

苦丁茶红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法

庞涛涛, 杜黎明*

山西师范大学分析测试中心, 山西 临汾 041004

摘要 利用共有峰率和变异峰率两个指标, 以不同苦丁茶样品的红外指纹图谱为标准, 计算出所测样品相对于标准品的共有峰率和变异峰率。按照共有峰率的大小, 建立了不同的共有峰率和变异峰率双指标序列方法。该方法可以准确地区分不同产地和不同级别的苦丁茶, 可以对两个或多个中药样品进行方便可靠的鉴别, 是一种符合中药自身特点的光谱指纹图谱分析方法。

关键词 苦丁茶; 红外指纹图谱; 共有峰率; 变异峰率; 双指标法; 序列分析

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2007)03-0486-04

引言

苦丁茶系冬青科植物大叶冬青的干燥叶, 是我国南部和西南部民间常用的药用植物, 具有散风热、清头目、除烦渴、止头疼等功效。苦丁茶不同的产地其品质各异, 加之近年来假冒伪劣苦丁茶充斥市场, 直接危害着消费者的身体健康。因此建立一种快速、准确的鉴别苦丁茶的方法, 对苦丁茶的质量监控具有十分重要的意义。

红外指纹图谱用于中药质量控制研究具有良好的发展趋势。在红外指纹图谱数据分析方面, 一般采用阵列相关系数法^[1], 聚类分析法^[2,3], 非线性映射技术^[4]和图谱直接对比分析法^[5,6]。聚类分析和阵列相关系数法采用单指标在一维空间中鉴别样品。非线性映射法需要采用至少两种不同类的样品为参照, 然后对不同中药样品进行鉴别, 这种方法利用了样品的整体信息, 而不是直接利用各种中药都含有的特征信息来建立多维指标空间鉴别样品的方式, 故分析鉴别能力较差。图谱直接对比不利于分析结果的量化表示。特别应该指出的是, 中药质量控制研究中, 应该根据中药自身的特点建立符合中药自身特点的质量控制方法。中药质量控制的发展方向之一是利用中药自身的特征信息建立多维独立指标空间, 增强鉴别能力, 并克服中药鉴别需要大量对照样品的缺点。

各种现代仪器已广泛应用于中药质量控制研究中^[7-9], 其中光谱分析由于其操作简便, 稳定性好, 测试速度快和测试成本低而被广泛应用。本研究借助于红外光谱的指纹性, 用共有峰率和变异峰率双指标序列法^[10,11]研究了不同产地、不同级别苦丁茶的红外指纹图谱, 取得了较好的结果。

1 实验部分

1.1 仪器设备和参数设置

Nicolet FTIR 410 型傅里叶变换红外光谱仪, DTGS 检测器, 光谱范围 4 000 ~ 400 cm^{-1} , 分辨率 4 cm^{-1} , 扫描累加次数 32 次, 扫描时扣除 H_2O 和 CO_2 的干扰。

1.2 样品来源和制备

产自海南和四川的六种苦丁茶, 将海南三种苦丁茶编号为 K_1 (特级), K_2 (特级) 和 K_3 (一级); 四川三种苦丁茶编号为 K_4 (一级), K_5 (二级) 和 K_6 (特级)。将苦丁茶粉碎, 过 100 目

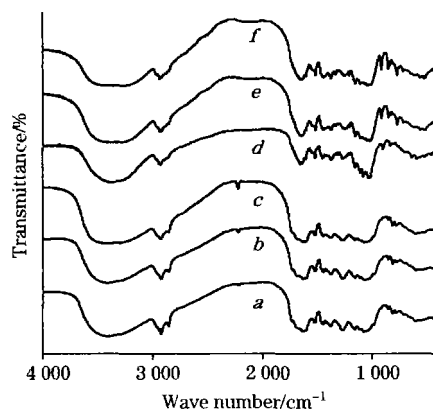


Fig 1 FTIR spectra of Ilex Kudingcha

a, b, c, d, e, f represent Hainan K_1 , K_2 , K_3 and Sichuan K_4 , K_5 , K_6 Ilex Kudingcha respectively

