

# 霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶多级红外光谱快速鉴定研究

陈乃东

皖西学院生物与制药工程学院, 安徽 六安 237012

**摘要** 将石斛的鲜花干制成花茶, 作为保健饮料日渐为市场接受。由于口感、药理活性与产量的差异, 不同来源的石斛花茶, 价格差异显著, 其中以霍山石斛花茶价格最高。在经济利益驱使下, 以价格较低的铁皮石斛、河南石斛花茶冒充霍山石斛花茶时有发生, 急需构建霍山石斛花茶与铁皮石斛、河南石斛花茶的鉴定方法。建立一种快速鉴定霍山石斛、铁皮石斛、河南石斛花茶多级红外光谱方法。收集不同企业生产的不同批次的霍山石斛、铁皮石斛、河南石斛花茶样品, 利用衰减全反射测定  $4\ 000\sim 400\ \text{cm}^{-1}$  范围内一维红外光谱; 一维红外光谱通过数据变换获得二阶导数光谱; 利用温度微扰获得二维红外光谱。分析一维红外光谱、二阶导数光谱、二维红外光谱获得三种石斛花茶区别。结果显示, 三种石斛花茶的一维红外光谱非常相似, 很难从外观上看出三者的区别。分析一维红外光谱吸收峰发现, 霍山石斛花茶在  $1\ 398\ \text{cm}^{-1}$  有特征峰, 铁皮石斛花茶在  $1\ 542\ \text{cm}^{-1}$  有特征峰, 河南石斛花茶在  $1\ 610, 1\ 332, 811, 703$  和  $603\ \text{cm}^{-1}$  等处有特征峰; 二阶导数处理能明显的提高光谱分辨率、增加光谱灵敏度。三种石斛花茶在  $1\ 800\sim 600\ \text{cm}^{-1}$  的二阶导数光谱上, 可以观察到明显差异: 在  $1\ 750\sim 1\ 690\ \text{cm}^{-1}$  区间, 相对铁皮石斛与河南石斛, 霍山石斛花茶二阶导数光谱呈明显“M”形; 在  $1\ 140\sim 1\ 080\ \text{cm}^{-1}$  区间, 霍山石斛与河南石斛二阶导数光谱呈“W”型, 铁皮石斛呈不规则形; 在  $1\ 000\sim 930\ \text{cm}^{-1}$  区间, 霍山石斛花茶二阶导数光谱为“M”形, 铁皮石斛与河南石斛花茶呈“W”形; 二维红外光谱显示, 在  $1\ 230\sim 1\ 130\ \text{cm}^{-1}$  区间, 霍山石斛有 5 个分别位于  $1\ 134, 1\ 155, 1\ 182, 1\ 196$  和  $1\ 211\ \text{cm}^{-1}$  的自动峰, 铁皮石斛有 2 个分别位于  $1\ 186$  和  $1\ 210\ \text{cm}^{-1}$  的自动峰, 河南石斛有 3 个自动峰, 位于  $1\ 186, 1\ 197$  和  $1\ 209\ \text{cm}^{-1}$ 。霍山石斛在  $1\ 230\sim 1\ 130\ \text{cm}^{-1}$  区间存在正相关峰( $1\ 182$  和  $1\ 210\ \text{cm}^{-1}$ )、正相关峰( $1\ 135$  和  $1\ 181\ \text{cm}^{-1}$ )、负相关峰( $1\ 197, 1\ 155\ \text{cm}^{-1}$ ), 而河南石斛和铁皮石斛在该区间没有明显的相关峰。根据一维、二阶导数和温度微扰二维红外光谱可以快速鉴别霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶。

**关键词** 霍山石斛; 铁皮石斛; 河南石斛; 花茶; 多级红外光谱

**中图分类号:** O657.3    **文献标识码:** A    **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)08-2598-07

## 引言

霍山石斛(*Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng)为兰科石斛属植物、安徽道地药材<sup>[1-2]</sup>, 具有滋阴养胃、清热生津、润肺止咳之功效; 含多糖<sup>[3-6]</sup>、生物碱等<sup>[7-8]</sup>, 具有增强免疫、明目、延缓衰老等多种功效<sup>[9-11]</sup>。近年来, 由于需求增加, 导致以霍山石斛为代表的石斛类药材价格急剧上升。作为石斛资源综合利用的一部分, 将石斛的鲜花干制成花茶, 作为保健饮料日渐为市场接受。然而, 由于产量、口感与药理活性的差异, 不同来源的石斛花茶, 价格差异显著, 其中以霍山石斛花茶价格最高, 市场价近  $3\ 000\sim 5\ 000$

