

## 不同产地的银杏叶及其提取物的 FTIR 指纹图谱研究

张小利<sup>1\*</sup>, 张黎明<sup>2</sup>, 刘烈淼<sup>3</sup><sup>1</sup>内蒙古科技大学 内蒙古自治区生物质能源化利用重点实验室, 包头 014010;<sup>2</sup>天津科技大学生物工程学院, 天津 300457; <sup>3</sup>北京元鲜记食品科技有限公司, 北京 102401

**摘要:** 为建立不同产地银杏叶及其提取物的指纹图谱提供参考依据, 分别对 4 个产地的银杏叶及其相应的粗提品和精制品进行傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 测定, 并对相关的谱图进行了特征分析。结果表明, 4 个产地的银杏叶及其提取物在其 FTIR 光谱指纹区 1800 ~ 500  $\text{cm}^{-1}$  波数内都有其各自的物质特征; FTIR 谱图中峰形、峰高和峰位等量化的差别与不同, 精确地描绘出了不同产地银杏叶及其提取物中各自组分的物质特征, 使之形成了似于人类的指纹, 可以准确地对不同产地的银杏叶及其提取物进行指认和识别。另外, 这种 FTIR 指纹图谱具有特征性强、操作简便快捷、重现性好、适合对银杏叶提取物进行整体信息分析和质量控制的特点。

**关键词:** 不同产地; 银杏叶; 银杏叶提取物; FTIR 指纹图谱

中图分类号: R284.2; O433.4

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.6.002

## FTIR Fingerprint Profiles of *Ginkgo* Leaves and the Extracts from Different Producing Areas

ZHANG Xiao-li<sup>1\*</sup>, ZHANG Li-ming<sup>2</sup>, LIU Lie-miao<sup>3</sup><sup>1</sup>Inner Mongolia Key Laboratory of Biomass-Energy Conversion, Inner Mongolia University ofScience & Technology, Baotou 014010, China; <sup>2</sup>College of Bioengineering, Tianjin University ofScience and Technology, Tianjin 300457, China; <sup>3</sup>Beijing yuan fresh food science and technology co., LTD, Beijing 102401, China

**Abstract:** To establish fingerprint profiles of *Ginkgo* leaves and the extracts from different origins, FTIR profiles on *Ginkgo* leaves, the crude extracts and the purified extracts from 4 different producing areas were measured and the feature of FTIR profiles was analyzed respectively in this study. The results showed that the differences of FTIR fingerprints of the leaves and the extracts from 4 different producing areas were mainly existing in the wave number ranges of 1800-500  $\text{cm}^{-1}$ ; and the differences of FTIR profiles on peak profile, peak height and peak position had precisely presented the different substance characters of *Ginkgo* leaves and the extracts from different producing areas. These information in FTIR profiles seemed like the fingerprints of mankind can pointed out *Ginkgo* leaves and the extracts from different producing areas. This identification method based on FTIR profiles was of these advantages of strong distinction, convenient operation and good reproducibility, and also was fit to the whole information analysis and quality control. Thus, the FTIR fingerprint profiles would supply a convenient, immediate and microscale test way of quality on *Ginkgo* leaves and the extracts from different origins.

**Key words:** different producing areas; *Ginkgo* leaves; extracts of *Ginkgo* leaves; FTIR fingerprint profiles

银杏 (*Ginkgo biloba*) 为银杏科 (Ginkgoaceae) 银杏属 (*Ginkgo*) 多年落叶乔木, 属于距今二亿多年前中生代侏罗纪的裸子植物, 现仅存一科一属一种, 有裸子植物“活化石”之称。最近不断从银杏叶中发现一些新的生物活性成分, 迄今为止, 从银杏叶中已经发现了 100 多种化学成分。根据分析测定, 银杏

叶中的主要有效成分为黄酮类化合物和内酯类化合物。而银杏叶因其提取物中含有大量药用有效成分银杏黄酮及萜内酯, 而倍受青睐<sup>[1]</sup>。

红外光谱 (FTIR) 测定的是物质中分子的吸收光谱, 给出的是物质分子内部的综合信息, 只要有确定的化学组成就会获得确定的红外光谱图。在药物分析中, 以红外光谱具有的“指纹”特征作为药物鉴定的依据, 是各国药典共同采用的方法。现已用于中药材及其提取物的快速鉴别和质量控制上, 是一

