

# 高效液相色谱-质谱联用技术鉴别清代小龙袍染料

范鲁丹<sup>1</sup>, 郭丹华<sup>2</sup>, 刘剑<sup>3</sup>, 赵丰<sup>3</sup>

(1. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203; 2. 上海天祥质量技术服务有限公司杭州分公司, 杭州 310052;  
3. 中国丝绸博物馆, 杭州 310002)

**摘要:** 采用高效液相色谱-质谱联用技术对清代小龙袍进行染料检测。通过获得每种染料萃取物中各种色素成分的紫外吸收光谱图和多级质谱图,与已知染料标准品或相关的文献报道进行比对,成功鉴别出红花、黄檗、靛青、苏木、槐米和黄庐6种植物染料。黄檗套染红花可以得到红色,黄庐和槐米用来染黄色,靛青染各种蓝色,苏木与靛青套染得到天青色,槐米和黄檗同靛青套染分别得到两种绿色。文章的染料鉴别结果为清代宫廷色彩的复原提供了真实可靠的染料品种信息,同时,有助于文物保护工作者对该类纺织品文物采取科学合理的保存和展示方案。

**关键词:** 高效液相色谱-质谱联用技术; 龙袍; 天然染料; 染料分析; 数据关联技术

中图分类号: TS193.844

文献标志码: A

文章编号: 1001-7003(2019)02-0050-06

引用页码: 021109

## Identification of dyes of small dragon robe in the Qing dynasty with high performance liquid chromatography-mass spectrometry

FAN Ludan<sup>1</sup>, GUO Danhua<sup>2</sup>, LIU Jian<sup>3</sup>, ZHAO Feng<sup>3</sup>

(1. Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 2. Hangzhou Branch of Intertek Testing Services Shanghai Ltd., Hangzhou 310052, China; 3. China National Silk Museum, Hangzhou 310002, China)

**Abstract:** Dye detection of small dragon robe in the Qing dynasty was conducted with high performance liquid chromatography-mass spectrometry (HPLC-MS). Six dyes were identified by comparing the UV-Vis spectrum and MS<sup>n</sup> spectra of pigment compositions in each dye extract with known standard dye substances or relevant literature reports, including safflower, Amur cork, indigo, sappan wood, buds of pagoda tree and young fustic. Safflower and Amur cork were used to dye red, buds of pagoda tree and young fustic were applied to dye yellow, all shades of blues were dyed with indigo, sappan wood and indigo produced light purple, buds of pagoda tree and young fustic with indigo produced two greens respectively. The results of dye analysis provide true and credible information about dye species for recovery of court colors in the Qing dynasty, and also help archaeological conservators take a scientific and reasonable program to preserve and exhibit historical textiles.

**Key words:** HPLC-MS; dragon robe; natural dyes; dye analysis; data-dependent technology

在英国科学家 William H Perkin 于 1856 年发明合成染料苯胺紫之前,几乎所有的染料均提取于自然界的植物或动物,可称之为天然染料。天然染料种类繁多,按照化学结构分类可分为蒽醌类、黄酮类、生物碱类、吲哚类、单宁类等化合物。对古代纺

织品上的染料进行分析和鉴别,能够知道染料的品种及其动植物来源,进而获知染料的产地,甚至纺织品文物制作的年代<sup>[1]</sup>。这些信息帮助历史学家考证古代染织科技史文献的正误,有助于文物保护工作者合理科学地保存、修复和展示珍贵的纺织品文物,也能够为复原传统工艺、生产生态环保的现代纺织品提供古代染料品种信息。

为了准确地鉴别古代染料,需要有可靠灵敏的检测方法。目前,用于纺织品文物染料分析的方法有多种,主要有高效液相色谱技术(HPLC)、三维荧

收稿日期: 2018-06-11; 修回日期: 2018-12-11

基金项目: 国家文物局文物保护项目(2016-373)

