

傅里叶红外光谱在骆驼蓬溯源研究中的应用

田浩¹, 王健², 朱晓晴¹, 涂建财¹, 何清^{3*}, 李茵萍^{1*}

(1. 新疆师范大学 化学化工学院, 新疆 乌鲁木齐 830054; 2. 地质中学, 新疆 乌鲁木齐 830099; 3. 天津大学 化工技术学院, 天津 300072)

摘要: 本文以骆驼蓬为研究对象, 使用傅里叶红外技术获取骆驼蓬近红外指纹图谱, 结合使用化学计量学方法对其进行主成分分析 (PCA) 和正交偏最小二乘法分析 (OPLS-DA), 通过判别模型识别两个地区中药材骆驼蓬数据的地理来源。结果显示两个地区的骆驼蓬样品能够进行很好地区分。研究结果为骆驼蓬药材的道地性评价和质量控制提供技术支持, 也为其他药材的等同性研究提有益参考。

关键词: 骆驼蓬; 傅里叶红外光谱; PCA; OPLS-DA

Study on Geographical Traceability of *Peganum harmala* L. by the Fourier Transform Infrared Spectral Fingerprinting

Tian Hao¹, Wang Jian², Zhu Xiaoqing¹, Tu Jiancai¹, He qing^{3*}, LiYinping^{1*}

(1 College of Chemistry and Chemical Engineering, Xinjiang Normal University, Urumchi Xinjiang 830054; 2 Geological Middle School, Xinjiang, Urumqi 830099; 3 School of Chemical Engineering and Eechnology, Tianjin University, Tianjin)

Abstract: In this study, the geographical origins of *Peganum harmala* L. were discriminated. We combined Fourier-transform infrared spectroscopy and multivariate statistical analysis methods to establish principal component analysis (PCA) model and orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA) model. The result shows *Peganum harmala* L. from two different geographical regions were clearly distinguished and spectral regions accounting for the major difference in geographical sites were screened out. The results provide technical support for the genuineness evaluation and quality control of *Peganum harmala* L., and also provide useful reference for the equivalence research of other medicinal materials.

Key words: *Peganum harmala* L.; Fourier infrared spectroscopy; PCA; OPLS - DA

1 引言

骆驼蓬 (*Peganum harmala* L.) 为蒺藜科类的多年生草本植物, 骆驼蓬作为中药材在新疆的维、哈等民族药中运用十分广泛, 已经被记录在卫生部药品标准维吾尔药分册中, 具有治疗咳, 喘, 风湿, 消肿痛等功效, 具有很高的药用价值根据骆驼蓬生长地区的不同, 骆驼蓬的化学成分也显示明显差异^[1]。随着骆驼蓬药材的药用价值逐渐被人所发现, 其药用成分的含量和组成也越来越被人们所关注^[2], 所以为了提高骆驼蓬的药用品质 and 治疗的疗效, 快速且精准的区分不同产地骆驼蓬具有重要的意义。本研究利用红外光谱技术结合化学计量学建立区分模型进行分析比较, 实现不同产地的中药骆驼蓬的分类鉴别, 探求对其分析有效组分和含量的差异与生态环境之间的关系, 可为中药质量评价及药材的检测提供科学依据。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

仪器: 红外光谱仪 (TENSOR27, 布鲁克技术有限公司); 压片机 (769YP-15A 天津市科器高新技术公司); 远红外干燥箱 (70-1 型, 天津市福元铭仪器设备有限公司); 电子天平 (AL204, 上海梅特勒)。

试剂: 无水乙醇 (分析纯, 天津永晟精细化工有限公司)。

2.2 实验方法

样本制备: 实样用蒸馏水洗净晾干后, 放在干燥箱内 30°C 干燥至恒重, 研磨至 200 目粉末, 再将 34 个样品放于干燥、低温、避光处贮藏, 待测。分别准确量取 200 mg 经远红外干燥箱干燥的氯化钾和 2mg 的样品粉末均匀混合, 用玛瑙研钵顺时针方向研磨均匀成 200 目粉末状, 把适量的混合粉末, 均匀的平铺入压片模具中, 压制成透明薄片, 放入傅里叶红外光谱仪中进行检测 (测量温度在 25 度左右, 湿度在 30%-35%), 在扫描样本之前先扫描背景去除干扰的 H₂O 和 CO₂, 在检测样品时, 每经 5 次测量, 检测 1 次背景杂质, 从而减少环境带来的影响。

