

基于化学计量学宁夏银柴胡红外指纹图谱及 伪品判别分析*

李振凯¹, 马 玲², 白明生¹, 黄钰馨², 宋 乐¹,
王 红¹, 冯 璐¹, 彭 励^{1**}

(1. 宁夏大学生命科学学院 银川 750021; 2. 宁夏回族自治区药品检验研究院 银川 750002)

摘 要:目的 建立宁夏回族自治区银柴胡及其伪品的中红外、近红外光谱指纹图谱,并结合化学计量学分析比较两种光谱技术在银柴胡质量评价、真伪鉴定上的应用效果。方法 分别利用傅里叶红外光谱仪和傅里叶变换近红外光谱仪,采集不同来源宁夏回族自治区银柴胡及伪品的中红外和近红外光谱图谱,借助 Origin 2018 软件对图谱进行预处理、图谱合成以及相似度评价、系统聚类分析等化学计量学分析。结果 初步确定了 27 个银柴胡中红外图谱共有特征峰和 11 个近红外图谱共有特征峰;两种光谱图谱经二阶导数等预处理后,结合 2 种化学计量学分析方法均可以鉴别银柴胡伪品,其中近红外光谱结合系统聚类分析的效果最为显著,并可以有效区分不同来源银柴胡药材。结论 近红外光谱结合化学计量学分析在银柴胡药材真伪优劣判别中的应用效果更好,且更符合实际生产需求。研究结果对建立快速的道地银柴胡溯源、真伪判别方法,进一步完善质量评价体系有积极的借鉴意义。

关键词:银柴胡 中红外 近红外 指纹图谱 化学计量学 质量评价 真伪鉴别

doi: 10.11842/wst.20211224007 中图分类号: R284.1 文献标识码: A

中药银柴胡为石竹科繁缕属植物银柴胡 (*Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge.) 的干燥根,是我国常用的清虚热,除疳热良药,主要用于临床阴虚发热,骨蒸劳热,小儿疳热等症。随着现代医学研究的深入,银柴胡抗炎、抗过敏、抗癌等功效不断被发现,药用价值不断提高^[1-2]。宁夏回族自治区是银柴胡道地产区^[3],为了合理保护濒危的野生银柴胡资源和生态环境,经过多年的努力,宁夏回族自治区已建立了银柴胡规范化种植技术体系和全国最大的种植基地,形成了“同心银柴胡”品牌,2018 年获得农产品地理标志,为乡村振兴和脱贫发挥了重要的作用。

然而大量研究证实,药材由野生转为栽培的过程中,不同的栽培产地、田间管理、加工方式等因素都有

可能影响药材的品质^[4]。孟祥善等^[5]对野生与栽培及不同产地银柴胡 ITS 序列及总黄酮含量进行分析,发现不同来源银柴胡存在一定的遗传距离,且其总黄酮含量存在显著差异,尤其表现为野生银柴胡总黄酮含量显著高于栽培;有研究证实在一定的干旱和盐胁迫环境下,银柴胡总黄酮、总皂苷含量有升高的趋势^[6-9];本课题组在前期研究中发现,不同干燥方法对银柴胡甾醇类物质会产生显著的影响^[10]。此外有关银柴胡混伪品的记载,从古至今均有报道,如清代《本草崇原集说》中云:“今市肆中另觅草根白色而大,不知何种名银柴胡,此伪充也,不可用”^[11],近现代的研究中不仅报道了旱麦瓶草 (*Silene jensisensis* Willd)、霞草 (*Gypsophila oldhamiana* Miq.)、女娄菜 (*Silene aprica*

收稿日期:2021-12-24

修回日期:2022-11-02

* 宁夏回族自治区自然科学基金委员会一般项目(2021AAC03103):宁夏道地药材银柴胡代谢物特征及其与产地生境因子相关性研究,负责人:彭励;同心县科学技术局科技发展计划项目(201901):“同心银柴胡”道地性研究;负责人:彭励。

