

ATR-FTIR 技术在进口血竭掺伪鉴别中的应用

李 梦 刘 杰 吕晓娜 李红霞 杨瑶琨 王文祎

(北京中医药大学中药学院, 北京, 100102)

摘要 目的:利用傅里叶变换衰减全反射红外光谱技术(ATR-FTIR)对进口血竭中的掺伪物质进行快速鉴别。方法:根据进口血竭与松香、达玛树脂、国产血竭对照药材的红外光谱对比图来对进口血竭中的掺伪物质进行快速鉴别。结果:27批进口加工血竭中有13批掺入了松香,3批掺入了达玛树脂,4批为国产血竭冒充,严重影响了进口血竭的质量。结论:傅里叶变换衰减全反射红外光谱技术操作快速简便,适合中药的快速鉴别。

关键词 进口血竭;傅里叶变换衰减全反射红外光谱技术;掺伪物质鉴别。

ATR-FTIR Technique in Identification of Adulteration in Imported Draconis

Li Meng, Liu Jie, Lyu Xiaona, Li Hongxia, Yang Yaojun, Wang Wenyi

(School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract Objective: Fourier transform attenuated total reflection infrared spectroscopy (ATR-FTIR) was applied for a quick identification of adulteration in imported draconis. **Methods:** The FTIR figures of imported dracosin, darma resin and Chinese dracosin were contrasted to quickly identify the adulteration in all the materials. **Results:** Rosin was mixed in 13 batches in all the 27 batches of imported draconis, resin in 3 batches and Chinese draconis was substituted in 4 batches. These seriously affected the quality of the imported draconis. **Conclusion:** Fourier transform attenuated total reflection infrared spectroscopy is easy and convenient for operation and is suitable for quick identification of traditional Chinese medicine (TCM).

Key Words Imported draconis; Attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy (ATR-FTIR); Adulteration identification

中图分类号:R282.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.10.051

血竭,习称“进口血竭”,为棕榈科植物麒麟竭 *Daemonoropsdraco* Bl. 果实中渗出的树脂经加工制成^[1]。为贵重药材,具有活血化瘀、消肿止痛、收敛止血、补血等功效。龙血竭,习称“国产血竭”,为百合科植物剑叶龙血树^[2] *Dracaena cochinchensis* (Lour) S. C. Chen 含脂木材经提取得到的树脂,其功效与进口血竭相似。进口血竭价格昂贵,与国产血竭价格相差甚远,均掺伪严重。本实验应用傅里叶变换衰减全反射红外光谱技术(ATR-FTIR)对27批进口血竭中的掺伪物质进行鉴别,以实现进口血竭的快速鉴别,并与高效液相色谱法测出的结果相对比,以使ATR-FTIR 鉴定得到的结果更具有说服力。

1 ATR-FTIR 对进口血竭掺伪物质鉴别

1.1 仪器及检测条件 仪器:Thermo Nicolet 红外光谱仪,红外光谱仪衰减全反射附件,DTGS 检测器,ATR 附件检测范围:4000~650.0 cm^{-1} ,光谱分辨率

4 cm^{-1} ,扫描信号累加16次。

1.2 样品及制备 进口血竭样本27批,编号为J1-J27。国产血竭样本46批,编号为G1-G46。样本采集自河北安国、安徽亳州、桂林、哈尔滨、河南等地。将收集好的样品粉碎,过4号筛,置干燥器中。

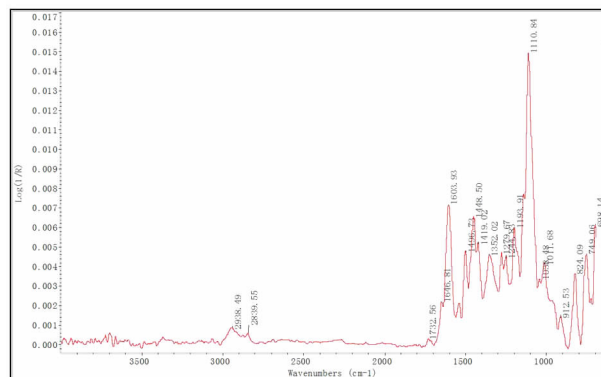


图1 进口血竭的红外光谱图

基金项目:北京中医药大学“重点学科”开发课题(编号:2013-2DXKKF-21)

