

DOI: 10.13475/j.fzxb.20171004507

# 蚕丝丝素酪氨酸残基的偶合修饰与工艺调控

杨海伟, 王宗乾, 徐晶晶, 王明荣, 王邓峰

(安徽工程大学 纺织服装学院, 安徽 芜湖 241000)

**摘要** 为探究酪氨酸残基化学修饰蚕丝丝素蛋白的反应规律, 实现可控化学修饰, 以修饰后蚕丝丝素的颜色深度  $K/S$  值为衡量指标, 分析了碱预处理、重氮盐组分量、时间、pH 值等工艺参数对邻硝基苯胺重氮盐修饰酪氨酸残基的影响规律; 研究了重氮盐对酪氨酸残基偶合修饰的吸附过程、吸附等温线类型。结果表明: 碱预处理可降低蚕丝丝素的 Zeta 电位值, 同时增加酪氨酸残基结构中酚羟基邻位碳的电子云密度, 二者共同促进了蚕丝丝素蛋白对重氮盐的吸附, 提高了偶合修饰反应速率; 在重氮盐与酪氨酸的量比为 2:3, pH 值为 6.8、温度为 5 °C 条件下偶合修饰反应 45 min, 蚕丝丝素纤维可获得较高的  $K/S$  值; 酪氨酸残基偶合修饰反应吸附等温线符合 Langmuir 模型。

**关键词** 蚕丝; 酪氨酸残基; 偶合反应;  $K/S$  值; 吸附等温线

中图分类号: TS 193.5 文献标志码: A

## Coupling modification and process regulation of tyrosine residues on silk fibroin

YANG Haiwei, WANG Zongqian, XU Jingjing, WANG Mingrong, WANG Dengfeng

(School of Textile and Garment, Anhui Polytechnic University, Wuhu, Anhui 241000, China)

**Abstract** In order to explore the regulation rules of chemical modification of tyrosine residues to realize the controlled chemical modification of silk fibroin, the effects of processing parameters including alkaline pretreatment, the dosage of diazonium salt, time and pH value on the modification of o-nitroaniline diazonium salt to tyrosine residues were analyzed, using the color depth  $K/S$  value of modified silk fibroin as the index. Meanwhile, the adsorption process and type of adsorption isotherm of coupling modification of diazonium salt to tyrosine residues were also studied in the experiments. Results show that the Zeta potential value of silk fibroin is reduced by alkali pretreatment, while the electron cloud density of the phenolic hydroxyl ortho carbon of tyrosine residues is increased, both of which promote the adsorption of silk fibroin fibers on diazonium salt and increase the rate of coupling modification reaction. The silk fibroin fibers are modified in a bath with  $n(\text{diazonium salt}) : n(\text{tyrosine}) = 2:3$  at pH of 6.8 at 5 °C for 45 min, and then a higher  $K/S$  value is obtained. Moreover, the adsorption isotherm of tyrosine residue coupling reaction conforms to the Langmuir model.

**Keywords** silk; tyrosine residue; coupling reaction;  $K/S$  value; adsorption isotherm

蚕丝丝素蛋白含有 18 种  $\alpha$ -氨基酸, 其中酪氨酸成分的质量分数高达 10.84%<sup>[1]</sup>, 且酪氨酸残基主要分布在丝素蛋白的无定形区和结构表面, 易受化学试剂的进攻和作用<sup>[2-3]</sup>, 具有较高的反应可及

度, 是丝素蛋白化学修饰的重要位点。目前, 对丝素蛋白的化学修饰主要为对氨基、酚羟基结构的酰化修饰, 对氨基、羧基结构的烷基化修饰, 对酚羟基的氧化修饰, 以及对残基中芳香环的取代反应修

收稿日期: 2017-10-16 修回日期: 2018-05-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(51503002); 安徽省自然科学基金项目(1608085QB43); 安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2016A796); 安徽工程大学中青年拔尖人才项目(2016BJRC007)

