

喀什树莓酒及其5种伪品的红外指纹图谱鉴别

楚刚辉, 阿吉姑·阿布都热西提, 丁晓丽
(喀什师范学院化学与环境科学系, 新疆 喀什 844000)

摘 要: 采用红外光谱法建立喀什树莓酒的指纹图谱, 对主要吸收峰进行指认, 并通过相似度分析和聚类分析法对10批树莓酒及5种伪品的红外图谱一致性进行考察。结果显示: 10批树莓酒的红外指纹图谱具有很好的一致性, 而且树莓酒及伪品通过相似度分析和聚类分析均能够很好地区分开来, 两种化学计量方法具有良好的相关性。说明本方法简便可靠, 是一种对树莓酒进行质量评价的好方法。

关键词: 喀什树莓酒; 伪品; 红外指纹图谱; 相似度; 聚类分析法

Infrared Spectral Fingerprint Discrimination between Raspberry Wine from Kashgar and Five Kinds of Counterfeits

CHU Gang-hui, Ajigu · ABDURXIT, DING Xiao-li
(Department of Chemistry and Environmental Science, Kashgar Teachers' College, Kashgar 844000, China)

Abstract: Ten batches of raspberry wine from Kashgar and five kinds of counterfeits were analyzed by infrared spectroscopy. The primary absorption peaks in the infrared spectral fingerprints were identified and similarity and cluster analysis were then carried out to find whether the infrared spectral fingerprints of raspberry wine and counterfeits are similar to one another. The results showed that the ten batches of raspberry wine from Kashgar had good similarity. Raspberry wine could be effectively discriminated from counterfeits by similarity and cluster analysis. A good correlation was observed between both chemical measurement methods. As a result, it can be concluded that the developed method is valid method for quality evaluation of raspberry wine.

Key words: raspberry wine from Kashgar; counterfeit; infrared spectral fingerprint; similarity; cluster analysis

中图分类号: R155.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)20-0157-05

树莓又称木莓、覆盆子等^[1], 据《本草纲目》记载, 覆盆子“气味甘、平、无毒, 有益肾固精缩尿壮阳作用”。中

国药典中注明覆盆子具有以下功能: 益肾固精缩尿, 养肝明目; 用于遗精滑精、遗尿尿频、阳痿早泄、目暗昏花^[2]。

树莓果实营养丰富, 含有丰富的人体必需的8种氨基酸、有机酸和钾、磷、钙、镁、铁等矿物质元素; 还含有多种维生素、鞣化酸、花青素、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、黄酮类物质等对人体有益的物质^[3-5]。喀什光热资源丰富, 盛产瓜果, 树莓是近年来喀什新兴发展的瓜果资源, 已经大批量生产树莓红酒, 品质较高, 远销国内外。

为了保证和提高树莓酒产品质量, 推进树莓的进一步产业化开发, 更好地开拓国际国内市场, 有必要制定一整套迅速、高效的质量控制方法。指纹图谱是近年来伴随现代分析技术发展起来的、从整体上研究中药等复杂物质体系的一种有效手段^[6-7], 该法实现产品质量分析和控制简便易行, 能在短时间内达到企事业单位对于产品质量分析和控制的目的^[8]; 目前该技术已广泛应用于中草药及其相关产品的质量^[9-13]控制方面, 对鉴别中药的真伪优劣及产品质量稳定性均具

有重要的参考价值; 具有分离效能高、分析速度快等优点^[14], 是目前逐步为国内外广泛接受的一种中药质量评价模式。

树莓酒因其含有中草药成分, 可通过指纹图谱研究方法进行质量控制, 指纹图谱用于保健酒的质量控制已有报道^[15], 而树莓酒的红外指纹图谱未见报道。本实验利用傅里叶变换红外光谱法研究喀什树莓酒及5种伪品的红外指纹图谱, 通过相似度分析与聚类分析对10批喀什树莓酒及5种伪品的红外指纹图谱的一致性进行考察, 建立喀什树莓酒的红外指纹图谱, 为该产品的品质评价和质量控制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

溴化钾(光谱纯) 天津光复精细化工研究所; 喀什树莓酒 喀什博瑞科技有限公司, 选择10个不同生产批次。5种伪品: 随机选取市售的5种不同品牌红酒, 依次

收稿日期: 2011-08-09

基金项目: 新疆维吾尔自治区高校科研计划重点项目(XJEDU2010I52)

