

天然棕色棉色素多组分特性的研究

严 猛^a, 胡 维^a, 陈丽灿^a, 唐志荣^b, 周文龙^b

(浙江理工大学, a. 材料与纺织学院; b. 先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室, 杭州 310018)

摘 要: 为了确认天然棕色棉色素的组分特性,采用反相 C₁₈ 层析柱对天然棕色棉色素提取粗品进行分离,通过高效液相色谱和紫外-可见光谱法进行研究。色素提取粗品的液相色谱表明,在保留时间 3 min 以内有分离度较好的组分但数量少,绝大部分组分处在保留时间为 7~17 min 范围但分离度不好,呈正态分布峰形形态(馒头峰),这两部分均为有色物质。采用不同浓度的甲醇水溶液(极性不同)为流动相进行梯度淋洗,能够将保留时间为 7~17 min 色素组分一定程度分离,但被分离色素组分的液相色谱图并不是单一尖锐的峰形。色素液相色谱表明,5% 的甲醇溶液可以将保留时间为 3 min 以下的色素物质进行富集,30% 甲醇溶液可以对保留时间为 13.5 min 的黄色色素物质进行富集。不同梯度淋洗得到的色素混合物尽管极性有差异,但紫外-可见光谱非常相似,说明天然棕色棉的色素的确是由极性略有不同但结构非常类似的物质组成的混合物。

关键词: 天然棕色棉; 色素; 反相 C₁₈ 层析柱; 高效液相色谱; 紫外-可见吸收光谱

中图分类号: TS 190.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-3851 (2016) 05-0655-04 **引用页码:** 090103

0 引 言

目前得到商业化应用的天然彩色棉仅有棕色和绿色两大色系^[1],其颜色主要来源于纤维生长过程中色素在棉纤维中腔及次生层堆积的结果^[2-3]。天然彩色棉色谱不全和色泽不稳定依然是主要不足,目前还没有得到有效解决。研究天然彩色棉色素的组分和结构,明了天然彩色棉色素的化学及物理特性,可以为天然彩色棉的产业化开发提供针对性的指导,也可以为天然彩色棉色泽创新培育提供借鉴,因而一直受到关注。目前已有一些学者^[4-6]进行了棕色棉色素结构与组分的探索性研究,获得了一些非常有益的研究结果。赵向前等^[4]在常温下用纯甲醇提取棕棉色素,通过显色反应和紫外检测认为棕棉色素含有黄酮类;马明波^[7]用 70% 的乙醇水溶液提取棕棉色素,通过显色反应和质谱检测表明棕棉色素中含有缩合单宁;胡超等^[8]采用纯乙醇对棕棉纤维进行色素提取,分析研究表明棕棉色素中含有

缩合单宁氧化成的醌类物质。黄酮类、缩合单宁、缩合单宁氧化成的醌类等都在天然棕色棉色素研究中被证实存在。不同的研究结论可能是不同的学者采用的提取方法、鉴定方法以及纤维的来源不同所致。目前,对于天然棕色棉色素的分析已经作了大量的研究^[4-10],但对天然棕色棉纤维色素的结构和组分还不能确定。鉴于反相 C₁₈ 层析柱对亲水性溶质分离效果比较好,罗少宏研究结果表明选用 30% 乙醇水溶液作为提取液可以获得较多的棕色棉色素提取组分^[11]。本文采用 30% 乙醇水溶液提取天然棕色棉色素,反相 C₁₈ 层析柱对天然棕色棉色素提取物进行不同极性洗脱液的梯度淋洗分离,对洗脱液进行高效液相色谱(HPLC)和紫外-可见光谱分析,为天然棕色棉色素的分离提供借鉴。

1 实验部分

1.1 材料与试剂

材料:天然浅棕色棉(浙江省农业科学院棉花研究所培育并提供); YMC * GEL 反相 C₁₈ 硅胶键

收稿日期: 2015-11-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(51373156)