第一作者简介: 杨海伟(1991—)男, 硕士生。主要研究方向为纺织品生态加工技术。

通信作者: 王宗乾, E-mail: wzqian@ahpu.edu.cn。

饰<sup>[4-5]</sup>。其中酪氨酸残基结构中,因酚羟基的电子诱导效应,苯环酚羟基邻位碳极易发生芳环取代反应,该芳环取代修饰是丝素蛋白典型的特征修饰反应,极少受到其他反应位点的影响<sup>[6]</sup>。若采用芳胺重氮盐对丝素蛋白进行化学修饰将生成偶氮化合物,该修饰反应也被称为偶合修饰反应,且该修饰反应主要针对酪氨酸残基<sup>[7]</sup>。酪氨酸残基的化学修饰现已被广泛应用于蛋白质的标记与定量分析领域,如Cserep G. B.等<sup>[8]</sup>、Jakubowski等<sup>[9]</sup>等为标记和定量分析蛋白质样品,分别采用Pd(II)、碘分子对不同蛋白质中的酪氨酸残基进行化学修饰,并基于光谱特征实现了蛋白质的标记与分析;Pereira Navaza A等<sup>[10]</sup>通过IPy2BF<sub>4</sub>(二吡啶四氟硼化碘)试剂修饰酪氨酸残基,实现了对蛋白质样品的标记,并基于高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱(HPLC-ICP-MS)检测技术完成了对修饰蛋白质的定量分析。此外,Neel S. Joshi等基于了三组分曼尼希反应、重氮偶合反应机制对含酪氨酸残基的小分子蛋白质及多肽进行了化学修饰和标记<sup>[11-12]</sup>。Chen W等<sup>[13]</sup>将酪氨酸残基的偶合修饰应用在蚕丝纤维的染色领域,采用不同结构的芳胺化合物重氮盐实现对蚕丝酪氨酸残基的偶合修饰染色,修饰后蚕丝具有较高的耐洗和耐摩擦色牢度,丰富了蚕丝纤维的染色技术;同样基于酪氨酸残基偶合修饰反应性能,将紫外线吸收结构修饰到了蚕丝的酪氨酸残基上,提高了蚕丝的耐光稳定性<sup>[14]</sup>。

综上所述,丝素蛋白酪氨酸残基的偶合化学修饰条件较为温和,反应速率快,重氮组分与丝素蛋白之间形成共价修饰,具有较高的湿处理牢度,在蛋白的染色与功能化改性方面具有广阔的应用前景。目前较少关于蚕丝丝素酪氨酸残基参与偶合修饰的工艺因素与调控规律的研究报道,也缺少关于该修饰反应吸附速率曲线与吸附等温线的相关报道。为此,本文以偶合修饰后蚕丝丝素的颜色深度K/S值为衡量指标,分析了碱预处理、重氮盐组分的用量、时间、pH值、浴比等工艺参数对邻硝基苯胺重氮盐修饰酪氨酸残基的影响规律,同时研究了重氮盐对酪氨酸残基偶合修饰的吸附速率曲线、吸附等温线类型等内容,以期对丝素蛋白的化学修饰及其性能调控提供实验基础。

## 1 实验部分

### 1.1 实验材料与化学药剂

蚕丝织物(78 g/m<sup>2</sup>,淄博大染坊丝绸公司提供)。实验前,该蚕丝织物经质量分数为0.5%的

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液煮沸脱胶2次,每次各30 min,脱胶浴比为1:50,脱胶后蚕丝视为蚕丝丝素纤维。

药品:邻硝基苯胺、亚硝酸钠、无水碳酸钠、36%浓盐酸、尿素、氢氧化钠、柠檬酸钠、磷酸氢二钠(上海阿拉丁试剂有限公司)均为分析纯。

### 1.2 主要实验仪器

Rapid L-42 A-1型水浴恒温振荡器(厦门瑞比精密机械有限公司);HJ-5型多功能搅拌器(金坛市杰瑞尔有限公司);UV2600型紫外-可见分光光度计(上海天美公司);Datacolor 650型测色配色仪(美国Datacolor公司);Malvern Zetasizer Nano ZS90型粒度及电位分析仪(英国马尔文公司)。

### 1.3 蚕丝丝素纤维织物的碱预处理

为对比测试碱预处理对蚕丝丝素蛋白偶合修饰的影响,偶合修饰实验前1 h内,采用浸轧工艺对蚕丝丝素纤维进行碱预处理。具体工艺为:室温下织物先经10 g/L的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液浸渍30 min,浴比为1:100,之后进行浸轧,控制织物带液率为100%。

### 1.4 蚕丝丝素的偶合修饰

参考文献[15]制备邻硝基苯胺重氮盐,并配制不同pH值的缓冲溶液;然后在相同工艺条件下,分别对碱预处理与未处理的蚕丝丝素纤维进行偶合修饰,分析了碱预处理、重氮盐组分用量、pH值、时间等工艺参数对偶合修饰蚕丝丝素纤维K/S值的影响规律。

### 1.5 邻硝基苯胺重氮盐标准曲线的建立

为测试蚕丝丝素蛋白偶合修饰的吸附速率曲线与吸附等温线,首先建立了邻硝基苯胺重氮盐的标准曲线,如图1所示。标准曲线的回归方程式为 $Y = 7.33133X + 0.00893$ ,线性相关系数 $R^2$ 为0.99366,邻硝基苯胺重氮盐浓度范围为0.03 ~ 0.18 mmol/L。式中:Y为波长278 nm下的光度值;X为邻硝基苯胺重氮盐的浓度,mmol/L。

