家禽羽毛角蛋白之萃取與生物材料應用

◎動物營養組／康力中
◎國立臺灣大學動物科學技術學系／王翰聰

前言

全球家禽屠宰業每年產生大量羽毛廢棄物，其再利用與研究方向以水解後作為動物飼料原料與廉價填充物最為常見，其他則多著重在篩選具水解羽毛能力之微生物，產品模式附加價值較低。羽毛主要由角蛋白（keratin）所構成，約佔其組成分之90 %，為可自然降解之天然聚合物，且具良好生物相容性，因此在生物醫學領域具有取代合成材料與高附加價值再應用之潛力。

羽毛角蛋白之特性

角蛋白依胱胺酸（cystine）含量多寡，可分為硬角蛋白及軟角蛋白，前者含較高之胱胺酸，質地硬而緻密，物化穩定性亦較高，羽毛角蛋白即屬此類。角蛋白也可根據構型分為α與β兩類，前者主要為α-螺旋（α-helix）結構，伸縮性較佳，哺乳動物之毛髮角蛋白主要為此類。羽毛角蛋白則主要為β-角蛋白，其二級結構大多為β-摺板（β-sheet）結構，抗形變性較高，但延展性較差。在羽毛角蛋白之胺基酸中，胱胺酸約佔7 %，哺乳動物來源之角蛋白，如羊毛則佔約11~17 %，經各種方法萃取而得之羽毛角蛋白分子量通常較低，約分佈於10~30 kDa，哺乳動物來源者，則約分佈於40~70 kDa，因此兩者萃取成品的性狀與特性有相當顯著的差異。

角蛋白之萃取

較強的酸或鹼可以溶解角蛋白，但反應時易造成肽鍵斷裂，取得角蛋白的分子量較低，甚至僅為多肽，雖水溶性佳，方便後續使用，但角蛋白本身所具之特性較難維持，產率亦較差。因此若要兼顧角蛋白後續利用之方便性與延續角蛋白特性，則必須在減少肽鍵斷裂的情況下，去破壞雙硫鍵與氫鍵。

目前常見的角蛋白萃取方法，包括化學法、機械法及生物法等，其中以化學法之效率最佳，且可大量操作，依萃取機制可分為還原法、氧化法及酸鹼法等。

1. 還原法

利用還原劑裂解角蛋白中之雙硫鍵，過去多使用巯基化合物作為還原劑，如2-巯基乙醇（2- mercaptoethanol），此類藥劑成本較高，且使用時會產生惡臭，毒性也較強。近期則有以硫酸鹽或亞硫酸鹽類替代之研究，成品溶解度佳，過程也無異味產生。此法對角蛋白肽鏈的破壞程度較小，產物分子量通常較高，利於維持角蛋白特性，產率也較高，為常見使用之化學法。

2. 氧化法

利用氧化劑如過甲酸（performic acid）、過氧乙酸（peracetic acid）及過氧化氫（hydrogen peroxide）等，將角蛋白之雙硫鍵氧化，產生水溶性較佳之氧化態產物。此法難以避免對角蛋白分子鏈造成較顯著的破壞，產物分子量通常較小。

3. 酸鹼法

在定溫下使用酸或鹼水解角蛋白原料，常需搭配使用還原劑，以提高溶解效率及防止斷裂的雙硫鍵再度氧化，降低產物水溶性。鹼水解常用於處理大量角蛋白原料，搭配較高溫的環境可有效水解角蛋白。此法反應時間對角蛋白回收率及分子量影響很大，兩者呈負相關，較難同時滿足。

角蛋白應用於生物材料之潛力

於生物材料特性方面，角蛋白具有類似胞外基質蛋白，如膠原蛋白（collagen）和纖連蛋白（fibronectin）的細胞結合胺基酸序列，如麩胺酸-天門冬胺酸-絲胺酸（glutamic acid – aspartic acid – serine）與白胺酸-天門冬胺酸-纈胺酸（leucine – aspartate – valine）等，可促進細胞與角蛋白基質的交互作用與細胞遷移（cell migration），且不具細胞毒性。大部分哺乳動物缺乏分解角蛋白的專一性酵素，因此與其他易受膠原蛋白酶等蛋白酶溶解的蛋白質相比，角蛋白在體內的穩定性更高，降解更慢，有利應用於組織支架或緩釋藥物之載體之開發。同時角蛋白也具有促進止血與吸收體液的特點，具傷口護理材料之開發潛力。

