

利用红外光谱评价文物微环境中有机酸对蚕丝纤维化学结构影响

罗曦芸^{1,2}, 马雯婷¹, 武敬青¹, 耿金培³, 李晓玉³, 李秀勇³, 杜一平^{1*}

1. 华东理工大学, 上海市功能性材料化学重点实验室, 上海 200237

2. 上海博物馆, 文物保护与考古科学实验室, 上海 200050

3. 烟台出入境检验检疫局技术中心, 山东 烟台 264000

摘要 研究文物微环境污染因素对文物材料影响是分析文物老化原因和妥善保存文物的重要基础。利用红外光谱(FTIR/ATR)剖析了文物微环境中甲酸、乙酸气体对蚕丝纤维结构影响。结果表明: 低浓度甲酸气体能减弱纤维分子内氢键, 使酰胺 I ($1\,617\text{ cm}^{-1}$) 谱峰减弱、酰胺 II 谱峰($1\,515\text{ cm}^{-1}$)变窄、无规线团构象的酰胺 III 谱峰($1\,230\text{ cm}^{-1}$)增强、纤维结晶度下降; 当浓度高于 $8.1\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时, 呈 β -折叠构象的肽链段(GlyAla)_n 特征谱峰($1\,000, 975\text{ cm}^{-1}$)增强、纤维结晶度提高。分析认为呈无规线团构象的短肽链发生 β -折叠构象转变。乙酸气体对酰胺 I 和酰胺 II 谱峰影响不明显, 但能引起无规线团构象增加和纤维结晶度降低, 其作用弱于甲酸气体。本研究为进一步分析丝织品保存环境污染物的危害作用提供基础数据。

关键词 蚕丝纤维; 有机酸; 红外光谱; 构象变化

中图分类号: G264 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2012)04-0921-04

引言

过去几十年来, 随着文物保护意识的不断增强, 文物展览装饰材料产生的污染气体对馆藏文物损害影响逐渐得到高度关注。常用装饰材料如木材、塑料、纺织品、涂料、粘合剂等所释放的挥发性污染气体, 如含硫化物、甲醛、甲酸、乙酸、烯烃、芳香烃等^[1, 2]对文物构成严重威胁。其中甲酸、乙酸是装饰材料释放物中最主要的有机酸, 这类污染气体在大气环境研究中, 可能因毒性相对较低, 不被作为主要污染物, 但在密闭的文物陈列和储藏微环境中, 浓度会日积月累不断增加并被文物吸附, 使文物受到损害。近年来国内外博物馆均发现有机酸能引起铜合金、铅质器物表面风化, 使珐琅、陶器等文物腐蚀脆化, 使颜料、染料褪色, 使纺织品纤维劣化等现象, 成为博物馆最常见和最具威胁的污染物之一。

丝织品文物是有机质文物, 相对金属、砖、石等无机类文物更脆弱, 受外界环境因素包括污染气体作用极易变色脆化。关于光、热环境因素对蚕丝纤维分子结构的影响国内外已有研究报道^[3], 但关于文物微环境污染物的影响作用的研究报道目前还十分有限, 特别对于博物馆陈列环境中普遍存

在的甲酸乙酸等有机酸性气体污染与丝织品衰变关系方面的研究几乎是空白。这给文物保护工作者制定保护方案、藏展环境设计带来极大的盲目性。本工作利用衰减全反射红外光谱(ATR)无损表征技术, 研究甲酸和乙酸污染气体对蚕丝纤维分子结构影响, 为建立博物馆丝织品文物微环境无损评价方法开拓新的途径。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

蚕丝纤维: 标准白色桑蚕丝纺织品, 标准号为 GB/T7568.6-2002。红外光谱仪: Nicolet is10 傅里叶变换红外光谱仪器(Thermo Scientific, 美国), 配备 Smart iTR ATR 附件, 金刚石反射晶体。

