

氨基芳磺酸染料修饰蚕丝的电荷效应研究

赵玲^{1a}, 崔志华^{1b}, 陈维国^{1b}, 江华^{1b}, 高普^{1a}, 孙岩峰²

(1. 浙江理工大学 a. 生态染整技术教育部工程研究中心; b. 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018;
2. 浙江吉华集团股份有限公司, 杭州 311227)

摘要: 为了深入研究前期工作中发现的芳伯胺化合物对蚕丝丝素蛋白的修饰作用, 选用氨基芳磺酸染料为修饰显色剂, 探讨甲醛参与下蚕丝丝素蛋白 Mannich 反应修饰的电荷效应。文章测定并分析了反应条件下脱胶蚕丝和氨基芳磺酸染料的带电荷特性, 研究了 pH 值、甲醛、元明粉对 Mannich 反应修饰效率的影响。研究表明, 当 pH 值为 4 时修饰效率最高, 此时脱胶蚕丝织物显正电性, 氨基芳磺酸染料显负电性, 在相反电荷引力作用下发生物理性吸附, 且此时处于弱酸条件下, 更有利于发生 Mannich 反应修饰。在 pH 值小于等于 4 时, 元明粉则随蚕丝的带电性不同而呈现缓染或在 pH 值大于等于 5 时促染作用, 但对 Mannich 反应修饰效率影响较小。

关键词: 蚕丝; 等电点; 电荷效应; 氨基芳磺酸; Mannich 反应修饰

中图分类号: TS190.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-7003(2018)03-0021-06

引用页码: 031104

Study on the charge effect of aminoaromatic sulfonic acid dye in silk modification

ZHAO Ling^{1a}, CUI Zhihua^{1b}, CHEN Weiguo^{1b}, JIANG Hua^{1b}, GAO Pu^{1a}, SUN Yanfeng²

(1a. Engineering Research Center for Ecological Dyeing and Finishing Technology; 1b. Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China;
2. Zhengjiang Ji-Hua Group Co., Ltd., Hangzhou 311227, China)

Abstract: For the further study of the modification effect on silk fibroin protein by aromatic primary amine compounds found in our previous work, the self-synthesized aminoaromatic sulfonic acid dye was used as the color developing agent to discuss the charge effect after Mannich reaction with silk fibroin protein under the existence of formaldehyde. In this paper, the isoelectric points of degummed silk and the aminoaromatic sulfonic acid dye under the reaction conditions were measured and analyzed. Besides, the effects of pH, formaldehyde and sodium sulfate on Mannich reaction and modification efficiency were studied. It demonstrated that the highest efficiency appeared when pH was 4. Under this condition, the surface of the degummed silk fabric was positively charged, and aminoaromatic sulfonic acid dye showed negative charge, resulting in remarkable physical adsorption under electrostatic attraction. Meanwhile, the dye bath of weak acid was beneficial to the Mannich reaction. Sodium sulfate retarded dyeing ($\text{pH} \leq 4$) or accelerated dyeing ($\text{pH} \geq 5$), and made a little difference on the modification efficiency of the Mannich reaction.

Key words: silk; isoelectric point; charge effect; aminoaromatic sulfonic acid; Mannich reaction modification

蛋白质的侧链基团修饰主要是通过化学反应

引入特定的基团, 赋予蛋白质某些功能。在蛋白质侧链基团的化学修饰反应中, 修饰试剂选择性地与某一特定残基反应, 而不影响蛋白质分子构象, 同时蛋白质的聚集态结构与基础性能也不发生改变。蛋白质的侧链基团修饰所具有的可控性与稳定性, 已使其成为蛋白质材料功能化研究的一项重要技术手段^[1]。

近年来, 对蛋白质中含有芳香侧链的氨基酸残

收稿日期: 2017-08-25; 修回日期: 2017-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(51673176); 浙江省自然科学基金项目(LY16B060006)

作者简介: 赵玲(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向为新型染整化学品。通信作者: 崔志华, 副教授, zhhcui@zstu.edu.cn。

