

阳春砂杂交子代与母本的 FTIR 鉴别研究

张丹雁¹, 梁欣健¹, 石莹莹², 熊清平², 赖小平¹, 陈蔚文^{3*}

1. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405

2. 淮阴工学院生化学院, 江苏 淮安 223003

3. 广州中医药大学中药资源科学与工程研究中心, 广东 广州 510006

摘要: 目的 探索阳春砂杂交子代与母本的红外光谱鉴别方法。方法 采用傅里叶变换红外光谱法 (FTIR) 测定阳春砂杂交子代与母本的红外光谱, 分别应用导数光谱和傅里叶自解卷积对图谱进行转换处理, 对比寻找杂交子代与母本的特征差异吸收。结果 阳春砂杂交子代与母本的红外光谱无明显差异, 经四阶导数光谱变化后于 $1\ 051.014\ \text{cm}^{-1}$ 处出现明显的特征差异吸收峰, 傅里叶自解卷积转化后于 $771.563\ 4$ 和 $1\ 612.432\ 5\ \text{cm}^{-1}$ 处出现了具有明显特征独立的差异吸收峰。结论 阳春砂杂交子代与母本的 FTIR 经过导数光谱和傅里叶自解卷积转化后可出现明显的差异, 能较好地鉴别二者。

关键词: 阳春砂; 傅里叶变换红外光谱法; 导数光谱; 傅里叶自解卷积; 杂交

中图分类号: R282.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)05-0996-04

FTIR identification between *Amomum villosum* hybrid offspring and female parent

ZHANG Dan-yan¹, LIANG Xin-jian¹, SHI Ying-ying², XIONG Qing-ping², LAI Xiao-ping¹, CHEN Wei-wen³

1. College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

2. School of Biochemistry, Huaiyin Institute of Technology, Huai'an 223003, China

3. Research Center of Chinese Herbal Resource Science and Engineering, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510006, China

Abstract: Objective To study the identification between the *Amomum villosum* hybrid offspring and the female parent by using the Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Methods** Using the FTIR to determine the infrared spectra of *A. villosum* hybrid offspring and female parent. Switching and processing the atlas with derivative spectrometry and Fourier self-deconvolution, to contrast for the characteristic differences in absorbance of them. **Results** There were no significant differences between the *A. villosum* hybrid offspring and female parent by using FTIR. But $1\ 051.014\ \text{cm}^{-1}$ was found to be the most obvious in the fourth-derivative spectrum, $771.563\ 4$ and $1\ 612.432\ 5\ \text{cm}^{-1}$ to be the most obvious in the Fourier self-deconvolution spectra. **Conclusion** There are obvious differences between the *A. villosum* hybrid offspring and female parent in the derivative spectrometry and Fourier self-deconvolution spectroscopy atlas. Therefore, this method can be used to identify the *A. villosum* hybrid offspring and female parent simply, rapidly, and accurately.

Key words: *Amomum villosum* Lour.; Fourier transform infrared (FTIR); derivative spectrum; Fourier self-deconvolution; hybridization

阳春砂来源于姜科 (Zingiberaceae) 豆蔻属 *Amomum* Roxb. 植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour. 的干燥成熟果实^[1], 是我国著名的“四大南药”之一。其主要分布于广东、云南、广西、福建及四川等地, 其中以广东阳春为道地, 而又以蟠龙及春湾所产为佳^[2]。阳春砂具有化湿开胃、湿脾止泻、理

气安胎的功效。用于湿浊中阻、脘痞不饥、脾胃虚寒、呕吐泄泻、妊娠恶阻、胎动不安等症^[1]。

由于传统的阳春砂品种花期和当地彩带蜂等昆虫的出现期常错开, 无法实现昆虫授粉, 故阳春地区砂仁种植主要依赖人工授粉, 很大程度上影响了道地产区阳春砂的种植和生产的发展。为解决道地

收稿日期: 2010-07-18

基金项目: 国家科技部“十二五”支撑项目 (2011BAI01B02)

