

荧光光谱研究多种印染助剂对 活性深蓝 M-2GE 结合丝素肽的影响*

马明明, 杨家彪, 苏新科

(西安工程大学环境与化工学院, 陕西 西安 710048)

摘要: 活性深蓝 M-2GE 与丝素肽结合为作用距离为 3.04nm、结合比为 1:1 且能猝灭丝素肽荧光的复合物。常见 3 种表面活性剂 (CTAB、十二烷基苯磺酸钠、曲拉通 X-100), 3 种离子液体 (溴化 1-乙基-2, 3-二甲基咪唑、1-乙基-2, 3-甲基咪唑双三氟甲磺酰亚胺盐、氯化羟乙基三甲基胺), 3 种金属离子 (Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ba^{2+}), 3 种淀粉 (原淀粉、磷酸酯淀粉、氧化淀粉) 和 7 种氨基酸 (*L*-组氨酸、*L*-天冬氨酸、*L*-赖氨酸、*L*-精氨酸、*L*-甲硫氨酸、*L*-白氨酸、*L*-脯氨酸) 分别加入体系后使二者结合常数增大; 而 *L*-苯丙氨酸、*L*-丝氨酸、*L*-苏氨酸、甘氨酸, 3 种氧化剂 ($\phi = 30\%$ H_2O_2 、 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 和 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), 聚丙烯醛胺和醛酸酯淀粉浆料以及金属离子 Cu^{2+} 的存在均导致结合常数变小, 因此在活性深蓝 M-2GE 印染过程中应根据工艺要求选择不同印染助剂。

关键词: 丝素肽; 活性深蓝 M-2GE; 荧光光谱; 印染助剂

中图分类号: TS193 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579 (2013) 04-0095-06

The Effects of Multiple Textile Auxiliary on Reactive Dark Blue M-2GE Interaction with Silk Peptide by Fluorescence Spectroscopy

MA Mingming, YANG Jiabiao, SU Xinke

(College of Environment and Chemical Engineering, Xi'an Polytechnic University, Xi'an 710048, China)

Abstract: It is important to study the interaction of small molecules with silk peptide. In this paper, the interaction of reactive dark blue M-2GE (RDBMG) with silk peptide was studied by means of multiple spectroscopy. The binding distance and binding ratio were calculated as 3.04 nm and 1:1, respectively. Additionally, the effects of foreign substances in dyeing system such as surfactants, ionic liquids, metal ions, oxidants, textile pulp, and seven kinds of amino acids (histidine, *L*-aspartic acid, *L*-lysine, *L*-arginine, *L*-methylthio amino acid, *L*-leucine and *L*-proline) on SP-RDBMG were also investigated. The results showed that the binding constants increased when Ionic liquids including chloride hydroxyethyl trimethyl amine, bromide 1-ethyl-2, 3-dimethyl imidazolium, 1-ethyl-2, 3-methyl imidazolium bis-[trifluoromethyl-sulfonyl] imide, textile pulp (original starch, phosphate starch, oxidized starch), metal ions (Ca^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+}), surfactants (CTAB, Triton X-100, sodium dodecyl sulfate) and seven types of amino acids were added into SP-RDBMG. However, the binding constants decreased when polypropylene aldehyde amine, aldehyde ester starch, Cu^{2+} and oxidants ($\phi = 30\%$ H_2O_2 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) were in the presence of SP-RDBMG.

Key words: silk peptide; reactive dark blue M-2GE; fluorescence spectroscopy; textile auxiliary

* 收稿日期: 2013-03-03

基金项目: 陕西省科技计划资助项目 (2013K07-24); 西安工程大学自然科学基金资助项目 (09XG02); 西安工程大学博士启动基金资助项目 (09BS018)

作者简介: 马明明 (1969 年生), 女; E-mail: 18220593193@163.com

丝素肽 (SP) 是丝素蛋白水解后的大分子多肽物质, 含有 18 种氨基酸, 生物相容性优异^[1], 作为添加剂可以改善产品的性能, 在印染工业、食品、化妆品、医药等^[2-3]等领域有较多应用。特别是添加到印染体系后, 可以显著提高织物的染色指标^[4-5]。然而, 并没有丝素肽与染色织物的染料小分子结合机理的相关文献报道。因此开展染料小分子结合丝素肽的工作就十分必要。