1.2 污染气体浓度和试验方法

以 2.6 L 玻璃容器为模拟环境舱, 采用饱和蒸汽压法发生污染气体。分别取不同体积甲酸($25.9\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、冰乙酸($17.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)分析纯试剂配置 10 mL 呈一定浓度梯度溶液, 倒入玻璃容器中作为污染源, 将 $20\times 20\text{ mm}$ 的小块蚕丝纤维样品挂入液体上方, 并使容器密闭。试验时, 将环境舱置于 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅中 10 d。取出自然凉干备用。经甲酸、

收稿日期: 2011-08-29, 修订日期: 2011-11-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(20975039)和烟台科技局项目(2010145)资助

作者简介: 罗曦芸, 女, 1962年生, 上海博物馆研究馆员 e-mail: luoxiyun@163.com

* 通讯联系人 e-mail: yipingdu@ecust.edu.cn

乙酸气体处理后的样品分别称为样品组 1(Sample 1)和样品组 2(Sample 2)。通过调节污染物溶液浓度和利用 Antoine 蒸汽压方程计算得到环境舱中各 20 个试验浓度。其中甲酸为 $0 \sim 63.0 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$, 乙酸为 $0 \sim 64.0 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 。

1.3 红外光谱采集和光谱校正

样品光谱采集采用 ATR 测量模式, 扫描次数 128 次, 分辨率 2 cm^{-1} , 波长范围: $550 \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$ 。每个样品变换位置, 重复采集 5 次光谱, 计算平均光谱。为了消除样品表面不均匀引起的光散射和测量环境引起的光谱基线漂移, 以光谱相对稳定的、反映蚕丝纤维碳氢弯曲振动的 $1\,445 \text{ cm}^{-1}$ 谱峰^[4]为内标峰对光谱进行校正。

2 结果与讨论

2.1 蚕丝纤维和污染物光谱

天然蚕丝主要由丝素和丝胶构成。丝纤维织物加工制造经过煮茧、缫丝、精练、复摇、整理、织造等工序后已完全脱胶, 因此丝织品中蚕丝纤维主要成分为天然高分子纤维蛋白(丝素蛋白), 富含人体必需的 18 种氨基酸。对实验用蚕丝纤维进行氨基酸分析, 得出其主要成分为甘氨酸(1.51×10^{-4}

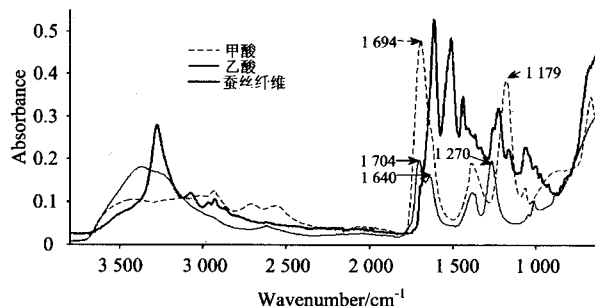


Fig. 1 FTIR spectra of pollutants and silk fabric

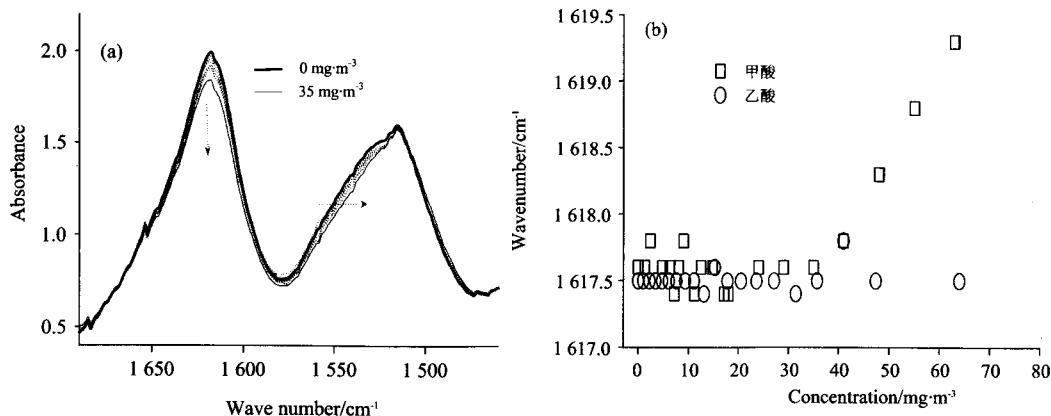


Fig. 2 Changes of amide I and amide II band in sample 1 and sample 2

(a): Spectral changes of amide I and amide II of Sample 1; (b): Spectral shift of amide I of sample 1 and sample 2

