

侧柏叶红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法

单鸣秋¹, 姚晓东¹, 池玉梅¹, 张丽¹, 丁安伟^{1, 2*}

1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

2. 江苏省方剂研究重点实验室, 江苏 南京 210046

摘要 利用共有峰率和变异峰率两个指标, 以不同侧柏叶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。分析结果显示, 产地相同或相近的 G1 与 G8 之间、G4 与 G2G6 之间有很高的共有峰率(均 $\geq 90.0\%$)和很低的变异峰率(均 $\leq 11.1\%$); 相近产地不同年份的 G10 与 G3G4、G5 之间共有峰率均 $< 50\%$ 、变异峰率均 $> 50\%$; 产地相距较远的 G2 与 G7 的共有峰率 $< 50\%$ 、变异峰率 $> 50\%$ 。该方法可以准确地区分不同产地、批次的侧柏叶。利用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法可以对两个或多个中药样品进行方便可靠的鉴别, 克服了多种中药鉴别方法只能进行真伪鉴别、产地鉴别的局限性, 为中药质量的准确评价提供了一种新方法。

关键词 侧柏叶; 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, R284.1 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)08-2092-04

引言

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。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。本研究利用多维共有峰率和变异峰率双指标序列法^[5, 6], 对不同产地、批次的侧柏叶药材红外指纹图谱进行分析, 结果表明该方法可以快速、较好地侧柏叶药材进行鉴别, 克服了多种中药鉴别方法只能进行真伪鉴别、产地鉴别的局限性, 为中药质量的准确评价提供了一种新的方法。

1 实验部分

1.1 仪器设备和参数设置

Nicolet IR100 型傅里叶变换红外光谱仪, 光谱范围

4 000~400 cm^{-1} , 分辨率 4 cm^{-1} , 扫描累加次数 16 次, 扫描时扣除 H_2O 和 CO_2 的干扰。

1.2 样品来源和制备

共收集不同产地不同批次的侧柏叶 10 批, 具体产地、批号、购买来源等信息详见表 1。将侧柏叶粉碎, 过 100 目筛, 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。

Table 1 Informations of *Cacumen platycladi*

样品	产地	批号	购买来源
G1	浙江	20061116	浙江青田刘大平中草药店
G2	河南	20071212	河南辉县
G3	江苏	20070711	安徽亳州永刚饮片厂
G4	山东	2006100703	上海敬辉堂大药房
G5	四川	20061101	上海同济堂药业有限公司
G6	河北	20060827	老百姓大药房
G7	广西	20070201	江西药都樟树中药饮片有限公司
G8	浙江	20060823	嘉兴凤桥镇新管社区协康药店
G9	湖北	20050801	湖北独活大药房
G10	河北	20031112	安徽亳州永刚饮片厂

收稿日期: 2008-05-22, 修订日期: 2008-08-28

基金项目: 国家“十一五”科技攻关项目(2006BAI09B06-02)资助

作者简介: 单鸣秋, 1978 年生, 南京中医药大学讲师 e-mail: shanmingqiu@163.com

* 通讯联系人 e-mail: awding105@163.com

2 结果与讨论

2.1 侧柏叶红外指纹图谱及数据

将 10 批侧柏叶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 2。

Table 2 Wavenumbers and common peaks of fingerprint of *Cacumen platycladi*

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数/cm ⁻¹			
G1	3 332.28			2 921.39
G2	3 336.65			2 921.82
G3	3 414.50			2 921.12
G4	3 334.63			2 921.43
G5	3 334.59			2 921.59
G6	3 333.06			2 920.86
G7		3 287.86		2 921.75
G8	3 339.91			2 921.15
G9	3 337.27			2 920.93
G10	3 670.51		3 176.18	2 921.13
G1	1 618.75	1 444.38		1 317.20
G2	1 618.62	1 444.61	1 374.19	1 317.82
G3	2 851.55	1 618.34	1 444.32	1 317.41
G4	1 616.47	1 445.22	1 373.28	1 317.49
G5	1 616.51	1 444.98		1 317.45
G6	2 358.72	1 616.27	1 446.40	1 372.81
G7	2 362.03	1 613.48	1 445.41	1 317.07
G8		1 619.28	1 445.61	1 317.44
G9	2 357.22	1 617.15	1 446.19	1 317.39
G10	2 360.02	1 610.07	1 447.37	1 317.58
G1	1 036.45	779.41		518.61
G2	1 053.21	779.74	659.47	520.04
G3	1 051.04	779.46		518.85
G4	1 052.36	779.08		518.74
G5	1 049.63	779.31		518.63
G6	1 051.99	779.22		517.87
G7	1 031.43	778.63		519.82
G8	1 033.73	779.02		517.86
G9	1 033.62	779.00		518.06
G10	1 032.38	779.50	666.19	516.38

