

红外光谱法在石斛鉴别中的应用研究进展*

罗聪佩^{1,2} 何涛¹ 淳泽^{1**}

¹中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

²中国科学院大学 北京 100049)

摘要 名贵中药石斛原植物来源属于珍稀濒危植物,是多基源(中国记载分布有76种)、同部位入药的中药材,为中国药典中基源收载最为复杂的中药之一,需要简便、快速的方法来对不同基源的石斛进行鉴别.红外光谱法具有快速简便、指纹性强等特点,特别适合中药材这一复杂体系的快速鉴别.本文简要介绍了红外光谱及红外光谱法鉴别中药的原理以及与红外光谱法鉴别中药相关的化学计量学方法的基本原理和特点;综述了近年来红外光谱及其二阶导数谱对比法、二维相关红外光谱法、红外光谱结合化学计量学方法在石斛属植物鉴别中的应用研究进展,研究表明红外光谱鉴别石斛具有简便快速、特征性强、取样量少等优点.随着红外光谱技术本身的发展及其在石斛研究中的广泛应用,该方法将成为石斛鉴别的主要方法之一.参 26

关键词 石斛; 生药; 鉴别; 红外光谱; 化学计量学; 中药

CLC R282.5 : Q949.718.43

Advances in Infrared Spectroscopy Methods for Discriminating *Dendrobium**

LUO Congpei^{1,2}, HE Tao¹ & CHUN Ze^{1**}

¹Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract *Dendrobium*, as a precious Chinese medicine, is a rare and endangered plant. Because the same part of the plant of multiple sources is used for medical purposes, *Dendrobium* is one of the most complicated entries recorded in Chinese Pharmacopoeia. Therefore, a convenient and fast method is needed to discriminate different species of *Dendrobium*. Infrared spectroscopy is fast, convenient, and highly sensitive with fingerprint, thus extremely suitable for fast discriminating the complex system of traditional Chinese medicines. This paper introduces infrared spectroscopy and its application in discriminating traditional Chinese medicines, as well as the basic principles and characteristics of infrared spectroscopy-related Chemometrics. We examined the application progresses in discriminating *Dendrobium* of infrared spectroscopy and derivative methods, including two-dimensional infrared spectroscopy method and infrared spectroscopy-related Chemometrics method, showing that infrared spectroscopy has the advantages of convenience, efficiency, fingerprint and little-dosage in discriminating *Dendrobium*. With the development of infrared spectroscopy and its extensive use in research on *Dendrobium*, this technology will become one of the main discriminating methods for *Dendrobium* discrimination. Ref 26

Keywords *Dendrobium*; discrimination; infrared spectroscopy; chemometrics; traditional Chinese medicine

CLC R282.5 : Q949.718.43

石斛属 (*Dendrobium*) 属于附生兰类,为兰科最大属之

一,多年生草本植物.石斛属植物全世界约有1 000种,主要分布在亚洲热带和亚热带地区至大洋洲;我国有76种以上,主要分布于秦岭以南各省区,尤以云南南部为多^[1].石斛的药用历史悠久,在传统医学中主要用于阴伤津亏、口干烦渴、食少干呕、病后虚热、目暗不明等病症.现代药理学研究表明,石斛具有防治白内障、抗肿瘤、增强机体免疫力、降血糖、抗衰老和扩张血管等作用^[2].中药石斛为同部位(新鲜或干燥茎)、多基源入药的中药.2010年版《中国药典》收载的石斛来源^[3]为:金钗石斛 (*D. nobile* Lindl)、鼓槌石斛 (*D. chrysotoxum* Lindl)、流苏石斛 (*D. fimbriatum* Hook)的栽培品及其同属植物近似种的新鲜或干燥茎;铁皮石斛被单独列出作为一味中药,来源为兰科植物铁皮石斛 (*D. officinale* Kimura et Migo)的干燥茎.

