

不同产地北青龙衣的红外光谱鉴定分析

张海燕¹, 霍金海¹, 董文婷¹, 贺小雪¹, 王伟明^{1,2*}

(1. 黑龙江省中医药科学院 中药研究所, 哈尔滨 150036;

2. 黑龙江省林下经济资源研发与利用协同创新中心, 哈尔滨 150040)

[摘要] **目的:**对黑龙江省不同产地的北青龙衣样品进行红外指纹图谱分析鉴别研究。**方法:**采用一维红外光谱结合二阶导数谱、以及相似性比较软件对 13 个产地的北青龙衣及其主要活性成分胡桃醌的红外指纹图谱进行处理。**结果:**鉴别出北青龙衣的指纹特征且比较出其不同产地间的差异。其中集贤县、汤原县、海林市青龙衣化学成分含量相对较高,哈尔滨市、桦南县相对较低。**结论:**对于不同产地北青龙衣,红外指纹图谱分析是一种有效、快速的鉴别分析方法。

[关键词] 北青龙衣; 红外光谱; 二阶导数谱; 鉴定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)04-0057-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016040057

Infrared Spectra Analysis on Fruits of *Juglans mandshurica* from Different Origins

ZHANG Hai-yan¹, HUO Jin-hai¹, DONG Wen-ting¹, HE Xiao-xue¹, WANG Wei-ming^{1,2*}

(1. Heilongjiang Academy of Traditional Chinese Medicine Institute of Chinese Medicine, Harbin 150036, China;

2. Heilongjiang Forest Economy Collaborative R&D

and Innovation Center Resource Utilization, Harbin 150040, China)

[Abstract] **Objective:** To identify and analyze the infrared fingerprints of fruits of *Juglans mandshurica* samples from different areas of Heilongjiang province. **Method:** One-dimensional IR spectrum combined with the second derivative spectrum, as well as similarity comparison software were used to process the IR fingerprints of fruits of *J. mandshurica* from 13 origins and their main active ingredient juglone. **Result:** The fingerprint characteristics of fruits of *J. mandshurica* were identified and their difference between different origins were studied. The content of chemical composition in fruits of *J. mandshurica* was higher in Jixian county, Tangyuan county, and Hailin, but lower in Harbin and Huanan county. **Conclusion:** For fruits of *J. mandshurica* in different origins, infrared fingerprint analysis is an effective and quick method for identification and analysis.

[Key words] fruits of *Juglans mandshurica*; IR; second derivative spectrum; identification

青龙衣又称核桃青皮,主产于东北三省,以黑龙江省资源蕴藏量最大,称为北青龙衣。在民间常作为治疗各种癌症以及各种疼痛的止痛药^[1-2]。2001年被收载于《黑龙江省中药材标准》应用于临床和生产^[3]。

傅里叶变换红外光谱法 (FTIR) 是一种常用的结构分析技术,具有宏观整体鉴定复杂体系的优点。将红外光谱技术应用于复杂的混合物体系,各谱带主要是由各种吸收峰叠加而来,红外光谱图也相应发生很大变化,其特点是吸收谱带变宽,吸收峰较

[收稿日期] 20150129(007)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2010ZX09102-138);哈尔滨市青年科技创新人才基金项目(2012RFQYS042);黑龙江省科技计划项目(GC12C110)

[第一作者] 张海燕,研究实习生,从事中药药效物质基础及质量标准研究,Tel:0451-55653086-6902,E-mail:hai1685@sina.com

[通讯作者] *王伟明,研究员,博士,从事中药新药研发,Tel:0451-55665478,E-mail:zyyjy@163.com

少,其特征性、专属性明显降低。而导数光谱可以提高分辨率,增大信息量,增强信息品质,突出谱图特征性,能很好的分辨谱图中重叠的峰,尤其是二阶导数谱,它的半峰宽只有原谱图半峰宽的 1/3 左右,它能够容易地分辨出强峰两侧的小肩峰,在正确测定峰位及确定肩峰位置时很有用,基本上达到了提高谱图分辨率的目的,这对测定峰位及确认肩峰非常有效,因此二阶导数谱被作为红外光谱技术鉴定中药的手段之一。孙素琴等^[4]采用 FTIR 和二维相关红外技术已成功地对不同产地枸杞、金莲花、陈皮和葛根等药材进行鉴别研究,孙鹏和金向军等^[5]也将 FTIR 指纹图谱分析分别应用在不同产地青蒿和朝鲜淫羊藿的鉴别上。