作者简介: 楚刚辉(1973—), 男, 副教授, 硕士, 研究方向为药物及食品分析。E-mail: cghks5@126.com

为W1~W5。

1.2 仪器与设备

Nicolet IR200傅里叶变换红外光谱仪 美国Thermo公司; WS70-1型红外快速干燥箱 郑州长城科工贸有限公司; DF-4压片机 天津港东科技发展有限公司; 玛瑙研钵; DZF-6090型真空干燥箱 上海精宏实验设备有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品预处理

取10批喀什树莓酒及5种伪品各约4mL, 分别加入10mL称量瓶中, 半开盖, 在真空干燥箱中50℃、0.095MPa放置48h, 至充分干燥后备用。

1.3.2 红外光谱分析

用镊子挑取样品适量, 按样品与溴化钾为1:100比例加入事先干燥的溴化钾粉末, 在玛瑙研钵中混合研磨均匀, 选取适量, 20MPa压片, 保持3min, 红外光谱分析。

采用EZ OMNIC 7.3操作软件分析, 波数范围4000~400cm⁻¹, 光谱仪分辨率4cm⁻¹, 扫描信号累加16次。

1.4 相似度计算与聚类分析

对于两个红外指纹图谱矢量, 记为 X_i 、 X_j 。

$$X_i = [X_{i1}, X_{i2}, X_{i3}, \dots, X_{ik}, \dots, X_{in}]$$

$$X_j = [X_{j1}, X_{j2}, X_{j3}, \dots, X_{jk}, \dots, X_{jn}]$$

式中: X_{ik} 指第*i*个样品第*k*个波数处的透光率; X_{jk} 指第*j*个样品第*k*个波数处的透光率; 考察两个指纹图谱的相似度实质就是考察 X_i 、 X_j 为代表的两个矢量的相似度; 以平均值法获得10批样品对照指纹图谱数据矢量, 然后每个样品的指纹图谱数据矢量与对照矢量比较获得相似度^[16]。参考苗爱东等^[17]的方法进行相似度计算, 通过相似度结果对样本、异常样本及伪品做出判别。

相关系数 r_{ij} 的定义:

$$r_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^n (X_{ik} - M_i)(X_{jk} - M_j)}{\sqrt{\sum_{k=1}^n (X_{ik} - M_i)^2 \sum_{k=1}^n (X_{jk} - M_j)^2}}$$

式中: M_i 、 M_j 分别为矢量 X_i 、 X_j 的均值。

夹角余弦定义:

$$\cos \alpha_{ij} = \frac{\sum_{k=1}^n X_{ik} X_{jk}}{\sqrt{\sum_{k=1}^n X_{ik}^2 \sum_{k=1}^n X_{jk}^2}}$$

式中: α_{ij} 表示矢量 X_i 、 X_j 之间的夹角。

通过SPSS V17软件, 以波数为变量, 对各个样品对应的红外指纹图谱数据矢量进行Q型聚类^[18], 根据聚类结果对各样本类型做出判别。

2 结果与分析

2.1 方法学考察

2.1.1 精密度实验

取同一批号处理好的树莓酒样, 连续扫描6次, 所得6张红外光谱图重叠性良好, 几乎完全重叠, 表明测定结果具有很好的精密度, 结果见图1。

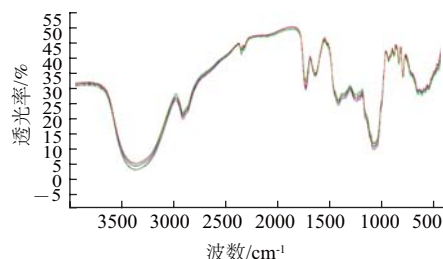


图1 树莓酒的精密度实验重叠图谱

Fig.1 Overlapped infrared spectra showing the precision of infrared analysis of raspberry wine

2.1.2 稳定性实验

取同一批号处理好的树莓酒样, 保存于干燥器中, 每小时测定1次, 连续测定6次, 结果图谱稳定性良好, 相似度分析均在0.98以上, 结果见表1。

表1 树莓酒的稳定性实验结果

Table 1 Stability analysis of infrared spectroscopy

时间/h	0	1	2	3	4	5
夹角余弦	0.995	0.997	0.999	0.998	0.998	0.999
相关系数	0.987	0.994	0.996	0.997	0.996	0.998

2.1.3 重现性实验

取同一批号处理好的树莓酒样, 平行压片6份, 分别测定, 结果图谱重现性良好, 相似度分析均在0.98以上, 结果见表2。

表2 树莓酒的重现性实验结果

Table 2 Reproducibility analysis of infrared spectroscopy

样品编号	1	2	3	4	5	6
夹角余弦	0.998	0.999	0.993	0.998	0.999	0.996
相关系数	0.995	0.998	0.989	0.996	0.997	0.994