活性深蓝 M-2GE (RDBMG) 是双偶氮荧光钠盐染料, 适用于涤纶、涤纶染色^[6], 化学结构式如图 1 所示。荧光光谱法简单, 灵敏, 依据荧光峰位或强度的变化可迅速判断两组分是否有相互作用, 进一步推算出二者的结合机制。本文应用荧光光谱法研究了活性深蓝 M-2GE 对丝素肽在 305 nm 处荧光的猝灭, 探讨了猝灭机理, 紫外可见、同步荧光光谱也进一步证实了这一结果。印染工艺中常见物质纺织淀粉、氨基酸、离子液体、氧化剂、表面活性剂、金属离子对二者结合体系有不同的影响, 为今后丝素肽在活性深蓝 M-2GE 印染体系中的工艺条件选择提供了依据。

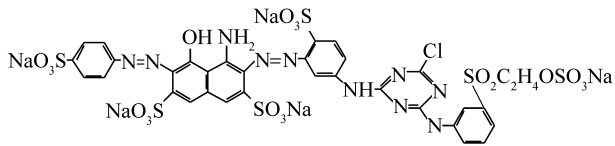


图 1 RDBMG 的化学结构式

Fig. 1 The chemical structural formula of RDBMG

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

荧光分光光度计 (RF-5301PC, 日本岛津); 紫外可见分光光度计 (UV-2450, 日本岛津); 三用恒温水浴箱 (H-60, 国华化学仪器); 1×10^{-4} mol/L、 1×10^{-3} mol/L 活性深蓝 M-2GE (江苏申新), 储备液; 1.0 g/L 丝素肽 (浙江丝绸科技研究有限公司) 储备液; 溴化-1-己基-2, 3-二甲基咪唑 (上海成捷化学有限公司); 1-乙基-2, 3-甲基咪唑双三氟甲磺酰亚胺盐 (上海成捷化学有限公司); 氯化羟乙基三甲胺 (上海成捷化学有限公司); 磷酸氢二钠 (天津市登峰化学试剂厂); 磷酸二氢钠 (天津市博迪化工有限公司); 原淀粉、聚丙烯酰胺、醛酸酯淀粉、氧化淀粉和磷酸酯淀粉浆料 (西安工程大学纺织材料学院); L-组氨酸、L-天冬氨酸、L-赖氨酸、L-精氨酸、L-甲硫氨酸、

L-白氨酸、L-脯氨酸、L-苯丙氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸 (国药集团化学试剂有限公司), 试剂均为分析纯, 实验用水为原子级水。

1.2 实验方法

在一系列 25 mL 比色管中, 分别加入 0.26 g/L 丝素肽、2 mL B. R. (pH 6.37) 缓冲溶液和一定量体积的 1×10^{-4} mol/L 活性深蓝 M-2GE, 用水稀释至刻度, 摇匀, 室温下静置 10 min; 将待测溶液倒入石英比色皿, 置于样品室, 发射与激发狭缝宽度均为 5 nm, 在荧光光度计上记录荧光发射光谱。在荧光猝灭实验中, 激发波长选择 275 nm, 扫描范围为 280 ~ 400 nm, 在 305 nm 峰位记录荧光强度。同步荧光光谱测定中 $\Delta\lambda = 15$ nm (其中 $\lambda_{em} = 280$ nm, $\lambda_{ex} = 265$ nm) 和 $\Delta\lambda = 60$ nm ($\lambda_{em} = 280$ nm, $\lambda_{ex} = 220$ nm), $\Delta\lambda = \lambda_{em} - \lambda_{ex}$, 并在紫外可见分光光度计上扫描 (220 ~ 800 nm) 吸收光谱; 同步荧光扫描中 $\lambda_{em} = \lambda_{ex} = 275$ nm。

