

文章编号:1001-6880(2018)Suppl-0127-06

# 青海锁阳的红外光谱指纹图谱研究

王 勘<sup>1,2</sup>, 卢学峰<sup>1</sup>, 孙 菁<sup>1</sup>, 万丽娜<sup>1,2</sup>, 孟卫东<sup>3</sup>, 叶润蓉<sup>1\*</sup>, 周玉碧<sup>1\*</sup><sup>1</sup> 中国科学院藏药研究重点实验室 青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室

中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008;

<sup>2</sup> 中国科学院大学, 北京 100049; <sup>3</sup> 青海道康农牧科技有限公司, 都兰 816100

**摘要:**本研究采用傅里叶变换红外光谱法,对青海不同居群的锁阳进行了分析。通过共有峰的确认和相似度分析,建立了青海锁阳的红外光谱指纹图谱,并确定了13个吸收峰为青海锁阳的共有峰;聚类分析结果表明,青海锁阳可分为两类,一类为柴达木盆地居群,另一类以共和盆地居群为主,表明其品质可能与其地理分布有关。本研究为青海锁阳的特征性和品质分析提供了理论依据。

**关键词:**锁阳;红外指纹图谱;共有峰;相似度分析;聚类分析

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.S.018

## Study on IR Fingerprint Spectra of *Cynomorium songaricum* Rupr. from Qinghai Province

WANG Jie<sup>1,2</sup>, LU Xue-feng<sup>1</sup>, SUN Jing<sup>1</sup>, WAN Li-na<sup>1,2</sup>, MENG Wei-dong<sup>3</sup>, YE Run-rong<sup>1\*</sup>, ZHOU Yu-bi<sup>1\*</sup><sup>1</sup> Key Laboratory of Tibetan Medicine Research and Qinghai Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau

Biological Resources, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China;

<sup>2</sup> Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;<sup>3</sup> Qinghai Daokang Agriculture and Animal Husbandry Technology Co., Ltd., Dulan 816100, China.

**Abstract:** In this study, the Fourier transform infrared spectroscopy was used to analyze the *Cynomorium songaricum* of different populations from Qinghai province. The IR fingerprint Spectra of *C. songaricum* was established through the identification of common peaks and the analysis of similarity, and 13 common peaks were confirmed. The cluster analysis result showed that the samples of Qinghai province were mainly divided into two groups. The one is the Qaidam basin population, and the other is mainly Gonghe basin population. The result indicated that its quality may be related to the geographical distribution. This study provided the theoretical basis for the characterization and quality analysis of *C. songaricum* of Qinghai.

**Key words:** *Cynomorium songaricum* Rupr.; IR fingerprint spectra; common peaks; similarity analysis; cluster analysis

锁阳(*Cynomorium songaricum* Rupr.)为锁阳科锁阳属的全寄生种子植物,主要产于我国的青海、内蒙古、甘肃等干旱、盐碱多沙的半荒漠或荒漠地区<sup>[1]</sup>。锁阳在民间素有“不老药”和“沙漠人参”美誉,以其干燥肉质茎入药,是我国传统中医药及民族药的常用药材,有补肾益精、润肠通便等功效<sup>[2-4]</sup>。现代药理学研究表明,锁阳具有滋补强壮、抗衰老、抗氧化及增强免疫力等作用<sup>[5,6]</sup>。

红外光谱技术现已广泛应用于药用植物资源的

分析,具有真实反映样品所有组分的整体信息、分析便捷、准确性高、应用范围广等优点<sup>[7,8]</sup>。目前,关于锁阳红外光谱方面的研究主要用于药材的鉴定<sup>[9,10]</sup>和提取物分析<sup>[11,12]</sup>,鲜见青海锁阳红外指纹图谱方面的报道。本研究采用傅里叶变换红外光谱技术,以期建立青海产区锁阳的红外指纹图谱,并对青海不同居群的锁阳进行聚类分析,旨在为青海地产锁阳品质的特征分析和产地鉴别提供参考依据,也为青海锁阳的开发利用提供理论支持。

