



## 不同采收期的银杏叶 FTIR 图谱特征分析

谢伟光, 张黎明, 张小利

(天津科技大学生物工程学院, 天津市工业微生物重点实验室, 天津 300457)

**摘要:** 对不同采收期的银杏叶进行 FTIR 扫描测定, 凭借直观而相对量化的红外特征峰的相对强度来阐明不同采收期银杏叶各组分的全貌. 结果表明, 不同采收期银杏叶的 FTIR 谱图都有其各自的物质特征. 银杏叶 FTIR 图谱给出的是样品的整体信息, 提供的信息能很好地反映银杏叶组分的整体性, 比单一指标成分的测定所提供的信息要更多、更有特征, 适合对银杏叶的质量进行快速宏观整体评价, 此谱图有助于特征确定其合理的采收期.

**关键词:** 采收期; 银杏叶; FTIR 图谱; 特征分析

中图分类号: R282.5 文献标识码: A 文章编号: 1672-6510 (2007) 04-0037-04

### Characteristic Analysis of the FTIR Spectrogram of *Ginkgo Biloba* Leaves in Different Collecting Seasons

XIE Wei-guang, ZHANG Li-ming, ZHANG Xiao-li

(College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin Key Laboratory Industrial Microbiology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** *Ginkgo biloba* L. in different harvest seasons were determined by FTIR equipment in this article. The panorama of *Ginkgo Biloba* L. in different harvest seasons were illuminated by relative quantitative intensity of infrared characteristic peaks. The FTIR spectrometry of *Ginkgo Biloba* L. in different harvest seasons have different substance characters. The FTIR spectrometry present the more and better information about the panorama of *Ginkgo Biloba* L than that from single index ingredient, and is fit for evaluating the macroscopical quality. This help to ascertain reasonable seasons for *Ginkgo Biloba* L harvesting.

**Keywords:** collecting seasons; *Ginkgo biloba* leaves; FTIR spectrogram; characteristic analysis

银杏叶 (*Ginkgo biloba* L.) 中药用成分主要包括: 银杏黄酮 (Flavonoids)、萜内酯、原花青素、聚异戊烯醇、有机酸、银杏酸等, 其中银杏黄酮和萜内酯含量较大, 其效用也被广为认可<sup>[1]</sup>. 有人曾经制定了银杏黄酮类成分和内酯类成分的测定方法, 并对其化学成分进行了系统的分析研究<sup>[2-4]</sup>, 但由于银杏叶中的成分呈复杂化、多样化特性, 仅凭几个指标成分的测定不能全面反映其内在质量. 目前, 高效液相色谱 (HPLC) 指纹图谱方法已用于银杏叶有效成分的测定<sup>[5]</sup>. 然而, HPLC 条件要求苛刻, 耗时长, 工作量大, 需根据不同样品确定不同的分离条件, 操作较为繁琐. 红外光谱 (FTIR) 测定的是物质中分子的吸收光谱, 给出的是物质分子内部的综合信息, 只要有确定的化学组成就

会获得确定的红外光谱图. 现已用于各类中药材的快速鉴别和质量控制上, 是一种值得推广使用的研究中药指纹图谱的新方法<sup>[6-8]</sup>. 据文献<sup>[9,10]</sup>报道, 7 月份的绿色银杏叶和 10 月份的黄色银杏叶中有效成分的含量最高, 易于进行后续的提取和分离. 本文以 7 月份和 10 月份的银杏叶为原料, 利用傅里叶变换红外光谱仪对其进行了考察, 并分析了它们的各自特征, 为银杏叶的合理采收和质量控制提供理论依据.

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

干绿色和黄色银杏叶均在 7 月中旬和 10 月中旬

收稿日期: 2007-04-17; 修回日期: 2007-09-08

作者简介: 谢伟光 (1981—), 男, 天津人, 硕士研究生.

采摘于北京农学院;银杏叶标准提取物购自中国药品生物制品鉴定所. KBr 为光谱纯.

VECTOR 22 傅里叶变换红外光谱仪,德国布鲁克仪器公司;AB204-S 型分析天平,梅特勒-托利多仪器公司;DZG 型电热真空干燥箱,天津天宇试验仪器有限公司.

## 1.2 银杏叶中黄酮总含量的测定

准确称取烘干过 60 目筛子的银杏叶粉末 3.0 g,用精密滤纸包好,置于 500 mL 索氏提取器中,加入 400 mL 甲醇提取至流出液无色,大约 6 h,减压浓缩,用甲醇定容至 100 mL 容量瓶中,备用.准确移取样品液 1.0 mL,置 25 mL 容量瓶中,按标准曲线方法操作,并用 30%乙醇定容,以 60%乙醇溶液为空白,测定银杏叶总黄酮的含量.