** 通讯作者:彭励,女,教授,博士生导师,主要研究方向:药用植物资源保护与利用。

Turcx. ex Fisch. et Mey)等多种银柴胡混伪品,还有未定名银柴胡伪品的记录^[12-13]。

药材的真伪优劣是影响中药药效作用、临床安全用药及产业发展的关键因素,因此建立快速、准确的真伪优劣判别方法对保证中药可持续发展具有重要意义。红外光谱(Infrared Spectrum, IR)是以连续波长的红外射线为光源照射样品所测得的吸收光谱,它是由于分子发生振动能级的跃迁而产生的,又称振动光谱^[14]。根据实验技术、应用以及波长范围的不同,又将红外波段划分为近红外光谱(Near infrared spectroscopy, NIR)、中红外光谱(Mid infrared spectroscopy, MIR)和远红外光谱(Far infrared spectrometry, FIR)。其中MIR光谱技术在中药鉴定和质量评价中应用广泛,且谱图库完善,文献资料丰富;NIR光谱技术是近几年发展起来的快速分析技术,随着计算机技术和化学计量学的发展,这项技术在我国药物分析领域得到越来越多的关注^[15-17]。但截止目前,两项光谱技术结合化学计量学在银柴胡质量评价和真伪鉴别中的研究和应用较少,尤其是近红外光谱在银柴胡相关基础研究中几乎处于空白。因此,银柴胡具有怎样的MIR和NIR光谱特征,哪项技术更加适用于银柴胡快速评价和鉴别,尚需进一步的科学研究和验证。

为了推动宁夏回族自治区道地药材银柴胡产地溯源和质量评价技术提升,本研究收集了野生与栽培、不同产地以及不同干燥方法的共17份银柴胡样品以及3种伪品银柴胡样品,借助OPUS软件系统、Origin 2018等软件分别对样品的MIR和NIR光谱测定结果进行化学计量学分析,为红外光谱技术在银柴胡药材质量评价和真伪判别提供一定的理论和实践依据。

1 仪器与材料

BRUKER TENSOR 27傅里叶红外光谱仪(德国布鲁克公司),BRUKER MATRIX-F傅里叶变换近红外光谱仪(德国布鲁克公司),YP-2压片机(Specac公司),XS105万分之一天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),KBr(光谱纯,赛默飞公司)。

供试样品共采集样品20份,经彭励教授鉴定,编号YCH1-YCH17样品银柴胡(*Stellaria dichotoma* L. var. *lanceolata* Bge.)的根,编号HMPC为旱麦瓶草(*Silene jensisensis* Willd)的根,编号XC为霞草

(*Gypsophila oldhamiana* Miq.)的根,编号NLC为女娄菜(*Silene aprica* Turcx. ex Fisch. et Mey)的根。样品采集地点、采集时间等详细信息如样品采集信息表(表1)所示。为了避免不同来源样品中含水量不均的影响,将所有样品均低温干燥至恒重(含水量4%-5%),从每份样品中随机取20株,粉碎至过40目筛,充分混匀后置于低温、避光、密封的干燥器中,保存备用。

2 方法与结果

2.1 实验方法

2.1.1 MIR光谱检测

精密称取样品粉末6份,每份2 mg,分别加入100 mg溴化钾粉末,用玛瑙研钵充分研磨,混合均匀后,置于压片模具中,用压片机压成均匀透明的薄片,用于MIR光谱检测,得到的6个光谱图谱取平均光谱,即为样品的MIR光谱图谱。参数设置为分辨率:0.5 cm⁻¹,扫描次数:16次,扫描区间:400-4000 cm⁻¹。

2.1.2 NIR光谱检测

精密称取样品粉末6份,每份3 g,分别置于10 mL离心管中,压实,将近红外枪头伸入管中,直接接触样品粉末测量,得到的6个光谱图谱取平均光谱,即为样品的NIR光谱图谱。参数设置为分辨率:4 cm⁻¹,扫描次数:16次,扫描区间:4000-12000 cm⁻¹。

