

不同产地葛根红外光谱的三级鉴定

韩明霞^{1,2}, 周群², 李全宏^{1*}, 孙素琴²

1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083
2. 清华大学化学系, 北京 100084

摘要 运用红外光谱法和二维相关光谱技术对天津八仙山、湖南壶瓶山、重庆金佛山三种产地的葛根样本进行了分析鉴定。分析结果表明:不同产地葛根的红外光谱(一级鉴定)和二阶导数谱(二级鉴定)具有一定的相似度,与淀粉和葛根素的谱图比对,三个样本都富含淀粉和一定量的葛根素,不同的是天津葛根在 $1\ 048\ \text{cm}^{-1}$ 波数处的最强峰与淀粉在 $986\ \text{cm}^{-1}$ 处的最强峰相差了62个波数,说明淀粉的含量较低,而在 $891, 835$ 和 $797\ \text{cm}^{-1}$ 的特征峰与葛根素的指纹特征更一致,可见葛根素的含量要高一些。在二维相关谱图(三级鉴定)上,三种产地的葛根形成的峰簇的位置和数量不同,可以进行产地的鉴别。结果表明,对于不同产地葛根的分析,红外光谱法的三级鉴定是一种有效和快速的检测方法。

关键词 葛根; 红外光谱; 二阶导数谱; 二维相关红外光谱; 鉴别

中图分类号: R282 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)07-1851-05

引言

葛根为豆科植物野葛 *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi 或甘葛藤 *Pueraria thomsonii* Benth. 的干燥根。葛根味甘、辛、凉,归脾胃二经,具有解肌退热、生津、透疹、升阳止泻之功效。临床常用于外感发热头痛、项背强痛,口渴,消渴,麻疹不透,热痢,泄泻,以及高血压颈项强痛等症状。现代药理学研究表明,葛根总黄酮为其有效成分,主要含有葛根素、黄豆苷、黄豆苷元等,具有扩张冠状动脉、减慢心率、降低心肌耗氧量、改善心、脑血液循环等作用^[1]。

目前,药材真伪鉴别方法主要有基源鉴别,性状鉴别,显微鉴别,理化鉴别等^[2],在理化鉴别法中一般采用许多现代仪器分析方法,如色谱,质谱等对药材进行预处理,既耗时间又耗试剂而且操作繁琐。近年来,傅里叶变换红外光谱法(FTIR)在中药鉴别研究中的应用受到了越来越多的关注^[3-5]。孙素琴等采用 FTIR 和二维相关红外技术对药用动植物的真伪与优劣的无损快速鉴别方面开展了系统性的质量控制研究^[6-9],已成功的利用红外光谱法鉴别了不同产地枸杞^[10]、金莲花^[11]和陈皮^[12]等药材,孙鹏^[13]和金向军^[14]等也将 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。

傅里叶变换红外光谱法(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)具有整体、快速、无损检测复杂体系的特

点,能够对中药材的全组分进行测定,反应整个体系的细节问题,更具整体性,因而更适合中药材的质量控制。本文结合“三级鉴别”技术,针对不同产地葛根的红外图谱进行了分析与鉴别。

1 实验部分

1.1 仪器设备

Spectrum GX FTIR 光谱仪(Perkin Elmer 公司),DTGS 检测器,光谱分辨率 $4\ \text{cm}^{-1}$,测量范围 $4\ 000\sim 400\ \text{cm}^{-1}$,扫描信号累加32次;变温附件为 Love Control 公司的 Portable Controller 可编程控制单元(50-886 型),控温范围 $50\sim 120\ ^\circ\text{C}$ 。

1.2 实验样品

KBr: 北京化工产,分析纯;葛根:湖南壶瓶山、重庆金佛山、天津八仙山,课题组提供;标准品:葛根素,上海有思生物技术有限公司购得,分析纯。

1.3 实验过程与数据处理

先将葛根药材进行干燥、切断、粉碎、过筛,得到小于200目中药材粉末样品;将该样品以经典的 KBr 压片法获得各种中药材在室温下的红外光谱图;用 Perkin Elmer 公司的 Spectrum v3.02 操作软件(13点平滑)获得二阶导数图谱。

