

人参、红参、西洋参3种配方颗粒的傅里叶变换红外光谱快速鉴别方法

范帅帅¹, 高 晗⁴, 田 伟^{1, 2, 3}, 彭新华⁴, 牛丽颖^{1, 2, 3*}

1. 河北中医学院, 河北 石家庄 050091
2. 河北省中药配方颗粒工程技术研究中心, 河北 石家庄 050091
3. 河北省高校中药配方颗粒应用技术研发中心, 河北 石家庄 050091
4. 神威药业集团有限公司, 河北 石家庄 051430

摘 要: 目的 建立人参、红参、西洋参3种配方颗粒的傅里叶变换红外光谱快速鉴别方法。方法 采用红外光谱及其二阶导数光谱、二维相关光谱, 分析不同配方颗粒的红外光谱特征。结果 傅里叶变换红外光谱能够从整体上反映化学成分的不同情况, 二阶导数光谱和二维相关光谱在800~1800 cm⁻¹能够对不同配方颗粒进行不同程度的区分, 二维相关光谱的区分效果明显。结论 通过综合比较傅里叶变换红外光谱、二阶导数光谱和二维相关光谱, 可以准确、快速鉴别人参、红参、西洋参3种配方颗粒。

关键词: 傅里叶红外光谱; 二阶导数光谱; 二维相关光谱; 人参; 红参; 西洋参; 配方颗粒

中图分类号: R917 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2018) 12-2242-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.12.020

Rapid Identification for 3 formula granules of Ginseng, Red Ginseng and American Ginseng by FT-IR

FAN Shuaishuai¹, GAO Han⁴, TIAN Wei^{1,2,3}, PENG Xinhua⁴, NIU Liying^{1,2,3}

1. Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China
2. Hebei TCM Formula Granule Engineering & Technology Research Center, Shijiazhuang 050091, China
3. TCM Formula Granule Research Center of Hebei Province University, Shijiazhuang 050091, China
4. Shineway Pharmaceutical Group Ltd., Shijiazhuang 051430, China

Abstract: Objective To establish a rapid FT-IR method for identifying 3 Formula Granules of Ginseng, Red Ginseng and American Ginseng. **Methods** FT-IR alongwith corresponding second derivative spectra and two-dimensional correlation spectra were applied to analyze different Formula Granules of Ginseng, Red Ginseng and American Ginseng. **Results** FT-IR holistically demonstrated the different chemical features. In the range of 800~1800 cm⁻¹, the second-derivative spectra and two-dimensional correlation spectra effectively distinguished different Formula Granules, between which the latter was superior. **Conclusion** By comprehensively comparing the FT-IR and corresponding second derivative spectra and two-dimensional correlation spectra, identification for 3 Formula Granules of Ginseng, Red Ginseng and American Ginseng could be realized rapidly and accurately.

Key words: FT-IR; second derivative spectra; two-dimensional correlation spectra; ginseng; red ginseng; american ginseng; formula granules

人参为五加科植物人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 的干燥根和根茎^[1]。具有大补元气、复脉固脱、补脾益肺、生津养血、安神益智等作用。多于秋季采挖,洗净经晒干或烘干。栽培的俗称“园参”;播

种在山林中并在野生状态下自然生长的称“林下山参”,习称“籽海”。其炮制品为人参、红参。西洋参为五加科植物西洋参 *Panax quinquefolium* L. 的干燥根^[1]。均系栽培品。秋季采挖,洗净,晒干或低温干

收稿日期: 2018-08-31

基金项目: 河北省中医药管理局科研计划项目(2017015)

第一作者: 范帅帅,男,在读研究生,研究方向为中药质量控制。Tel: (0311)89926890 E-mail: 2293007851@qq.com

*通信作者: 牛丽颖,女,教授,硕士生导师,研究方向为中药质量控制与中药药效物质基础研究。

Tel: (0311)89926548 E-mail: niuliygy@163.com.

