

# 天然绿色棉色素组分的提取及性能研究

胡志华,马明波,何 肖,鲁 庚,周文龙

(浙江理工大学材料与纺织学院,杭州 310018)

**摘 要:**采用正相柱层析法分段富集绿色棉色素,用紫外-可见光谱分析富集组分的光谱特性,并研究富集组分对1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH·)和2,2'-联氮-二(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS<sup>+</sup>·)两种自由基的清除能力。结果表明:正相柱对天然绿色棉色素具有更有效的分离效果,0%甲醇能富集到天然绿色棉色素中的黄绿色组分;绿色棉粗提色素及其分段富集组分都具有较好的DPPH·和ABTS<sup>+</sup>·清除能力。

**关键词:**天然绿色棉;色素;分离;抗氧化

**中图分类号:** TS102.2 **文献标志码:** A

## 0 引言

天然彩色棉在加工使用过程中不需要经过化学漂染,在降低生产成本的同时也避免了对环境的污染<sup>[1]</sup>。用彩棉纤维加工的面料满足了消费者对服饰的自然生态、舒适、健康的需要<sup>[2]</sup>。然而,人们对天然彩棉纤维的了解还远远不够,只有通过深入的研究,开发其潜在的功能,才能拓宽其应用范围<sup>[3-5]</sup>。

有研究表明,天然绿色棉色素的主要成分含有多酚类物质<sup>[6-8]</sup>,而多酚类物质由于酚羟基的存在,大多具有一定的抗氧化性能。虽然纺织品的抗氧化性能不如其他性(功)能(如抗菌性能、防紫外性能和阻燃性能等)引人关注,但抗氧化性能的织物具有清除人体表皮的自由基的潜在功能,防止自由基造成的皮肤老化及抵抗力下降等伤害。为研究绿棉色素的抗氧化性,本研究采用柱层析法对绿色棉色素进行富集分离,以维生素C(Vc)为参照,考察各富集组分对DPPH·和ABTS<sup>+</sup>·两种自由基的清除能力。

## 1 实验部分

### 1.1 实验材料与试剂

实验材料:天然绿色棉纤维(浙江省农业科学研究院提供)。

化学药品和试剂:柱层析用硅胶(100~200目,青岛海洋化工厂),二氯甲烷、甲醇和乙醇(分析纯,杭州高精细化工有限公司),二氯甲烷和甲醇(色谱纯,阿拉丁试剂有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 绿色棉粗提色素

利用FZ-102微型植物粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)将绿棉纤维粉碎,然后以二氯甲烷/乙醇(体积比50/50)混合液为提取剂,浴比1:50(g/mL),在JK-3200DB超声波清洗机(合肥金尼克机械制造有限公司)中超声提取2h,抽滤,在R201D型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)上将溶剂蒸干,获得粗提色素备用。

#### 1.2.2 绿色棉粗提色素的高效液相色谱(HPLC)分析

分别采用Agilent-1200反相高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)与Waters1525正相高效液相色谱仪(美国沃特斯公司)检测分析粗提色素的成分,正相检测条件:流动相A:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,流动相B:体积比为100:15:0.6的CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub>OH和CH<sub>3</sub>COOH混合溶液,色谱柱Agilent Zorbax Rx-Sil(4.6×250mm,5μm),流速0.8mL/min,进样量10μL,检测波长320nm,梯度洗脱:0~15min,

收稿日期:2015-02-01

基金项目:国家自然科学基金项目(51373156)

作者简介:胡志华(1990-),男,江西新余人,硕士研究生,主要从事新型纺织材料与绿色纺织品的研究。

通信作者:周文龙,E-mail:wzhou@zstu.edu.cn

20%~60%B; 15~25 min, 60%~70%B; 25~30 min, 70%~100%B; 30~35 min, 100%~0B。反相检测条件:流动相 A:甲醇; 流动相 B:0.03%三氟乙酸, 色谱柱 Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18(4.6×150 mm, 5 μm), 流速 0.8 mL/min, 进样量 10 μL, 检测波长 320 nm, 梯度洗脱:0~12 min, 60%~100%A; 12~22 min, 100%A; 22~26 min, 100%~60%A。