将该样品以经典的 KBr 压片法获得各种中药材在不同

收稿日期: 2008-05-28, 修订日期: 2008-09-06

基金项目: 国家科技基础条件平台建设专项课题项目(2005DKA21404)资助

作者简介: 韩明霞,女,1985年生,中国农业大学食品科学与营养工程学院研究生

*通讯联系人 e-mail: liquanhong66@163.com

温度下的红外光谱图, 温度程控从 50 ~ 120 , 每升温 10 , 采集一次红外光谱, 连续采集获取系列光谱——变温动态谱, 利用二维相关分析软件计算这些动态光谱, 即获得二维红外相关光谱。

2 结果与讨论

葛根中除含有约占新鲜葛根 20% ~ 25% (以干重计) 的高级淀粉以及丰富的人体必需氨基酸和矿物元素等营养成分外^[15], 主要为异黄酮类化合物以及少量的黄酮类物质。其中, 黄豆苷元、黄豆苷、葛根素是葛根的主要活性成分, 其中以葛根素含量最高^[16]。故在实验过程中以淀粉和葛根素

为标准品, 来对不同产地的葛根做鉴定。

2.1 不同产地葛根与淀粉的红外光谱分析

图 1 为不同产地葛根与淀粉的红外光谱图。

如图 1 所示, 不同产地葛根的红外光谱具有一定的相似度, 均含有强而宽的在 $\sim 3376\text{ cm}^{-1}$ 处的 O—H 的伸缩振动峰, 在 $\sim 2929\text{ cm}^{-1}$ 处的 C—H 伸缩振动峰, 在 $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内的淀粉特征峰, 也进一步证实了葛根是富含淀粉的中药材。在 $1200\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内淀粉的最高峰是 986 cm^{-1} , 而在葛根中随着淀粉含量的增加, 淀粉的特征峰向低波数移动, 天津葛根的最大吸收峰在 1048 cm^{-1} 处, 其他两种在 1017 cm^{-1} 处, 且在 1630 与 1017 cm^{-1} 处的峰面积的差距逐渐增大, 即和淀粉的红外光谱相似。

