

甘草真伪品的 FTIR 光谱法鉴别研究

阿依古丽·塔西^{1,2}, 周群¹, 董晓鸥³, 孙素琴^{1*}

1. 清华大学化学系, 北京 100084
2. 新疆分析测试中心, 新疆 乌鲁木齐 830011
3. 辽宁省药品检验所, 辽宁 沈阳 110000

摘要 采用傅里叶变换红外(FTIR)光谱法并结合二维相关(Two-dimensional correlation spectroscopy)分析技术分别对药用植物甘草(药材对照品)及其伪品刺果甘草进行了无损快速鉴别研究。结果表明:虽然甘草和伪品刺果甘草都是来源于同一科属,但两者所含化学组分的含量不同,其红外光谱图既有一定的差异,又有一定的相似。而在红外二阶导数谱图上差异较明显,在二维红外谱图的差别不但较明显而且很直观。凭借这些差异,可方便地进行真伪鉴别,同时还进一步表明了这两种甘草药材中化学组分之间的差异。该法无损,快速,准确,样品量少,为客观评价中药材的来源,真伪,优劣等提供了一种新的方法和手段。

主题词 二维相关红外光谱法;甘草;刺果甘草;真伪鉴别

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0593(2006)07-1238-04

引言

根据中国植物志记载,我国甘草属植物有8种,按主产的又分为西甘草和东甘草两种^[1]。甘草药材对照品来源于豆科植物甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.),胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata* Bat.)或光果甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.)的干燥根及根茎^[2]。主产于内蒙古,甘肃,新疆,是属于西甘草。甘草伪品刺果甘草(下文称伪品)也是来源于豆科族甘草属植物(*Glycyrrhiza pallidiflora* Batal.)的干燥根及根茎。相对于正品甘草它的根都不甜,分布于我国东北,华北,陕西,山东,江苏,而属于东甘草,民间也充当甘草应用,而伪品刺果甘草与正品相比,它的根茎都不甜。据分析,甘草药材对照品中以总皂甙、总黄酮、和总香豆素计算,正品所含甘草皂甙,甘草黄酮,甘草香豆素均比伪品高^[1]。这些成分上的差异最终引起其功效和作用方面的差异,正品甘草有补脾益气,清热解毒,祛痰止咳,缓急止痛,调和诸药等功效和作用^[1]。而伪品甘草却没有此功效,因此正品与伪品的鉴别甚为重要。

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^[3],在理化鉴别法中一般采用的许多现代仪器分析方法如色谱,质谱等均对药材进行预处理,既耗时间又耗试剂而且操作繁琐。孙素琴等利用 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^[4-8],本文利用傅里叶变换红外光谱法并结合二维相关红外技术,针对正品甘草及其伪品进行了无损快速真伪鉴别,此法操作简单,适用于各种药材的真伪鉴别,在中药材质量控制领域里有广阔的应用前景。

1 实验部分

1.1 仪器条件

仪器设备: Perkin-Elmer 公司 Spectrum GX 傅里叶变换红外光谱仪,光谱范围 4 000~400 cm^{-1} , DTGS 检测器,光谱分辨率 4 cm^{-1} ,扫描次数 16 次,OPD 速度为 0.2 $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$;扫描时实时扣除 HO_2 和 CO_2 的干扰。红外光谱仪另配有变温附件。

1.2 样品来源及简单制备

正品甘草:甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.),胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata* Bat.)或光果甘草(*Glycyrrhiza glabra* L.);伪品刺果甘草别名为狗甘草也是豆科(Leguminosae)的甘草属植物刺果甘草(*G. pallidiflora* Maxim)的干燥根及根茎。甘草正品及其伪品刺果甘草均由辽宁省药品药检所提供检定。将真品和伪品甘草样品充分粉碎均匀,过 200 目筛后备用。

