

·快 报·

蚕丝中蛋白构象含量与其力学性质间的关系*

霍波 翟勇 崔福斋**

(清华大学材料科学与工程系 北京 100084)

关键词 构象, 强度, 弹性模量, 蚕丝

丝蛋白(Fibroin)是一种具有优异力学性能的天然有机高分子材料,蚕丝是最具代表性的一种.它既有较高的强度,又有较强的韧性,其强度甚至超过钢丝.但蚕丝具有如此优异力学性能的机理还不很清楚^[1-3].

通常认为在丝蛋白中有3种二级结构(构象),即 α -螺旋(α -helix), β -片层(β -sheet)和无规线团(Random coil)^[4,5]. α -螺旋是由链内氢键引起的蛋白结构,而 β -片层是由链间氢键引起的蛋白结构.但有研究表明^[3,6],丝蛋白中还存在另一种由4个氨基酸残基组成的发夹式结构: β -转角(β -turn).在蚕丝的4种构象中, β -片层的含量最高,这种高含量的 β -片层结构可能是引起其高强度和高弹性模量的主要原因^[7].Liivak^[8]对再生蚕丝的研究表明其最大应力和 β -片层结构的含量都随纤维直径的增加而增大,且有很好的相关性.但很少有人定量地联系天然蚕丝的 α -片层构象含量和力学性质,也没有人研究 α -螺旋构象的含量对其力学性质是否有影响.本文选择了家蚕、柞蚕和蓖麻蚕等3种蚕,用两种不同的方法对蚕茧丝进行脱丝胶处理,然后对得到的蚕茧丝和脱胶蚕丝测量其力学性质及蛋白构象含量,并观察其间的关系.

1 样品

选取家蚕(*Bombyx mori*),柞蚕(*Tussah*)和蓖麻蚕(*Eri-silkworm*)等3种蚕的蚕茧,从蚕茧中轻轻抽取茧丝,避免丝纤维产生塑性变形.此3种茧丝分别标记为B、T和E.另外,以上3种蚕茧分别经以下两种方法脱去丝胶,得到3种脱胶丝.

将家蚕和柞蚕的蚕茧置于0.5 wt%的 Na_2CO_3 溶液中煮0.5 h,溶液温度保持在98℃,然后在去

离子水中漂洗.重复以上过程,并将丝纤维在空气中干燥备用.得到的蚕丝标记为DB和DT.

将蓖麻蚕的蚕茧置于加入1.1 wt% CaCO_3 溶液和6.6 wt% SDS(Sodium dodecyl sulfate)溶液的去离子水中沸腾1.5 h,然后在去离子水中漂洗.再置于加入0.4 wt% CaCO_3 溶液的去离子水中沸腾约1 h,然后干燥备用.得到的蚕丝标记为DE.

2 分析测试

6种蚕丝分别包埋在牙托粉和牙托水(1:1比例混合)中,然后在室温下存放24 h固化.在磨抛机上沿蚕丝横截面方向对包埋的样品进行手工磨抛,最后在去离子水中超声清洗5 h.抛光的样品镀金膜后在CSM950扫描电镜(Opton公司,德国)上观察,并测量蚕丝的横截面面积.

利用单纤维拉伸强力仪(泰昌纺织仪器厂)测量了样品的拉伸载荷-伸长曲线,直至断裂,样品的拉伸速度为0.1 mm/s.每种蚕丝选择20个样品进行测试.实验室相对湿度约为50%,温度约为20~30℃.

每种蚕丝选取10个样品,在Magna-IR 750频谱仪上测量其红外光谱.利用曲线拟合程序,对酰胺I带(1600~1700 cm^{-1})的光谱数据进行计算分析,得到 α -螺旋, β -片层, β -转角和无规线团等4种蛋白构象的含量.酰胺I带上蛋白二级结构的特征吸收峰的指认参见文献[9]和[10].

3 结果与讨论

利用图像处理软件Photoshop测得6种蚕丝的横截面积(见表1).通常假设蚕丝为柱状^[11,12],从而可利用测得的横截面积去除载荷来计算应力值.样品伸长除以初始长度即可得到应变值,这样就将拉伸载荷-伸长曲线转换为拉伸应力-应变曲线.

