

文章编号: 0253-9721(2007)04-0064-05

一氯均三嗪型染料与蚕丝纤维键合的 HPLC 研究

王海峰¹, 陈建村¹, 杨静新¹, 张瑞萍¹, 邵建中²

(1. 南通大学 化工学院, 江苏 南通 226007; 2. 浙江理工大学 材料与纺织学院, 浙江 杭州 310018)

摘要 采用高效液相色谱法定量研究一氯均三嗪型活性染料与酪氨酸模拟蚕丝纤维的结合情况, 从而探讨活性染料与蚕丝纤维的键合机制。通过测定不同温度、pH 值条件下染料的水解和酪氨酸的电离色谱峰面积, 对活性染料与酪氨酸结合情况进行研究。结果表明: 活性染料的水解量与色谱峰面积有较好的线性关系; 活性染料与蚕丝纤维的模拟物酪氨酸的反应程度与酪氨酸的电离率及未水解的活性染料两者均有关, 在 pH 值为 9.5、温度 85 °C 附近, 活性红 K-2BP 与酪氨酸的结合率最大。

关键词 高效液相色谱; 活性染料; 蚕丝; 酪氨酸

中图分类号: TSI93.632 文献标识码: A

HPLC study of the bonding of MCT reactive dye with silk fiber

WANG Haifeng¹, CHEN Jiancun¹, YANG Jingxin¹, ZHANG Ruiping¹, SHAO Jianzhong²

(1. College of Chemistry & Chemical Engineering, Nantong University, Nantong, Jiangsu 226007, China;

2. College of Materials & Textile, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China)

Abstract HPLC was adopted to perform a quantitative research on the bonding of MCT reactive dye with silk fiber which was simulated by tyrosine, and their bonding mechanism was investigated. The bonding of reactive dye with tyrosine at different temperatures and different pH values was examined through testing the hydrolysate of the reactive dye and ionization chromatogram peak area of tyrosine. It shows that there is a linear relation between the hydrolyzing ratio of reactive dye and HPLC peak area. The reaction degree of reactive dyes with tyrosine is related with both ionization degree of tyrosine and non-hydrolyzed dyes. When pH value is 9.5, temperature is 85 °C, the strongest bonding between Reactive Red K-2BP and tyrosine is achieved.

Key words HPLC; reactive dyes; silk; tyrosine

活性染料水解速率一般可采用分光光度法^[1]、滴定总碱度法^[2]、电位滴定游离氯^[3]、色层分析法^[4]或薄层层析法^[5]等方法测定, 但局限性较大, 有的灵敏度不高, 有的操作极不方便, 难以推广, 给研究工作带来一定的困难。本文在总结前人工作经验的基础上, 摸索出能够分离、分析染料类化合物的高效液相色谱分离条件。在这种条件下, 一般的染料类化合物都能得到较好的保留时间、分离度和较理想的分离峰形, 能够用于样品的定性分析。在对一氯均三嗪染料进行水解动力学研究的同时, 进一步探讨蚕丝纤维的模拟物酪氨酸在不同条件下的电离状况和染料与酪氨酸键合反应及条件。

1 试验部分

1.1 活性染料水解动力学研究

1.1.1 仪器及试剂

仪器: Agilent 1100 Series 高效液相色谱。

试剂: 乙腈(HPLC级), 水(二重蒸馏水), 活性染料(工业级), 氢氧化钠(AR), 四丁基溴化铵(AR), 磷酸二氢铵(AR), 碳酸钠(AR), 碳酸氢钠(AR)。

1.1.2 色谱条件

色谱柱: Hypersil ODS, 5 μ m, 4.6 \times 250 mm C18

收稿日期: 2005-11-10

修回日期: 2006-12-15

基金项目: 南通大学自然科学基金资助项目(05Z024); 江苏省科技厅资助项目(BE006347)

