

文章编号: 1672-8785(2010)11-0038-06

用共有峰率和变异峰率双指标序列分析法 分析百合的红外指纹图谱

蔡 皓 秦昆明 刘 晓 孙 俊 陈志鹏 蔡宝昌

(南京中医药大学教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏南京 210029)

摘 要: 利用共有峰率和变异峰率两个指标, 以不同产地的百合样品的红外指纹图谱为标准, 计算出 10 个样品之间的共有峰率和变异峰率, 建立了共有峰率和变异峰率双指标序列分析方法。结果表明, 产地相近的 L1 与 L2 之间、L8 与 L7、L3 之间具有很高的共有峰率和很低的变异峰率; 产地相近的另外几个区域的百合 L9 与 L8、L5、L6 之间和 L10 与 L5 之间的共有峰率均 $\geq 80.0\%$, 变异峰率均 $\leq 25.0\%$; 产地相距较远的 L1 与 L10、L6、L9、L3 的共有峰率 $\leq 60.0\%$, 变异峰率 $\geq 15.8\%$ 。该方法比色谱鉴别法更加简便、快速, 可以准确地地区分不同产地的百合, 也为中药质量评价提供了一种新方法。

关键词: 百合; 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: R286.06 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-8785.2010.11.009

Analysis of Common and Variant Peak Ratio in IR Fingerprint of Bulbus Lilii by Dual-index Sequential Analysis Method

CAI Hao, QIN Kun-ming, LIU Xiao, SUN Jun, CHEN Zhi-peng, CAI Bao-chang

(Engineering Research Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese
Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

Abstract: A dual-index sequential analysis method for analyzing the common and variant peak ratios of bulbus lilii in infrared fingerprint is established. The common and variant peak ratios of ten kinds of samples from different regions are measured and analyzed. The result shows that some bulbus lilii samples from several neighbouring regions all have higher common peak ratios and lower variant peak ratios in their infrared fingerprint. Some samples from several other neighbouring regions have the common peak ratios higher than 80.0% and variant peak ratios lower than 25.0%. Some samples from several regions which are far away from each other have the common peak ratios lower than 60.0% and variant peak ratios lower than 15.8%. This analysis method is simpler and more effective than the chromatographic analysis method. It can discriminate the bulbus lilii from different regions accurately and will become a new method for evaluating the quality of traditional Chinese medicine.

Key words: Bulbus Lilii; IR fingerprint; common peak ratio; variant peak ratio; dual index; sequential analysis

收稿日期: 2010-07-06

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划资助项目 (90709025); 国家药典委员会资助项目 (YZ-103)

作者简介: 蔡皓 (1966-), 男, 江苏南京人, 副研究员, 主要从事中药质量标准研究工作。E-mail: haocai_98@126.com

1 引言

中药百合最早载于《神农本草经》, 为百合科 (Liliaceae) 植物卷丹、百合或细叶百合的干燥肉质鳞茎, 性味甘寒, 具有养阴清肺、清心安神之功, 用于治疗阴虚久咳、虚烦、失眠等症。现代药理学研究表明, 百合水提物具有抗衰老、活血化瘀、抗炎镇痛、镇静、止咳平喘等作用^[1-3]。由于百合药材的产地较多, 各地产的百合药材的质量有一定的差异性。目前有人用 GC-MS 方法评价过不同产地百合药材的质量^[4]。但由于仪器价格昂贵, 不易普及, 而且只局限于评价百合药材中的挥发性成分, 因此, 为了能全面评价百合药材的质量, 我们探索使用红外光谱方法对不同产地的百合药材进行质量分析。