随着“回归自然”潮流的兴起,石斛的需求量日益增加.石斛作为珍稀濒危植物,资源相对缺乏,商品市场混乱,以

收稿日期 Received: 2012-04-18 接受日期 Accepted: 2012-05-08
*中国科学院知识创新工程重要方向项目和院地合作项目(XBCD-2011-007)、国家科技支撑计划项目(2011BAC09B04)、国家及四川省农业科技成果转化基金项目(2011GB2F000004)、四川省“十二五”中药材育种攻关项目(2011NZ0098-12-10)、四川省科技支撑计划项目(2010NZ0057)和四川省科技条件平台建设项目资助 Supported by the Knowledge Innovation Project and Cooperation Project of Chinese Academy of Sciences (No. XBCD-2011-007), the National Science and Technology Pillar Program of China (No. 2011BAC09B04), the Chinese and Sichuan Provincial Agriculture Science and Technology Achievement Transformation Fund (No. 2011GB2F000004), the Chinese Herbal Breeding Research Project of Sichuan, China during “12th Five-year Plan” Period (No. 2011NZ0098-12-10), the Sichuan Science and Technology Pillar Program (No. 2010NZ0057), and the Sichuan Science and Technology Conditional Platform Construction Project

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: chunze@cib.ac.cn)

假充真、以次充好的现象时有发生。同时,石斛种类繁多,因商品药材品种、采收季节、生长年限、加工方法等不同造成药用石斛基源不清,药效不一,严重影响了石斛临床用药的安全性和疗效。原药材加工成饮片后,外形极其相似,仅靠传统的形态鉴别、显微鉴别等手段来区分真假,好次是不够准确的。要解决这一问题,关键是要建立一套简便快捷、准确有效的鉴别石斛的技术,以杜绝假冒伪劣石斛药材及其混淆品。

随着相关技术的不断发展,红外光谱已成为鉴定单一化合物的主要手段之一。红外光谱法有样品制备简单、分析速度快、实现非破坏性和非污染性的分析测定、使用较少化学试剂等特点,各国药典都将红外光谱作为法定的药物鉴别的主要方法^[4]。在中药的现代鉴定与鉴别中,红外光谱鉴别中药这一复杂化学体系的方法越来越受到人们的关注,是目前中药鉴别、鉴定的重要手段之一。对于石斛人们也在尝试采用红外光谱法来鉴别同属不同种、不同属的石斛原植物及饮片。

1 红外光谱法鉴别中药的原理及方法

1.1 红外光谱法及其鉴别中药的原理

红外光谱法(Infrared spectroscopy)实质上是根据分子内部原子间的相对振动和分子转动等信息来确定物质分子结构和鉴别化合物的一种分析方法,具有取样量少、特征性强、简便、迅速、准确等特点。当一束具有连续波长的红外光通过物质,物质分子中的某个基团的振动或转动频率与红外光的频率一致时,该处波长的光就被物质吸收。将分子吸收红外光的情况用仪器记录下来就得到红外光谱图。傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectroscopy)对不同状态(固、液、气)的样品进行测定时有不同的要求,样品经过适当的处理就可以放入样品室内扫描其红外光谱。通常将红外光谱分为3个区域:近红外区(13 330-4 000 cm^{-1})、中红外区(4 000-400 cm^{-1})、远红外区(400-10 cm^{-1})。中红外光谱属于分子的基频振动光谱。由于绝大多数有机物和无机物的基频吸收带都出现在中红外区,因此该区是研究和应用最多的区域。红外光谱法鉴别中药所使用的图谱大部分属于中红外光谱区。

中药材组成十分复杂,其红外光谱是其中多个组分红外光谱的叠加,光谱的吸收峰强度与峰形是相同或不同的官能团相互作用的结果。中药中各种化学成分只要在质和量方面相对稳定,并且样品处理方法按统一的要求进行,中药材的红外光谱就应该具有一定的客观性和可重复性^[5]。同种中药其所含的化学成分一致,其红外光谱图也一致;不同的中药由于其所含的化学成分不同,其红外光谱必然有差异。由此可通过对比中药的红外光谱图的差异来鉴别不同的中药。

1.2 红外光谱法鉴别中药的常用方法

1.2.1 红外光谱图及其二阶导数图对比法 根据红外光谱图在不同波数的吸收峰及吸收强度的不同即可鉴别不同的样品。红外光谱反映的是样品中所有化合物的红外光谱的叠加效果。红外光谱的二阶导数谱能够显著增加原始红外光谱的分辨率和放大图谱中的微小差异;利用二阶导数可以将重叠的吸收峰区分出来,增加红外光谱的灵敏度^[6]。

1.2.2 二维相关红外光谱法 Isao Noda在1989年提出了二

维相关红外光谱(Two-dimensional infrared spectroscopy, 2D-IR)的方法^[7]。2D-IR是基于样品对外界扰动所产生的红外信号动态波动的响应过程所得到的红外图谱。2D-IR图谱相对于传统红外光谱有以下一些优点:简化复杂红外光谱中的重叠峰,通过二维相关分析增加图谱的分辨率,通过分子的振动检测功能基团之间是否有相互作用。孙素琴等分析了300余种中药材的红外光谱、二阶导数谱及二维相关红外光谱^[8],奠定了红外光谱法鉴别中药的理论和实验基础,为中药的研究、鉴定、经营、管理等方面提供了有价值的参考依据。

