

AQC 柱前衍生化高效液相色谱法测定 宝乐果中的游离氨基酸*

刘 博¹, 韩晓东¹, 张敏婷¹, 徐方方¹, 周 文¹, 焦 红²

(1. 广州中医药大学第二附属医院, 广东 广州 510006;

2. 广东出入境检验检疫局, 广东 广州 510623)

摘 要: 为了测定宝乐果中游离氨基酸的种类以及含量。该文的样品用6-氨基喹啉-*N*-羧基琥珀酰亚胺基-氨基甲酸酯(AQC)柱前衍生后进行高效液相色谱(HPLC)分析。采用Phenomenex Luna C₁₈(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)色谱柱,柱温为35℃;流动相A为去离子水,流动相B为乙腈,流动相C为10 mmol/L醋酸铵缓冲液(以冰醋酸调至pH 5.10),梯度洗脱,流速为0.8~1.0 mL/min;检测波长为248 nm,同时测定宝乐果中的游离氨基酸。结果得:18种氨基酸在0.02~0.5 mmol/L浓度范围内有良好的线性关系,*r*均在0.998 3~0.999 2之间;宝乐果中测得14种游离氨基酸,其含量范围为0.087~2.680 mg/g,平均加样回收率为96.9%~106.9%,RSD为0.67%~3.07%。该方法可用于检测宝乐果中游离氨基酸含量,测定的结果为宝乐果质量研究和评价提供了依据。

关键词: 宝乐果; AQC; 游离氨基酸; 柱前衍生法

中图分类号: O657.7 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579(2013)04-0100-05

Application AQC as a Pre-column Derivatization Reagent for HPLC Determination of Free Amino Acids in *Borojo sorbilis* Cuter.

LIU Bo¹, HAN Xiaodong¹, ZHANG Minting¹, XU Fangfang¹, ZHOU Wen¹, JIAO Hong²

(1. Guangdong Provincial Academy of Chinese Medical Sciences, The 2nd Affiliated Hospital,
Guangzhou 510006, China;

2. Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau; Guangzhou 510623, China)

Abstract: To determine and analyze free amino acids in Borojo. The sample was derivatized with 6-aminoquinolyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) and then was analyzed with high-performance liquid chromatography (HPLC). HPLC was performed on a Phenomenex C₁₈ (250mm × 4.6 mm, 5 μm) column with gradient elution of deionized water (A), acetonitrile (B) and 10 mmol/L ammonium acetate buffer solution (adjusted to pH 5.10 with glacial acetic acid) (C) at the flow rate of 0.8~1.0 mL/min, detected with Ultra Violet (UV) at 248 nm. Linear relationship equations were obtained with 18 kinds of amino acids in the range of 0.02~0.5 mmol/L, and their correlation coefficients were in the range of 0.998 3~0.999 2. Fourteen amino acids were detected and average recoveries of those added were in the range of 96.9%~106.9% and RSD values were in the range of 0.67%~3.07%. The method could be used for determination of content of free amino acids in Borojo.

Key words: Borojo; AQC; free amino acids; pre-column derivatization

* 收稿日期: 2013-02-07

基金项目: 广东省科技现代生物技术资助项目(2011B010500014); 广州市科技天然活性物质开发利用研究资助项目(2011J4300077); 广东省科技项目农业攻关资助项目(2012A020602046)

作者简介: 刘博(1979年生),男; E-mail: doctliu@263.net

宝乐果 (*Borojoa sorbilis* Cuter.) 是茜草科林果属植物 *Borojoa patinoi* Cuatrec. 和 *Borojoa sorbilis* Cuatrec. 的成熟果实, 产于拉丁美洲厄瓜多尔气候的热带雨林, 呈棕褐色, 直径达 7 ~ 12 cm, 质量达 700 ~ 1 000 g, 88 % 以上为果浆, 黏性很强, 味道酸涩^[1], 有特殊果香。宝乐果营养丰富, 含多糖、植物油、矿物质、维生素、稀土元素, 蛋白质、氨基酸成分也占有一定的比例, 特别是人体所必需氨基酸。焦红等^[2]采用质谱检测发现宝乐果中有 26 种游离氨基酸, 但并未进行定量研究。本文采用东方集团提供的宝乐果成熟果实的果肉, 对其游离氨基酸的构成和含量进行分析, 为宝乐果研究开发利用提供科学依据。

