

· 资源与鉴定 ·

长清产 3 个品系栝楼果皮的红外光谱三级鉴定

于京平¹, 李佳¹, 张永清^{1*}, 康玉秋¹, 周凤琴¹, 范英才², 孙素琴³

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 山东大学, 济南 250100; 3. 清华大学, 北京 100084)

[摘要] 目的:对长清产 3 个品系栝楼果皮进行红外光谱研究。方法:采用红外光谱三级鉴定法对长清产 3 个品系栝楼果皮粉末进行分析。结果:三者的一维谱图和二阶导数红外光谱整体上比较相似,但部分吸收峰的峰形、峰位和峰强具有一定的差异,二维红外相关光谱中自动峰的峰数和峰位,峰强均有明显的区别。结论:红外光谱三级鉴定法可以快速、准确地鉴别 3 个品系栝楼果皮。

[关键词] 栝楼; 果皮; 红外光谱; 二阶导数谱; 二维红外相关光谱

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)17-0163-04

[doi] 10.11653/syfy2013170163

Identification of Peels Among Three Strains of *Trichosanthes kirilowii* in Changqing by Multi-steps Infrared IR Macro-fingerprint Method

YU Jing-ping¹, LI Jia¹, ZHANG Yong-qing^{1*}, KANG Yu-qiu¹, ZHOU Feng-qin¹, FAN Ying-cai², SUN Su-qin³

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. Shandong University, Ji'nan 250100, China; 3. Tsinghua University, Beijing 100084, China)

[Abstract] **Objective:** To study the peels among three strains of *Trichosanthes kirilowii* in changqing by IR spectra method. **Method:** The general infrared spectroscopy (FTIR), secondary derivative spectroscopy and two dimensional correlation infrared spectroscopy (2D-IR) were used to analyze the powder of the three strains of *T. kirilowii*. **Result:** In the one-dimensional spectra and the secondary derivative, the three strains of *T. kirilowii* had certain differences in shape, position and intensity of partial absorption peaks in 2D-IR spectra the three strains had obvious feature. **Conclusion:** The multi-steps infrared IR macro-fingerprint is a rapid and accurate method to identify three strains of *T. kirilowii*.

[Key words] *Trichosanthes kirilowii*; peel; FTIR; secondary derivative spectra; 2D-IR correlation spectra

瓜蒌皮为葫芦科植物栝楼的干燥成熟果皮,可清热化痰、利气宽胸^[1],具有抗心律失常^[2]、扩张冠状动脉、增加冠脉血流量等药理作用。山东省济南市长清区是栝楼的道地产区,种植历史悠久,药材质量上乘。由于栝楼属于雌雄异株植物,经过长期的

自然选择、人工定向培育及外来种质的引进,长清栝楼的遗传特性发生了明显变异,形成了不同的种质^[3-5];不同种质外观性状相似,难以鉴别。红外光谱技术是一种全成分信息的分析手段^[6],本文采用红外光谱三级鉴定法,对长清产 3 个品系栝楼果皮

[收稿日期] 20121128(018)

[基金项目] 山东省科技发展计划项目(2011BAI06B00);“山东道地药材资源质量控制科技平台建设”课题(2008GG2NS02022);山东省农业良种工程项目(2009LZ01-03);济南市科技局高校院所自主创新项目(200906028)

[第一作者] 于京平,博士,从事中药资源及其质量控制研究, E-mail: yujingping69@163.com

[通讯作者] *张永清,博士,教授,博士生导师,从事中药资源及其质量控制研究, E-mail: zyk622003@126.com

进行比较和分析,旨在为种质资源划分和种质优选提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器 FT-IR 红外光谱仪为美国 Perkin-Elmer 公司的 Spectrum One,DTGS 检测器,分辨率 4 cm^{-1} ,测量范围 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$,扫描信号累加 16 次,OPD 速度为 $0.2\text{ cm}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$,扫描时实时扣除 H_2O 和 CO_2 的干扰。50-886 型变温附件(Love Control 公司);Spectrum v3.02 操作软件(Perkin-Elmer 公司)。

1.2 样品及方法 所用样品采自济南市长清区马

山镇北李村,经山东中医药大学张永清教授鉴定,确认为葫芦科栝楼属植物栝楼 *Trichosanthes kirilowii* Maxim.。根据果实形态特征分析,划分为 I, II, III 号 3 个品系。3 个品系植株果实外观差异明显,见表 1。除去果瓢及种子,果皮阴干, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 烘箱干燥,粉碎,过 200 目筛。溴化钾压片制样,测定,得一维谱图。采用 Spectrum for Windows 软件的求导数功能,13 点平滑,得红外二阶导数谱图。应用清华大学自编的二维相关分析软件对所得的动态光谱图进行处理,获得各不同波段的二维相关红外光谱图。