测量时仪器参数: 选取光谱扫描为透光率 (T%), 光谱仪波长扫描范围波数的范围在 800~4000 nm 之间, 扫描累加的总次数 16 次, 每个样品扫描 3 次, 然后把平均光谱作为样品光谱。

2.3 数据处理

骆驼蓬的红外指纹图谱使用 OPUS 软件对基线进行校正平滑处理后导入 Oringin2019 软件, 并对图谱进行二阶导数求导, 得到的二阶导数数据导入 simca14.1 软件中做主成分分析

(PAC) 并建立监督模式的正交最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 模型。

3 结果与讨论

3.1 不同区域骆驼蓬原始图谱分析

中药骆驼蓬组成成分是由多种生物碱类、黄酮类、糖类和挥发性化合物等组成^[3], 其官能团包括 $-CH_2$ 、 $-OH$ 、 $C=O$ 、 $C\equiv C$ 、 $C=C$ 、 $C-O$ 、等, 图 1 所示骆驼蓬样品的红外光谱图, 对特征图谱初步解析, 在 3435 cm^{-1} 左右图谱有较强且宽的吸收峰, 表明存在游离醇或酚可能是喹唑啉类生物碱的 $-OH$ 伸缩振动峰, 2921 cm^{-1} 、 2850 cm^{-1} 左右有较强的吸收峰, 表明可能是咪啉类生物碱的伯氨 $N-H$ 键的对称和反对称伸缩振动和羟基、酚羟基振动。在 1055 cm^{-1} 左右强度较大的吸收可能为糖苷类 $C-O$ 伸缩振动, 900 cm^{-1} - 800 cm^{-1} 可能是烯碳上氢的弯曲振动。 1392 , 1648 cm^{-1} 是 $C=C$ 双键的伸缩振动峰区域。

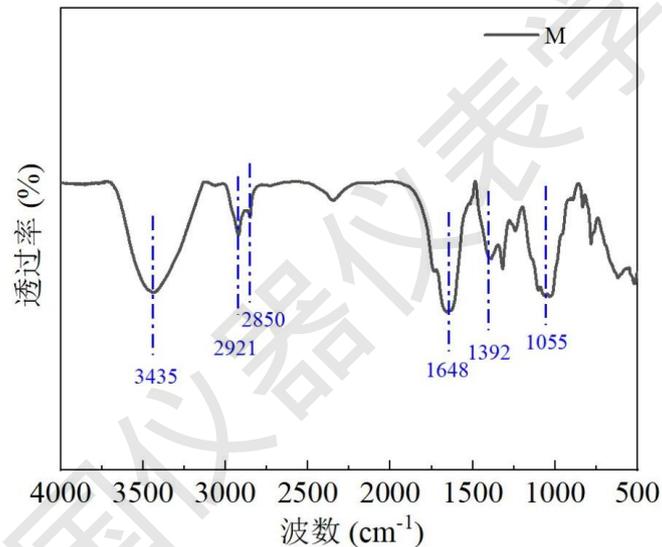


图 1 骆驼蓬样品的红外光谱

Fig1 Infrared spectra of *Peganum harmala* L. sample

3.2 骆驼蓬的红外指纹图谱主成分和偏最小二乘法分析

通过红外光谱获取两个地区的 34 个骆驼蓬样本的指纹图谱。由于原始图谱的相似度较大, 差异性对比不够明显, 因此采用可以明显的放大原始图谱的细微差别二阶导数图谱, 分别将两个地区样品的红外谱图做各自的均值曲线, 再求得二阶导数。选取以两地区骆驼蓬样品二阶导数数据 $4000\text{--}800\text{ cm}^{-1}$ 的波段范围内 (3275 个波长数) 的光谱数据进作为变量, 对两地区 34 个不同骆驼蓬样品的数据矩阵进行无监督主成分 (PCA) 降维统计分析, 如图 2(a) 为 PCA 主成分分析得分图。主成分 $t[1]$ (63.6%)、 $t[2]$ (13.9%)、 $t[3]$ (9.58%) 前三个主成分的累积贡献率为 87.1%, 所以前 3 个主成分基本可以表示原红外二阶光谱的主要信息, 可以清楚的看到两产地样品间有较为明显的分开趋势, 说明两产地中药骆驼蓬成分差异显