作者简介: 范鲁丹(1984—),女,主管医师,主要从事中药的鉴别与作用机理的研究。通信作者: 刘剑,副研究员, koyojohnson@126.com。

光光谱技术(3D-EEM)、表面增强拉曼光谱技术(SERS)、直接实时质谱分析技术(DART-MS)、高效液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS)。20世纪80年代,Wouters<sup>[2]</sup>采用HPLC对蒽醌类染料进行分离和鉴别,借助C18色谱柱优异的分离能力和紫外-可见光检测器的灵敏度使这种方法广泛地应用于古代文物的检测。中国的文物科技工作者也曾尝试用该方法鉴别马王堆出土丝织品上的染料<sup>[3]</sup>。日本正仓院的Nakamura等<sup>[4]</sup>采用3D-EEM技术对1500年前的传世皇室织物进行分析,发现有靛青、黄檗、日本茜草等染料,但这种无损分析手段对没有荧光特征的染料无能为力,且无法分离天然染料中的各种色素。SERS技术具有超灵敏的优点<sup>[5]</sup>,可是也无法鉴别染料中不同色素成分。DART-MS也是一种无损分析方法<sup>[6]</sup>,同样存在分离能力弱这个缺点。19世纪中期以前,纺织品上的染料均为天然染料,通常包含多种色素成分,相比较其他的分析手段,HPLC-MS技术不仅能够高效地分离各个组分,而且二极管检测器和质谱检测器可提供每种组分的紫外-可见吸收光谱图和多级质谱图,解析相应色素的分子结构<sup>[7]</sup>,从而探索古代染料的品种,结合历史文献和动植物志可了解染料的产地,甚至染色的年代。

本文采用HPLC-MS技术,对中国丝绸博物馆收藏的明黄色团龙纹实地纱盘金绣龙袍进行染料分析,并利用数据关联技术(DDA),仅需要一次进样即可采集染料各色素成分的三级质谱图,节约文物样品的消耗量。

## 1 材料和方法

### 1.1 化学试剂

HPLC级乙腈和甲醇(德国默克公司),LC-MS级甲酸(美国赛默飞世尔科技公司),HPLC级吡啶(上海安谱实验科技股份有限公司),98%草酸(美国阿克洛斯有机试剂公司)。18.2 MΩ超纯水由Millipore reference纯水仪(法国密理博公司)系统制备,芦丁(>98%)、槲皮素(≥98.5%)、苜蓿醇(≥98%)、杨梅素(≥98%)、靛蓝(97%)、盐酸小檗碱(>95%)、盐酸巴马汀(≥97%)、靛玉红(≥98%)(上海阿拉丁生化科技股份有限公司),槐米、红花、五倍子、青黛、苏木、栀子、黄檗(杭州张同泰中药店),黄庐(采自北京大学未名湖畔),橡碗子(采自杭州玉皇山)。

### 1.2 样品制备

取清代丝织品纱线0.1~0.5 mg,采用吡啶/水/草酸(95/95/10)萃取纱线上的染料,85℃恒温萃取30 min。然后用氮气干燥,萃取物用甲醇/水(1/1)溶解,离心后移取上清液30 μL至微量进样瓶,进样20 μL。

### 1.3 仪器

本实验采用高效液相色谱-质谱联用技术(HPLC-MS)分析清代丝织品上的染料。其中液相色谱系统由二元高压梯度泵、二极管阵列检测器和自动进样器组成LC20AD(日本岛津公司),质谱检测器为线性离子阱质谱仪LTQ-XL(美国赛默飞世尔科技公司),采用C18反相色谱柱Luna C18(美国菲罗门公司)进行染料色素分离。

高效液相色谱洗脱液A为0.1%甲酸水溶液,B为0.1%甲酸乙腈溶液,流速为0.25 mL/min。质谱数据采集和处理由Xcalibur2.1软件完成,质量数范围m/z 100~1000。质谱参数如下:离子喷雾电压分别为3kV(正离子模式)和2.5kV(负离子模式);毛细管温度350℃;氮气用作鞘气和辅气压力分别为35 psi和15 psi;毛细管电压分别为35 V(正离子模式)和-40 V(负离子模式)。多级谱图MS<sup>n</sup>采集利用DDA程序进行碰撞诱导解离,相关参数见文献[8]。