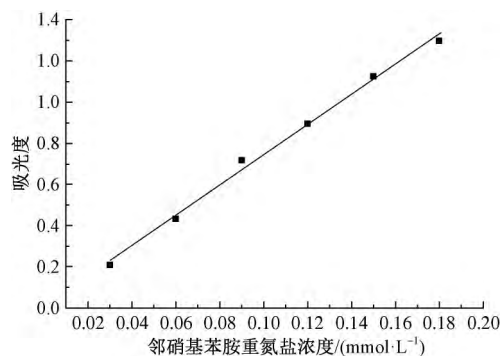


图1 邻硝基苯胺重氮盐标准曲线

Fig. 1 Standard curve of o-nitroaniline diazonium salt

## 1.6 测试方法

### 1.6.1 修饰蚕丝素纤维的 K/S 值测试

采用测色配色仪测试修饰蚕丝素纤维的 K/S 值。测试条件: 待测样品 2 次对折, D65 光源, 2°角, 采样孔径为 5 mm, 波段为 350 ~ 700 nm, 每块样品取 5 点处测试, 取其平均值。

### 1.6.2 蚕丝素纤维 Zeta 电位值测试

采用机械方法将蚕丝素纤维磨成粉末, 然后分别称取一定质量的纤维粉末, 浸渍于不同 pH 值的水溶液中, 磁力搅拌 10 min, 采用粒度及电位分析仪测试不同粉末样品的 Zeta 电位值。

### 1.6.3 偶合修饰的吸附过程测定

采用残液吸光度法, 测试不同反应时间后偶合修饰体系中邻硝基苯胺重氮盐在 278 nm 条件下的吸光度值, 依据邻硝基苯胺重氮盐的标准曲线求不同时刻的浓度, 并按照下式计算不同时刻邻硝基苯胺重氮盐在蚕丝素纤维上的吸附量, 绘制偶合修饰的吸附量-时间曲线<sup>[16]</sup>。

$$Q_t = \frac{(c_0 - c_t) V}{m}$$

式中:  $Q_t$  为  $t$  时刻邻硝基苯胺重氮盐在蚕丝素纤维上的吸附量, mmol/g;  $c_0$  为邻硝基苯胺重氮盐的初始浓度, mmol/L;  $c_t$  为  $t$  时刻邻硝基苯胺重氮盐的浓度, mmol/L;  $V$  为反应溶液的体积, L;  $m$  为蚕丝素纤维的质量, g。

### 1.6.4 吸附等温线的绘制

配制不同浓度的重氮盐反应液, 然后将质量为 1.00 g 的蚕丝素纤维分别投入到上述各反应液中, 控制偶合反应液 pH 值为 6.8, 反应浴比为 1:500, 于 5 °C 条件下进行偶合反应, 待吸附平衡后, 测定残液的吸光度值。根据标准曲线计算平衡时残液中的重氮盐组分质量浓度  $D_s$ , 按下式计算平衡时各纤维上的重氮盐组分吸附量  $D_f$ <sup>[17]</sup>。以  $D_f$  对  $D_s$  作图绘制吸附等温线。

$$D_f = \frac{(C_0 - C_{eq}) \cdot V}{m}$$

式中:  $C_0$  为反应液的起始质量浓度, mg/L;  $C_{eq}$  为吸附平衡时反应液的质量浓度, mg/L。

## 2 结果与讨论

### 2.1 修饰蚕丝素 K/S 值的影响因素

#### 2.1.1 碱预处理对 K/S 值的影响

测试了碱预处理和未处理的蚕丝素纤维在偶合修饰后的 K/S 值, 结果如图 2 所示。

由图可知, 碱预处理工艺对蚕丝素纤维偶合

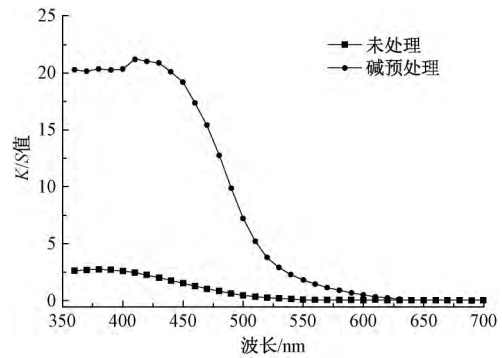
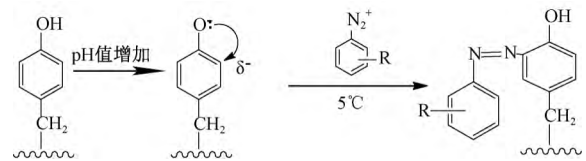


图 2 蚕丝素纤维的 K/S 值曲线

Fig. 2 K/S value curves of silk fibroin fiber

修饰有较大的影响, 在相同的偶合修饰工艺下, 碱预处理蚕丝素纤维呈黄色, 在 350 ~ 500 nm 波段具有较高的 K/S 值, 且得色较深。修饰后蚕丝素蛋白分子与邻硝基苯胺重氮盐分子结构形成大共轭结构<sup>[13]</sup>, 在可见光区产生特征吸收, 吸收强度与参与反应的酪氨酸残基数量成正比, 即蚕丝素蛋白中越多的酪氨酸残基参与修饰反应, 则修饰后蚕丝素纤维得色越深, 说明蚕丝素蛋白酪氨酸残基偶合修饰反应率越高。