为了进一步分析污染气体对蚕丝纤维二次结构的影响, 我们分别考察了归属于酰胺 III 无规线团和 β -折叠构象的 $1\,230$ 和 $1\,263 \text{ cm}^{-1}$ 谱峰。

由图 3 看出, 乙酸气体作用下 $1\,230 \text{ cm}^{-1}$ 谱峰逐渐增

$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、丙氨酸($1.05 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、丝氨酸($3.69 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和酪氨酸($1.29 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。蛋白质空间构象可分为无规线团、 β -折叠和 α -螺旋, 其中 β -折叠构象又分为平行 β -折叠和反平行 β -折叠两种构象, 蚕丝纤维中丝蛋白二次结构主要为反平行 β -折叠和无规线团构象, 这些构象通过氢键($-\text{NH} \cdots \text{O}=\text{C}-$)相互连接。

图 1 为分析纯甲酸($25.9 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、乙酸($6.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)液体以及蚕丝纤维的红外光谱, 图中 $1\,694$ 和 $1\,704 \text{ cm}^{-1}$ 谱峰分别为甲酸和乙酸的羧基吸收峰, $1\,640 \text{ cm}^{-1}$ 为水溶液的吸收峰, 这些谱峰与蚕丝纤维主要功能团酰胺基出现在 $1\,617 \text{ cm}^{-1}$ (酰胺 I)和 $1\,515 \text{ cm}^{-1}$ (酰胺 II)谱峰不发生重合。在波数位置低于 $1\,400 \text{ cm}^{-1}$ 的指纹区, 甲酸、乙酸在 $1\,179$ 和 $1\,270 \text{ cm}^{-1}$ 处谱峰与反映蚕丝纤维酰胺 III 无轨线团构象($1\,230 \text{ cm}^{-1}$)和 β -折叠构象($1\,263 \text{ cm}^{-1}$)谱峰^[5]不重合、与反映(AlaGly)_n 肽链段 β -折叠构象中 CH_3 摇摆振动和 $\text{C}_\alpha\text{C}_\beta$ 伸缩振动谱峰($1\,000$ 和 976 cm^{-1})^[6]也不重叠, 因此通过分析这些峰的波数变化, 可了解和分析污染气体对蚕丝纤维酰胺键振动和分子构象变化的影响。

2.2 蚕丝纤维分子构象和结晶度变化分析

蚕丝纤维主要成分丝素中相邻氨基酸 α -羧基和 α -氨基缩合形成的酰胺键($-\text{NH}-\text{CO}-$), 能灵敏反映蛋白质结构信息和两次结构变化, 是利用红外光谱研究蛋白质构象时最重要的功能团。图 2(a)为蚕丝纤维在浓度低于 $35 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 的甲酸气体作用下酰胺 I 谱峰($1\,617 \text{ cm}^{-1}$)和酰胺 II 谱峰($1\,515 \text{ cm}^{-1}$)变化趋势。可以看出酰胺 I 谱峰逐渐减弱, 酰胺 II 谱峰变窄, 表明酰胺基化学环境发生变化, 使参与酰胺 I 碳氧伸缩振动和酰胺 II 碳氮氢组合振动的各原子间偶极距减小, 肽链间氢键有所减弱。但随着甲酸气体浓度继续增加, 酰胺 I 谱峰又出现增强并且峰位由 $1\,617.5$ 向 $1\,619.5 \text{ cm}^{-1}$ 的位移[图 2(b)]。实验发现乙酸气体对酰胺 I 和酰胺 II 谱峰无明显影响作用。