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 1 618.75 和 1 444.38 cm⁻¹ 对应的两组峰, 1 618.75 cm⁻¹ 对应的一组峰的平均波数为 1 616.49 cm⁻¹, 组内最大波数差是 9.21 cm⁻¹, 邻近的前后两组峰的差分别是 743.00 和 171.05 cm⁻¹, 两个值明显大于 9.21 cm⁻¹, 故可确认 1618.75 cm⁻¹ 对应的一组峰是共有峰。同样 1 444.38 cm⁻¹ 对应的一组峰的平均波数是 1 445.45 cm⁻¹, 前后相邻组峰的平均波数值的差分别是 171.05 和 72.02 cm⁻¹, 明显大于组内最大波数

差 3.05 cm⁻¹, 故可判断该组峰也是共有峰。

2.2 侧柏叶红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列

2.2.1 共性鉴别指标

(1) 共有峰率 $P = (\text{共有峰数 } N_g / \text{两个 IR 图中的独立峰数 } N_d) \times 100\%$

(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: 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 : 相互比较的两个 IR 图中的独立峰总数。 $N_d = N_g + n_a + n_b$

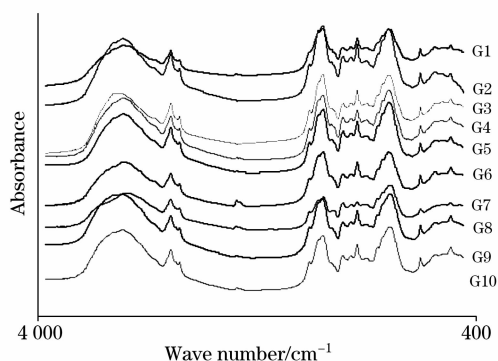


Fig. 1 Fingerprint of *Cacumen platycladi* from different areas

2.2.2 变异鉴别指标

变异峰率 P_v 为一个 IR 指纹图谱中相对于共有峰的变异峰数与其共有峰数的比值。

P_{va} 是指纹图谱 a 的变异峰率, $P_{va} = (n_a / N_g) \times 100\%$ 。

P_{vb} 是指纹图谱 b 的变异峰率, $P_{vb} = (n_b / N_g) \times 100\%$ 。

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。

2.2.3 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他样品的远近关系。在本实验中, 10 个样品为参照点建立的 10 个共有峰率和变异峰率双指标序列, 形成 10 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 : 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。

10 个侧柏叶样品的双指标序列如下。

- G1: G2G6(63.6; 14.3, 42.9), G3(54.5; 33.3, 50.0), G4G7(70.0; 14.3, 28.6), G5(77.8; 14.3, 14.3), G8(100.0; 0.0, 0.0), G9(88.9; 0.0, 12.5), G10(63.6; 0.0, 57.1);
- G2: G1G8(63.6; 42.9, 14.3), G3G9(58.3; 42.9, 28.6), G4(90.0; 11.1, 0.0), G5(80.0; 25.0, 0.0), G6(81.8; 11.1, 11.1), G7(46.2; 66.7, 50.0), G10(50.0; 42.9, 57.1);
- G3: G1G8(54.5; 50.0, 33.3), G2G6(58.3; 28.6, 42.9), G4(63.6; 28.6, 28.6), G5(70.0; 28.6, 14.3), G7G9(50.0; 50.0, 50.0), G10(42.9; 50.0, 83.3);
- G4: G1G8(70.0; 28.6, 14.3), G2G6(90.0; 0.0, 11.1), G3G9(63.6; 28.6, 28.6), G5(88.9; 12.5, 0.0), G7(50.0; 50.0, 50.0), G10(42.9; 50.0, 83.3);
- G5: G1G8(77.8; 14.3, 14.3), G2G6(80.0; 0.0, 25.0), G3G9(70.0; 14.3, 28.6), G4(88.9; 0.0, 12.5), G7(54.5; 33.3, 50.0), G10(46.2; 33.3, 83.3);
- G6: G1G8(63.6; 42.9, 14.3), G2(81.8; 11.1, 11.1), G3G7(58.3; 42.9, 28.6), G4(90.0; 11.1, 0.0), G5(80.0; 25.0, 0.0), G9(72.7; 25.0, 12.5), G10(50.0; 42.9, 57.1);
- G7: G1G8(70.0; 28.6, 14.3), G2(46.2; 50.0, 66.7), G3G4(50.0; 50.0, 50.0), G5(54.5; 50.0, 33.3), G6(58.3; 28.6, 42.9), G9(80.0; 12.5, 12.5), G10(66.7; 12.5, 37.5);
- G8: G1(100.0; 0.0, 0.0), G2G6(63.6; 14.3, 42.9), G3(54.5; 33.3, 50.0), G4G7(70.0; 14.3, 28.6), G5(77.8; 14.3, 14.3), G9(88.9; 0.0, 12.5), G10(58.3; 14.3, 57.1);
- G9: G1G8(88.9; 12.5, 0.0), G2(58.3; 28.6, 42.9), G3(50.0; 50.0, 50.0), G4(63.6; 28.6, 28.6), G5(70.0; 28.6, 14.3), G6(72.7; 12.5, 25.0), G7(80.0; 12.5, 12.5), G10(66.7; 12.5, 37.5);
- G10: G1(63.6; 57.1, 0.0), G2G6(50.0; 57.1, 42.9), G3G4(42.9; 83.3, 50.0), G5(46.2; 83.3, 33.3), G7G9(66.7; 37.5, 12.5), G8(58.3; 57.1, 14.3)。