红外光谱可以反映物质的结构信息, 具有较强的特征性、重现性和稳定性。其图谱是各种成分红外光谱的叠加, 可反映复杂物质体系的整体特征。近年来, 红外光谱在中药分类鉴别及质量控制中得到了广泛的应用, 已经建立了较为成熟的方法学体系^[5], 而且近年来有人对用红外光谱法进行植物成分定量分析作了研究^[6]。在红外指纹图谱数据分析方面, 一般可采用二维红外光谱法、聚类分析法、人工神经网络和连续小波变换等方法。其中, 二维红外光谱法需要特殊软件, 其技术要求较高; 聚类分析法采用单指标在一维空间中鉴别样品; 人工神经网络法需要进行大量的样品测试, 工作量较大; 小波变换法难以有效区分信号, 容易影响结果的准确度^[7]。

多维共有峰率和变异峰率双指标序列分析方法是近年来出现的一种新的数据信息处理方法。它的适用范围广泛, 既可以用于高效液相色谱^[8], 也可以用于红外光谱的数据处理, 而且它不需要进行繁琐的模拟与建模, 只要对原始数据进行分析与统计处理, 就可以对中药的内在质量进行系统评价, 显示出了较好的应用前景^[9,10]。利用红外光谱进行百合质量评价的研究尚无文献报道, 因此本研究利用多维共有

峰率和变异峰率双指标序列法, 对不同产地的百合药材的红外指纹图谱进行分析。研究结果表明, 该方法简便快速, 可以较好地对百合药材进行鉴别, 为百合药材的质量评价提供了一种新的方法。

2 仪器与试药

2.1 仪器设备和参数设置

所用仪器为 Nicolet IR100 型傅里叶变换红外光谱仪, 其光谱范围为 $4000\text{cm}^{-1} \sim 400\text{cm}^{-1}$, 分辨率为 4cm^{-1} , 扫描累加次数为 16 次; 扫描时, 消除了 H_2O 和 CO_2 的干扰。

2.2 样品来源和制备

共收集不同产地、不同批次的百合 10 批, 其具体产地、批号和购买来源等信息详见表 1。经南京中医药大学陈建伟教授鉴定, 它们均为百合药材 (Bulbus Lili)。将百合药材粉碎, 过 200 目筛, 取其筛后粉末少量, 然后将其与 KBr 粉末混合研磨和均匀压片, 再直接放入傅里叶变换红外光谱仪中进行测定。

3 结果与讨论

3.1 百合的红外指纹图谱及数据

按照以上实验方法对 10 批百合药材样品进行了红外光谱测定, 其红外光谱图见图 1, 部分代表性吸收峰波数见表 2。

共有峰的确定方法: 对于一组吸收峰, 若组内吸收峰的最大波数差异显著小于其与相邻组之间的平均波数差, 则确定该组峰是一组共有峰。在表 2 中, 多数组峰很明显符合这种确定方法, 可以被明确判定为共有峰。如对于 1249.84cm^{-1} 和 1028.33cm^{-1} 对应的两组峰, 1249.84cm^{-1} 对应的一组峰的平均波数为 1245.98cm^{-1} , 组内最大波数差是 6.48cm^{-1} , 与邻近的前后两组峰的波数差分别是 94.24cm^{-1} 和 92.90cm^{-1} , 两个值明显大于 6.48cm^{-1} , 故可确认 1249.84cm^{-1} 对应的一组峰是共有峰。同样, 1028.33cm^{-1} 对应的一组峰的平均波数是 1027.13cm^{-1} , 与前后相邻组峰的平均波数差分别是 28.30cm^{-1} 和 163.50cm^{-1} , 明显大于组内最大波数差 3.43cm^{-1} , 故可判断该组峰也是共有峰。

3.2 百合的红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率

双指标序列

3.2.1 共性鉴别指标

(1) 共有峰率 $P = (\text{共有峰数 } N_g / \text{两幅红外图中的独立峰数 } N_d) \times 100\%$ 。

(2) 共有峰数 N_g ：指在比较的两幅红外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 b 中相