强, 即无规线团构象增多, 表明肽链间氢键作用减弱或破坏, 多肽链主链骨架上肽段的空间排布规则性减弱。甲酸气体作用初期, 同样表现为无规线团构象增多, 但随着浓度继续增加至 $8.1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 以上, 无规线团构象出现明显减少趋

势。从图 3(b)看,在两种污染气体作用下,反映长肽链 β -折叠构象的 $1\,263\text{ cm}^{-1}$ 谱峰强度并没有明显变化。依据蚕丝纤维红外光谱研究中,把 $1\,263\text{ cm}^{-1}$ 谱峰强度相对于 $1\,263$ 和 $1\,230\text{ cm}^{-1}$ 谱峰强度之和定义为蚕丝纤维结晶度的方法^[6],计算得出污染气体作用下二组样品纤维结晶度变化如图 4(a)。可以看出,当乙酸气体浓度低于 $4.7\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时,纤维结晶度呈现比较明显的下降趋势,之后趋于平缓,而甲酸气体作用初期(浓度低于 $8.1\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$)纤维结晶度也呈现下降过程,后明显上升。结合图 3 中 $1\,230$ 和 $1\,263\text{ cm}^{-1}$ 谱峰强度变化,不难发现引起如图 4(a)中纤维结晶度变化的主要原

因在于二次结构中无规线团构象的变化,结晶度增加表明蚕丝纤维中短程有序结构增多。

图 4(b)为蚕丝纤维主要结构单元 6 残基重复短肽链段 $(\text{AlaGly})_n$ 呈 β -折叠构象时在 $1\,000$ 和 975 cm^{-1} 位置的特征谱峰^[6],图中甲酸气体浓度高于约 $8.1\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时,两谱峰出现一致增强趋势进一步说明短程无规线团构象的 AlaGly 肽链段在甲酸分子作用下转化为有序 β -折叠构象。这一实验结果也印证了“甲酸可促使丝蛋白产生 β -折叠结构”的推测^[7]。