作者简介: 严 猛(1989-),男,湖北荆州人,硕士研究生,主要从事新型纺织材料与绿色纺织品方面的研究。

通信作者: 周文龙, E-mail: wzhou@zstu.edu.cn

合填料(北京慧得易科技有限责任公司);乙醇、甲醇分析纯和色谱级(杭州高晶精细化工有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 色素的提取

将天然浅棕色棉纤维粉碎至150目,称取40.0 g纤维粉末放入1 L烧杯中,按料液比为1:25(m/v)加入30%乙醇水溶液,置于超声清洗机(深圳市洁盟清洗设备有限公司)内,55℃,300 W超声辅助萃取3 h,抽滤,残余纤维粉末再萃取,抽滤,合并两次滤液,于旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)上55℃旋转蒸发浓缩至膏状,将膏状浓缩色素移入一次性塑料培养皿中,于真空冷冻干燥机(美国LABCONCO Free Zone公司)-80℃冷冻干燥,得色素粗品粉末,放入干燥皿中保存。

1.2.2 色素的初步分离

取1.0 g色素粉末,溶解于15 mL去离子水中,经4.5 μm微孔滤膜过滤后,将色素溶液沿着(2.6×40 cm)层析柱壁加入到C₁₈层析柱(上海五相仪器仪表有限公司),待色素吸附达到平衡,分别用不同甲醇浓度水溶液作为流动相梯次冲洗。得到分段富集组分,分别于旋转蒸发仪上55℃浓缩至大约10 mL,装入20 mL样品瓶中,放入冷冻柜中保存,高效液相色谱检测备用。

1.2.3 HPLC检测

采用Agilent-1260高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)进行HPLC检测。HPLC检测条件:色谱柱:Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈,4.6×150 mm,3.5 μm,柱温30℃,流速1 mL/min,进样量20 μL,检测波长分别为280、400 nm和500 nm。流动相为甲醇(A相)、10 mmol/L甲酸水溶液(B相),梯度洗脱条件:0~3 min,4%A;3~20 min,4~100%A;20~30 min,100%A。

1.2.4 紫外-可见分光光度计检测

采用TU-1950双光束紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司)进行光谱检测,分别移取一定色素溶液,用适当的去离子水稀释,参比液为相应的溶剂(去离子水),检测波长190~500 nm。