著，故为了更充分的筛选出两产地骆驼蓬的差异信息，因此进一步对骆驼蓬样品进行正交偏最小二乘法数据分析（OPLS-DA）。使用 OPLS-DA 过滤掉红外波段中与分类变量不相关的正交变量，分别分析非正交变量和相关正交变量，获取更加可靠的红外波段的组间差异与实验组的相关程度信息从而以最大程度地反应分类组别之间的差异，找到对这个差异作用最大的变量。在本实验中以两地区骆驼蓬样品二阶导数数据 $4000-800\text{cm}^{-1}$ 的波段范围内的光谱波长数据（3275 个波长数）进作为变量，34 个骆驼蓬不同样品被有监督地分为 2 个区域，从而寻找一些波段是对产地区分来有重要贡献的关键变量，得到 OPLS-DA 主成分分析得分图，如图 2(b)所示为 OPLS-DA 主成分分析得分图，模型参数 $Q^2=0.861$ ，说明模型的可预测很好， $R^2X=0.728$ 、 $R^2Y=0.89$ ，说明模型的拟合能力较强，红外峰的变化能解释导致 89%不同分类（因变量）发生模型可预测性，图中横坐标 $t_0[1]$ 表示第一主成分的预测主成分得分，展示样本组间的差异，纵坐标 $t[1]$ 表示正交主成分得分，展示样本组内差异，每个散点代表一个样本，两种颜色表示不同产地的实验分组。从 OPLS-DA 得分图的结果可以看出，两组样本区分非常显著，且样本全部处于 95%置信区间。

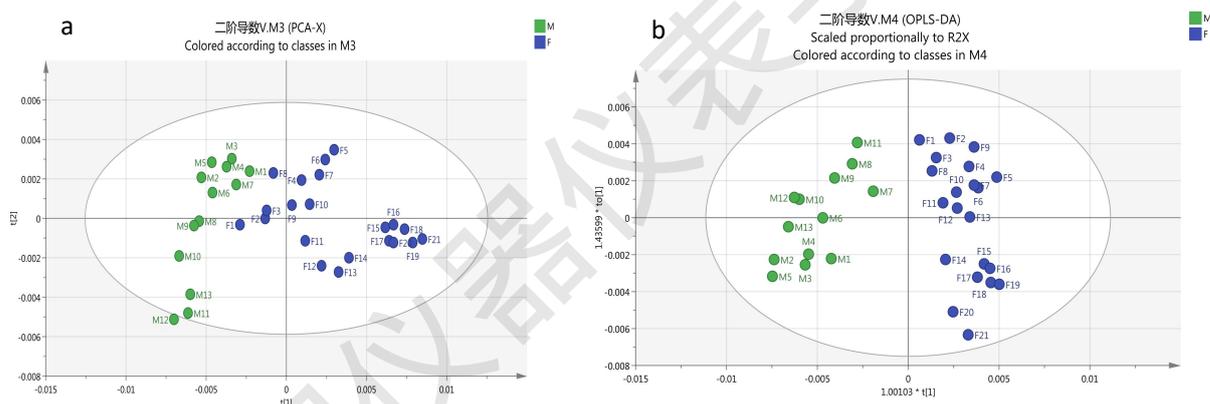


图 3 骆驼蓬的主成分得分图 (a) 和 OPLS-DA 主成分分析得分图多 (b)

4 结论与讨论

实验初步研究不同地区骆驼蓬的红外光指纹谱特性，结果表明，不同产地骆驼蓬的红外光谱存在差异，玛纳斯地区和福海地区的骆驼蓬在成分含量方面存在显著的差异，这由于新疆地区不同环境因素给骆驼蓬生长带来了不同程度的影响，本研究建立了不同产地骆驼蓬红外光指纹谱共有模式，结合二阶导数和化学计量学方法，不但可以准确鉴别出不同产地的骆驼蓬，还能发现区分不同产地骆驼蓬的差异波数。该方法简便、快速、无损，可实现大批样品的快速溯源地鉴定。

参考文献:

[1] Li Y, Tian H, He Q, et al. Investigation of the Geographical Environment Impact on the

Chemical Components of Peganum harmala L. through a Combined Analytical Method[J].
ACS Omega, 2021, 6(39): 25497-25505.

[2] 孙晓惠, 胡慧华, 陆锦锐. 北京及新疆产骆驼蓬中两种生物碱的含量比较[J]. 黔南民族
医专学报, 2017, 30(1): 1-5.

[3] 李兴. 瑞香狼毒和骆驼蓬化学成分及其生物活性研究[D]. 西安理工大学, 2019. 121.

中国仪器仪表学会