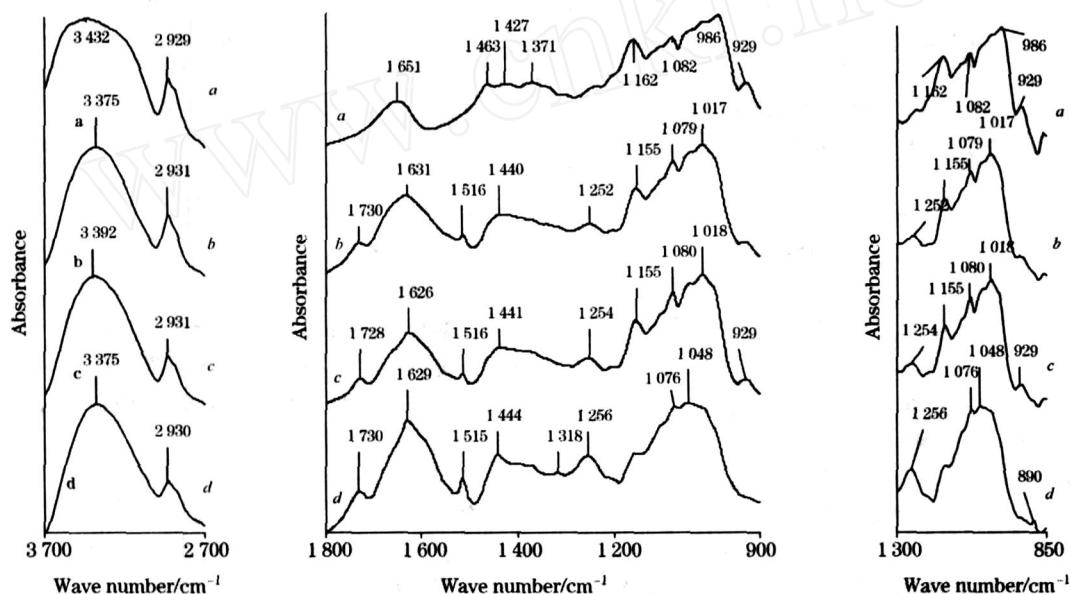


Fig 1 FTIR spectra of radix puerariae from different habitats and amyllum

a: Amyllum; b: Radix puerariae from Huping mountain in Hunan; c: Radix puerariae from Jinfo mountain in Chongqing; d: Radix puerariae from Baxian mountain in Tianjin

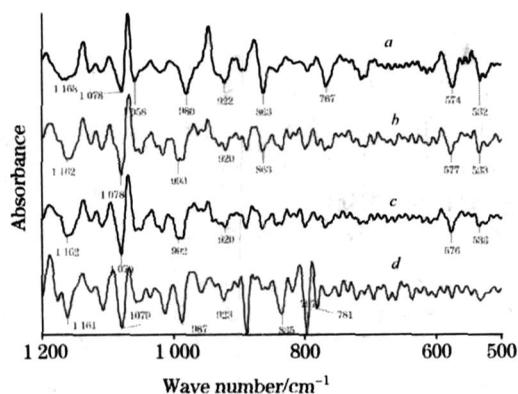


Fig 2 Second derivative spectra of radix puerariae from different habitats and amyllum

a: Amyllum; b: Radix puerariae from Huping mountain in Hunan; c: Radix puerariae from Jinfo mountain in Chongqing; d: Radix puerariae from Baxian mountain in Tianjin

图 2 为不同产地葛根与淀粉的二阶导数图谱。由图 2 可以看出, 在 $1200\sim 500\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内的二阶导数图谱上湖南和重庆葛根与淀粉的二阶导数图谱很相似, 如在 574 和 532 cm^{-1} 处的特征峰, 而天津葛根的谱峰不明显。另外, 在 $1200\sim 800\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内天津葛根的特征峰都是尖而强的, 而其他的则相对比较宽。分析葛根的红外图谱和二阶导数谱, 葛根中含有淀粉, 尤其是湖南和重庆葛根与淀粉的图谱很相似, 而天津葛根差异较大, 由此可见, 湖南和重庆葛根中含淀粉比天津葛根中含量要高。

2.2 不同产地葛根与葛根素的红外谱图分析

不同产地葛根与葛根素的特征峰见表 1, 红外谱图见图 3。

由图 3 和表 1 可以看出, 三种产地的葛根均含有 1633 , 1515 , 1445 , 1258 和 1011 cm^{-1} 的特征峰, 并且天津八仙山葛根还有 891 , 835 和 797 cm^{-1} 的特征峰, 可见三种产地的葛根均含有葛根素, 其中天津葛根的特征峰与葛根素的特