### 1.2.3 绿色棉色素组分的富集

将正相硅胶于 110℃烘箱中烘 1.5 h, 然后将其缓慢倒入正己烷中, 并搅拌, 待混合均匀后, 再填入预装有少量正己烷的层析柱中。在保证液面始终高于填料的前提下, 用正己烷冲洗柱子, 使填料填实。采用干法上样:色素粉末与适量硅胶混合, 利用二氯甲烷/乙醇溶液溶解, 然后将溶剂蒸干, 缓慢加在层析柱中。洗脱剂采用二氯甲烷与甲醇的混合溶液, 甲醇的体积百分比依次为 0%、10%、30%、60%、100%, 将溶剂蒸干备用。

### 1.2.4 绿色棉色素组分的紫外光谱测定

将粗提色素与各富集的色素组分用适量二氯甲烷/乙醇(体积比 50/50)溶液溶解, 以二氯甲烷/乙醇(体积比 50/50)为参照, 用 TU-1950 紫外-可见分光光度计(北京谱析通用仪器有限公司)测试试样的紫外可见吸收光谱。

### 1.2.5 绿色棉色素组分对 DPPH· 的清除

适当修改 Gülc in clhami<sup>[9]</sup>的试验方法, 以无水乙醇为溶剂配制 0.1 mmol/L 的 DPPH· 溶液, 体积比 1:1 的无水乙醇和二氯甲烷混合液溶解色素组分, 备用。分别取 1 mL 浓度为 0.01、0.02、0.04、0.06、0.1 g/L 粗提色素与各富集组分溶液, 往其中加入 2 mL 的 DPPH 溶液和 7 mL 的二氯甲烷/乙醇(50/50)混合溶液。37℃ 恒温振荡 30 min, 测定 517 nm 处的吸光度, 记作  $A_{\text{样品}}$ 。空白组测定方法为 8 mL 的二氯甲烷/乙醇(50/50)混合溶液中加入 2 mL 的 DPPH 溶液, 37℃ 恒温振荡 30 min, 测定 517 nm 处的吸光度, 记作  $A_{\text{空白}}$ 。为消除色素在 517 nm 处的可见吸收对实验的影响, 设定对照组, 测定方法为在 1 mL 的色素溶液中加入 9 mL 的二氯甲烷/乙醇(50/50)混合溶液, 37℃ 恒温振荡 30 min, 测定 517 nm 处的吸光度, 记作  $A_{\text{对照}}$ 。DPPH 的清除率 I 的计算:

$$I = \left(1 - \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}}}{A_{\text{空白}}}\right) \times 100\% \quad (1)$$

### 1.2.6 绿色棉色素组分对 ABTS<sup>+</sup>· 的清除

适当修改 Gülc in clhami 的试验方法, 配制

ABTS<sup>+</sup>· 溶液:先配制 2.45 mmol/L 的过硫酸钾溶液, 并以此来配制 7 mmol/L 的 ABTS<sup>+</sup>· 溶液, 将该溶液室温避光放置 12~16 h, 在测试时需将 ABTS<sup>+</sup>· 溶液用 0.1 mol/L pH=7.4 的磷酸盐缓冲液稀释, 使其在 734 nm 处的吸光度在 0.68~0.72 之间。测试方法为在 1 mL 浓度为 0.01、0.02、0.04、0.06、0.1 g/L 的粗提色素与各富集组分溶液中分别加入 10 mL 的稀释之后的 ABTS<sup>+</sup>· 溶液, 充分振荡, 密封避光, 6 min 之后测试 734 nm 处的吸光度, 记作  $A_{\text{样品}}$ 。空白组测定方法为 1 mL 的无水乙醇中加入 10 mL 的稀释之后的 ABTS<sup>+</sup>· 溶液, 6 min 之后测试 734 nm 处的吸光度, 记作  $A_{\text{空白}}$ 。对照组测定方法为 1 mL 的色素溶液中加入 10 mL 的 0.1 mol/L pH=7.4 的磷酸盐缓冲液, 6 min 之后测试 734 nm 处的吸光度, 记作  $A_{\text{对照}}$ 。ABTS<sup>+</sup>· 的清除率 I 用式(1)计算。