1.2.3 红外光谱的化学计量学分析法 化学计量学(Chemometrics)是一门化学与统计学、数学、计算机科学交叉所产生的新兴的化学学科分支,它运用数学、统计学、计算机科学以及其他相关学科的理论和方法,优化化学量测过程,并从化学量测数据中最大限度地提取有用的信息^[9]。化学计量学方法是红外光谱分析必不可少的组成部分,用于光谱信号的处理和定性定量分析模型的建立。在石斛属植物鉴别中常用的化学计量学方法主要有:①主成分分析(Principal component analysis): Pearson在1901年提出了主成分分析的方法,它是将多个变量通过线性变换以选出较少个数的重要变量的一种多元统计分析方法^[10]。利用它的这一特性可实现红外光谱数据的线性降维投影显示,从而使人们能直观地从二维图中观察光谱的主要特性和排序情况。②相似系数(Similarity coefficient): 相似系数表示作为对象的两个分类单位间相似程度的指标。亲缘关系距离为两个样品之间相似系数的倒数^[11]。③共有峰率和变异峰率双指标序列分析法:以各样品为参考,以指纹图谱共有峰率和变异峰率计算公式分别计算其它样品红外指纹图谱的共有峰率和变异峰率,并根据共有峰率的大小排成一个序列(包含共有峰率和变异峰率值)。利用该序列来分析红外图谱相似性的方法即共有峰率和变异峰率双指标序列分析法^[12]。④聚类分析(Cluster analysis): 聚类分析是将数据分类到不同的类或者簇这样的一个过程,所以同一簇中的对象有很大的相似性,而不同簇间的对象有很大的相异性。

2 红外光谱法在石斛属植物鉴别中的应用

2.1 红外光谱图及其二阶导数图谱对比法在石斛鉴别中的应用

赵同芳等^[13]对11种不同树种栽培的和石生的同种金钗石斛(*D. nobile* Lindl)茎、叶中的酸性成分(B)、氯仿溶性生物碱部分(D)进行了红外光谱研究,证明这些部分的成分存在明显的差异。根据所获得的红外数据可知:各样品B部分在1 725-1 705 cm^{-1} 间多呈较强吸收带,石生金钗石斛B部分在1 760 cm^{-1} 和香椿树生金钗石斛B部分在816 760 cm^{-1} 有较强吸收带;各样品D部分在2 900-2 990 cm^{-1} 间和1 770 cm^{-1} 有强吸收带外,石生金钗石斛D部分还在1 720 cm^{-1} 多一个强吸收带;除石生金钗石斛D部分、乌柏树生金钗石斛D部分和油桐树生金钗石斛D部分外,其他在750 cm^{-1} 呈现较强吸收带。

华文俊等^[14]采用石斛粉末溴化钾直接压片法对环草石斛(*D. loddigesii* Rolfe)的干燥茎和伪品兰科流苏金石斛

(*Flickingeria fimbriata* Hawkes)的干燥茎的红外光谱图进行了比较。环草石斛、流苏石斛两者在 $1\ 639-1\ 036\ \text{cm}^{-1}$ 处峰的形状有明显不同, 伪品流苏石斛在 $1\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 处为三重峰, 环草石斛为不明显双峰并带有两肩峰。通过红外光谱的比较, 发现在 $1\ 750-1\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 处图谱的特征性明显, 差异显著。因此通过测定不同药材粉末的红外光谱, 可以将环草石斛、流苏石斛区分开来。

邓月娥等^[15]用傅里叶转换红外光谱仪分析了来自云南和浙江的金钗石斛(*D. nobile* Lindl)的红外光谱特征。两种产地的金钗石斛具有基本相同的红外吸收光谱, 但由于受不同自然气候条件的影响, 它们的红外吸收光谱还是有所区别。两个金钗石斛样品均具有 $2\ 920\ \text{cm}^{-1}$ 和 $2\ 851\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰, 但是二者在 $2\ 851\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰高有所不同, 说明两种金钗石斛中长链化合物的含量有所不同。云南金钗石斛在 $1\ 736\ \text{cm}^{-1}$ 处具有较小的吸收峰, 而浙江金钗石斛在 $1\ 740\ \text{cm}^{-1}$ 处有很强的吸收峰, 其峰高与 $1\ 636\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰高相当。结合二阶导数谱可看出: 云南金钗石斛 $1\ 736\ \text{cm}^{-1}$ 峰和浙江金钗石斛 $1\ 740\ \text{cm}^{-1}$ 峰的分裂峰波数和性状均不一样, 表明浙江金钗石斛中所含的酮或酯类化合物不但比云南金钗石斛中的多, 而且较为复杂。两者的二阶导数谱在 $1\ 055\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 073\ \text{cm}^{-1}$ 附近的峰也有明显区别, 这应该是两种金钗石斛含有的水溶性多糖种类和多少不同造成的。说明红外光谱法用于快速判定不同产地的金钗石斛是可行的。