## 1 仪器与材料

### 1.1 仪器

Nicolet iS50 傅里叶变换红外光谱仪(美国赛默

收稿日期:2018-03-05 接受日期:2018-04-04

基金项目:青海省重点实验室发展建设专项(2017-ZJ-Y10);青海省基础研究计划项目(2016-ZJ-765);青海省重点研发与转化计划项目(2019-SF-171)

\*通信作者 E-mail:rrye@nwipb.cas.cn;ybzhou@nwipb.cas.cn

飞世尔科技公司);CM100 切割式粉碎机(北京格瑞德曼设备有限公司);FM100 超离心研磨仪(北京格瑞德曼设备有限公司);电热鼓风干燥箱(上海恒一科学仪器有限公司);ME104 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);压片机(英国 SPECAC 公司)。

## 1.2 材料

青海锁阳样品采于 2016 年 5 月初的露头期, 主

表 1 青海锁阳样品来源  
Table 1 The origin of *C. songaricum* from Qinghai

编号 No.	采集地点 Collected site	海拔 Altitude (m)	经度 Longitude (E)	纬度 Latitude (N)	样品穴数 Sample number
S1	共和县沙珠玉乡	2 868	100°14. 346'	36°15. 185'	10
S2	共和县切吉乡	2 997	94°37. 778'	36°26. 461'	12
S3	共和县哇玉	3 086	99°19. 572'	36°33. 501'	10
S4	乌兰县漠河驼场	2 857	98°54. 561'	36°50. 106'	12
S5	都兰县巴隆乡	2 858	97°34. 754'	36°08. 801'	10
S6	都兰县诺木洪	2 760	96°21. 909'	36°28. 508'	10
S7	都兰县尕海	2 855	97°34. 200'	37°12. 542'	10
S8	德令哈市可鲁克	2 818	96°54. 284'	37°19. 110'	10
S9	大柴旦行委小柴旦	3 166	95°29. 744'	37°27. 065'	8
S10	格尔木市纳赤台	3 666	94°24. 744'	35°53. 564'	10

## 2 方法

### 2.1 样品制备

将采集的去除花序的新鲜锁阳清洗后, 干燥至恒重, 粉碎, 过 200 目标准筛, 封存于真空干燥器中备用。

### 2.2 光谱采集

称取锁阳样品粉末若干, 分别与 KBr 按 1: 100 的比例混合, 置于玛瑙研钵中, 研磨均匀后压片, 每个样品平行测定 3 次, 获得 3 个光谱图, 取其平均谱图作为该样品的红外光谱图, 并将同一居群内所有样品红外光谱图的平均谱图作为该居群的红外光谱图。光谱采集范围为 4 000 ~ 400 cm<sup>-1</sup>, 扫描次数为 32 次, 分辨率为 4 cm<sup>-1</sup>。扫描时实时扣除 H<sub>2</sub>O 和 CO<sub>2</sub> 的干扰。

### 2.3 数据处理

利用 OMNIC 8.0 软件对采集的原始光谱图进行基线校正, 以消除采集过程中的基线漂移, 随后采用 Savitsky-Golay 13 点平滑。运用 SPSS 19.0 统计软件对光谱数据进行统计分析。

### 2.4 方法学验证

要采自于青海锁阳的主要分布区柴达木盆地和共和盆地, 共采集了 10 个居群, 样品来源见表 1。原植物样品经中国科学院西北高原生物研究所卢学峰研究员鉴定为锁阳科锁阳属的锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr.; 实验所用溴化钾为光谱纯(美国赛默飞世尔科技公司)。

### 2.4.1 精密度试验

取同一锁阳样品粉末, 按照“2.2”项下方法连续测定 6 次, 得到红外光谱图, 测得各图谱的相关系数为 1.000 0、0.996 0、0.995 4、0.995 3、0.994 8、0.994 8, 其 RSD 值为 0.199 4%。结果表明, 仪器精密度良好。

### 2.4.2 重复性试验

取同一锁阳样品粉末 6 份, 分别按照“2.2”项下方法制片后, 进行红外光谱的采集, 测得各图谱间相关系数为 1.0000、0.9965、0.9965、0.9964、0.995 8、0.995 6, RSD 值为 0.161 9%。结果表明, 该方法重复性良好。