## 2 结果与讨论

### 2.1 绿色棉粗提色素的 HPLC 分析

图 1 为采用正相柱和反相柱进行天然绿色棉色素组分分离的 HPLC 图谱。图 1 显示, 天然绿色棉色素由多种组分组成。采用反相柱对天然绿色棉色素分离已经有人做过探索<sup>[6]</sup>, 其分离结果和本文一致; 而采用正相柱进行天然绿色棉组分的分离此前还未见报道。从图 1(b)中可以看出, 采用正相色谱柱能分离检测到更多的色素组分。其中正相 HPLC 图谱中保留时间为 20.5~24.0 min 的组分和反相 HPLC 图谱检测到的组分一致, 而正相 HPLC 图谱中保留时间在 12.0~20.0 min 的一系列组分, 并不能在反相 HPLC 中检测到。说明正相柱可以更有效地对天然绿色棉色素实施组分分离。因而本文采用正相柱层析法来分段富集绿色棉色素。

### 2.2 绿色棉色素组分的紫外-可见光谱分析

绿色棉粗提色素及其各富集组分的紫外-可见吸收测试结果见图 2。图 2 显示, 粗提色素的最大吸收峰在 228、242、293 nm 和 327 nm, 与咖啡酸的紫外吸收曲线类似<sup>[10]</sup>, 推测绿棉色素中可能含有咖啡酸的衍生物, 与杨永林<sup>[7]</sup>的研究相吻合。绿棉色素及其各富集组分在紫外区的摩尔吸光系数远大于可见区, 适当浓缩, 发现在 665 nm 左右绿棉粗提色素及 0% 甲醇富集组分都出现一个吸收峰, 说明粗提色素和 0% 甲醇富集组分具有蓝绿光显色特性<sup>[11]</sup>。0% 甲醇富集组分在 400 nm 左右具有强的吸收, 其吸收的形式不是锐峰而是肩峰的形式, 具有

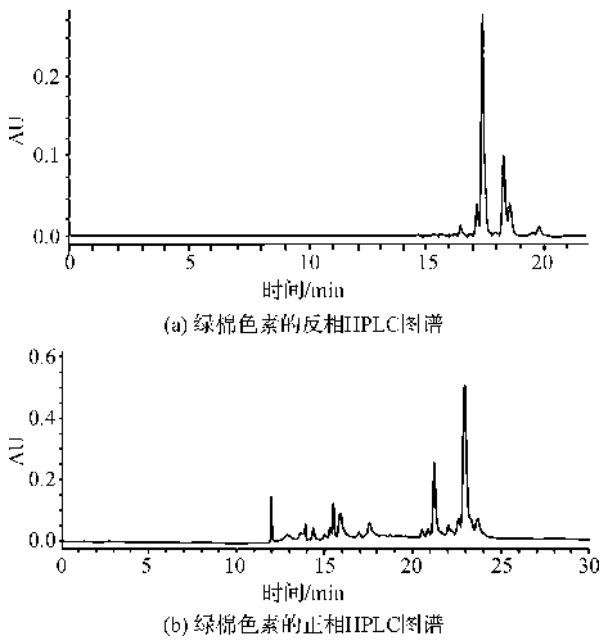


图 1 绿棉色素的 HPLC 图谱

黄色的显色特性,因而 0%甲醇富集组分显示为黄绿色。10%、30%、60%甲醇富集组分在可见区的 380~450nm 波段都有一定的吸收,具有黄光的显色特性。而 100%甲醇富集组分在可见区都没有明显吸收,为无色或颜色较浅的组分。