动态光谱:样品与溴化钾(优级纯晶体)一起研磨压片,

收稿日期: 2004-05-16, 修订日期: 2004-11-28

基金项目: 科技部“十五”重大科技攻关,“重大技术标准研究”专项“食品中药与天然产物有效成分检测技术研究”基金(2002BA906A2924)资助

作者简介: 阿依古丽·塔西,女,1968年生,新疆分析测试中心助理研究院员 * 通讯联系人

装在变温附件的样品架上从50~100℃,等间隔(10℃)采样来获取其动态光谱图。甘草及其伪品刺果甘草均由辽宁省药品药检所提供检定。

1.3 数据处理

采用清华大学自行设计的二维相关分析软件对动态光谱图进行分析处理得到相应的二维红外谱图。

2 结果与讨论

利用FTIR法测得的甘草正品和伪品的红外光谱图上均有各自的特征红外吸收,这是因为甘草正品和伪品所含的化学成分的含量不同而引起它们红外谱图的差异。甘草正品所含化学成分主要为三萜皂苷、黄酮、香豆素、并含有生物碱、挥发油、糖类和氨基酸等。图1所示为甘草正品的红外光谱,在2929 cm⁻¹附近的吸收峰实际上包括了~2960和~2850, 2870 cm⁻¹处的峰,对应着CH₂和CH₃基团振动和1737 cm⁻¹处C=O双键的吸收峰一起对应着甘草内酯类成分的吸收;1618和1513 cm⁻¹吸收峰和1153, 1076, 1048 cm⁻¹的吸收峰分别对应着甘草三萜皂甙、黄酮和香豆素以及氨基酸、多糖类等成分的吸收;而1317和782 cm⁻¹处附近的吸收则对应着草酸钙簇晶的特征吸收。

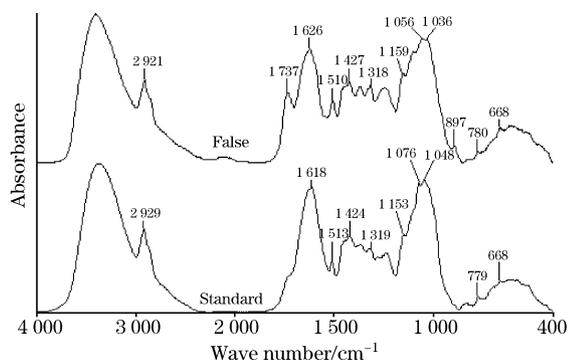


Fig. 1 FTIR spectra of standard and false Gancao

2.1 正品甘草和刺果甘草的红外光谱比较

图1为正品甘草和伪品刺果甘草的红外谱图,由于二者所含化学成分含量不同既有一定的相似性又有一定的差异,正品和伪品除在(1511±21)cm⁻¹, (1318±1)cm⁻¹, (780±1)cm⁻¹, 668 cm⁻¹等处有共有谱峰外,其他的吸收谱峰的峰位差别都较大。正品的1618和1513 cm⁻¹对应着苯环骨架振动的吸收峰的位置,与伪品(1510和1626 cm⁻¹)的相比位于低波数,说明正品甘草所含的萜皂苷、黄酮、香豆素等成分含量与伪品的有所不同;伪品草果甘草在1737 cm⁻¹对应着酯类中C=O(羰基)的伸缩振动引起的吸收峰相对强度比正品的强,而且正品的2929 cm⁻¹附近的-CH₂, CH₃基团的吸收峰与伪品相比相差了8 cm⁻¹,说明正品和伪品中的酯类组分相类似但其含量比正品高;正是这些组分和含量的不同导致其药用功效的差异;而且伪品的1318 cm⁻¹的吸收峰比正品强,伪品在897 cm⁻¹处有个小的吸收峰,而正品此处的峰是被包括在1200~900 cm⁻¹区域的宽吸收峰中;正品和伪品都在1200~900 cm⁻¹区域有着严重重叠的、较

