

张军锋, 杜宁, 谭伟航, 等. 莪术红外指纹图谱研究[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(10): 40–42.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.10.010

莪术红外指纹图谱研究

张军锋¹, 杜宁², 谭伟航¹, 郭佳¹, 张名楠¹, 吴友根¹, 陈俊华¹

(1. 热带生物资源教育部重点实验室/海南大学材料与化工学院, 海南海口 570228; 2. 海南政法职业学院, 海南海口 571100)

摘要:测定不同产地莪术挥发油的红外指纹图谱, 用共有峰率和变异峰率双指标序列法对指纹图谱进行鉴别与分析。结果表明, 不同产地莪术的挥发油均有独特且稳定的红外指纹图谱。广东、广西、云南、海南等 4 个产地的莪术油的红外指纹图谱相互之间比较吻合, 但存在一定差异。其中广东与海南、广西与海南、云南与海南、广东与广西、广西与云南、广东与云南的莪术挥发油的红外指纹图谱共有峰率分别为 73.4%、82.5%、74.1%、83.5%、84.0%、77.5%。共有峰率和变异峰率双指标序列分析法可以准确地区别不同产地的莪术, 利用该法可以有效地对多个莪术样品进行鉴别。

关键词:莪术; 挥发油; 红外指纹图谱; 共有峰率; 变异峰率

中图分类号:R284.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)10-0040-02

莪术(*Rhizoma curcumae*)为姜科姜黄属多年生宿根草本植物, 别称蓬莪、莪茂、青姜、黑心姜、姜黄。栽培或野生于林荫下, 分布于印度、马来西亚和我国海南、福建、广东、广西、浙江、台湾、云南、四川等地。莪术为常用中药, 其性温味辛, 具有行气止痛、积散结、破血祛瘀之功效。临床主要用于治疗跌打损伤、早期宫颈癌、血气心痛、脘腹胀痛、经闭血滞、饮食积滞、痛经。现代研究报道表明, 莪术具有增强免疫、抗氧化、抗肿瘤、抗早孕、抗病原体、抗炎、抗血栓和保肝等药理作用, 挥发油为其主要有效成分^[1-4]。

中药材的产地不同, 所含化学成分的组成及含量均会存在一定的差异, 从而导致不同产地药材的药效存在差异。因此, 药材的产地鉴别对于药材的质量控制和提高市场药材质量有着重要的意义。通过红外指纹图谱可以得到物质分子内部信息, 红外指纹图谱还能显示单一或混合物质的结构特征, 同时还有操作简单、稳定性好、测试速度快、成本低等优点, 所以, 红外指纹图谱在中药材鉴别、定量及定性分析中有着重要的地位。本研究测试了不同产地莪术挥发油的红外指纹图谱, 并用共有峰率和变异峰率双指标序列法对红外谱图进行分析, 取得了较好效果, 为莪术的鉴别与质量控制提供了依据。

1 材料与方法

1.1 试验药材

广东莪术采于广东省佛山市田间, 云南莪术采于云南省文山壮族苗族自治州田间, 广西莪术购自广西省南宁市药店(注明为当地产), 海南莪术购自海南省海口市药店(注明为当地产), 以上药材经海南大学园艺园林学院吴友根教授鉴定为莪术。

1.2 仪器与试剂

德国布鲁克傅里叶变换红外光谱仪(型号 TENSOR27, 购

自布鲁克光谱仪器公司); QE-200 高速中药粉碎机(购自浙江省武义县屹立工具有限公司); 水蒸气蒸馏装置(购自上海贤德仪器有限公司); FB224 型电子天平(购自上海恒平科学仪器有限公司); 正己烷(分析纯); 乙酸乙酯(分析纯); 无水硫酸钠; 双蒸水。

1.3 红外光谱条件

RockSolid™ 专利干涉仪, 光谱数据范围 4 000 ~ 400 cm⁻¹, 扫描时间 8 s, 分辨率 4 cm⁻¹, 溴化钾压片法测试红外谱图。

1.4 莪术挥发油的制备

将干燥的莪术用粉碎机粉碎后称取 20 g 粉末置于 250 mL 烧瓶中, 加入 150 mL 蒸馏水, 电热套加热, 保持沸腾, 用水蒸气蒸馏提取 3 h, 蒸馏 3 次, 合并蒸馏液后用正己烷和乙酸乙酯的混合液萃取得有特殊气味的黄色油状物, 无水硫酸钠干燥后于冰箱中保存备用^[5]。