作者简介: 张丹雁 (1964—), 女, 辽宁省开原市人, 广州中医药大学教授, 硕士生导师, 长期从事中药品种及真伪鉴别研究和中药质量标准研究等工作, 已发表论文 30 余篇, 编写著作 11 部, 获省部级奖 6 项。Tel: (020)39358296 E-mail: danyan64@21cn.com

*通讯作者 陈蔚文 E-mail: chenww@gzhtcm.edu.cn

产区阳春砂的授粉难题,提高砂仁产量,笔者以当前阳春产区分布最广泛、具有优良种性的传统品种阳春砂的农家栽培类型为母本(命名为“长果 2 号”),以其他种砂仁(密级)为父本,进行杂交,并经多代定向选择培育,最终获得花期与彩带蜂出现期相遇,能实现昆虫授粉,且抗病、抗逆性强的杂交种阳春砂(命名为“春选 1 号”)。然而,具有优良特性的杂交种阳春砂“春选 1 号”与其母本之间的鉴别,还有待进一步研究。

傅里叶变换红外光谱法(FTIR)是一种应用十分普遍的分析手段,具有灵敏度高、分辨率高和速度快的特点^[3-5],已经广泛应用于中药鉴别中^[6-9]。目前已有应用 FTIR 对砂仁进行真伪鉴别的研究^[10],但是,还未见采用红外光谱来鉴别杂交子代与亲本的报道。由于中药成分复杂,且杂交子代与亲本间的成分差异较小,吸收谱图极为相似,常规方法难以进行有效鉴别,而导数光谱具有放大光谱差异的功能;傅里叶自解卷积能够去除仪器线性函数对真实光谱的影响,达到分峰的目的,可以使一些隐含的信息得以显现^[11]。本研究首次将导数红外光谱和傅里叶自解卷积红外光谱应用于阳春砂杂交子代及母本的鉴别研究。

1 材料、仪器及试剂

1.1 材料

杂交母本为姜科植物阳春砂的农家栽培类型长果 2 号,该种质类型为当前阳春道地产区分布最广、种性最优良的传统品种;阳春砂杂交种为以阳春砂农家栽培类型长果 2 号为母本,以其他种砂仁为父本,进行杂交,并经多代选育所得,命名为“春选 1 号”,其拉丁学名尚未定名。阳春砂杂交种“春选 1 号”及其母本“长果 2 号”果实均采自阳春市砂仁试验场,经广州中医药大学张丹雁教授鉴定。

1.2 仪器与试剂

Nicolet 5700 型红外光谱仪器(美国热电尼高力仪器公司),WS70—1 型红外快速干燥箱(河南豫华仪器有限公司),DJ—02 型粉碎机(上海淀久中药器械制造有限公司)。KBr(GR),无水乙醇(AR)。

2 方法

2.1 光谱条件

光谱范围为 $4\ 000\sim 400\text{ cm}^{-1}$,分辨率为 4 cm^{-1} ,扫描次数为 32 次,检查器为 DTGS KBr,速度为 $0.632\ 9\text{ cm/s}$,光阑为 100%,图谱修正为水和二氧化碳,采集样品前采集背景。

2.2 实验过程与数据分析

2.2.1 窗片的制备 将 KBr 于玛瑙研钵中研磨至 100 目,取适量的 KBr 粉末于压片机中压片,得 KBr 空白窗片。将各药材粉碎至 100 目,按粉末与 KBr 0.5:100 的比例加入药材粉末,于玛瑙研钵中研磨混匀,取适量混合粉末于压片机中压片,得含药窗片。

2.2.2 光谱的采集及数据分析 在“2.1”项的光谱条件下,将 KBr 空白窗片于红外光谱仪中采集背景吸收光谱,设置背景图谱的有效时间,将含药窗片于红外光谱仪中采集药物吸收图谱,对所得光谱取带宽因子为 72.0~73.0,增强因子为 3.5,进行傅里叶自解卷积转化,并于 Origin 软件中以 21 点平滑处理后求导,于导数光谱中和自解卷积转化光谱中对比分析阳春砂杂交子代及母本的吸收差异,寻找特征差异吸收峰。