* 2002-01-23 收稿,2002-02-04 修稿;国家科技部973项目(项目号 G1999064702);** 通讯联系人

图 1 是 6 种蚕丝的典型的应力-应变曲线. 柞蚕丝 T 和 DT, 蓖麻蚕丝 E 和 DE 的应力应变曲线明显包含弹性区, 塑性区及强化区等 3 个不同区域, 这是高分子材料的特征. 而在家蚕丝 B 和 DB 的应力应变曲线中则没有观察到塑性段. 丝纤维的弹性模量可由应力应变曲线的弹性段得到, 断裂应力及断裂应变也可以容易地从应力应变曲线上得到, 以上力学参数的平均值及标准方差列于表 1. 可以看出, 利用强碱溶液脱丝胶得到的家蚕

丝 DB 和柞蚕丝 DT 的强度和弹性模量显著降低, 其中家蚕丝的强度降低 32%, 弹性模量降低 27%; 柞蚕丝的强度降低 38%, 弹性模量降低甚至达 65%. 而利用中性溶液脱丝胶得到的蓖麻蚕丝 DE 的强度及弹性模量只稍有降低, 变化不大. 柞蚕丝脱胶后的可延伸性显著提高, 其断裂伸长比达到 29%, 比未脱胶前提高 61%. 而家蚕丝与蓖麻蚕丝的断裂应变在脱胶后稍有降低, 没有明显变化.

Table 1 The measured cross-section area and mechanical parameters of silk fibers

Silk	Area (μm^2)	Strength (MPa)	Elastic modulus (GPa)	Breakage strain
B	191 $\pm$ 36	477 $\pm$ 88	9.2 $\pm$ 2.8	0.14 $\pm$ 0.03
DB	85 $\pm$ 18	326 $\pm$ 72	6.7 $\pm$ 1.3	0.10 $\pm$ 0.03
T 1847 $\pm$ 97	412 $\pm$ 17	7.5 $\pm$ 0.7	0.18 $\pm$ 0.08	
DT	328 $\pm$ 42	255 $\pm$ 42	2.6 $\pm$ 0.9	0.29 $\pm$ 0.05
E	360 $\pm$ 66	434 $\pm$ 55	6.1 $\pm$ 1.6	0.25 $\pm$ 0.07
DE	170 $\pm$ 35	392 $\pm$ 96	5.5 $\pm$ 1.3	0.23 $\pm$ 0.05

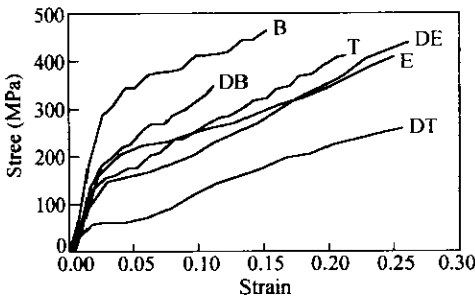


Fig. 1 The typical stress-strain curves of silk fibers

假设特征吸收峰服从高斯分布, 通过优化红外光谱中各个吸收峰下面的区域, 可以计算出蛋白构象的含量. 6 种蚕丝纤维的 α -螺旋, β -片层, β -转角和无规线团等 4 种构象含量的平均值及标准方差列于表 2. 值得注意的是, 对所有蚕丝, β -转角的含量都为 20% 左右. 这说明蚕丝中 β -转角结构不仅存在, 而且其含量似乎不受蚕丝种类及是否脱胶的影响.

对家蚕丝和柞蚕丝, β -片层及 α -螺旋结构的含量在脱胶后显著降低, α -螺旋结构几乎不存在了(表 2). 相反的是, 无规线团结构的含量增加了. 电镜观察表明, 三种蚕的茧丝都由两根单丝 (Single filament) 组成, 单丝通过丝胶粘接在一起. 脱胶处理后, 两根单丝被分开, 成为单根的丝纤维. 如果假设茧丝中两根单丝的横截面积相等, 由表 1 可以估算出经脱胶处理后损失的丝胶占原来单丝的面积百分比分别为 11% (家蚕), 23% (柞