综上, 蚕丝素纤维经碱预处理后, 酪氨酸残基参与偶合修饰的反应率增加。碱预处理后, 蚕丝素蛋白酪氨酸残基结构的酚羟基会发生电离形成苯氧基负离子, 使其电子云密度增加, 从而促进了偶合修饰反应的发生<sup>[4]</sup>, 推测碱预处理对蚕丝素蛋白酪氨酸残基电子云密度与偶合修饰反应的影响机制如图 3 所示。



注: ~~~~代表蚕丝素蛋白大分子。

图 3 芳胺重氮盐与蚕丝素蛋白酪氨酸残基的偶合反应

Fig. 3 Coupling reaction of aromatic amine diazonium salt with tyrosine residue on silk fibroin

为对比碱预处理后蚕丝素纤维 Zeta 电位值的变化, 同时测试了不同酸碱环境下蚕丝素纤维的 Zeta 电位值, 结果如图 4 所示。

由图可知: 蚕丝素纤维在强酸环境下带正电荷, 此时丝素蛋白发生碱式电离, 且纤维的 Zeta 电位值随 pH 值的升高而逐渐减小; 蚕丝素纤维的等电点处于 pH 值为 4 ~ 4.1 之间, 等电点后, 再随 pH 值的升高, 蚕丝素蛋白发生了酸式电离, 且随 pH 值的升高, 丝素纤维的 Zeta 电位值的绝对值逐渐升高, 表明纤维表面的负电荷效应更加显著: 因

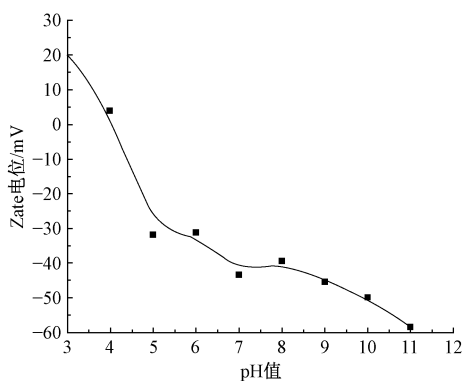


图4 不同 pH 值条件下蚕丝素纤维 Zeta 电位值

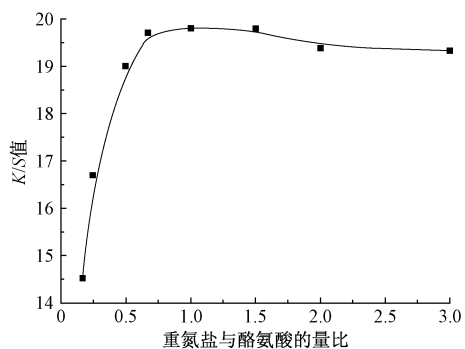
Fig.4 Zeta potential values of silk fibroin fiber at different pH values

此经碱预处理后,蚕丝素纤维表面带有较多负电荷,而未经碱预处理的蚕丝素纤维在偶合体系(pH 值为 6.8)下,纤维表面的负电荷量相对较少,且丝素蛋白或处于尚未电离状态,负电荷效应较低,对比之下,碱预处理后的蚕丝素纤维与重氮盐正离子之间发生偶合修饰反应的速率和效率将更高。

综上所述,蚕丝素纤维的碱预处理一方面增加了酪氨酸残基结构中酚羟基邻位碳的电子云密度,另一方面降低蚕丝素纤维的 Zeta 电位值,促使纤维带有更多的负电荷,二者将有利于丝素蛋白酪氨酸残基与重氮盐发生偶合修饰反应。

### 2.1.2 重氮盐组分用量对 $K/S$ 值的影响

依据邻硝基苯胺重氮盐与蚕丝素蛋白中酪氨酸成分的量比值,设定了 8 个反应梯度: 1/6、1/4、1/2、2/3、1、1.5、2.3,并在 5 °C 条件下反应 30 min,浴比为 1:100, pH 值为 6。测试了在不同重氮盐组分用量条件下偶合蚕丝素纤维的  $K/S$  值,结果如图 5 所示。

图5 重氮盐用量对蚕丝素纤维  $K/S$  值的影响Fig.5 Effect of dosage of diazonium salt on  $K/S$  value of silk fibroin fiber

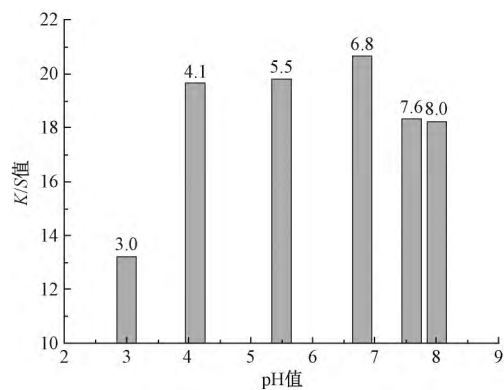
由图 5 可知,随着重氮组分用量的增加,修饰后蚕丝素纤维的  $K/S$  值逐渐升高,当  $n$ (重氮盐):

