

变异山羊绒纤维二级结构的拉曼光谱分析

【本文作者：分析仪器事业部（AID）应用研发部 张丽文工程师】

1 引言：

山羊绒是毛纺工业的高档原料，素有“软黄金”之称。我国羊绒产量居世界首位，生产全球大约 75% 的山羊绒，是羊绒生产与加工大国，在国际羊绒产业占据着重要地位。近年来山羊绒逐渐产生了变异分为羊毛纤维、两型毛纤维、二细毛纤维、以及羊绒纤维。山羊绒变异后特别是代表优质山羊绒的特性指标 - 细度增加，为洗毛、分梳、染色等加工工艺带来了困难，这些问题已经影响到了山羊绒制品质量，影响到了山羊绒的加工性能和制品的出口，给我国山羊绒产业带来了严重的负面影响。

山羊绒变异后表面与内部结构均发生改变，化学性质也有所不同，为更高效、准确地区分毛与绒，不仅需要从纤维的粗细、质量的轻重、表面鳞片、手感等方面综合分析变异山羊绒纤维的结构，还需要对表面与内部的物质结构进行深入研究。在结构表征方面，从 20 世纪 70 年代就有蛋白质二级结构表征方面的研究报道，但实现定量分析仍具有一定难度，这就需要采用新的表征手段。本公司采用拉曼光谱分析技术探究四种变异山羊绒纤维的蛋白质二级结构，具有高分辨率、高灵敏度、无损伤、不接触样品等性能，以及样品用量少、无需样本处理、测试时间短等优势，已经成为新一代表征分子结构的技术手段。

2 技术优势

拉曼光谱分析技术是依据散射光来获得物质信息的分子光谱技术，是由于晶格振动、电荷密度起伏、自旋密度起伏、电子跃迁以及它们的耦合等因素引起的。当一束单色光照射到样品上后，分子可以使入射光发生散射。大部分光只是改变方向发生散射，而光的频率仍与激发光的频率相同，这种散射称为瑞利散射；少部分光不仅改变了光的传播方向，而且散射光的频率也改变了，不同于激发光的频率，称为拉曼散射。散射光与入射光之间的频率差 ν 称为拉曼位移，拉曼位移与入射光频率无关，它只与散射分子本身的结构有关。拉曼散射是由于分子极化率的改变而产生的。拉曼位移取决于分子振动能级的变化，不同化学键或基团有特征的分子振动， ΔE 反映了指定能级的变化，因此与之对应的拉曼位移也是特征的。这是拉曼光谱可以作为分子结构定性分析的依据。

激光显微拉曼光谱仪是集光谱学、化学计量学、探测技术以及计算机技术为一体的高新技术，具有样品用量少、无样本处理、无损伤、无接触、测试时间短、重复性好等优良性能，可以对绝大多数的有机、无机化合物进行无损表征。变异山羊绒纤维属于蛋白质纤维，激光显微拉曼光谱技术在研究变异山羊绒纤维具有以下优势：1）无损伤检测，不破坏纤维结构；2）灵敏度高，谱峰信息丰富；3）拉曼光谱可以表征蛋白质的二级结构，如，胱氨酸、肽键中的酰胺 I 带和酰胺 II 带等信息；4）变异山羊绒纤维具有非极性功能基团、芳香族氨基酸的强谱带。

3 实验仪器

样品：4 种变异山羊绒纤维

试验设备：北京卓立汉光仪器有限公司研制的“Finder Vista”显微共聚焦拉曼光谱仪系统；532nm 激发光源进行激发；积分时间为 3s，扫描尺寸为 100X 物镜。



4 数据分析

在一定条件下，拉曼特征峰强度与待测物浓度成正比，但是，激光功率、测量参数、外界环境等对拉曼特征峰强度均具有一定影响，因此，不能利用拉曼的绝对强度判断物质的含量。变异山羊绒纤维 1450cm^{-1} 波数的拉曼特征峰主要由氨基酸侧链上 CH_2 和 CH_3 的弯曲振动引起，不受肽链主链构象变化的影响。为比较变异山羊绒纤维的拉曼强度差异，选该谱带为内标，采用峰面积比法，分析变异山羊绒纤维表面与内部纵向剖析的拉曼光谱特征