3 结果与分析

3.1 原始图谱的对比分析

按红外光谱的采集方法,采集“长果 2 号”和“春选 1 号”的红外吸收光谱图,见图 1。比较图 1 的阳春砂子代“春选 1 号”和母本“长果 2 号”的傅里叶红外图谱可知,“长果 2 号”和“春选 1 号”的红外吸收光谱无明显差异。

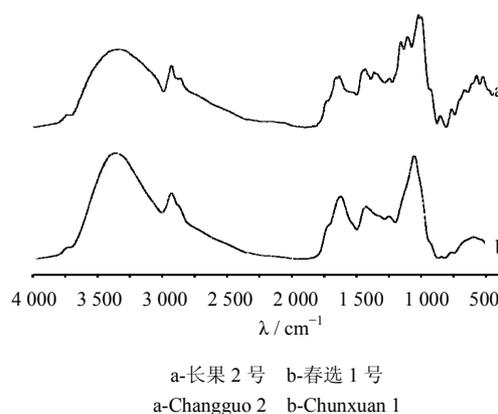


图 1 阳春砂傅里叶变换红外吸收图谱

Fig. 1 FTIR spectra of *A. villosum*

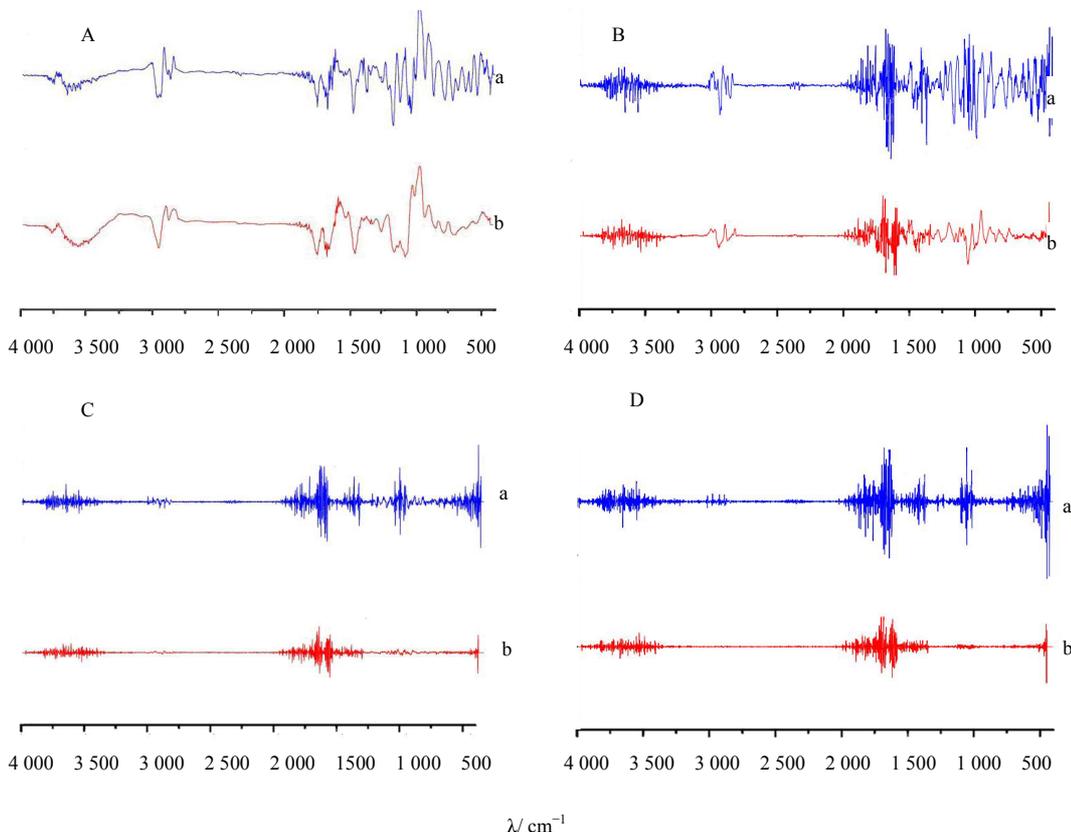
3.2 导数光谱的对比分析

为了进一步对“长果 2 号”和“春选 1 号”的特征峰进行辨认,提高图谱的分辨率,以确认两者图谱的差异性,本实验对原始图谱进行了求导,结果见图 2。

各阶导数光谱可知,随着导数阶数的增加,“长果 2 号”和“春选 1 号”的图谱差异性逐渐增大,特征性逐渐增强,导数光谱显示了原始谱图中不易

分辨的谱峰。在三阶和四阶导数光谱中，通过比较两者谱图的峰位、峰数以及峰形可以明显地看出，“长果 2 号”相比于“春选 1 号”，于 1 000~1 300 和 2 800~3 000 cm^{-1} 出现了特征峰和差异峰，特别是 1 051.014 cm^{-1} 处，“长果 2 号”表现出了较强的