2.1.3 数据分析

采用OPUS软件进行数据采集,而后将图谱数据导入到Origin 2018中进行减去基线、二阶导数、归一化、平滑等预处理,以及相似度分析、系统聚类分析等多元统计分析。

2.2 光谱采集方法学考察

2.2.1 精密度实验

取同一批次银柴胡样品,按“2.1.1”和“2.1.2”项下的检测方法,分别进行MIR和NIR光谱检测,连续测定6次,将所得原始图谱进行相似度分析。结果显示,两种图谱谱图间基本一致,其中MIR谱图间相关系数平均值为0.997,RSD(Relative Standard Deviation)值为0.16%,NIR谱图间相关系数平均值为0.998,RSD值为0.10%,表明仪器精密性良好。

2.2.2 重复性实验

取同一批次银柴胡样品,随机分为6份,按“2.1.1”和“2.1.2”项下的检测方法,分别进行MIR和NIR光谱检测,并将所得原始图谱进行相似度分析。结果显

表1 样品采集信息表

样品编号	基原植物	采集地点	生态型	采集时间	干燥方式
YCH1	银柴胡 <i>Stellaria dichotoma</i> L. var. <i>lanceolata</i> Bge.	宁夏回族自治区银川灵武市宁东镇猪头岭	野生	2018年10月	晒干
YCH2		宁夏回族自治区石嘴山大武口区石炭井街道二枣子后沟	野生	2018年10月	晒干
YCH3		宁夏回族自治区银川灵武市宁东镇猪头岭	野生	2019年5月	晒干
YCH4		宁夏回族自治区银川灵武市宁东镇苇草井	野生	2019年5月	晒干
YCH5		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇南关村	栽培	2018年10月	晒干
YCH6		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇南塬村	栽培	2018年10月	晒干
YCH7		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇南关村	栽培	2018年11月	晒干
YCH8		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇南塬村	栽培	2018年11月	晒干
YCH9		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇南塬村	栽培	2019年4月	晒干
YCH10		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇南关村	栽培	2019年4月	晒干
YCH11		宁夏回族自治区吴忠市同心县马高庄乡唐家渠村	栽培	2018年11月	晒干
YCH12		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇青羊泉村	栽培	2017年11月	晒干
YCH13		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇青羊泉村	栽培	2017年11月	阴干
YCH14		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇青羊泉村	栽培	2017年11月	50℃热风干燥
YCH15		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇青羊泉村	栽培	2017年11月	60℃热风干燥
YCH16		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇青羊泉村	栽培	2017年11月	70℃热风干燥
YCH17		宁夏回族自治区吴忠市同心县预旺镇青羊泉村	栽培	2017年11月	80℃热风干燥
HMPC	旱麦瓶草 <i>Silene jensisensis</i> Willd.	山东省烟台市海阳市日照庄村	野生	2020年9月	晒干
XC	霞草 <i>Gypsophila oldhamiana</i> Miq.	山东省威海市环翠区山东药品食品职业学院	野生	2020年9月	晒干
NLC	女娄菜 <i>Silene aprica</i> Turcx. ex Fisch. et Mey.	山东省威海市环翠区山东药品食品职业学院	野生	2020年9月	晒干

示,两种图谱谱图间基本一致,其中MIR谱图间相关系数平均值为0.994,RSD值为0.19%,NIR谱图间相关系数平均值为0.997,RSD值为0.16%,表明方法重复性良好。

2.2.3 稳定性实验

取同一批次银柴胡样品,按“2.1.1”和“2.1.2”项下的检测方法,分别在0、2、4、8、12、24 h进行MIR和NIR光谱检测,将所得原始图谱进行相似度分析。结果显示,两种图谱谱图间基本一致,其中MIR谱图间相关系数平均值为0.995,RSD值为0.17%,NIR谱图间相关系数平均值为0.997,RSD值为0.11%,表明该样品常温下在24 h内稳定性良好。