## 1.3 银杏叶红外扫描实验

### 1.3.1 红外检测样品的制备

将待测样品粉碎,过 200 目筛;在 60 °C 下充分干燥后,分别取 2.0 mg 样品粉末与 150.0 mg 的 KBr 混合,在红外灯下研磨均匀,压片.

### 1.3.2 测定方法

将样品的 KBr 压片置于 FTIR 仪的测定窗口固定位置,按照设定的仪器条件,在 4 000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$  波数范围内扫描;分辨率为 4  $\text{cm}^{-1}$ ;扫描次数 16 次;实验条件保护室内干燥.通过 DTGS 检测器检测样品的光吸收强度,绘制出相应样品的红外光谱 (FTIR) 图.扫描时扣除  $\text{H}_2\text{O}$  和  $\text{CO}_2$  干扰.

## 2 结果与分析

### 2.1 工作曲线的绘制

按照文献[11]所述的方法得到计算芦丁含量  $C$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 与吸光度  $A$  间的回归方程为  $A = 11.9128C + 0.01576$ ,  $R = 0.9996$ ,  $P < 0.0001$ ,  $SD = 0.019$ ,  $N = 5$ . 线性范围为 0.0~0.13  $\text{mg}/\text{mL}$ .

### 2.2 方法学的考察

为了考察分析方法的可靠性,参照《中药注射液指纹图谱研究的技术要求(暂行)》,以银杏叶生品药材为例进行了精密度、稳定性和重现性的考察.

#### 2.2.1 稳定性测试

取同一样品片放入真空干燥器内保存,每隔 1 h 测定 1 次,5 h 内所得谱图基本一致,说明供试品在 5 h 内的稳定性较好.

#### 2.2.2 精密度测试

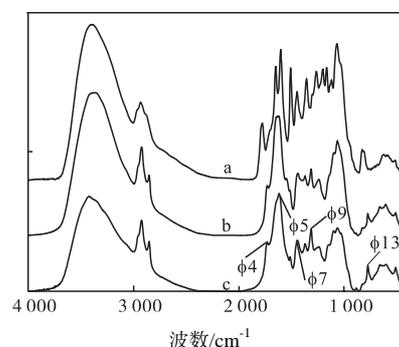
取同一样品供试片连续测定 5 次,所得红外谱图完全一致,说明仪器的精密度较好.

### 2.2.3 重现性测试

取同一种银杏叶供试样品 5 份,均压片进行红外扫描.结果表明,5 份样品的红外谱图均比较一致,重现性较好.

## 2.3 FTIR 图谱分析

银杏叶中已经发现了 100 多种化学成分,其中主要的化学成分有黄酮类、内酯类、萜类、生物碱、多糖类、氨基酸、微量元素等.因而用 FTIR 法测出的红外光谱也应是这些化合物红外吸收的叠加.图 1 所示,虽然两种样品的采收期不同,但是它们的红外光谱图极为相似,说明不同采收期银杏叶所含的主要化学成分是相似的.两种银杏叶中各组分对应的红外吸收峰的平均峰位和平均吸光度见表 1.



a. 标准提取物; b. 绿色银杏叶; c. 黄色银杏叶

图 1 银杏叶在不同采收期所得样品的 FTIR 谱图  
Fig. 1 FTIR spectrogram of *Ginkgo biloba* Leaves in different collecting seasons

表 1 银杏叶全组分的红外光谱图各峰的比较

Tab. 1 Comparison of the FTIR spectrogram of all groups in the *Ginkgo biloba* leaves

峰名	绿色银杏叶		黄色银杏叶	
	波数/ $\text{cm}^{-1}$	吸光度	波数/ $\text{cm}^{-1}$	吸光度
$\phi_1$	3 375	1.022 7	3 423	0.679 3
$\phi_2$	2 925	0.633 1	2 925	0.507 9
$\phi_3$	2 853	0.433 0	2 853	0.356 3
$\phi_4$	1 734	0.355 9	1 734	0.352 3
$\phi_5$	1 626	0.854 6	1 622	0.699 5
$\phi_6$	1 518	0.324 6	1 516	0.245 7
$\phi_7$	1 444	0.444 7	1 448	0.365 2
$\phi_8$	1 375	0.424 3	1 375	0.342 0
$\phi_9$	1 317	0.478 3	1 317	0.447 3
$\phi_{10}$	1 244	0.400 6	1 246	0.319 0
$\phi_{11}$	1 101	0.592 4	1 105	0.432 7
$\phi_{12}$	1 068	0.676 1	1 068	0.452 6
$\phi_{13}$	781	0.154 8	781	0.183 9
$\phi_{14}$	665	0.206 1	665	0.190 0
$\phi_{15}$	611	0.222 5	609	0.191 8
$\phi_{16}$	517	0.162 4	517	0.170 0

结合图 1 和表 1 综合分析显示,两种银杏叶的

FTIR 图谱中都出现了 16 个峰位基本相同的明显吸收峰,总体上可以看出两个采收期所得银杏叶的成分基本是相同的,但相同组分的含量存在明显差异.这种含量的差异主要表现在两种银杏叶 FTIR 图谱中所对应峰位的吸收强度均有或多或少的不同.下面用类似内标法对两种银杏叶的 FTIR 图谱进行进一步的半定量分析.