燥。西洋参与人参为同科植物,且所含有效成分与人参基本一致,因此经炮制后的西洋参亦可入药,但在中药质量控制过程中需对人参、红参、西洋参的不同药材及炮制品进行区分。

人参、红参、西洋参的药材饮片经现代工艺加工均可制成中药配方颗粒,具有携带方便、服用与起效迅速、疗效确切等优点,但由于失去传统饮片外形,更加难以区别。如何准确区分经由不同药材饮片加工制成的配方颗粒,即研究快速鉴别出人参、红参、西洋参的不同配方颗粒的方法,对于中药质量控制、中药临床用药安全有着十分重要的意义。

红外光谱具有特征性强、取样量小、简便、迅速、准确等特点,各国药典都将红外光谱作为药物鉴别的重要方法^[2-3]。红外光谱能够从整体上反映中药的化学成分的情况,不仅如此,结合二阶导数光谱,更可以对差异细微的红外图谱进行鉴别^[4-5]。将红外光谱用于中药配方颗粒的研究已有报道,涉及较多的是质量标准研究及工艺研究^[6-7]。所用红外光谱主要在中红外区,亦有部分采用近红外区进行快速测定的研究工作^[8]。本研究拟采用傅里叶变换红外光谱技术建立快速鉴别中药配方颗粒的方法,具体而言,以人参、红参及西洋参3种配方颗粒为研究对象,在获得不同配方颗粒红外光谱的基础上,进一步采用二阶导数谱和二维相关光谱进行分析,通过分层次比较和分析不同的光谱图的异同,达到快速鉴别人参、红参、西洋参3种配方颗粒的目的,为配方颗粒临床用药提供质量保障。

1 材料与仪器

1.1 材料

样品为神威药业集团有限公司生产的人参配方颗粒(批号:1504213、1504213、1504214、1603212、1603214、1603215)、红参配方颗粒(批号:1502210、1502216、1502213、1605210、1605211、1605212)、西洋参配方颗粒(批号:1501233、1501234、1501235、1604211、1604212、1604216),经薄层色谱法鉴别及含量测定均符合药典规定。

1.2 仪器

红外光谱仪: Spectrum 100型傅里叶变换红外光谱仪(光谱范围为4 000~400 cm^{-1}), Perkin Elmer公司; DTGS检测器; 测定参数: 光谱分辨率4 cm^{-1} , 扫描次数16次, 扫描实时扣除空气中 H_2O 和 CO_2 的干扰。二维相关分析软件: TD2二维相关分析软件(清华大学)。

2 方法与结果

2.1 方法

2.1.1 傅里叶变换红外光谱 取样品粉末(过9号筛)约3 mg与200 mg溴化钾(120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥4 h)混合,置玛瑙研钵中研匀,加入压片模具内,用6~10 t压力进行压片,压片时间2~4 min,取出,测定。每个样品平行取样5次进行测定,求其平均光谱,再以9点平滑并通过纵坐标归一化处理,获得一维红外光谱图。

2.1.2 二阶导数光谱 采用Perkin Elmer公司的Spectrum软件中的求导功能,选择13点平滑,获得二阶导数光谱图。

2.1.3 二维相关光谱 将人参、红参、西洋参3种配方颗粒压片后,在室温状态下放置,间隔10~30 min测定红外光谱并进行基线校正,将获得的数量足够的红外光谱导入清华大学的TD4.2二维分析软件,即可获得二维相关红外光谱图,并可根据需要选取不同波数范围进行分析。

2.1.4 方法学考察 (1)精密度试验 取同一批颗粒,按2.1.1项下压片制样,连续测定6次,分别计算谱图与其平均谱图之间的相似度为0.990 7、0.990 4、0.989 8、0.996 6、0.998 5、0.994 6, $\text{RSD}=0.34\%$,表明仪器的精密度良好。

(2)重复性试验 取同一批颗粒,按2.1.1项下压片制样,平行测定6次,分别计算谱图与其平均谱图之间的相似度为0.993 1、0.989 4、0.990 3、0.988 0、0.982 6、0.979 6, $\text{RSD}=0.47\%$,表明方法的重复性良好。