种值得推广使用的研究中中药指纹图谱的新方法<sup>[2-7]</sup>。吴建华等<sup>[8]</sup>根据红外光谱特征峰的峰高比,提出了一个量化指标值,在鉴别人参的种类上取得了较好的效果。据文献<sup>[9,10]</sup>报道,由于各地地理环境条件的差异,势必会造成银杏叶中有效成分含量差别,从而影响银杏叶及其提取物的质量。本文以北京、山东、河北和安徽的银杏叶为原料,用红外光谱(FT-IR)研究银杏叶及其提取物的图谱特征,为建立不同产地银杏叶及其提取物的指纹图谱提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

四种干绿色银杏叶;芦丁标准品、银杏叶标准提取物购自中国药品生物制品鉴定所;NaOH、NaNO<sub>2</sub>、Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、无水乙醇均为分析纯;KBr 为光谱纯;ADS-17 树脂购于天津南开和成科技有限公司。

ZTC-II 型天然吸附澄清剂,天津正天成澄清技术有限公司。组分 A 用蒸馏水配制成 1% 的水溶液,溶胀 24 h,用双层纱布过滤;组分 B 用 1% 醋酸溶液配制成 1% 的溶液,溶胀 24 h,用双层纱布过滤。

### 1.2 实验仪器

VECTOR 22 傅立叶变换红外光谱仪(德国布鲁克仪器公司);722E 型可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司);LD5-10 型低速离心机(北京医用离心机厂);PHSJ-A 精密 pH 计(北京光学仪器厂);DZG 型电热真空干燥箱(天津天宇试验仪器有限公司);冷冻干燥机(德国海道尔夫有限公司)。

### 1.3 样品来源及制备

#### 1.3.1 样品来源

山东郯城银杏叶、河北保定银杏叶、安徽银杏叶(以上三种银杏叶均为绿色干叶,购自各地药店的饮片)和北京银杏叶(绿色干叶,夏季采摘于北京农学院)。

#### 1.3.2 样品制备

将四地银杏叶放置在 60 ℃ 的烘箱中烘至恒重备用。将烘干的银杏叶粉碎到一定的粒度后过 20 目筛子。准确称取银杏叶粉末 100 g 装入 1000 mL 的三口烧瓶中,用 70% 的乙醇在 70 ℃ 下浸提 2 小时,然后抽滤。其中银杏叶干粉末与乙醇溶液的固液比(W/V)为 1:8。残渣再用 70 ℃ 下浸提 2 h,再抽滤。合并两次滤液即得银杏叶初液。将初提液置

于 40 ℃ 水浴下,先加 1% ZTC II-B 组分 240 mL,作用 40 min 后再加 1% ZTC II-A 组分 120 mL,然后再作用 40 min 后离心(3500 rpm, 15 min)得澄清液。澄清液浓缩回收乙醇后,加入与浓缩液等体积的蒸馏水静置 12 h,过滤,适度浓缩得上柱液。然后过 ADS-17 大孔吸附树脂柱吸附,用蒸馏水洗涤树脂柱,再用 70% 的乙醇溶液洗脱,收集洗脱液,回收乙醇得精制液。上柱液和精制液经冷冻干燥后分别得到银杏叶粗提品和精制品。

将各地银杏叶粉末、银杏叶粗提品和银杏叶精制品置于 60 ℃ 的烘箱中烘至恒重,粉碎,过 80 目筛;分别取 2 mg 过筛后的样品粉末与 150 mg KBr 混合研磨均匀,压片。每一产地样品制备 3 个测试片。

### 1.4 测定方法

将各类样品的 KBr 压片置于 FTIR 仪的测定窗口固定位置,按照设定的仪器条件,在 400 ~ 4000 cm<sup>-1</sup>波数范围内扫描,通过检测器检测样品的光吸收强度,以波数为横坐标吸收强度为纵坐标绘制出相应样品的红外光谱图。其中,图谱中波数位是同一样品不同测试片的平均值,光吸收强度值是每个产地样品不同测试片的平均值。另外,FTIR 仪的分辨率为 4 cm<sup>-1</sup>,扫描次数 16 次,实验条件保护室内干燥。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同产地银杏叶的 FTIR 指纹图谱分析

银杏叶中所含的化学成分主要有黄酮类、内酯类、萜类、生物碱、多糖类、氨基酸、微量元素等。银杏叶提取物中主要含有两大类活性物质:黄酮苷类化合物(flavonoid glycosides)和萜内酯类化合物(ginkgolides 和 bilobalides)。用 FTIR 法测出的红外光谱体现了各种成分的红外吸收。图 1 表示,虽然各样品的产地不同,但是它们的红外光谱图极为相似,图谱中都出现了 17 个峰位基本相同的明显吸收峰,说明不同产地银杏叶所含的主要化学成分是相同的。各产地银杏叶红外具体吸收峰的平均峰位和平均吸光度见表 1。