作者简介:李梦(1992.05—),女,本科,硕士研究生在读,中药鉴定与质量研究,E-mail:Limeng0642@163.com

通信作者:杨瑶琨(1969.05—),女,博士研究生,教授,中药鉴定与质量研究,E-mail:Yangyaoj002@sina.com

1.3 仪器稳定性考察 以国产血竭 G1 为例。对样品粉末连续扫描 5 次,对所得到的谱图进行相似度比较,其相关系数为 0.999 9,结果表明,仪器具有良好的稳定性和精密度。

1.4 样品重现性考察 以国产血竭 G1 为例。对样品粉末重复扫描 5 次,对所得到的谱图进行相似度比较,其相关系数为 0.998 0~0.999 9,结果表明,样品重现性良好,符合实验要求。

1.5 ATR-FTIR 测定 在采集数据前,按仪器测试要求将金刚石 ATR 附件水平放置于 FTIR 仪的样品仓中。将上述样品粉末置于金刚石与校正压力装置之间的凹槽内,每次所用机械校正压力保持不变,分别对各样品进行 ATR-FTIR 测定。每个样品测定前

均对背景进行扫描。

1.6 数据分析 采用 OMNIC 操作软件对样品进行数据采集和图谱预处理,预处理包括基线校正和平滑处理。

1.6.1 进口血竭的标准红外光谱图 以进口血竭对照药材为例,扫描红外光谱,得到进口血竭的标准光谱图。见图 1。

1.6.2 进口血竭掺伪物质鉴别 分别对 27 批次进口血竭与松香、达玛树脂、国产血竭对照药材用傅里叶-衰减全反射红外光谱仪进行扫描,得到其红外光谱图,通过对比红外图谱中的特征峰,可以鉴别进口血竭中是否掺入了松香、达玛树脂以及国产血竭。通过对比红外光谱分析图,可得到掺伪情况表。见表 1。

表 1 进口血竭掺伪情况表

样品	是否掺入松香	特征峰 (cm ⁻¹)	是否有达玛树脂	特征峰 (cm ⁻¹)	是否掺入国产血竭	特征峰 (cm ⁻¹)
J1	否	—	否	—	否	—
J2	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J3	否	—	否	—	否	—
J4	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J5	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J6	否	—	否	—	是	3362.21
J7	否	—	否	—	是	3362.21
J8	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J9	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J10	否	—	是	1727.30,1692.36,1231.43,783.9	否	—
J11	否	—	否	—	否	—
J12	否	—	否	—	否	—
J13	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J14	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J15	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J16	是	—	否	—	否	—
J17	否	—	否	—	否	—
J18	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J19	是	—	否	—	否	—
J20	否	—	否	—	否	—
J21	否	—	否	—	是	3362.21
J22	否	—	否	—	是	3362.21
J23	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J24	是	786.58,893.77	否	—	否	—
J26	否	—	是	1727.3,1692.3,1231.4,783.9	否	—
J27	否	—	是	1727.3,1692.3,1231.4,783.9	否	—

2 高效液相色谱法对进口血竭掺伪物质鉴别

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器 Waters 高效液相色谱仪;色谱柱:Agilent TC-C₁₈(250 mm×4.6 mm,5 μm);Sartorius BP110S 分析天平(北京赛多利斯仪器有限公司);KQ5200E 超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司);铜冲。