## 2 结果与分析

本文分析的清代丝织品为明黄色团龙纹实地纱盘金绣龙袍(No. 1858,中国丝绸博物馆收藏),根据该件龙袍的形制和纹样(图1)推测为乾隆时期制作(18世纪)的皇子服饰,简称小龙袍。

### 2.1 红色纱线

小龙袍上有多种红色纱线,包括大红色、红色、桔红色、水红色等。从龙袍背面取得红色纱线(图1A)用作HPLC-MS检测。图2A是520 nm检测波长下染料萃取液的高效液相色谱图,发现存在两个明显的色谱峰1和峰2。色谱峰2的最大吸收波长为312、370 nm和518 nm,负离子模式下获得准分子离子峰[M-H]<sup>-</sup> m/z 909,推测该色素为红花红色素(carthamin)<sup>[9]</sup>。通过数据关联技术,单次进样还能获得色谱峰2的二级质谱的碎片离子有m/z 891、701、501、287、449。因此,该红色纱线由红花(*Carthamus tinctorius*)染色。在图2A上色谱峰1的准分子离子为[M-H]<sup>-</sup> m/z 698,未曾见于相关的文献报道,可能是红花红色素经过近300年的老化而



图1 明黄色团龙纹实地纱盘金绣龙袍

Fig. 1 Real gold embroidered dragon robe on yarn background of bright yellow curling dragon pattern

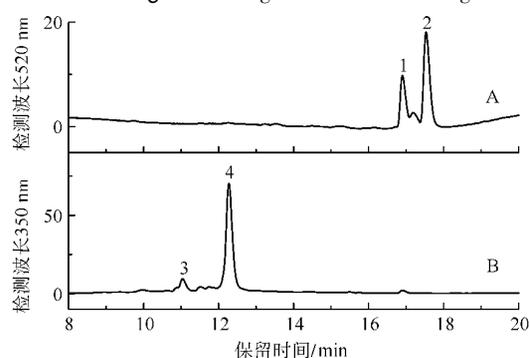


图2 红色纱线上染料的高效液相色谱

Fig. 2 HPLC profiles of dye extract from red yarns

形成的老化产物。此外,在350 nm检测波长下看到色谱峰3和峰4(图2B),它们的最大吸收波长见表1。正离子模式下,两个化合物的准分子离子峰 $[M+H]^+$ 分别为 $m/z$  352和336,通过比对染料标准品可以确认这两个色素为巴马汀(palmatine)和小檗碱(berberine),为黄檗的主要色素成分。

表1 红色纱线上染料各色素成分的特征和鉴别

Tab. 1 Characterization and identification of possible compounds in dye extract from red yarns

序号	色素成分	保留时间/min	最大吸收波长/nm	准分子离子峰的 $m/z$
1	降解产物	16.90	328 463	698
2	红花红色素	17.53	312 370 518	909
3	巴马汀	11.04	263 343 416	352
4	小檗碱	12.28	264 347 404	336

注:化合物1和2的准分子离子峰在负离子模式下获得,化合物3和4的准分子离子峰在正离子模式下获得。

红花原产于埃及,据传为汉代张骞出使西域引进中国<sup>[10]</sup>。红花中红色素的含量仅占0.5%,但染得丝绸的颜色非常艳丽,称之为“真红”。古代染匠为了从红花中提取红色素摸索出一套方法,首先用清水去除黄色素,然后用碱性溶液(纯碱)提取红色素,最后染色时加入酸性溶液(乌梅汁或米醋)使红花红色素吸附在丝纤维上<sup>[11]</sup>。由于红色素在红花中含量较少,方以智《物理小识》中记载了“帛藉黄檗而染红”,也就是说在明末清初染匠为了节约红花的使用量,采用黄檗先染打底再套染红花。龙袍红色纱线的染料检测结果正印证了文献的记载。