在分析了  $\varphi_1-\varphi_{16}$  的峰形和吸收强度之后,参照文献[12],选定  $\varphi_1$  作为分析的内标峰,用类似内标法进行半定量分析.

设待测组分的吸光度:  $A_s = \varepsilon_s C_s L_s$

内标物的吸光度:  $A_i = \varepsilon_i C_i L_i$

式中:  $A$  为吸光度;  $\varepsilon$  为摩尔吸收系数;  $C$  为样品含量;  $L$  为样品厚度.

由于  $A_s$  和  $A_i$  是在同一个样品片中测得的,故  $L_s = L_i$ , 则

$$K = \frac{\varepsilon_s}{\varepsilon_i} = \frac{A_s}{C_s L_s} \cdot \frac{C_i L_i}{A_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{C_i}{C_s}$$

由此组分含量比:  $\frac{C_s}{C_i} = \frac{A_s}{A_i} \cdot \frac{1}{K}$

由于在相同波数时,出现的吸收峰所对应的  $K$  值恒定,而在标样中  $C_s$  和  $C_i$  都是已知的,  $A_s$  和  $A_i$  可以从图谱中得到,故可求得  $K$  值,从而由峰值比求得相对含量比,见表 2.

表 2 银杏叶中全组分的相对含量对比

Tab. 2 Comparison of relative content of all groups in the *Ginkgo biloba* Leaves

峰名	绿色银杏叶	黄色银杏叶
$\varphi_1$	1.000 0	1.000 0
$\varphi_2$	0.619 0	0.747 7
$\varphi_3$	0.423 4	0.524 5
$\varphi_4$	0.348 0	0.518 6
$\varphi_5$	0.835 6	1.029 7
$\varphi_6$	0.317 4	0.361 7
$\varphi_7$	0.434 8	0.537 6
$\varphi_8$	0.414 9	0.503 5
$\varphi_9$	0.467 7	0.658 5
$\varphi_{10}$	0.391 7	0.469 6
$\varphi_{11}$	0.579 3	0.637 0
$\varphi_{12}$	0.661 1	0.666 3
$\varphi_{13}$	0.151 4	0.270 7
$\varphi_{14}$	0.201 5	0.279 7
$\varphi_{15}$	0.217 6	0.282 3
$\varphi_{16}$	0.158 8	0.250 3

注: 计算相对含量比值时将相同波数的  $1/K$  省去,这样不会影响同种组分在不同物质相对含量的对比.

以银杏叶标准提取物作对照,对比分析两种采收期银杏叶的红外光谱图,比较得出其共有的特征峰位

范围是  $(1\ 734 \pm 2) \text{cm}^{-1} \sim (517 \pm 2) \text{cm}^{-1}$ . 最具有代表性的是  $1\ 734 \pm 2$ 、 $1\ 624 \pm 3$ 、 $1\ 445 \pm 3$ 、 $1\ 375 \pm 1$ 、 $1\ 317 \pm 2$ 、 $1\ 244 \pm 2$ 、 $1\ 068 \pm 3$ 、 $781 \pm 2$ 、 $665 \pm 2$ 、 $610 \pm 1$ 、 $(518 \pm 1) \text{cm}^{-1}$ , 它们的吸光度值和物质的相对含量比值已经分别在表 1 和表 2 中列出. 通过对比发现两种采收期银杏叶的成分总体上是相同的,并且有着共同的吸收峰,但是相同组分在各自样品中的相对含量是不完全相同的. 绿色叶子的相对含量比值除了在  $\varphi_1$  处相同外,在其他各个峰位处均比黄色叶子的小,其中差异较大是  $\varphi_4$ 、 $\varphi_5$ 、 $\varphi_7$ 、 $\varphi_9$  和  $\varphi_{13}$  的吸收峰对应的组分,其相对含量比值的差值均大于 0.1,且  $\varphi_5$  的吸收峰对应物质成分的相对含量比值的差值接近于 0.2. 由此可以判断出 10 月份黄色银杏叶中各组分的含量均高于 7 月份绿色银杏叶各组分的含量,这与分光光度法测定 7 月份和 10 月份银杏叶中总黄酮的含量分别是 1.09% 和 1.25% 相符. 因此,银杏叶应在 10 月份的时候采收较为合理.