6-氨基喹啉-N-羟基琥珀酰亚胺基-氨基甲酸酯(AQC)柱前衍生化法是近年来使用最广泛的氨基酸分析方法, 具有简单、灵敏而快速的优点^[3-5]。AQC 是一种具有高反应活性的杂环氨基甲酸酯, 可与伯胺和仲胺反应生成稳定的衍生物脲^[6]。这种衍生物十分稳定, 0 ~ 4 °C 环境下可保存一个月, 常温条件下可保存一周, 且有很强的紫外吸收和荧光吸收。衍生操作简单, 衍生速度快, 30 s 即可反应完全, 且定量准确, 过量的衍生试剂可水解, 缓冲溶液使用范围广^[7-9]。此法应用于食品和药品中氨基酸的含量测定, 取得了很好的效果^[7,10]。故本实验以 AQC 为衍生试剂, 以柱前衍生化高效液相色谱法对宝乐果中所含的游离氨基酸进行分析和测定。

1 仪器和试剂

1.1 仪器

高效液相色谱系统: Agilent Technologies 1200 Series (脱气机: G13122A; 四元泵: G1311A; 自动进样器: G1329A; 检测器: G1314B); 色谱柱: Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 离心机: B600A BAIYANG CENTRIFUGE G20; 超声仪: 必能信 Kleen Sonic 320-D (功率 250 W, 频率 100 kHz); 磁力搅拌器: 上海禾汽仪器有限公司 85-2B 型; 津腾隔膜真空泵; pH 计: Mettler Toledo Delta 320; 旋转蒸发器: Buchi; 移液枪: 2 ~ 20 μL, 20 ~ 200 μL, 大龙兴创实验仪器(北京)有限公司; 无水溶剂纯化系统: Innovative Technology PS-MD-5; 纯水仪: 18.2 MΩ, Millipore。

1.2 试剂、样品及缓冲盐配置

宝乐果: 东方集团有限公司提供的成熟宝乐果。

氨基酸标准品: L-组氨酸(L-His)、L-天冬氨

酸(L-Asp)、L-异亮氨酸(L-Ile)、L-亮氨酸(L-Leu)、L-脯氨酸(L-Pro)、L-赖氨酸(L-Lys)、L-谷氨酸(L-Glu)、L-甲硫氨酸(L-Met)、L-谷氨酰胺(L-Gln)、L-苯丙氨酸(L-Phe)、L-苏氨酸(L-Thr)、L-胱氨酸(L-Cys2)、L-丝氨酸(L-Ser)、L-色氨酸(L-Trp)、L-缬氨酸(L-Val)、L-酪氨酸(L-Tyr)、甘氨酸(L-Gly)、L-丙氨酸(L-Ala)、γ-氨基丁酸(γ-GABA)(作为内标物), 以上样品均购自上海源聚生物科技有限公司。

AQC 衍生试剂的配制: 由实验室自行合成(*w* > 95%)。临用前取约 28.5 mg AQC 粉末置于 10 mL 容量瓶中, 以适量无水乙腈溶解并定容至刻度, 配成 10 mmol/L 的 AQC 溶液, 保存于干燥器中。

醋酸铵缓冲液: 取约 0.77 g (0.01 mol) 醋酸铵固体, 加水至 1 L, 以冰醋酸调 pH 至 5.10。

硼酸盐缓冲液, 溶液 A: 取约 7.45 g (0.1 mol) 氯化钾固体和 6.20 g (0.1 mol) 硼酸, 加水至 1 L, 配成 0.1 mol/L 的 A 溶液。溶液 B: 取约 4.00 g (0.1 mol) 氢氧化钠固体, 加水至 1 L, 配成 0.1 mol/L 的 B 溶液。取约 32.00 mL 的 B 溶液加入 100.00 mL 的 A 溶液中, 调节至 pH 8.80。

2 方法

2.1 色谱条件

采用 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱, 柱温为 35 °C; 流动相 A 为去离子水, 流动相 B 为乙腈, 流动相 C 为 10 mmol/L 醋酸铵缓冲液 (pH 5.10)。梯度洗脱, 流速为 0.8 ~ 1.0 mL/min; 检测波长为 248 nm; 进样量为 2 μL。按表 1 条件进行梯度洗脱。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