黑龙江省地处我国最东北部,地域广阔,南北跨 10 个纬度,2 个热量带;东西跨 14 个经度,3 个湿润区。主要以山地和平原为主,其中海拔高度 > 300 m 的丘陵地带约占全省的 35.8%;平原占全省总面积的 37.0%。较大差异的地形地貌以及气候环境,使得各地的胡桃楸果皮化学成分含量具有一定差异。本文采用一维红外光谱和二阶导数红外光谱,利用红外光谱分析的宏观整体性及其指纹特异性的特点,对不同生长环境下 13 个产地北青龙衣进行了快速准确的鉴定分析,为北青龙衣药效成分研究以及鉴别分析奠定了基础。

1 材料

Spectrum Two 型红外光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司)。溴化钾(KBr,光谱纯),胡桃醌对照品(成都瑞芬思生物科技有限公司,批号 H-075-131230);北青龙衣(均于 2014 年 7 月采集自黑龙江省不同产地未成熟鲜果,经黑龙江省中医药科学院初东君主任药师鉴定为胡桃科胡桃属植物胡桃楸 *Juglans mandshurica* 的未成熟果实外果皮。

2 方法与结果

2.1 样品制备 分别称取青龙衣供试品粉末及胡桃醌对照品约 3 mg 与 200 mg 溴化钾(碎晶)混合研磨充分均匀,压片测定。

2.2 方法学考察

2.2.1 精密度试验 取同一青龙衣原药材样品粉末供试片连续测定 5 次,采用 Perkin Elmer 公司 Spectrum 10 中“比较”功能比较重复测定 5 次所得红外谱图,谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.999 9,0.999 9,0.999 8,0.999 7,RSD 0.01%。

其所得二阶导数红外谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.998 6,0.998 3,0.996 1,0.996 0,RSD

0.2%。由红外光谱和二阶导数谱实验结果可以得出该仪器精密度良好。

2.2.2 稳定性试验 取同一青龙衣原药材样品供试片放入真空干燥器内包存,在 3 h 内每隔 30 min 测定 1 次,所得红外谱图基本一致,谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.999 3,0.999 1,0.998 5,0.998 4,0.998 2,RSD 0.07%。

其所得二阶导数红外谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.997 2,0.996 8,0.987 6,0.981 9,0.981 3,RSD 0.8%。由红外光谱和二阶导数谱实验结果可以得出北青龙衣供试品粉末在 3 h 内稳定性良好。

2.2.3 重复性试验 取 5 份同一青龙衣原药材样品分别压片并进行红外检测,所得红外谱图基本一致,谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.998 9,0.997 9,0.998 5,0.999 3,RSD 0.08%。

其所得二阶导数红外谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.989 4,0.985 5,0.984 1,0.979 0,RSD 0.8%。由红外光谱和二阶导数谱实验结果可以得出本试验重复性较好。

2.3 不同产地青龙衣红外数据处理 采用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum 10 软件,在 4 000 ~ 500 cm^{-1} 波数范围内扫描,获得各产地北青龙衣供试品红外谱图。

采用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum 10 软件中的“导数”功能(13 点平滑),获得红外二阶导数光谱图。

相似性分析采用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum 10 软件中的“比较”功能计算相似度并比较差异。