征峰更为接近，湖南和重庆中的葛根含量近似，即天津八仙山葛根含葛根素比较多，后两者含淀粉就比较多。

二阶导数图谱的分辨率较高，把复杂体系中原来重叠的峰区分开来，增强了图谱的指纹特征。图 4 是不同产地葛根

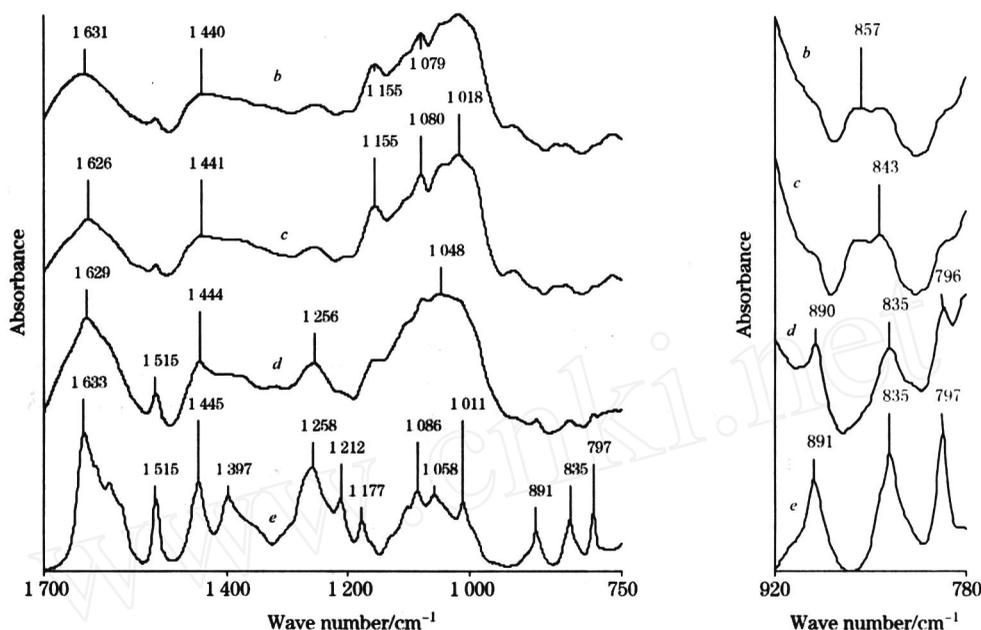


Fig 3 FTIR spectra of radix puerariae from different habitats and puerarin

b: Radix puerariae from Huping mountain in Hunan; c: Radix puerariae from Jinfo mountain in Chongqing; d: Radix puerariae from Baxian mountain in Tianjin; e: Puerarin

Table 1 Characteristic peaks of radix puerariae from different habitats and puerarin

样品	特征峰位 (cm^{-1})								
葛根素	1 633	1 515	1 445	1 397	1 258	1 011	891	835	797
天津葛根	1 629	1 515	1 444		1 256		889	836	797
湖南葛根	1 631	1 515	1 440		1 253	1 016			
重庆葛根	1 625	1 516	1 440		1 253	1 016			

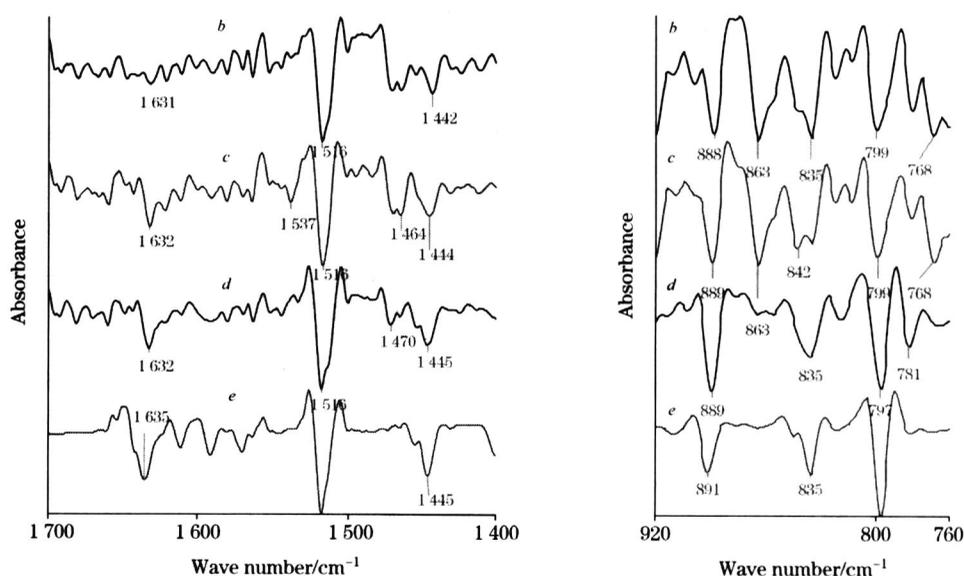


Fig 4 Second derivative spectra of radix puerariae from different habitats and puerarin

