

文章编号:1001-6880(2015)6-1052-05

藏药五脉绿绒蒿不同部位红外光谱的识别

赵庆帅^{1,2},周玉碧¹,孙胜男^{1,2},卢学峰¹,叶润蓉¹,彭敏¹,孙菁^{1*}¹中国科学院西北高原生物研究所,青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室,西宁 810008;²中国科学院大学,北京 100049

摘要:采用傅立叶变换红外光谱法对藏药五脉绿绒蒿花、花梗、叶以及全草进行了红外光谱图的识别分析。对五脉绿绒蒿在4000~400 cm⁻¹范围内进行了红外光谱扫描,并对主要吸收谱带进行了基团的归属分析。五脉绿绒蒿红外光谱特征的分析结果表明,不同部位的一维光谱和二阶导数谱有明显差异。一维红外光谱图中主要特征谱带的相对强度比值,可对不同部位进行区分。二阶导数谱图的1517~1471 cm⁻¹和1162~1107 cm⁻¹波段是区分其不同部位的主要特征波段。因此,红外光谱能够快速、无损地对五脉绿绒蒿不同部位进行鉴别,为藏药五脉绿绒蒿不同部位的成分差异分析提供了一种科学有效的方法。

关键词:傅立叶变换红外光谱;二阶导数谱图;五脉绿绒蒿;不同部位

中图分类号:R931.71; R931.5

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.06.021

Analysis of Different Parts of Tibetan Medicine *Meconopsis quintuplinervia* Regel by FT-IR

ZHAO Qing-shuai^{1,2}, ZHOU Yu-bi¹, SUN Sheng-nan^{1,2}, LU Xue-feng¹, YE Run-rong¹, PENG Min¹, SUN Jing^{1*}

¹Qinghai Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Biological Resources, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: In this study, different parts of *Meconopsis quintuplinervia* were discriminated and identified by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) coupled with second derivative infrared spectroscopy. The findings indicated that different parts of *M. quintuplinervia* samples had dissimilar fingerprint characters in FT-IR spectra. Such spectral technique can provide structural information of the complicated samples. There were differences in the ratio of relative intensity of the characteristic peaks of FT-IR. The difference was amplified by the second derivative spectrum for the peak shape in 1517-1471 cm⁻¹ and 1162-1107 cm⁻¹. In conclusion, FT-IR spectroscopy combined with second derivative spectroscopy provided a powerful and useful approach for the identification of traditional medicines.

Key words: FT-IR; second derivative spectroscopy; *Meconopsis quintuplinervia* Regel; different parts

五脉绿绒蒿(*Meconopsis quintuplinervia* Regel.)是罂粟科(Papaveraceae)绿绒蒿属(*Meconopsis* Vig.)多年生草本植物,青藏高原特有^[1],是藏族传统用药“欧贝完保”的原植物之一。主要集中分布于青藏高原地区,多生长于海拔3200~3800 m的高山草甸和阴坡灌丛,所含活性成分以生物碱类、黄酮类化合物等为主^[2]。全草镇静熄风,定喘,清热解毒,具有重要的药用价值^[3]。

中药红外光谱宏观指纹分析法是中药学与分析化学相结合的产物,是一种基于中药红外光谱宏观

指纹特征的综合分析方法^[4],对以多组分整体用药物的中医和藏医理论来说,单个或多个目标成分的检测和控制不能全面的反映原药材的质量,红外光谱的变化反映药材这一混合物体系化学成分上的变化和差别,可以作为评价药材质量的一项关键指标,因此具有快速、高效、宏观整体特征性强等特点的红外光谱在质量控制方面逐渐显示出其优势^[5,6]。本文采用傅立叶变换红外光谱(FT-IR)法对五脉绿绒蒿不同部位进行了分析鉴别,为五脉绿绒蒿药材资源的综合开发利用提供基础研究资料。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