2.3 银柴胡指纹图谱特征分析

利用Origin 2018软件,对17份银柴胡样品的MIR、NIR光谱进行组合以及减去基线等预处理(MIR光谱在组合前进行透射度→吸光度转换)。由17份银柴胡MIR和NIR光谱指纹图谱(图1)所示,MIR图谱中大部分吸收峰分布在400–1800 cm^{-1} 波段下,而NIR图谱中大部分吸收峰分布在4000–7000 cm^{-1} 波段下。此外,17份银柴胡样品的MIR、NIR光谱图谱特征均基

本一致,主要峰位基本相同,但不同峰位的吸收强度有所不同,说明不同来源银柴胡的官能团和振动模式相似,但在含量上可能存在差异。

2.4 银柴胡指纹图谱共有特征峰分析

利用Origin 2018对原始光谱图谱进行二阶导数处理,结合原始图谱特征(图2的A、B两图),以组内吸收峰的波数最大差值小于该组峰与其相邻组峰之间的平均波数之差为原则,确定共有峰。17份银柴胡的光谱指纹图谱中,共确定27个MIR共有特征峰和11个NIR共有特征峰。参照《傅利叶变换红外光谱分析》^[18]、《近红外光谱解析实用指南》^[19]中对不同波数下特征峰的解析,结合银柴胡的图谱特征和已有报道银柴胡化学物质成分,对共有特征峰波数下对应的基团和振动模式信息进行初步整理和分析。发现除去 H_2O 和 CO_2 相关特征峰外,MIR共有特征峰波数下对应的可能物质主要为氨基酸类、酰胺类、脂肪族类、有机酸类、有机杂环类、糖类以及 CH_3 、 CH_2 、 CF_3 等相关基团及不同的振动模式;NIR共有特征峰则主要包括糖类、脂肪族类以及 CH_2 、 $\text{C}-\text{C}$ 、 $\text{O}-\text{H}$ 等相关基团及不同的振动模式(特征峰详细信息见表2和表3)。综上,17份银

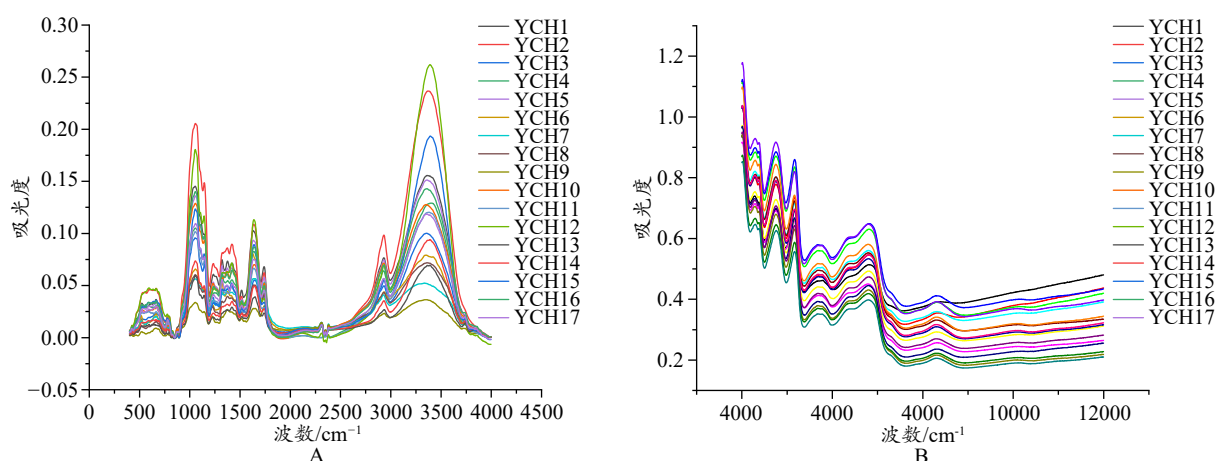


图1 17份银柴胡MIR和NIR光谱指纹图谱

注:图A为17份银柴胡样品的MIR光谱图谱对比图,图B为17份银柴胡样品的NIR光谱图谱对比图。

柴胡样品的两种光谱指纹图谱均发现了多个共用特征峰,可作为银柴胡MIR和NIR光谱的潜在图谱特征,但银柴胡化学成分复杂,这些特征峰所反映的更为确切、真实的物质信息,则需要更为深入的图谱解析和进一步验证。