表 1 3 个品系栝楼果实外观性状

品系	果实外观
I 号	梭状卵形,果皮表面橙黄色,果皮厚,皱缩深,顶端较尖,花柱基与株环突出平面,果顶花柱基与株环分离不明显,基部较尖,果柄基部突起
II 号	长椭圆形,果皮表面橙红色,皱缩,有较清晰的长条纹,果顶花柱基圆形,与柱环明显分离,基部稍尖,有明显纵棱,纵棱 10~14 条,纵棱线从果实基部直达果顶
III 号	类球形,果皮表面橙黄色,光滑,不皱缩或少皱缩,果顶有圆形花柱残基,与株环紧密相接,基部微突

1.3 方法学考察

1.3.1 精密度试验 取同一样品原药材供试片连续测定 5 次,采用 Perkin-Elmer 公司的定性分析 COMPARE 比对软件比较 5 张红外一维谱图,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。5 张红外二阶导数谱图间的相关系数分别为 1.000 0,0.999 9,0.999 9,0.999 8,0.999 7。

从红外谱图和二阶导数谱图的重复结果可见,Perkin-Elmer 公司的 Spectrum One 型 FTIR 光谱仪的精密度良好。

1.3.2 稳定性试验 取同一样品供试片放入干燥器内保存,每隔 1 h 测定 1 次,5 h 内所测得的红外谱图基本一致,谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.995 1,0.994 7,0.993 1,0.986 6。5 张红外二阶导数谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.995 1,0.994 7,0.993 1,0.986 6。

从红外谱图和二阶导数谱的重复结果可见,Perkin-Elmer 公司的 Spectrum One 型 FTIR 光谱仪的稳定性良好。

1.3.3 重复性试验 同一份样品,分别取样 5 次进行压片测定,所得红外光谱图基本一致,谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.997 6,0.993 6,0.992 7,0.989 3。5 张二阶导数谱图间相关系数分别为 1.000 0,0.997 1,0.995 4,0.993 7,0.992 5。

同一样品,分别压片 2 次,按照 1.2 项下二维谱图实验方法进行测定,2 次测试的二维谱图峰形、峰

位和峰强都基本一致,表明二维相关红外光谱重复性较好。

结果表明,栝楼果皮粉末样品的一维谱图、二阶导数谱和二维相关红外试验结果重复性较好,可满足中药材分析的要求。

2 结果

2.1 3 个品系栝楼果皮红外光谱谱图比较

2.1.1 栝楼果皮粉末一维红外谱图 据文献[7-8]对主要红外吸收峰进行指认和归属。图 1 显示 3 个品系栝楼果皮粉末的红外谱图整体比较相似。三者共有强而宽的 $3\ 366\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰为-OH 或-NH 伸缩振动,推测其中可能含有糖类、苷类或醇类物质;强而尖锐的 $(2\ 921\pm 3)\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰为- CH_2 伸缩振动峰; $1\ 730,1\ 639\text{ cm}^{-1}$ 处吸收峰为 C=O 伸缩振动峰;结合 $3\ 366,1\ 255,1\ 639\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰,推测其中可能含有羧酸类物质;结合 $1\ 735,2\ 921\text{ cm}^{-1}$ 2 个特征峰,推测其中可能含有脂类化合物; $1\ 056,1\ 104,1\ 255\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰为 C-O-C 伸缩振动, $1\ 415\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰为有机物中不同烃基的变形吸收, $1\ 256\sim 1\ 000\text{ cm}^{-1}$ 呈阶梯状升高的特征峰,推测其中可能含有多糖类、苷类成分; $535\sim 818\text{ cm}^{-1}$ 为苯环取代位置的高度特征峰。

采用 COMPARE 比对软件比较 3 个品系栝楼果皮在 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 波段指纹区的红外谱图,以品系 I 为标准,得到 3 个品系的相关系数依次为:1.000 0,0.994 3,0.991 2($4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$),三者