2 结果与讨论

2.1 棕棉色素提取物的反相C₁₈高效液相色谱

图1为粗提色素及不同浓度甲醇溶液梯次洗脱出的色素提取物的高效液相色谱图。由图1可见,

粗品中,前3 min冲出的色素组分,峰形相对较尖锐,特别是在保留时间1.4 min时出现一个非常尖锐、强度很大的吸收峰。但在7~17 min洗脱出来的色素组分呈现正态分布的峰形(为了叙述方便,称为“馒头峰”),这与马明波等^[7,9]、罗少宏^[11]实验结果基本一致。对于前3 min冲洗出来的色素提取物,由于分离度较好,可以考虑进一步进行富集、分离得到较纯的组分,并进行结构与性能的研究。对于“馒头峰”位置的色素组分,推测可能是极性非常相近的多酚类物质,以至反相C₁₈层析柱不能分开。粗提色素7~17 min的洗脱物(馒头峰)是色素提取物的主体部分,因而对“馒头峰”色素洗脱物组分和性能的研究非常有意义。本文采用不同极性洗脱液(不同浓度甲醇溶液)进行梯次淋洗,并对洗脱物的液相色谱进行研究。从图1中可以看出,随着流动相中甲醇比例的提高(极性降低),冲出组分的保留时间会逐渐延长。说明“馒头峰”物质可以按极性由大到小依次被洗脱下来,“馒头峰”被梯次剖开。5%甲醇溶液冲洗时,冲出物几乎不含“馒头峰”物质,主要洗脱成分保留时间小于3 min的物质。因而5%甲醇洗脱液可以用于保留时间小于3 min物质的富集分离;随后用10%甲醇洗脱液洗脱时仅得到一个与色素粗品相比略小的“馒头峰”,没有保留时间小于3 min的物质被冲出,这进一步说明了5%的甲醇溶液已经将保留时间小于3 min的物质完全洗脱分离;继续用极性更低的洗脱液(甲醇浓度逐步增加)梯次洗脱,可分别得到大小不同,但洗脱时间逐渐增加的“馒头峰”物质。当洗脱溶液的甲醇浓度提高到70%以上后,洗脱物减少,在色谱图上出现了比较尖锐的峰,其中80%甲醇溶液洗脱物在保留时间为21.3 min处出现了一个明显的锐峰,说明可以得到较纯的物质用于富集研究。这种不同极性洗脱液梯次洗脱将“馒头峰”剖开的特性,说明色素粗品的“馒头峰”物质是由极性不同的物质组成。从峰形可以看出,不同极性洗脱液洗脱得到的仍然是一种混合物质。这是因为一是不同极性洗脱液冲出物质的液相色谱在保留时间上有重叠,二是冲出物的液相色谱仍然是“馒头峰”形态,只是在峰形大小以及中位保留时间有差异。因而要进一步精细分离粗品中的“馒头峰”物质,用本文的洗脱条件还不能完成,需要寻找更加合适的分离(洗脱)方法。

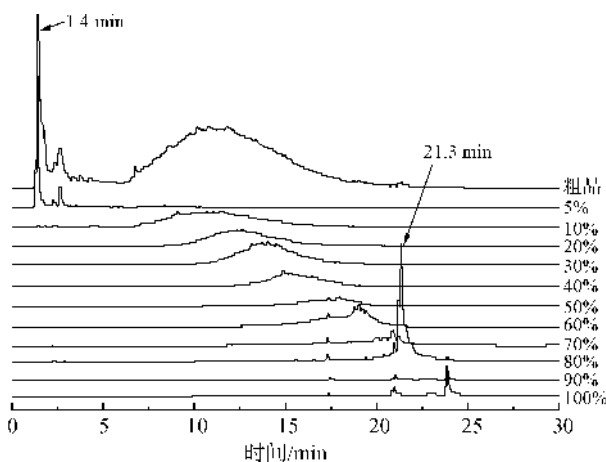
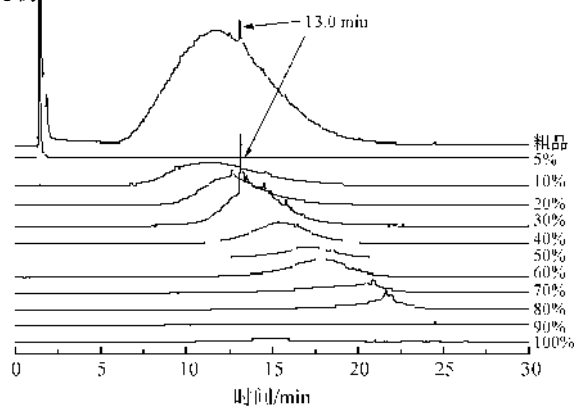
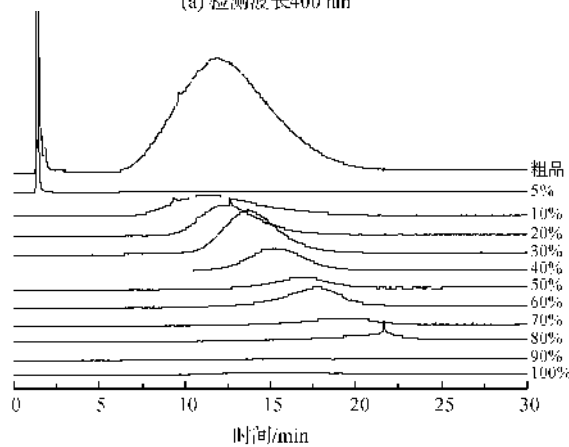