对于变异山羊绒纤维的蛋白质二级结构的拉曼光谱特征峰，根据已有文献，可以解释酰胺带、S-S 键带、酪氨酸、胱氨酸等谱峰带的信息。

828cm⁻¹: 弱, 酪氨酸振动;

851cm⁻¹: 中等强度, 酪氨酸双峰谱带, 该双峰谱带强度比值的变化反映了酪氨酸化学环境的变化;

935cm⁻¹ : 肽链主链 螺旋的 C-C 骨架伸展振动 ;

1001.77cm⁻¹: 色氨酸与丙氨酸共同的摇摆振动晶带, 由于色氨酸含量很少及不敏感性, 该峰主要与苯丙氨酸有关, 难以反映出色氨酸含量的变化;

1031cm⁻¹ : 弱, 苯基丙氨酸振动;

变异山羊绒纤维的化学结构主要是角朊蛋白, 由多种 氨基酸组成, 不同的变异山羊绒种类, 氨基酸组成和含量有一定差异。所以, 分析变异山羊绒的氨基酸含量对于鉴别山羊绒的种类与生产优质、高档羊绒产品具有很高的指导意义。不同变异山羊绒纤维的蛋白质在氨基酸组成及二级结构上不同的。变异山羊绒纤维的氨基酸拉曼光谱如图所示, 峰面积归一化强度如表所示。

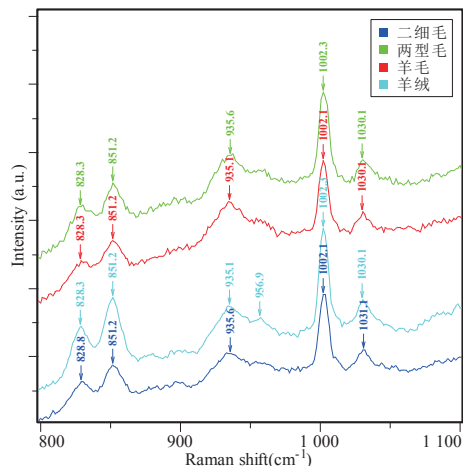


图 4 四种变异山羊绒纤维的拉曼光谱图

表 变异山羊绒纤维峰面积归一化强度

特征峰	羊毛	两型毛	二细毛	羊绒
828	0.395824	0.408907	0.431843	0.489311
851	0.738972	0.759791	0.772707	0.780282
935	0.763442	0.738708	0.551208	0.594393
1002	0.59859	0.494667	0.514251	0.721202
1031	0.454458	0.462764	0.486181	0.540878

828、851 cm^{-1} 代表酪氨酸的振动情况, 1002 cm^{-1} 拉曼特征峰的归一化强度代表色氨酸含量差异, 1031 cm^{-1} 代表苯基丙氨酸振动。从表中数据可以分析, 酪氨酸、色氨酸、苯丙基氨酸的含量整体上随着羊毛、两型毛、二细毛、羊绒纤维的顺序而增加, 说明绒纤维的蛋白质的含量要高于毛纤维, 这也是绒纤维具有更加优异的手感与理化功能的原因之一。

935 cm^{-1} 波数处的拉曼特征峰属于 螺旋构象的 C-C 骨架伸展振动, 这一峰值表示变异山羊绒纤维的 螺旋含量的多少。从表中数据可以看出, 毛纤维的 螺旋构象的 C-C 骨架含量要明显由于绒纤维。C-C 骨架振动区出现在 890-960 cm^{-1} 区, 主要是骨架的拉伸振动, 表征变异山羊绒纤维的拉伸性能, 通过该特征峰可以为羊毛、羊绒纤维的拉伸、防粘缩等工艺提供指导意见。

5 总结

本公司利用拉曼光谱表征了变异山羊绒纤维的蛋白质二级结构,取得了优异的结果。四种变异山羊绒纤维的蛋白质氨基酸含量,如酪氨酸、色氨酸、苯丙基氨酸的含量整体上随着羊毛、两型毛、二细毛、羊绒纤维的顺序而增加,说明绒纤维的蛋白质的含量要高于毛纤维,这也是绒纤维具有更加优异的手感与理化功能的原因之一。螺旋构象也呈现相似特征。这也是从理论上证明了绒纤维的手感、光泽、拉伸等性能要优于毛纤维。通过拉曼光谱对变异山羊绒纤维的为进一步探究变异山羊绒纤维的拉伸、染色、防缩等性能以及后加工整理技术提供一定的判断依据。