## 2.2 黄色纱线

这件龙袍的黄色纱线有两种,分别取自袖口的金黄色纱线(图1G)和江崖海水纹背面的明黄色纱线(图1D)。金黄色纱线上染料的高效液相色谱(图3),可以看到存在6个明显的色谱峰,各个色谱峰对应化合物的表征和鉴别见表2。色谱峰1的最大吸收峰位于255 nm和351 nm,说明该色素可能属于黄酮类化合物。在负离子模式下,化合物1的准分子离子 $[M-H]^-$ 为 $m/z$  609,二级质谱的主要碎片离子为 $m/z$  301,说明脱去308 Da(可能是芸香糖,由一分子葡萄糖和一分子鼠李糖组成)。采用数据关联技术,还可以获得二级质谱中 $m/z$  301的三级质谱数据,其中基峰为 $m/z$  179,可指认为黄酮醇裂解后的 $^{1,2}A^-$ 离子,另外还有碎片离子 $m/z$  151、273和257,说明化合物1的苷元为槲皮素。结合该化合物

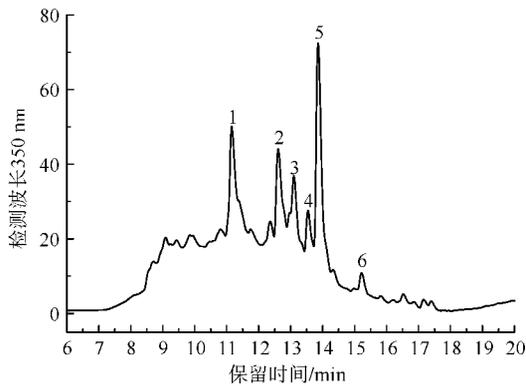


图 3 金黄色纱线上染料的高效液相色谱

Fig. 3 HPLC profile of dye extract from golden yellow yarns

表 2 金黄色纱线上染料各色素成分表征和鉴别

Tab. 2 Characterization and identification of possible compounds in dye extract from golden yellow yarns

序号	色素成分	保留时间/min	最大吸收波长/nm	准分子离子峰的 m/z
1	芦丁	11.15	255 351	609
2	type C	12.60	307 336	243
3	漆黄素	13.10	354	285
4	未知黄酮	13.54	278 329 392	313
5	硫磺菊素	13.86	255 393	269
6	紫柳因	15.22	374	271

注: 准分子离子峰在负离子模式下获得。

的最大吸收波长和保留时间, 确认为芦丁 (rutin)。化合物 5 在谱图中显示最强的色谱峰, 最大吸收波长位于 255 nm 和 393 nm, 可归属于橙酮类色素带 II 和带 I 的特征吸收。该化合物的准分子离子峰  $[M-H]^-$  为  $m/z$  269, 二级质谱的主要碎片离子包括  $m/z$  225、227、241、133 和 135。根据 Qu 等<sup>[12]</sup>报道, 指认为  $[M-H-CO_2]^-$ 、 $[M-H-C_2H_2O]^-$ 、 $[M-H-CO]^-$ 、 $^{1,2}A^-$  和  $^{1,2}B^-$ , 可推测该化合物为硫磺菊素 (sulfuretin)。化合物 3 的最大吸收峰为 354 nm, 属于黄酮醇化合物。其准分子离子峰  $[M-H]^-$  为  $m/z$  285, 二级质谱获得的基峰为  $m/z$  163, 可指认为  $^{1,2}A^-$  离子。此外, 还可以发现的碎片离子有  $m/z$  135、241 和 257, 分别归属为  $^{1,3}A^-$ 、 $[M-H-CO_2]^-$  和  $[M-H-CO]^-$  与槲皮素的裂解规律非常相似, 所以化合物 3 被鉴别为漆黄素 (fisetin)<sup>[13]</sup>。在保留时间 15.22 min 的色谱峰对应化合物 6, 其最大吸收波长为 374 nm, 一级质谱显示准分子离子  $[M-H]^-$  为  $m/z$  271, 推测可能是查耳酮类化合物紫柳因 (butein)<sup>[13]</sup>。