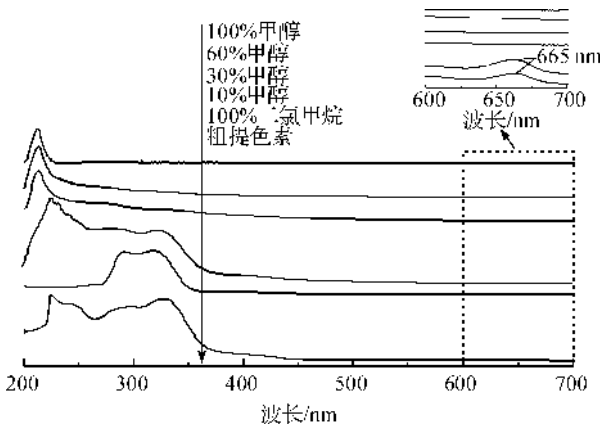


图 2 绿棉色素及其各富集组分的紫外-可见谱图

### 2.3 绿色棉色素组分对 DPPH· 的清除能力

绿棉色素组分对 DPPH· 的清除能力的实验结果见图 3。图 3 可见,富集到的组分都有一定的 DPPH· 的清除能力,但低于 Vc。对 DPPH· 的清除能力由高到低分别是 60%甲醇、0%甲醇、100%甲醇、30%甲醇和 10%甲醇富集的色素组分。由于在对绿棉色素分段富集时死吸附严重,推测死吸附的成分中可能含有比粗提色素本身抗氧化性能更优异的成分。同时可以发现,在测试的质量范围内,色素质量与 DPPH· 清除率呈线性关系,其拟合线性方程见表 1。以清除 50%的自由基所需要的色素质

量  $IE_{50}$  这一指标来评估抗氧化性能, $IE_{50}$  越小,表明抗氧化活性越强。粗提色素的  $IE_{50}$  为 0.0356mg 略高于 Vc 的 0.0211mg,约是 Vc 的 1.7 倍,0 甲醇富集组分的  $IE_{50}$  约为 Vc 的 2.5 倍,10%甲醇富集组分的  $IE_{50}$  约为 Vc 的 7.4 倍,30%甲醇富集组分的  $IE_{50}$  约为 Vc 的 6.4 倍,60%甲醇富集组分的  $IE_{50}$  约为 Vc 的 1.7 倍,100%甲醇富集组分的  $IE_{50}$  约为 Vc 的 4.3 倍,虽然绿色棉各色素组分的抗氧化活性不如 Vc 的强,但也说明提取的绿棉色素组分均具有较优异的 DPPH· 清除性能。

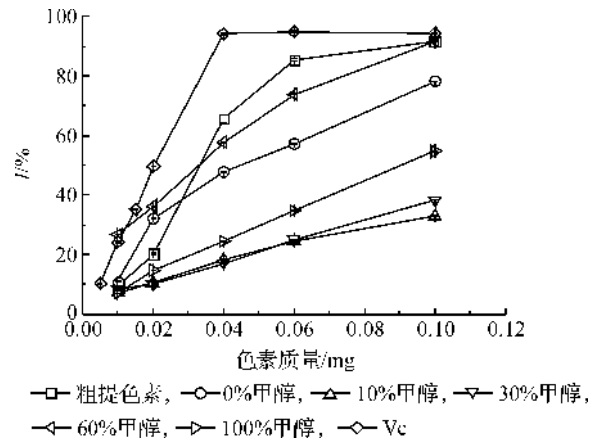


图 3 Vc 和绿棉色素组分对 DPPH· 的清除率

表 1 Vc 和绿棉色素组分清除 DPPH· 的线性拟合方程和  $IE_{50}$

色素组分	线性拟合方程	相关系数 $R^2$	$IE_{50}$ /mg
Vc	$y=2380.2x-0.2615$	0.9980	0.0211
粗提色素	$y=1611.2x-7.2859$	0.9718	0.0356
0%甲醇	$y=685.58x+13.741$	0.9302	0.0529
10%甲醇	$y=288.29x+5.2940$	0.9798	0.1551
30%甲醇	$y=343.05x+3.8915$	0.9961	0.1344
60%甲醇	$y=730.70x+23.589$	0.9612	0.0361
100%甲醇	$y=520.10x+3.1227$	0.9972	0.0901