2.2 指纹图谱建立

将10批处理好的树莓酒样分别压片, 按照1.3节方法进行实验, 分别获得10批树莓酒样的红外光谱图, 通过均值法得到10批树莓酒样的共有模式红外指纹图谱, 如图2所示。

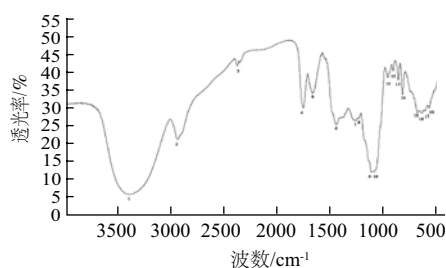


图2 树莓酒的红外指纹图谱

Fig.2 Infrared spectral fingerprint of raspberry wine

2.3 指纹图谱分析

2.3.1 共有峰的确定

通过对10批树莓酒样进行红外光谱分析与比较,确定18个共有峰作为喀什树莓酒红外指纹图谱的共有峰,1~18号峰波数分别为3400、2936、2361、1731、1634、1411、1228、1198、1079、1056、919、867、818、777、637、591、563、522 cm^{-1} ,见图2。

2.3.2 相似度评价

通过OMNIC 7.3红外操作软件得到的共有峰信息,以所有批次样品红外光谱中共有峰透光率的均值为参照,以相关系数和夹角余弦评价相似度,分别计算各批次树莓酒样品及伪品的相似度,结果见表3、4。

由表3、4可以看出,无论从相关系数还是夹角余弦来看,10批树莓酒样品相似度均较高,说明这10批样品质量稳定,它们之间具有很好的一致性;而5种伪品对树莓酒样品的相似度均较低,并且5种伪品之间相似度本身也存在差距。这些结果说明相似度可以用来对树莓酒样品进行质量评价,并能够有效区分伪品。

2.4 树莓酒样品及伪品的聚类分析

CASE	0	5	10	15	20	25
Label	Num	+	+	+	+	+
S3	3	++				
S10	10	++	++			
S1	1	++	++			
S2	2	++	+			
S6	6	++	++	++		
S8	8	++	+			
S7	7	++	++	+		
S9	9	++	++	+		
S4	4	++	+			
S5	5	++	++	++		
W4	14	++	++	++	++	
W5	15	++	++	++	++	++
W3	13	++	++	++	++	++
W1	11	++	++	++	++	++
W2	12	++	++	++	++	++

图3 树莓酒及伪品的聚类分析树状图

Fig.3 Cluster analysis dendrogram of raspberry wine and counterfeits

表3 树莓酒样品的红外指纹图谱分析结果

Table 3 Results obtained for infrared spectral analysis of raspberry wine

序号	峰位 波数/ cm^{-1}	透光率/%										均值
		S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	
1	3400	4.3	6.4	6.7	10.8	1.8	4.3	10.7	8.3	8.8	5.9	6.8
2	2936	20.5	26.2	21.1	28.8	19.5	24.6	29.4	25.3	30.9	23.3	25.0
3	2361	42	49.3	42.4	49.5	45.5	50.1	50.2	42.1	50.9	40.3	46.2
4	1731	29.6	38.3	32.7	42.2	32.8	36.5	42.7	36.4	42.4	32.8	36.6
5	1634	34	40.6	38.7	42.2	35.6	40.2	46.7	40	45.9	37.5	40.1
6	1411	24.9	31.1	27	34.7	22.9	29.8	37.4	31.8	36.3	27.2	30.3
	1371	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	1345	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
7	1228	26.1	33	28.9	37.7	25.0	32.2	38.6	33.6	38.2	28.8	32.2
8	1198	26.7	33.9	30.2	38.7	26.8	33.2	40.8	34.6	39.2	29.5	33.4
	1149	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
	1108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
9	1079	11	14.9	13.2	0	6.3	12.5	21.1	17.2	19.3	13	14.3
10	1056	10.9	14.7	12.9	21.1	6.1	12.4	21	17.3	19.2	12.9	14.8
11	919	38.6	45.9	41.1	46.1	40.1	46.4	52.4	45.6	51.5	41.3	44.9
12	867	40.6	47.7	43.3	50.2	40.8	53.8	54	46.7	53.5	43.1	47.4
13	818	38	44.9	42.6	49.1	36.7	47.2	52.5	45	51.1	40.9	44.8
14	777	33.6	40.1	38.6	45.6	32.0	43.5	41.6	41.1	46.7	36.9	40.0
	708	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
15	637	28.5	34.2	34.6	39.7	25.1	36.6	45	37.7	41	32.1	35.4
16	591	28.1	33.7	34.1	39	25.2	35.9	44.9	37.4	40.6	31.6	35.1
17	563	28.8	34.5	34.7	39.8	25.9	36.9	45.8	38.2	41.4	32.5	35.9
18	522	29.8	35.6	36.3	41	26.9	38.1	47.3	39.4	42.6	33.8	37.1
夹角余弦		0.999	0.999	0.999	0.994	0.992	0.999	0.998	0.999	0.999	0.999	1.00
相关系数		0.997	0.998	0.998	0.996	0.981	0.996	0.993	0.996	0.999	0.999	1.00