b: Radix puerariae from Huping mountain in Hunan; c: Radix puerariae from Jinfo mountain in Chongqing; d: Radix puerariae from Baxian mountain in Tianjin; e: Puerarin

和葛根素的二阶导数图谱,在 $1700 \sim 1400 \text{ cm}^{-1}$ 的波段内,三种葛根都含有 $1632, 1516$ 和 1445 cm^{-1} 的特征峰,不过天津和重庆葛根在 1632 cm^{-1} 的特征峰比湖南葛根强而尖锐。此外,在 $920 \sim 760 \text{ cm}^{-1}$ 的波段内,天津葛根有和葛根素相似的 $891, 835$ 和 797 cm^{-1} 的特征峰,而其他两种葛根则在 835 cm^{-1} 处分裂成 842 和 863 cm^{-1} 两个峰。

2.3 不同产地葛根的二维相关红外图谱分析

二维红外相关光谱所表达的是不同吸收峰之间的相关性,能够在很大的程度上提高图谱的表观分辨率,增加图谱的识别能力,图 5 是三种不同产地葛根的二维红外相关图谱。

如图 5 所示,在 $1800 \sim 1500 \text{ cm}^{-1}$ 波段内重庆葛根和湖南葛根有显著差异,即重庆葛根在其间有一个 2×2 的峰簇,该峰簇是由在对角线上的 1580 和 1665 cm^{-1} 彼此相关形成的,而湖南葛根仅有 1580 cm^{-1} 这一自动峰。在 $1250 \sim 850 \text{ cm}^{-1}$ 波段内天津葛根有一个 2×2 的峰簇,该峰簇是由在对角线上的 960 和 1200 cm^{-1} 彼此相关形成的,重庆葛根有一个 5×5 的峰簇,该峰簇是由在对角线上的 $900, 960, 1070, 1140, 1210 \text{ cm}^{-1}$ 此相关形成的,而湖南葛根没有 900 cm^{-1} 的自动峰。由此可见在 $1800 \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 波段内的二维相关红外图谱内:天津、重庆、湖南葛根自动峰的个数依次为 3 个、7 个、5 个。

