 10% rabbit hair protein; e—Add 15% rabbit hair protein

未加入兔毛蛋白的防晒霜基体紫外吸收较低,而含有5%、10%、15%的兔毛蛋白的防晒霜基体紫外吸光度值明显高于相比于某品牌防晒霜(SPF50),说明加入兔毛蛋白的防晒霜样品具有较好的紫外吸收作用,而含有5%、10%、15%的兔毛蛋白的紫外吸光度值依次递增,说明伴随着兔毛蛋白含量的增加,其紫外线吸收的能力就越强,因此防晒效果也越好。可以看出在添加了兔毛蛋白后的防晒霜在屏蔽紫外线时起了很大的作用,说明兔毛蛋白在化妆品具有很好地防晒效果。

兔毛蛋白属于优质角蛋白,其氨基酸含量丰富并且种类齐全,尤其是含有丰富的芳香族氨基酸,如酪氨酸、苯丙氨酸及色氨酸。这些芳香族氨基酸含有苯环、吡咯环或咪唑环等结构,其双键中 $\pi$ 轨道

的电子吸收紫外线后产生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃移,从而产生紫外吸收,而双键之间的共轭效应又会使紫外吸收强度极大增强。这是兔毛角蛋白具有防晒能力的主要原因。

此外,兔毛角蛋白中含有不饱和键( $C=O$ ,  $C=N$ 等)的非芳香族氨基酸如组氨酸、精氨酸、门冬氨酸等侧基中的孤对电子受紫外光照射后产生 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁,可能是兔毛角蛋白产生紫外吸收的第二种方式。正由于上述两个主要原因,使兔毛角蛋白对紫外光具有很强的吸收性,从而体现出其良好的防晒功能。同时兔毛蛋白亦含有很多氨基、羟基等亲水基团,这些特性使兔毛角蛋白在日用化妆品领域具有良好的应用前景。用物理法提取的兔毛蛋白粉粒径小,颗粒多,同时因其结构的特性,阻挡吸收紫外线的几率就大大增加,因此可以推测,兔毛蛋白除具备吸收紫外线的功能外,还具有较强地散射紫外线的能力。

### 3 结论

采用物理法提取角蛋白,经凯氏定氮法和元素分析法测定角蛋白提取物的氮含量为14%~15%,蛋白质含量为89%~91%。粒度分析、拉曼光谱、X射线衍射、氨基酸分析及SDS-PAGE电泳分析结构表明,经物理法提取的角蛋白粒径中值为100.99 nm,粒度较小,分布均匀;兔毛角蛋白的二级结构发生了经由 $\alpha$ -螺旋向 $\beta$ -折叠的变化;兔毛蛋白中较高的芳香族氨基酸含量,如酪氨酸、苯丙氨酸及色氨酸含量都较高,占17.58%;提取出的兔毛蛋白的分子量分布在10~20 kDa之间。以兔毛角蛋白为主要成分,硬脂酸单甘脂、高级脂肪醇、三乙醇胺、尼泊金酯为辅料的自制天然防晒霜,其紫外吸收效果明显好于市售SPF50防晒霜,且随配方中角蛋白含量增加,防晒效果逐渐增强。本文的研究,为兔毛蛋白的综合利用及防晒保健品领域的应用提供新的思路。

### 参考文献

- Zhang DY (张殿义). Mechanism and protection of UV on skin[J]. *Deterg Cosmet* (日用化学品科学), 2007, 30(5): 20-22.
- Jurkiewicz BA, Buettner GR. EPR detection of free radicals in UV-irradiated skin; mouse versus human[J]. *Photochem Photobiol*, 1996, 64: 918-922.
- Zhong HS (钟洪枢), Guan JS (关基石). *Biochemistry* [M]. Beijing: Higher Education Press, 1988: 52-82.