$n$ (酪氨酸) = 2:3 时,修饰纤维的  $K/S$  值趋于稳定,再持续增加重氮组分用量,  $K/S$  值几乎没有提高,表明该用量下,蚕丝素蛋白中酪氨酸残基的偶合修饰反应已达到平衡。当  $n$ (重氮盐):  $n$ (酪氨酸) = 2:3 时,丝素蛋白中酪氨酸残基参与的偶合修饰反应已达到平衡,原因与丝素蛋白的结构直接相关,丝素蛋白由结晶区和无定形区组成,酪氨酸成分在蛋白结晶区也有分布<sup>[6]</sup>,但仅丝素蛋白无定形区中的酪氨酸残基才有可能参与到与重氮盐的偶合修饰反应中,且酪氨酸残基参与修饰反应还可能与蛋白微结构及反应位阻有关<sup>[6]</sup>,具体影响仍有待进一步研究证明。

因酪氨酸残基与重氮盐之间的偶合修饰生成的是共价键连接,二者反应与物质的量比相关,在  $n$ (重氮盐):  $n$ (酪氨酸) = 2:3 的基础上,再继续增加重氮盐用量已无必要,同时增加重氮盐用量不利于调节反应浴的 pH 值;重氮盐组分过量也将加重后续污水的处理难度。

### 2.1.3 偶合反应的 pH 值对 $K/S$ 值的影响

偶合修饰 pH 值对修饰蚕丝素纤维  $K/S$  值的影响规律如图 6 所示。

图6 偶合 pH 值对蚕丝素纤维  $K/S$  值的影响Fig.6 Effect of pH values of coupling reaction on  $K/S$  value of silk fibroin fiber

由图 6 可知:当偶合反应的 pH 值在蚕丝素纤维等电点以下时其  $K/S$  值较低;当 pH 值在 3 ~ 6.8 之间时,随着偶合 pH 值升高,蚕丝素纤维的  $K/S$  值也随之增大。这是因为邻硝基苯胺重氮盐在强酸性条件下,反应活性较低,随着 pH 值升高,其反应活性逐渐提升,因此重氮盐与蚕丝素蛋白酪氨酸残基发生偶合修饰反应的活性增强,同时有利于促进更多的酪氨酸残基参与偶合修饰反应,但是当 pH 值超过 6.8,继续增大偶合反应的 pH 值时,蚕丝素纤维的  $K/S$  值不再增大反而降低,这是因为邻硝基苯胺重氮盐在较高的 pH 值条件下,重氮盐结构将由顺式逐渐向失去反应活性的反式结构转

变<sup>[18]</sup>削弱了重氮盐的偶合反应能力,造成偶合修饰蚕丝素纤维的  $K/S$  值降低。因此,本文实验选取偶合 pH 值为 6.8 为蚕丝素纤维获取最大  $K/S$  值的条件。

### 2.1.4 修饰时间对 $K/S$ 值的影响

偶合修饰反应时间对修饰蚕丝素纤维  $K/S$  值的影响规律如图 7 所示。

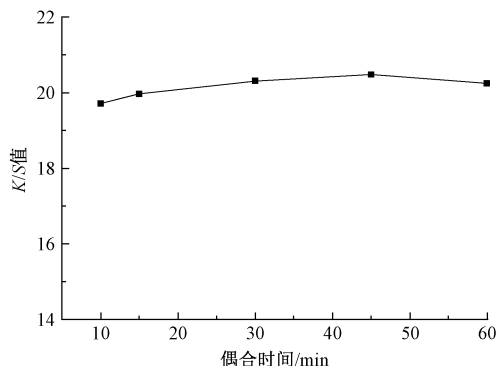


图 7 偶合时间对蚕丝素纤维  $K/S$  值的影响

Fig. 7 Effect of coupling time on  $K/S$  value of silk fibroin fiber

由图可知:当偶合反应时间不超过 45 min 时,随着偶合反应时间的延长,蚕丝素纤维的  $K/S$  值逐渐升高,但增加速率较为缓慢;当偶合时间达到 45 min 时,蚕丝素纤维的  $K/S$  值最大,为 20.47;随后再延长偶合时间,蚕丝素纤维的  $K/S$  值将不再增加反而降低。为确保可反应的酪氨酸残基全部参与修饰反应,本文实验选取偶合时间 45 min 为蚕丝素纤维获取最大  $K/S$  值的条件。