<i>t</i> /min	φ(A)/%	φ(B)/%	φ(C)/%	<i>F</i> /(mL · min ⁻¹)
0.00	6	6.5	87.5	0.8
30.00	6	6.5	87.5	0.8
35.00	10	8	82	1.0
40.00	20	10	70	1.0
45.00	20	15	65	1.0
60.00	20	30	50	1.0
65.00	20	35	45	1.0

2.2 溶液的制备和衍生化反应

2.2.1 标准品溶液 单氨基酸标准品溶液: 分别精密称取以下 19 种氨基酸 (L-His、L-Asp、L-Ile、L-Leu、L-Pro、L-Lys、L-Glu、L-Met、L-Gln、L-

Phe、*L*-*Thr*、*L*-*Cys*2、*L*-*Ser*、*L*-*Trp*、*L*-*Val*、*L*-*Tyr*、*Gly*、*L*-*Ala*、 γ -*GABA*), 分别置于 10 mL 容量瓶中, 加适量 0.1 mol/L 盐酸溶解、定容至 10 mL, 制成 19 种浓度均为 5 mmol/L 的单氨基酸标准品溶液。

混合氨基酸标准品溶液: 分别精密称取以上 18 种氨基酸 (除 γ -*GABA*), 置于 10 mL 容量瓶中, 加适量 0.1 mol/L 盐酸溶解、定容至 10 mL, 制成浓度为 5 mmol/L 的混合氨基酸标准品溶液。

2.2.2 供试品溶液 精密称取成熟宝乐果果肉 1.0 g, 加入 50 mL $\varphi = 50\%$ 乙醇/水超声提取 30 min, 提取 2 次。以 $\varphi = 50\%$ 乙醇/水洗滤渣, 每次 3 mL, 共 3 次, 滤液和洗液合并, 旋干, 转移至 10 mL 容量瓶, 0~4 °C 保存备用, 即得宝乐果供试品溶液。

2.2.3 空白溶液 取 10 μ L 0.1 mol/L 盐酸溶液置反应管中, 即得空白溶液。

2.2.4 衍生化反应步骤 ①取待检测溶液 10 μ L, 置反应管中, 加入 70 μ L 硼酸缓冲液, 涡旋均匀; ②再加入 20 μ L AQC 溶液, 涡旋 30 s; ③55 °C 恒温加热反应 10 min; ④以 0.22 μ m 微孔滤膜过滤, 转移至样品分析瓶中, 即得衍生化待检测溶液。

2.3 方法性考察

2.3.1 系统适用性试验 取混合氨基酸对照品溶液、单氨基酸对照品溶液、供试品溶液及空白溶液, 按“2.2.4”项下的方法进行氨基酸衍生化反应, 按“2.1”项下色谱条件进行高效液相色谱分析, 进样量为 2 μ L。

2.3.2 线性关系 精密吸取“2.2.2”项下混合氨基酸对照品储备液适量和内标物 γ -氨基丁酸 (γ -*GABA*) 适量, 分别置 10 mL 量瓶中, 制成浓度分别为 0.02, 0.075, 0.1, 0.125, 0.25, 0.5 mmol/L 的稀释混合氨基酸溶液。按“2.2.4”项下的方法进行氨基酸衍生化反应。

分别取上述反应溶液, 按“2.1”项下色谱条件进行测定, 进样量为 2 μ L, 得峰面积。分别以各种氨基酸对照品峰面积与内标物 γ -氨基丁酸 (γ -*GABA*) 的峰面积比值 y 为纵坐标, 对照品浓度 x (mmol/L) 为横坐标, 绘制工作曲线, 计算回归方程。

2.3.3 检测限 将最低浓度 (0.02 mmol/L) 的混合氨基酸溶液逐步稀释后再进行衍生化反应, 按“2.1”项下色谱条件进行高效液相色谱分析, 进样量为 2 μ L, 确定最低检测限 (信噪比: $S/N = 3$), 得到各种氨基酸的最低检测限。

2.3.4 精密度试验 取混合氨基酸对照品溶液, 按“2.1”项下色谱条件平行进样 5 次, 根据各氨基酸色谱峰面积与内标物 γ -氨基丁酸 (γ -*GABA*) 峰面积的比值, 计算 RSD。