2.5 银柴胡与伪品图谱特征比较分析

采用相同的检测方法,分别获得早麦瓶草(HMPC)、霞草(XC)和女娄菜(NLC)的MIR和NIR图谱,将获得图谱信息导入Origin 2018软件中与银柴胡图谱进行比对。结果如银柴胡及伪品MIR和NIR光谱图谱(图2)所示,3种伪品和银柴胡的MIR、NIR图谱均十分相似,MIR图谱中除霞草在 $400\sim700\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内与其它3种存在较大差异外,其它3个样品均具有相近的特征峰,仅在部分峰形和吸收强度上存在一定差异;NIR图谱中4种样品在 $4150\sim4350\text{ cm}^{-1}$ 波数范围内存在一定差异外,其它波数范围内部分特征峰峰形和吸收强度存在一定差异。进一步比对4种样品的二阶导数图谱,结果显示银柴胡与3种伪品的MIR和NIR二阶导数图谱也表现出相似的特征。因此推测银柴胡与3种伪品可能具有相近的官能团和振动模式。

2.6 模式图谱建立与相似度分析

为了进一步分析不同来源银柴胡及其伪品的红外指纹图谱特征,利用Origin 2018对20份样品的MIR、NIR光谱图谱进行相似度评价。首先参照文献^[20]的方法,以10个批次银柴胡药材(YCH1-10)的平均光谱建立共有模式图谱,即为对照图谱,对所有图谱进行二阶导数+GS(7点)平滑+归一化图谱预处理,以相

关系数作为测度,分别计算不同来源银柴胡及伪品相似度。相似度结果(表4)显示,20份样品中17份银柴胡样品的MIR和NIR光谱相似度均比较高,前者相似度在0.791-0.981之间,有41%的样品相似度值低于0.900。后者相似度在0.896-0.966之间,94%以上的样品相似度值高于0.900,可见MIR光谱相似度分析差异更大,信息的丰富度更高,而NIR图谱表达的信息相似度集中,而且与对照图谱差异小。其次3种伪品光谱信息与银柴胡模式图谱比较发现,无论是MIR图谱还是NIR图谱的相似度都远低于正品银柴胡,其中MIR相似度值分别为0.633、0.643和0.619,NIR相似度值分别为0.622、0.655和0.709,这一分析结果表明,但通过采用化学计量法建立银柴胡模式图谱,以相似度大小作为判别标准,可以实现银柴胡和常见伪品的判别。

2.7 系统聚类分析

利用Origin 2018软件对20份样品的MIR、NIR原始图谱进行二阶导数+GS(7点)平滑图谱+归一化预处理,以欧氏距离为测度,进行系统聚类分析。系统聚类结果(图3)显示,MIR和NIR光谱图谱均可将银柴胡药材(17份样品)与伪品(3份伪品样品)分别聚为两类。在MIR图谱聚类结果中,银柴胡样品中YCH6-YCH9聚为一类,均为同心县预旺镇的样品,其它不同来源银柴胡的无明显聚类规律。在NIR图谱聚类结果中,银柴胡这一大类中又被分为两类,其中YCH1-YCH4均为野生样品被聚为一类,其它13份样品均为栽培样品被聚为一类,表明野生来源药材具有相近的NIR光谱特征,栽培来源的具有相近特征;在栽培样品