### 2.1.5 其他工艺因素对 $K/S$ 值的影响

偶合修饰自身是温和的反应体系,前期研究已证明提高偶合修饰温度将导致重氮盐分解变质,使其反应活性降低<sup>[19]</sup>,同时文献[4,6]表明低温下偶合反应可进一步提升修饰位点的专一性,减少酪氨酸残基偶合修饰反应中副反应的发生。为此,可认为进一步探讨提高偶合温度对蚕丝素蛋白酪氨酸残基偶合修饰的影响已经没有意义,因此,本文蚕丝素纤维的偶合修饰在 5 °C 条件下进行。

## 2.2 酪氨酸残基偶合修饰的吸附过程

依据 1.6.3 节方法,测试了邻硝基苯胺重氮盐在蚕丝素纤维上吸附量-时间曲线,结果如图 8 所示。

由图可知,重氮盐在蚕丝素纤维上的吸附时间短,吸附效率高,说明重氮盐与蚕丝素纤维反应用时短,反应速率高;特别在该修饰反应的初期,吸附速率曲线具有较高的斜率。蚕丝素纤维的偶合修饰反应具有的高效率是由该修饰反应机制决定

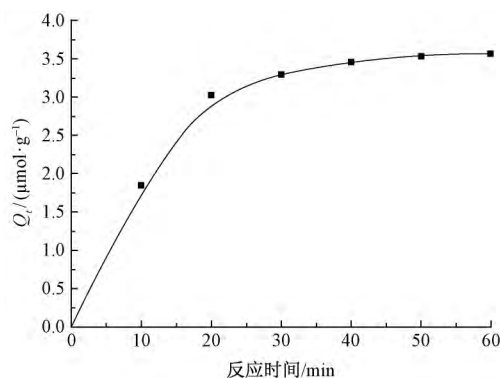


图 8 邻硝基苯胺重氮盐在蚕丝素纤维上的吸附过程

Fig. 8 Adsorption process of o-nitroaniline diazonium salt on silk fibroin fiber

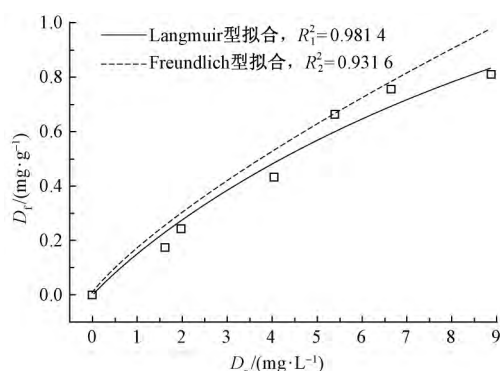
的,在偶合修饰条件下,碱预处理可促进丝素蛋白的酸式电离,纤维带有负电荷,纤维与重氮盐组分产生库伦引力,重氮组分与蚕丝素纤维具有较强的亲和力,蚕丝素纤维可在短时间内对重氮盐组分产生强烈吸附,此时不存在传统阴离子染料对蚕丝纤维染色过程中出现的双电子层阻碍纤维对染料离子吸附的问题;吸附到蚕丝素纤维表面的重氮组分可与酪氨酸残基中酚羟基的邻位发生亲电取代反应,碱预处理将使酚羟基发生电离形成苯氧基负离子,进一步增加酚羟基邻位富电子不饱和碳的电子云密度,使偶合修饰反应进一步加速。

由图 8 还可看出:在修饰反应初始阶段,重氮盐组分在蚕丝素纤维上强烈吸附并快速发生偶合反应;修饰反应 20 min 后,继续延长反应时间,重氮盐在蚕丝素纤维上的吸附量增加缓慢,反应时间达到 45 min 时,反应接近平衡,吸附量增加不再明显。

## 2.3 酪氨酸残基偶合修饰的吸附等温线

依据 1.6.4 节方法,在 0.03 ~ 0.18 mmol/L 的浓度范围内,采用 6 个不同起始浓度的邻硝基苯胺重氮盐分别对蚕丝素纤维进行偶合修饰,测试了邻硝基苯胺重氮盐在蚕丝素纤维上的吸附等温线,结果如图 9 所示。采用 Origin9.0 作图软件按照 Langmuir 型、Freundlich 型 2 种吸附类型的公式进行拟合,拟合公式<sup>[20]</sup>分别为  $y = Qbx/(1 + bx)$ ,  $y = Qx^b$ 。其中:  $Q$  为重氮盐在蚕丝素纤维上的吸附饱和值;  $b$  为吸附平衡常数,与吸附位点的亲和力有关。

由图 9 可知,Langmuir 型拟合曲线的相关系数  $R_1^2$  大于 Freundlich 型拟合曲线的相关系数  $R_2^2$ ,由此判断<sup>[16]</sup>,蚕丝素纤维的偶合修饰反应吸附等温线符合 Langmuir 类型。这是由于丝素蛋白酪氨酸残基中含有对羟基苯亚甲基,因酚羟基的电子