2 结果与讨论

2.1 RDBMG 与 SP 作用机制

2.1.1 RDBMG 与 SP 相互作用的荧光光谱特征

采用单因子轮换法, 对 RDBMG 猝灭 SP 荧光强度的条件如 SP 浓度、结合时间、缓冲溶液种类及其 pH 等进行了优化。结果显示, 当 SP 浓度为 0.26 g/L, 作用时间为 10 min, B. R. 缓冲溶液 pH 为 6.37 时, RDBMG 对 SP 荧光强度猝灭条件最佳。在最佳实验条件下, 研究了 RDBMG 猝灭 SP 荧光强度原理。图 2 是 295 K 在不同浓度 RDBMG 存在下, SP 荧光强度 F 与 RDBMG 浓度 ($[Q]$) 的 $F_0/F \sim [Q]$ 关系图。由图可见, 随着 RDBMG 浓度的增加, F_0/F 不断增大, 在 $1.0 \times 10^{-6} \sim 2.0 \times 10^{-5}$ mol/L 范围内, F_0/F 与 $[Q]$ 并不是全呈线性关系; 当 RDBMG 浓度大于 1.4×10^{-6} mol/L 时, 曲线向上弯曲, 说明 SP 与 RDBMG 作用后, 使 SP 的内源荧光发生猝灭。猝灭有静态、动态猝灭或二者兼而有之。对动态猝灭, 遵循 Stern-Volmer^[7] 等式: $F_0/F = 1 + K_q\tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q]$, F_0 、 F 分别是 SP 在加入猝灭剂 (RDBMG) 前后的荧光强度, K_q 是生物大分子的荧光猝灭速率常数, τ_0 是无猝灭剂时 SP 的平均寿命, K_{sv} 是动力学猝灭常数, $[Q]$ 是猝灭剂的浓度。 τ_0 取 10^{-8} s。计算出不同温度下的 K_q 均大于生物大分子的限制扩散系数 2×10^{10} L · mol⁻¹ · s⁻¹^[8-9], 说明 RDBMG 引发 SP 猝灭不是动力学碰撞, 而是二者结合为配合物后使其荧光猝灭。对静态猝灭, 符合等式:

$\lg [(F_0 - F) / F] = \lg K + n \lg [Q]$ ^[8], 其中 K_A 是猝灭剂与生物大分子的结合常数, n 是猝灭剂与每个生物大分子的结合点数, $[Q]$ 是猝灭剂浓度。研究发现在 295 ~ 318 K 的温度范围内, 随温度增加, RDBMG 与 SP 结合常数出现先逐渐减小后增大, 但结合位点数基本不变, 大约为 1。

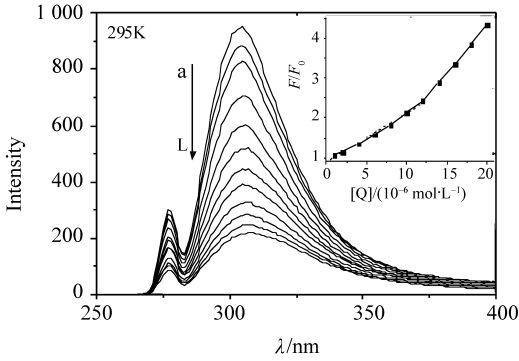


图 2 295 K 温度下 RDBMG + SP 结合体系
荧光光谱曲线及 Stern-Volmer 曲线

Fig. 2 The fluorescence spectrum of SP + RDBMG
at 295K and Stern-Volmer plot

$c(\text{M-2GE}) / (10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1})$: a. 0; b. 1; c. 2; d. 4;
e. 6; f. 8; g. 10; h. 12; i. 14; j. 16; k. 18; L. 20

根据热力学公式: $\ln K_A = -\frac{\Delta H^\theta}{RT} + C$ (C 是常数), 假设一定温度范围内 ΔH^θ 是一常数, 可求得 ΔH^θ ; 由 $\Delta G^\theta = -RT \ln K_A$, $\Delta G^\theta = \Delta H^\theta - T\Delta S^\theta$, 可求得不同温度下的 ΔG^θ 和 ΔS^θ , 计算结果 ΔG^θ 均小于零, 因此该结合是自发反应。