* G1: G3(54.5; 33.3, 50.0)表示该序列以 G1 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 G1 和 G3 的共有峰率为 54.5, 其中 G1 的变异峰率为 33.3, G3 的变异峰率为 50.0。G4: G3G9(63.6; 28.6, 28.6)表示 G3G9 与 G4 的共有峰率相等, 为 63.6, G3G9 与 G1 具有相同的变异峰率 28.6。

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。

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, 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 G9: G2(58.3; 28.6, 42.9), G5(70.0; 28.6, 14.3), G9 与 G2G5 具有相同的变异峰率, 但 G9 和 G2 与 G5 的共有峰率不同, 分别是 58.3 与 70.0, 可以做出更好地区分。G10: G2G6(50.0; 57.1, 42.9)中 G2G6 与 G10 具有相同的共有峰率及变异峰率, 说明 G2G6 二者相对于 G10 非常相似。

2.3 基本关系组、对及分析

A 组: G1: G8(100.0; 0.0, 0.0); G4: G2G6(90.0; 0.0, 11.1);

B 组: G10: G3G4(42.9; 83.3, 50.0), G5(46.2; 83.3, 33.3); G2: G7(46.2; 66.7, 50.0)。

在 A 组中, G1 与 G8 之间、G4 与 G2G6 之间有很高的共有峰率和很低的变异峰率。G1 与 G8 产地相同, 而且批号反映的采收时间非常接近; G2、G4 与 G6 产地分别为河南、山东、河北, 地理位置接近, 气候、生长环境近似, 而且批号反映的采收时间比较接近。

在 B 组中, G10 与 G3G4、G5 之间、G2 与 G7 的共有峰率较低, 变异峰率较高。G10 批号反映的采收时间为 2003 年, 存放时间较长, 与其他批次药材采收时间相距较远, 所以差异较大; G2 产地为河南, G7 产地为广西, 气候、生长环境差异很大, 因此造成二者共有峰率较低, 变异峰率较高。

由上述分析可知, 产地相同或比较接近的药材之间共有峰率较高, 相似度较高; 而产地、气候、生长环境相差较大或采收存放时间相差较大的药材之间变异峰率较高, 差异较大。这些分析正确地反映了实际情况。

3 结 论

中药质量控制研究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。多维共有峰率和变异峰率双指标序列指纹图谱分析法, 一改单纯借用其他领域发展的, 用于分析大样本之间关系的数理统计分析方法, 根据中药材自身特点创立了一种符合中药自身规律的指纹分析法, 可以在 $2+n(n$: 分析的样品数目) 维空间中考察不同中药样品之间的相互关系, 并可用数量将这些关系精确地表示出来。该方法具有快速、简便等特点, 有望成为药材快速鉴别的新方法。

参 考 文 献

- [1] XU Yong-qun, SUN Su-qin, 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-qin, 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] 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.
- [6] 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 Cacumen Platycladi with Dual-Index Sequence Analysis

SHAN Ming-qiu¹, YAO Xiao-dong¹, CHI Yu-mei¹, ZHANG Li¹, DING An-wei^{1, 2*}

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Key Laboratory for Modern Research of Traditional Chinese Medical Formulae of Jiangsu, Nanjing 210046, China

Abstract To establish a new method to analyze IR fingerprint, which is in line with the characteristic of traditional Chinese medicine, two indexes, common peak ratio and variant peak ratio, were applied and their values were calculated by means of sequential analysis, in which each Cacumen platycladi sample's IR fingerprint spectra were set up and the common peak ratio sequences were arranged in the order of size in comparison with other samples. The analytical results showed that samples G1 and G8 from the same region, and G4, G2 and G6 from the closer regions were the most similar samples with higher common peak ratio ($\geq 90.0\%$) and lower variant peak ratio ($\leq 11.1\%$). However, the samples G10, G3, G4 and G5 from the closer regions collected in different years, and G2 and G7 from the farther regions, were of significant disparity with common peak ratio less than 50% and variant peak ratio larger than 50%. As a result, the method could be used to distinguish Cacumen platycladi of different areas and batches. The dual index sequential analysis enables us to distinguish two or more herb's IR fingerprints, is a new method to analyze IR fingerprint spectra, and can be used in line with the characteristics of traditional Chinese medicine.

Keywords Cacumen platycladi; IR fingerprint; Common peak ratio; Variant peak ratio; Dual index; Sequential analysis

(Received May 22, 2008; accepted Aug. 28, 2008)

* Corresponding author