注:  $R_1^2$  和  $R_2^2$  分别为 Langmuir 型、Freundlich 型  
2 种拟合曲线的相关系数。

图9 邻硝基苯胺重氮盐在蚕丝丝素纤维上的吸附等温线

Fig. 9 Adsorption isotherms of o-nitroaniline diazonium salt on silk fibroin fiber

诱导效应,苯环酚羟基的邻位极易发生芳环取代反应,因此邻硝基苯胺重氮盐以单分子定位吸附在蚕丝丝素纤维上,即邻硝基苯胺重氮盐在蚕丝丝素蛋白酪氨酸残基中苯环酚羟基邻位上发生偶合反应,蚕丝丝素纤维与邻硝基苯胺重氮盐通过偶氮键结合<sup>[12]</sup>,比较符合 Langmuir 型吸附等温线。

### 3 结论

1) 碱预处理是影响蚕丝丝素蛋白酪氨酸残基与邻硝基苯胺重氮盐发生偶合修饰反应的重要因素;碱预处理可促使酪氨酸残基中酚羟基电离,增加酚羟基邻位碳的电子云密度,同时碱预处理降低了丝素蛋白的 Zeta 电位值,二者作用均有助于丝素蛋白对邻硝基苯胺重氮盐的吸附并与其发生偶合修饰反应。

2) 经单因素优化,经邻硝基苯胺重氮盐偶合修饰的蚕丝丝素纤维在  $n(\text{重氮盐}) : n(\text{酪氨酸}) = 2:3$ , pH 值为 6.8, 温度为 5 °C 条件下反应 45 min 可获得较高的  $K/S$  值;

3) 丝素蛋白酪氨酸残基与邻硝基苯胺重氮盐的偶合修饰反应具有较高的反应速率,该修饰反应耗时短;分别采用 Langmuir 与 Freundlich 模型反应的吸附等温线进行拟合对比,发现丝素蛋白的偶合修饰反应更符合 Langmuir 模型。 FZXB

#### 参考文献:

- [1] WANG Z, CHEN W, CUI Z, et al. Studies on photoyellowing of silk fibroin and alteration of its tyrosine content[J]. The Journal of The Textile Institute, 2016, 107(4): 413-419.
- [2] SALMEEN A, ANDERSEN J N, MYERS M P, et al. Redox regulation of protein tyrosine phosphatase 1B involves a sulphenyl-amide intermediate [J]. Nature, 2003, 423(6941): 769-773.
- [3] 郑今欢,邵建中,刘今强. 蚕丝丝素蛋白中酪氨酸分布的初探[J]. 纺织学报, 2001, 22(6): 351-353. ZHENG Jinhuan, SHAO Jianzhong, LIU Jinqiang. A preliminary study on the distribution of tyrosine in silk fibroin[J]. Journal of Textile Research, 2001, 22(6): 351-353.
- [4] 周海梦,王洪睿. 蛋白质化学修饰[M]. 北京: 清华大学出版社, 1998: 19-43. ZHOU Haimeng, WANG Hongrui. Protein Chemical Modification [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 1998: 19-43.
- [5] 陶慰孙,李惟. 蛋白质分子基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 1995: 122-157. TAO Weisun, LI Wei. Molecular Basis of Protein[M]. Beijing: Higher Education Press, 1995: 122-157.
- [6] JOSHI N S, WHITAKER L R, FRANCIS M B. A three-component mannich-type reaction for selective tyrosine bioconjugation [J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126(49): 15942-15943.
- [7] MURPHY A R, JOHN P S, KAPLAN D L. Modification of silk fibroin using diazonium coupling chemistry and the effects on hMSC proliferation and differentiation [J]. Biomaterials, 2008, 29(19): 2829-2838.
- [8] CSEREP G B, HERNER A, WOLFBEIS O S, et al. Tyrosine specific sequential labeling of proteins [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2013, 23(21): 5776-5778.
- [9] JAKUBOWSKI N, MESSERSCHMIDT J, ANORBE M G, et al. Labelling of proteins by use of iodination and detection by ICP-MS [J]. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2008, 23(11): 1487-1496.
- [10] PEREIRA Navaza A, ENCINAR J R, BALLESTEROS A, et al. Capillary HPLC-ICPMS and tyrosine iodination for the absolute quantification of peptides using generic standards [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(13): 5390-5399.
- [11] MCFARLAND J M, JOSHI N S, FRANCIS M B. Characterization of a three-component coupling reaction on proteins by isotopic labeling and nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Journal of the American Chemical Society, 2008, 130(24): 7639-7644.
- [12] ROMANINI D W, FRANCIS M B. Attachment of peptide building blocks to proteins through tyrosine bioconjugation [J]. Bioconjugate Chemistry, 2007, 19(1): 153-157.
- [13] CHEN W, WANG Z, CUI Z, et al. Study on coloration of silk based on coupling reaction with a diazonium compound [J]. Fibers and Polymers, 2014, 15(5):