元· $\text{kg}^{-1}$ 。在经济利益驱使下, 市场上以价格较低的铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo.)、河南石斛(*Dendrobium henanense* J. L. Lu et L. X Gao)<sup>[2]</sup>花茶冒充霍山石斛花茶时有发生, 急需构建霍山石斛花茶与铁皮石斛、河南石斛花茶鉴定方法。

作为亲缘关系相近的石斛属植物, 霍山石斛与铁皮石斛、河南石斛鲜花的形态相近<sup>[2]</sup>, 形态学上主要区别在于铁皮石斛与河南石斛花的唇瓣有一紫色斑块, 而霍山石斛花的唇瓣白色、无斑块[图 1(a,b,c)]。当加工成花茶后, 铁皮石斛与河南石斛花唇瓣上的紫色斑块消失[图 1(d,e,f)], 极大提高了鉴别难度。

收稿日期: 2019-02-19, 修订日期: 2019-06-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(81573536, 81274021), 安徽省科技重大专项(201903a07020017)资助

作者简介: 陈乃东, 1972年生, 皖西学院生物与制药工程学院教授    e-mail: 2004cnd@163.com



图 1 霍山石斛(a, d)、铁皮石斛(b, e)、河南石斛(c, f)花及其花茶

Fig. 1 The flowers and the flower tea of *D. huoshanense* (a, d), *D. officinale* (b, e) and *D. henanense* (c, f)

中药材粉末的红外光谱具有一定的“指纹”性，借助红外特征吸收谱图的差异可达到区分和鉴别中药材的目的。将包括一维红外光谱(ATR-FTIR 谱)、二阶导数光谱(SD-IR 谱)、二维红外光谱(2D COS IR 谱)的多级红外光谱技术，用于中药材的真伪鉴定及其质量控制，可极大提升红外光谱区分复杂样品间细微差别的能力<sup>[12]</sup>。有鉴于此，本实验拟采用多级红外光谱技术，建立三种石斛花茶基于 ATR-FTIR 谱、SD-IR 谱以及温度微扰 2D COS IR 谱的多级红外指纹图谱，探讨霍山石斛花茶与铁皮石斛、河南石斛花茶的区别，构建快速、高效的霍山石斛、铁皮石斛、河南石斛花茶多级红外鉴定方法，为霍山石斛花茶真伪鉴定与质量控制提供参考依据。

## 1 实验部分

### 1.1 样品

实验材料霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶于 2018 年 7 月购自霍山、金寨不同的花茶生产企业不同批次加工的花茶(表 1)。103 °C 红外烘箱烘干至恒重，粉碎，过 40 目筛，备用。

### 1.2 仪器

傅里叶变换红外光谱仪 Nicolet iS50(美国热电)、YGH-500S/BS 红外烘箱(上海跃进医疗器械有限公司)、FA-1004 型电子分析天平(上海精科天平厂)等。

### 1.3 数据采集

精密称取 1.1 节制备的霍山石斛、铁皮石斛、河南石斛花茶供试品粉末，在 4 000~400  $\text{cm}^{-1}$  范围内采集 ATR-FT-

IR 红外光谱，间隔 4  $\text{cm}^{-1}$ ，每个样品累积扫描 16 次。然后将不同石斛花茶样品装入变温附件，温度从 60 °C 逐步升高至 120 °C，每升 15 °C 采集一次 ATR-FTIR 红外光谱。每个样品重复采集三次光谱，取平均值。实验设 5 个重复。

### 1.4 数据分析

利用仪器自带的 OMNIC 分析软件，对采集的 ATR-FT-IR 谱，进行光滑处理、自动基线校正、纵坐标归一化处理，对每一个样品的五个重复实验测定结果取平均谱，作为该样品 ATR-FTIR 标准谱。从软件中导出峰位、峰强等信息，对比分析确定三种石斛花茶的 ATR-FTIR 特征峰。

利用 OMNIC 软件对三种石斛花茶的平均 ATR-FTIR 谱进行二阶导数转换获 SD-IR 谱，对比分析三种石斛花茶 SD-IR 谱差异。

基于三种石斛花茶的平均 ATR-FTIR 光谱及其经过数据转化获得的 SD-IR 光谱，利用 OMNIC 软件对不同地区、不同厂家、不同生产批次的石斛花茶进行相似度对比研究。

将 1.3 节采集的温度微扰下的红外谱进行自动光滑、自动基线校正、纵坐标归一化等处理后，利用 OMNIC 软件中的 Spectra Corr 二维相关分析软件处理，获得温度动态谱即温度微扰 2D COS IR 谱。分析对比确定三种石斛花茶二维红外光谱存在稳定差别区域，分析在该区域里三种供试品的自动峰的峰位、峰强，相关峰的峰位及其正、负性。