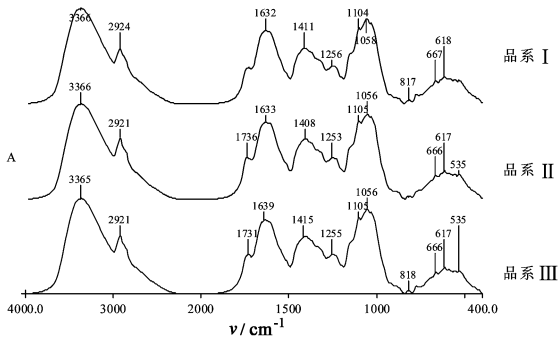


图1 3个品系栝楼果皮粉末一维红外光谱

的谱图比较接近。笔者推测3个品系栝楼果皮的主体成分基本相同。

2.2 3个品系栝楼果皮二阶导数谱图比较 二阶导数谱能够呈现出许多被掩盖谱峰的斜率变化特征,进一步放大红外谱图上微小的差别,提高谱图的表现分辨率,信息更丰富。图2中3个品系栝楼果皮粉末的二阶导数红外光谱(800~1850 cm⁻¹)。

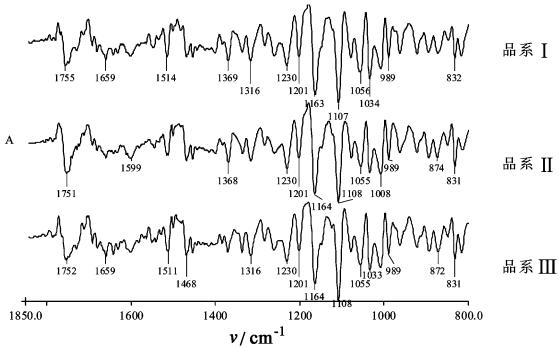
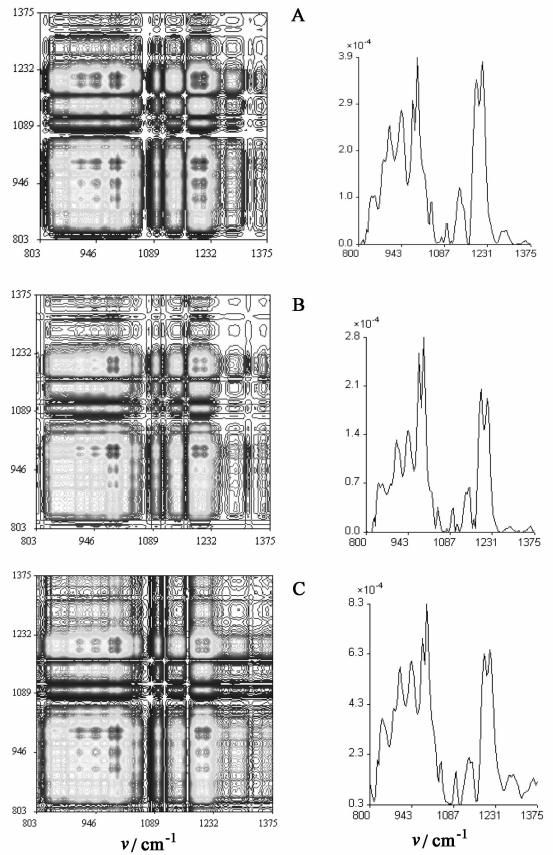


图2 3个品系栝楼果皮粉末二阶导数红外光谱(800~1850 cm⁻¹)

图2显示,在高分辨的二阶导数谱中3个品系栝楼果皮粉末的谱峰特征均明显增多。3个品系栝楼果皮粉末在800~1850 cm⁻¹差异比较大,峰形、峰位、相对峰强度均有区别。品系 I, III 于 1659 cm⁻¹处有吸收峰,而品系 II 吸收峰蓝移至 1599 cm⁻¹处,品系 III 在 1368 cm⁻¹处的相对峰强度明显低于品系 I, II。

2.3 3个品系栝楼果皮粉末二维相关红外光谱比较 二维红外光谱法对一系列动态红外光谱进行数学分析,不仅提高红外谱图的分辨率,而且提供基团之间相关性的详细结构信息^[10]。二维谱图中,笔者选取了(1375~800 cm⁻¹), (1850~1375 cm⁻¹) 2个区域的红外光谱来分析成分对热微扰的响应性,借此对3个品系进行区分。结果如图3,4。