注: S1~S10为10批树莓酒样品。

表 4 伪品的红外指纹图谱分析结果
Table 4 Results obtained for infrared spectral analysis of counterfeits

峰位		透光率/%					共有模型均值
序号	波数/cm ⁻¹	W1	W2	W3	W4	W5	
1	3400	19.4	14.4	3.2	1.2	10.7	6.8
2	2936	34.6	28.9	19.2	15.5	34.1	25
3	2361	45.7	0	0	36.6	56	46.2
4	1731	43.5	35.7	27.3	27.3	54.3	36.6
5	1634	45.7	40.9	34.7	32.2	47.8	40.1
6	1411	42.9	39.2	24.6	24.2	42.7	30.3
	1371	43.9	0	0	0	0	0
	1345	0	0	27.5	27.5	0	0
7	1228	0	40.4	26.8	26.8	47.1	32.2
8	1198	0	0	0	0	0	33.4
	1149	39	0	0	0	0	0
	1108	37.6	36.2	0	0	30.3	0
9	1079	34.8	0	10.8	8.1	0	14.3
10	1056	33	32	10.2	7.8	23.3	14.8
11	919	52	49.7	41.8	44.9	56	44.9
12	867	54.7	52.7	43	44.6	59.9	47.4
13	818	55.7	53.3	42.7	42.6	58.9	44.8
14	777	52.7	52.4	39.4	37.7	56.3	40
	708	51.8	52.3	39.6	0	0	0
15	637	0	49.4	33.8	30.4	49.2	35.4
16	591	48.9	48.8	33.3	30.1	48.9	35.1
17	563	0	0	34.1	31	49.7	35.9
18	522	0	0	35.5	32.8	51	37.1
夹角余弦		0.737	0.779	0.859	0.946	0.956	1.00
相关系数		0.107	0.362	0.544	0.834	0.857	1.00

注：W1～W5 分别为 5 种品牌的红酒。

根据10批树莓酒样品及伪品的红外图谱分析结果(表3、4)，以各峰位的波数为变量，以各峰透光率为测度，通过SPSS V17统计分析软件进行Q型聚类分析，分析结果如图3、表5。

表 5 15个样本的聚类结果
Table 5 Cluster analysis of raspberry wine and counterfeits

样本	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	W1	W2	W3	W4	W5
6群集	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	4	5	6

由图3、表5可以看出，10批树莓酒样品及伪品被聚为6大类，其中10批树莓酒样品聚为1类，5种伪品各聚为1类，这也很好地解释了相似度分析的结果，说明通过聚类分析法也可以对树莓酒样品及伪品做出有效的区分鉴别。

2.5 树莓酒样品及伪品的红外指纹图谱比较

由于指纹图谱考察的是图谱的整体面貌，再加上是混合物的红外光谱，所以无需对每个峰做出归属。从树莓酒样品及伪品的红外图谱比较来看，有一定差异(图4)，树莓酒样品及伪品在3800～3100cm⁻¹区有一宽强峰，在3000～2800cm⁻¹区有一小肩峰，在这两个区它们吸收峰形相似，无明显差异；在2400～2300cm⁻¹区有一小肩峰，其中伪品W1与W4

没有这个峰；在1730cm⁻¹和1634cm⁻¹处树莓酒样品及伪品各有一中等强度的吸收峰，但强度比有差异；在1412cm⁻¹树莓酒样品及伪品有一中等强度的吸收峰；在1228cm⁻¹指纹区树莓酒样品及伪品有中强吸收峰，伪品W2没有这个峰；在1198cm⁻¹指纹区树莓酒样品有一小峰，而5种伪品没有；在1100～1000cm⁻¹区树莓酒样品有含两个小肩峰组成的宽强峰，伪品W1、W2、W5为一尖峰，伪品W3、W4较相似，它们的峰位有一定差异；在950～750cm⁻¹区，树莓酒样品及伪品均有4个峰919、867、818、777cm⁻¹；在700～500cm⁻¹区，树莓酒样品有4个并列的小肩峰637、591、563、522cm⁻¹，而伪品几乎没有这一特征。