结合图 1 和表 1 综合分析显示,四种产地银杏叶的 FTIR 图谱中吸收峰  $\sigma_5 \sim \sigma_{17}$  在峰位、峰的数量和吸收强度上有所区别:如  $\sigma_5$ 、 $\sigma_8$  和  $\sigma_{13}$  的峰位就出现了不同,北京银杏叶在  $\sigma_5$  处的出峰波数明显低于其它三种的,而且其在  $\sigma_6$  处没有明显的吸收峰; $\sigma_{14}$  的吸收强度为北京银杏叶 > 河北银杏叶 > 安徽

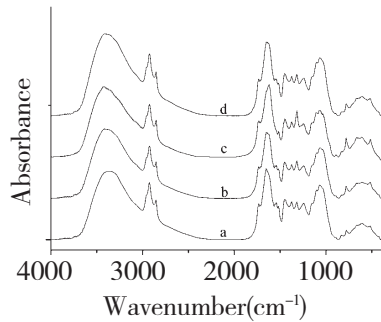


图1 山东(a)、河北(b)、北京(c)及安徽(d)银杏叶的 FTIR 图谱

Fig. 1 FTIR spectra of *G. biloba* leaves from Shandong (a), Hebei (b), Beijing (c) and Anhui (d)

银杏叶 > 山东银杏叶,  $\sigma_{16}$  的吸收强度为北京银杏叶 > 安徽银杏叶 > 河北银杏叶 > 山东银杏叶。故将  $\sigma_5 \sim \sigma_{17}$  作为银杏叶的红外特征峰进行比较研究。

以文献<sup>[11]</sup>的表1中所列银杏叶标准提取物的红外特征峰的峰位和峰高作对照,进一步对比分析四种产地银杏叶的红外光谱图,比较得出银杏叶特征峰位的范围。四种银杏叶共有的特征谱范围在  $1652 \sim 518 \text{ cm}^{-1}$ , 最具有代表性的是  $\sigma_5 (1652 \pm 2 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_7 (1518 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_8 (1450 \pm 4 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_9 (1375 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_{10} (1317 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_{11} (1244 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_{12} (1068 \pm 2 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_{14} (780 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_{16} (610 \pm 4 \text{ cm}^{-1})$  和  $\sigma_{17} (518 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 。

表1 四种产地银杏叶全组分的 FTIR 图各峰的峰位和吸光度比较

Table 1 Comparison of peak location and absorbance on the FTIR spectra of all groups in *G. biloba* leaves from four producing areas

峰名 Peak	安徽银杏叶 Anhui <i>G. biloba</i> leaves		北京银杏叶 Beijing <i>G. biloba</i> leaves		河北银杏叶 Hebei <i>G. biloba</i> leaves		山东银杏叶 Shandong <i>G. biloba</i> leaves	
	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance
$\sigma_1$	3416	0.7930	3422	0.6793	3418	0.6719	3355	0.6641
$\sigma_2$	2925	0.6004	2925	0.5079	2925	0.5078	2925	0.5510
$\sigma_3$	2853	0.4251	2853	0.3563	2853	0.3527	2854	0.3852
$\sigma_4$	1734	0.3540	1734	0.3522	1734	0.3065	1734	0.3469
$\sigma_5$	1652	0.7133	1622	0.6995	1652	0.6402	1653	0.6890
$\sigma_6$	1542	0.3578	-	-	1541	0.3217	1541	0.3591
$\sigma_7$	1519	0.3175	1517	0.2457	1519	0.2873	1518	0.3233
$\sigma_8$	1449	0.4072	1448	0.3652	1454	0.3505	1448	0.3911
$\sigma_9$	1375	0.3814	1375	0.3420	1375	0.3274	1376	0.3658
$\sigma_{10}$	1318	0.4012	1317	0.4473	1317	0.3650	1318	0.3647
$\sigma_{11}$	1244	0.3658	1245	0.3190	1244	0.3142	1243	0.3524
$\sigma_{12}$	1067	0.5597	1069	0.4526	1064	0.4890	1068	0.5279
$\sigma_{13}$	893	0.0227	890	0.0219	893	0.0242	896	0.0227
$\sigma_{14}$	780	0.1177	781	0.1839	780	0.1192	780	0.0908
$\sigma_{15}$	669	0.1724	666	0.1900	667	0.1486	667	0.1400
$\sigma_{16}$	614	0.1876	610	0.1918	609	0.1568	614	0.1581
$\sigma_{17}$	519	0.1679	517	0.1700	518	0.1563	518	0.1320