作者简介: 王海峰(1979—), 男, 助教, 硕士。主要从事染色理论与染整新工艺研究。E-mail: licol_1979@126.com。

柱;流动相为水-乙腈,经反复试验发现可用 A 溶液(0.025 mol/L 的 $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{Br}^-$, 0.010 mol/L 的 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 的去离子水)与 B 溶液(100% CH_3CN) 的混合液作流动相;检测波长为染料的最大吸收波长 λ_{max} ;测定灵敏度为 0.04 AUFS;流速为 1.1 mL/min;柱温为 30 °C。按溶剂梯度洗提体系见表 1。

表 1 应用在高效液相色谱分析的溶剂梯度洗提体系

Tab.1 Dissolvent gradient lavation abstract system applying in HPLC analysis

时间/min	溶剂 A/ %	溶剂 B/ %
0	71	39
8.5	41	59

1.1.3 标准曲线的绘制

配置 5 g/L 的染料溶液,用移液管移取 5 mL 该溶液,加过量的氢氧化钠于 95 °C 恒温水浴锅中处理 1 h,然后移至 25 mL 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀,得染液质量浓度为 1 g/L。分别取 0.5、1.0、2.5、10 μL 溶液进行色谱分析,得水解染料的浓度色谱峰面积数据。以样品浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线图^[5]。

用回归分析法得回归方程 $y = 1\,073.4x + 10.03$, 相关系数为 0.999 96。由此可见,标准曲线具有很好的线性关系。

1.1.4 动力学试验

250 mL 带有搅拌及回流装置的三口瓶,置于超级恒温水浴中,加 100 mL pH 值为 7 的缓冲液($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 体系),保持温度为 (64 ± 1) °C,升至反应温度(70、85、95 °C)后,加入活性染料(2%, o.w.f),定时(2、5、10、15、30、60 min) 取样 10 mL,加至 10 mL 预先冷却至 0~5 °C 的 pH 值为 6 的缓冲液(NaAc/HAc 体系)中,加水稀释至 25 mL。取样,过滤,进样,用 HPLC 分析检测。

1.2 酪氨酸的电离研究

1.2.1 试剂

试剂:酪氨酸(生化试剂,含量 > 98.5%), 甲醇(HPLC 级), 水(二重蒸馏水), HAc (AR), NaAc (AR), 其它试剂同上。

1.2.2 色谱条件

色谱柱同上;流动相为水-甲醇, 8.5 mmol $\text{NaAc}/$ 甲醇体系(体积比为 95:5);检测波长为 270 nm;测定灵敏度为 0.04 AUFS;流速为 1.0 mL/min;柱温为 30 °C。

1.2.3 试验方法

配制 0.5 g/L 酪氨酸及 pH 值为 4、6、7、8.5、9、

9.5、10、10.5、11、12 的缓冲液,按照酪氨酸与缓冲液体积比 1:1 混合,放置一段时间,然后制样,用 HPLC 分析。

1.3 酪氨酸与一氯均三嗪型染料键合性能

根据上述试验结果,染料与酪氨酸反应选定的温度为 70、85、95 °C,介质为碱性条件。

2 结果与讨论

2.1 染料反应性影响因素

2.1.1 测定原理

评价活性染料的反应速率,即染料与纤维负离子间的反应速度,可用染料与氢氧根负离子发生水解的速度来衡量^[6]。测定活性染料的水解速度是确定活性染料对纤维反应活性的一种间接方法。在一定的 pH 值和温度条件下,活性染料的水解速率可用来衡量染料的反应活性^[7],因而关于活性染料反应活性的研究,均可以水解速率常数为基准。在碱性介质中,一氯均三嗪活性染料与亲核试剂(OH^-) 的反应,按照亲核取代反应($\text{S}_{\text{N}}2$) 机制进行。一氯均三嗪染料在反应介质中的水解过程如图 1 所示。

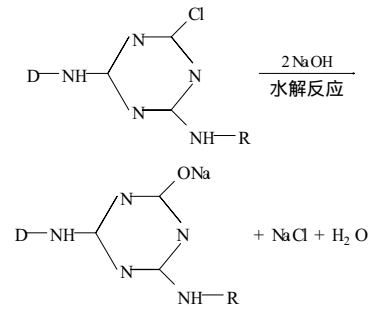


图 1 一氯均三嗪染料水解反应

Fig.1 Hydrolyzing reaction of MCT Reactive Dyes

文献[7]的研究结果表明,上述反应服从二级反应动力学方程式

$$-\frac{d[A]}{dt} = k_w \cdot [A] \cdot [\text{OH}^-] \quad (1)$$

式中:[A]、 $[\text{OH}^-]$ 为染料与氢氧根离子的浓度; k_w 为双分子反应常数。当 $[\text{OH}^-]$ 过量时,此反应可作为一级反应处理。