基进行化学修饰的方法受到学者们的关注,其中通过重氮化偶合反应修饰酪氨酸残基的修饰方法应用较为广泛,但是偶合修饰过程中酪氨酸的对亚甲基苯酚侧基和芳胺重氮盐偶合生成的偶氮结构带有颜色,造成不必要的蛋白质着色问题^[2]。相比而言,基于 Mannich 反应的芳伯胺化合物对蛋白质的修饰则避免了这个问题^[3]。该反应主要通过甲醛的桥接作用将酪氨酸分子与芳伯胺化合物连接,避免了偶氮结构发色体的形成。前期研究发现^[4-6],应用该方法可在常温及弱酸条件下,将含有芳伯胺基团的水溶性染料分子(氨基芳磺酸染料)作为显色剂引入到蚕丝丝素蛋白分子中,且修饰效率较高。修饰机理如图 1 所示。

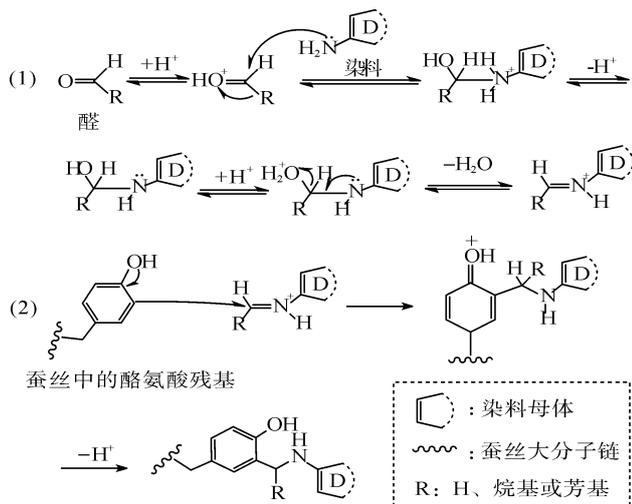


图 1 芳伯胺化合物对蚕丝丝素蛋白的 Mannich 反应修饰机理

Fig. 1 Mannich reaction mechanism of aromatic primary amine compounds on protein fibers

由于氨基芳磺酸染料和蚕丝丝素蛋白均具有两性性质,当两者处于不同 pH 值水溶液中时,纤维表面和氨基芳磺酸染料的带电情况会随 pH 值的变化而变化,而带电情况的不同不仅会影响到物理吸附,还会进一步影响化学修饰效率。因此,为了提高化学修饰效率,需要探究合理的修饰条件,一方面提升染料与纤维间的吸引力,使更多的氨基芳磺酸染料吸附到蚕丝纤维上,另一方面修饰条件还需要有利于化学修饰反应的发生。

为此,本文研究氨基芳磺酸染料对蚕丝的修饰作用过程中的电荷效应,为获得更好的 Mannich 反应修饰效率提供理论支持,以期芳伯胺化合物修饰蚕丝丝素蛋白的应用技术研究打下基础。

1 实验

1.1 材料及仪器

材料:脱胶蚕丝织物为 11205 电力纺练白坯,平方米质量 40 g/m²(杭州喜得宝丝绸有限公司),元明粉(AR)(杭州高晶精细化工有限公司),37%的 ACS 甲醛(上海三鹰化学试剂有限公司),皂片(上海市纺织工业技术监督所),氨基芳磺酸染料 C. I. 酸性棕 4,结构见图 2(杭州下沙恒升化工有限公司),冰醋酸、氯化钾固体(AR)(杭州高晶精细化工有限公司),N,N-二甲基甲酰胺(AR)(汇普化工仪器有限公司)。

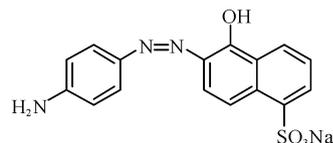


图 2 氨基芳磺酸染料 C. I. 酸性棕 4 的分子结构

Fig. 2 The molecular structure of dye C. I. acid brown 4

仪器:SurPASS 3 固体表面 Zeta 电位仪(奥地利安东帕有限公司),SF600-PLUS 测色配色仪(美国 DataColour 公司),紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司),ZetaPALS 电位仪(美国布鲁克海文仪器公司),PHS-3C 精密台式 pH 计(上海仪电科学仪器有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 蚕丝表面的电荷特性测试