- 966 – 970.
- [14] CHEN W , WANG Z , CUI Z , et al. Improving the photostability of silk using a covalently-bound UV absorber[J]. *Polymer Degradation and Stability* ,2015 , 121: 187 – 192.
- [15] 王宗乾. 蚕丝蛋白质酪氨酸残基化学修饰及其耐光稳定性能研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2016: 75 – 76.  
WANG Zongqian. Chemical modification of tyrosine residues of silk protein and the effect on its light stabilization [ D ]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University ,2016: 75 – 76.
- [16] 李丹,董锁拽,翁伟明,等. 蚕丝纤维吸附辛基酚聚氧乙烯醚的动力学研究[J]. *纺织学报*, 2011 , 32( 9 ): 64 – 68.  
LI Dan , DONG Suoye , WENG Weiming , et al. Study on adsorption kinetics of octylphenol ethoxylates onto silk fiber[J]. *Journal of Textile Research* , 2011 , 32( 9 ) : 64 – 68.
- [17] 王遥,朱青,胡春艳 等. 改性聚乙烯醇 – 乙烯共聚物纳米纤维膜对重金属离子的吸附性能[J]. *纺织学报*, 2017 , 38( 6 ): 11 – 16.  
WANG Yao , ZHU Qing , HU Chunyan , et al. Adsorbability of modified poly ( vinyl alcohol-co-ethylene) nanofiber membrane to heavy metal ions [J]. *Journal of Textile Research* ,2017 ,38( 6) : 11 – 16.
- [18] 卢俊瑞,马霞苗,刘梅,等. 邻氨基二苯醚类重氮盐的水解及分子内缩合反应[J]. *高等学校化学学报*, 2007 , 28(11) : 2081 – 2085.  
LU Junrui , MA Xiamiao , LIU Mei , et al. Hydrolysis and intra-molecular condensation of o-amino diphenyl ether diazonium salts [J]. *Chemical Journal of Chinese Universities* ,2007 ,28( 11) : 2081 – 2085.
- [19] 何铠君,王宗乾,崔志华,等. 三氟乙酸法制备邻硝基苯胺重氮盐及其稳定性分析[J]. *浙江理工大学学报*, 2015 , 33( 1 ): 16 – 19.  
HE Kaijun , WANG Zongqian , CUI Zhihua , et al. Preparation of o-nitroaniline diazonium salt with trifluoroacetic acid and its stability analysis [J]. *Journal of Zhejiang Sci-Tech University* ,2015 , 33( 1 ): 16 – 19.
- [20] 赵海凤,汪澜,林俊雄. 超声波对棉织物活性染料染色的作用机制[J]. *纺织学报*, 2009 , 30( 3 ): 62 – 66.  
ZHAO Haifeng , WANG Lan , LIN Junxiong. Mechanism of ultrasonic dyeing of cotton fabric with reactive dyes [J]. *Journal of Textile Research* , 2009 , 30( 3 ) : 62 – 66.

(上接第 101 页)

- [12] LIU Zhe , RONG Xing , WANG Xiuchen , et al. Influence of hole on shielding effectiveness of electromagnetic shielding fabric under incident polarization wave [J]. *International Journal of Clothing Science and Technology* ,2015 ,27( 5) : 612 – 627.
- [13] 刘顺华,刘军民,董星龙. 电磁波屏蔽及吸波材料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 211.  
LIU Shunhua , LIU Junmin , DONG Xinglong. Electromagnetic Wave Shielding and Absorbing Materials [M]. Beijing: Chemical Industry Press ,2007: 211.
- [14] 孙天厚,邓建国,张军华. 水性导电涂料导电性能及屏蔽效能研究[J]. *功能材料与器件学报*, 2011 , 17( 3 ): 302 – 306.  
SUN Tianhou , DENG Jianguo , ZHANG Junhua. Study on the conductivity and shielding effectiveness of waterborne conductive coatings [J]. *Journal of Functional Materials and Devices* ,2011 ,17( 3) : 302 – 306.
- [15] 梁然然,肖红,王妮. 电磁屏蔽织物屏蔽效能理论计算的研究进展[J]. *纺织学报*, 2016 , 37( 2 ): 161 – 169.  
LIANG Ranran , XIAO Hong , WANG Ni. Review on theoretical calculation of shielding effectiveness of electromagnetic shielding fabrics [J]. *Journal of Textile Research* ,2016 ,37( 2) : 161 – 169.
- [16] 杜增智,王健红,李慎彬,等. 基于观测数据的数学模型预测性检验理论[J]. *计算机与应用化学*, 2009 , 26( 1 ): 97 – 100.  
DU Zengzhi , WANG Jianhong , LI Shenbin , et al. Theory of mathematical model predictive test based on observational data [ J ]. *Computers and Applied Chemistry* ,2009 ,26( 1) : 97 – 100.