2.1.2 试剂 甲醇(Fisher 公司,色谱纯);屈臣氏蒸馏水;乙腈(Fisher 公司,色谱纯);龙血素 A 对照品(批号为 111660-200402,中国食品药品检定研究院);龙血素 B 对照品(批号为 111558-201006,中国食品药品检定研究院);冰醋酸(分析纯);血竭素高氯酸盐对照品(批号为 110811-201105,中国食品药品检定研究院)。

2.2 进口血竭中血竭素含量的测定

2.2.1 色谱条件与系统适用性试验 按 2015 年版《中华人民共和国药典》方法中的规定,填充剂为十八烷基硅烷键合硅胶,乙腈-0.05 mol/L 磷酸二氢钠按 50:50 的比例为流动相;以 440 nm 作为检测波长;柱温控制在 40 ℃。计算得到的理论板数按血竭素峰应不低于 4 000。

2.2.2 血竭素高氯酸盐对照品溶液的制备 按 2015 年版《中华人民共和国药典》方法中的规定,精密称取进口血竭的血竭素高氯酸盐对照品 9 mg,放置于 50 mL 棕色量瓶中,加入 3% 的磷酸甲醇溶液使之溶解,并稀释至刻度,待充分摇匀后再精密量取 1 mL 溶液置 5 mL 棕色量瓶中,加入甲醇试剂至刻度,摇匀,即得每 1 mL 中含血竭素 26 μg 的血竭素高氯酸盐对照品。

2.2.3 供试品溶液的制备 按 2015 年版《中华人民共和国药典》方法中的规定,取进口血竭样品适量,研磨成细粉,精密称取 0.05 ~ 0.15 g,放置于具塞试管中,再加入精密量取的 10 mL 3% 磷酸甲醇溶液,密塞后振摇 3 min,滤过,精密量取 1 mL 续滤液,放置于 5 mL 棕色量瓶中,加入甲醇试剂至刻度,摇匀,即得。分别精密吸取供试品溶液与对照品溶液各 10 μL,将其注入到液相色谱仪,测定,即得。测得的样品含量如表 2 所示。

表 2 高效液相色谱法测得血竭素含量

样品	含量(%)	样品	含量(%)
J1	4.374	J15	1.877
J2	2.395	J16	1.859
J3	1.871	J17	1.903
J4	1.891	J18	1.980
J5	0.005	J19	0.006
J6	-	J20	0.007
J7	-	J21	-
J8	0.168	J22	-
J9	0.187	J23	0.112
J10	0.003	J24	0.148
J11	4.684	J26	0.003
J12	4.717	J27	0.004
J13	2.536	JD	1.339
J14	2.454		

3 讨论

采用傅里叶-衰减全反射红外光谱法,得到中红外光谱图。1 689.68 cm⁻¹ 峰、784.53 cm⁻¹ 峰、891.44 cm⁻¹ 峰,为松香特征峰,以此来鉴别进口加工血竭;峰 1 727.20 cm⁻¹、1 692.36 cm⁻¹、1 231.43 cm⁻¹、783.9 cm⁻¹、714.22 cm⁻¹ 为达玛树脂特征峰,

以此来鉴别进口加工血竭的辅料是否为达玛树脂;3362.21 cm⁻¹ 峰为鉴别进口血竭、国产血竭的特征峰。

通过对比进口血竭、国产血竭、松香、达玛树脂的中红外光谱图,得出样品 J2、J4、J5、J8、J9、J13、J14、J15、J16、J17、J18、J19、J23、J24 光谱图中出现了松香的特征峰,分别为 1 689.68 cm⁻¹ 峰(强峰)、784.53 cm⁻¹ 峰、891.44 cm⁻¹ 峰,故此 14 批样品中掺入了松香。

样品 J10、J26、J27 加入的辅料为达玛树脂。因其红外光谱图中有达玛树脂特征峰 1 727.20 cm⁻¹、1 692.36 cm⁻¹、1 231.43 cm⁻¹、783.9 cm⁻¹、714.22 cm⁻¹,因此推断此 3 批样品为加入达玛树脂的进口加工血竭。