应用固体表面 Zeta 电位仪对蚕丝表面的 Zeta 电位进行测试,采用可调狭缝样品池(10 mm × 20 mm),调节测试压力为 3 × 10⁴ Pa, gap height 调节至 100 μm。

1.2.2 氨基芳磺酸染料的电荷特性测试

氨基芳磺酸染料分子结构中同时具有磺酸基团和氨基,故其水溶液具有与蛋白质胶体类似的两性性质。氨基芳磺酸染料分子的带电情况会影响其在蚕丝丝素蛋白上的吸附,进而影响化学修饰反应的发生。因此,本文分别采取蛋白质沉淀法和 Zeta-PALS 电位仪法对氨基芳磺酸染料在溶液中的带电情况进行测定,两种方法所得结果相互佐证。

1.2.2.1 蛋白质沉淀法

蛋白质沉淀法的测定原理是两性物质在等电点时的溶解度最小^[8]。由下式朗伯比尔定律可知稀溶液的浓度 c 与吸光度 A 成正比关系,故分析不同 pH 值条件下的紫外吸光度即可分析其溶液状态。

$$A = \epsilon bc \quad (1)$$

式中: A 为吸光度; ϵ 为摩尔吸光系数, L/(mol · cm);

c 为吸光物质的浓度, mol/L; b 为吸收层厚度, cm。

测定过程如下: 首先将氨基芳磺酸染料利用蒸馏水配制成 5 g/L 的溶液, 取 7 个烧杯贴好标签放置, 并于每个烧杯中倒入 100 mL 已配置好的溶液。然后利用 pH 计和稀盐酸溶液调 pH 值, 静置两天后离心, 取上层清液, 测试紫外吸光度。

1.2.2.2 电位仪测试

基于相位分析光散射原理, 应用 ZetaPALS 电位仪精确测定氨基芳磺酸染料在溶液中的电位, 进而分析其分子带电情况。

1.2.3 蚕丝丝素蛋白修饰实验

修饰条件: 氨基芳磺酸染料 2%, 甲醛 10 g/L, 蚕丝: 染料: 甲醛为 1: 1: 30 (摩尔比), 温度 30 °C, 浴比 1: 50, 时间 10 h, 修饰结束后将织物用去离子水洗净、晾干。

皂洗条件: 皂片 5 g/L, 浴比为 1: 50, 温度为 60 °C, 时间为 30 min, 皂洗后, 将织物用去离子水冲洗干净、晾干。

1.2.4 织物表观色深测试

采用美国 SF600-PLUS 测色配色仪测试织物的 K/S 值, D_{65} 光源, 10° 视场, 每块织物测试 5 次, 取其平均值。

2 结果与分析

2.1 蚕丝的电荷特性分析

蚕丝纤维属于两性纤维, 在一定 pH 值的水溶液中, 分子可以呈现酸性基 ($-\text{COO}^-$) 或碱性基 ($-\text{NH}_3^+$), 并具有酸碱平衡的等电点, 其 Zeta 电位随溶液 pH 值的变化而变化。当溶液的 pH 值在等电点以上时, 羧基电离的数量大于氨基, 纤维表面带负电荷。在等电点以下时, 情况正好相反。等电点时纤维呈电中性, Zeta 电位值为零^[7-9]。测定结果如图 3 所示。

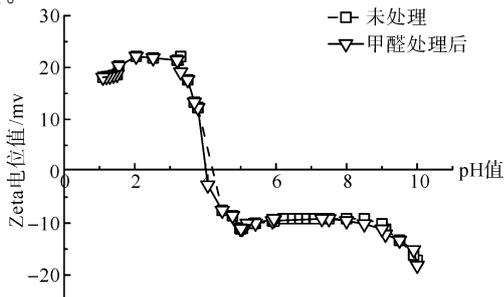


图 3 蚕丝表面的带电情况
Fig. 3 The charge state of silk surface

由图 3 可知, 未处理的蚕丝丝素蛋白的等电点为 4.2。当电解质溶液的 pH 值在 4.2 以下时, Zeta 电位为正值, 蚕丝表面带正电。当电解质溶液的 pH 值在 4.2 以上时, Zeta 电位为负值, 蚕丝表面带负电。当 pH 值在 5 ~ 8 时, 溶液由弱酸性到中性过渡, 纤维表面的电位值基本不变。当 pH 值在 8 ~ 10 时, 溶液呈碱性, 蚕丝丝素蛋白中的肽键发生水解, 使得纤维中的羧酸根离子数量增加, 所以蚕丝表面的负电性增强。