李兆奎等^[16]采用直接压片法测定了铁皮石斛(*D. officinale* Kimura et Migo)、齿瓣石斛(*D. devonianum* Paxt)、细茎石斛[*D. moniliforme* (Linn.) SW]、钩状石斛(*D. aduncum* Wall ex Lindl)、马鞭石斛(*D. fimbriatum* Hook)、束花石斛(*D. chrysanthum* Lindl)的红外光谱, 得出这5种石斛的红外吸收频率、吸收峰的峰形和相对强度都存在较显著差异的结论。图谱 $1\ 600-1\ 480\ \text{cm}^{-1}$ 处: 铁皮石斛有一个强吸收峰并带有两肩峰; 齿瓣石斛有一个宽吸收峰; 细茎石斛、钩状石斛、束花石斛有二重峰; 马鞭石斛有三重峰, 前二峰吸收强度较接近。 $1\ 450-1\ 100\ \text{cm}^{-1}$ 处: 各种石斛均有四重峰, 但是铁皮石斛、齿瓣石斛、束花石斛的中间二峰吸收强度较接近; 细茎石斛、马鞭石斛的吸收强度依次递增; 钩状石斛的吸收强度都较接近。 $1\ 000-700\ \text{cm}^{-1}$ 处: 铁皮石斛有一个高架峰, 两侧有肩峰; 齿瓣石斛有一个强凸形峰, 两侧有肩峰; 细茎石斛、马鞭石斛、钩状石斛有一个宽吸收峰; 束花石斛有两强峰, 两侧有阶梯峰。可见图谱在 $1\ 700-1\ 200\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 000-700\ \text{cm}^{-1}$ 处特征性明显。

陈祝霞等^[17]对12种石斛水提醇沉除去多糖等大分子物质后所得提取物进行了红外光谱测定, 获得的各样品红外光谱具有一定的相似性, 也有较为显著的差异, 尤其在 $1\ 500-1\ 300\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 100-1\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 处特征明显。在 $3\ 400\ \text{cm}^{-1}$ 左右处均显示出一OH伸缩振动产生的吸收峰; 在 $1\ 600、1\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 附近可见典型的苯环伸缩振动峰; $1\ 250-1\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 处可见C—O的伸缩振动峰; 均与联苯类化合物常具官能团的红外特征峰相对应。结果表明红外光谱可以作为石斛类药材种间鉴别的辅助手段。

可见, 红外光谱及其二阶导数谱对比法在鉴别石斛属

植物中有着广泛的应用。该方法不仅可以利用药材原粉末进行鉴别, 而且可以通过对药材样品进行不同提取处理, 再用提取物的红外光谱进行鉴别。总结前人的研究结果, 可知由于同为石斛属植物, 因此其图谱具有一定程度的相似性; 但由于不同生境的差异以及不同种的差异, 其红外光谱又具有一定程度的差异性。该方法可以鉴别不同栽培方式、不同属种、不同产地的石斛; 通过对红外光谱的解析, 还能初步归属特征官能团的吸收信息。