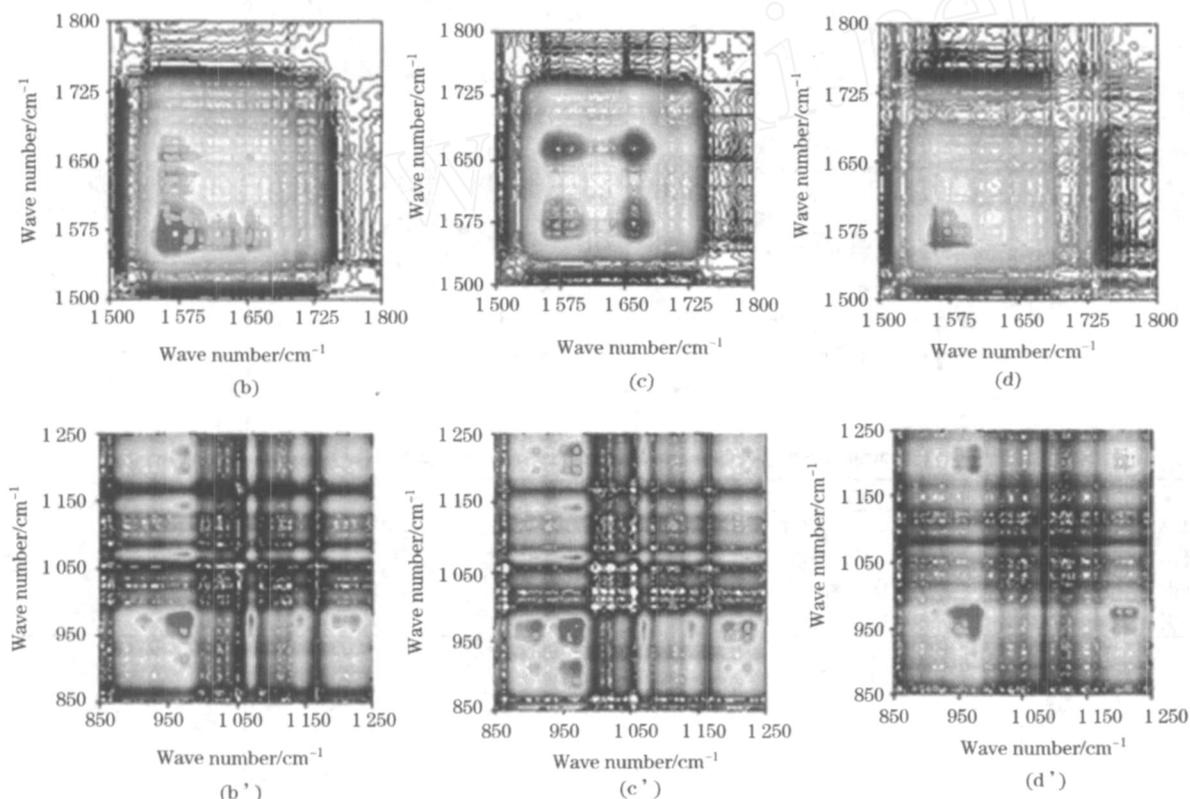


Fig 5 2D-IR correlation spectra of radix puerariae from different habitats at different wave bands

(b), (b'): Radix puerariae from Hunan; (c), (c'): Radix puerariae from Chongqing; (d), (d'): Rafix puerariae from Tianjin

3 结论

在红外指纹图谱上,天津葛根的最大吸收峰在 1048 cm^{-1} 处,其他两种在 1017 cm^{-1} 处,淀粉的最高峰是 986 cm^{-1} ,随着葛根中淀粉含量的增加,淀粉的特征峰向低波数移动;三种产地的葛根均有 $1633, 1515, 1445$ 和 1258 cm^{-1} 等具有较强的吸收峰。二阶导数谱图上湖南、重庆葛根与淀粉的谱图很相似,如在 574 和 532 cm^{-1} 处的特征峰,而天津葛根的特征峰与葛根素的特征峰更为接近,具有葛根素

在 $891, 835$ 和 797 cm^{-1} 的特征峰。在二维相关谱上,三种产地葛根形成的峰簇的数目和位置有明显的差异。可见,通过三级鉴别可以鉴别不同产地的葛根,其中天津葛根中所含的葛根素较高,其他两种葛根中含淀粉较高;天津、湖南、重庆产地葛根的二维相关谱也有明显的区别,可以作为鉴别的依据。

红外光谱“指纹”快速识别中药具有真实、整体、综合和宏观的特点与优势,这种方法的迅速推广和应用将对中药的质量标准研究具有十分重要的意义,这种方法可与传统的鉴别方法相结合,使中药材的鉴别更加完善、更加合理。

参 考 文 献

- [1] Pharmacopoeia Committee of the Ministry of Health of the People's Republic of China (中华人民共和国国家药典委员会编). Pharmacopoeia