甲醛处理后, 蚕丝丝素蛋白的等电点变为 4, 较未处理前的等电点略有降低。分析认为是甲醛和蚕丝丝素蛋白中的氨基生成不带电的西夫碱 ($-\text{N}=\text{CH}_2$)^[10], 使得蚕丝上的氨基数量减少, 从而导致甲醛处理后蚕丝纤维的等电点降低。

2.2 氨基芳磺酸染料的电荷特性分析

本文利用 ZetaPALS 电位仪对氨基芳磺酸染料溶液进行了测定, 结果如图 4 所示。

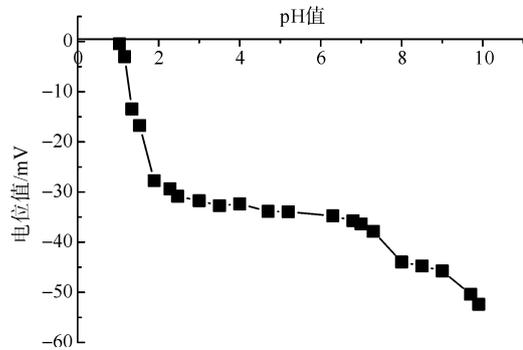


图 4 染料 C. I. 酸性棕 4 在不同 pH 值条件下的电位值
Fig. 4 The potential value of dye C. I. acid brown 4 at different pH conditions

溶液的电位与染料分子带电情况直接相关, 电位为负值说明染料带负电荷, 反之则带正电荷。电位绝对值越大, 说明染料分子所带电荷数量越多。由图 4 可知, 当 pH 值为 1 时, 氨基芳磺酸染料的电位接近 0, 说明染料分子带电量近乎为 0, 此时的 pH 值为氨基芳磺酸染料的等电点; 当 pH 值在 1 ~ 2 时, 溶液电位呈负值且绝对值较小, 说明染料分子中仅带有少量的负电荷, 分子间斥力较小, 易相互聚集产生沉淀。当 pH 值在 2 ~ 7 时, 随 pH 值降低溶液的电位缓慢降低, 当 pH 值高于 7 时电位降低速度提升。

因仪器量程限制, ZetaPALS 电位仪测试 pH 值范围为 1 ~ 10。为进一步验证实验结果, 通过调节溶液 pH 值, 使染料溶液发生沉淀, 从而进行电荷特性的测试分析, 结果如图 5 所示。

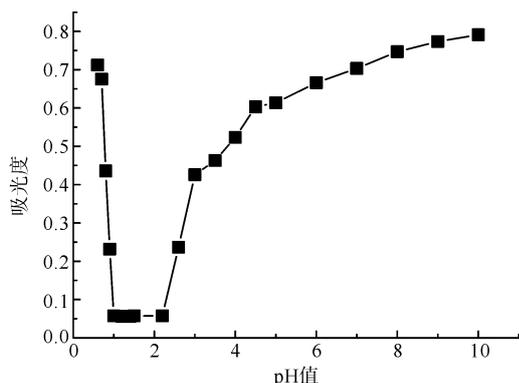


图 5 染料 C. I. 酸性棕 4 在不同 pH 值条件下的溶解情况
Fig. 5 The solubility behavior of dye C. I. acid brown 4 at different pH conditions

由图 5 可知,当溶液 pH 值在 1~2.2 时,溶液离心处理后上清液的紫外吸光度值最低,接近于 0,说明染料 C. I. 酸性棕 4 分子间无电荷斥力或斥力较小,