2.2 二维相关红外光谱法在石斛鉴别中的应用

刘宁^[18]对4种不同变异类型的2年生金钗石斛(*D. nobile* Lindl)茎进行了红外光谱及二维相关红外光谱分析, 比较不同类型的金钗石斛药材的质量。4种金钗石斛的原始红外光谱具有较大的相似性, 差别不太显著, 共有峰为 $(1\ 052\pm 2)\ \text{cm}^{-1}$ 、 $(1\ 156\pm 1)\ \text{cm}^{-1}$ 、 $(1\ 244\pm 1)\ \text{cm}^{-1}$ 、 $(1\ 737\pm 2)\ \text{cm}^{-1}$; 导数光谱也比较相似, 但比原始图差别明显, 在 $1\ 400-900\ \text{cm}^{-1}$ 和 $690-620\ \text{cm}^{-1}$ 波段差异比较显著。在4种金钗石斛的 $850-1250\ \text{cm}^{-1}$ 同步相关图谱中, $1\ 098\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 147\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 218\ \text{cm}^{-1}$ 处的自动峰峰强比较接近; $(978\pm 2)\ \text{cm}^{-1}$ 处七寸兰石斛的峰强最强, 蟹爪兰石斛次之, 鱼肚兰石斛比较弱, 说明不同变异类型金钗石斛吸收峰所对应的基团随温度的升高同步变化不一致。 $1\ 270-1\ 820\ \text{cm}^{-1}$ 同步相关图谱中七寸兰石斛与其它3种不同变异类型的金钗石斛明显不同, 蟹爪兰石斛在 $1\ 654\ \text{cm}^{-1}$ 峰较强, $1\ 469\ \text{cm}^{-1}$ 峰较弱; 鱼肚兰和竹叶兰石斛在该波段的图谱相似。

Wang等^[19]利用二维相关近红外光谱($12\ 500-4\ 000\ \text{cm}^{-1}$)鉴别了3种石斛属植物: 密花石斛(*D. densiflorum* Lindl. in Wall)、叠鞘石斛(*D. denneanum* Kerr)和鼓槌石斛(*D. chrysotoxum* Lindl)。在 $5\ 600-4\ 750\ \text{cm}^{-1}$ 波段及 $30-140\ ^\circ\text{C}$ 温度范围内的近红外光谱中—CH、—NH、—OH基础振动严重重叠; 但是此波段的导数光谱呈现出显著的特征性。在 $5\ 600-4\ 750\ \text{cm}^{-1}$ 波段的二维同步相关近红外谱中, 这3种石斛都呈现出各自特异的类型, 尤其是 $5\ 180\ \text{cm}^{-1}$ 处有显著特异类型的自动峰; 叠鞘石斛在 $5\ 180\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰强最强, 密花石斛次之, 鼓槌石斛接近于零; 但是叠鞘石斛在 $4\ 900-4\ 800\ \text{cm}^{-1}$ 处的峰强是最弱的。由此可以选取 $5\ 180\ \text{cm}^{-1}$ 和 $4\ 900-4\ 800\ \text{cm}^{-1}$ 的波谱特征来快速鉴别这3种石斛。在同波段的二维异步相关近红外谱中, 位于 $(4\ 800, 5\ 230\ \text{cm}^{-1})$ 、 $(5\ 100, 5\ 220\ \text{cm}^{-1})$ 、 $(5\ 220, 5\ 340\ \text{cm}^{-1})$ 处的交叉峰表现出各自的特异性(正或负), 可作为快速鉴定的依据。

白音^[20]对42种药用石斛及其混淆品进行了红外光谱分析, 结果显示在中红外区它们的红外光谱很相似, 说明石斛及其混淆品的主体化学成分比较相似, 但在 $3\ 000-2\ 800\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 800-400\ \text{cm}^{-1}$ 范围内存在一定的差异。对红外数据进行统计, 结果表明 $2\ 912、1\ 424、1\ 374\ \text{cm}^{-1}$ 为所有样品的共有峰, 42种石斛及其混淆品的红外指纹峰为9-15个之间, 共493个, 另有8个特有峰。对球花石斛(*D. thyrsiflorum* Rehb)、密花石斛(*D. densiflorum* Lindl. in Wall)、流苏石斛(*D. fimbriatum* Hook)和叉唇石斛(*D. stuposum* Lindl)进行了二维相关红外光谱分析。在 $800-1\ 160\ \text{cm}^{-1}$ 波段: 球花石斛有9个自动峰, 密花石斛有7个自动峰, 流苏石斛有6个自动峰, 叉唇石斛有7个自动峰, 4种石斛均在 $977\ \text{cm}^{-1}$ 处有最大吸收强度的自动峰,

且有3-4个交叉峰的吸收强度较大;在1 160-1 700 cm^{-1} 波段:球花石斛有4个自动峰,密花石斛有6个自动峰,流苏石斛有7个自动峰,叉唇石斛有6个自动峰,4种石斛均在1 651-1 653 cm^{-1} 处有最大吸收强度的自动峰,且有2-3个交叉峰的吸收强度较大.可以看出在二维相关红外光谱中,自动峰个数、吸收强度较大的交叉峰所在的波数及数量皆存在一定的差异,可作为鉴别石斛的依据.