2.2 结果

2.2.1 3种配方颗粒的红外光谱分析 从整体上看,不同配方颗粒的红外光谱有许多共同的特征,由于所用原料和工艺的不同,使化学成分也发生了一定的变化,不同样品的红外图谱虽然具有相似特征,但吸收峰的强度、位置等均存在差异性。3者红外光谱在3 300、2 900、1 630、1 400、1 150、1 020、520~930 cm^{-1} 附近波段吸收峰位置相似,但也均有各自特点。3 300 cm^{-1} 附近为O-H和N-H振动吸收峰的叠加,O-H峰主要来源于皂苷类化合物、有机酸、其他含羧基的化合物和聚炔醇,N-H峰主要来源于蛋白质、氨基酸和多肽;2 900 cm^{-1} 为 CH_2 的伸缩振动吸收峰,来源于挥发油中脂肪族化合物;1 630 cm^{-1} 和1 400 cm^{-1} 为苯环骨架的伸缩振动吸收峰,苯环主要来源于挥发油中的芳香族化合物;1 150 cm^{-1} 附近为C-OH的伸缩振动吸收,主要由多糖等含羟基的化合物产生;1 020 cm^{-1} 及576 cm^{-1} 附近为辅料

糊精的特征吸收峰。

红参配方颗粒在 2 323、2 337、1 150 cm^{-1} 处吸收峰强度较人参配方颗粒的弱,而在 2 050、1 240 cm^{-1} 处吸收峰强度较人参配方颗粒的强;人参配方颗粒

和西洋参配方颗粒特征峰位置基本相似,但在 2 337、2050、1240 cm^{-1} 处有差别,这说明虽然同种科别植物所含的化学成分很相似,但经过相同工艺制成的配方颗粒也有差异之处。见图1、表1。

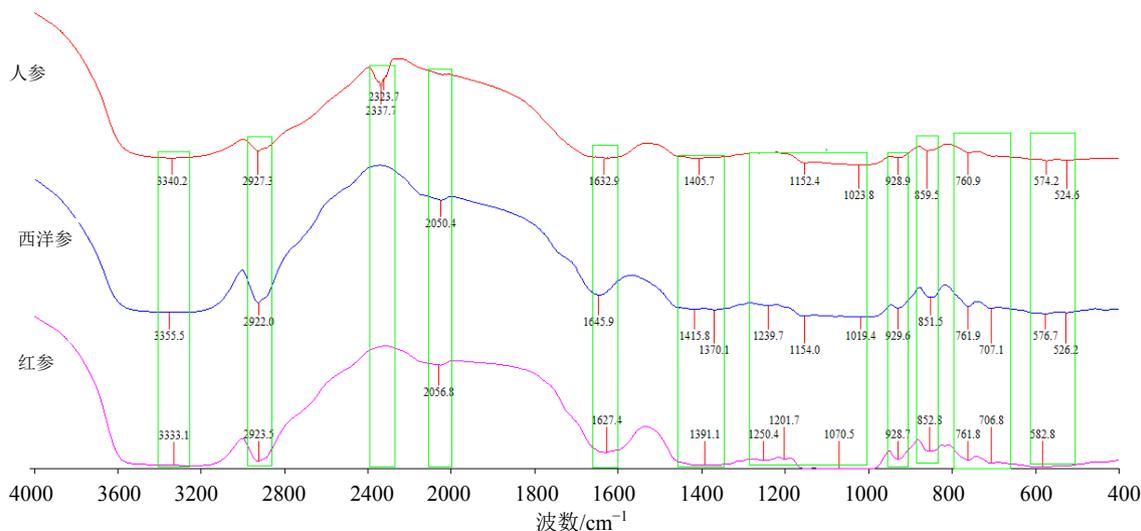


表1 3种配方颗粒傅里叶变换红外光谱的特征峰统计

Table 1 Statistics for FT-IR characteristic peaks of 3 Formula Granules

品种	特征峰/ cm^{-1}								
	3 300	2 900	2 337	2 050	1 630	1 400	1 240	1 150、1 020	520~930
红参	3 333.3	2 923.5	-	++	1 627.4	1 391.1	++	1 201、1 070	928.7、852.8、761.8、706.8、582.8
西洋参	3 355.5	2 922.0	-	++	1 645.9	1 415、1370	++	++	929.6、851.5、761.9、707.1、576.7、526.2
人参	3 340.2	2 927.3	++	-	1 632.9	1 405.7	-	++	928.9、859.5、760.9、574.2、524.6

*此处指特定波数处或者波数范围内附近的特征峰,下同
+此处指特定波数处或者波数范围内附近的特征峰吸收强,下同
-此处指特定波数处或者波数范围内附近的特征峰吸收弱,下同