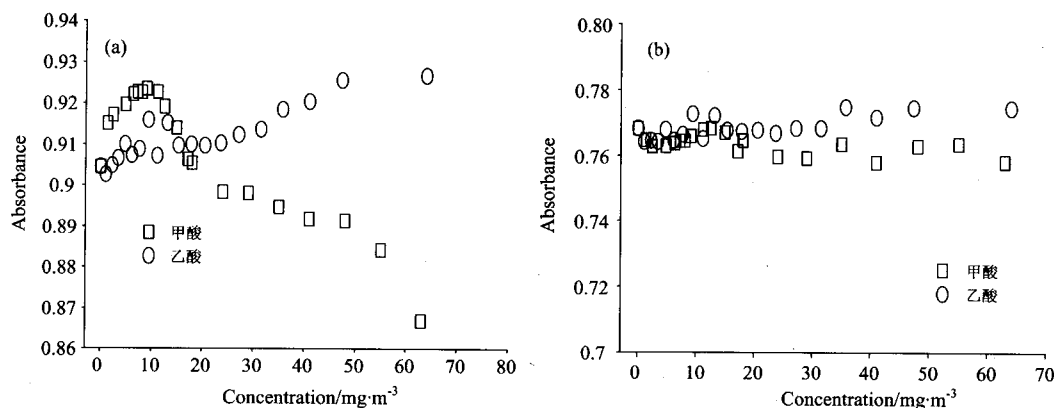


Fig. 3 Changes of amide III in sample 1 and sample 2

(a): Peak at $1\,230\text{ cm}^{-1}$; (b): Peak at $1\,263\text{ cm}^{-1}$

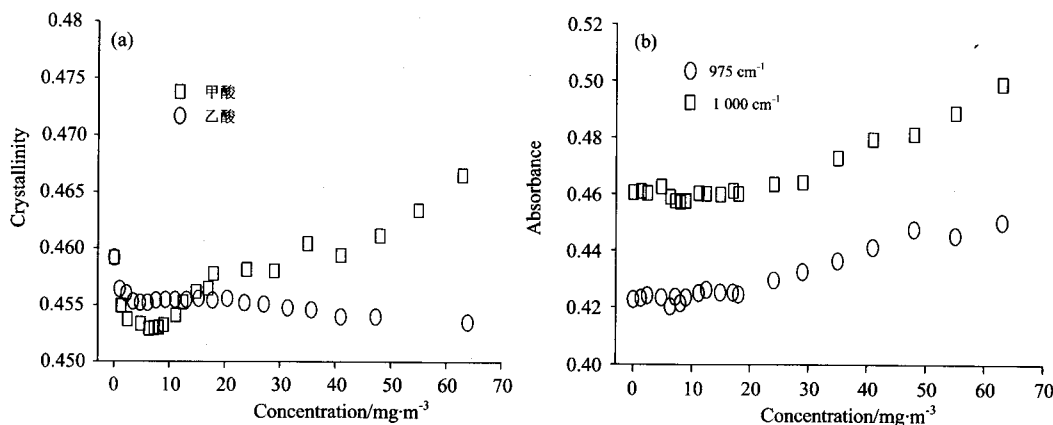


Fig. 4 Changes of crystallinity and the absorbance of $(\text{AlaGly})_n$ in sample 1 and sample 2

(a): Changes of the crystallinity; (b): Changes of $(\text{AlaGly})_n$ peptide chain

2.3 有机酸气体对蚕丝纤维作用机理分析

综上所述值得关注的现象是:(1)在甲酸气体作用下,蚕丝纤维结晶度出现先减弱后增强现象,以及结晶度突变浓度($8.1\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$)低于酰胺 I 出现高波数位移浓度($35\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$)。(2)乙酸气体浓度高于甲酸气体时,没有出现纤维结晶度呈相反上升变化。因此推测甲酸特殊分子结构和蚕丝纤维蛋白化学性质是引起上述现象的重要原因。当蚕丝纤维暴露于甲酸环境中时,在一定环境湿度下,甲酸分子进入多肽链网格间形成“微溶液”,因极性分子与纤维蛋白分子内氢键发生竞争作用,使原稳定多肽链构象的重要作用力氢键有所减弱,表现为酰胺 I 谱峰强度减弱和酰胺 II 谱峰变窄、无规线团构象增加、结晶度降低现象。随着甲酸浓度提高,带负

电荷 $-\text{COO}^-$ 增多,在诱导效应作用下,分子构象发生转变。由于蚕丝蛋白中存在倾向于形成 β -折叠构象的丙氨酸甘氨酸交替排列的一级结构,能够通过氢键重组发生构象转变,又因高分子构象出现转变时,总是避开通过整个大分子运动^[8],因此当甲酸浓度为 $8.1\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$ 时,呈无规线团构象的短肽链先出现 β -折叠转变[如图 3(a),图 4(b)],并趋于形成稳定的反平行 β -折叠构象,使 N, H, O 三原子几乎处在同一条直线上,氢键最强。当甲酸浓度继续提高至 $35\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$,氢键作用更明显时,出现酰胺 I 谱带高波数移动现象[见图 2(b)]。乙酸分子中因甲基具有斥电子效应,其酸性 ($\text{PKa}=4.74$) 小于甲酸 ($\text{PKa}=3.77$),不利于羧基解离。虽然乙酸分子也可参与纤维蛋白分子内氢键竞争,使原氢键减

弱,但在多肽链网格中形成的“微溶液”pH 值和少量带负电荷的 $-\text{COO}^-$ 数量所产生的诱导效应,不足以使蚕丝纤维分子构象发生明显变化,因此不出现纤维结晶度由降低转为上升变化。