收稿日期: 2005-12-08, 修订日期: 2006-03-18

基金项目: 山西省自然科学基金项目(20041030)资助

作者简介: 庞涛涛, 女, 1981 年生, 山西师范大学化学与材料科学学院硕士研究生

*通讯联系人 e-mail: lmd@dns.sxnu.edu.cn

筛, 取其筛后粉末少量, 与 KBr 粉末混合研磨均匀压片, 直接放入傅里叶变换红外光谱仪中测定。

2 结果与讨论

2.1 苦丁茶红外指纹图谱及数据

将六种苦丁茶样品按照以上实验方法进行红外光谱测定, 其红外光谱图见图 1, 吸收峰波数见表 1。

共有峰的确定方法: 对于一组吸收峰, 若组内吸收峰的波数最大差异显著小于其与相邻组之间的平均波数差, 就确

定该组峰是一组共有峰。在表 1 中, 多数组峰很明显满足这种确定方法, 可以明确判定为共有峰。如对于 2 924. 61, 2 847. 80 cm^{-1} 对应的两组峰, 2 924. 61 cm^{-1} 对应的一组峰的平均波数为 2 928. 88 cm^{-1} , 组内最大波数差是 20. 48 cm^{-1} , 邻近的前后两组峰的差分别是 437. 84 和 79. 37 cm^{-1} , 两个值明显大于 20. 48 cm^{-1} , 故可确认 2 924. 61 cm^{-1} 对应的一组峰是共有峰。同样 2 847. 80 cm^{-1} 对应的一组峰的平均波数是 2 849. 51 cm^{-1} , 前后相邻组峰的平均波数值的差分别是 79. 37 和 508. 68 cm^{-1} , 明显大于组内最大波数差 5. 12 cm^{-1} , 故可判断该组峰也是共有峰。

Table 1 The wave numbers and the common peaks of the IR fingerprint spectra of Ilex Kudingcha

样品	红外指纹图谱吸收峰波数/ cm^{-1}									
K ₁	3 416. 22		2 924. 61	2 847. 80		2 217. 92				1 690. 47
K ₂	3 411. 10		2 924. 61	2 847. 80		2 217. 92				1 690. 47
K ₃	3 411. 10		2 919. 49	2 852. 92		2 217. 92	1 736. 56			
K ₄		3 370. 13	2 929. 73	2 847. 80	2 340. 83					1 659. 74
K ₅		3 365. 01	2 934. 84	2 847. 80						
K ₆		3 365. 01	2 939. 97	2 852. 92		2 284. 50				
K ₁	1 634. 14	1 603. 41	1 516. 36	1 444. 67		1 378. 09		1 270. 55		1 157. 89
K ₂	1 634. 14	1 603. 41	1 521. 48	1 444. 67		1 378. 09		1 270. 55		1 157. 89
K ₃	1 639. 26	1 603. 41	1 521. 48	1 449. 79		1 378. 09		1 270. 55		1 157. 89
K ₄	1 639. 26	1 608. 53	1 516. 36	1 449. 79	1 413. 94	1 372. 97	1 311. 52	1 270. 55	1 203. 98	1 157. 89
K ₅	1 654. 62	1 608. 53	1 516. 36	1 449. 79		1 378. 09	1 332. 01	1 250. 07	1 209. 10	1 157. 89
K ₆	1 649. 50	1 603. 41	1 516. 36	1 449. 79		1 378. 09	1 332. 01	1 250. 07	1 209. 10	1 157. 89
K ₁	1 116. 93	1 070. 84			978. 66			855. 76		809. 67
K ₂	1 116. 93	1 081. 08					886. 49	855. 76		809. 67
K ₃	1 116. 93	1 075. 96			988. 90			860. 88		814. 79
K ₄	1 111. 81	1 081. 08	1 040. 11			901. 85			830. 16	809. 67
K ₅	1 116. 93	1 081. 08	1 055. 48	1 029. 81		917. 21		850. 64	840. 40	
K ₆	1 111. 81	1 081. 08	1 055. 48	1 029. 81		917. 21		855. 76	840. 40	
K ₁	778. 95			604. 84						
K ₂	778. 95			609. 96						
K ₃	778. 95			609. 96						
K ₄	773. 83		635. 56	594. 59						
K ₅	773. 83	717. 50		609. 96						
K ₆	784. 07	717. 50	620. 20		568. 99					