### 1.5 方法学考察

#### 1.5.1 稳定性实验

按 1.3 节所述方法，随机取 1.1 节制备供试品 1.0 g，每隔 2 h 采集 1 次 ATR-FTIR 谱，连续测定 6 次，利用 OMNIC 中相似度分析软件分析 6 次采集的 ATR-FTIR 谱相似度均

表 1 石斛花茶样品

Table 1 The *Dendrobium* flower tea samples

样品名称	样品编号 <sup>a</sup>	产地	采样地	批次编号	
霍山石斛花茶	DHS1-15, DHS25-30	霍山	天下泽雨生物技术有限公司、斛生记生物技术有限公司、亿康生物技术有限公司、沁徽堂生物技术有限公司、益生源生物技术有限公司	第一批	DHS-HS-I
				第二批	DHS-HS-II
				第三批	DHS-HS-III
				第四批	DHS25-30
河南石斛花茶	DHS16-24, DHS31-34	金寨	金泽生物技术有限公司、金明石斛种植专业合作社、启润石斛种植专业合作社	第一批	DHS-JZ-I
				第二批	DHS-JZ-II
				第三批	DHS-JZ-III
				第四批	DHS31-34
铁皮石斛花茶	DHN1-15, DHN25-30	霍山	天下泽雨生物技术有限公司、斛生记生物技术有限公司、亿康生物技术有限公司、沁徽堂生物技术有限公司、益生源生物技术有限公司	第一批	DHN-HS-I
				第二批	DHN-HS-II
				第三批	DHN-HS-III
				第四批	DHN25-30
铁皮石斛花茶	DHN16-24, DHN31-34	金寨	金泽生物技术有限公司、金明石斛种植专业合作社、启润石斛种植专业合作社	第一批	DHN-JZ-I
				第二批	DHN-JZ-II
				第三批	DHN-JZ-III
				第四批	DHN31-34
铁皮石斛花茶	DO1-15, DO25-30	霍山	天下泽雨生物技术有限公司、斛生记生物技术有限公司、亿康生物技术有限公司、沁徽堂生物技术有限公司、益生源生物技术有限公司	第一批	DO-HS-I
				第二批	DO-HS-II
				第三批	DO-HS-III
				第四批	DO25-30
铁皮石斛花茶	DO16-24, DO31-34	金寨	金泽生物技术有限公司、金明石斛种植专业合作社、启润石斛种植专业合作社	第一批	DO-JZ-I
				第二批	DO-JZ-II
				第三批	DO-JZ-III
				第四批	DO31-34

注: a: 编号方法: 霍山县的五个企业每个生产批次取样一个, 第一批次 5 个样品编号 1—5, 第二批次 5 个样品编号 6—10, 第三批次 5 个样品编号 11—15; 金寨县的三家企业每个生产批次取样一个, 第一批次 3 个样品编号 16—18, 第二批次 3 个样品编号 19—21, 第三批次 3 个样品编号 22—24; 第四批取样方法与前三批相同, 编号分别为 DHS25-34, DHN25-34, DO25-34, 用于外部验证实验, 用于检验构建的方法的准确度

Note: a: The method of number the samples: the first batch of flower tea from the five manufactures in Huoshan county were numbered 1—5, the five samples in the second batch were numbered 6—10, then 11—15 for the five samples in the third batch. The first batch of flower tea from the three manufactures in Jinzhao County were numbered 16—18, the three sampmes in the second batch were numbered 19—21, then 22—24 for the three samples in the third batch. The collecting method of the fourth batch numbered DHS25-34, DHN25-34 and DO25-34, which was applied for the external test to confirm the accuracy of the established multi-step ATR-FTIR method, was same as the first 3 batches

大于 99%, 提示结果在 12 h 之内基本稳定。

### 1.5.2 重现性实验

按 1.3 节所述方法, 随机取 1.1 节制备霍山石斛花茶供试品 6 份, 每份 1.0 g, 测其 ATR-FTIR 谱, 用 OMNIC 中相似度分析软件分析其 ATR-FTIR 谱的相似度均大于 99%; 继续按 1.3 节所述方法, 获得 2D COS IR 谱, 收集 6 个样品的自动峰峰位、峰强, 以及相关峰的峰位、峰强、正/负相关性等数据, 运用 SPSS 软件进行相关性分析, 6 份供试品 2D COS IR 谱相关系数均大于 0.99, 表明该方法具有较好的重现性。