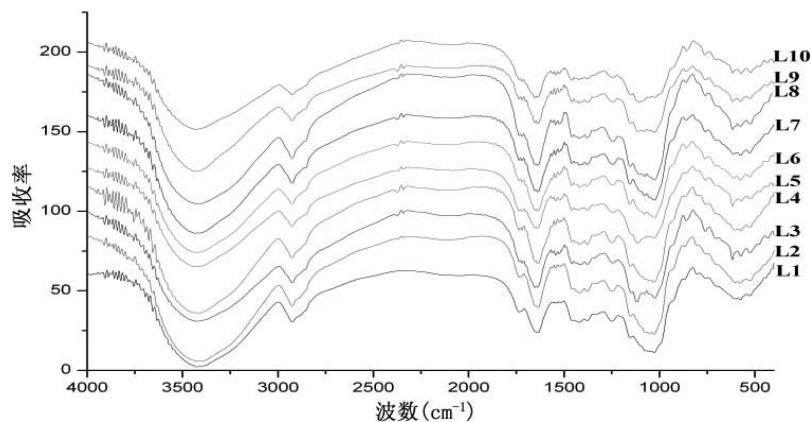


图 1 不同产地的百合的红外光谱指纹图谱

表 1 百合药材的来源信息

样品编号	产地	批号	来源
L1	江苏	080406	安徽丰原铜陵中药饮片有限公司
L2	浙江	080506	安徽丰原铜陵中药饮片有限公司
L3	河北	010808071	安国市京新药业有限责任公司
L4	福建	081118	安徽省亳州市药材总公司
L5	安徽	20080621	安徽沪谯中药饮片厂
L6	湖南龙山	Y080728	浙江中医药大学中药饮片厂
L7	安徽霍山	Y080729	浙江中医药大学中药饮片厂
L8	河南神农	Y080730	浙江中医药大学中药饮片厂
L9	湖北	080910	安徽省亳州市药材总公司
L10	陕西汉中	081112	当地采集

表 2 百合指纹图谱的吸收峰波数及共有峰

样品编号		红外指纹图谱的吸收峰波数								
L1	1561.94	1544.45	1521.98		1457.91		1421.72	1379.17	1336.86	1249.84
L2	1563.93	1545.55	1525.31		1458.90		1422.31	1379.27	1338.25	1247.90
L3	1562.60	1544.92	1526.75	1493.89	1460.72	1436.71	1421.70	1378.76		1243.93
L4	1565.15	1545.96	1525.95		1460.18		1421.90	1379.63		1247.70
L5	1561.95	1544.98	1524.33		1460.61	1436.66	1423.32	1378.52	1341.22	1244.44
L6	1564.39	1545.72	1526.47	1493.90	1460.81		1421.98	1380.23		1245.65
L7	1564.23	1545.75	1526.26	1494.20	1460.45		1421.49	1379.27		1245.75
L8	1562.99	1544.94	1524.08	1494.58	1459.68		1422.20	1378.47	1340.54	1243.36
L9	1563.72	1545.60	1526.31	1493.99	1461.05	1437.48	1423.13	1378.79	1344.21	1245.71
L10		1544.91	1526.37		1461.07	1437.34	1422.76	1379.92		1245.47

样品编号		红外指纹图谱的吸收峰波数							
L1	1153.85		1054.82	1028.33	870.25	805.01	759.53		
L2	1152.81	1075.34	1055.59	1028.22	868.62	803.59	757.77		
L3	1148.80	1118.63	1080.90		1024.90	860.17		760.68	705.65 618.79
L4	1152.83		1076.43	1054.65	1028.50	867.60	805.17	758.49	
L5		1113.10		1056.16	1028.24	862.94		759.53	617.77
L6	1156.39		1080.03		1026.75	859.84		761.20	
L7	1156.01		1078.98		1027.04			759.97	615.16
L8	1153.94	1105.10	1079.35		1027.07	863.46		760.49	617.19
L9	1151.69	1113.38	1080.61	1054.50	1026.54	860.29		760.03	617.64
L10	1151.36	1109.16		1056.88	1025.74	859.51		761.67	705.70 617.19