蚕), 13% (蓖麻蚕). 事实上, 几乎没有工作单独研究丝胶蛋白的构象, 所以即使家蚕和蓖麻蚕脱胶后丝胶损失只有 10% 左右, 仍很难确定脱胶后增加的无规线团含量是由减少的 β -片层及 α -螺旋结构转化而来. 还可注意到, 与家蚕丝和柞蚕丝不同, 脱胶后蓖麻蚕丝的构象含量只有微小的变化. 以上观察结果可能是由于 Na_2CO_3 溶液表现为强碱性, 从而破坏了家蚕丝和柞蚕丝蛋白中的 β -片层及 α -螺旋结构中的氢键; 而 SDS 和 CaCO_3 溶液较中性, 没有对蓖麻蚕丝蛋白中的构象产生破坏.

Table 2 The conformational contents computed by infrared spectra(%)

Silk	α -Helix	β -Sheet	β -Turn	Random coil
B	13.1 $\pm$ 1.6	62.4 $\pm$ 0.8	20.3 $\pm$ 1.8	4.3 $\pm$ 3.9
DB	0.2 $\pm$ 0.2	50.4 $\pm$ 1.4	20.1 $\pm$ 1.2	29.3 $\pm$ 0.1
T	14.4 $\pm$ 0.3	65.5 $\pm$ 0.7	20.1 $\pm$ 0.5	0
DT	3.3 $\pm$ 0.1	49.0 $\pm$ 0.5	22.3 $\pm$ 0.5	25.4 $\pm$ 0.1
E	12.7 $\pm$ 4.9	59.6 $\pm$ 1.9	19.6 $\pm$ 2.8	8.1 $\pm$ 3.0
DE	12.5 $\pm$ 4.1	58.6 $\pm$ 1.4	17.8 $\pm$ 2.4	11.2 $\pm$ 3.0

几种蚕丝的力学参量(强度, 弹性模量)的平均值与 β -片层含量的平均值之间的关系示于图 2. 可以看出, 强度值及弹性模量都随 β -片层含量的增加而增加. 特别是强度, 它与 β -片层含量有较好的相关性, 变化趋势接近线性. 但柞蚕茧丝 T 尽管有较高的 β -片层含量(65.5%), 其强度与弹性模量却有些偏低. 我们知道, 柞蚕茧丝是由两根单丝通过丝胶粘接而成的, 电镜观察表明, 这两根

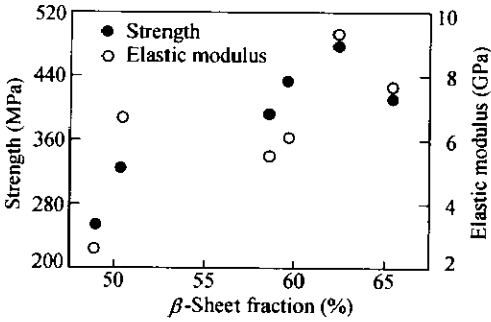


Fig. 2 The relations between strength, elastic modulus and β -sheet fraction

单丝经常会在局部分离开,这样在力学测试时就有可能在局部只是单丝在承受荷载,从而导致测量得到的强度与弹性模量偏低.而家蚕茧丝与蓖麻蚕茧丝的两根单丝结合较紧密,类似的误差较小.对弹性模量,较大的偏差发生在脱胶家蚕丝DB,它虽然只有50.4%的 β -片层结构,弹性模量却高达6.7 GPa. Perez-Rigueiro等^[11]已经注意到,家蚕丝的弹性模量有较大的分散性.但从表1可以看到,脱胶家蚕丝DB的横截面积及 β -片层结构含量的标准差与其它蚕丝相比并没有较大差别,所以这种较高的弹性模量似乎不能简单地认

为是丝纤维的几何形状或蛋白结构的变化所引起的,具体的原因有待于进一步的研究.