二维相关红外光谱法能够显著增加原始红外光谱的分辨率,将原始红外光谱中无法区分辨认的波峰信息显著放大.前人研究表明该方法不仅能区分不同种石斛,而且能将同种不同变异类型的石斛中的微小差别区分开来达到鉴别的目的.二维相关红外光谱法除了能鉴别石斛外,更重要的是能够检测石斛内部不同的官能团之间是否具有相互作用以及作用的强度大小,因此显著提高了鉴别石斛的准确度以及扩大了鉴别的石斛种类.

2.3 红外光谱结合化学计量学分析法在石斛鉴别中的应用

吕献康等^[21]采用OMNI采样器直接测定了11种石斛植物不同部位的红外光谱,发现其峰位基本相同,只是峰高不同;并从具有代表性的中部外表皮部分的红外光谱中选取了33个数据点(以分辨率为参考标准)进行了主成分分析,发现前3个主成分的累计贡献率达94.25%,说明得到的3个排序图均能较理想地反映11种石斛样品的特点.在第1和第3主成分与第2和第3主成分所组成的二维图中广东石斛(*D. wilsonii* Rolfe)与其他石斛差异比较大;在主成分分析图上滇桂石斛(*D. guangxiense* S.J.Cheng et C.Z. Tang)也比较特殊,这在一定程度上说明滇桂石斛与其他石斛在化学组成上差异较为明显.

沈宗根等^[22]利用OMNI采样器直接测定了3种石斛属植物和伪品细叶石仙桃(*Pholidota cantonensis* Rolfe)的红外光谱.4种植物茎的红外光谱图中特征指纹区主要在700-1 800 cm^{-1} 之间,每种植物都具有特征峰.对光谱进行了相似系数及亲缘关系距离分析,结果表明铁皮石斛(*D. officinale* Kimura et Migo)和铜皮石斛[*D. moniliforme* (Linn.) Sweet]有较多的相同波峰数,同时其红外吸收度的相似系数均大于其他2种植物,铁皮石斛与铜皮石斛的亲缘关系较近,与金钗石斛(*D. nobile* Lindl)次之,与细叶石仙桃最远.对4种植物叶的红外光谱分析也得出基本一致的结论,不同之处在于铁皮石斛与细叶石仙桃的亲缘关系近于其与金钗石斛的亲缘关系.

李莹等^[23]采集了7种不同石斛药材粉末的红外指纹图谱,并用共有峰率和变异峰率双指标序列法进行了分析.7种石斛药材粉末的红外光谱在1 700-600 cm^{-1} 范围内有较为显著的差异,特征性明显.双指标序列分析表明与药典收载品种金钗石斛(*D. nobile* Lindl)相似度最高的是鼓槌石斛(*D. chrysotoxum* Lindl),相似度为58.8%;与药典收载品种马鞭石斛(*D. fimbriatum* Hook)相似度最高的是叠鞘石斛(*D. denneanum* Kerr),相似度为37.5%;刀叶石斛(*D. terminale* Par.et Rchb.F.)和美花石斛(*D. loddigesii* Rolfe)的相似度66.7%;其他品种之间的相似度均比较低.

白音^[20]分析了42种药用石斛及其混淆品的红外光谱,发

现共有493个指纹峰,分别占据43个波数位点,即相当于43个变量.根据指纹峰的对红外光谱数据进行编码,利用SPSS软件的类间平均连锁方法对其进行了聚类分析,并用欧氏距离方式建立了聚类图.42种石斛及混淆品被分成了4类,其中肿节石斛(*D. pendulum* Roxb)单独归为一类,说明其红外指纹特征与其他石斛及混淆品有明显差异;通过聚类分析的方法可以鉴别32种药用石斛及混淆品,余下10种石斛及混淆品较难鉴别.

由上述研究结果可见,利用化学计量学方法对石斛的红外光谱进行分析,提取红外光谱中的有用信息,不仅能够鉴别不同种石斛,而且能对不同的石斛进行化学成分差异大小的判断及化学亲缘关系的研究,还能评价不同石斛品质的相对优劣.利用统计软件分析红外光谱数据还能将不同的石斛进行聚类分析,研究其亲缘关系.

3 小结与展望

综上所述,中药红外光谱鉴别法是一种专属性较强的分析和鉴别方法,已经在中药现代化鉴别研究中得到广泛应用^[24-25].在石斛属植物鉴别中,红外光谱法具有分析速度快、准确度高、重复性好等优点;同时,以原始红外光谱为基础发展起来的各种化学计量学分析鉴别方法又各有其特点,避免了传统的性状鉴别、显微鉴别等方法样品前处理和人为操作所带来的实验误差.