由式(1)可得

$$-d[A]/dt = k \cdot [A] \quad (2)$$

将式(2)积分,用色谱图中的积分面积代替一氯均三嗪染料的浓度,得

$$\ln(A_0/A) = k \cdot t \quad (3)$$

式中, A_0 、 A 分别为一氯均三嗪染料在 $t = 0$ 时和最终反应时间 t 时的积分面积。

2.1.2 峰的定性分析

色谱图记录了在不同时间、温度和 pH 值下活性染料水解的峰图,随着处理时间的延长,未水解染料的浓度下降,水解染料的量增加^[7]。也就是说,随着反应时间的变化,以各种形式存在的染料比例也在发生变化。

图 2 为活性红 K-2BP 在 85 °C、pH 值为 11 时的色谱图。由图可知,随着水解的持续,保留时间 $t_R = 4.4$ 对应的峰随反应时间的增加,峰面积、峰高减小, $t_R = 2.4$ 对应的峰随水解时间的延长,峰面积增加。从理论上讲,水解产物中 -OH 基团比未水解染料中 Cl 的极性大,在反相液相色谱中,极性大的物质先出峰,极性小的物质后出峰。比较不同处理时间的谱峰,可以确定 $t_R = 4.4$ 时对应的是未水解物峰, $t_R = 2.4$ 对应的是水解染料峰,其它的是杂质峰。

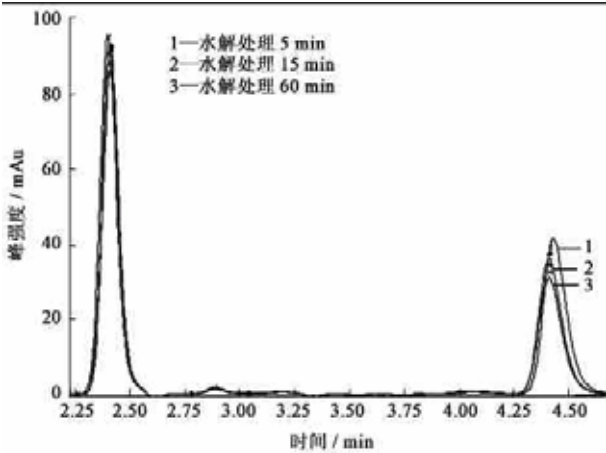


图 2 活性染料部分水解的 HPLC 谱图

Fig. 2 HPLC spectrum for reactive dyes partially hydrolyzing

2.1.3 温度对水解速率的影响

染料分别在 70、85、95 °C 下反应 60 min,并利用式(3)来研究反应的准一级反应动力学。pH 值为 13 时, $\ln(A_0/A)$ 与 t 的关系曲线见图 3。图中曲线线性关系系数 (R) 的平方与水解反应速率常数 k 列于表 2。

从图 3 可知,染料的水解受温度的影响较大。在一定 pH 值下,95 °C 时水解最明显。随时间的增加,水解程度渐增;当温度升高时,活性基团能发生较高的离解作用(去除离子化),随着基团的分离,染料碳原子所具有的正电性下降,水解越彻底,水解速

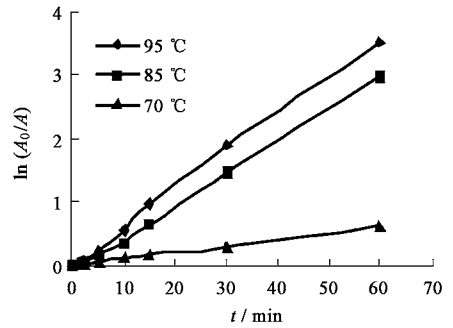


图 3 pH 值为 13 时, $\ln(A_0/A)$ 与 t 的关系曲线

Fig. 3 Relation curves of $\ln(A_0/A)$ and t , pH = 13

表 2 不同温度下曲线线性关系系数 (R) 的平方与总反应速率常数 k

Tab. 2 Square of linearity relation coefficient (R) and total reaction rate constant K at different temperature