- 4 Li XY (李翔宇). The study of feather keratin regeneration and the property of keratin fiber[D]. Wuxi: Donghua University (东华大学), PhD. 2013.
- 5 Yang ST (杨锁廷). Review: The structure and properties of rabbit hair[J]. *China Fiber Inspection* (中国纤检), 1991, 6:18-22.
- 6 Li HQ (李辉芹), Gong JX (巩继贤), Zhang Y (张毅). Comprehensive utilization of protein fiber and perspective of the application of rabbit hair[J]. *Wool Textile J* (毛纺科技), 2010, 38(8):61-64.
- 7 Zhao XY (赵笑宇), Wang HR (王鸿儒). Research progress of keratin materials[J]. *Plastics Sci Technol* (塑料科技), 2016, 44(2):84-87.
- 8 Wang JB (王江波), Liu JY (刘建勇), Wang J (王洁), et al. Extraction of wool keratin[J]. *Wool Textile J* (毛纺科技), 2012, 40(4):44-47.
- 9 Wang XQ (王晓清). Study on the structure and absorption characteristics of rabbit fibers[D]. Tianjin: Tianjin Polytechnic University (天津工业大学), PhD. 2011.
- 10 Li WX (李闻欣). Study on the degradation and utilization of waste wool and pork[D]. Xi'an: Shaanxi Normal University (陕西师范大学), PhD. 2008.
- 11 Zhang L (张林), Zhu P (朱平), Kong XR (孔祥茹), et al. Anti-ultraviolet finishing of human hair protein solution to oxidized cotton fabric[J]. *Cotton Textile Technol* (棉纺织技术), 2015, 43(9):5-8.
- 12 Zhang L (张林), Xui SY (隋淑英), Zhu P (朱平), et al. Preparation of human hair keratin solution and its application in UV protection[J]. *J Beijing Instit Clothing Technol* (北京服装学院学报), 2016, 36(3):53-57.
- 13 Sheng JY, Lin H, Wang L, et al. Study on the microstructure and physical and chemical properties of soluble sericin[J]. *Silk*, 2000, 6:6-9.
- 14 Suo YR (索有瑞). Determination of trace elements in hair and its application in environmental pollution assessment [J]. *Qinghai Environment* (青海环境), 1993, 3(1):46-47.
- 15 Chen FS (陈复生), Ye CJ (叶崇军), Wei ZJ (魏兆军). Ultraviolet absorption of the natural sericin silkworm strain [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2013, 25:388-390.
- 16 Chen Y (陈莹), Wang YX (王宇新). Keratin and its extraction[J]. *Material Rev* (材料导报), 2002, 16(12):64-67.
- 17 Liu J (刘娟), Zhu RY (朱若英), He Y (何亚), et al. Decolorization performance of rabbit hair keratin on dyes[J]. *Wool Textile J* (毛纺科技), 2012, 40(11):41-44.
- 18 Yang WZ (杨卫珍). Preparation of rabbit hair protein and its application in soil remediation[D]. Tianjin: Tianjin Polytechnic University (天津工业大学), PhD. 2015.
- 19 Cheng YT (程燕婷). Preparation of wool keratin powders and characterization of its structure and properties[J]. *Synthetic Fiber China* (合成纤维), 2016, 5:35-37.
- 20 Zhong HM (钟虹敏), Zhang H (张华), Sun YM (孙玉明). Determination of protein content in powder food based on organic elemental analysis[J]. *J Food Safety Quality* (食品安全质量检测学报), 2013, 1:235-238.
- 21 Li XY (李晓艳). Simply explain the points for attention of determining the protein[J]. *Metro Measure Tech* (计量与测试技术), 2008, 35(8):74.
- 22 Liu SQ (刘世琪), Wu DZ (吴大章), Xiao LE (肖礼娥), et al. Nitrogen measurement in infantile zhili syrup by Kjeldahl method[J]. *Mod Med Health* (现代医药卫生), 2009, 25:188-189.
- 23 Li ST (黎淑婷), Zhang Y (张毅), Zhang H (张昊), et al. Keratin extracted from rabbit hair using L-cystein as reductive agent[J]. *Fine Chem* (精细化工), 2017, 34:954-960.
- 24 Xu HX (徐恒星). Extraction of wool keratin and its application[D]. Wuxi: Donghua University (东华大学), PhD. 2011.
- 25 Shi FJ (史富娟), Yang JL (杨俊玲). Preparation and structure characterization of control-released fragrant PVA microcapsules[J]. *J Textile Res* (纺织学报), 2011, 32(3):86-90.
- 26 Ran J (冉璟), Zhang P (张萍). Capability to shield ultraviolet radiation and preparation method of nano-composite powder of TiO<sub>2</sub>/ZnO[J]. *Sichuan Nonferrous Metals* (四川有色金属), 2005, 3:29-32.
- 27 Yao C (姚超), Wu FQ (吴凤芹), Lin XP (林西平), et al. Application of nanosize zinc oxide in sunscreen cosmetics [J]. *China Surfactant Deterg Cosmet* (日用化学工业), 2003, 33:393-397.
- 28 Chen WG (陈文革), Duan XM (段希萌). Research and development of nano-cosmetics[J]. *China Powder Sci Technol* (中国粉体技术), 2007, 13(6):41-44.
- 29 Deng XW (邓湘文), Yin GQ (尹国强), Zhang BN (张步宁), et al. Preparation and property of compression-molding feather keratin films [J]. *New Chem Mater* (化工新型材料), 2015, 43(8):60-62.
- 30 Zhou W (周文), Chen X (陈新), Shao ZZ (邵正中). Conformation studies of silk proteins with infrared and raman spectroscopy[J]. *Progr Chem* (化学进展), 2006, 18:1514-1522.