3个品系栝楼果皮粉末的二维相关谱中自动峰的峰数和峰位,均有明显区别。在1375~800 cm⁻¹, 3个品系自动峰数目依次为10,10,12个,品



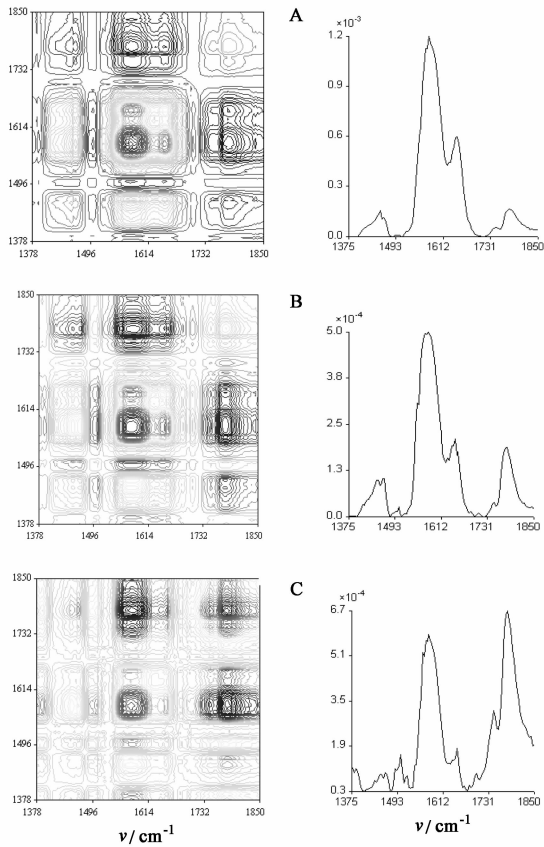
A. 品系 I; B. 品系 II; C. 品系 III

图3 3个品系栝楼果皮粉末二维相关红外光谱(1375~800 cm⁻¹)

系 III 吸收峰信息较多。品系 I 在 1042, 1214, 945, 979 cm⁻¹处峰强高于品系 II, III; 品系 I 在 1193, 1214 cm⁻¹处双峰强度明显高于品系 II, III; 品系 II 在 1193 cm⁻¹处的吸收峰强度高于 1214 cm⁻¹处,而品系 I, III 在 1193 cm⁻¹处的吸收峰强度低于 1214 cm⁻¹处。在 1850~1375 cm⁻¹区域内,3个品系自动峰数目依次为4,6,9个,品系 III 吸收峰信息较多。品系 II 在 1446, 1463 cm⁻¹处出现明显双峰,品系 I 仅出现单峰,品系 III 则出现多峰。品系 I, II 最高峰均在 1576 cm⁻¹处,品系 III 最高峰在 1782 cm⁻¹处。说明不同品系在化学成分的种类和相对含量上有一定差异。

3 小结与讨论

3个品系栝楼果皮无论在性状、化学成分都十分相似,较难区别。红外光谱技术具有宏观、无损、快速的特点^[10],笔者通过红外光谱三级宏观指纹鉴定的方法对3个品系栝楼果皮进行了对比分析,从整体上直观地比较不同栝楼果皮间在植物组成上的差异,得到了较好的结果,为栝楼的鉴别提供了一种新方法。研究结果显示,从一维红外光谱和二阶导



A. 品系 I; B. 品系 II; C. 品系 III

图 4 3 个品系栝楼果皮粉末二维相关红外光谱(1 850 ~ 1 375 cm^{-1})

数红外光谱中,可以看到 3 个品系栝楼果皮粉末的红外光谱图整体峰形比较相似,但部分吸收峰的峰形、峰位和峰强有细微差别,但部分吸收峰的峰形、峰位和峰强有细微差别,这可能与各样品所含成分

的含量不同有关;3 个品系栝楼果皮粉末的二维谱图差别最为明显,三者的自动峰数量不同,部分吸收峰峰强具有明显差异。笔者预测红外光谱三级鉴定可以有效、快速地鉴别 3 个品系栝楼果皮。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:52,104.

[2] 刘金保,涂淑珍,杨海鹭,等. 瓜蒌对异丙肾上腺素性心肌梗塞的保护效应[J]. 广州医学院学报,1992,20(2):20.

[3] 张洁,周立人,李德庆. 栝楼遗传育种及种质鉴定的研究进展[J]. 安徽农业科学,2006,34(23):6223.

[4] 乐崇熙,冯学峰. 18 种瓜蒌皮组织学研究[J]. 中国中药杂志,1999,24(11):646.

[5] 孙稚颖,周凤琴. 山东产瓜蒌不同农家品种的 RAPD 研究[J]. 中草药,2006,37(3):426.

[6] 王凌,龚慕辛,王智民,等. 不同产地丹参药材红外光谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(5):34.

[7] 张芳,张永清,于晓,等. 忍冬不同种质花蕾红外光谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(9):83.

[8] 王鹏,郭庆梅,赵启韬,等. 白花丹参不同部位的红外光谱三级鉴定[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(9):113.

[9] 孙素琴,周群,秦竹. 中药二维相关红外光谱鉴定图集[M]. 北京:化学工业出版社,2003.

[10] 裘兰兰,李明梅,陈丽娟,等. 红外光谱法在药物定量分析中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(18):272.

[责任编辑 邹晓翠]