$T/^\circ\text{C}$	k/min^{-1}	R^2
70	0.010 1	0.997 5
85	0.050 6	0.996 8
95	0.059 9	0.995 8

率越快。从表 2 可知,95 °C 时的水解速率常数约为 70 °C 时的 5 倍左右。

2.1.4 pH 值对水解速率的影响

染料在 95 °C, pH 值分别为 8.5、11、13 时水解 60 min,同样利用式(3)来研究反应的准一级反应动力学。 $\ln(A_0/A)$ 与 t 的关系曲线见图 4。其曲线线性关系系数 (R) 的平方与水解速率常数列于表 3 中。

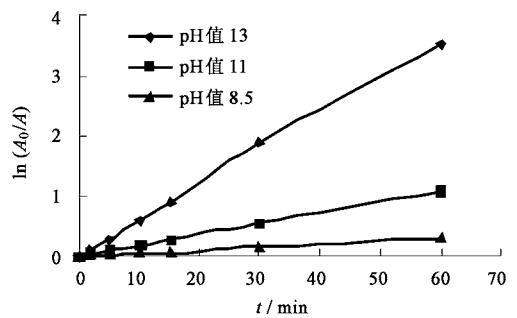


图 4 95 °C 时, $\ln(A_0/A)$ 与 t 的关系曲线

Fig. 4 Relation curves of $\ln(A_0/A)$ and t , $T = 95^\circ\text{C}$

图 4 结果表明:随着碱性的加强,染料的水解程度加大,水解速度增加明显。pH 值为 13 时的水解速率和水解量均大于 pH 值为 11 和 8.5 时的值, pH 值每升高 1 个值,染料的水解速率就会提高 1.5 倍左右。

表 3 不同 pH 值时曲线线性关系系数 (R) 的平方与总反应速率常数 k

Tab.3 Square of linearity relation coefficient (R) and total reaction rate constant k at different pH value

pH 值	k/min^{-1}	R^2
8.5	4.80×10^{-3}	0.996 8
11	1.79×10^{-2}	0.996 5
13	5.99×10^{-2}	0.995 8

2.1.5 反应时间 t 与 $\ln(A_0/A)$ 关系

由表 2.3 可知, R^2 在 0.99 ~ 1.00 之间, 这说明反应时间 t 与 $\ln(A_0/A)$ 具有很好的线性关系, 即染料在强碱性介质中水解时为较严格的一级反应。

2.2 酪氨酸电离状况

酪氨酸是蚕丝纤维中重要的反应性基团, 含量丰富, 而且主要分布在无定形区和结晶区表面, 对染色有重要的影响^[8-9]。图 5 为 0.1 g/L 酪氨酸(加中性盐硫酸钠 100 g/L) 在 pH 值 8.5 和 10 条件下对应的 HPLC 谱图。可以看出, pH 值对酪氨酸的电离影响较大。由分析可知, 碱性条件有利于酪氨酸上酚羟基的电离, 故由峰高可判断保留时间 $t = 3.6$ 对应的是酪氨酸酚羟基为电离的峰, $t = 2.4$ 则为酪氨酸电离对应的峰。不同 pH 值条件下酪氨酸的 HPLC 谱图如图 6(本试验测定的是酪氨酸上羧基和酚羟基电离总和) 所示。