### 1.5.3 精密度实验

从 1.1 节制备供试品随机取一样品, 按 1.3 节所述方法, 重复采集 5 次光谱, 将 5 个光谱进行相似度分析, 相似度均大于 0.99, 表明仪器精密度良好。

### 1.6 外部验证实验

三种石斛花茶第四批样品 DHS25-34, DHN25-34, DO25-34, 按 1.3 节所述方法, 采集数据, 按 1.4 节所述方法进行数据分析。

采用基于前三批样品构建的三种石斛花茶鉴定特征, 鉴定第四批样品的花茶种类。

## 2 结果与讨论

### 2.1 霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶 ATR-FTIR 谱分析

霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶的 ATR-FTIR 谱(图 2)非常类似, 很难从谱线看出三者的区别。基于三种石斛花茶平均 ATR-FTIR 谱的相似度分析显示(表 2), 三种石斛花茶相似度为 83.1%~89.7%, 提示三种石斛花茶化学成分存在差异。来自霍山、金寨不同批次的霍山石斛花茶之间的相似度分别为 99.1%~99.5%, 98.7%~99.1%; 来自霍

山、金寨不同批次的铁皮石斛花茶相似度分别为 98.1%~98.6%, 98.6%~99%; 来自霍山、金寨不同批次的河南石斛花茶相似度分别为 97.6%~98.3, 97.9%~98.2%, 说明产地和批次对三种石斛花茶的品质影响较小。分析各样品 ATR-FTIR 谱峰位、峰强等数据后发现, 霍山石斛花茶在

1 398  $\text{cm}^{-1}$  有稳定的特征峰, 铁皮石斛花茶在 1 542  $\text{cm}^{-1}$  有稳定的特征峰, 河南石斛花茶在 603, 703, 811, 1 332 和 1 610  $\text{cm}^{-1}$  等波数处有特征峰, 根据这些 ATR-FTIR 谱的特征峰, 可以初步鉴别三种石斛花茶。

表 2 不同石斛花茶基于 ATR-FTIR 光谱的相似度对比结果

Table 3 The similarity coefficients of the 3 kinds of flower tea based on their ATR-FTIR spectrum (%)

相似度	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
A	100	99.5	99.3	98.0	97.8	97.9	85.6	87.2	84.9	84.5	85.2	85.7	87.8	86.8	85.9	84.8	85.1	85.3
B		100	99.1	98.1	98.0	98.1	84.2	86.1	83.1	85.5	86.9	85.2	88.8	85.6	86.1	87.3	85.6	86.3
C			100	97.6	97.2	97.3	86.1	85.7	84.2	86.1	87.2	83.3	87.2	86.5	85.4	85.7	85.4	85.5
D				100	99.1	98.7	85.3	86.2	85.9	87.3	86.4	84.5	86.8	85.7	86.2	86.4	86.5	86.9
E					100	98.8	84.2	86.1	86.3	84.7	85.7	84.4	86.0	87.1	85.5	85.6	86.0	87.1
F						100	84.6	85.2	86.6	86.5	86.6	84.8	85.9	86.8	85.0	85.6	85.5	85.7
G							100	98.6	98.1	97.6	97.9	97.8	89.3	88.2	88.6	88.2	87.2	89.2
H								100	98.6	97.7	97.5	98.0	88.6	89.0	89.7	87.2	87.5	88.0
I									100	97.5	97.9	97.6	87.5	87.9	88.4	88.6	88.7	89.1
J										100	98.6	98.9	88.5	88.5	88.6	87.7	89.5	89.4
K											100	99.0	89.6	87.3	87.2	89.5	88.7	89.5
L												100	89.7	87.6	87.9	89.1	88.6	89.0
M													100	98.1	97.6	96.2	97.0	96.7
N														100	98.3	97.1	97.5	96.9
O															100	96.5	96.2	97.1
P																100	97.9	98.2
Q																	100	98.0
R																		100

A: DHS-HS-I; B: DHS-HS-II; C: DHS-HS-III; D: DHS-JZ-I; E: DHS-JZ-II; F: DHS-JZ-III; G: DO-HS-I; H: DO-HS-II; I: DO-HS-III; J: DO-JZ-I; K: DO-JZ-II; L: DO-JZ-III; M: DHN-HS-I; N: DHN-HS-II; O: DHN-HS-III; P: DHN-JZ-I; Q: DHN-JZ-II; R: DHN-JZ-III