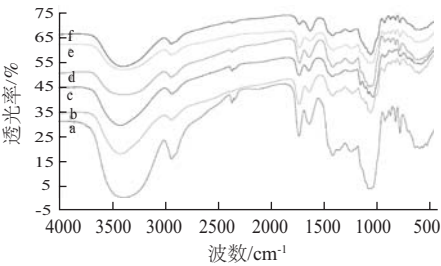


图 4 树莓酒及伪品的红外指纹图谱

Fig.4 Infrared spectral fingerprints of raspberry wine and counterfeits

3 结 论

本实验对10批喀什树莓酒样品的红外指纹图谱进行相似度考察,结果表明不同批号的树莓酒样品的红外指纹图谱相似程度较高,一致性良好;并考察5种伪品针对树莓酒样品的相似程度,表明它们之间相似度有一定差距,5种伪品之间也相似度各异。

采用聚类分析法对10批喀什树莓酒样品及5种伪品的红外指纹图谱进行Q型聚类,结果表明10批喀什树莓酒样品为一类,5种伪品各为一类。

以上结果说明相似度分析法和聚类分析法对10批喀什树莓酒样品及伪品的红外指纹图谱的分析结果相一致。

本实验初步建立了喀什树莓酒样品的红外指纹图谱及其研究方法,可用于该产品的质量控制;对树莓酒及伪品,采用相似度分析结合聚类分析法进行红外指纹图谱分析,结果较理想,为树莓酒样品的品质评价和质量控制提供参考依据,亦可为其他同类型产品建立红外指纹图谱分析方法提供借鉴。

参考文献:

- [1] 黄庆文. 树莓及其丰产栽培技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 4-72.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 359.
- [3] 王文芝. 树莓果实营养成分初报[J]. 西北园艺, 2001, 8(2): 13-14.
- [4] 赵文琦, 曲长福, 王翠华. 树莓的营养保健价值与市场前景浅析[J]. 北方园艺, 2007, 31(6): 114-115.
- [5] 刘建华, 张志军, 李淑芳. 树莓中功效成分的开发浅论[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 370-373.
- [6] 王苏静, 常世卿. 中药色谱指纹图谱技术与应用[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2008: 1-5.
- [7] HARANGI J. Chromatographic index-intensity fingerprint: identification of multicomponent samples[J]. Chromatographia, 2008, 68(Suppl 1): 77-83.
- [8] CUADRADO M U, DE CASTRO M D L, GOMEZ-NIETO M A. Study of spectral analytical data using fingerprints and scaled similarity measurements[J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 381(4): 953-963.
- [9] 刘荣霞, 周婷婷, 董婷霞, 等. 建立评价当归质量的HPLC指纹图谱分析方法[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(10): 757-760.
- [10] 周建良, 齐炼文, 李萍. 色谱指纹图谱在中药质量控制中的应用[J]. 色谱, 2008, 26(2): 153-159.
- [11] 易伦朝, 吴海, 梁逸曾. 色谱指纹图谱与中药质量控制[J]. 色谱, 2008, 26(2): 166-171.
- [12] 刘荣霞, 周婷婷, 董婷霞, 等. 建立评价当归质量的HPLC指纹图谱分析方法[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(10): 757-760.
- [13] 黄朝瑜, 赵陆华, 梅玲华, 等. 淫羊藿药材HPLC指纹图谱的研究[J]. 中国天然药物, 2003, 1(3): 146-149.
- [14] ABOURASHED E A, VANDERPLANK J R, KHAN I A. High-speed extraction and HPLC fingerprinting of medicined plants application topassiflora flavonoids[J]. Pharmaceutical Biology, 2002, 40(2): 81-91.
- [15] 魏新军, 孙勋强, 魏倩倩. 保健酒的高效液相色谱指纹图谱分析[J]. 酿酒科技, 2005, 26(12): 80-82.
- [16] 谢培山. 中药色谱指纹图谱[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 130-133.
- [17] 苗爱东, 孙殿甲. Excel 2002在中药指纹谱相似度计算中的应用[J]. 药学进展, 2003, 27(1): 51-54.
- [18] 杜强, 贾丽艳. SPSS统计分析从入门到精通[M]. 北京: 人民邮电出版社, 2009: 291-297.