五脉绿绒蒿样品于2014年7月(花果期)采自

收稿日期:2015-01-30 接受日期:2015-05-07

基金项目:国家科技支撑计划(2012BAC08B06);青海省应用基础研究计划(2013-Z-755);国家自然科学基金(81403051)

*通讯作者 E-mail:sunj@nwipb.cas.cn

青海省祁连县冰沟大阪。采集 30 株样品,带回实验室后,将五脉绿绒蒿阴干,其中 20 株按花、叶、花梗分开,剩下 10 株做全草,各部位研磨后过 200 目筛,待分析用。原植物标本由中国科学院西北高原生物研究所卢学峰副研究员鉴定为五脉绿绒蒿 (*Mecognopsis quintuplinervia* Regel.)。

红外光谱仪为 Thermo Nicolet 公司 IS50 傅立叶变换红外光谱分析仪,DTGS 检测器,十万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),玛瑙研钵。

1.2 实验方法

1.2.1 谱图采集方法

采用 KBr 压片法,样品与 KBr 比例为 1:50,混合均匀后在玛瑙研钵中研磨,放入压片机压成透明或半透明的薄片,然后将样品片放入样品架内进行测试。采用 DTGS 检测器,扫描范围 4000~400 cm^{-1} ,分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描次数为 32 次,每份样品扫描 5 次,扫描时即时去除水和 CO_2 的干扰,取其平均谱图,将不同部位的平均谱图作为各部位的红外光谱标准谱图。

1.2.2 数据处理

OMNIC 7.0 软件完成样本红外光谱数据采集以及光谱数据预处理,方法是首先对采集到的光谱数据进行基线校正,消除采集过程中的基线漂移,然后对数据进行纵坐标归一化。

2 结果与分析

2.1 方法学考察

2.1.1 分辨率选择试验

将制好的同一样品压片,分别在分辨率为 1、2、4、8、16 cm^{-1} 的条件下平行测定,结果如图 1 中谱线 1 至谱线 5 所示。结果表明,分辨率为 4、8、16 cm^{-1} 的条件下均能满足样品分析要求,同时分辨率低可

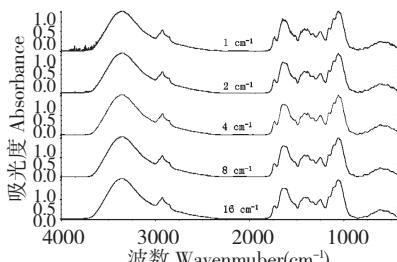


图 1 不同分辨率下五脉绿绒蒿红外光谱图($n=5$)

Fig. 1 IR spectra of *M. quintuplinervia* with different resolutions ($n=5$)

能使某些重叠谱带分不开^[7],最终实验选定分辨率 为 4 cm^{-1} 进行测定。

2.1.2 扫描次数

将制好的同一样品压片,在分辨率为 4 cm^{-1} 的条件下,分别扫描 4 次、8 次、16 次、32 次、64 次,平行测定,结果如图 2 中谱线 1 至谱线 5 所示。结果表明,扫描次数为 8 次、16 次、32 次、64 次均满足样品测定条件,基于扫描次数越多,光谱信噪比越高^[7] 以及节省时间的目的,最终实验选择扫描 32 次进行检测。

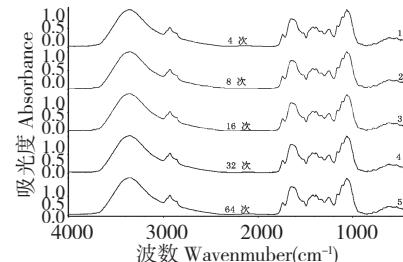


图 2 不同扫描次数下五脉绿绒蒿红外光谱图($n=5$)

Fig. 2 IR spectra of *M. quintuplinervia* with different scanning times ($n=5$)

2.1.3 精密度试验

取五脉绿绒蒿样品 1 份,按“1.2”项下方法连续测定 5 次,得到的红外光谱基本一致。用 OMNIC7.0 软件计算相似度,测得的红外图谱与其所得平均谱图的相似度分别为 0.9995、1.000、1.000、1.000、0.9996, RSD 值为 0.017%。结果表明仪器精密度良好,满足样品分析要求。