2.2.2 3种配方颗粒的二阶导数光谱分析 因炮制方法和品种的不同,3种配方颗粒在特征谱区 800~1 800 cm^{-1} 的二阶导数光谱存在一定的差异,选取 800~1 800 cm^{-1} 范围,对三者进行宏观对比。在 1 020~1 200 cm^{-1} 的辅料图谱区,均有吸收,人参配方颗粒的图谱中的峰较西洋参配方颗粒、红参配方颗粒的峰数量多,在 1 182 cm^{-1} 处仅人参配方颗粒吸收峰强;相比人参配方颗粒,红参配方颗粒在 900 cm^{-1} 处吸收峰较强,在 826 cm^{-1} 处吸收峰较弱,说明人参经过炮制后,配方颗粒的成分有所变化,而西洋参与红参的图谱更为接近,相比人参和西洋参配方颗粒来说,红参在 826 cm^{-1} 处吸收峰明显减弱。详见图2、3、4和表2。

2.2.3 3种配方颗粒的二维相关光谱分析 广义二维相关谱,是将外部微扰作用到样品的光谱测试过

表2 3种配方颗粒二阶导数光谱的特征峰统计(800~1 200 cm^{-1})

Table 2 Statistics for characteristic peaks of second derivative spectra of 3 Formula Granules

品种	特征峰/ cm^{-1}					
	1 180	950	900	880	825	800
红参	-	950.5	+	877.4	-	++
西洋参	-	948.2	901.8	877.0	826.3	++
人参	1 182.7	950.5	902.5	879.5	827.2	805.0

程中,进而导致光谱信号随微扰的变化,其中外部微扰作用可以是任何形式,例如温度、浓度、样品成分等。二维相关红外光谱,是利用外部微扰获得样品的红外吸收光谱随微扰的动态变化,然后对随微扰变化的红外信号进行数学上的相关分析,产生二维相关红外光谱。在外部微扰存在时,在获得的一

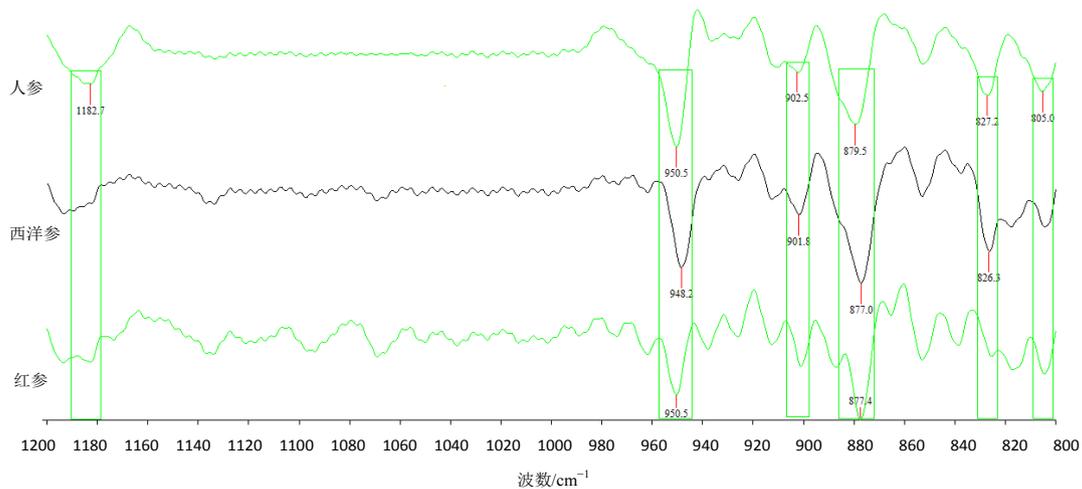


图2 3种配方颗粒二阶导数光谱(波数范围800~1200 cm⁻¹)

Fig. 2 Second derivative spectra of 3 Formula Granules in the range of 800—1200 cm⁻¹