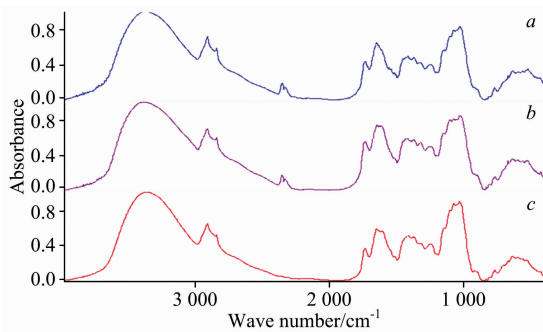


图 2 三种石斛花茶的 ATR-FTIR 谱 (4 000~400  $\text{cm}^{-1}$ )

a: 霍山石斛; b: 铁皮石斛; c: 河南石斛

Fig. 2 The ATR-FTIR spectra of the 3 kinds of *Dendrobium* flower tea in the range of 4 000~400  $\text{cm}^{-1}$

a: *D. huoshanense*; b: *D. officinale*;  
c: *D. henanense*

2.2 霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶的 SD-IR 谱分析

基于三种石斛花茶 SD-IR 谱的相似度分析(表 3)可见, 三种石斛花茶相似度为 70.9%~87.9%, 明显低于基于 ATR-FTIR 谱的相似度, 提示二阶导数处理能明显的提高光谱分辨率, 一定程度上增加光谱灵敏度。金寨的霍山石斛、

铁皮石斛与河南石斛花茶不同批次间相似度依次为: 92.9%~93.9%, 90.0%~91.0%, 90.9%~93.2%, 霍山的霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶不同批次间相似度依次为: 92.0%~93.2%, 90.3%~93.8%, 91.8%~94.6%, 进一步证明不同产地和批次的霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶品质相对稳定。三种石斛花茶在 1 800~600  $\text{cm}^{-1}$  的 SD-IR 谱(图 3)上, 可以观察到明显差异: 在 1 750~1 690  $\text{cm}^{-1}$  区间, 相对铁皮石斛与河南石斛, 霍山石斛花茶 SD-IR 谱呈明显“M”形; 在 1 140~1 080  $\text{cm}^{-1}$  区间, 霍山石斛与河南石斛 SD-IR 谱呈深“W”型, 铁皮石斛呈不规则形; 在 1 000~930  $\text{cm}^{-1}$  区间, 霍山石斛花茶 SD-IR 谱为“M”形, 铁皮石斛与河南石斛花茶呈“W”形。SD-IR 谱能更好地分辨 ATR-FTIR 谱图中的重叠峰, 根据三种石斛花茶的 SD-IR 谱在上述波段的差异, 可直接区分霍山石斛花与铁皮石斛花、河南石斛花茶。

2.3 山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶的 2D COS IR 谱鉴别

石斛属植物含有多糖、萜类、联苲类, 具 C—O—、CH<sub>2</sub>、C—O—C—、—C=C 基团和一些含有 C 和 O 的环, 这些基团适合温度微扰下 2D COS IR 谱分析<sup>[10]</sup>。本实验采集的温度微扰下石斛花茶 2D COS IR 谱, 由于不同成分对温度升高的响应方式不同, 因此可获得更多不同石斛花茶的差

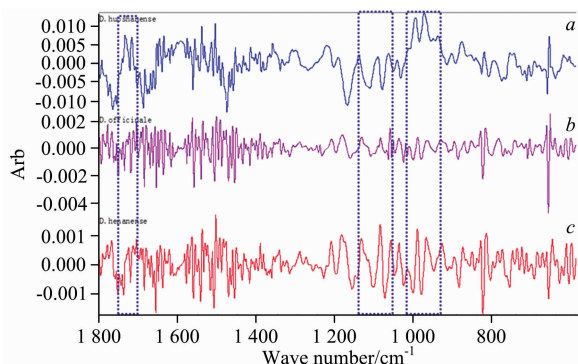


表 3 不同石斛花茶基于 SD-FTIR 光谱的相似度对比结果

Table 3 The similarity coefficients of the 3 kinds of flower tea based on their SD-FTIR spectrum (%)