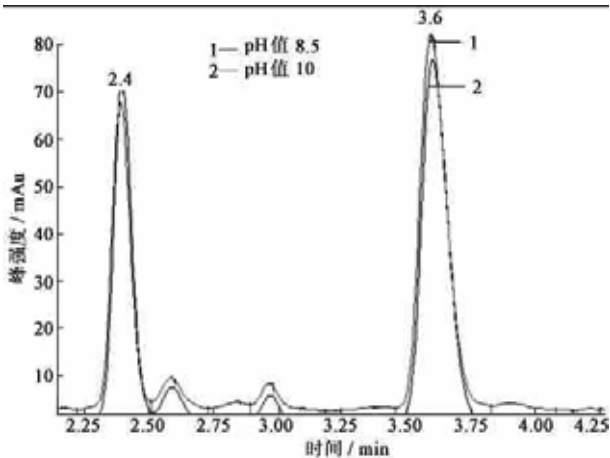


图 5 酪氨酸在不同 pH 值条件下的 HPLC 谱图

Fig.5 HPLC spectrum of tyrosine at different pH value

从图 6 可以看出, 酪氨酸在不同介质条件下, 电离度相差较大。在酸性介质中, 电离度较小, 在此介质条件下, 酪氨酸上的酚羟基几乎不发生电离, 只有羧基对电离有贡献; 随着 pH 值的升高, 酪氨酸的电离逐步提升, 在碱性介质下, 提升较明显, 此时酚羟

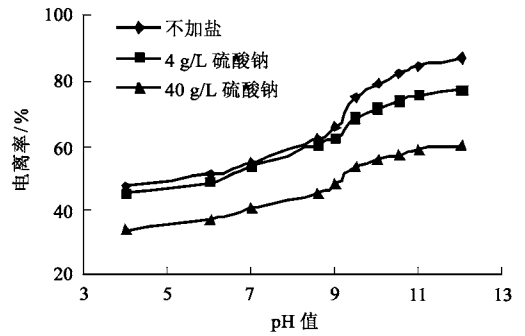


图 6 酪氨酸电离曲线图

Fig.6 Ionization curves of tyrosine

基发生电离; 当 pH 值在 9 ~ 10 之间, 酪氨酸的电离有一个离跃, 上升较快, 随后电离度增加变缓慢。

在酪氨酸中加入中性电解质硫酸钠, 酪氨酸的电离度减小, 这主要是由同离子效应引起的, 其电解质浓度越大, 对酪氨酸电离影响就越明显, 这对实际染色具有指导意义。

2.3 酪氨酸与一氯均三嗪染料的键合性能

众所周知, 碱性越强, 酪氨酸电离度越大, 酚羟基离子浓度越大, 越利于与活性染料发生亲核反应; 同时, 碱性越强, 活性染料的水解程度越大, 水解的染料难与蚕丝发生共价结合, 故在实际生产中需综合考虑。

图 7 为酪氨酸与活性染料在 85 °C、pH 值为 10 的条件下反应所对应的高效液相色谱图。

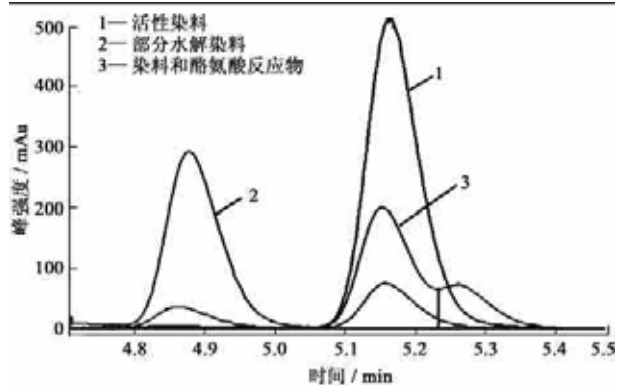


图 7 活性红 K-2BP 与酪氨酸反应对应的 HPLC 谱图

Fig.7 HPLC spectrum for reaction of Reactive Red K-2BP and tyrosine

由图 7 可知, $t = 4.8$ 对应的应为染料的水解峰, $t = 5.15$ 对应的应为有效染料的峰, $t = 5.25$ 对应的则为染料和酪氨酸反应物的峰。为了考虑外界因素对反应的影响, 试验测定了在不同温度和 pH 值条件下染料与酪氨酸反应的 HPLC 图。