根据对金黄色纱线中染料的检测结果, 发现存在的主要色素有芦丁、硫磺菊素和漆黄素。其中, 芦

丁是槐米 (*Sophora japonica*) 的主要色素成分, 而硫磺菊素和漆黄素存在于黄栌 (*Cotinus coggygria*)。这两种黄色染料常见于明清时期的历史文献, 更加确切地是在乾隆时期内务府染作销算档案中<sup>[14]</sup>记载金黄色由槐米和黄栌按照比例套染而成。明黄色是小龙袍的主体颜色, HPLC-MS 检测的结果显示主要色素为芦丁, 说明采用槐米染色。

### 2.3 蓝色纱线

小龙袍的江崖海水纹上有深浅各异的蓝色, 采用 HPLC-MS 对各种蓝色进行染料鉴别。图 4 是宝蓝色纱线 (图 1E) 上染料的高效液相色谱, 化合物 1 和化合物 2 在正离子模式下一级质谱图均显示准分子离子峰  $[M+H]^+$  为  $m/z$  263, 且二级质谱中的碎片离子也相同, 说明这两个色素应该是同分异构体。不过, 两个化合物的最大吸收波长不同, 前者为 283、325 nm 和 606 nm, 后者为 290、361 nm 和 538 nm。通过与标准品比对, 可以确认化合物 1 和 2 分别为靛蓝和靛玉红, 提取自含靛植物发酵后的染料成品靛青。在合成染料发明之前, 几乎所有的蓝色染料均来自含靛植物, 目前所知, 该类植物在世界各地均有分布, 且品种繁多。在中国, 常见的含靛植物有四种, 即马蓝、蓼蓝、木蓝和菘蓝<sup>[15]</sup>。由于含靛植物制作成靛青后所含有的色素主要为靛蓝和靛玉红, 因此, 目前尚无文献报道区分各种含靛植物的方法。在图 4 中还发现化合物 3, 其特征吸收峰为 292、359、536 nm, 与靛玉红的紫外可见吸收光谱相似, 说明化合物 3 可能是靛玉红的衍生物, 今后对于这个未知化合物的结构解析也许有助于确认含靛植物的种类。