独有特征峰，该区域主要是 C-O 键面内伸缩振动的红外特征吸收区域，说明“长果 2 号”砂仁体内含氧萜类物质，如乙酸龙脑酯、芳樟醇、 α -没药醇等的量相对较高。该特征可用于“长果 2 号”和“春选 1 号”的鉴别。



A-一阶导数光谱 B-二阶导数光谱 C-三阶导数光谱 D-四阶导数光谱, a-长果 2 号 b-春选 1 号
A-first derivative spectrum B-second derivative spectrum C-third derivative spectrum D-fourth derivative spectrum a-Changguo 2 b-Chunxuan 1

图 2 阳春砂导数光谱

Fig. 2 Derivative spectrum of *A. villosum*

3.3 傅里叶自解卷积转化图谱的对比分析

为了去除仪器线性函数对真实光谱的影响，减少来自散射、基体及其他吸收物的干扰，提高光谱的分辨率，本实验对所得图谱进行了傅里叶自解卷积转化处理，在各种带宽因子及增强因子下观察阳春砂杂交子代与母本自解卷积红外光谱的差异程度，从中选择一个差异程度最为明显的带宽因子及增强因子来区分二者。

本实验在对阳春砂子代与母本红外光谱进行自解卷积变换时，取带宽因子为 72.0~73.0，增强因子为 3.5 作为自解卷积变换标准。此外，为了方便比较，傅里叶自解卷积红外光谱只选择正峰值部分，见图 3。