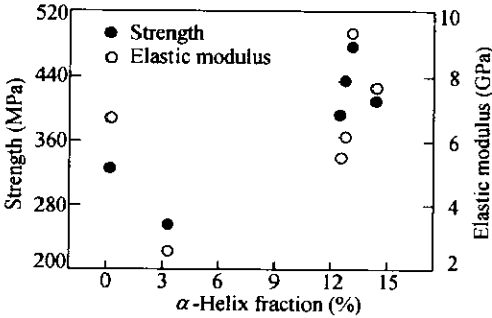


Fig. 3 The relations between strength, elastic modulus and α -helix c

图3显示了6种蚕丝的力学参量(强度,弹性模量)和 α -螺旋含量等参数平均值之间的关系.可以看出,它们的相关性不象 β -片层结构那样明显,这可能是 α -螺旋的含量非常低的缘故.但仍可观察到较高的 α -螺旋结构含量会引起较高的强度和弹性模量.

致谢 本文试验所用蚕茧由大连大学的董何彦教授提供,特此表示感谢.

REFERENCES

1 Rathore O, Sogah D Y. *Macromolecules*, 2001, 34: 1477 ~ 1486
2 Inoue S, Magoshi J, Tanaka T, Tanaka T, Magoshi Y, Becker M. *J Polym Sci Pol Phys*, 2000, 38: 1436 ~ 1439
3 Iazo N D, Downing D T. *Macromolecules*, 1999, 32: 4700 ~ 4705
4 Kweon H Y, Part Y H. *J Appl Polym Sci*, 1999, 73: 2887 ~ 2894
5 Ayub Z H, Arai M, Hirabayashi K. *Polymer*, 1994, 35: 2197 ~ 2200
6 Shao Zhengzhong(邵正中), Wu Dong(吴冬), Li Guangxian(李光宪), Peng Liwu(彭励吾), Yu Tongyin(于同隐), Zheng Siding(郑思定). *Chinese Journal of Light Scattering(光散射学报)*, 1995, 7(1): 2 ~ 7
7 Perez-Rigueiro J, Viney C, Llorca J, Elices M. *Polymer*, 2000, 41: 8433 ~ 8439
8 Liivak O, Blye A, Shah N, Jelinski L W. *Macromolecules*, 1998, 31: 2947 ~ 2951
9 Byler D M, Brouillette J N, Susi H. *Spectroscopy*, 1986, 1(3): 29 ~ 32
10 Wilson D, Valluzzi R, Kaplan D. *Biophys J*, 2000, 78: 2690 ~ 2701
11 Perez-Rigueiro J, Viney C, Llorca J, Elices M. *J Appl Polym Sci*, 1998, 70: 2439 ~ 2447
12 Shen Y, Johnson M A, Martin D C. *Macromolecules*, 1998, 31: 8857 ~ 8864

RELATIONS BETWEEN MECHANICAL PROPERTIES AND CONFORMATIONAL CONTENTS OF NATIVE SILKWORM SILK

HUO Bo, ZHAI Yong, CUI Fuzhai

(*Department of Materials Science and Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084*)

Abstract Relations between mechanical properties and conformational contents of native silkworm silk are investigated. Three species of silkworm cocoons, bombyx mori, tussah and eri-silkworm, are chosen and the three corresponding degummed silks are obtained by a strong alkaline solution and a relative neutral solution, respectively. For the six kinds of silk fibers, the load-elongation curves and the infrared spectra of protein are measured. To transfer load into stress, the section area of silk is directly measured by SEM observation. The contents of four conformations, α -helix, β -sheet, β -turn and random coil, can be calculated by the infrared spectra. Infrared analysis shows that the β -sheet and α -helix structures may be destroyed by the strong alkaline solution during the degumming and the destroyed molecular chains transform into random coils. So the strength and elastic modulus of bombyx mori and tussah silks are reduced drastically after degumming. In contrast, there is no significant change in the mechanical properties and the conformational content of protein for the degummed eri-silkworm silk treated by relative neutral solution. The experimental results show that fractions of β -sheet and α -helix structures, especially β -sheet, contribute to the strength and rigidity of silkworm silk. There is a good correlation between β -sheet content and mechanical properties. But the correlation is not very significant for α -helix because its content is very low. The infrared analysis also shows that the contents of β -turn structures for all silks retain invariant, which indicates that β -turn structure indeed exists in native silkworm silk and its contents seem not to be influenced by the species and the degumming.

Key words Conformation, Strength, Elastic modulus, Silkworm silk