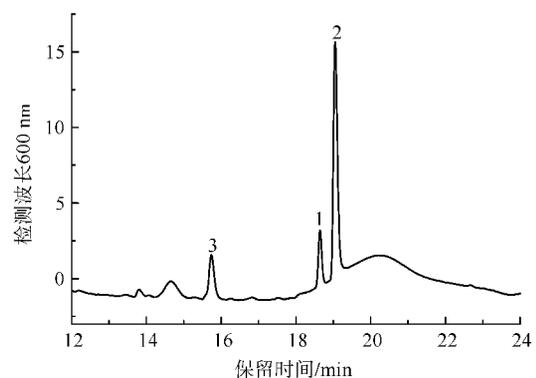


图 4 蓝色纱线上染料的高效液相色谱

Fig. 4 HPLC profile of the dye extract from blue yarns

### 2.4 紫色纱线

中国古代的紫色染料种类较少, 可能在战国时

期出现过骨螺染紫,但没有实物出土印证,唐代使用紫草染色,但工艺复杂且耗时费力。此后,紫色往往采用靛青染料和红色染料套染来获得。本文中小龙袍上也有紫色(图1B),在图5中可以看到化合物2和3的保留时间分别为18.66 min和19.06 min。根据比对上文中论述的蓝色纱线中的染料的特征吸收光谱图和质谱图,可以确认紫色纱线中存在靛青。在350 nm检测波长下,化合物1的信号最强,特征吸收峰为258、307 nm和336 nm。在负离子模式下一级质谱图获得的准离子分子峰[M-H]<sup>-</sup>为m/z 243,二级质谱显示碎片离子有m/z 215、199、171、187、226。结合对古代红色染料的研究报道<sup>[16]</sup>,本文认为化合物1就是苏木染色织物老化后的降解产物type C。苏木含有的色素为巴西木素(brazilin)和氧化巴西木素(brazilein),经过长期的光老化会形成type C。此外,在保留时间9.00~12.50 min还出现一系列未知的色谱峰,可能也是苏木色素老化后的产物。根据HPLC-MS检测结果,该紫色纱线为苏木和靛青套染获得,《天工开物》中记录有“天青色,入靛缸浅染,苏木水盖”,所以小龙袍中的紫色很可能就是天青色。此外,在金黄色纱线中也发现有type C(表2),推测是同一染缸中可能使用不同染料染色导致的结果。

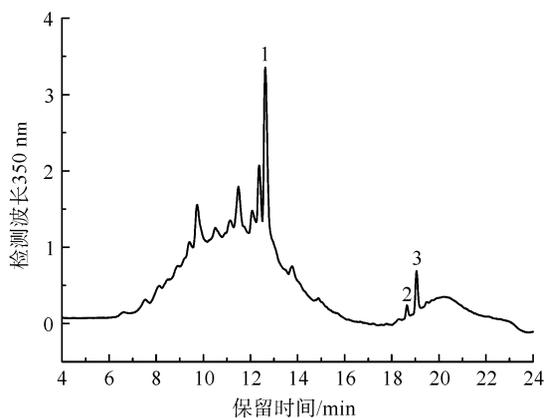


图5 紫色纱线上染料的高效液相色谱

Fig. 5 HPLC profile of dye extract from purple yarns

### 2.5 绿色纱线

在古代染料中没有可以直接用来染绿色的植物,一般采用黄色染料和靛青套染的方法获得各种深浅的绿色。在小龙袍江崖海水纹上有两种绿色,HPLC-MS的检测结果显示图1C的绿色由槐米和靛青套染,图1F的绿色由黄檗和靛青套染。《天工开物》记载“大红官绿色,槐花煎水染,蓝靛盖,浅深皆用明矾”,而“豆绿色,黄檗水染,靛水盖”,证实小龙袍上的绿色至少存在官绿和豆绿两种绿色。

## 3 结论

采用HPLC-MS技术,结合DDA谱图采集程序,对明黄色团龙纹实地纱盘金绣龙袍上的7种颜色纱线进行染料鉴别。红色纱线为黄檗打底后红花染色,金黄色纱线为黄栌和槐米套染,明黄色纱线为槐米染色,各种蓝色纱线均有靛青染色,天青色纱线由靛青和苏木套染,官绿色和豆绿色分别为槐米和黄檗同靛青套染。染料的检测结果与明清时期的历史文献一一印证,为清代宫廷服饰的色彩复原提供了真实可靠的依据,同时,也有助于文物保护者对这类珍贵文物采取安全保存和展示的方案。但是,本文的检测结果仍然无法解析蓝色纱线和天青色纱线中未知染料色素或降解产物的分子结构,有待于今后综合其他技术手段去解决这些问题。