宽的强吸收谱带,这些是缩醛和缩酮中C—O—C(糖苷键)和醚键的耦合作用引起的吸收峰簇^[9],下面利用谱图分辨率更高的导数谱来进一步说明这些重叠的谱带。

2.2 正品甘草和伪品刺果甘草二阶导数谱比较

图2为正品和伪品在1750~600 cm⁻¹波段范围内二阶导数谱,相对于红外光谱,二阶导数谱的分辨率更高,可以将很多在一维红外光谱中重叠的特征峰得以分开,从而甘草和刺果甘草的红外特征更加突出。例如甘草和伪品刺果甘草中苯环骨架振动的(甘草的1610, 1542和1511 cm⁻¹,和伪品刺果甘草的1621, 1592和1511 cm⁻¹)吸收峰在二阶导数谱分得很清楚,其中正品的1511 cm⁻¹谱峰的相对强度比伪品强,而且正品的1610和1542 cm⁻¹吸收峰比伪品1621和1592 cm⁻¹吸收峰的分别相差了11和50 cm⁻¹,即伪品在此处两个吸收峰与正品的相比位于高波数,这些恰好与它们的红外光谱上的特征相一致。伪品在668 cm⁻¹的对应于苯环C=C面外弯曲振动吸收峰比正品强,说明了正品中所含萜皂苷、黄酮、香豆素等组分和含量与伪品相比较。另外,伪品1318和782 cm⁻¹吸收峰均比正品强,尤其是伪品的1317 cm⁻¹的峰是在此波段范围内特征峰里面最强的一个吸收峰,这些对应着草酸钙簇晶的特征吸收^[10],说明伪品所含的草酸钙簇晶的含量比正品高,但组分与正品相类似。正品对应于糖类的强吸收峰位于1078 cm⁻¹而伪品位于896 cm⁻¹处,说明正品与伪品相比所含的糖类不但含量较高且在组分上差异较大。根据这些红外导数谱上峰位,峰强和峰形,不但可以对药材进行快速的真伪鉴别,还可以揭示他们所含的某些组分和含量。

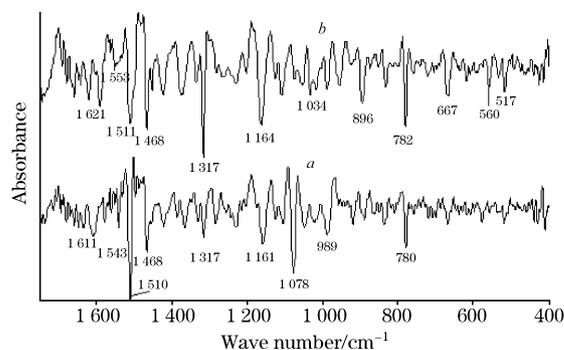


Fig. 2 Derivative spectra of standard (a) and false (b) Gancao in the range of 1750-600 cm⁻¹

2.2.1 二维数据相关计算

采用清华大学自行设计的二维红外相关软件,分别获得正品甘草和伪品刺果甘草变温过程度二维相关分析谱(见图3)。

2.2.2 正品甘草和伪品甘草在600~1700 cm⁻¹区域的二维红外相关谱

如图3所示,左边为正品甘草和伪品甘草的同步二维平面相关图,右边为同步立体相关图,图中深黑色相关强度等高线为正相关峰,浅色的相关强度等高线为负相关峰。同步相关峰代表了以氧化时间为变量的红外光谱中的基团振动峰取向结构一致的行为;同步相关图中,主对角线上自相关峰

的出现表明所对应的振动峰随着氧化的进程而变化, 对角线两侧交叉峰的出现表明其对应 ν_1 和 ν_2 轴上的一对基团振动峰的强度变化, 在氧化过程中是彼此相关的。异步相关图