2.3.5 稳定性试验 取供试品溶液, 进行衍生化反应, 按“2.1”项下色谱条件分别于 0, 1.5, 4, 8, 16, 24 h 进样, 根据各氨基酸色谱峰面积与内标物 γ -*GABA* 峰面积的比值, 计算 RSD。

2.4 供试样品的测定

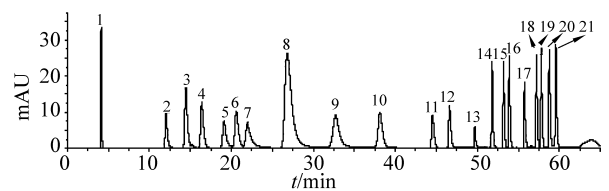
2.4.1 含量测定及重复性实验 平行称取果肉各 5 份, 每份约 1.0 g。按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液, 进行衍生化反应, 依“2.1”项下色谱条件进样测定, 根据各种氨基酸的色谱峰面积与内标峰面积比值, 计算各种氨基酸含量和 RSD 值, 以考察方法的重复性。

2.4.2 加样回收实验 分别取已知含量的宝乐果 1.0 g, 平行 5 份, 分别加入 100 μ L 氨基酸储备液, 分别进行提取、衍生化反应和色谱分析, 计算各种氨基酸的加样回收率和 RSD。

3 结果与讨论

3.1 标准品测定结果

结果表明, 在“2.1”项下色谱条件洗脱的 18 种氨基酸基本实现基线分离, 分离结果见图 1。18 种氨基酸在 0.02~0.5 mmol/L 范围内的峰面积比具有良好的线性关系; 以 $S/N = 3$ 确定最低检测限范围在 0.351~1.462 ng。结果见表 2。精密度试验 RSD 在 0.20%~1.40% ($n = 5$), 精密度良好; 稳定性试验 RSD 在 0.28%~3.90% ($n = 5$), 稳定性良好。



1. NHS; 2. Asp; 3. Glu; 4. Ser; 5. Gln; 6. Gly;
7. His; 8. AMQ; 9. Thr; 10. Ala; 11. Pro;
12. GABA; 13. Cys2; 14. Tyr; 15. Val; 16. Met;
17. Lys; 18. Ile; 19. Leu; 20. Phe; 21. Trp

图 1 18 种混合氨基酸标准品 AQC 衍生化溶液的 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of 18 AQC-derivatized amino acid standards

表2 18种氨基酸的线性方程、检测限 ($n=5$)Table 2 Regression equations and LOD ($n=5$)

氨基酸	线性回归方程	r	检测限/ng
Asp	$y=5.0767x+0.4371$	0.9992	1.331
Glu	$y=9.8109x+0.7678$	0.9984	0.736
Ser	$y=10.069x+0.3253$	0.9990	1.051
Gln	$y=8.6287x+0.2464$	0.9991	1.462
Gly	$y=9.5399x+0.2166$	0.9991	0.751
His	$y=10.520x+0.1450$	0.9989	0.776
Thr	$y=16.363x+0.2281$	0.9984	1.191
Ala	$y=6.4398x+0.6011$	0.9987	0.267
Pro	$y=7.2937x+0.2181$	0.9991	1.151
Cys2	$y=2.4710x+0.1236$	0.9994	1.202
Tyr	$y=9.8576x+0.2485$	0.9992	0.543
Val	$y=8.5767x+0.4684$	0.9985	0.351
Met	$y=9.4652x+0.3279$	0.9986	0.746
Lys	$y=4.0305x+0.4563$	0.9983	0.730
Ile	$y=8.8169x+0.6210$	0.9986	0.394
Leu	$y=9.0335x+0.5551$	0.9990	0.394
Phe	$y=12.580x+0.5905$	0.9992	0.496
Trp	$y=11.076x+0.4375$	0.9992	0.613

表3 供试样品中14种氨基酸含量和回收率 ($n=5$)Table 3 Contents and recoveries of 14 amino acids of samples ($n=5$)

氨基酸	$w/(mg \cdot g^{-1})$	RSD/%	平均回收率/%	RSD/%
Asp	0.143	0.15	96.86	1.01
Glu	0.087	0.16	99.36	0.67
Ser	0.692	0.38	106.44	2.79
Gly	1.161	0.23	102.46	2.80
Thr	0.729	0.40	102.07	1.20
Ala	0.240	0.26	101.00	1.59
Pro	0.282	0.14	96.97	1.05
Tyr	2.213	0.17	102.49	1.22
Val	0.545	0.25	104.34	1.83
Lys	0.788	0.20	106.42	2.29
Ile	0.696	0.82	98.82	2.13
Leu	0.690	0.63	97.96	2.53
Phe	2.680	0.96	104.32	3.07
Trp	2.531	0.26	106.84	2.04