### 2.4.3 稳定性试验

取同一锁阳样品粉末, 按照“2.2”项下方法制得样品片后, 置于真空干燥器中, 每隔 1 h 测定 1 次, 共测定 6 次, 采集样品的红外光谱图, 测得各图谱间相关系数为 1.000 0、0.994 7、0.994 6、0.994 5、0.990 9、0.987 4, RSD 值为 0.426 2%。结果表明, 样品在 6 h 内基本稳定。

## 3 结果与分析

### 3.1 青海锁阳红外指纹图谱的建立

### 3.1.1 共有特征峰的识别

将不同居群的锁阳样品按“2.2”项下方法测得红外光谱图(图1),再通过OMNIC8.0软件处理得到锁阳平均红外光谱图(图2)。对各红外光谱图进行直观比较,不同居群锁阳的基本谱型具有较高的相似性,但吸收峰的位置、强度和数量具有一定的差异,说明不同居群锁阳的化学组成具有一致性,但其化学成分的含量表现出一定的差异。

对于一组共有峰,若组内吸收峰波数的最大差

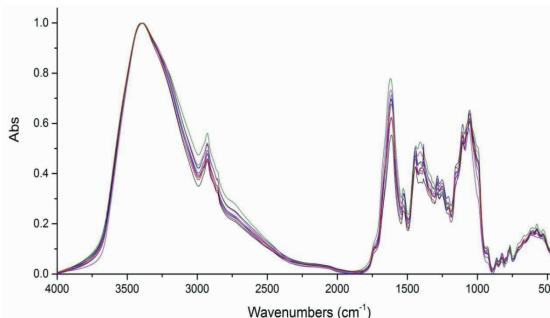


图 1 不同产地锁阳的叠加红外光谱图

Fig. 1 The overlapping IR spectra of *C. songaricum* from different populations

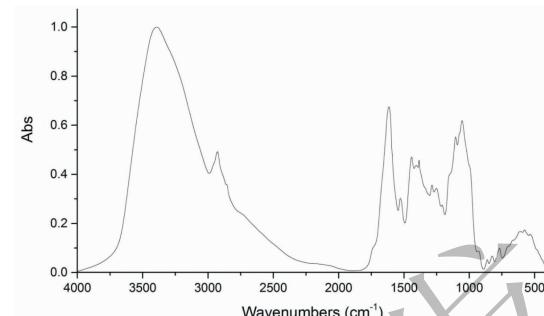


图2 锁阳平均红外光谱图

Fig. 2 The average IR spectra of *C. songaricum*

异显著小于与相邻两组之间平均波数的差值，则认为该组峰为一组共有峰<sup>[13-16]</sup>。为了更准确的鉴别青海锁阳，并能充分反映青海锁阳的红外光谱特征，本研究中确定的青海锁阳的共有峰，除了应满足上述共有峰的确定条件外，还需确定每个样品都具有该吸收峰。

通过对共有峰的指认,在10个居群锁阳的红外光谱图中,共确定了13个吸收峰为青海锁阳的共有峰,包括3391、2928、1615、1528、1441、1385、1286、1252、1105、1055、862、824和768 $\text{cm}^{-1}$ 。

表2 不同属群锁阳红外光谱的主要吸收峰( $\text{cm}^{-1}$ )

Table 2 The major absorption peaks of IR spectra of *G. sonneratricum* from different populations ( $\text{cm}^{-1}$ )

续表2(Continued Tab. 2)

序号 No.	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	平均值 Average value	组内最大 波数差 Range of wavenumbers
16	822	824	821	824	821	825	825	826	827	828	824	7
17	769	768	769	768	768	768	767	767	767	767	768	2
18	-	619	-	-	-	-	620	617	-	-	618	3
19	576	-	578	576	576	576	576	575	576	576	576	3
20	-	-	-	533	533	532	531	533	533	532	533	2

### 3.1.2 红外指纹图谱的建立

利用 OMNIC8.0 软件中的质量检查功能计算各个居群整个红外谱图的相似系数,在计算时,以锁阳平均红外谱图为参比,分别计算 10 个居群与平均红外图谱间的相似系数(表 3)。由表 3 可知,不同居