1.5 红外光谱的双指标序列分析方法

红外光谱数据分析采用共有峰率和变异峰率双指标序列法。共有峰的确定方法: 共有峰定义为在相互比较的 2 个红外指纹图谱中都出现的一组吸收峰, 且组内吸收峰的最大波数差显著小于其与相邻组之间的平均波数差, 反之则为变异峰。某一红外指纹图谱的共有峰率, 是指该图中共有峰数与相互比较的 2 个图中独立峰数的比值; 某一红外指纹图的变异峰率是该图中相对于共有峰的变异峰数与其共有峰数的比值^[6-7]。

共有峰率 = (共有峰数 / 2 个红外图图中的独立峰数) × 100%;
变异峰率 = (变异峰数 / 2 个红外图图中的共有峰数) × 100%。

分别用各样品作为参考, 分别计算其他样品红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率, 然后依据共有峰率的大小排成一个含有共有峰率和变异峰率值的序列, 此序列即为共有峰率和变异峰率双指标序列。例如, $R_1: R_2(a, b, c)$ 表示此序列是以 R_1 作为标准计算 R_1 以外别的样品红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率, 这个序列片段的含义是 a 值表示为 R_1 与 R_2 的共有峰率, 其中 b 值为 R_1 的变异峰率, c 值为 R_2 的变异峰率。

收稿日期: 2016-09-27

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31360210)。

作者简介: 张军锋(1976—), 男, 河南邓州人, 硕士, 副教授, 从事南药活性成分及开发利用研究。E-mail: zhangjunfengvip@qq.com。

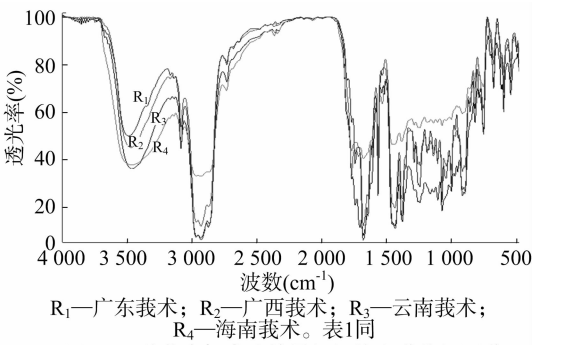
2 结果与分析

2.1 测试结果

广东、广西、云南、海南等 4 个产地莪术挥发油的叠加红外光谱分析图谱如图 1 所示,4 个产地莪术样品的主要吸收峰波数如表 1 所示。

2.2 双指标序列分析

结合表 1 中的数据,用共有峰率和变异峰率计算公式计算得 4 个莪术样品的双指标序列如下: $R_1: R_2(83.5, 18.2, 21.2)$, $R_1: R_3(77.5, 25.8, 29.0)$, $R_1: R_4(73.4, 34.5, 37.9)$, $R_2: R_1(83.5, 21.2, 18.2)$, $R_2: R_3(84.0, 17.6, 20.6)$, $R_2: R_4(82.5, 21.2, 21.2)$, $R_3: R_1(77.5, 29.0, 25.8)$, $R_3: R_2(84.0, 20.6, 17.6)$, $R_3: R_4(74.1, 36.7, 33.3)$, $R_4: R_1(73.4, 37.9, 34.5)$, $R_4: R_2(82.5, 21.2, 21.2)$, $R_4: R_3(74.1, 33.3, 36.7)$ 。



R₁—广东莪术; R₂—广西莪术; R₃—云南莪术; R₄—海南莪术。表 1 同

图 1 4 种莪术挥发油的叠加红外光谱分析图谱

在上述双指标序列中的 $R_1: R_2(83.5, 18.2, 21.2)$ 表示 R_1 与 R_2 的共有峰率为 83.5%, 其中 R_1 的变异峰率为 18.2%, R_2 的变异峰率为 21.2%。

表 1 不同产地莪术挥发油的红外光谱吸收峰波数

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数(cm^{-1})							
	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8
R_1	3 483.02		3 164.48	3 134.93	3 082.45	2 964.93	2 927.61	2 867.22
R_2		3 466.58	3 165 061.00	3 136.55	3 082.19	2 964.64	2 928.23	2 869.09
R_3		3 463.44	3 165.70	3 135.54	3 081.88	2 961.52	2 928.85	2 871.49
R_4		3 465.07	3 166.80	3 137.11	3 082.08		2 929.29	2 868.78