注: $IE_{50}$  为 DPPH· 清除率达到 50%时色素的质量

### 2.4 绿色棉色素组分对 ABTS<sup>+</sup> · 的清除能力

绿色棉色素组分对 ABTS<sup>+</sup> · 的清除能力实验结果见图 4。图 4 显示,与清除 DPPH· 类似,富集到的色素组分均具有一定的 ABTS<sup>+</sup> · 的清除能力,但均略低于 Vc。对 ABTS<sup>+</sup> · 的清除能力由高到低分别是 60%甲醇、0%甲醇、100%甲醇、10%甲醇和 30%甲醇富集到的色素组分。同样,在测试的质量范围内,色素质量与 ABTS<sup>+</sup> · 清除率呈线性关系,见表 2。以  $IE_{50}$  这一指标评估,粗提色素的  $IE_{50}$  约为 Vc 的 1.8 倍,0%甲醇富集组分、10%甲醇

富集组分、30%甲醇富集组分、60%甲醇富集组分、100%甲醇富集组分的  $IE_{50}$  依次约为 Vc 的 4.2、6.0、6.4、2.5、4.4 倍,虽然绿色棉各色素组分的抗氧化活性不如 Vc 的强,但也说明富集到的绿棉色素组分均具有较优异的  $ABTS^{+}$  清除性能。

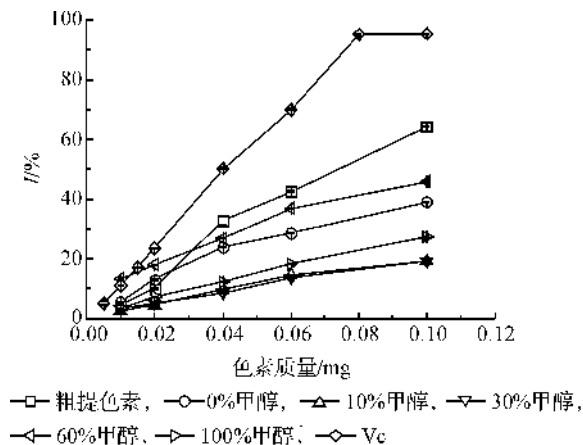


图4 Vc和绿棉色素组分对  $ABTS^{+}$  的清除率

表2 Vc和绿棉色素组分清除  $ABTS^{+}$  的线性拟合方程和  $IE_{50}$

色素组分	线性拟合方程	相关系数 $R^2$	$IE_{50}/mg$
Vc	$y=1197.5x-0.4482$	0.9984	0.0421
粗提色素	$y=673.79x-0.0799$	0.9733	0.0743
0%甲醇	$y=242.79x+6.8707$	0.9464	0.1776
10%甲醇	$y=191.20x+1.3110$	0.9704	0.2546
30%甲醇	$y=181.29x+1.4965$	0.9909	0.2675
60%甲醇	$y=367.69x+11.287$	0.9703	0.1053
100%甲醇	$y=262.79x+1.6356$	0.9943	0.1840

注:  $IE_{50}$  为  $ABTS^{+}$  清除率达到 50% 时色素的质量。

### 3 结论

利用正相色谱能更有效地检测分离天然绿色棉色素成分,0%甲醇富集到的组分在 665 nm 有吸收峰,说明该组分具有蓝绿光的显色特性,在 400 nm 左右具有强的吸收,其吸收的形式不是锐峰而是肩

峰的形式,具有黄色的显色特性,因而该组分呈现黄绿色。绿色棉粗提色素及其分段富集组分都具有较好的  $DPPH \cdot$  和  $ABTS^{+}$  清除能力,抗氧化性能略低于 Vc。由于抗氧化实验后的溶液是包含有未被氧化的色素、被氧化的色素、未被还原的自由基、被还原的自由基的混合溶液,因此还无法对氧化前后的绿色棉色素组分的光谱特性进行研究。天然绿色棉色素组分的结构目前还没有定论,对于其抗氧化机理还有待进一步的研究。