3 结 论

运用衰减全反射红外光谱无损分析技术,研究博物馆文

物微环境常见甲酸、乙酸污染气体对蚕丝纤维分子结构影响作用。结果表明:甲酸和乙酸气体都将引起蚕丝纤维原长肽链间氢键减弱。其中甲酸的影响作用最明显,当浓度高于 $8.1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$,蚕丝纤维短肽链将发生 β -折叠构象转变,纤维结晶度升高。通过比较酰胺基各个谱带变化认为,酰胺Ⅲ无规线团谱峰和纤维结晶度能灵敏反映出污染气体的影响。以上结果为进一步研究污染气体危害作用和丝织品保存环境空气质量控制提供了实验基础。

References

- [1] Weschler C J. Atmos. Environ., 2009, 43: 153.
- [2] Weschler C J, Nazaroff W W. Atmos. Environ., 2008, 42: 9018.
- [3] Glisovic A, Salditt T. Appl. Phys., 2007, 87: 63.
- [4] Andreas Barth. Biochim. Biophys. Acta, 2007, 1767: 1073.
- [5] Shao J Z, Zheng J H, LIU J Q, et al. J. Appl. Polym. Sci., 2005, 96: 1999.
- [6] Taddei P, Monti P. Biopolymers, 2005, 78: 249.
- [7] Kweon H Y, Ha H C, Um I C, et al. J. Appl. Polym. Sci., 2001, 80: 928.
- [8] CHEN Xin, SHAO Zheng-zhong, Knight D P, et al(陈 新, 邵正中, Knight D P, 等). Acta Chimica Sinica(化学学报), 2002, 60: 2203.

Infrared Spectroscopy Investigation on Conformational Change of Silk Fiber Induced by Gaseous Organic Acids Existing in Museum

LUO Xi-yun^{1,2}, MA Wen-ting¹, WU Jin-qing¹, GENG Jin-pe³, LI Xiao-yu³, LI Xiu-yong³, DU Yi-ping^{1*}

1. Shanghai Key Laboratory of Functional Materials Chemistry and Research Centre of Analysis and Test, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China
2. Conservation & Archaeology Laboratory, Shanghai Museum, Shanghai 200050, China
3. Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau of Yantai Technology Center, Yantai 264000, China

Abstract Study on the impact of pollutants on cultural materials in storing or displaying micro-environment in museum is considered as very important for the preservation of cultural relics and its aging prevention. This paper applied the Fourier transform infrared (attenuated total reflection) technique to assess silk structural changes under volatile organic acids (formic acid/acetic acid), which usually come from decorative materials emission and commonly exist in the surface or around cultural materials. The focus of this work was on investigating the changes of peptide bond in the area of amide I-amide III, as well as the peptide chains $(\text{GlyAla})_n$ characteristic region. The structural and conformational changes in silk fiber treated with gaseous formic and acetic acid were assessed. The results indicate that both the gaseous acids can weaken the intermolecular hydrogen bond in fiber peptide, based on the spectral changes in the increased intensity of amide I (1617 cm^{-1}), the narrowing amide II peak (1515 cm^{-1}), the increased intensity of random coil conformation in amide III peak (1230 cm^{-1}), and the decreased fiber crystallinity as well. The obvious secondary structural conformation occurred when the concentration of gaseous formic acid reached $8.1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ in simulated environment. The conformational transformation was supported by the observation of the rapidly reduced random coil conformation, the increased short peptide chains $(\text{GlyAla})_n$ with β -sheet conformation characteristic peak ($1000, 975 \text{ cm}^{-1}$), and the enhanced fiber crystallinity degree as well. In contrast, gaseous acetic acid has less impact on the amide I and amide II bond based on the spectral changes, but it did promote random coil conformation and decreased fiber crystallinity. This work also provides a potential application of the infrared spectroscopy in non-destructive investigation of silk *in-situ*.

Keywords Silk fiber; Organic acid; Infrared spectroscopy; Conformational change

* Corresponding author

(Received Aug. 29, 2011; accepted Nov. 28, 2011)