### 参考文献:

- [1] HOFENK de GRAAFF Judith. The Colourful Past—Origins, Chemistry and Identification of Natural Dyestuffs [M]. Riggisberg and London: Abegg-Stiftung and Archetype Publication Ltd, 2004: 20.
- [2] WOUTERS Jan. High performance liquid chromatography of anthraquinones: analysis of plant and insect extracts and dyed textiles [J]. Studies in Conservation, 1985, 30(3): 119-128.
- [3] 上海市纺织科学研究院,上海市丝绸工业公司文物研究组. 长沙马王堆一号汉墓出土纺织品的研究 [M]. 北京: 文物出版社, 1980: 97-100.  
The Archaeological Research Group of the Shanghai Textile Research Institut, The Shanghai Silk Industry Corporation. A Study of the Textile Fabrics Unearthed from Han Tomb No. 1 at Ma-Wang-Tui in Changsha [M]. Beijing: Culture Relics Press, 1980: 97-100.
- [4] NAKAMURA Rikiya, TANAKA Yoko, OGATA Atsuhiko, et al. Dye analysis of Shosoin textiles using excitation-emission matrix fluorescence and ultraviolet-visible reflectance spectroscopic techniques [J]. Analytical Chemistry, 2009, 81(14): 5691-5698.
- [5] POZZI Federica, LEONA Marco. Surface-enhanced Raman spectroscopy in art and archaeology [J]. Journal of Raman Spectroscopy, 2016, 47(1): 67-77.
- [6] DEROO Cathy Selvius, ARMITAGE Ruth Ann. Direct identification of dyes in textiles by direct analysis in real time-time of flight mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2011, 83(18): 6924-6928.
- [7] ZHANG Xian, BOYTNER Ran, CABRERA Jos Luis, et al. Identification of yellow dye type in pre-columbian andean textiles [J]. Analytical Chemistry, 2007, 79(4): 1575-1582.

- [8] LIU Jian , ZHOU Yang , ZHAO Feng , et al. Identification of early synthetic dyes in historical Chinese textiles of late nineteenth century by high-high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection and mass spectrometry [J]. *Coloration Technology* , 2016 , 132 ( 2 ) : 177-185.
- [9] WOUTERS Jan , GRZYWACZ Cecily , CLARO Ana. Markers for identification of faded safflower ( *Carthamus tinctorius* L. ) colorants by HPLC-PDA-MS [J]. *Studies in Conservation* , 2010 , 55 ( 3 ) : 186-203.
- [10] 赵丰. 红花在古代中国的传播,栽培和应用:中国古代染料植物研究之一[J]. *中国农史*, 1987( 3 ) : 61-71.  
ZHAO Feng. The propagation ,cultivation and application of safflower in ancient China: one of the studies on vegetable dyes in antiquity [J]. *Agricultural History of China* , 1987 ( 3 ) : 61-71.
- [11] 杨建军. 染料红花古名辨析兼及番红花名称考[J]. *丝绸* , 2017 , 54 ( 2 ) : 73-81.  
YANG Jianjun. Discrimination of the ancient dye name of safflower and saffron name research [J]. *Journal of Silk* , 2017 , 54 ( 2 ) : 73-81.
- [12] QU Jing , HU Youcai , WANG Yinghong , et al. Structural characterization of constituents with molecular diversity in fractions from *Lysidice brevicalyx* by liquid chromatography/diode-array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry and liquid chromatography/nuclear magnetic resonance [J]. *Rapid Communication in Mass Spectrometry* , 2008 , 22 ( 6 ) : 755-765.
- [13] VALIANOU Lemonia , STATHOPOULOU Konstantina , KARAPANAGIOTIS Ioannis , et al. Phytochemical analysis of young fustic ( *Cotinus coggygia* heartwood ) and identification of isolated colourants in historical textiles [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* , 2009 , 394 : 871-882.
- [14] 王业宏,刘剑,童永纪. 清代织染局染色方法及色彩[J]. *历史档案* , 2011 ( 2 ) : 125-127.  
WANG Yehong , LIU Jian , TONG Yongji. Dyeing methods and related colors used in Qing dynasty dyeing workshops [J]. *Historical Archives* , 2011 ( 2 ) : 125-127.
- [15] 刘剑,王业宏,郭丹华. 传统靛青染料的生产工艺[J]. *丝绸* , 2009 ( 11 ) : 42-43 , 50.  
LIU Jian , WANG Yehong , GUO Danhua. The processing technique of traditional indigo dyes [J]. *Journal of Silk* , 2009 ( 11 ) : 42-43 , 50.
- [16] MANHITA Ana , SANTOS Vanda , VARGAS Helena , et al. Ageing of brazilwod dye in wool-a chromatographic and spectrometric study [J]. *Journal of Cultural Heritage* , 2013 , 14 ( 6 ) : 471-479.