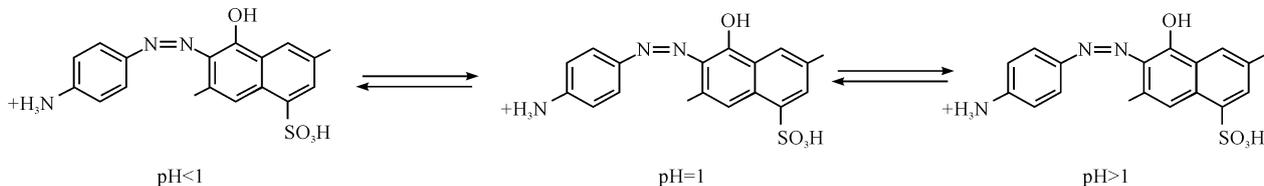


图 6 染料 C. I. 酸性棕 4 在不同 pH 条件下的带电情况

Fig. 6 The charge effect of dye C. I. acid brown 4 at different pH conditions

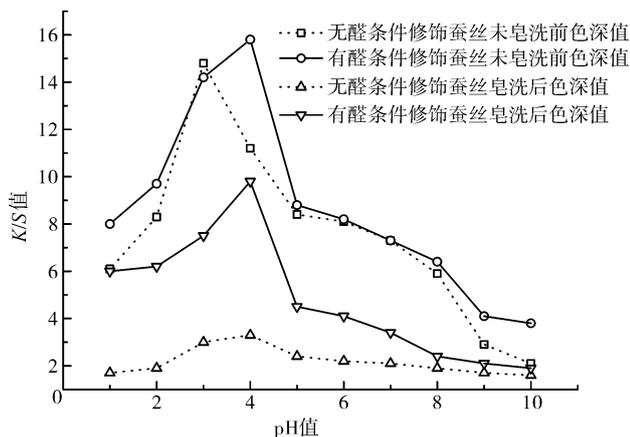


图 7 pH 值对染料 C. I. 酸性棕 4 修饰蚕丝的影响
Fig. 7 Effects of pH conditions on dye C. I. acid brown 4 modified silk

由图 7 可知,无醛条件下电荷效应对氨基芳磺染料在蚕丝蛋白上的吸附有显著影响。由皂洗前曲线可知当 pH 值在 1~3 时, K/S 值呈现上升趋势, pH 值为 3 时, K/S 值最高; 当 $3 < \text{pH} < 10$ 时, K/S 值呈现缓慢下降趋势。结合图 3 和图 6 的分析结果可知,当 pH 值在 1~4 时,氨基芳磺染料带负电荷,蚕丝蛋白纤维带正电荷,两者所带电荷相反,由于电荷间引力作用相互吸引,有利于吸附。且当 pH 值为

分子间作用力(氢键力和范德华力)造成染料分子易相互聚集生成沉淀,此结果与 ZetaPALS 电位仪测试结果相符(等电点为 1)。具体电荷变化情况如图 6 所示。

2.3 醛组分对氨基芳磺染料修饰蚕丝的作用

由于醛组分在 Mannich 反应中起到关键的桥接作用,其主要通过化学作用将芳伯胺化合物及蚕丝蛋白结合。但氨基芳磺染料对蚕丝丝素蛋白的化学修饰效果是电荷效应与醛的化学作用的综合体现,因此本文对两者的关系对整体修饰效果的影响进行了探讨。图 7 所示为选用氨基芳磺染料 C. I. 酸性棕 4 为显色剂,分别在有醛和无醛条件下处理蚕丝织物(蚕丝蛋白:染料:甲醛为 1:1:30 的摩尔比),并用织物的皂洗后的 K/S 值来反映修饰效率。

3 时,两者表面所带电荷量最多,即电荷吸引力最强,此时 K/S 值最高。而 pH 值在 1~2 时,虽然受到电荷间引力作用,但是由图 5 可知在此条件下氨基芳磺染料容易发生酸析现象,形成沉淀,影响吸附效率。当 $\text{pH} > 4$ 时,氨基芳磺染料与蚕丝纤维表面均带负电荷,且负电量随 pH 值的增大而增大,即静电斥力作用逐渐增强,不利于染料吸附,因此 K/S 值下降。对比图 7 无醛皂洗前后数据可知,蚕丝织物在皂洗后 K/S 值与皂洗前差别较大,这是由于无醛条件下,氨基芳磺染料与蚕丝丝素蛋白主要通过范德华力、氢键、离子键($\text{pH} 1 \sim 4$)相结合,缺乏化学键合作用导致皂洗后大部分染料易从蚕丝织物上洗除,因此皂洗后蚕丝织物 K/S 值较低。