### 参考文献:

- [1] Dickerson D K, Lane E F, Rodriguez D F. Naturally colored cotton: resistance to changes in color and durability when refurbished with selected laundry aids [M]. Fresno: California Agricultural Technology Institute, California State University, 1999: 1-5.
- [2] 赵 博. 天然彩棉纤维混纺纱产品的开发及工艺的研究[J]. 现代纺织技术, 2012, 20(5): 22-25.
- [3] 张 镁, 胡伯陶. 绿色彩棉色素稳定性研究[J]. 印染, 2003, 29(3): 1-6.
- [4] 刘书芳, 陈 英. pH 值对天然绿色棉颜色的影响[J]. 中原工学院学报, 2005, 16(3): 19-21.
- [5] 顾 艳, 符正申, 周文龙. 干热处理温度对天然彩色棉色泽性能的影响[J]. 纺织学报, 2009, 30(1): 60-63.
- [6] 李海祥. 天然绿色棉色素的提取分离与结构研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2011: 1-48.
- [7] 杨永林. 天然绿色棉纤维色素的分离与鉴定[D]. 石河子: 石河子大学, 2009: 15-17.
- [8] Schmutz A, Jenny T, Amrhein N, et al. Caffeic acid and glycerol are constituents of the suberin layers in green cotton fibers [J]. Planta, 1993, 189: 453-459.
- [9] Ihami G. Antioxidant activity of caffeic acid (3, 4-dihydroxy cinnamic acid) [J]. Toxicology, 2006, 217(2): 213-220.
- [10] 张立伟, 袁彩霞, 杨 频. 咖啡酸及其衍生物光谱特性研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(1): 127-130.
- [11] 杨子超. 基础无机化学理论[M]. 西安: 陕西人民出版社, 1985: 314-316.

(下转第 787 页)

## Preparation of Laminaria Japonica Foamed Cushioning Material and the Research on Its Properties

ZHANG Xing-yun, ZHOU Ling-qing, E Yu-ping, WANG Jia-jun

(College of Materials and Textiles, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** The laminaria japonica foamed cushioning materials were prepared by taking fresh laminaria japonica as raw material, acidification and NaOH solution treatment as well as vacuum freeze-drying method, and the structure and properties were studied. The results exhibited that laminaria japonica foamed cushioning materials presented dense-branching structure and an open pore formed by thin walls. when NaOH concentration was 1.1%, the density of the cushioning material ( $\rho^*$ ), density of pore wall material ( $\rho_s$ ), and relative density ( $\rho^*/\rho_s$ ) were the smallest, 0.0449 g/cm<sup>3</sup>, 0.6483g/cm<sup>3</sup> and 0.0693 respectively. In addition, average pore size of cushioning material, initial elastic modulus and compression energy absorption reached the largest, 0.4 mm, 0.15 MPa, and 42.38 kJ/m<sup>3</sup>, respectively. With the increase in NaOH concentration, average pore size of laminaria japonica foamed cushioning materials decreased;  $\rho^*$ ,  $\rho_s$  and  $\rho^*/\rho_s$  increased; initial elastic modulus first decreased and then increased slightly; compression energy absorption showed decreasing trend. Thus, when NaOH concentration was 1.1%, static cushioning property of laminaria japonica foamed cushioning materials reached the best.

**Key words:** laminaria japonica; sodium alga acid; vacuum freeze-drying; foamed cushioning material; dense-branching structure

(责任编辑: 张祖尧)

(上接第 760 页)

## Extraction of Naturally Green Cotton Pigment Component and Property Research

HU Zhi-hua, MA Ming-bo, HE Xiao, LU Geng, ZHOU Wen-long

(College of Materials and Textiles, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, Zhejiang, 310018, China)

**Abstract:** In this paper, the extractions of green cotton pigment are segmented by using normal phase chromatography, and the spectral characteristics of enriched components with UV-VIS spectrum are analyzed. Besides, scavenging activities of free radicals DPPH $\cdot$  and ABTS<sup>+</sup> $\cdot$  are analyzed. The experimental result shows that normal phase column is more effective for the separation of pigment in green cotton; the yellowish green component can be enriched by the 0% methanol. Green cotton pigment and its segmented enrichment component have good DPPH $\cdot$  and ABTS<sup>+</sup> $\cdot$  scavenging activities.

**Key words:** natural colored cotton; green cotton; pigment; separation; antioxidation

(责任编辑: 张祖尧)