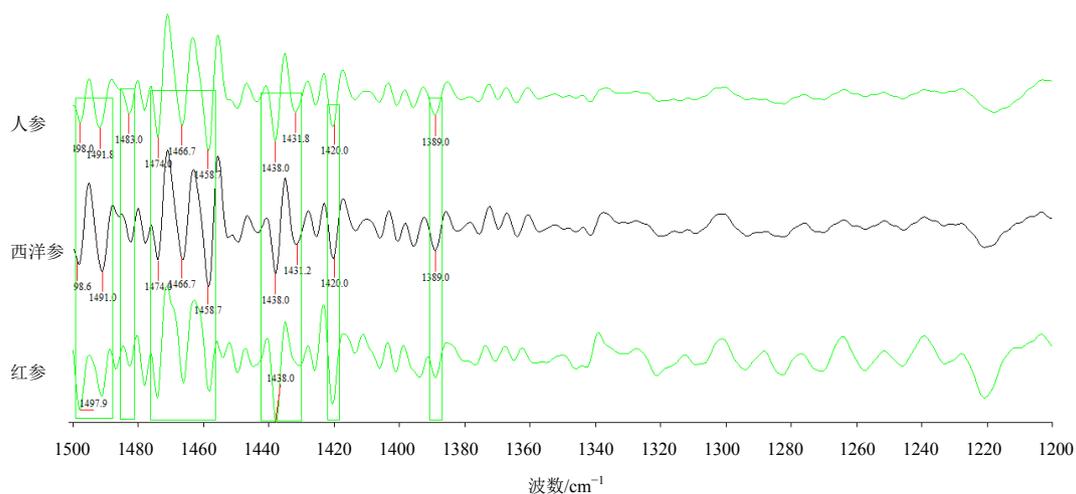


图3 3种配方颗粒二阶导数光谱(波数范围1200~1500 cm⁻¹)

Fig. 3 Second derivative spectra of 3 Formula Granules in the range of 1200—1500cm⁻¹

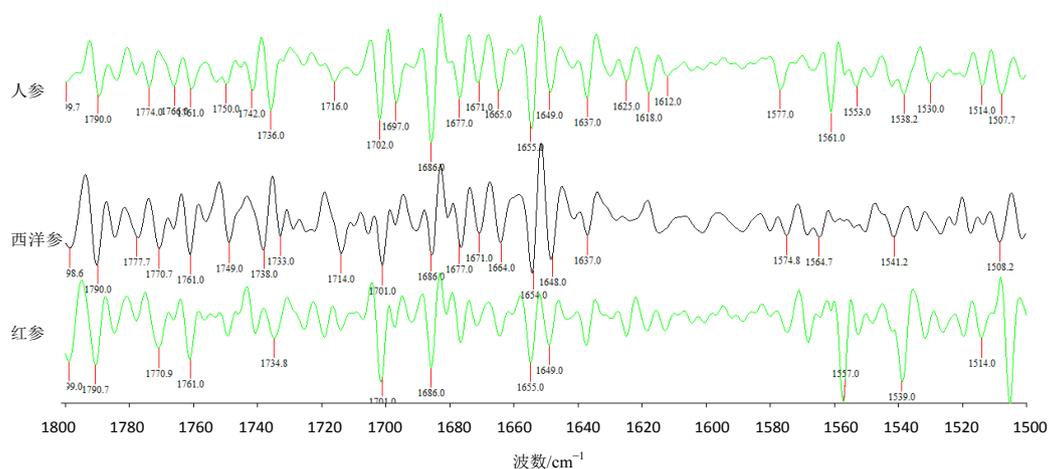


图4 3种配方颗粒二阶导数光谱(波数范围1500~1800 cm⁻¹)

Fig. 4 Second derivative spectra of 3 Formula Granules in the range of 1500—1800 cm⁻¹

系列红外光谱(即动态谱)中观察到的典型变化包括吸收强度的变化、吸收峰的位移等等。对动态谱进行数学处理,就可以获得基于红外光谱的二维相关光谱。

使用清华大学二维光谱分析软件,选取800~1800 cm^{-1} 波段范围,对3种配方颗粒进行二维相关红外图谱分析,本研究中仅采用同步二维相关光谱。见图5~7。左边为同步二维相关光谱的平面