加入甲醛后,皂洗后布样的 K/S 值明显高于未加甲醛的布样,说明甲醛使得蚕丝蛋白和氨基芳磺染料形成了共价键结合,同时蚕丝蛋白着色的最佳 pH 值变为 4(无醛条件的最佳 pH 值条件为 3)。这是由于醛的加入使得氨基芳磺染料和蚕丝蛋白之间形成了化学结合,并且 pH 值为 4(弱酸性条件)更有利于 Mannich 修饰反应的发生,因此该条件下修饰效率最高。

2.4 元明粉对氨基芳磺酸染料修饰蚕丝的影响

由图 8 皂洗前数据可知,当元明粉质量浓度为 10 g/L, pH 值在 1~4 时,氨基芳磺酸染料 Mannich 法修饰蚕丝过程中不添加元明粉的修饰效果(K/S 值)要比添加元明粉的修饰效果好;而当 pH 值在 4~10 时,元明粉的加入有助于提升修饰效果。由皂洗后数据可知,添加元明粉和不加元明粉的修饰效果(K/S 值)变化趋势基本相同。

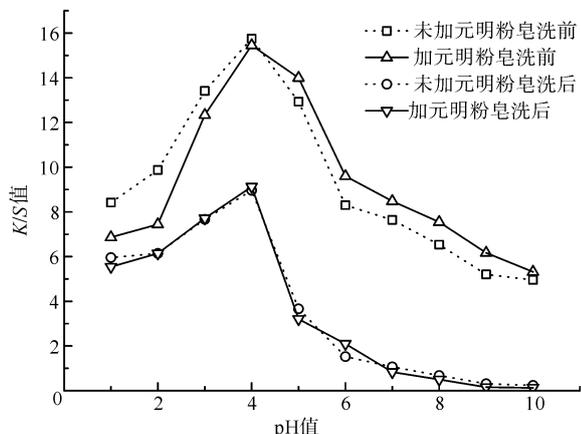


图 8 元明粉对染料 C. I. 酸性棕 4 修饰蚕丝的影响

Fig. 8 Effects of sodium sulfate on dye C. I. acid brown 4 modified silk

当 pH 值在 1~4 时,蚕丝丝素蛋白与氨基芳磺酸染料带相反电荷,此条件下添加元明粉会降低蚕丝丝素蛋白表面的带电量,从而削弱电荷间引力起到缓染作用,最终导致 K/S 值降低。当 pH 值在 5~10 时,蚕丝丝素蛋白与氨基芳磺酸染料均带负电荷,此条件下添加元明粉会降低蚕丝丝素蛋白表面及氨基芳磺酸染料的电负性,从而减弱斥力作用起到促染作用,增加 K/S 值^[11-12]。由皂洗后数据可知,最终的化学修饰效率并未受到元明粉的影响,说明元明粉主要影响氨基芳磺酸染料与蚕丝蛋白之间的物理吸附作用,而对化学结合的影响很小。

3 结论

本文通过固体表面 Zeta 电位仪、Zeta PALS 电位仪、蛋白质沉淀法探究蚕丝纤维表面和氨基芳磺酸染料的带电情况,研究表明:蚕丝丝素蛋白的等电点为 4.2,氨基芳磺酸染料 C. I. 酸性棕 4 的等电点为 1。当氨基芳磺酸染料在 pH 1~2.2 时溶解度较小,容易聚集生成沉淀。

无醛条件下,当 pH 值为 3 时脱胶蚕丝织物表面显正电性,氨基芳磺酸染料显负电性,且带电量最

多,物理吸附效果较好(K/S 值较高)。有醛条件下,醛的加入使得氨基芳磺酸染料和蚕丝蛋白之间形成了化学结合,且 pH 值为 4 时为 Mannich 反应提供弱酸条件,使得化学结合作用最强,反应修饰效率最高。当溶液 $\text{pH} \leq 4$ 时,添加元明粉,削弱蚕丝表面与氨基芳磺酸染料之间电荷引力呈现缓染作用;当 $\text{pH} \geq 5$ 时,添加元明粉,降低蚕丝表面及氨基芳磺酸染料的电荷斥力呈现促染作用。