- the People's Republic of China(中华人民共和国药典). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2004.
- [2] ZHENG Hong-jun, ZHAN Ya-hua(郑宏钧, 詹亚华). Identification Manual of Modern Chinese Herbal Medicines(现代中药材鉴别手册). Beijing: China Medicor-Pharmaceutical Science & Technology Publishing House(北京: 中国医药科技出版社), 2001.
- [3] LIU Yan, LIU Shun-hang, WANG Jun-quan, et al(刘岩, 刘顺航, 王俊全, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(6): 1093.
- [4] HUANG Hao, SUN Su-qin, XU Jin-wen, et al(黄昊, 孙素琴, 许锦文, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(2): 253.
- [5] SUN Su-qin, ZHOU Qun, LEUNG Hi-wun, et al(孙素琴, 周群, 梁曦云, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2002, 22(4): 600.
- [6] WU Jing, SUN Su-qin, ZHOU Qun, et al(吴婧, 孙素琴, 周群, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(8): 1535.
- [7] SUN Su-qin, ZHOU Qun, YU Jian-yuan(孙素琴, 周群, 郁鉴源). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(2): 199.
- [8] A YIGULI Tashi, ZHOU Qun, DONG Xiao-ou, et al(阿依古丽·塔西, 周群, 董晓鸥, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1238.
- [9] DENG Yue-e, SUN Su-qin, ZHOU Qun, et al(邓月娥, 孙素琴, 周群, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(7): 1242.
- [10] ZHOU Qun, SUN Su-qin, LEUNG Hi-wun(周群, 孙素琴, 梁曦云). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(3): 509.
- [11] NIE Bo, ZHANG Gui-jun, SUN Su-qin, et al(聂波, 张贵君, 孙素琴, 等). Journal of Chinese Medicinal Materials(中药材), 2006, 29(4): 323.
- [12] ZHOU Xin, SUN Su-qin, HUANG Qing-hua(周欣, 孙素琴, 黄庆华). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(12): 2453.
- [13] SUN Peng, ZHANG Xiao-song, FAN Qi(孙鹏, 张小松, 范琦). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2007, 29(12): 1721.
- [14] JIN Xiang-jun, LI Xiao-ping, LIU Zhi-qiang, et al(金向军, 李晓萍, 刘志强, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(4): 614.
- [15] LIAO Hong-bo, HE Zhi-fei, WANG Guang-ci(廖洪波, 贺稚非, 王光慈). Science and Technology of Food Industry(食品工业科技), 2003, 24(2): 82.
- [16] LI Yue, LI Yan-ju(李悦, 李艳菊). Food Research and Development(食品研究与开发), 2007, 28(12): 174.

Identification of Three-Step IR Spectra of Radix Puerariae from Different Habitats

HAN Ming-xia^{1,2}, ZHOU Qun², LI Quan-hong^{1*}, SUN Su-qin²

1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Department of Chemistry, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract The IR spectra method and 2D-IR correlation spectra method were used for the identification of radix puerariae from Baxian mountain in Tianjin, Huping mountain in Hunan and Jinpo mountain in Chongqing. The results show that the IR spectra (the first identification) and the second derivative spectra (the second identification) of kudzu roots from different habitats have some similarity. Compared with the spectra of amyllum and puerarin, three samples are all rich in amyllum, and have some puerarin. The primary difference is the 62 wave numbers between the strongest peak of Tianjin kudzu at $1\ 048\ \text{cm}^{-1}$ and amyllum at $986\ \text{cm}^{-1}$, showing that the content of amyllum is lower. Radix puerariae from Tianjin has characteristic peaks consistent with those of puerarin at 891 , 835 and $797\ \text{cm}^{-1}$, which means that radix puerariae from Tianjin has more puerarin. In the 2D-IR correlation spectra (the third identification), the three kinds of radix puerariae have the difference in position and the intensity of the correlation peak cluster. Therefore, the three-step IR macro-fingerprint provides a rapid and effective method for the identification of radix puerariae from the different habitats.

Keywords Radix Puerariae; IR spectra; Second derivative spectra; 2D-IR correlation spectra; Identification

*Corresponding author

(Received May 8, 2008; accepted Sep. 6, 2008)