根据 Förster 非辐射能量转移理论^[10], 能量转移效应不仅与给体与受体之间的距离有关, 还与临界转移距离 R_0 有关。其中, 能量转移效率 E 与 R_0 之间存在下列等式: $E = R_0^6 / (R_0^6 + r^6)$, $E = 1 - F/F_0$, $R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} K^2 N^4 \Phi J$, r 为荧光给体与受体结合距离, K^2 为偶极子空间定向因子, N 为介质的折射指数, Φ 为荧光给体荧光量子产率, J 为给体荧光光谱和受体紫外-可见吸收光谱的重叠积分。光谱重叠积分符合下列关系

$$J = \frac{\int_0^\infty F(\lambda) \varepsilon(\lambda)^4 d\lambda}{\int_0^\infty F(\lambda) d\lambda}$$

$F(\lambda)$ 是给体在波长 λ 处的荧光强度, $\varepsilon(\lambda)$ 是受体在波长 λ 处的摩尔吸收系数。图 3 是 SP 荧光发射光谱 (1) 和 RDBMG (2) 紫外可见光谱重叠图, 在图中通过 OriginPro7.5 软件计算 $J = 3.46 \times$

$10^{-14} \text{ cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。已知 $K^2 = 2/3$, $N = 1.336$, $\Phi = 0.15$ ^[11], 算得 $R_0 = 3.14 \text{ nm}$, 实验数据 $I_F = 414.232$, $I_F^0 = 918.35$, 得 $E = 0.55$ 代入 (1) 式, $r = 3.04 \text{ nm}$ 。SP 与 RDBMG 作用距离 $r = 3.04 \text{ nm}$, 小于 7 nm , 符合非辐射能量转移条件, 说明能量由 SP 转移给 RDBMG 的概率非常大, 因此 RDBMG 对 SP 的的荧光猝灭属于静态猝灭。

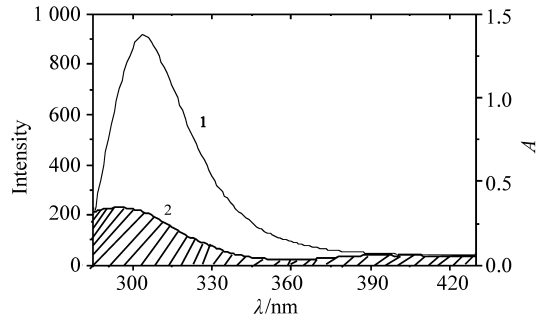


图 3 SP 荧光光谱 (1) 和
RDBMG 紫外吸收光谱 (2) 的重叠图

Fig. 3 The overlay of the fluorescence emission spectrum of
SP (1) and the absorption spectrum of RDBMG (2)
SP 浓度: 0.26 g/L; RDBMG 浓度: $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

2.1.2 RDBMG 与 SP 相互作用的紫外光谱 由于动态猝灭是猝灭剂与激发态分子碰撞作用, 对吸收光谱无影响, 而静态猝灭是与基态分子作用, 形成缔合物, 会引起吸收光谱的改变。考察了 SP + RDBMG 体系的紫外吸收光谱。图 4 是 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ RDBMG 和 0.26 g/L SP 以及两者混合时的紫外吸收光谱。

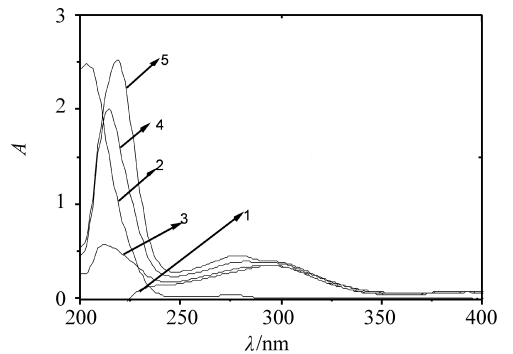


图 4 RDBMG 与 SP 的紫外光谱图

Fig. 4 The absorption spectrum of RDBMG and SP
(1) $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ RDBMG; (2) 0.26 g/L SP; (3) 0.18
g/L SP + $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ RDBMG; (4) 0.26 g/L SP + $1 \times$
 10^{-5} mol/L RDBMG; (5) 0.50 g/L SP + $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$
RDBMG