群锁阳的红外光谱与平均图谱相比较,其相似系数均在 0.9557 ~ 0.9955 之间,因此,可以认为平均图谱所包含的光谱信息能较为全面的反映青海锁阳的红外光谱特征,即平均红外光谱图可作为青海锁阳的红外指纹图谱。

表 3 不同产地锁阳的全光谱相似系数

Table 3 The similarity coefficient of *C. songaricum* from different populations

编号 No.	采集地点 Collected site	相似系数 Similarity coefficient
S1	共和县沙珠玉乡	0.9920
S2	共和县切吉乡	0.9557
S3	共和县哇玉	0.9749
S4	乌兰县漠河驼场	0.9935
S5	都兰县巴隆乡	0.9887
S6	都兰县诺木洪	0.9955
S7	都兰县尕海	0.9935
S8	德令哈市可鲁克	0.9953
S9	大柴旦行委小柴旦	0.9921
S10	格尔木市纳赤台	0.9743

综合共有特征峰的确认和相似度分析两项指标,建立了青海产区锁阳的红外光谱指纹图谱(图 3),同时指认了 3 391、2 928、1 615  $\text{cm}^{-1}$  等 13 个吸收峰作为青海锁阳指纹图谱的特征峰,并在其指纹图谱中作了标识,为后续青海锁阳的鉴别研究奠定了基础。

### 3.2 不同居群锁阳的聚类分析

通过对不同居群锁阳红外光谱的主要吸收峰进行比对可知,青海不同居群锁阳红外光谱的差异主要集中在 1 600 ~ 500  $\text{cm}^{-1}$  波数范围内,并以其作为青海锁阳的指纹区。因此,本研究以指纹区 1 600 ~ 500  $\text{cm}^{-1}$  波数范围内的吸光度值数据为基础,采用组间联接法,以平方 Euclidean 距离作为样品的测度,

进行了聚类分析(图 4)。当距离在 21 ~ 25 范围内时,各居群可聚为两类,一类为 S7、S8、S6、S9、S4、

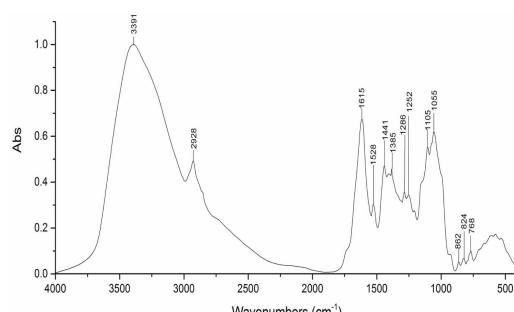


图 3 青海地产锁阳的红外光谱指纹图谱

Fig. 3 The IR fingerprint spectra of *C. songaricum* from Qinghai

S10,该类均为柴达木盆地锁阳居群;另一类为S5、S1、S3、S2,该类以共和盆地(S1、S2和S3)锁阳居群为主。聚类结果结合所采集样品的地理位置发现,不同居群的锁阳确实存在一定的差异,其品质差异可能受地理位置因素的影响。

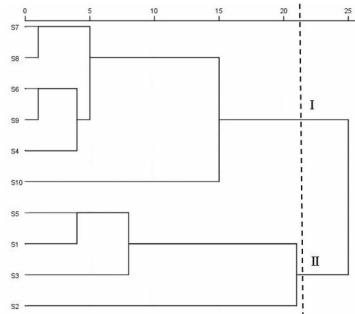


图4 不同居群锁阳的聚类分析

Fig. 4 The cluster analysis of *C. songaricum* from different populations

## 4 讨论

本研究通过共有特征峰的指认和相似度的分析,建立了青海地产锁阳的红外光谱指纹图谱,共标定了13个吸收峰作为青海产区锁阳的共有特征峰。不同产地锁阳的红外光谱与平均图谱进行了比较,发现其相似系数均在0.9557以上,说明青海不同居群的锁阳在主要化学成分的组成上具有较高的一致性。但不同产地锁阳的红外光谱也存在着一定的差异,其差异主要体现在吸收峰的总数和吸收强度方面,说明青海不同产地的锁阳在化学成分的含量或某些特殊成分上存在着不同;通过对不同居群的锁阳聚类结果进行分析,青海产区的锁阳可分为两类,分别分布于柴达木盆地和共和盆地,说明两大类群的锁阳具有一定的差异,其差异与地理分布因素的影响息息相关。由于地理分布因素的影响,不同产区或居群间的植物样品产生了较为明显的差异,这种差异主要体现在样品的化学组成或含量上<sup>[17,18]</sup>。