对比中红外图谱还发现样品 J6、J7、J21、J22,4 批进口血竭经扫描,得出国产血竭的中红外光谱图,该 4 批样品实际为国产血竭,而且高效液相色谱法在 J6、J7、J21、J22 均未检测出血竭素含量,即表明样品并非进口加工血竭,傅里叶-衰减全反射红外光谱法和高效液相色谱法测定的结果相互印证了结论的可靠性,能快速鉴定出进口血竭中掺入国产血竭的现象。

从以上结果可以看出市场上流通的进口血竭掺伪非常严重,严重影响了血竭质量。同时也证明了傅里叶变换衰减全反射红外光谱技术可以对进口血竭中的掺伪物质进行快速鉴别,有一定实际应用,值得在中药领域推广应用。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:141.

[2] 刘安,李爱新,李虹. 中药血竭的临床应用概述[J]. 中国实用医药,2014(1):262-263.

[3] 曾令榜,张金平. 传统中药材龙血竭药性药理及临床应用探讨[J]. 亚太传统医药,2014,10(3):43-44.

[4] 曾正. 试析国产血竭研究近况[J]. 中国药房,1992,3(1):48-49.

[5] 商国懋,王文颖. 血竭的来源与生产加工[J]. 首都医药,2014,21(11):45.

[6] 徐红英,张晓燕. 中药血竭研究进展[J]. 中医药学报,2011,1(4):101-103.

[7] 刘文杰. 铁皮石斛的红外光谱定性定量研究[D]. 北京:北京中医药大学,2014.

[8] 陆玮,梁艺坚,潘彬,等. HPLC 测定新舒通胶囊中血竭素与亚油酸含量[J]. 中国药师,2015,18(9):1601-1602.

[9] 黄红英,尹齐和. 傅里叶变换衰减全反射红外光谱法(ATR-FT-IR)的原理与应用进展[J]. 中山大学研究生学刊:自然科学. 医学版,2011,13(1):20-31.

(下接第 2129 页)

- [6] 金延明, 李胜华, 楼之岑. 大蓟与小蓟品种的本草考证[J]. 中药材, 1995, 18(3): 152-154.
- [7] 吴蜀星, 李治昊, 宋良科, 等. 大蓟的基源调查与鉴定[J]. 现代中药研究与实践, 2013, 27(1): 21-23.
- [8] 金延明, 李胜华, 楼之岑. 中药大蓟和小蓟植物资源调查[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(12): 710-711.
- [9] 陈士林, 庞晓慧, 姚辉, 等. 中药 DNA 条形码鉴定体系及研究方向[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2011, 13(5): 747-754.
- [10] Chen S L, Yao H, Han J P, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plants species [J]. PLoS ONE, 2010, 5(1): e8613.
- [11] 陈士林, 姚辉, 韩建萍, 等. 中药材 DNA 条形码分子鉴定指导原则[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 141.
- [12] 郭力城, 胡志刚, 涂媛, 等. 基于 ITS2 序列鉴定中药材金沸草、旋覆花及其近缘混伪品[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(2): 307-312.
- [13] 辛天怡, 姚辉, 罗焜, 等. 羌活药材 ITS/ITS2 条形码鉴定及其稳定性与准确性研究[J]. 药学报, 2012, 47(8): 1098-1105.
- [14] 熊超, 周红, 贺海波, 等. 基于 ITS2 序列鉴定谷物芽类药材及其混伪品[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(11): 2343-2348.
- [15] 明孟璩, 张超, 严绪华, 等. ITS2 序列鉴定十大功劳属药用植物[J]. 中国现代中药, 2015, 17(10): 993-1003.
- [16] 魏蒙, 邹兰, 涂媛, 等. 基于 ITS2 序列鉴别牡丹皮药材及其混伪品[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(12): 2180-2183.
- [17] Han, J. et al. An authenticity survey of herbal medicines from markets in China using DNA barcoding[J]. Sci. Rep. 2016, 6, 18723.
- [18] Kelch D G, Baldwin B G. Phylogeny and ecological radiation of New World thistles (Cirsium, Cardueae-Compositae) based on ITS and ETS rDNA sequence data[J]. Mol Ecol, 2003, 12(1): 141-151.
- [19] Choi Y J, Thines M. Host Jumps and Radiation, Not Co-Divergence Drives Diversification of Obligate Pathogens. A Case Study in Downy Mildews and Asteraceae[J]. PLoS ONE, 2015, 10(7): E0133655.
- [20] Boto Slotta T A, Horvath D P, Foley M E. Phylogeny of Cirsium spp. In North America: Implications for Biological Control [J]. Plants, 2012, 1(2): 61-73.
- [21] Chen S, Yao H, Han J, et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species [J]. PLoS ONE, 2010, 5(1): E8613.
- [22] Gao T, Yao H, Song J, et al. Evaluating the feasibility of using candidate DNA barcodes in discriminating species of the large Asteraceae family[J]. BMC Evol Biol, 2010, 10: 324.
- [23] Kim S C, Crawford D J, Francisco-Ortega J, et al. A common origin for woody Sonchus and five related genera in the Macaronesian islands: molecular evidence for extensive radiation [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93(15): 7743-7748.
- [24] Kim S C, Chunghee L, Mejias J A. Phylogenetic analysis of chloroplast DNA matK gene and ITS of nrDNA sequences reveals polyphyly of the genus Sonchus and new relationships among the subtribe Sonchinae (Asteraceae: Cichorieae) [J]. Mol Phylogenet Evol, 2007, 44(2): 578-597.
- [25] keller A, Schleicher T, Schultz J, et al. 5. 8S-28S rRNA interaction and HMM-based ITS2 annotation [J]. Gene, 2009, 430(1/2): 50-57.