2.1.4 重复性试验

同一份样品,按“1.2”项下方法重复压片 5 次,分别进行扫描测定。用 OMNIC7.0 软件计算相似度,测得的红外图谱与其平均谱图的相似度分别为 0.9837、0.9849、0.9942、0.9900、0.9846, RSD 值为 0.455%。表明该实验方法具有良好的重复性。

2.1.5 稳定性试验

取同一份五脉绿绒蒿样品片放入干燥器内保存,每隔 1 d 测定 1 次,结果显示 5 d 内所得红外图谱具有较好的一致性,测得的红外图谱与其平均谱图的相似度分别为:0.9993、0.9817、0.9989、0.9973、0.9988,RSD 值为 0.762%。结果表明样品稳定性良好,满足样品分析要求。

2.2 五脉绿绒蒿不同部位的一维红外光谱分析

根据文献对主要红外吸收谱带进行指认和归属,结果如表 1 所示。在 3372 cm^{-1} 附近为 O-H 键伸

缩振动谱带; 2923 cm^{-1} 附近为亚甲基的 C-H 键反对称伸缩振动谱带; 1742 cm^{-1} 附近为酯类羰基 C=O 键的伸缩振动谱带^[8]; 1653 cm^{-1} 附近为 O-H 键弯曲振动、黄酮类或蛋白质类共轭羰基的伸缩振动或蛋白质酰胺 I 带吸收谱带^[9]; 1516 cm^{-1} 为苯环骨架伸缩振动吸收谱带^[10]; $1470\sim1400\text{ cm}^{-1}$ 附近可能含有黄酮及生物碱类等多种成分的芳香环的骨架振动、

C-H 弯曲振动吸收谱带^[11]; 1373 cm^{-1} 是酯类 C-H 弯曲振动吸收谱带^[5]; 1245 cm^{-1} 为糖类 C-O 伸缩振动谱带^[5,10]; 1162 、 1106 、 1058 cm^{-1} 附近为糖苷类 C-O 键的伸缩振动谱带^[12]。在 $1162\sim1058\text{ cm}^{-1}$ 附近花梗的吸收强度明显强于其他部位, 推测花梗中所含糖类成分较多, 这可能是由于花梗中还有较高的纤维素所致。

表 1 五脉绿绒蒿主要红外吸收谱带归属

Table 1 The assignments of main IR absorption peaks of *M. quintuplinervia*

吸收谱带 Absorption peaks				特征吸收谱带归属 Assignments of absorption peaks
全草 Whole herb	花梗 Stalks	叶 Leaves	花 Flowers	
3372	3372	3372	3372	O-H 键伸缩振动
2923	2926	2923	2923	C-H 键反对称伸缩振动
2852	2855	2852	2855	C-H 键对称伸缩振动
1742	1739	1742	1745	酯羰基 C=O 键伸缩振动
1653	1653	1653	1647	O-H 键弯曲振动、共轭羰基的振动或酰胺 I 带吸收
- , 1516, 1420	1605, 1516, 1420	1608, 1516, 1415	1608, 1519, 1415	苯环骨架振动
1379	1373	-	-	酯类 C-H 键弯曲振动
1249	1245	1245	1251	C-O-C 键伸缩振动
1165, 1105, 1055	1159, 1106, 1060	1162, 1106, 1058	1165, 1106, 1063	糖类的 C-O 振动吸收

以五脉绿绒蒿全草的红外谱图为参照, 利用 OMNIC 7.0 软件的质量检查功能计算花梗、叶、花与全草的相似系数分别为 0.8942 、 0.9757 、 0.9549 , 结果显示以全草和叶的相似系数最高, 花次之, 与花梗差别最大, 但整体上一维红外光谱不同部位之间相似性较高。