根据不同温度、pH 值条件下 HPLC 谱图可得出活性染料和酪氨酸对应的反应率曲线,同时可得出此条件下染料的水解率曲线,如图 8-9 所示。

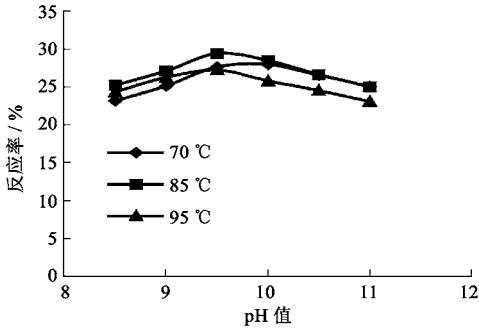


图 8 活性红 K-2BP 与酪氨酸反应率曲线

Fig.8 Reaction ratio of Reactive Red K-2BP and tyrosine

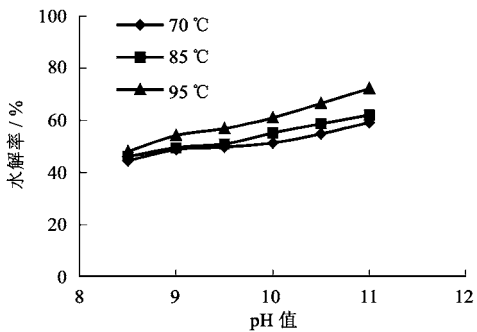


图 9 活性红 K-2BP 的水解率曲线

Fig.9 Hydrolyze ratio curves of Reactive Red K-2BP

从图 8 可以看出,活性染料与酪氨酸的反应率与介质的 pH 值和温度均有关。随着 pH 值的提高,二者的结合率先增大,然后逐步下降;温度升高,染料反应率先增加后降低。这可从图 9 得到解释,随温度升高,在碱性介质中染料的水解增加,对染料和酪氨酸发生共价键合不利,对实际染色同样不利;pH 值升高,染料的水解也会提高,对染料与酪氨酸的结合同样不利。从图 8 可知,活性红 K-2BP 在 pH 值为 9.5、85 °C 附近有最大的反应率。

3 结 论

染料的水解量与高效液相色谱峰面积有较好的线性关系,用 HPLC 可较方便地定量研究染液中水解染料量;由水解动力学曲线可知,活性染料的水解在碱过量的情况下呈准一级反应;酪氨酸在不同 pH 值时发生电离的程度不同,在常温下,pH 值为 9~10 会发生离跃;活性红 K-2BP 与酪氨酸的结合在 85 °C,pH 值 9.5 附近有最大反应率;活性染料对蚕丝染色研究需综合考虑染料的水解程度和亲核试剂的有效浓度。

FZXB

参考文献:

- [1] Dawson T L. The reactions of cold dyeing procion dyes with cellulose[J]. J Soc Dyers and Colourists, 1960,76: 210.
- [2] Hildebrand D. The effect of heterogeneity on the exchange reaction of reactive dyes with cellulose fibers[J]. Melliand Textilber,1964,45:1138.
- [3] 杨锦宗. 染料的分析与剖析[M]. 北京: 化学工业出版社, 1987: 102 - 105.
- [4] 蒋文,李桂贞. HPLC 法测定模拟乙烯砷型染料——纤维化化合物的碱性水解速率常数[J]. 华东化工学院学报, 1990(3): 56 - 60.
- [5] 乐一鸣,李桂贞,朱正华. 乙烯砷染料水解动力学及其反应机理的研究[J]. 华东化工学院学报,1988(1): 37 - 45.
- [6] 斯奈德 L R. 现代液相色谱法导论[M]. 北京: 化学工业出版社, 1980: 316 - 318.
- [7] Klanenik M. 温度对一氯均三嗪活性染料的水解和醇解反应的动力学的影响[J]. 国外纺织技术, 1993, (196): 26 - 29.
- [8] Zhou C Z. Silk fibroin structural implications of a remarkable amino acid sequence[J]. PROTEINS Structure Function and Genetics, 2001,44: 119 - 122.
- [9] Nalankill G. American Dyestuff Reporter[J]. Dyers and Colourists, 1994, 83(9): 28 - 34.