对于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 : 相互比较的两幅红外图中的独立峰总数, $N_d = N_g + n_a + n_b$ 。

3.2.2 变异鉴别指标

(1) 变异峰率 P_v : 指该红外图中相对于共有峰的变异峰数与其共有峰数的比值。

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

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

(4) $N_a = N_g + n_a$, N_a 为指纹图谱 a 的总峰数。

(5) $N_b = N_g + n_b$, N_b 为指纹图谱 b 的总峰数。

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, 由每个指纹图谱中的变异峰数与共有峰数的比值便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。

3.2.3 双指标序列

以各样品为参考, 用指纹图谱共有峰率和变异峰率计算公式分别计算其他样品的红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率, 并且按照共有

峰率的大小将它们排成一个序列 (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 个样品可得到 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, 以 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后, 便可以在 2+n 维 (n 等于样品数目) 空间中考察各个样品的异同, 从而使该方法具有很强的鉴别能力。10 个百合样品的双指标序列如下:

L1: L2(91.7; 0, 9.1), L4(71.4; 10.0, 30.0), L8(63.3; 15.8, 42.1), L5(61.3; 15.8, 47.4), L7(60.7; 23.5, 41.2), L10(60.0; 22.2, 44.4), L6(58.6; 29.4, 41.2), L9(57.6; 15.8, 57.9), L3(54.5; 22.2, 61.1);

L2: L1(91.7; 9.1, 0), L4(78.6; 9.1, 18.2), L8(70.0; 14.3, 28.6), L7(67.8; 21.0, 26.3), L9(63.6; 14.3, 42.8), L5(62.5; 20.0, 40.0), L10(61.3; 26.3, 36.8), L3(60.6; 20.0, 45.0), L6(60.0; 33.3, 33.3);

L3: L8(86.7; 11.5, 3.8), L7(82.8; 20.8, 0), L6(80.0; 31.8, 9.1), L9(78.8, 11.5, 15.4), L5(78.1; 16.0, 12.0), L10(77.4; 20.8, 8.3), L4(66.7; 31.8, 18.2), L2(60.6; 45.0, 20.0), L1(54.5; 61.1, 22.2);

L4: L2L6(78.6; 18.2, 9.1), L9(75.0; 8.3, 25.0), L7(75.0; 19.0, 14.3), L1(71.4; 30.0, 10.0), L8(71.0; 18.2, 22.7), L3(66.7; 18.2, 31.8), L5(63.6; 23.8, 33.3), L10(62.5; 30.0, 30.0);

L5: L9(81.2; 7.7, 15.4), L10(80.0; 16.7, 8.3), L3(78.1; 12.0, 16.0), L8(77.4; 16.7, 12.5), L7(67.7; 33.3, 14.3), L4(63.6; 33.3, 23.8), L2L6(62.5; 40.0, 20.0), L1(61.3; 47.4, 15.8);

L6: L9(80.0; 0, 25.0), L3(80.0; 9.1, 31.8), L4(78.6; 9.1, 18.2), L7(77.8; 14.3, 14.3), L8(75.9; 9.1, 22.7), L5(62.5; 20.0, 40.0), L10(61.3; 26.3, 36.8), L2(60.0; 33.3, 33.3), L1(58.6; 41.2, 29.4);

L7: L8(88.9; 0, 12.5), L6(77.8; 14.3, 14.3), L4(75.0; 14.3, 19.0), L9(74.2; 4.3, 30.4), L2(67.8; 26.3, 21.0), L3L5(67.7; 14.3, 33.3), L10(66.7; 20.0, 30.0), L1(60.7; 41.2, 23.5);

L8: L7(88.9; 12.5, 0), L3(86.7; 3.8, 11.5), L9(83.9; 3.8, 15.4), L5(77.4; 12.5, 16.7), L6(75.9; 22.7, 9.1), L4L10(71.0; 22.7, 18.2), L2(70.0; 28.6, 14.3), L1(63.3; 42.1, 15.8);