(2016-04-12 收稿 责任编辑: 洪志强)

(上接第 2125 页)

- [10] 蒋淑云, 李红, 蒋孟良, 等. 七厘散凝胶剂中血竭素含量的 HPLC 测定[J]. 中国药师, 2016, 19(3): 589-591.
- [11] 邵艳秋, 杜昌文, 申亚珍, 等. 基于中红外衰减全反射光谱的氮同位素标记硝态氮的快速测定[J]. 分析化学, 2014, 16(5): 745-752.
- [12] 秦建平, 李家春, 吴建雄, 等. 基于 UPLC 结合化学计量学方法的龙血竭指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(6): 1114-1118.
- [13] 易珍奎. 傅里叶变换近红外漫反射光谱法结合化学计量学技术高通量分析草麻黄药材的方法学研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2012.
- [14] 王钢力, 聂黎行, 张继, 等. 应用近红外光谱技术鉴别红参药材[J]. 中草药, 2008, 39(3): 438-440.
- [15] 吴利敏. 近红外光谱法快速检测某些中药及中成药品质的应用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [16] 王宁, 武卫红. 近红外光谱技术在中药分析领域中的应用[J]. 山东中医药大学学报, 2007, 7(4): 350-353.
- [17] 邱雁. 漫反射光谱的理论与应用研究[D]. 上海: 同济大学, 2007.
- [18] 饶伟文, 钟建理, 张治军. 中药近红外鉴别法的初步研究[J]. 首都医药, 2009, 16(20): 54-56.
- [19] 刘杰, 杨瑶璐, 王文祎, 等. 基于电子鼻技术的国产血竭与进口血竭快速鉴别研究[J]. 世界中医药, 2015, 10(4): 583-585, 589.
- [20] 汤小燕, 陈越, 李炯. HPLC 测定神农镇痛膏中血竭素的含量[J]. 中国执业药师, 2014(4): 14-16.
- [21] 徐玉玲, 梁慧, 凌娅, 等. 龙血竭 HPLC 指纹图谱研究[J]. 成都大学学报: 自然科学版, 2014, 33(1): 1-3.

(2015-10-06 收稿 责任编辑: 洪志强)