中, 对角线两侧交叉峰的出现表明所对应的两个红外光谱中的基团振动峰的变化各自孤立地以不同的速率变化, 它可辅助提供微观结构变化先后的信息。

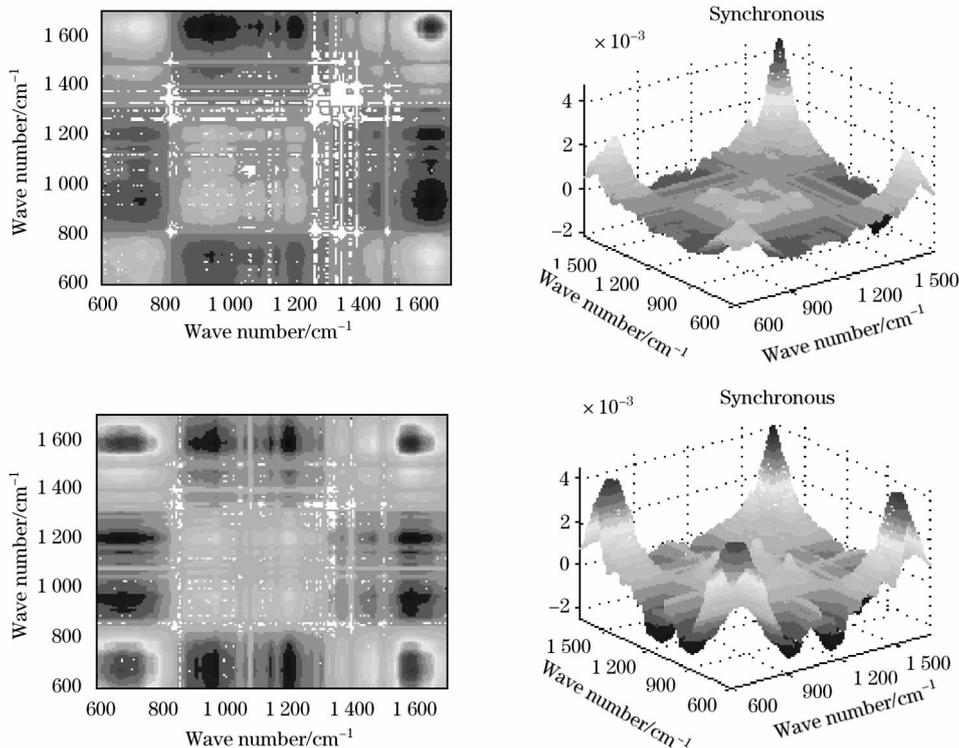


Fig. 3 2D correlation spectra of standard(top) and false (bottom) Gancao in the range of 600-1 750 cm^{-1}

Left: synchronous spectra (contour); Right: synchronous fishnet spectra (fishnet)

基于上述的互相关原理, 具体分析图 3 所示的二维相关谱。可以看出许多在一维谱中的重叠峰可以清晰的辨别出来。同步图(上)中, 正品甘草在对角线上出现了两个自相关峰, 分别为较强和强, 它们所对应的基团振动峰的位置分别为 680 和 1 588 cm^{-1} , 说明 680 和 1 588 cm^{-1} 所对应的基团随着温度的升高而明显变化。同时, 正品甘草在对角线两侧出现了两对正交叉峰, 680 cm^{-1} 处的吸收峰与 1 588 cm^{-1} 正相交, 1 588 cm^{-1} 处的吸收峰与 680 cm^{-1} 正相交, 并且他们的强度都较高, 这种现象进一步说明 1 588 和 680 cm^{-1} 所对应的基团随着温度的升高不但发生明显的变化, 而且还伴随着较强的相互作用; 而伪品甘草在主对角线上只出现了一个强的自相关峰, 所对应的基团振动峰的位置位于 1 640 cm^{-1} , 即它没有 1 588 和 680 cm^{-1} 自相关峰, 说明伪品甘草在 1 588 和 680 cm^{-1} 处吸收峰对应的基团虽温度升高但没有发生相互作用。在 970 和 1 205 cm^{-1} 处虽出现了两个自相关峰, 但相关性很弱。同时, 伪品甘草对角线两侧出现了两个

次强的正相交峰, 分别位于 680 和 1 640 cm^{-1} 处, 强度比正品甘草弱, 说明这些吸收峰所对应的基团间随着温度的变化相互作用不明显。另外, 正品甘草和伪品甘草在对角线两侧同时都出现了几个负相交峰。由于正品甘草和伪品甘草在热力学过程中各自所含有基团的变化有明显的不同, 因此它们在二维红外谱图上的差异较大, 而且很直观。