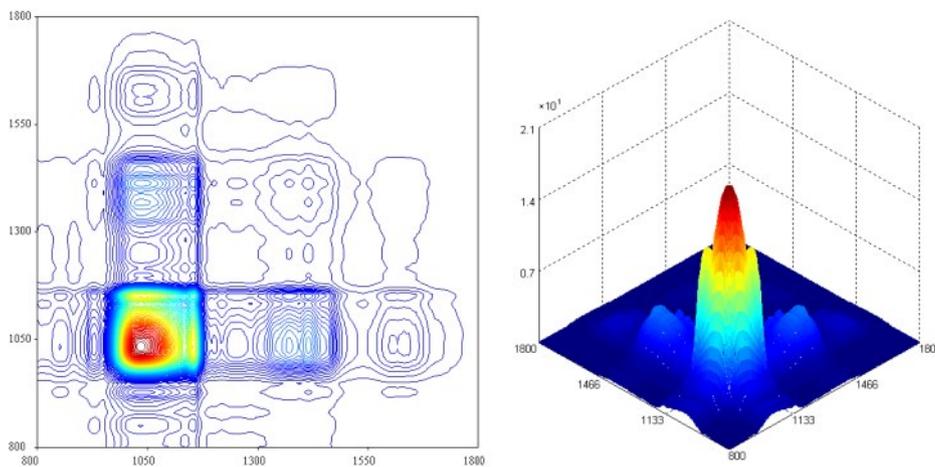


图5 红参配方颗粒二维相关光谱

Fig. 5 2D correlation IR of Red Ginseng Formula Granules

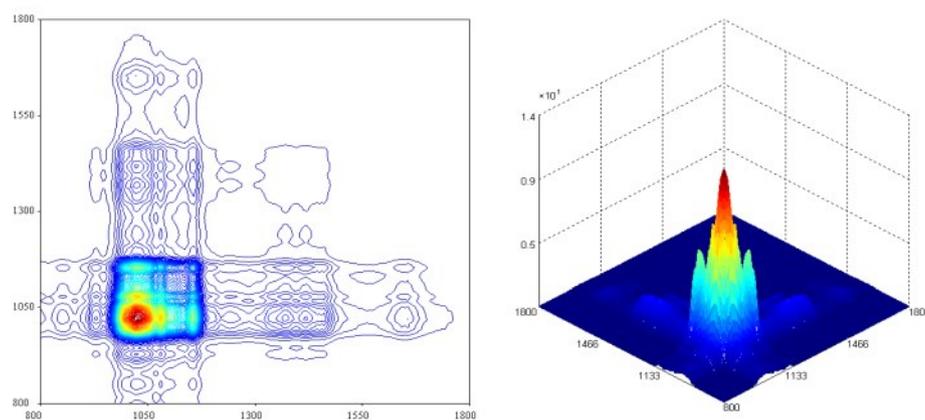


图6 西洋参配方颗粒二维相关光谱

Fig. 6 2D correlation IR of American ginseng Formula Granules

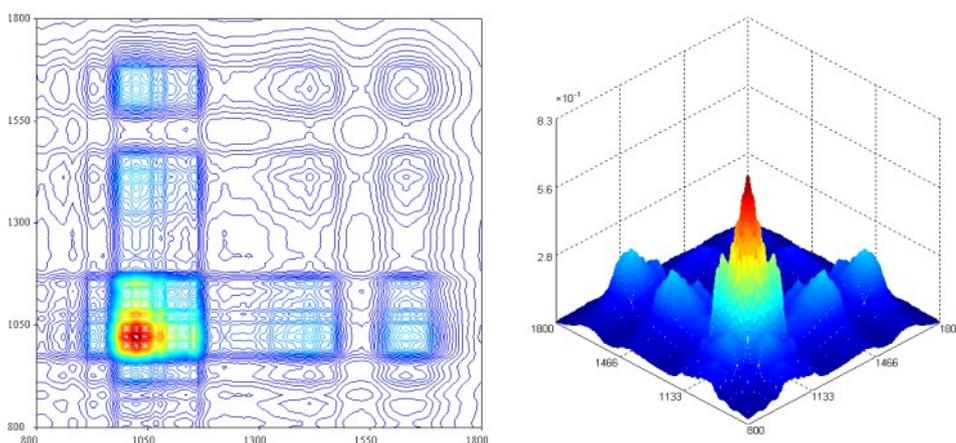


图7 人参配方颗粒二维光谱

Fig. 7 2D correlation IR of Ginseng Formula Granules

相关图,右边为对应的立体相关图。在平面相关图中,深色相关强度等高线为正相关峰,浅色相关强度等高线为负相关峰。同步相关峰代表以暴露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暴露时间的增加而产生的变化。3种配方颗粒的相关峰位置、强度有明显差别,见表3。