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数(cm^{-1})							
	峰 9	峰 10	峰 11	峰 12	峰 13	峰 14	峰 15	峰 16
R_1	2 729.39			2 344.32		2 074.22		1 766.76
R_2	2 729.56		2 362.82					1 767.21
R_3	2 729.10		2 356.29	2 337.49		2 077.23		1 765.84
R_4	2 731.09	2 418.83	2 362.76	2 340.92	2 134.15	2 067.93	1 993.32	1 767.02

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数(cm^{-1})							
	峰 17	峰 18	峰 19	峰 20	峰 21	峰 22	峰 23	峰 24
R_1	1 739.22		1 678.06	1 640.91	1 609.87	1 563.48		
R_2	1 740.21	1 714.68	1 676.83		1 611.19	1 562.46	1 529.94	
R_3	1 739.43	1 704.22	1 677.29			1 563.41	1 534.45	1 515.00
R_4		1 711.15	1 677.82			1 563.38	1 529.97	

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数(cm^{-1})							
	峰 25	峰 26	峰 27	峰 28	峰 29	峰 30	峰 31	峰 32
R_1	1 430.87	1 380.82	1 350.42	1 285.68		1 242.09	1 185.80	
R_2	1 436.11	1 376.73		1 284.99	1 256.56	1 239.42	1 183.92	
R_3	1 435.71	1 375.91		1 284.59		1 240.98		1 160.49
R_4	1 454.30	1 382.52		1 286.31	1 255.86	1 240.67	1 185.67	

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数(cm^{-1})							
	峰 33	峰 34	峰 35	峰 36	峰 37	峰 38	峰 39	峰 40
R_1	1 136.26	1 105.05	1 070.87	1 039.18	998.58	969.62		913.33
R_2	1 137.06	1 105.08	1 070.91	1 036.24	998.76	696.39	946.34	914.56
R_3	1 135.39	1 103.24	1 070.28		999.06	970.52	950.32	912.66
R_4	1 137.48	1 105.69	1 070.72	1 038.04	999.68		946 012.00	914.60

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数(cm^{-1})							
	峰 41	峰 42	峰 43	峰 44	峰 45	峰 46	峰 47	峰 48
R_1		855.59	817.99	785.72	750.44		673.34	617.70
R_2	894.52	856.36	820.34		751.04		672.03	616.84
R_3	893.10		815.91	785.88	750.70	698.79	672.75	614.42
R_4		857.88	819.54		753.19		673.73	

样品编号	红外指纹图谱吸收峰波数(cm^{-1})				
	峰 49	峰 50	峰 51	峰 52	峰 53
R_1	595.91	540.69	495.34	476.59	
R_2	596.15	539.62	495.31	476.69	
R_3	596.05	541.07		476.48	441.44
R_4	596.41	540.53	496.63	477.97	

注:空白处表示没有出现吸收峰。

陈建兴, 孙玉江, 潘庆杰, 等. 驴和马 *COL1A1* 基因比较分析[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(10): 42–44.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.10.011

驴和马 *COL1A1* 基因比较分析

陈建兴¹, 孙玉江^{2,3}, 潘庆杰², 马运峰², 嵇传良⁴, 刘春环⁵

(1. 赤峰学院生命科学学院, 内蒙古赤峰 024000; 2. 青岛农业大学动物科技学院, 山东青岛 266109; 3. 山东省东营市农业科学研究院, 山东东营 257091; 4. 山东东阿阿胶集团股份有限公司, 山东聊城 252200; 5. 内蒙古赤峰博恩药业有限公司, 内蒙古赤峰 024045)

摘要:驴具有很大的市场开发潜力和价值。通过生物信息学技术分析了驴 *COL1A1* 基因的氨基酸序列特征, 以期为阿胶原材料的鉴定或阿胶用驴的选育提供科学依据。经分析发现驴 *COL1A1* 基因的氨基酸构成富含大量的甘氨酸和脯氨酸, 而色氨酸含量很低。氨基酸序列开头的 22 个残基预测为该肽链的信号肽区域, *COL1A1* 蛋白中存在大量的卷曲螺旋。驴和马该基因(剔除 gap)mRNA 序列间存在 12 处变异, 氨基酸序列间只发现 1 处替换。提示在做原材料鉴定时, 若以该基因为分子标记, 应着重检测 DNA 间的差异。