2.4 不同产地青龙衣一维红外谱图分析 各样品压片采集数据得到其一维红外谱图,13 个产地北青龙衣的红外光谱整体上高度重叠,以 A 产地即方正县所产北青龙衣为标准,计算出相似度分别为 1 (A),0.993 2 (B),0.972 1 (C),0.986 9 (D),0.985 9 (E),0.977 4 (F),0.979 3 (G),0.993 3 (H),0.990 3 (I),0.994 8 (J),0.995 9 (K),0.989 6 (L),0.979 9 (M),可见,13 个产地北青龙衣样品间相似度差异均 > 97%,说明不同产地北青龙衣成分的一致性。北青龙衣特征吸收峰为 3 660 ~ 3 010 cm^{-1} 宽峰强吸收的 O-H 伸缩振动;2 926 cm^{-1} 苯环上不饱和 C-H 的伸缩振动;1 620 cm^{-1} 对称峰的芳烃吸收;1 050 cm^{-1} 尖峰强吸收的苯环上 O-H 取代吸收。因此可根据以上 4 个特征吸收峰以及相似度对比对北青龙衣做出鉴别。见图 1。

2.5 不同产地青龙衣二阶导数红外光谱分析 北

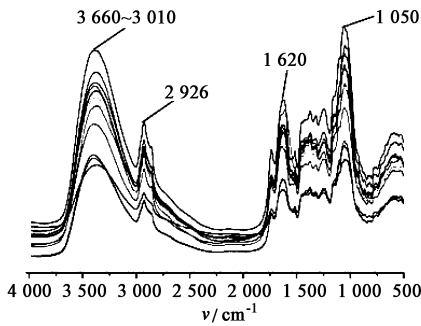
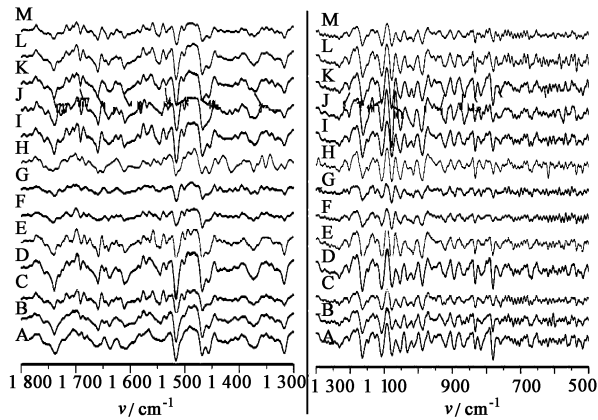


图 1 不同个产地北青龙衣一维红外光谱
Fig.1 IR of different localities Fruits of *Juglans mandshurica*

青龙衣中含有多种成分,各产地样品一维红外光谱吸收峰叠加严重,相似性高,差异鉴别难度较大。使用二阶导数光谱可以增强分辨率,以便对重叠峰进行分辨或使一些特征峰间的差异更加明显并提高图谱的指纹特征性,用于不同产地北青龙衣的区分。结果见图 2。



A. 方正县; B. 五常市; C. 哈尔滨市; D. 集贤县; E. 汤原县; F. 宝清县; G. 桦南县; H. 嘉荫县; I. 宾县; J. 海林市; K. 通河县; L. 铁力市; M. 黑河市

图 2 13 个产地北青龙衣二阶导数红外光谱
Fig.2 13 Origin Fruits of *Juglans mandshurica* second derivative IR

以 A 产地二阶导数红外光谱为标准计算各产地样品相似度分别为 1 (A), 0.957 6 (B), 0.911 5 (C), 0.907 1 (D), 0.893 9 (E), 0.873 1 (F), 0.931 9 (G), 0.929 9 (H), 0.931 1 (I), 0.943 1 (J), 0.949 0 (K), 0.918 9 (L), 0.911 9 (M), 根据相似度比对结果可知,各产地样品二阶导数红外光谱间差异明显。因此可结合各产地样品二阶导数红外光谱进行细节成分鉴别研究,并比较出不同产地间成分差异。

将北青龙衣 13 个产地二阶导数红外光谱分段放大,以便各谱图间差异比较。图 2 (A) 中, 1 737 cm^{-1} 处出现酯羰基振动吸收,产地 B, D, I, J 吸收较强,而 F, G, H, M 吸收较弱,趋于平缓; 1 687,