图1 不同甲醇浓度溶液梯次洗脱出棕棉色素提取物的HPLC相色谱(检测波长 280 nm)

图2为用400 nm和500 nm检测波长获得的不同甲醇浓度洗脱物的HPLC相色谱图。相应的曲线和图1具有对应关系。目测表明,棕棉色素提取液通常呈黄色,并随着浓度的提高,会略显橙红色,选用400 nm和500 nm这两个可见光波长进行检测是为了检测黄色和红色的色泽特性,表征的是洗脱物



(a) 检测波长400 nm



(b) 检测波长500 nm

图2 不同甲醇浓度溶液梯次洗脱出棕棉色素提取物的HPLC相色谱

质的有色程度。从图2可以看出90%甲醇水溶液洗脱物和100%甲醇溶液的洗脱物应该是无色。80%甲醇浓度以下的洗脱物,均具有黄色和红色色泽特性,这和图3中的洗脱物目测是一致的。图3中90%和100%甲醇溶液洗脱物由于疏水性较高,因而在水溶液中呈不透明状态(乳浊液)。

另外,从图2(a)可见,在保留时间为13.0 min时,色素粗提物中有一明显的黄色物质存在(400 nm检测),该物质可以被30%甲醇淋洗液有效冲出,因而30%甲醇溶液洗脱物可以作为进一步分离该黄色物质的基础物质。但由于棕棉色素结构复杂,即使梯度淋洗得到的色素物质也是混合物,是由一类极性不同的物质组成的混合物。

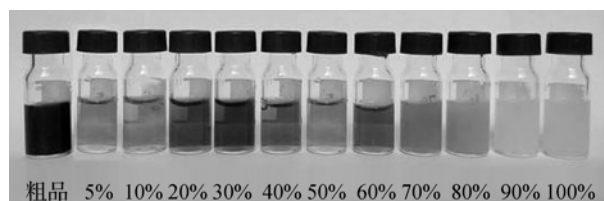


图3 不同甲醇浓度洗脱出的棕棉色素水溶液照片

注:从左至右依次为色素粗品及5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%甲醇水溶液冲洗出色素组分,100%纯甲醇冲洗出色素组分。

2.2 棕棉色素各组分紫外-可见吸取光谱

从图4可以看出,不同甲醇浓度洗脱液洗脱物质的紫外-可见吸收光谱非常的相似。低于60%甲醇浓度洗脱液的洗脱物的紫外-可见吸收光谱的形状几乎和粗提色素一致,50%和60%甲醇溶液洗脱物在200~210 nm处的最大吸收峰有一定的蓝移。70%以上甲醇溶液洗脱液的洗脱物在232 nm处有一明显的肩峰出现。即使是90%和100%甲醇溶液的无色洗脱物,其结构也和有色物质相似,说明这些不同极性的色素物质应该具有非常相似的结构。

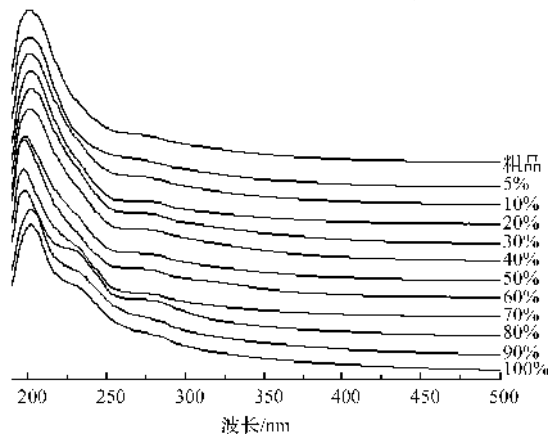


图4 不同甲醇浓度溶液洗脱出组分的紫外-可见吸收光谱

3 结 论

用不同浓度甲醇水溶液为洗脱液能将棕棉色素高效液相色谱图上保留时间为7~17 min的“馒头峰”剖开,但是被剖开的各组分峰并不是单一尖锐的峰,因而仍然是混合物而不是单一组分,研究结果说明棕棉色素的确是由极性不同但又非常接近的一类物质组成的混合物。不同极性(甲醇水溶液)的洗脱物具有极为相似的紫外-可见吸收光谱,说明这些不同极性的色素物质应该具有非常相似的结构。