由图 4 知, SP 在 275 nm 处有一吸光度比较小, RDBMG 在 295 nm 处有一峰, 两者混合后, 0.18 g/L SP 在 275 nm 处的峰完全消失, 当加大 SP 浓度到 0.50 g/L 时, 由于 SP 过量造成, 在 275 nm 又出现 SP 峰 (图中曲线 5); 同时 SP 在 205 nm 处峰红移至 218 nm 处, 以上可说明二者发生反应。

2.1.3 同步荧光光谱 同步荧光光谱通常可以探究蛋白质构象的变化。当 $\Delta\lambda = 15$ nm 时, 同步荧光光谱显示蛋白质酪氨酸残基的荧光; 若 $\Delta\lambda = 60$ nm, 则为蛋白质色氨酸残基的荧光。由于蛋白质中酪氨酸、色氨酸残基的最大荧光发射波长与其所处的环境的极性有关, 因此, 根据最大荧光发射波长的改变可判断蛋白质构象的变化。

图 5 为 RDBMG 与 SP 相互作用的同步荧光光谱图。由图 5 (A) 知, RDBMG 的加入使 SP 酪氨酸残基在最大发射波长处的荧光强度逐渐减小; 由图 5 (B) 可以看出 SP 色氨酸残基在最大发射波长处的荧光强度由于 RDBMG 的存在而逐渐减弱, 290 nm 处峰位没有移动, 但 327 nm 处峰位出现红移, 因此 RDBMG 与 SP 结合改变了酪氨酸、色氨酸残基所处的环境。

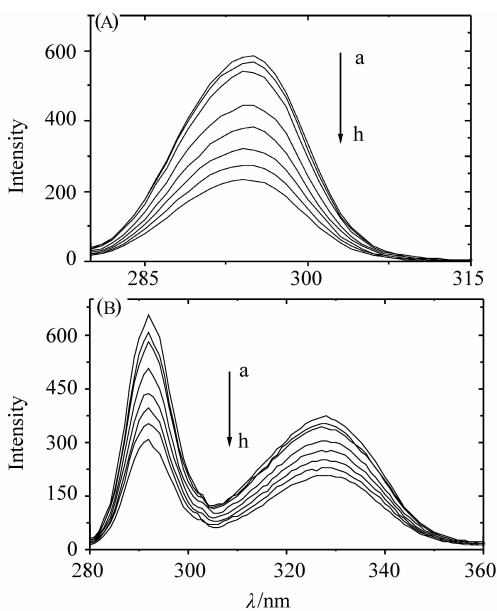


图 5 RDBMG + SP 体系的同步荧光光谱图

Fig. 5 The synchronous fluorescence spectra of RDBMG + SP (A) $\Delta\lambda = 15$ nm, (B) $\Delta\lambda = 60$ nm; SP 浓度: 0.26 g/L; $c(\text{RDBMG}) / (\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$: a. 0; b. 1×10^{-6} ; c. 2×10^{-6} ; d. 4×10^{-6} ; e. 6×10^{-6} ; f. 8×10^{-6} ; g. 10×10^{-6} ; h. 12×10^{-6}

2.2 印染工艺中常用物质对 RDBMG 结合 SP 的影响

2.2.1 表面活性剂对 RDBMG 结合 SP 的影响 表面活性剂可以改善染料的溶解度和染色性能, 提高匀染性、上染速率和染色牢度^[11-12]。当结合体系中存在曲拉通 X-100、十二烷基苯磺酸钠、CTAB 等表面活性剂时, 结合常数由 3.37×10^5 分别变为 4.56×10^6 、 1.85×10^6 和 3.55×10^6 。可见, 无论是哪种类型的表面活性剂, 均能使结合体系结合常数增加, 且增加倍数超过 5 倍。这与表面活性剂在体系中形成胶束, 增强 RDBMG 溶解度, 使 RDBMG 小分子更易于进入 SP 肽链结构有关。