3 结论

将药材的红外一维红外谱图与其二阶导数谱和二维红外相关谱相结合以提高谱图的分辨率, 增加谱图的识别能力。利用这三种红外谱图相互印证的方法可以对药材(饮片)的真伪进行比较科学、可靠、全面的鉴别研究。该法无损, 快速, 准确, 样品量少, 为客观评价中药材的来源, 真伪, 优劣等提供了一种新的方法和手段, 在中药材的质量控制领域里具有广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] XIAO Pei-gen (肖培根). Record of Modern Chinese Materia Medica(新编中药志). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2002.
- [2] Pharmacopoeia Committee of Ministry of Health, the People's Republic of China(中华人民共和国药典委员会). Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典). (Vol. I). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2000.
- [3] ZHENG Hong-jun, ZHAN Ya-hua(郑宏钧, 詹亚华). Handbook of Discrimination of Modern Chinese Medical Material(现代中药材鉴别手册). Beijing: Chinese Medical Science Press(北京: 中国医药科技出版社), 2001.
- [4] SUN Su-qin, YU Jian-yuan, HU Xin-yao (孙素琴, 郁鉴源, 胡鑫尧). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 1999, 19(6): 841.
- [5] ZHOU Qun, SUN Su-qin, DU De-guo, et al(周群, 孙素琴, 杜德国, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(2): 195.
- [6] SUN Su-qin, ZHOU Qun, ZHANG Xuan, et al(孙素琴, 周群, 张宣, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2000, 28(2): 211.
- [7] SUN Su-qin, ZHOU Qun, YU Jian-yuan, et al(孙素琴, 周群, 郁鉴源, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(2): 199.
- [8] SUN Su-qin, DU De-guo, LEUNG Hi-wun, et al(孙素琴, 杜德国, 梁曦云, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2001, 29(5): 552.
- [9] ZHANG Guang-qiang, HUANG Shi-de (张广强, 黄世德). Analytical Chemistry (分析化学). Beijing: Xueyuan Press(北京: 学苑出版社), 2001.
- [10] SUN Su-qin, ZHOU Qun, QIN Zhu(孙素琴, 周群, 秦竹). Atlas of Two-Dimensional Correlation Infrared Spectroscopy for Traditional Chinese Medicine Identification (中药二维相关红外光谱鉴定图集). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2003.

Study on the Identification of Standard and False Gancao by Fourier Transform Infrared Spectroscopy

AYIGULI·Tashi^{1,2}, ZHOU Qun¹, DONG Xiao-ou³, SUN Su-qin^{1*}

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

2. Testing and Analysis Center of Xinjiang, Wulumuqi 830011, China

3. Liaoning Province Institute for Drug Control, Shenyang 110000, China

Abstract Standard Gancao (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) and false Ciguogancao (*Glycyrrhiza pallidiflata* Batal) were identified fast, nondestructively by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) combined with derivative spectra and two-dimensional correlation spectroscopy (2D) in the present article. The result shows that although the two kinds of Gancao belong to one genus, there are some certain differences in their chemical components that are reflected in the IR spectra, but with some similarity and dissimilarity in the IR spectra. The two kinds of Gancao are quite different from each other in second derivative spectra and 2D spectra. Based on the differences reflected in the IR and 2D IR, the standard gancao can be identified from the false easily and clearly. The result also proved that there is a relationship between the IR spectra and the chemical components of the herbs. This method is fast, accurate and nondestructive, and the wastage of sample is less. The fast, accurate property of 2D spectroscopy makes it a powerful and new approach to evaluating medicinal herbs impersonally.

Keywords 2D-IR correlation infrared spectroscopy analysis; Gancao (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch); Ciguogancao (*Glycyrrhiza pallidiflata* Batal); Identification

(Received May 16, 2004; accepted Nov. 28, 2004)

* Corresponding author