3.2 供试品测定结果

结果表明,宝乐果中检测出14种游离氨基酸,其中7种为人体必须氨基酸。各批次样品中,检出氨基酸质量分数为0.087~2.680 mg/g,以苯丙氨酸(Phe)的含量最高,色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)、甘氨酸(Gly)含量次之,谷氨酰胺(Gln)、组氨酸(His)、胱氨酸(Cys2)、蛋氨酸(Met)由于含量低于检测限而未能检出;不同批次的样品中,各氨基酸的含量存在一定的差异性,其重复性试验RSD在0.14%~0.96% ($n=5$);平均回收率在96.9%~106.9%,RSD在0.67%~3.07% ($n=5$),结果见表3。

3.3 供试样品提取方法的优化

为最大限度提取宝乐果中的氨基酸,本实验做了正交实验来考察提取因素(溶剂、溶剂比例、提取时间和溶剂用量)对结果的影响。发现,采用 $\varphi=50\%$ 乙醇/水50 mL,超声提取30 min的样品中游离氨基酸含量相对最高。因此,本实验确定宝乐果的提取条件为以 $\varphi=50\%$ 乙醇/水50 mL超声提取30 min。

3.4 氨基酸进行柱前衍生化-HPLC分析的注意事项

氨基酸本身无紫外吸收,需衍生化后才能进行高效液相色谱分析,因此衍生化反应要完全,但是AQC的用量过大,其副产物AMQ会大大增加。如

衍生试剂峰大于衍生空白样中的AMQ的80%,可能是衍生时混合不均匀,所以衍生化操作应在样品涡旋状态下加入衍生试剂,以确保混合均匀^[11]。根据实验摸索,我们发现加入AQC的量若适当,其所产生的副产物NHS和AMQ对氨基酸的分离产生的干扰很小。

氨基酸为两性物质,流动相pH对其分离度影响很大,因此要保证流动相D pH值的准确和稳定,数值精确到小数点后两位^[9]。缓冲盐的浓度过大对色谱柱有一定的损耗,且容易堵塞流通泵,以不高于10 mmol为宜。流动相使用有效期为两天,过期的流动相会造成各峰的重叠^[12]。若使用超过两天,可加入少量叠氮化钠EDTA以防止细菌和真菌生长^[13]。流动相在使用前必须先过滤,除掉杂质,再超声10 min(流动相D只需超声30 s,防酸挥发,导致pH值变化),以除去较大气泡,减少流通泵压力。为使基线呈水平状,可加入0.01%丙酮^[12]。

3.5 通路系统的清洗

高效液相色谱系统开启后要马上开启定期清洗操作,采用 $\varphi=10\%$ 异丙醇清洗管路,防止流动相(含醋酸铵和硼酸盐)盐析,以保护仪器。仪器使用后需及时清洗管路及色谱柱,应先用高水溶剂长时间低流速冲洗,再用小于 $\varphi=50\%$ 乙腈/水进行梯度清洗,最后用乙腈清洗。

参考文献:

[1] MOSQUERA L H, MORAGA G, MARTINEZ-NA-

- VARRETE N. Effect of maltodextrin on the stability of freeze-dried borojo (*Borojoa patinoi* Cuatrec.) powder [J]. Journal of Food Engineering, 2010, 97: 72-78.
- [2] 焦红, 孟平, 李丹, 等. 热带水果 Borojo 全营养素分析[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(8): 68-72.
- [3] LI W H, HOU M J, CAO Y S. Determination of 20 free amino acids in asparagus tin by high-performance liquid chromatographic method after pre-column derivatization [J]. Food Anal Methods, 2012, 5: 62-68.
- [4] CANCHO-GRANDE B, RODRIGUEZ-COMESANA M, SIMAL-GANDARA J. Simple HPLC determination of colistin in medicated feeds by pre-column derivatization and fluorescence detection[J]. Chromatographic, 2001, 54: 481-484.
- [5] ESCARRONE A L V, BITTENCOURT C F, LAPORTA L V. LC-UV method with pre-column derivatization for the determination of ciclopirox olamine in raw material and topical solution[J]. Chromatographic, 2008, 67: 967-971.
- [6] WARD M. The Protein Protocols Handbook [M]. UK: Humana Press, 1996: 461-465.
- [7] HERNANDEZ-ORTE P, IBARZ M J, CACHO J. Amino acid determination in grape juices and wines by HPLC using a modification of 6-aminoquinolyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) method [J]. Chromatographic, 2003, 58: 29-35.
- [8] 覃婷婷, 白海娇, 黄哲苏, 等. AQC 柱前衍生法在氨基酸分析测定中的应用[J]. 天津药学, 2010, 22(5): 51-53.
- [9] MASUDA A, DOHMAE N. Amino acid analysis of subpicomolar amounts or proteins by precolumn fluorescence derivatization with 6-aminoquinolyl-*N*-hydroxysuccinimidyl carbamate[J]. BioScience Trends, 2011, 5(6): 231-238.
- [10] 柯雪红, 孙维广, 姚江雄, 等. 夏桑菊颗粒氨基酸类成分指纹图谱的研究[J]. 中成药, 2007, 29(6): 781.
- [11] 陈宇, 梁蔚阳, 薛巧如, 等. AccQ-Tag 法测定复方氨基酸注射液(18AA-V)中 17 种氨基酸的含量[J]. 广东药学院学报, 2008, 24(2): 243-246.
- [12] 陈鹭颖, 黄兴宇, 刘锡钧. OPA-FMOC 联用柱前衍生法测定复方氨基酸注射液中氨基酸的含量[J]. 福州总医院学报, 1990, 6(4): 2323-2327.
- [13] 徐赤, 顾谦群, 付余强. AccQ-Tag 法测定毛蚶抗贫血口服液中的氨基酸含量[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(3): 380-384.

(上接第 99 页)

参考文献:

- [1] ELEANOR M P, PATRICK B D, FIORENZO O, et al. Physical and chemical aspects of stabilization of compounds in silk[J]. Biopolymers, 2012, 97(6): 479-498.
- [2] 张雨青. 丝胶蛋白的护肤、美容、营养与保健功能[J]. 纺织学报, 2002, 23(2): 150-152.
- [3] 周凤娟, 许时婴, 杨瑞金, 等. 可溶性丝素蛋白的功能性质[J]. 食品科技, 2007, 28(11): 71-75.
- [4] 陈荣圻, 陈岚. 有机颜料表面改性及其助剂(三)[J]. 印染助剂, 2001, 5: 1-6.
- [5] 唐增荣. 浅论防沾污皂洗剂与色牢度[J]. 印染助剂, 2009, 6: 1-7.
- [6] 何海兰. 精细化工产品手册, 染料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
- [7] ZHANG H Y, HU C X, LIU C P, et al. Screening and analysis of bioactive compounds in traditional Chinese medicines using cell extract and gas chromatography - mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43(1): 115-117.
- [8] YAN W Y, COLER C L. Investigating noncovalent squarylium dye-protein interactions by capillary electrophoresis - frontal analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1135(1): 115-121.
- [9] JOLANTA S, BUMELIS V A. Examination of dye-protein interaction by gel-permeation chromatography [J]. Biomedical Chromatography, 2006, 20(2): 195-199.
- [10] FÖRSTER T, SINANOGLU O. Modern Quantum Chemistry [M]. New York: Academic Press, 1965.
- [11] KRAANA M V, FERNANDEZ M V, WOERLEEB G F et al. Acid-catalysed methanolysis reaction of non-polar triazinyl reactive dyes in supercritical carbon dioxide [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2007, 39(3): 389-398.
- [12] 张幼珠. 纺织应用化学[M], 上海: 东华大学出版社, 2009, 98.
- [13] 赵为陶. 载银桑蚕丝纤维的制备及其结构与性能研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2007.
- [14] 徐孝旭, 张宝砚. 金属离子在蚕丝蛋白构象转变中的作用机理研究 [J]. 高分子通报, 2008, 3: 48-51.
- [15] 袁久刚, 王强, 范雪荣. 针织物染整技术[M]. 北京: 中国纺织出版社, 2004.
- [16] 刘妙丽, 李秀艳, 叶建军. 纺织化学[M]. 北京: 中国纺织出版社, 2007: 184.