2.2 苦丁茶红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列

共性鉴别指标: (1) 共有峰率 P (共有峰数 N_g / 两个 IR 图中的独立峰数 N_d) $\cdot 100\%$ 。(2) 共有峰数 N_g : 指在比较的两个 IR 图中都出现的吸收峰的个数。(3) 独立峰指红外指纹图谱中不同的吸收峰。 n_a 为指纹图谱 a 中相对于其共有峰的非共有峰数, 称为 a 的变异峰数。 n_b 为指纹图谱中 b 相对与其共有峰的非共有峰数, 称为 b 的变异峰数。(4) 独立峰数 N_d 指相互比较的两个 IR 图中的独立峰总数 $N_d = N_g + n_a + n_b$ 。

变异鉴别指标: 变异峰率 P_v 为一个指纹图谱的变异峰率 P_v ; 该 IR 图中相对于共有峰的变异峰数与其共有峰数的比值 $P_{va} = (n_a / N_g) \cdot 100\%$ 。 P_{va} 是指纹图谱 a 的变异峰率, $P_{vb} = (n_b / N_g) \cdot 100\%$ 。 P_{vb} 是指纹图谱 b 的变异峰率。

利用共有峰率和变异峰率两个指标, 可以从共性和差异

两个方面全面刻画两个指纹图谱。共有峰率越高, 说明两个指纹图谱的共性越大。在变异峰率指标中, 以每个指纹图谱中的变异峰数与共有峰数的比值可以很好地衡量指纹图谱的变异情况, 两个指纹图谱的变异峰率差异越大, 说明两种药材的差异越大。两个指纹图谱的变异峰率都小, 说明两种药材品种或它们的某种性质相近, 两种药材或其性质变异就小。

双指标序列:

以指纹图谱共有峰率和变异峰率计算公式, 以各样品为参考, 分别计算其他样品红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率, 并且根据共有峰率的大小排成一个序列 (包含共有峰率和变异峰率值), 该序列称为共有峰率和变异峰率双指标序列, n 个样品可得 n 个不同的序列, 故可构成 n 维序列空间。

通过该序列可以精确知道任意一个样品与其它样品的远

近关系。在本实验中,以 6 个样品为参照点建立的 6 个共有峰率和变异峰率双指标序列,形成 6 维序列空间,加上共有峰率和变异峰率双指标空间,可以在 $2+n$ 维(n 等于样品数目)空间中考察各个样品的异同,使该法具有强的鉴别能力。

6 个苦丁茶样品的双指标序列如下:

$K_1: K_2$ (90.00; 5.56, 5.56) K_3 (80.95; 11.76, 11.76) K_5 (51.85; 35.71, 57.14) K_4 (48.28; 35.71, 71.43) K_6 (43.33; 46.15, 84.62)

$K_2: K_1$ (90.00; 5.56, 5.56) K_3 (80.95; 11.76, 11.76) K_5 (51.85; 35.71, 57.14) K_4 (48.28; 35.71, 71.43) K_6 (43.33; 46.15, 84.62)

$K_3: K_1 K_2$ (80.95; 11.76, 11.76) K_5 (51.85; 35.71, 57.14) K_4 (48.28; 35.71, 71.43) K_6 (43.33; 46.15, 84.62)

$K_4: K_5$ (70.37; 26.32, 15.79) K_6 (65.52; 26.32, 26.32) $K_1 K_2 K_3$ (48.28; 71.43, 35.71)

$K_5: K_6$ (84.00; 4.76, 14.29) K_4 (70.37; 15.79, 26.32) $K_1 K_2 K_3$ (51.85; 57.14, 35.71)