在分析了  $\sigma_5 \sim \sigma_{17}$  的峰形、峰位和吸收强度之后,对指纹区的特征峰进行半定量的分析<sup>[12]</sup>。具体参照文献<sup>[11]</sup>的2.1.2项所述的方法,选定  $\sigma_1$  作为分析的内标峰,用类似内标法的方法来对四种银杏叶的 FTIR 图谱进行进一步的半定量分析。由峰值

比求得相对含量比的结果见表2。

通过对比四种银杏叶中同种组分在其中的相对含量,发现四种产地银杏叶的相同组分在各自样品中的相对含量是不完全相同的。其中相对含量差异比较大的是  $\sigma_7 (1518 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 、 $\sigma_{10} (1317 \pm 1 \text{ cm}^{-1})$ 、

表 2 四种产地银杏叶全组分的相对含量对比

Table 2 Comparison of relative content of all groups in *G. biloba* leaves from four producing areas

峰名 Peak	安徽银杏叶各组分相对含量比值 Content ratio of Anhui <i>G. biloba</i> leaves	北京银杏叶各组分相对含量比值 Content ratio of Beijing <i>G. biloba</i> leaves	河北银杏叶各组分相对含量比值 Content ratio of Hebei <i>G. biloba</i> leaves	山东银杏叶各组分相对含量比值 Content ratio of Shandong <i>G. biloba</i> leaves
	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$
$\sigma_1$	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
$\sigma_2$	0.7571	0.7477	0.7558	0.8297
$\sigma_3$	0.5361	0.5245	0.5249	0.5800
$\sigma_4$	0.4464	0.5185	0.4562	0.5224
$\sigma_5$	0.8995	1.0297	0.9528	1.0375
$\sigma_6$	0.4512	-	0.4788	0.5407
$\sigma_7$	0.4004	0.3617	0.4276	0.4868
$\sigma_8$	0.5135	0.5376	0.5217	0.5889
$\sigma_9$	0.4810	0.5035	0.4873	0.5508
$\sigma_{10}$	0.5059	0.6585	0.5432	0.5492
$\sigma_{11}$	0.4613	0.4696	0.4676	0.5306
$\sigma_{12}$	0.7058	0.6663	0.7278	0.7949
$\sigma_{13}$	0.0286	0.0322	0.0360	0.0342
$\sigma_{14}$	0.1484	0.2707	0.1774	0.1367
$\sigma_{15}$	0.2174	0.2797	0.2212	0.2108
$\sigma_{16}$	0.2366	0.2823	0.2334	0.2381
$\sigma_{17}$	0.2117	0.2503	0.2326	0.1988

注:计算相对含量比值时将相同波数的1/K省去,这样不会影响同种组分在不同物质相对含量的对比。

Note:1/K was omitted when calculating relative content.

$\sigma_{12}$  ( $1068 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ) 和  $\sigma_{14}$  ( $780 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ ) 处的吸收峰对应的物质成分,它们的相对含量比值的差值都大于0.1。北京和山东银杏叶在  $\sigma_5$  ( $1652 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ) 处对应物组分的相对含量比值超过了1.0,且北京银杏叶图中  $\sigma_{10}$  ( $1317 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ ) 的相对比值大于其它三种银杏叶的,最大差值为0.15。安徽银杏叶在  $\sigma_5$  ( $1652 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ ) 和  $\sigma_{10}$  ( $1317 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ ) 处的相对比值均小于北京、河北和山东的。

不同产地的同种中药材有非常相似的化学组成,但含量的差异非常微小,而在一些微量组分上也表现出组分的差异。使用一般的化学分析方法,由于样品的预处理使这种含量或组分的微小差异被干扰或破坏,不能或较难判别它们由地域性不同所导致的样品差异性。常规鉴别药材产地的方法除了传统的性状鉴别之外,还有药材微量元素的研究、薄层色谱鉴别、含量测定及色谱指纹图谱分析等<sup>[13]</sup>。性状鉴别带有很大的主观性和经验性,色谱及光谱分

析方法都需要对药材进行预处理。本文选用的 FT-IR 谱图法能比较准确的反映各自的物质特征。不同产地的银杏叶组分及其含量不完全相同,表现在谱图上,峰形、峰高、及峰的位置等存在差异,并对其特征峰的峰高进行比对研究,结果直观,使样品之间

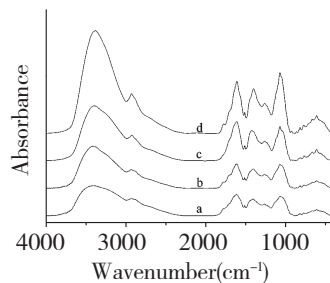


图 2 山东(a)、河北(b)、北京(c)及安徽(d)银杏叶粗提品的 FTIR 图谱

Fig. 2 FTIR spectra of the one-step refined extracts of *G. biloba* from Shandong (a), Hebei (b), Beijing (c) and Anhui (d)