2.2.2 常用氧化剂对结合体系的影响 染色工艺中, 染料隐色体以钠盐形式存在, 在染色后需要在氧化剂作用下生成不溶性的染料, 恢复染料原来的颜色, 在此过程中, 选择氧化剂的种类和用量非常重要, 均对染色深浅和色光影响较大, 氧化不足造成色浅, 氧化过度染色加深, 色光暗。试验了 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 、 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 、 H_2O_2 三种氧化剂对结合参数的影响。结果显示三种氧化剂的存在并没显著改变结合位点, 但使结合常数变小, 即由原来的结合常数 3.37×10^5 分别变为 0.15×10^5 、 2.04×10^5 、 2.89×10^5 ; 且氧化剂氧化性越强, 结合常数减小越明显。这主要是由于氧化剂可氧化肽链氨基酸残基^[13], 破坏发色基, 将发色基变为可降解结构, 从而使染料与丝素肽的结合力下降造成的。

2.2.3 金属离子对结合体系的影响 金属离子在纺织领域主要表现在染色、对丝素蛋白的作用、真丝的改性和防脆化处理以及抗菌、消臭、助燃、导电和防电磁波辐射等作用上^[14]。研究发现大多数金属离子是通过形成空杂化轨道以接受纤维或织物上氨基、羧基、羟基、氰基等极性基团的孤对电子, 通过配位键形成络合物。其中, 在与蛋白质纤维络合时, 一个中心金属离子还可以与多个氨基酸形成环状络合物, 且络合物形成的环数愈多配位愈多, 络合盐的稳定性愈好。 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ba^{2+} 、 Cu^{2+} 四种离子分别存在时对结合常数有不同的影响。除了 Cu^{2+} 使结合常数变小外, 其他三种离子都使其增大。 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ba^{2+} 与 SP 存在螯合作用, 诱导 SP 的结构由无规则的 Silk I 向 β -折叠构象转变^[15], 形成相对稳定的环境, 增强 RDBMG 与 SP 的结合, 但 Cu^{2+} 还可以与 RDBMG 上的 $-\text{SO}_3^-$ 形成键能较大的化学键, 封闭了染料的水溶性基团, 导致 RDBMG 与 SP 结合减弱, 结合常数会减小。

2.2.4 离子液体对结合体系的影响 离子液体作为良好的溶剂，常用作染料分散剂，蚕丝、纤维素和羊毛的再生纺丝溶剂，苧麻和羊毛纤维的改性试剂以及用于染色废水处理^[16]等。试验了三种离子液体溴化-1-己基-2, 3-二甲基咪唑、1-乙基-2,

3-甲基咪唑双三氟甲磺酰亚胺、氯化羟乙基三甲基胺对结合体系的影响，结果见表 1。离子液体的存在大幅增加结合常数，说明具有优良溶解性能的离子液体增强 SP 和 RDBMG 亲水结合环境，使 SP 和 RDBMG 更易结合。

表 1 室温下离子液体存在下 SP - RDBMG 体系的静态猝灭方程

Table 1 Static quenching equation of SP-RDBMG - ionic liquids system at room temperature

参数	体 系			
	不加离子液体	溴化-1-己基-2, 3-二甲基咪唑	1-乙基-2,3-甲基咪唑双三氟甲磺酰亚胺	氯化羟乙基三甲基胺
$F_0/F \sim [Q]$	$F_0/F = 0.909 0 + 1.21 \times 10^5 [Q]$	$F_0/F = 0.861 4 + 1.11 \times 10^5 [Q]$	$F_0/F = 0.913 4 + 1.16 \times 10^5 [Q]$	$F_0/F = 0.889 8 + 1.18 \times 10^5 [Q]$
相关系数 R	0.993 0	0.988 5	0.997 5	0.994 3
K_q	1.21×10^5	1.11×10^5	1.16×10^5	1.18×10^5
$\lg[(F_0 - F)/F] \sim \lg[Q]$	$\lg[(F_0 - F)/F] = 1.09\lg[Q] + 3.37 \times 10^5$	$\lg[(F_0 - F)/F] = 1.29\lg[Q] + 25.92 \times 10^5$	$\lg[(F_0 - F)/F] = 1.23\lg[Q] + 15.33 \times 10^5$	$\lg[(F_0 - F)/F] = 1.20\lg[Q] + 10.09 \times 10^5$
相关系数 R	0.996 4	0.998 4	0.997 1	0.998 0
结合常数 K	3.37×10^5	25.92×10^5	15.33×10^5	10.09×10^5
结合位点数	1.09	1.29	1.23	1.20