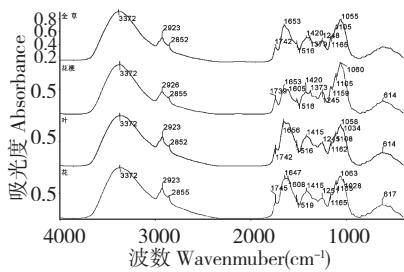


图 3 五脉绿绒蒿不同部位的一维红外光谱图

Fig. 3 FT-IR spectra of different parts of *M. quintuplinervia*

图 3 给出了五脉绿绒蒿不同部位一维红外光谱图。因 3372 cm^{-1} 和 1653 cm^{-1} 谱带受 KBr 压片时引入的空气水分及样品的干燥程度的影响, 除这两个谱带外, 1058 cm^{-1} 吸收谱带强度在一维红外图谱所有吸收谱带中谱带强度最高, 因此以 1058 cm^{-1} 处谱

带强度为基准, 分别对 2923 、 1738 、 1420 cm^{-1} 等主要特征谱带的吸收谱带强度进行初值化处理, 所得结果作为该部位红外光谱主要特征谱带的相对强度(见表 2), 并对此相对强度进行分析比较。

表 2 中同一部位不同谱带间, 全草中 (A_{2923} : A_{1738} : A_{1420}) 相对强度的比值为 $(0.52: 0.37: 0.57)$, 花梗中相对强度的比值为 $(0.45: 0.30: 0.44)$, 叶中相对强度的比值为 $(0.73: 0.43: 0.75)$, 花中相对强度的比值为 $(0.71: 0.38: 0.65)$, 不同部位主要特征谱带相对强度比值差异明显。因此可以将上述不同部位主要特征谱带的相对强度的比值作为识别五脉绿绒蒿不同部位红外光谱的主要特征之一。

同一谱带不同部位间, 在 2923 cm^{-1} 谱带处, 以叶的部分的相对强度较高(0.73), 花梗部分相对强度较低(0.45), 二者相差 0.62 倍, 表明叶的部分 C-H 键反对称伸缩振动较强, 花梗部分振动较弱。在 1738 cm^{-1} 谱带处, 叶部分相对强度较高(0.43), 花梗部分相对强度较低(0.30), 二者分别相差 0.43 倍, 表明叶的部分酯羰基 C=O 键伸缩振动较强, 花梗部分振动较弱。而在 1420 cm^{-1} 处, 花中相对强度较高(0.75), 花梗相对强度较低(0.44), 两者相

差 0.71 倍,表明花部分苯环骨架振动较强,花梗部分振动较弱。可见不同部位一维红外光谱图在相同谱带呈现出明显差异,利用一维红外光谱能比较快速地对五脉绿绒蒿不同部位进行识别。

表 2 不同部位主要特征谱带的相对强度

Table 2 Relative intensity of the characteristic peaks of different parts of *M. quintuplinervia*

不同部位 Different parts	A2923	A1738	A1420
全草 Whole herb	0.52	0.37	0.57
花梗 Stalks	0.45	0.30	0.44
叶 Leaves	0.73	0.43	0.65
花 Flowers	0.71	0.38	0.75

注:以 A₁₀₅₈ 为基准。

Note: Based on A₁₀₅₈.

2.3 五脉绿绒蒿不同部位的二阶导数红外光谱分析

二阶导数红外光谱可以增强光谱的表观分辨率,分辨原谱中重叠的吸收谱带或使一些特征谱带间的差异更明显,进而找出特定化合物的特征吸收谱带并提高图谱的指纹特征性^[13,14]。因此,对五脉绿绒蒿全草、花梗、叶和花在 1800 ~ 800 cm⁻¹ 范围内红外谱图进行了二阶导数处理(图 4),花梗、叶、花与全草的相似系数分别为 0.7853、0.9296、0.7853,表明不同部位间红外谱图大致相似,但不同部位间二阶导数差异明显比一维谱图显著。