的微小差异能够最大限度地保留下来,不被人干扰、甚至破坏,而且避免了一些主观误差。为银杏加工业进行原材料的质量鉴定及选用提供了可靠的实验依据。

## 2.2 不同产地银杏叶粗提品的 FTIR 指纹图谱分析

银杏叶提取物中主要含有两大类活性物质:黄酮苷类化合物和萜内酯类化合物。因而用 FTIR 法测出的红外光谱也应是这些化合物红外光谱的叠加。图 2 表示,虽然各种样品的产地不同,但是它们的红外光谱图极为相似,说明不同产地的银杏叶粗提品中含有的主要化学成分是相似的。不同产地银杏叶粗提品各组分对应的红外吸收峰的平均峰位和

表 3 四种产地银杏叶粗提品的全组分 FTIR 谱图各峰的峰位和吸光度比较

Table 3 Comparison of peak location and absorbance on the FTIR spectra of all groups in the crude extracts of *G. biloba* leaves from four producing areas

峰名 Peak	安徽粗提品 Anhui crude extract		北京粗提品 Beijing crude extract		河北粗提品 Hebei crude extract		山东粗提品 SHandong crude extract	
	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance
$\sigma_1$	3384	1.4958	3386	0.7986	3415	0.5125	3411	0.4387
$\sigma_2$	2933	0.5758	2929	0.3738	2937	0.2740	2935	0.2537
$\sigma_3$	1778	0.1360	-	-	1778	0.0917	1776	0.1049
$\sigma_4$	1612	0.7578	1614	0.5703	1614	0.3559	1612	0.3124
$\sigma_5$	1514	0.3049	1514	0.2177	1514	0.1555	1514	0.1522
$\sigma_6$	1402	0.6505	1424	0.4433	1408	0.2820	1410	0.2440
$\sigma_7$	1263	0.4373	1265	0.2853	1265	0.2036	1265	0.1708
$\sigma_8$	1072	0.8838	1072	0.5002	1072	0.3492	1072	0.2830
$\sigma_9$	771	0.1194	766	0.0749	771	0.0472	773	0.0421
$\sigma_{10}$	667	0.2053	668	0.1286	667	0.0870	667	0.0730
$\sigma_{11}$	611	0.2595	613	0.1662	611	0.1105	611	0.0909

以文献<sup>[11]</sup>的表 1 中所列银杏叶标准提取物的红外特征峰的峰位和峰高作对照,进一步对比分析四种产地银杏叶粗提品的红外光谱图,比较得出银杏叶粗提品特征峰位的范围。四种银杏叶粗提品共有的特征谱范围在  $1778 \text{ cm}^{-1} \sim 611 \text{ cm}^{-1}$ ,最具有代表性的是  $\sigma_3$  ( $1778 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_4$  ( $1612 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_5$  ( $1514 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_6$  ( $1406 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_7$  ( $1265 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_8$  ( $1072 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_9$  ( $770 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_{10}$  ( $667 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ )和  $\sigma_{11}$  ( $611 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )。

在分析了  $\sigma_3 \sim \sigma_{11}$  的峰形、峰位和吸收强度之后,对指纹区的特征峰进行半定量的分析<sup>[12]</sup>。具体参照文献<sup>[11]</sup>的 2.1.2 项所述的方法,选定  $\sigma_4$  作为

平均吸光度见表 3。

结合图 2 和表 3 综合分析显示,四种产地银杏叶粗提品的 FTIR 图谱中吸收峰  $\sigma_3 \sim \sigma_{11}$  在峰位、峰的数量和吸收强度上有所区别:如  $\sigma_3$ 、 $\sigma_6$  和  $\sigma_9$  的峰位就出现了不同,北京银杏叶在  $\sigma_3$  处没有明显的吸收峰,在  $\sigma_6$  处的出峰波数明显高于其它三种产地的,而在  $\sigma_9$  处的吸收峰位又向右移(低波数端);四种粗提品在  $\sigma_8$  处吸收峰的峰高有明显不同,说明其相对应的物质组分的含量有一定的差异。这些不同和差异反映了不同产地的银杏叶粗提品各自组分的物质特征,故将  $\sigma_3 \sim \sigma_{11}$  作为银杏叶粗提品的红外特征峰,进行下一步的解析研究。