1 659 cm^{-1} 为 C = O 伸缩振动,产地 C, D, E, I, J, K, L 吸收峰较大,其他产地几乎无吸收峰; 1 609, 1 534, 1 518, 1 468 cm^{-1} 为苯环骨架振动吸收,产地 A, B, D, E, I, J, K, L 在 1 518 cm^{-1} 吸收较强,呈明显对称尖峰,其他产地相对较弱; 1 375, 1 316 cm^{-1} 处为 O-H 伸缩振动吸收峰,产地 E, G, H, I, J, K 在 1 375 cm^{-1} 处出现肩峰。

图 2 (B) 中, 1 225 cm^{-1} 为酚-OH 伸缩振动; 1 160, 1 100, 1 080 cm^{-1} 附近为-OH 振动吸收,产地 D, E, I, J, K, L 在 1 160 cm^{-1} 吸收强,产地 J 在 1 080 cm^{-1} 吸收最强,且呈对称尖峰; 990, 860, 836, 750, 695, 630 cm^{-1} , 为苯环上 C-H 面外弯曲振动。

综合可知,产地 D, E, J, 即采集自集贤县、汤原县、海林市的北青龙衣整体红外吸收相对较强,即其各化学成分含量较高;产地 C, G, 即采集自哈尔滨市、桦南县的北青龙衣红外吸收弱,青龙衣主要化学成分含量较低。青龙衣具体化学成分含量差异,需进一步同各化学成分对照品进行比对。

2.6 不同产地北青龙衣与胡桃醌对照品红外谱图分析 胡桃醌为北青龙衣中的主要有效成分,见图 3。胡桃醌和各产地北青龙衣的一维谱图相似,且指纹特征明显也说明了这一点。通过比较其之间的差别,可以判断各产地北青龙衣中含胡桃醌的高低,即北青龙衣的二阶导数谱图与胡桃醌的越接近,说明其胡桃醌含量相对越高。分析各产地北青龙衣二阶导数红外谱图可知,各产地谱图均具有胡桃醌特征吸收峰,但峰位及其吸收强度有所移动,可能是由于北青龙衣中其他化学成分吸收所致,波数 1 800 ~ 1 300 cm^{-1} 波动较大, 1 300 ~ 500 cm^{-1} 几乎无波动,说明其他化学成分吸收集集中在 1 800 ~ 1 300 cm^{-1} 。其中 1 665 cm^{-1} 处蓝移 22 个波数,即 1 665 (+ 22), 其他峰位移动变化为 1 645 (+ 14), 1 598 (+ 11), 1 460 (+ 8), 1 363 (+ 12), 1 291 (+ 25), 1 225, 1 100, 1 080 cm^{-1} , 938 ~ 630 cm^{-1} 处无移动。经谱图比较可得, 13 个产地中汤原县和海林市所产北青龙衣中胡桃醌含量较高。见图 4。

2.7 结论 对黑龙江省 13 个产地北青龙衣进行鉴定分析,结果表明,黑龙江省地域广阔,各地区气温、海拔、土壤环境等差异较大,各产地的北青龙衣中化学成分含量也不尽相同,其中集贤县、汤原县、海林市北青龙衣化学成分含量相对较高,哈尔滨市、桦南县化学成分含量较低。说明红外光谱结合二阶导数谱可以有效地对不同产地北青龙衣进行简便快速的鉴定。

于快速准确鉴定分析中药材。

本文研究的不同产地北青龙衣,其产地最北达小兴安岭黑河市,南至五常市,东至集贤县,横跨黑龙江省各地区,因此本文中北青龙衣的差异鉴定具有一定代表性,为黑龙江省北青龙衣鉴别提供有效依据。同时,笔者也将利用红外光谱法对不同药用部位、干燥方法、炮制方法、采收时期、贮存条件、同产地不同区域的北青龙衣进行鉴定分析,以形成北青龙衣完整的鉴别体系。