L9: L8(83.9; 15.4, 3.8), L5(81.2; 15.4, 7.7), L6(80.0; 25.0, 0), L3(78.8, 15.4, 11.5), L4L10(75.0; 25.0, 8.3), L7(74.2; 30.4, 4.3), L2(63.6; 42.9, 14.3), L1(57.6; 57.9, 15.8);

L10: L5(80.0; 8.3, 16.7), L3(77.4; 8.3, 20.8), L9(75.0; 8.3, 25.0), L8(71.0; 18.2, 22.7), L7(66.7; 30.0, 20.0), L4(62.5; 30.0, 30.0), L2L6(61.3; 36.8, 26.3), L1(60.0; 44.4, 22.2)。

L1: L4(71.4; 10.0, 30.0) 表示该序列以 L1 为标准来计算其它样品的指纹图谱的共有峰率和变异峰率。该序列片段表示 L1 和 L4 的共有峰率为 71.4, 其中 L1 的变异峰率为 10.0, L4 的变异峰率为 30.0。L4: L2L6 (78.6; 18.2, 9.1) 表示 L2、L6 与 L4 的共有峰率相等, 均为 78.6。其中, L4 的变异峰率为 18.2, L2 与 L6 具有相同的变异峰率 (9.1)。

由上述序列可知, 在不同的序列中, 不同样品的共有峰率也不同, 样品之间的关系一般也不同。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, 以 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。或者, 与某一样品具有相同变异峰率的样品, 往往具有不同的共有峰率。因此, 双指标指纹图谱分析方法比单指标分析法具有更高的分辨率, 可以对样品进行更深层次的区分及认同。如在 L2: L8(70.0; 14.3, 28.6), L9(63.6; 14.3, 42.8) 中, L2 与 L8、L9 具有相同的变异峰率, 但 L2 和 L8、L9 的共有峰率不同, 分别是 70.0 与 63.6, 这样便更容易区分。在 L4: L2L6(78.6; 18.2, 9.1) 中, L2、L6 与 L4 具有相同的共有峰率及变异峰率, 说明 L2、L6 两者与 L4 非常相似。

3.3 基本关系组、对及分析

A 组: L1: L2(91.7; 0, 9.1); L8: L7(88.9; 12.5, 0), L3(86.7; 3.8, 11.5)。

B 组: L9: L8(83.9; 15.4, 3.8), L5(81.2; 15.4, 7.7), L6(80.0; 25.0, 0); L10:L5(80.0; 8.3, 16.7)。

在 A 组中, L1 与 L2 之间、L8 与 L7、L3 之间具有很高的共有峰率和很低的变异峰率。L1 与 L2 的产地相近, 分别为江苏和浙江, 为百合药材的主要产区。L3、L7 与 L8 的产地分别为河北、安徽、河南, 这三个省区的地理位置邻近 (见图 2), 气候和生长环境近似。以上几个省区也是百合的传统产区, 它们产出的百合都可作为药材供临床使用, 其质量相似性较高。

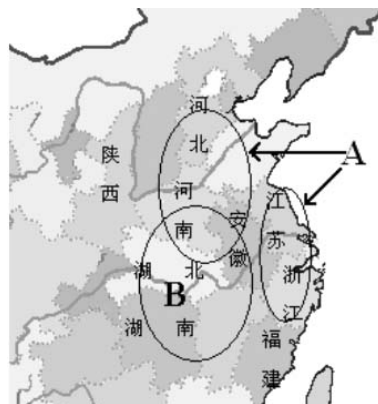


图 2 百合药材样品的地理位置图

A: A 组, B: B 组

在 B 组中, L9 与 L8、L5、L6 之间具有较高的共有峰率和较低的变异峰率, 其产地分别

是湖北、河南、安徽、湖南。从地理位置来看,这几个产区也较为接近(见图 2),其气候也较为相似,同时也都是百合药材的重要产区。其中,湖南龙牙和河南洛阳都是国内知名的百合产地。L10 和 L5 的共有峰率也较高,但是从地理位置来看,其产地分别是陕西和安徽,距离较远,但是陕西也是百合的重要产区。由此可见,百合药材的产地较广,地理位置并不是影响其质量的绝对因素。