参考文献:

- [1] 周海梦,王洪睿. 蛋白质化学修饰 [M]. 北京:清华大学出版社,1998:4-43.
ZHOU Haimeng, WANG Hongrui. Protein Chemical Modification [M]. Beijing: Tsinghua University Press, 1998: 4-43.
- [2] 张层,李明忠. 丝素蛋白化学修饰的研究进展 [J]. 现代丝绸科学与技术,2012,27(5):208-212.
ZHANG Ceng, LI Mingzhong. Advances in chemical modification of silk fibroin [J]. Modern Silk Science and Technology, 2012, 27(5): 208-212.
- [3] 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): 7639-44.
- [4] 郑旭. 基于 Mannich 反应的蚕丝蛋白质修饰及其光稳定性 [D]. 杭州:浙江理工大学,2015.
ZHENG Xu. The Modification of Silk Protein with Mannich Reaction and Its Photo Stability [D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2015.
- [5] 范素菊,欧其,汪仁良,等. 基于 Mannich 反应的水溶性芳伯胺染料对蚕丝染色及性能研究 [J]. 浙江理工大学学报,2016,35(1):1-8.
FAN Suju, OU Qi, WANG Renliang, et al. Study on dyeing performance of water-soluble aromatic primary amine acid dyes on silk based on Mannich reaction [J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2016, 35(1): 1-8.
- [6] 李鑫. 芳伯胺染料对蚕丝纤维的反应性染色及性能研究 [D]. 杭州:浙江理工大学,2015.
LI Xin. Study on the Reactive Dyeing of the Aromatic Primary Amine Dyes on Silk Fiber and Their Dye in Performance [D]. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University, 2015.
- [7] 施正华,李秀芬,宋小莉,等. 采用等电点沉淀法回收市政污泥水解液中的蛋白质 [J]. 环境工程学报,2016,10(10):5919-5923.
SHI Zhenghua, LI Xiufen, SONG Xiaoli, et al. Protein recovery from hydrolysis solution of municipal sludge by

- isoelectric point precipitation [J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2016, 10(10): 5919-5923.
- [8] 张梦, 于慧, 王旭亮, 等. 超滤膜表面 Zeta 电位测试方法研究 [J]. 盐科学与化工, 2017, 46(1): 9-11.
ZHANG Meng, YU Hui, WANG Xuliang, et al. Research on Zeta potential of ultrafiltration membrane [J]. Journal of Salt Science and Chemical Industry, 2017, 46(1): 9-11.
- [9] 王建, 王晓琳. 流动电位法研究聚烯烃微孔膜在电解质溶液中的动电现象 [J]. 高校化学工程学报, 2003, 17(4): 372-376.
WANG Jian, WANG Xiaolin. Electrokinetic phenomena of polyolefin microporous membranes in the electrolyte solutions studied by using the streaming potential method [J]. Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities, 2003, 17(4): 372-376.
- [10] 姚文婷, 王碧佳, 杨一奇. 蛋白质纤维的交联: 一些染整技术的回顾之九 [J]. 印染, 2014, 40(1): 48-51.
YAO Wenting, WANG Bijia, YANG Yiqi. Crosslinking of protein fibers: the ninth reviewing of dyeing and finishing techniques [J]. Dyeing and Finishing, 2014, 40(1): 48-51.
- [11] 张莉莉. 代盐法活性染料低盐染色工艺研究 [J]. 针织工业, 2014(11): 35-38.
ZHANG Lili. Low salt dyeing process by reactive dyes with the method of substitute salt [J]. Knitting Industries, 2014(11): 35-38.
- [12] 李晓辰, 李兵, 陈国强, 等. 细纤度真丝酸性染料染色 [J]. 印染, 2013(4): 30-33.
LI Xiaochen, LI Bing, CHEN Guoqiang, et al. Dyeing of fine denier silk fibers with acid dyes [J]. Dyeing and Finishing, 2013(4): 30-33.