$K_6: K_5$ (84.00; 14.29, 4.76) K_4 (65.52; 26.32, 26.32) $K_1 K_2 K_3$ (43.33; 84.62, 46.15)

* $K_4: K_5$ (70.37; 26.32, 15.79) 表示该序列以 K_4 为标准计算其他样品指纹图谱的共有峰率和变异峰率,该序列片段表示 K_4 与 K_5 的共有峰率是 70.37,其中 K_4 的变异峰率为 26.32, K_5 的变异峰率为 15.79, $K_3: K_1 K_2$ (80.95; 11.76, 11.76) 表示 $K_1 K_2$ 与 K_3 的共有峰率相等,为 80.95, $K_1 K_2$ 与 K_3 具有相同的变异峰率 11.76。

由上述序列可知,在不同的序列中,不同样品的共有峰率不同,样品之间的关系一般不同。利用该 n 维双指标序列空间可以方便地找到某一样品的最相近样品。从而可以避免在单一序列空间中比较不同样品。从上述序列看,该分析方法得到的结论可靠。

因此,利用 n 个样品为标准建立 n 维共有峰率和变异峰率序列空间,可以更合理地建立不同样品之间最直接的相似性联系,得到更合理的鉴别结论。与某一样品具有相同共有峰率的样品,往往具有不同的变异峰率,或者与某一样品具有相同变异峰率的样品,往往具有不同的共有峰率,因而双指标指纹图谱分析方法较单指标分析法具有更高的分辨率,利用双指标分析法可以对样品进行更深层次的区分及认同。如 $K_4: K_5$ (70.37; 26.32, 15.79) K_6 (65.52; 26.32, 26.32) 中 K_4 与 $K_5 K_6$ 具有相同的变异峰率,但 K_4 和 K_5 与 K_6 的共有峰率不同,分别是 70.37 与 65.52,可以更好地做出区分。 $K_6: K_1 K_2 K_3$ (43.33; 84.62, 46.15) 中 $K_1 K_2 K_3$ 与 K_6 具有相同的共有峰率及变异峰率,说明 $K_1 K_2 K_3$ 三者相对于 K_6 非常相似。

2.3 六种苦丁茶的基本关系组、对及分析

A: $K_1: K_2$ (90.00; 5.56, 5.56), $K_2: K_1$ (90.00; 5.56, 5.56)

在 A 组中上述试验结果表明: K_1 与 K_2 海南两种苦丁茶关系最近,且相似程度最高。

B: $K_4: K_5$ (70.37; 26.32, 15.79) K_6 (65.52; 26.32, 26.32), $K_1: K_2$ (90.00; 5.56, 5.56) K_3 (80.95; 11.76, 11.76)

在 B 组中, K_4 与 K_5 , K_4 与 K_6 有相近的共有峰率,它们为四川苦丁茶, K_1 与 K_2 , K_1 与 K_3 有相近的共有峰率,它们为海南苦丁茶,即产地相同,性质也相近。

C: $K_1: K_2$ (90.00; 5.56, 5.56) K_3 (80.95; 11.76, 11.76) K_5 (51.85; 35.71, 57.14) K_4 (48.28; 35.71, 71.43) K_6 (43.33; 46.15, 84.62)

$K_4: K_5$ (70.37; 26.32, 15.79) K_6 (65.52; 26.32, 26.32) $K_1 K_2 K_3$ (48.28; 71.43, 35.71)

在 C 组中,上述试验结果表明:海南苦丁茶与四川苦丁茶品种不同,差异最大,共有峰率最小。

D: 由六种苦丁茶的双指标序列可以看出,对于同一产地苦丁茶来说,海南特级苦丁茶相似程度最高,共有峰率为 90,而一级海南苦丁茶 K_3 相对于 $K_1 K_2$ 特级海南苦丁茶共有峰率要低于 90,同一级之间的共有峰率 > 不同级之间的共有峰率。进一步还可判断出, K_5 , K_4 , K_6 分别相对于海南苦丁茶的共有峰率顺序依次为 $K_5 > K_4 > K_6$ 。因此,利用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法,可以对上述六种苦丁茶给出符合实际情况的鉴别结论。