前期本课题组采用傅里叶变换红外光谱法对阿拉善盟地区的锁阳样品进行了分析<sup>[19]</sup>,通过初步的对比发现,青海和阿拉善盟产区锁阳的红外光谱存在一定的差异,通过主成分分析可将两者区分开;此外,青海和阿拉善盟同作为锁阳的主产区,其红外光谱指纹图谱也具有一定的相似性,经统计两者的红外指纹图谱共有10个相同的特征峰,已包含表征锁阳特征性的大部分光谱信息。因此可以在一定程度上扩大锁阳红外光谱指纹图谱的应用范围,可应用

于锁阳药材的真伪鉴别方面,为锁阳的后期研究奠定了坚实的基础。

## 参考文献

- Institute of Botany Chinese Academy of Sciences(中国科学院中国植物志编辑委员会). *Flora Peipublicae Popularis Sinicae*: Vol 52(中国植物志:第52卷)[M]. Beijing: Science Publishing House, 2000, 152-154.
- Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会). *Pharmacopoeia of the People's Republic of China*: Vol I(中华人民共和国药典:第一卷)[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015; 370.
- Zhang J(张佳), Li ZZ(李志忠), Zhang BY(张丙云). Function research and product development of *Cynomorium songaricum*. [J]. *Gansu Sci Tech*(甘肃科技), 2006, 22: 204-206.
- Mu GJ(慕桂娟), Cao JY(曹俊彦), Zheng YL(郑玲艳), et al. Research status and application prospects of *Cynomorium* [J]. *China Med Herald*(中国医药导报), 2016, 13(22): 32-35.
- Luo YY(罗燕燕), Ma Y(马毅), Zhang X(张勋), et al. The research progress of *Cynomorium songaricum*. [J]. *TCM Res.*(中医研究), 2017, 30(5): 77-78.
- Nie LS(聂莉莎), Ma LJ(马丽杰), Ai M(爱民). The modern research progress of medicinal properties and function of *Cynomorium songaricum*. [J]. *China J Ethnomed Ethnopharm*(中国民族民间医药), 2009, 18(16): 17-18.
- Zhao W(赵薇), Chen YJ(陈奕君), Meng QY(孟庆艳), et al. Comparative study on the infrared fingerprint of *Nitraria tangutorum* Bobr. based on the methods of sequential analysis of dual-indexes and cluster analysis[J]. *Sci Tech Food Ind*(食品工业科技), 2016, 37: 286-290.
- Sun SQ(孙素琴). Analysis of tradition Chinese medicine by infrared spectroscopy(中药红外光谱分析与鉴定)[M]. Beijing: Chemical industry press, 2010.
- Chen J, Sun SQ, Xu R, et al. Identification of *Cistanche deserticola* from *Boschniakia rossica* and *Cynomorium songaricum* using FTIR and two-dimensional correlation IR spectroscopy [J]. *Spec Spec Anal*, 2009, 29: 1502-1507.
- Zhou Y, Li W, Han LF, et al. Identification of Chinese traditional medicine *Cistanches herba* from different places by HPLC-ESI-MS and FTIR methods[J]. *Spec Spec Anal*, 2015, 35: 1056-1061.
- Xu YM(许益民), Wang YS(王永山), Chen JW(陈建伟). The infrared spectra analysis of phospholipid composition of *cistanche deserticola*, *Cynomorium songaricum*, *epimedium* and *curculigo* of TCM for tonifying kidney[J]. *Spec Inst Anal*(光谱仪器与分析), 1991, 2: 9-11.

(下转第237页)