相似度	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R
A	100	93.2	94.3	92.6	91.8	91.9	81.6	82.7	81.3	80.2	79.1	79.3	71.3	72.1	75.8	74.6	75.2	74.4
B		100	92.0	91.1	90.5	92.1	78.2	80.2	81.3	80.7	80.8	79.2	72.8	71.6	71.6	73.7	76.5	73.6
C			100	91.5	92.7	91.3	80.2	79.1	82.4	81.6	82.7	81.7	74.2	72.5	74.5	73.6	74.5	72.9
D				100	93.9	93.7	83.1	82.6	79.5	78.7	79.6	81.4	72.8	75.7	76.2	74.6	73.8	71.9
E					100	92.9	84.2	86.1	86.3	84.7	85.7	80.3	73.2	74.2	75.2	72.7	74.0	71.7
F						100	81.4	82.5	80.5	81.3	80.8	81.9	70.9	71.8	73.0	76.1	75.5	77.5
G							100	92.6	90.3	91.6	90.9	89.8	80.3	87.2	86.8	82.8	82.7	82.9
H								100	93.8	91.1	91.5	91.1	84.6	85.0	87.9	82.7	85.7	85.1
I									100	90.6	91.8	91.6	85.7	87.9	88.4	86.8	85.5	83.4
J										100	90.7	90.7	85.8	85.8	84.6	84.2	85.8	84.9
K											100	91.0	83.9	83.7	81.2	81.1	81.8	85.9
L												100	87.7	86.7	84.5	81.9	80.8	82.3
M													100	93.1	94.6	91.2	92.0	91.3
N														100	91.8	91.4	90.4	90.9
O															100	91.7	90.1	92.2
P																100	90.9	92.8
Q																	100	93.2
R																		100

A; DHS-HS-I; B; DHS-HS-II; C; DHS-HS-III; D; DHS-JZ-I; E; DHS-JZ-II; F; DHS-JZ-III; G; DO-HS-I; H; DO-HS-II; I; DO-HS-III; J; DO-JZ-I; K; DO-JZ-II; L; DO-JZ-III; M; DHN-HS-I; N; DHN-HS-II; O; DHN-HS-III; P; DHN-JZ-I; Q; DHN-JZ-II; R; DHN-JZ-III

图 3 三种石斛花茶 SD-IR 谱(1 800~600 cm<sup>-1</sup>)

a: 霍山石斛; b: 铁皮石斛; c: 河南石斛

Fig. 3 The SD-IR spectra of the 3 kinds of *Dendrobium* flower tea in the range of 1 800~600 cm<sup>-1</sup>

a: *D. huoshanense*; b: *D. officinale*;

c: *D. henanense*

异信息。为了克服基线漂移,不同温度微扰后采集的红外光谱先进行自动基线校正、纵坐标归一化等处理后,再进行二维相关分析,以进一步寻找霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶的差异。分析发现,在 1 230~1 130 cm<sup>-1</sup>波数范围内,三种石斛花茶 2D COS IR 谱的自动峰数量、位置、强度差异显著(图 4,表 4);霍山石斛、铁皮石斛、河南石斛花茶自动峰的个数分别为 5, 2 和 3 个,且自动峰强度明显不同(表 4)。其中,霍山石斛自动峰位于 1 134, 1 155, 1 182, 1 196 和 1 211 cm<sup>-1</sup>,河南石斛在 1 186, 1 197 和 1 209 cm<sup>-1</sup>处有自动峰,铁皮石斛在 1 186 和 1 210 cm<sup>-1</sup>处有自动峰;霍山

石斛存在(1 182 和 1 210 cm<sup>-1</sup>)、(1 135 和 1 210 cm<sup>-1</sup>)、(1 135 和 1 181 cm<sup>-1</sup>)处正相关交叉峰,(1 197 和 1 155 cm<sup>-1</sup>)负相关交叉峰,河南石斛和铁皮石斛仅在(1 182 和 1 210 cm<sup>-1</sup>)有正相关交叉峰[图 4(a,b,c)]。

表 4 三种石斛样品的自动峰及强度

Table 4 The auto peaks and their relative intensity on 2D COS IR spectra among the 3 *Dendrobium* samples. (intensity value:  $\times 10^{-4}$ )

	1 210	1 196	1 186	1 182	1 155	1 134
河南石斛	8	6	8	0	0	0
霍山石斛	19	6	0	9	4	8
铁皮石斛	9	0	9	0	0	0

注:加粗表示负相关峰

因此,与 ATR-FTIR 谱、SD-IR 谱相比,温度微扰 2D COS IR 谱可显著放大不同石斛花茶样品间差别,表观分辨率明显提高,使得形态学极为相似的霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶很容易区分,可为其鉴别提供可靠依据。在本实验条件下,根据 1 230~1 130 cm<sup>-1</sup>波数范围内 2D COS IR 谱相关峰的个数、位置、强度以及交叉峰的位置、正负,可以区分霍山石斛、铁皮石斛与河南石斛花茶。

#### 2.4 外部验证实验结果

通过对比分析,在第四批样品中,均检测出基于前三批样品发现的 ATR-FTIR 特征峰、在 SD-IR 光谱上观察到三种花茶的特异峰型、在 1 230~1 130 cm<sup>-1</sup>波数范围内 2D COS IR 谱相关峰,表明本实验构建的多维红外光谱鉴定方