分析的内标峰,用类似内标法的方法来对四种银杏叶粗提品的 FTIR 图谱进行进一步的半定量分析。由峰值比求得相对含量比的结果见表 4。

通过对比四种银杏叶粗提品中同种组分在其中的相对含量,发现四种产地银杏叶粗提品的相同组分在各自样品中的相对含量是不完全相同的。其中相对含量差异比较大的是  $\sigma_3$  ( $1778 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_5$  ( $1514 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ )和  $\sigma_8$  ( $1072 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ )处的吸收峰对应的物质成分,它们的相对含量比值的差值都大于 0.1;安徽银杏叶粗提品图中  $\sigma_8$  ( $1072 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ )的相对含量比值超过了 1.0,明显高于其它三种银杏叶粗提品的,与北京银杏叶粗提品在此峰位的相对含量比值的差值达到了 0.29;北京银杏叶粗提品各组

分相对含量比值在各个特征峰位均小于其它三种粗提品的,形成了自己的鲜明特征。

通过对四种粗提品的 FTIR 图谱分析和对比,可以清楚地看出它们之间的异同及产生相同峰位上

的吸收峰的物质在其样品中的含量差别。这些 FT-IR 谱图反映各自物质特征的不同和差别构成了似

表 4 四种产地银杏叶粗提品中全组分的相对含量对比

Table 4 Comparison of relative content of the crude extracts of *G. biloba* Leaves from four producing areas

峰名 Peak	安徽银杏叶各组分 相对含量比值 Content ratio of Anhui <i>G. biloba</i> leaves	北京银杏叶各组分 相对含量比值 Content ratio of Beijing <i>G. biloba</i> leaves	河北银杏叶各 组分相对含量比值 Content ratio of Heber <i>G. biloba</i> leaves	山东银杏叶各 组分相对含量比值 Content ratio of Shandong <i>G. biloba</i> leaves
	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$
$\sigma_3$	0.1795	-	0.2577	0.3358
$\sigma_4$	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
$\sigma_5$	0.4023	0.3817	0.4369	0.4872
$\sigma_6$	0.8584	0.7773	0.7924	0.7810
$\sigma_7$	0.5771	0.5003	0.5721	0.5314
$\sigma_8$	1.1663	0.8771	0.9812	0.9059
$\sigma_9$	0.1576	0.1313	0.1326	0.1348
$\sigma_{10}$	0.2709	0.2255	0.2445	0.2337
$\sigma_{11}$	0.3424	0.2914	0.3105	0.2910

注:计算相对含量比值时将相同波数的 1/K 省去,这样不会影响同种组分在不同物质相对含量的对比。

Note:1/K was omitted when calculating relative content.

人类的指纹,使用它们可以准确地对不同产地的银杏叶粗提品进行指认和识别。

### 2.3 不同产地银杏叶精制品的 FTIR 指纹图谱分析

银杏叶精制品中主要含有两大类活性物质:黄酮苷类化合物和萜内酯类化合物。用 FTIR 法测出精制品的红外光谱也应是这些化合物红外光谱的叠加。图 3 表示,虽然各样品的产地不同,但是它们的红外光谱图很相似,说明不同产地所得的提取物中含有的主要化学成分是相近的。不同产地银杏叶精制品各组分对应的红外吸收峰的平均峰位和平均吸光度见表 5。

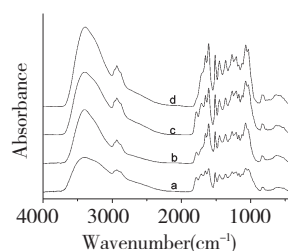


图 3 河北(a)、山东(b)、安徽(c)及北京(d)银杏叶精制品的 FTIR 图谱

Fig. 3 FTIR spectra of the refined extracts of *G. biloba* leaves from Hebei (a), Shandong (b), Anhui (c) and Beijing (d)

表 5 四种产地银杏叶精制品的全组分 FTIR 谱图各峰的峰位和吸光度比较

Table 5 Comparison of peak location and absorbance on the FTIR spectra of all groups in the refined extracts of *G. biloba* leaves from four producing areas

峰名 Peak	安徽银杏叶精制品 Anhui refined extract		北京银杏叶精制品 Beijing refined extract		河北银杏叶精制品 Hebei refined extract		山东银杏叶精制品 Shangdong refined extract	
	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance
$\sigma_1$	3396	0.8806	3386	1.1145	3402	0.4850	3396	0.7531
$\sigma_2$	2933	0.5186	2935	0.5715	2937	0.3088	2935	0.3287