关键词:驴; 马; *COL1A1* 基因; 比较分析

中图分类号: S822.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)10-0042-03

养驴业是我国畜牧业的重要组成部分, 在国民经济及人民生活中具有重要地位。虽然随着交通运输业的发展和农业机械化的普及, 驴的役用价值逐渐消失了, 伴随而来的是驴群

数量减少和种质下滑^[1-2]。在全国的大部分地区, 驴的种群变化趋势大致如此, 但在内蒙古自治区赤峰地区, 养驴业已明显向肉用和药用(阿胶)这 2 个发展方向过渡, 养驴业仍是当地农村发展经济的重要组成部分。

胶原蛋白(也称胶原, collagen)是细胞外基质的一种结构蛋白质, 为多糖蛋白, 约占胶原纤维固体物的 85%。胶原蛋白是动物体中普遍存在的一种大分子蛋白, 主要存在于动物的结缔组织(骨、软骨、皮肤、肌腱、韧带等)中, 占哺乳动物体内蛋白质的 25%~30%, 相当于体质量的 6%^[3-4]。胶原蛋白因具有良好的生物相容性、可生物降解性以及生物活性, 比如低抗原性、在体内易被人体吸收、能促进细胞成活与生长、

收稿日期: 2016-02-26

基金项目: 2013 年山东省农业良种工程项目; 内蒙古自治区教育厅高等学校科学研究项目(编号: NJZC13306)。

作者简介: 陈建兴(1980—), 男, 山西芮城人, 博士, 讲师, 主要从事马属动物分子遗传选育及生物制品开发利用研究。E-mail: correstgump@sina.com。

通信作者: 孙玉江, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事马属动物遗传育种与繁殖研究。Tel: (0532)85320190; E-mail: s36s@163.com。

2.3 4 种莪术的基本关系组、对及分析

(1) $R_2: R_1(83.5, 21.2, 18.2)$, $R_2: R_3(84.0, 17.6, 20.6)$, $R_2: R_4(82.5, 21.2, 21.2)$; (2) $R_1: R_2(83.5, 18.2, 21.2)$, $R_1: R_3(77.5, 25.8, 29.0)$, $R_1: R_4(73.4, 34.5, 37.9)$; (3) $R_3: R_1(77.5, 29.0, 25.8)$, $R_3: R_2(84.0, 20.6, 17.6)$, $R_3: R_4(74.1, 36.7, 33.3)$; (4) $R_4: R_1(73.4, 37.9, 34.5)$, $R_4: R_2(82.5, 21.2, 21.2)$, $R_4: R_3(74.1, 33.3, 36.7)$ 。

在(1)组中, 上述试验结果表明, R_2 (广西南宁)与 R_1 (广东佛山)、 R_3 (云南文山)、 R_4 (海南海口)莪术挥发油红外指纹图谱共有峰率均在 80% 以上, 相似度高, 挥发油成分、性质相近。

在(1)、(2)、(3)、(4)中, R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 相互之间的变异峰率均在 17.6%~37.9% 之间, 表明可以利用红外指纹图谱对广西南宁、广东佛山、云南文山、海南海口等 4 个产地的莪术进行鉴别。4 个产地的红外图中主要特征峰都有且为共有峰、吸收度大, 表明这 4 个产地的莪术质量均较好。

3 结论

本试验通过测试获得了 4 个不同产地莪术的红外指纹图谱, 并用共有峰率和变异峰率对其进行分析。结果表明, 不同产地的莪术红外指纹图谱相似程度高, 但也存在一定差异。

因此, 莪术挥发油的红外指纹图谱可以用来鉴别或区别不同产地的莪术, 也可作为莪术质量评价的一种手段。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 196.
- [2] Di Y L, Yan C, Ling L, et al. Comparative analysis of essential oils found in *Rhizomes curcumae* and *Radix curcumae* by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2011, 1(3): 203–207.
- [3] 黄惠芳, 梁立娟, 黎萍, 等. 广西几个姜黄品种姜黄油 GC-MS 分析[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(2): 199–202.
- [4] Dang Y Y, Li X C, Zhang Q W, et al. Preparative isolation and purification of six volatile compounds from essential oil of *Curcuma wenyujin* using high performance centrifugal partition chromatography[J]. Journal of Separation Science, 2010, 33(11): 1658.
- [5] 刘红, 韩长日, 刘红霞, 等. 益智红外指纹图谱的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 28(11): 2557–2560.
- [6] 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): 779–781.
- [7] 徐海星, 陈慧, 许沛虎, 等. 不同产地苍耳子红外指纹图谱鉴别[J]. 中药材, 2014, 37(6): 971–973.