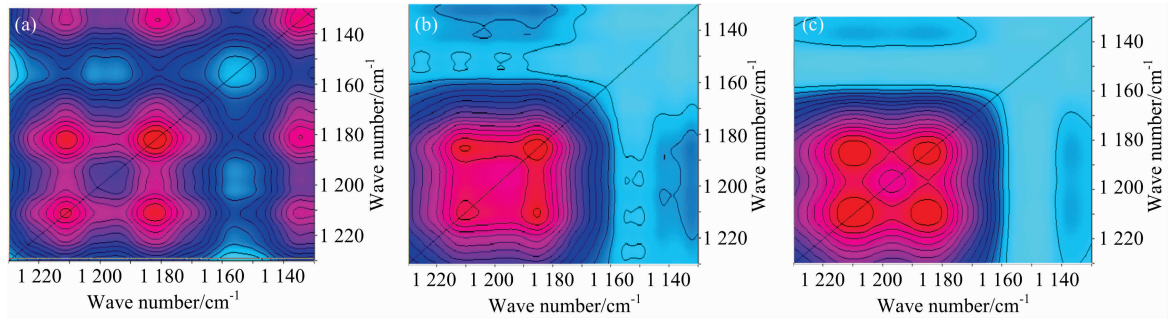


图 4 三种石斛样品的 2D COS IR 谱(1 230~1 130  $\text{cm}^{-1}$ )

(a): 霍山石斛花茶; (b): 铁皮石斛花茶; (c): 河南石斛花茶

Fig. 4 The synchronous 2DCOS-IR contour plot of different *Dendrium* samples in the region of 1 230~1 130  $\text{cm}^{-1}$

(a): *D. huoshanense*; (b): *D. officinale*; (c): *D. henanense*

法具有良好的稳定性。此外,与近红外光谱鉴定相比,本实验构建的多维红外光谱方法中的 SD-IR 谱和温度微扰 2D COS IR 谱,可以提供直观的、可视的鉴别特征,可为中药真伪鉴定提供候选方法。

### 3 结 论

采用多级红外光谱法,对霍山石斛花茶与铁皮石斛、河

南石斛茶进行了比较,结果表明采用 ATR-FTIR 谱、SD-IR 谱和温度微扰 2D COS IR 谱相结合的多级红外光谱分析方法,可以快速、准确区别霍山石斛花茶及其常见伪品——铁皮石斛花茶、河南石斛花茶。本方法虽然存在需要较为专业的仪器设备及数据处理复杂等缺点,但药材用量少、操作简单、检测时间短、重现性好,结果稳定可靠,可为石斛花茶及其他中药材的快速真伪鉴定提供方法,为霍山石斛花茶的品质控制提供思路与参考依据。

### References

- [ 1 ] DENG Hui, CHEN Nai-dong, DAI Jun, et al(邓 辉, 陈乃东, 戴 军, 等). China Journal of Chinese Material Medica(中国中药杂志), 2017, 42(1): 130.
- [ 2 ] CHEN Nai-dong, JIA Xiao-yu, CHENG Qi-bin, et al(陈乃东, 贾晓玉, 程启斌, 等). Natural Product Research and Development(天然产物研究与开发), 2016, 28(7): 1060.
- [ 3 ] Chen Naidong, Chen Naifu, Li Jun, et al. International Journal of Analytical Chemistry, 2015, 2015(1): 13410.
- [ 4 ] CHEN Nai-dong, CHEN Nai-fu, WANG Tao-tao, et al(陈乃东, 陈乃富, 王陶陶, 等). Natural Product Research and Development(天然产物研究与开发), 2015, 27(12): 2090.
- [ 5 ] Si Hayang, Chen Naifu, Chen Naidong, et al. Natural Product Research, 2017, 32(3): 252.
- [ 6 ] CHEN Nai-dong, MENG Yun-fei, YAO Hou-jun, et al(陈乃东, 孟云飞, 姚厚军, 等). Journal of Chinese Medicinal Materials(中药材), 2015, 38(8): 1607.
- [ 7 ] CHEN Nai-dong, GAO Feng, LIN Xin, et al(陈乃东, 高峰, 林欣, 等). Journal of Chinese Medicinal Materials(中药材), 2014, 36(6): 953.
- [ 8 ] Chen Naidong, You Tao, Li Jun, et al. Journal of Food Drug and Analysis, 2016, 24(4): 839.
- [ 9 ] Chen Naidong, Chen Han, Li Jun, et al. Journal of Molecular Structure, 2015, 1086: 255.
- [ 10 ] Chen Naidong, Chen Naifu, Li Jun. Journal of Molecular Structure, 2015, 1101: 101.
- [ 11 ] SI Hua-yang, CHEN Nai-dong, CHEN Nai-fu(司华阳, 陈乃东, 陈乃富). Natural Product Research and Development(天然产物研究与开发), 2016, 28(3): 467.
- [ 12 ] SHAO Ying, WU Qi-nan, GU Wei, et al(邵 莹, 吴启南, 谷 巍, 等). China Journal of Chinese Materia Media(中国中药杂志), 2014, 39(9): 1644.