红外光谱鉴别法所具有的优点,尤其是光谱具有整体指纹性的特点能够映射出中药作为复杂化学体系具有整体指纹性的特性,使其能够很好地鉴别中药.有关红外光谱法鉴别石斛,前人做了很多有益的尝试和工作,可知该方法能够很好地鉴别大部分石斛.但是,仍有一部分石斛用红外光谱法难以鉴别;同时,石斛往往以枫斗的商品形式在市场上销售,在前期的工作中还没有以枫斗为对象对商品石斛进行鉴别、鉴定.对于商品石斛(如石斛茶、枫斗),以后应该开展相应的鉴别工作.对于一部分难以用传统红外方法鉴别的石斛,可以采用谱线组法^[26],即用不同极性的溶剂(如石油醚、乙酸乙酯、乙醇、水)处理石斛样品,将不同溶剂部位的红外谱线进行组合来鉴别;也可以将石斛的叶、茎、根作为一个组合,分别扫描红外光谱,利用谱线组法鉴别,扩大红外光谱鉴别中药的实用性和广度.红外光谱法随着在中药鉴别鉴定中的广泛应用及技术本身的发展,将成为中药鉴别的主要方法之一,对提高中药临床用药的安全性及中药的现代化进程都将起到一定的推动作用.

参考文献 [References]

- 何涛, 淳泽, 罗傲雪, 范益军, 刘静, 胡明珠. 四川石斛野生资源及其保护研究[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14 (5): 710-715 [He T, Chun Z, Luo AX, Fan YJ, Liu J, Hu MZ. Wild resources and conservation of *Dendrobium* in Sichuan, China [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2008, 14 (5): 710-715]
- 林萍, 毕志明, 徐红, 王峥涛, 徐璐珊. 石斛属植物药理活性研究进展[J]. 中草药, 2003, 34 (11): 19-21 [Lin P, Bi ZM, Xu H, Wang ZT, Xu LS. Advances in studies on pharmacology of plants from *Dendrobium* Sw [J]. *Chin Trad Herbal Drugs*, 2003, 34 (11): 19-21]