目前角蛋白生物材料之開發方向相當多元，如薄膜、水凝膠及奈米粒子或纖維等。研究發現角蛋白薄膜應用於傷口有利於真皮層之纖維母細胞（fibroblast）的滲透與遷移，同時也具有pH敏感性釋放藥物之功能，有應用於藥物輸送和生物醫學領域之潛力。角蛋白水凝膠（圖1）通常具有高孔隙率，有利細胞附著、滲透及遷移，其中空間使其可以儲存大量液體，在控制藥物釋放之應用相當受歡迎，有做為長時間緩釋藥物載體之潛力。奈米粒子之相對表面積大，為良好的藥物載體，且根據其特性，可能直接進入器官、細胞或甚至血腦障壁，目前已有應用於癌症藥物載體之研究。奈米纖維主要以靜電紡絲之方式產生，可形成由奈米到微米級纖維所組成之二維不織布或立體纖維支架（圖2），這類材料具多孔隙、孔徑小、立體結構與相對高表面積等特性，有利細胞附著與生長。體外細胞研究顯示，與商用非纖維支架相比，角蛋白纖維支架顯著促進脂肪衍生間葉幹細胞（adipose-derived mesenchymal stem cell）之生長、發育及軟骨分化。

結語

角蛋白可於自然環境中逐步降解，且來源多屬農業副產品，相對於合成材料，環境負擔較低。其萃取技術逐漸成熟，且具優良生物相容性與材料應用之多元性，深具開發為生物材料應用之潛力，同時也兼具綠色減廢與再加值的優勢。

參考文獻

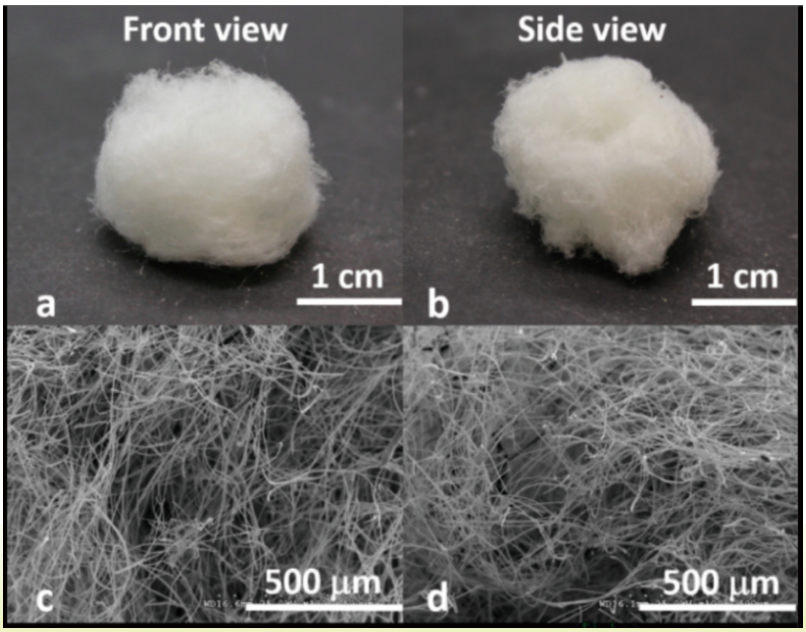
Esparza, Y., N. Bandara, A. Ullah, and J. Wu. 2018. Hydrogels from feather keratin show

higher viscoelastic properties and cell proliferation than those from hair and wool keratins. Mater. Sci. Eng. C 90:446-453. https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.067

Sadeghi, S., J. Nourmohammadi, A. Ghaee, and N. Soleimani. 2020. Carboxymethyl cellulose-human hair keratin hydrogel with controlled clindamycin release as antibacterial wound dressing. Int. J. Biol. Macromol. 147:1239-1247. doi: https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.09.251

Xu, H., S. Cai, L. Xu, and Y. Yang. 2014. Water-stable three-dimensional ultrafine fibrous scaffolds from keratin for cartilage tissue engineering. Langmuir. 30:8461-8470. https://doi.org/10.1021/la500768b

▲圖1. 以不同來源角蛋白製備之水凝膠（Esparza *et al*., 2018）



▲圖2. 以雞羽角蛋白製備之三維纖維支架與其掃描式電子顯微鏡下之型態（Xu *et al*., 2014）