从变异峰率看,不同产地苦丁茶之间的变异峰率最大,如 $K_1: K_6$ (43.33; 46.15, 84.62)。同一产地不同级别的苦丁茶之间的变异峰率较小,如 $K_3: K_1 K_2$ (80.95; 11.76, 11.76)。而同一产地级别相同的苦丁茶之间的变异峰率最小,如 $K_1: K_2$ (90.00; 5.56, 5.56),这正确地反映了实际情况。

上述分析表明,不同产地,同一产地不同级别及同一级别之间均存在着明显的差异。从多维共有峰率和变异峰率双指标序列分析法可以得到更多的信息,对不同产地、不同级别具有准确、精细且非常直观的鉴别能力。

3 结 论

借助于红外光谱的指纹性,用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法研究了不同产地、不同级别苦丁茶的红外指纹图谱。该方法是一种科学合理的指纹图谱分析方法,具有快速、简便、准确等特点,有望成为药材快速鉴别的一种新方法。

参 考 文 献

- [1] XU Yong-qun, SUN Su-qing, XU Jin-wen(徐永群, 孙素琴, 许锦文). Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室), 2002, 19(5) : 606.
- [2] XU Yong-qun, SUN Su-qing, FENG Xue-feng, et al(徐永群, 孙素琴, 冯学峰, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2003, 23(3) : 502.
- [3] XU Yong-qun, HUANG Hao, ZHOU Qun, et al(徐永群, 黄昊, 周群, 等). Chin. J. Anal. Chem(分析化学), 2003, 31(1) : 5.
- [4] LIU Guo-lin, CAI Jin-na, LI Wei, et al(刘国林, 蔡金娜, 李伟, 等). Computers and Applied Chemistry(计算机与应用化学), 2000, 17(2) : 109.
- [5] CHENG Cun-gui, RUAN Yong-ming, LI Bing-lan(程存归, 阮永明, 李冰岚). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(11) : 1355.
- [6] PENG Yong, SUN Su-qin, ZHAO Zhong-zhen, et al(彭勇, 孙素琴, 赵中振, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2004, 24(6) : 679.
- [7] Samanidou V F, Hapeshi E A, Papadoyannis I N. J. Chromatogr B, 2003, 788(1) : 147.
- [8] Masaaki Kai, Hiromi Kinoshita, Kazuko Ohta, et al. J. Pharm. Biomedical Anal., 2003, 30(6) : 1765.
- [9] Kenneth K W To, Ho Yee-Ping, Steve C F Au-Yeung. J. Chromatogr. A, 2002, 947(2) : 319.
- [10] ZOU Hua-bin, YUAN Jiu-rong, YUAN Hao(邹华彬, 袁久荣, 袁浩). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2003, 25(4) : 261.
- [11] ZOU Hua-bin, YUAN Jiu-rong, DU Ai-qin, et al(邹华彬, 袁久荣, 杜爱琴, 等). Chinese Traditional Patent Medicine(中成药), 2004, 26(10) : 779.

Common and Variant Peak Ratios in IR Fingerprint of Ilex Kudingcha with Dual-Index Sequence Analysis

PANG Tao-tao, DU Li-ming*

Center of Analysis and Test, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China

Abstract In the present article, two new indexes, common peak ratio and variant peak ratio, were applied and their values were calculated by means of sequential analysis, in which each Ilex Kudingcha sample's IR fingerprint spectra were set up and the common peak ratio sequences were arranged in order of size in comparison with other samples. As a result, the method could be used to distinguish Ilex Kudingcha of different areas and classes. The dual-index sequential analysis enables us to distinct two or more herb's IR fingerprints. It is a new method to analyze IR fingerprint spectra, and can be used in line with the characteristics of traditional Chinese medicine.

Keywords Ilex Kudingcha; IR fingerprint; Common peak ratio; Variant peak ratio; Dual index; Sequential analysis

(Received Dec. 8, 2005; accepted Mar. 18, 2006)

*Corresponding author