# The Discrimination of the Flower Tea of *Dendrobium Huoshanense*, *Dendrobium Officinale* and *Dendrobium Henanense* by a Multi-Step FTIR Method

CHEN Nai-dong

College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, West Anhui University, Lu'an 237012, China

**Abstract** The flower tea dried from the flowers of *Dendrobium* plants was becoming a kind of more and more favorable drink these years. Among them, the flower tea of *Dendrobium huoshanense* was the most expensive because of its lower yield, better mouthfeel and relative higher pharmaceutical activity comparing with other *Dendrobium* flower teas. Thus, the flower tea of *D. huoshanense* was often masqueraded by the cheaper *Dendrobium* flower tea, such as *D. officinale* and *D. henanense*, due to the economic interests. In this paper, a multi-step FTIR method was established to rapidly discriminate the flower tea of *Dendrobium huoshanense*, *Dendrobium officinale* and *Dendrobium henanense*. Different *Dendrobium* flower tea samples were collected from different manufacturers in July, 2018, then their Attenuated Total Reflection Fouriertransformed Infrared (ATR-FTIR) Spectroscopy and the two-dimensional correlation infrared (2D COS IR) spectra perturbed by temperatures were detected in the range of 4 000~400  $\text{cm}^{-1}$ . The second derivative infrared (SD-IR) spectra were calculated from their corresponding ATR-FTIR spectroscopy. The results showed that, although direct discrimination of the *Dendrobium* flower tea by FTIR spectrum is quite difficult, different intensities and peak positions could be found by analysis of their ATR-FTIR files. The flower tea of *D. huoshanense* and *D. officinale* had characteristic peaks at 1 398 and 1 542  $\text{cm}^{-1}$ , respectively, while *D. henanense* obtained characteristic peaks at 1 610, 1 332, 811, 703 and 603  $\text{cm}^{-1}$ . Treatment by second derivative can improve the spectral resolution and sensitive remarkably and direct discrimination can be observed in SD-IR spectrum. The three kinds of *Dendrobium* flower tea could be discriminated by the "M" shape of *D. huoshanense* in the range of 1 750~1 690  $\text{cm}^{-1}$ , by the "W" shape of *D. huoshanense* and *D. henanense*, the irregular shape of *D. officinale* in the range of 1 140~1 080  $\text{cm}^{-1}$ , and by the "M" shape of *D. huoshanense* while the "W" shape of *D. officinale* and *D. henanense* in the range of 1 000~930  $\text{cm}^{-1}$ . As for the 2D COS IR spectra, in the range of 1 230~1 130  $\text{cm}^{-1}$ , the three kinds of flower tea could be discriminated by the auto-peaks at 1 134, 1 155, 1 182, 1 196 and 1 211  $\text{cm}^{-1}$  for *D. huoshanense*, at 1 186 and 1 210  $\text{cm}^{-1}$  for *D. officinale*, at 1 186 and 1 210  $\text{cm}^{-1}$  for *D. henanense*. In addition, There were two positive-correlation cross-peaks at 1 182 and 1 210  $\text{cm}^{-1}$ , at 1 135 and 1 181  $\text{cm}^{-1}$ , and one negative-correlation cross-peak at 1 197 and 1 155  $\text{cm}^{-1}$  in the 2D COS IR spectrum of the flower tea of *D. huoshanense*, while no cross-peak was observed in the 2D COS IR spectrum of the flower tea of *D. officinale* and *D. henanense* in the range of 1 230~1 130  $\text{cm}^{-1}$ . The multi-step FTIR technology involving ATR-FTIR, SD-IR and 2D COS IR could be used to rapidly identify the flower tea of *D. huoshanense*, *D. officinale* and *D. henanense*.

**Keywords** *Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng; *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; *Dendrobium henanense* J. L. Lu et L. X Gao; Flower tea; Multi-step FTIR

(Received Feb. 19, 2019; accepted Jun. 23, 2019)