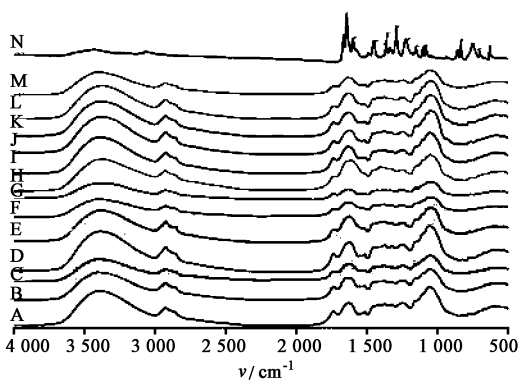
我国胡桃属植物共有 8 种,其中以核桃楸 (*Juglans mandshurica*), 胡桃 (*J. regia*), 山核桃 (*Carya cathayensis*) 文献研究报道居多^[6-7], 进一步建立不同种属青龙衣的红外光谱鉴定分析方法, 为胡桃属植物物种鉴定分析提供快速有效的鉴别方法。

随着青龙衣的药用价值的开发,青龙衣的需求量大大增加,而且核桃楸未成熟鲜果的采集、外果皮的获得以及高质量核桃楸产量逐年下降等原因,青龙衣药材成本逐年增高,与青龙衣干燥后颜色相近的过季废弃的外果皮易被掺入以假乱真,因此,利用红外鉴定分析青龙衣的真伪鉴定更具有实用意义。

[参考文献]

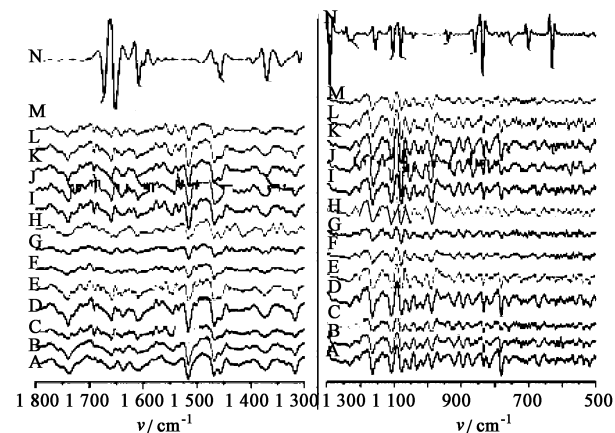
- [1] 季宇彬,马宏图,杨波,等. 青龙衣不同提取部位的抗肿瘤作用研究[J]. 中草药, 2004, 35(10): 1145-1147.
- [2] 张野平,苏静州,杨志博,等. 胡桃醌抗肿瘤作用的研究[J]. 沈阳药科大学学报, 1987, 4(3): 166-168.
- [3] 黑龙江省食品药品监督管理局. 黑龙江省中药材标准[S]. 2001: 69.
- [4] 聂波,张贵君,孙素琴,等. 不同金莲花药材的 IR 鉴别研究[J]. 中药材, 2006, 29(4): 323.
- [5] 孙鹏,张小松,范琦. 不同产地青蒿的 FTIR 指纹图谱分析[J]. 中成药, 2007, 29(12): 1721.
- [6] 李志美. 核桃的开发利用[J]. 林业调查规划, 2004, 29(增刊): 199-200.
- [7] 郗荣庭,张毅萍. 中国果树志. 核桃卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 1996: 9.

[责任编辑 顾雪竹]



A. 方正县; B. 五常市; C. 哈尔滨市; D. 集贤县; E. 汤原县; F. 宝清县; G. 桦南县; H. 嘉荫县; I. 宾县; J. 海林市; K. 通河县; L. 铁力市; M. 黑河市; N. 对照品

图 3 13 个产地北青龙衣与胡桃醌对照品一维红外谱
Fig. 3 13 One dimension derivative IR of origin fruits of *Juglans mandshurica* and juglone



A. 方正县; B. 五常市; C. 哈尔滨市; D. 集贤县; E. 汤原县; F. 宝清县; G. 桦南县; H. 嘉荫县; I. 宾县; J. 海林市; K. 通河县; L. 铁力市; M. 黑河市; N. 对照品

图 4 13 个产地北青龙衣与胡桃醌对照品二阶导数红外谱
Fig. 4 13 Second derivative IR of origin fruits of *Juglans mandshurica* and juglone

3 讨论

中药是一种复杂的混合物体系,含有多种化学组分,逐个单一分析具有一定的困难。红外光谱具有宏观整体鉴定分析复杂体系的特点,能够对中药材的全组分进行测定,反映整个体系的细节问题,便