通过对两种样品的 FTIR 图谱分析和对比,可以清楚地看出它们之间的异同及产生相同峰位上的吸收峰的物质在其样品中的含量差别. 10 月份黄色银杏叶在  $\varphi_5$  处的相对含量比值超过了 1.0,这一指纹性特征形成了黄色银杏叶被指认的最具有准确的特质. 从而,这些差异和特征为确定银杏叶的合理采收期提供了理论依据.

### 3 结 论

不同的银杏叶组分及其含量不完全相同,表现在 FTIR 谱图上,峰形、峰高及峰的位置等存在差异. 这些差异为合理采摘银杏叶提供了实验依据. 另外,银杏叶 FTIR 图谱特征给出的是整个样品的整体信息,提供的信息能很好地反映银杏叶的全貌,比单一指标成分的测定所提供的信息要更多、更有用. 此方法与分离提取后进行鉴别分析的显著区别在于: 明显缩短分析时间,简化操作过程.

### 参 考 文 献:

[1] 张中朋,刘秀芬. 银杏叶提取物的发展概述[J]. 中药研究与信息,2005,7(2): 38—40.  
 [2] 颜玉贞,谢培山. HPLC-ELSD 法测定银杏叶中的 4 种萜类内酯含量[J]. 药物分析杂志,2001,21(3): 173—176.  
 [3] 张秀全,蒲风玲. 银杏叶在不同月份的水分和总黄酮的含量测定[J]. 中国中药杂志,1995,20(12): 723—724.  
 [4] Gao Y, Chu Q, Fang Y, et al. Analysis of flavonoids in

- Ginkgo biloba L. and its phytopharmaceuticals by capillary electrophoresis with electrochemical detection [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2002, 374 (2): 294—299.
- [5] 孔令义. 中药创新研究与高新技术应用[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004.
- [6] 洪庆红, 李丹婷, 郝朝运. 应用 FTIR 直接测定法鉴定大豆的品种[J]. *光谱学与光谱分析*, 2005, 25 (8): 1246—1249.
- [7] 陈亚, 江滨, 曾元儿. 红外光谱在中药鉴别中的应用[J]. *广西中医药大学学报*, 2004, 21 (3): 237—240.
- [8] 黄昊, 孙素琴, 许锦文, 等. 药用植物化学分类法与红外指纹图谱的相关性研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2003, 23 (2): 253—257.
- [9] 鞠建明, 段金厥, 钱大伟, 等. 不同树龄邳州银杏叶在不同采收期指纹图谱比较[J]. *中草药*, 2005, 36 (9): 1388—1391.
- [10] 李莉, 田士林, 郑芳. 银杏叶不同时期黄酮含量测定与比较[J]. *安徽农业科学*, 2006, 34 (11): 2370—2414.
- [11] 雷天乾, 叶新兰, 项立红, 等. 银杏叶及提取物总黄酮含量测试方法研究[J]. *中国医药工业杂志*, 2002, 33 (2): 70—71.
- [12] 谭仁祥, 孟军才, 陈道峰, 等. 植物成分分析[M]. 北京: 科学出版社, 2002.

(上接第 36 页)

### 3 结 语

本文描述了样品前处理装置的操作过程和使用方法. 通过实验证实, 该方法特别适用于水果、蔬菜及各种农产品中微量农药残留物的提取富集, 大大降低了农药残留物的检出限. 在食品安全领域有十分重要的意义.

### 参 考 文 献:

- [1] 陈义. 高通微量分析[J]. *化学进展*, 2005, 17 (4): 573—580.
- [2] 端裕树, 山部惠子, 高桥雅俊, 等. 采用自动前处理 LC/MS 进行血浆中药物的快速分析[J]. *分析科学学报*, 2005, 21 (3): 313—315.
- [3] 叶明立, 朱岩. ASE 加速溶剂萃取技术在食品、农残方面的分析应用[J]. *现代科学仪器*, 2003 (1): 35—37.
- [4] 赵晓萌, 于同泉, 朱高群, 等. 气相色谱-质谱法检测蔬菜和水果中 35 种农药残留[J]. *色谱*, 2005, 23 (3): 328.
- [5] 陈皓, 周瑛, 王萍亚, 等. 气相色谱法测定蔬菜和水果中的有机磷残留农药[J]. *浙江工业大学学报*, 2004, 32 (5): 585—588.
- [6] 王敬尊, 翟慧生. 复杂样品的综合分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 8.