峰名 Peak	安徽银杏叶精制品 Anhui refined extract		北京银杏叶精制品 Beijing refined extract		河北银杏叶精制品 Hebei refined extract		山东银杏叶精制品 Shandong refined extract	
	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance	波数 Wavenumber ( $\text{cm}^{-1}$ )	吸光度 Absorbance
$\sigma_3$	1784	0.3237	-	-	1788	0.2032	1784	0.1574
$\sigma_4$	1711	0.4444	-	-	1711	0.2510	-	-
$\sigma_5$	1653	0.5560	1653	0.7135	1657	0.2937	1653	0.4208
$\sigma_6$	1606	0.6567	1606	0.8824	1606	0.3277	1606	0.5570
$\sigma_7$	1514	0.5647	1514	0.7208	1514	0.2721	1514	0.4462
$\sigma_8$	1452	0.4962	1452	0.6390	1452	0.2423	1450	0.3905
$\sigma_9$	1363	0.5208	1362	0.6469	1365	0.2494	1365	0.4083
$\sigma_{10}$	1267	0.6155	1269	0.7303	1267	0.2820	1269	0.4496
$\sigma_{11}$	1209	0.6183	1209	0.7015	1209	0.2807	1209	0.4353
$\sigma_{12}$	1171	0.5708	1171	0.5804	1171	0.2577	1171	0.3966
$\sigma_{13}$	1122	0.5579	1124	0.6079	1122	0.2516	1122	0.4095
$\sigma_{14}$	1074	0.7565	1072	0.8633	1072	0.3319	1074	0.5656
$\sigma_{15}$	835	0.1586	835	0.1635	835	0.0658	926	0.1094
$\sigma_{16}$	631	0.1370	629	0.1646	629	0.620	629	0.1118

结合图 3 和表 5 综合分析显示,四种产地银杏叶精制品的 FTIR 图谱总体上是相似的,本质上反映了其指标成分含量(见表 3-5)基本相同,但是其它相同组分吸收峰的峰形和吸收强度存在明显差异。特别是吸收峰  $\sigma_3 \sim \sigma_{15}$  在峰形、峰位和吸收强度上有所区别:四种样品在  $\sigma_3$  和  $\sigma_4$  处的峰位就出现了不同,北京银杏叶精制品在  $\sigma_3$  ( $1784 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ ) 和  $\sigma_4$  ( $1711 \pm 3 \text{ cm}^{-1}$ ) 处没有吸收峰,山东银杏叶精制品在  $\sigma_4$  ( $1711 \pm 3 \text{ cm}^{-1}$ ) 处也没有明显的吸收峰;在  $1800 \text{ cm}^{-1} \sim 500 \text{ cm}^{-1}$  波数指纹区范围内,不同产地精制品的各组分的相应吸收峰比较密集且相互叠加,但是每种提取物都有自己的特征。

表现在四种产地精制品的 FTIR 谱图中的共同特征是各种物质的吸收峰明显增多。据文献<sup>[14]</sup>报道,黄酮类化合物的特征吸收峰一般出现在 1656、

1601、1506、1457  $\text{cm}^{-1}$  和 1297  $\text{cm}^{-1}$  处。在四种产地精制品 FTIR 谱图中的 1654  $\pm 3 \text{ cm}^{-1}$ 、1605  $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$ 、1514  $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$ 、1452  $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$ 、和 1267  $\pm 4 \text{ cm}^{-1}$  找出对应的明显吸收峰。这点正充分说明银杏叶精制品中活性成分(银杏黄酮和银杏萜内酯)的含量(见表 3-5)已经占到了主导地位,可以影响到其 FTIR 图谱中吸收峰的峰位和峰高。

这些不同和变化反映了不同产地银杏叶精制品各自组分的物质特征,故将  $\sigma_3 \sim \sigma_{15}$  作为银杏叶精制品的红外特征峰,进行下一步的解析研究。

参照文献<sup>[11]</sup>的 2.1.2 项所确定的银杏叶精制品的特征峰位,选定  $\sigma_6$  作为分析的内标峰,用类似内标法的方法来对四种银杏叶精制品的 FTIR 图谱进行进一步的半定量分析。由峰值比求得相对含量比的结果见表 6。

表 6 四种产地银杏叶精制品中全组分的相对含量对比

Table 6 Comparison of relative content of the refined extracts of *G. biloba* Leaves from four producing areas

峰名 Peak	安徽银杏叶精制品各 组分相对含量比值 Content ratio of Anhui refined extract	北京银杏叶精制品各 组分相对含量比值 Content ratio of Beijing refined extract	河北银杏叶精制品各 组分相对含量比值 Content ratio of Hebei refined extract	山东银杏叶精制品 各组分相对含量比值 Content ratio of Shandong refined extract
	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$
$\sigma_3$	0.4929	-	0.6201	0.2826