- 3 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010 [Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010]
- 4 陈亚, 江滨, 曾元儿. 红外光谱在中药鉴别中的应用[J]. 广州中医药大学学报, 2004, **21** (3): 237-240
- 5 姜大成, 何淑华, 张洁. 红外光谱鉴定中药材的原理与方法[J]. 中药材, 1993, **16** (7): 42-43
- 6 Lei Y, Zhou Q, Ya T, Chen JB, Sun SQ, Noda I. The study of *Cistanche deserticola* using Fourier transform infrared spectroscopy combined with two-dimensional correlation infrared spectroscopy [J]. *J Mol Struct*, 2010, **974**: 156-160
- 7 Noda I. Two-dimensional infrared spectroscopy [J]. *J Am Chem Soc*, 1989, **111**: 8116-8118
- 8 孙素琴, 周群, 秦竹. 中药二维相关红外光谱鉴定图集[J]. 北京: 化学工业出版社, 2003 [Sun SQ, Zhou Q, Qin Z. Atlas of two-dimensional correlation infrared spectroscopy for traditional Chinese medicine identification [J]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003]
- 9 Wold S. Chemometrics; what do we mean with it, and what do we want from it [J]? *Chemom Intell Lab Syst*, 1995, **30** (1995): 109-115
- 10 Pearson K. On lines and planes of closest fit to systems of points in space [J]. *Philos Mag*, 1901, **2** (6): 559-572
- 11 LU HF, Cheng CG, Tang X, Hu ZH. FTIR spectrum of *Hypericum* and *Triadenum* with reference to their identification [J]. *Acta Bot Sin*, 2004, **46** (4): 401-406
- 12 邹华彬, 袁久荣, 杜爱琴, 孙琳琳, 秦正冉. 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 [Zou HB, Yuan JR, Du AQ, Sun LL, Qin ZR. Common and variant peak ratio in IR fingerprint of extraction from *Radix Glycyrrhizae* by dual-index sequence analysis [J]. *Chin Trad Patent Med*, 2004, **26** (10): 779-783]
- 13 赵同芳, 王宪楷. 不同树生和石生金钗石斛成分的光谱和层析谱的研究[J]. 华西医科大学学报, 1986, **17** (4): 332-335 [Zhao TF, Wang XK. Studies on the application of spectra and thin-layer chromatography to the constituents of *Dendrobium nobile* cultivated on various trees and stone [J]. *J West China Univ Med Sci*, 1986, **17** (4): 332-335]
- 14 华文俊, 周洪雷, 孙勇. 石斛、天竺黄、牛蒡子与伪品的红外光谱比较[J]. 中医药研究, 2000, **16** (2): 53-54
- 15 邓月娥, 孙素琴, 牛立元. 不同产地金钗石斛红外光谱解析[J]. 河南科技学院学报, 2007, **35** (2): 38-40 [Deng YE, Sun SQ, Niu LY. Infrared spectrum features of *Dendrobium nobile* Lindl from different growth places [J]. *J Henan Inst Sci Technol*, 2007, **35** (2): 38-40]
- 16 李兆奎, 孙彩华, 李美琴. 铁皮石斛与几种常用混淆品的红外光谱鉴别[J]. 海峡药学, 2005, **17** (3): 91-93 [LI ZK, Sun CH, Li MQ. IR identification of *D. candidum* Wall ex Lindl from some common confused articles [J]. *Strait Pharm J*, 2005, **17** (3): 91-93]
- 17 陈祝霞, 时雅曼. 石斛类药材的红外光谱鉴别研究及其抗氧化活性比较[J]. 中国现代中药, 2007, **9** (8): 22-27 [Chen ZX, Shi YM. Studies on the IR spectra and antioxidative activities of 12 species plant from caulis *Dendrobium* [J]. *Mod Chin Med*, 2007, **9** (8): 22-27]
- 18 刘宁. 金钗石斛质量控制方法研究[R]. 北京: 北京中医药大学, 2009. 69-74
- 19 Wang CY, Xiang BR, Zhang W. Application of two-dimensional near-infrared (2D-NIR) correlation spectroscopy to the discrimination of three species of *Dendrobium* [J]. *J Chemom*, 2009, **23**: 463-470
- 20 白音. 药用石斛鉴别方法的系统研究[R]. 北京: 北京中医药大学, 2007. 69-81
- 21 吕献康, 程存归, 杨国平, 金勇, 叶涵, 徐东尉. 11种石斛植物的FTIR直接测定和主成分分析[J]. 中国中药杂志, 2005, **30** (10): 738-740 [Lü XK, Cheng CG, Yang GP, Jin Y, Ye H, Xu DW. Application of FTIR spectroscopy to the analysis of eleven kinds of *Dendrobium* [J]. *China J Chin Mat Med*, 2005, **30** (10): 738-740]
- 22 沈宗根, 吕洪飞, 程存归. 3种石斛属植物和细叶石仙桃的红外光谱分析和鉴定[J]. 西北植物学报, 2008, **28** (1): 97-102 [Shen ZG, Lü HF, Cheng CG. FTIR identification and analysis of three species in *Dendrobium* and *Pholidata cantonensis* [J]. *Acta Bot Bor-Occid Sin*, 2008, **28** (1): 97-102]
- 23 李莹, 孙卓然, 刘圆, 刘超. 不同种石斛的红外指纹图谱研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2009, **35** (5): 1024-1027 [李莹, 孙卓然, 刘圆, 刘超. Fingerprint analysis on different species of herba *Dendrobium* by IR [J]. *J Southwest Univ for Nationalities (Nat Sci Ed)*, 2009, **35** (5): 1024-1027]
- 24 赵前程, 王晓兰, 武中臣, 关洪斌. FTIR在中药研究中的应用及优化[J]. 时珍国医国药, 2011, **22** (6): 1466-1468 [Zhao QC, Wang XL, Wu ZC, Guan HB. Research of traditional Chinese medicine by Fourier transform infrared spectroscopy and its optimization [J]. *LISHIZHEN Med Mat Med Res*, 2011, **22** (6): 1466-1468]
- 25 李燕, 吴然然, 于佰华, 王俊德. 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 [Li Y, Wu RR, Yu BH, Wang JD. A review on applications of infrared spectroscopy to the study of traditional Chinese medicine [J]. *Spectrosc Spectral Anal*, 2006, **26** (10): 1846-1849]
- 26 王一兵, 吴卫红, 陈植成, 覃国乐, 姚辉璐, 黄庶识. 傅里叶变换红外光谱法和紫外-可见谱线组法分析广西特产罗汉果[J]. 光谱实验室, 2009, **24** (4): 907-911 [Wang YB, Wu WH, Chen ZC, Qin GL, Yao HL, Huang SS. Qualitative analysis of dry-fruit of *Siraitia Grosvenorii* by FT-IR and UV-Vis spectrometry [J]. *Chin J Spectrosc Lab*, 2009, **24** (4): 907-911]