2.2.5 纺织浆料对结合体系的影响 纺织浆料是使纱条表面光滑、耐磨、柔韧且有一定强度的浆膜。可以使纱条表面的缠绕纤维紧贴纱条的主干，降低纱条表面的摩擦系数，同时使部分浆液渗入纱线内部，增加纤维之间的黏付力，提高纱线的抗拉强度，以适应织造过程中的大张力、中打纬，减少断头提高效率。常见浆料以淀粉为主要原料。本文试验了几种不同结构的浆料对结合体系静态猝灭方程的影响。聚丙烯醛胺和醋酸酯淀粉结构复杂，空间位阻较大，在结合体系存在时会阻碍 SP 与 RDBMG 结合，导致结合常数下降。而原淀粉、磷酸酯淀粉、氧化淀粉结构相对简单，官能团之间交联程度小，能促进 SP 表面活性位点增多，有利于 RDBMG 的结合，因此这三种淀粉存在时结合体系结合常数增加。

2.2.6 氨基酸对结合体系的影响 氨基酸是两性物质，含有一COOH 和一NH₂，在染色体系中能改善染料染色性能。本文试验了 11 种不同氨基酸对 SP 结合 RDBMG 的影响。*L*-苯丙氨酸、*L*-丝氨酸、*L*-苏氨酸和甘氨酸能够降低 SP 与 RDBMG 的结合常数；而 *L*-天冬氨酸、*L*-组氨酸、*L*-赖氨酸、*L*-精氨酸、*L*-甲硫氨酸、*L*-白氨酸、*L*-脯氨酸则使二者结合常数增大，其中 *L*-白氨酸使结合常数增加最大，比最初的结合常数高约 30 倍。这与氨基酸的性能密切相关。*L*-苯丙氨酸、*L*-丝氨酸、*L*-苏氨酸和甘氨酸的亲水性差，导致 RDBMG 不易和 SP 结合；而其余几种氨基酸亲水性较好，有利

于 SP 结合 RDBMG，因此能提高结合常数。

3 结 论

1) RDBMG 与 SP 结合形成作用距离为 3.04 nm、结合为 1:1 的复合物后，以静态猝灭方式猝灭 SP 内源荧光，从而改变了酪氨酸、色氨酸残基所处的环境，引起 SP 肽链构象结构缩聚变化。

2) 表面活性剂、盐类、氧化剂、离子液体、氨基酸和浆料能改善丝素的染色性能。实验表明三种表面活性剂 CTAB、十二烷基苯磺酸钠、曲拉通 X-100 有利于 RDBMG 与 SP 结合作用；双氧水、K₂S₂O₈ 和 K₂Cr₂O₇ 三种氧化剂对二者结合都不利，氧化性越强影响程度越大；CaCl₂、Zn(NO₃)₂ 和 BaCl₂ 三种盐都能使结合体系结合常数变大，由于 Cu(NO₃)₂ · 3H₂O 能与 RDBMG 螯合导致结合常数变小；离子液体溴化 1-乙基-2, 3-二甲基咪唑、1-乙基-2, 3-甲基咪唑双三氟甲磺酰亚胺盐、氯化羟乙基三甲基胺三种离子液体都较大程度增大了结合常数，在染色过程中可考虑加入此类离子液体；原淀粉、磷酸酯淀粉、氧化淀粉都有利于 RDBMG 与 SP 结合，其中氧化淀粉对二者结合最有利，聚丙烯醛胺和醋酸酯淀粉浆料会减弱 SP 和活性深蓝 M-2GE 的结合。11 种氨基酸中，只有 *L*-苯丙氨酸、*L*-丝氨酸、*L*-苏氨酸和甘氨酸使 RDBMG 与 SP 结合常数变小，因此体系中不宜含有这四种氨基酸。

- 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.