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

4 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,而是根据中药材的自身特点创立了一种符合中药自身规律的指纹分析法。它可以在 $2+n$ (n 为分析的样品数目) 维空间中考察不同中药样品之间的相互关系,并可以用定量方法将这些关系精确

地表示出来。该方法具有快速、简便等特点,有望成为中药材快速鉴别的新方法。

参考文献

- [1] 谢焕松,周鸣鸣,刘鑫燕,等. 卷丹水提物活血化痰药理作用及对小鼠耐力的影响 [J]. **辽宁中医药大学学报**, 2008, **10**(9): 146-147.
- [2] 谢焕松,周鸣鸣. 卷丹水提物对 D- 半乳糖衰老模型小鼠的影响 [J]. **中国老年学杂志**, 2008, **28**(7): 1376-1377.
- [3] 李林,张志杰,蔡宝昌. 中药百合有效部位的药效学筛选 [J]. **南京中医药大学学报**, 2005, **21**(3): 175-177.
- [4] 张志杰,蔡宝昌,李林,等. 百合的 GC/MS 指纹图谱研究 [J]. **中成药**, 2006, **28**(5): 625-627.
- [5] 李燕,吴然然,于佰华,等. 红外光谱在中药定性定量分析中的应用 [J]. **光谱学与光谱分析**, 2006, **26**(10): 1846-1849.
- [6] Turner N W, Cauchi M, Piletska E V, et al. Rapid qualitative and quantitative analysis of opiates in extract of poppy head via FTIR and chemometrics: Towards in-field sensors [J]. **Biosensors and Bioelectronics**, 2009, **24**(11): 3322-3328.
- [7] 陈植成,刘军贤,黄庶识,等. 红外光谱结合化学计量学在中药分析中的应用 [J]. **计算机与应用化学**, 2009, **26**(4): 482-486.
- [8] Zou H B, Yang G S, Du A Q, et al. Combinational numeral fingerprint spectra of glycyrrhiza and analysis of common peak ratio invariableness in HPLC [J]. **Biomed. Chromatogr.**, 2006, **20**(6-7): 642-655.
- [9] 邹华彬,袁久荣,杜爱琴,等. 甘草水提物红外指纹图谱共有峰率和变异峰率双指标序列分析法 [J]. **中成药**, 2004, **26**(10): 779-783.
- [10] 邹华彬,袁久荣,杜爱琴,等. 甘草氯仿提取物红外指纹图谱双指标序列分析法 [J]. **中国中药杂志**, 2005, **30**(1): 16-20.

~~~~~

(上接第 30 页)

用于作为远程终端 RT 的机载设备应用,也可作为总线控制器 BC 和总线监控器 MT 的机载设备的设计提供相应的借鉴。该实现方法已在工程中得到实际应用,其工作稳定可靠,为机载设备实现 1553B 总线的模块化设计提供了一种思路。

## 参考文献

- [1] 顾明剑,阴德奎. 1553B 总线控制方法研究 [J]. **红外**, 2004, **25**(12): 21-27.

- [2] 张浩. **嵌入式 1553B 总线通信卡的设计与实现** [M]. 南京: 南京理工大学, 2008.
- [3] 修吉宏,李友一,李文明. 航空相机与载机交联技术的实现方法 [J]. **红外**, 2009, **30**(10): 7-11.
- [4] 航天时代科技公司第 772 研究所. B61580 处理器产品使用说明书 [M/OL]. 2007-03[2009-01]. <http://www.1553B.cn>.
- [5] 苏奎峰,吕强,常天庆,等. **TMS320X281X DSP 原理及 C 程序开发** [M]. 北京: 北京航空航天大学出版社, 2008.