峰名 Peak	安徽银杏叶精制品各 组分相对含量比值 Content ratio of Anhui refined extract	北京银杏叶精制品各 组分相对含量比值 Content ratio of Beijing refined extract	河北银杏叶精制品各 组分相对含量比值 Content ratio of Hebei refined extract	山东银杏叶精制品 各组分相对含量比值 Content ratio of Shandong refined extract
	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$	$(\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K})$
$\sigma_4$	0.6767	-	0.7659	-
$\sigma_5$	0.8467	0.8086	0.8962	0.7555
$\sigma_6$	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
$\sigma_7$	0.8599	0.8169	0.8303	0.8011
$\sigma_8$	0.7556	0.7242	0.7394	0.7011
$\sigma_9$	0.7931	0.7331	0.7611	0.7330
$\sigma_{10}$	0.9373	0.8276	0.8605	0.8072
$\sigma_{11}$	0.9415	0.7950	0.8566	0.7815
$\sigma_{12}$	0.8692	0.6578	0.7864	0.7120
$\sigma_{13}$	0.8496	0.6889	0.7678	0.7352
$\sigma_{14}$	1.1520	0.9784	1.0128	1.0142
$\sigma_{15}$	0.2415	0.1853	0.2008	0.1964
$\sigma_{16}$	0.2086	0.1865	0.1892	0.2007

注:计算相对含量比值时将相同波数的 $1/K$ 省去,这样不会影响同种组分在不同物质相对含量的对比。

Note:  $1/K$  was omitted when calculating relative content.

通过对比四种银杏叶精制品中同种组分在其中的相对含量,发现四种产地银杏叶精制品的相同组分在各自样品中的相对含量是不完全相同的。其中相对含量差异比较大的是 $\sigma_3$  ( $1784 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_5$  ( $1553 \pm 1 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_{10}$  ( $1267 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_{11}$  ( $1209 \pm 4 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_{12}$  ( $1170 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )、 $\sigma_{13}$  ( $1122 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )和 $\sigma_{14}$  ( $1074 \pm 2 \text{ cm}^{-1}$ )处的吸收峰对应的物质成分,它们的相对含量比值的差值都大于0.1;河北银杏叶精制品 FTIR 图中 $\sigma_3$ 和 $\sigma_5$ 处的相对含量比值明显高于其它三种精制品的,与山东精制品相对含量比值的差值分别高达0.34和0.14;安徽精制品 FTIR 图中 $\sigma_{10}$ 和 $\sigma_{11}$ 处的相对含量比值明显高于其它三种银杏叶精制品的,与山东精制品相对含量比值的差值分别达到了0.13和0.16;安徽银杏叶精制品在 FTIR 图中 $\sigma_{12}$ 和 $\sigma_{13}$ 处的相对含量比值也明显高于其它三种精制品的,与北京精制品相对含量比值的差值也分别达到了0.21和0.16;安徽、河北和山东精制品在 $\sigma_{14}$ 处的相对含量比值均超过了1.00,唯独北京的精制品得相对含量比值低于1.00,且与安徽精制品相对含量比值的差值达到了0.17。

这些 FTIR 谱图中量化的差别与不同,精确地描绘出了不同产地银杏叶精制品各自组分的物质特征,使之形成了似于人类的指纹,使用它们可以准确地对不同产地的银杏叶精制品进行指认和识别。

### 3 结论

红外光谱的特征性来源于被测样品中所含化学成分千差万别的特征性。这种特征性类似于人类的指纹,表现在 FTIR 谱图上,峰形、峰高及峰的位置等存在差异,利用这些谱图特征可以准确地对不同产地的银杏叶及其提取物进行指认。另外,银杏叶 FTIR 图谱特征给出的是整个样品的整体信息,提供的信息能很好地反映银杏叶及其提取物的全貌,比单一指标成分的测定所提供的信息要更多、更有用。

#### 参考文献

- 1 Song Y (宋洋), Yu ZB (于志斌), You XM (尤晓敏), et al. The development status, challenges and countermeasures of *Ginkgo biloba* extract market in China. *Chin J New Drug* (中国新药杂志), 2015, 24: 2651-2655.
- 2 Hong QH (洪庆红), Li DT (李丹婷), Hao CY (郝朝运). Identification of soybean varieties by direct determination of FTIR spectrum. *Spec Spec Anal* (光谱学与光谱分析), 2005, 25: 1246-1249.
- 3 Chen Y (陈亚), Jiang B (江滨), Zeng YE (曾元儿). Application on infrared spectroscopy in discrimination of Chinese Traditional medicine. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med* (广州中医药大学学报), 2004, 2: 237-240.

(下转第 970 页)