表3 3种配方颗粒相关峰统计

Table 3 Statistics for correlation peaks of 3 Formula Granules

品种	波数/cm ⁻¹
红参	1 035、1 137、1 151、1 413
西洋参	1 020、1 137、1 159、1 394
人参	1 024、1 135、1 221、1 415、1 524、1 628

3 讨论

用现代红外光谱技术对中药配方颗粒进行整体质量评价的优势在于①无损于样品,既不破坏单味药的整体性,又不破坏方剂的配伍性;②无化学处理,一方面大大减少了产生检测误差的原因,另一方面无污染、无腐蚀;③方法快速。利用红外光谱技术对中药进行无损快速检测,既能客观反映中药内在物质基础,又能在宏观上控制中药整体质量。

人参和红参同为五加科植物人参 *Panax ginseng* C.A.Mey. 的干燥根和根茎,其主要含有皂苷类、聚炔醇、蛋白质、挥发油、氨基酸、多糖、多肽、有机酸、维生素、微量元素等成分。经现代医学和药理研究证明,人参皂苷为人参的主要有效成分,是人参具有治疗作用的物质基础。在红外图谱上,其特征吸收容易受糖类成分的影响,因此红外光谱是人参各种成分的叠加。采用红外光谱宏观指纹分析技术对人参和红参配方颗粒进行了研究,两者具有明显的红外指纹特征,在 3 300、2 900、1 630、1 400、1 020、1 150 cm⁻¹ 处具有共同的吸收峰;在 2 323 cm⁻¹ 和 2 337 cm⁻¹ 处人参配方颗粒有强吸收峰,说明人参经过加工炮制后这些基团所代表的化学成分并不是很稳定,所含化学成分发生了一些复杂的变化;在 2 050 cm⁻¹ 和 1 240 cm⁻¹ 处红参具有强吸收峰,说明人参在加工炮制红参的过程中可能伴

有新物质的产生,为鉴别人参不同炮制品配方颗粒提供了一种简单、快速、有效的方法。

西洋参和人参虽然同为五加科植物,所含有效成分的种类基本一致,但是在红外图谱中也有显著的差异。在二阶导数光谱辅料区 1 182 cm⁻¹ 处人参配方颗粒吸收强度大;在二维相关光谱中人参配方颗粒在 1 524 cm⁻¹ 和 1 628 cm⁻¹ 处吸收峰明显强于西洋参配方颗粒,这对于建立快速鉴别同种科别植物提供了一种直观、快速的方法。

将红外光谱的“指纹性”用于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^[14]。

参考文献

- [1] 中国药典 [M]. 一部. 2015.
- [2] 李真,周立红,叶正良,等. 近红外光谱分析技术在药物质量分析中的应用进展 [J]. 药物评价研究, 2016(4): 686-692.
- [3] 张岳,罗文汇,孙冬梅. 红外光谱技术在中药配方颗粒中的研究进展 [J]. 中医药导报, 2014, 20(2): 99-101.
- [4] Liu H X, Sun S Q, Lv G H, et al. Study on Angelica and its different extracts by Fourier transform infrared spectroscopy and two-dimensional correlation IR spectroscopy [J]. Spectro Acta Part A, 2006(64): 321.
- [5] Yap K Y, Chan S Y, Lim C S. Authentication of traditional Chinese medicine using infrared spectroscopy: distinguishing between ginseng and its morphological fakes [J]. J Biomed Sci, 2007, 14(2): 265-273.
- [6] 陈琳. 炒王不留行配方颗粒制备工艺和质量标准的研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2013.
- [7] 林瑞东. 川芎配方颗粒生产工艺和质量标准的研究 [D]. 吉林: 吉林大学, 2015.
- [8] 马丹,顾志荣,甘玉伟,等. 唐古特大黄及其不同炮制品的近红外光谱分析 [J]. 中药材, 2015, 38(9): 1842-1845.
- [9] 罗林明,石雅宁,姜懿纳,等. 人参抗肿瘤作用的有效成分及其机制研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(3): 582-596.
- [10] 李真,周立红,叶正良,等. 红外光谱技术在中药质量控制中的应用进展 [J]. 药物评价研究, 2016(3): 463-468.
- [11] 司南,杨柳,王宏洁,等. 近红外光谱法鉴别怀地黄药材地道性的研究 [J]. 现代药物与临床, 2013, 28(4): 542-546.