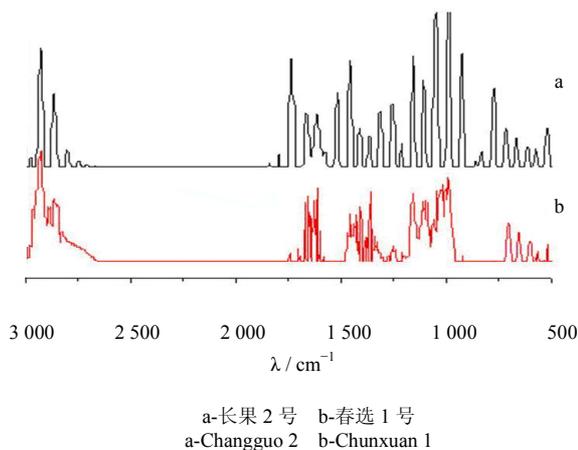


图 3 傅里叶自解卷积转化光谱

Fig. 3 Fourier self-deconvolution spectrum of *A. villosum*

由图3阳春砂杂交子代与母本的傅里叶自解卷积转化光谱可知,在 $750\sim 1\,000$ 和 $1\,500\sim 1\,750\text{ cm}^{-1}$ 两个波段的红外吸收区域,杂交子代“春选1号”与母本“长果2号”存在较明显特征差异吸收。母本“长果2号”在 $750\sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 出现了有别于子代春选1号的4个差异吸收峰,特别是在 $771.563\,4\text{ cm}^{-1}$ 处出现了1个强度较大的独立特征峰,该区域为=C-H键面外变形振动的红外特征吸收区域;波数在 $1\,500\sim 1\,750\text{ cm}^{-1}$ 杂交子代春选1号与母本长果2号也表现出来较明显的差异,于 $1\,612.432\,5\text{ cm}^{-1}$ 处出现1个独立特征吸收峰。该区域为C=C键面内伸缩振动的红外特征吸收区域。综合上述两波段区域的峰位、峰数及峰形特征,可推断“长果2号”砂仁体内不饱和烯类物质如3-萜烯、4-松油烯、香橙烯、 δ -葑烯茄烯等的量相对较高对比两波段的吸收峰差异可以发现, $750\sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 波段相对于 $1\,500\sim 1\,750\text{ cm}^{-1}$ 波段具有峰密度小、清晰易便的特点,故可将 $750\sim 1\,000\text{ cm}^{-1}$ 波段作为阳春砂杂交子代“春选1号”与母本“长果2号”鉴别的主要特征波段,而将 $1\,500\sim 1\,750\text{ cm}^{-1}$ 波段作为鉴别的辅助波段;同样,此两波段中的 $771.563\,4\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,612.432\,5\text{ cm}^{-1}$ 处的两个独立吸收峰分别为主要鉴别特征吸收峰和辅助鉴别特征吸收峰。

4 小结与讨论

图谱近似的杂交子代“春选1号”与母本“长果2号”傅里叶红外吸收光谱,用更高分辨率的导数光谱和去除仪器线性函数影响自解卷积转化处理后,均出现较明显的特征差异吸收峰,说明两者体内的化学物质或结构基团等方面存在着差异。杂交子代“春选1号”与母本“长果2号”四阶导数光谱中的 $1\,051.04\text{ cm}^{-1}$ 处和傅里叶自解卷积转化光谱中的 $771.563\,4\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,612.432\,5\text{ cm}^{-1}$ 处均出现了独立吸收峰,这些独立吸收峰具有特征性强、强度大的特点,可以作为二者鉴别时的差异特征判断标

准。利用该差异特征判断标准能较好地地区分二者,更好地指导临床用药。

利用红外光谱技术研究中药,具有宏观、整体、直接、快速的特点,通过收集和分析比较杂交子代“春选1号”与母本“长果2号”的红外吸收光谱,可以宏观整体地把握不同品种砂仁的体内化学物质信息,从而为下一步的化学成分微观分析和品种鉴定提供一个方向性参考。此外,本方法可为其他杂交子代与亲本的鉴别提供借鉴。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2005.
- [2] 张丹雁, 刘军民, 熊清平, 等. 阳春砂资源调查与分析 [J]. 广州中医药大学学报, 2008, 25(1): 77-80.
- [3] 程存归, 孙翠荣, 潘远江. 红外导数光谱-统计学法区别鉴定麦冬及其伪品的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(9): 1055-1059.
- [4] 程存归, 阮永明, 李冰岚. 傅里叶变换红外光谱法应用于中药砂仁真伪鉴别的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1355-1358.
- [5] 吴瑾光. 近代傅里叶变换红外光谱技术及应用 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1994.
- [6] 张黎明, 王亮亮, 高文远. 黄姜总皂苷不同提取物的 FTIR 谱图特征分析 [J]. 中草药, 2009, 40(9): 1413-1416.
- [7] 王宜祥, 楼金淦, 程存归. FTIR 直接鉴定冬虫夏草及其伪品古尼夏草 [J]. 中草药, 2003, 34(8): 附4-附5.
- [8] 楼余淦, 凌明, 程存归. 生晒山参、西洋参、红参和生晒参的 FTIR 图谱研究 [J]. 中草药, 2003, 34(7): 665-667.
- [9] 周红涛, 胡世林, 冯学锋, 等. 不同产地赤芍的 FTIR 指纹图谱对比分析 [J]. 中草药, 2002, 33(9): 834-837.
- [10] 程存归, 应桃开. 导数 FTIR 结合统计学法应用于中药延胡索质量控制的研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(1): 36-38.
- [11] 成则丰, 徐锐, 程存归. 傅里叶自解卷积-红外光谱分析法应用于中药天麻的鉴别研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(9): 1719-1722.