参考文献:

- [1] ZHOU W, BAO Y, LI M. The effects of 1, 2, 3, 4-Butanetetracarboxylic acid (BTCA) finishing on the color of naturally colored cotton fabrics[J]. RJTA, 2009, 13(4): 26-33.
- [2] 张镁, 胡伯陶, 赵向前. 天然彩色棉的基础和应用[M]. 北京: 中国纺织出版社, 2005.
- [3] 邱新棉, 周文龙, 李茂松, 等. 天然彩色棉纤维色素的遗传基础形成及湿处理色素变化规律的研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(6): 610-615.
- [4] 赵向前, 王学德. 天然彩色棉纤维色素成分的研究[J]. 作物学报, 2005, 31(4): 456-462.
- [5] 詹少华, 林毅, 蔡永萍, 等. 天然棕色棉色素提取、纯化及其UV光谱研究[J]. 激光生物学报, 2004, 13(5): 324-328.
- [6] HUA S, WANG X, YUAN S, et al. Characterization of pigmentation and cellulose synthesis in colored cotton fibers[J]. Crop Science, 2007, 47(4): 1540-1546.
- [7] 马明波. 天然棕色棉色素的分离、结构及其抗菌性能研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2012.
- [8] 胡超, 杨园园, 郭宁, 等. 棕色棉与白色棉缩合单宁单体儿茶素动态变化的比较[J]. 植物生理学报, 2011, 47(7): 685-690.
- [9] 马明波, 李荣霞, 李海祥, 等. 天然棕色棉色素与白色棉棉籽壳色素成分的比较[J]. 纺织学报, 2012, 33(1): 1-5.
- [10] RICHARDS A F, ROWE T, STANKOVIC ELESINI U. Structure of naturally colored cottons[J]. Journal of the Textile Institute, 1999, 90(4): 493-499.
- [11] 罗少宏. 天然棕色棉色素组分、结构及性能研究[D]. 杭州: 浙江理工大学, 2014.

Research on Multicomponent Characteristics of Naturally Brown Cotton

YAN Meng^a, HU Wei^a, CHEN Lican^a, TANG Zhirong^b, ZHOU Wenlong^b

(a. College of Materials and Textiles; b. Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: To research the multicomponent characteristics of naturally brown cotton pigments, reverse- C_{18} chromatographic column was applied to separate the pigment of naturally brown cotton roughly and the research was conducted by HPLC and UV-visible spectrums. LC (Liquid Chromatogram) shows that there are few components with good degree of separation within 3 min retention time, and most components are within the retention time of 7~17 min, but the degree of separation is poor and presents normal distribution peak shape (steamed bun peak). The two parts are colored matters. Methanol solutions with different concentration (different polarity) were used as the mobile phase for gradient elution to separate pigment components with the retention time of 7~17 min to some extent, but liquid chromatogram of separated pigment components is not single keen-edged peak shape. Liquid chromatogram of pigment indicates that 5% methanol solution can collect the pigment components within 3 min retention time and 30% methanol solution can collect the yellow pigment whose retention time is 13.5 min. Although the pigment mixture gained from different gradient has different polarity, UV-visible spectrums are quite similar. This shows that pigments of naturally brown cotton are the mixture with different polarity and similar structure.

Key words: naturally brown cotton; pigment; reverse- C_{18} chromatographic column; HPLC; UV-visible absorption spectrum

(责任编辑: 许惠儿)