一维红外图谱中差异不显著的各波段,经二阶导数处理后许多被掩盖的吸收谱带强度差异显现出来。从图 4 可知,不同部位五脉绿绒蒿药材在 1517 ~ 1471 cm⁻¹ 波段和 1162 ~ 1107 cm⁻¹ 波段呈现出多样的谱带形状和不同的吸收强度,明显表现出较大的差异。其中在 1517 ~ 1471 cm⁻¹ 波段,花中 1517 cm⁻¹ 谱带强度高于 1471 cm⁻¹,全草中 1517 cm⁻¹ 附近吸收谱带强度与 1471 cm⁻¹ 的谱带强度基本一致,花梗和叶中 1517 cm⁻¹ 谱带强度低于 1471 cm⁻¹;而在 1162 ~ 1107 cm⁻¹ 波段,花梗和叶中 1162 cm⁻¹ 谱带强度高于 1107 cm⁻¹,全草中 1162 cm⁻¹ 附近吸收谱带强度与 1107 cm⁻¹ 的谱带强度基本一致,而花中 1165 cm⁻¹ 谱带强度低于 1107 cm⁻¹。因此,可将 1517 ~ 1471 cm⁻¹ 和 1162 ~ 1107 cm⁻¹ 这两个波段作为五脉绿绒蒿不同部位二阶导数之间差异特征。

综上,与一维红外谱图相比,在 1800 ~ 800 cm⁻¹ 范围内五脉绿绒蒿不同部位间的二阶导数谱图谱差

异显著。二阶导数谱图的 1517 ~ 1471 cm⁻¹ 和 1162 ~ 1107 cm⁻¹ 波段可作为区分不同部位的重要特征。

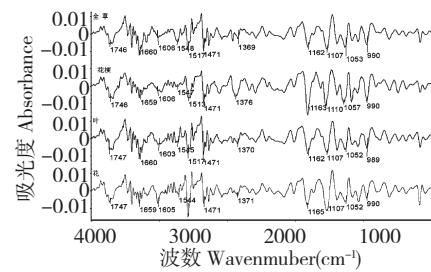


图 4 五脉绿绒蒿不同部位的二阶导数红外光谱图

Fig. 4 Second derivative infrared spectra of different parts of *M. quintuplinervia*

3 结论

采用傅立叶红外光谱法对五脉绿绒蒿的全草、花梗、叶和花的一维红外光谱和二阶导数谱进行了识别分析。在一维红外光谱谱 4000 ~ 400 cm⁻¹ 范围内,对主要吸收谱带进行了基团的归属分析,其中 1162、1106、1058 cm⁻¹ 附近为糖苷类 C-O 键的伸缩振动谱带,花梗的吸收强度明显强于其他部位,推测花梗中所含糖类成分较多,这可能是由于花梗中还有较高的纤维素所致;不同部位间红外谱图相似性高,同时主要特征谱带的相对强度的比值可以作为五脉绿绒蒿一维红外光谱差异特征。二阶导数红外光谱谱图花梗、叶、花与全草的相似系数分别为 0.7853、0.9296、0.7853,较之一维红外谱图差异显著,同时 1517 ~ 1471 cm⁻¹ 和 1162 ~ 1107 cm⁻¹ 波段是区分不同部位的重要特征。

结果表明,五脉绿绒蒿一维红外光谱和二阶导数谱图能将不同部位的五脉绿绒蒿识别。因此,通过分析比较五脉绿绒蒿不同部位的红外谱图,可以宏观整体地把握五脉绿绒蒿不同部位的成分差异,为现代监控手段分析传统藏药的思路提供依据。

参考文献

- Yang YC (杨永昌). Handbook of Tibetan Medicine (藏药志). Qinghai: Qinghai People's Publishing House, 1991. 465
- Liu SW (刘尚武). Flora Qinghai (青海植物志). Qinghai: Qinghai People's Publishing House, 1997. 388.
- Lu XF (卢学峰). The Wild Medicinal Plants in Qinghai (青海野生药用植物). Qinghai: Qinghai Ethnic Publishing House, 2012. 182.