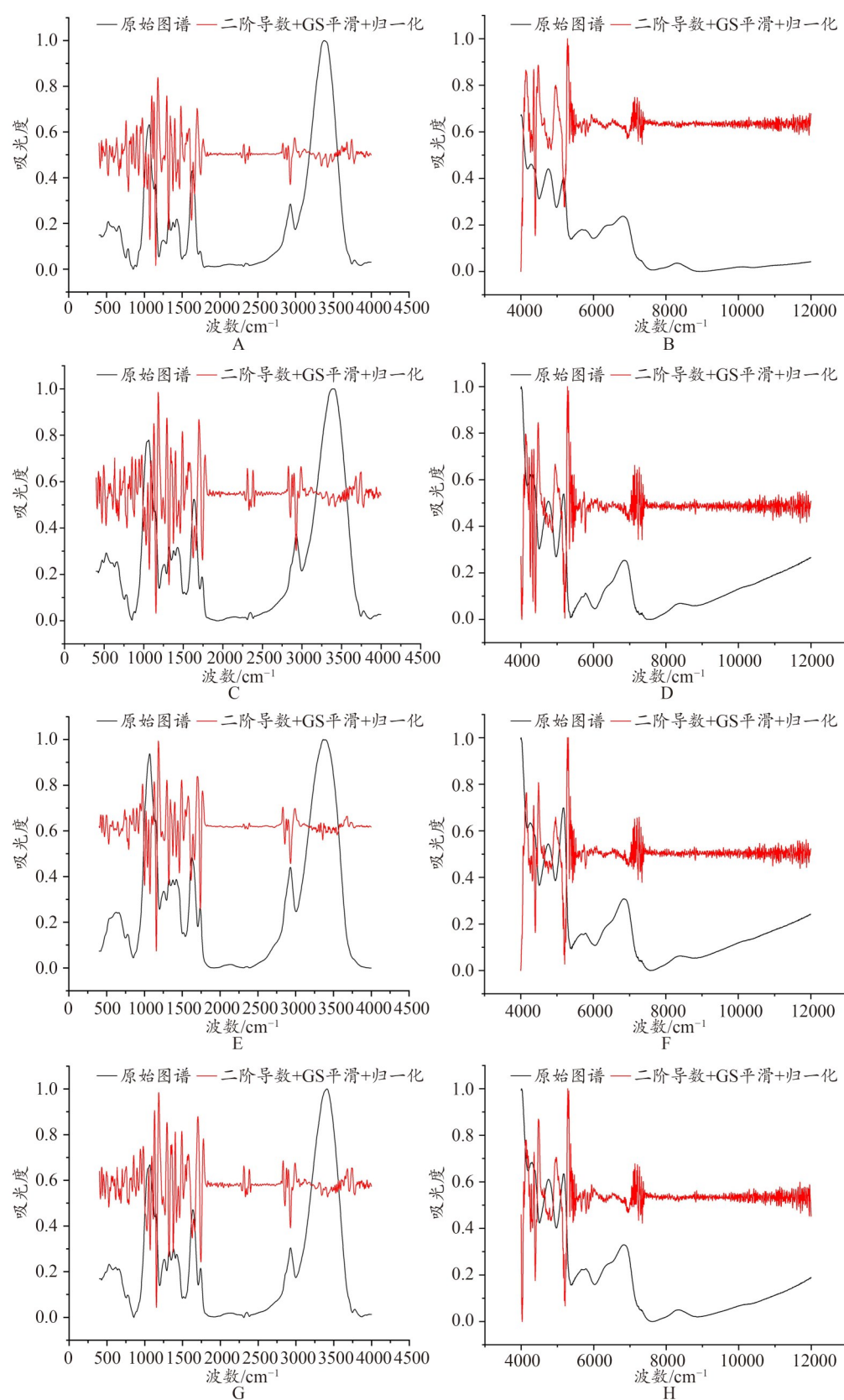


图2 银柴胡及伪品MIR和NIR光谱图谱

注:图A、C、E和G分别为银柴胡、旱麦瓶草、霞草和女娄菜MIR光谱图谱,图B、D、F和H分别为银柴胡、旱麦瓶草、霞草和女娄菜NIR光谱图谱。

表2 银柴胡 MIR 光谱指纹图谱共有特征峰波数及对应基团和振动模式($n=17$)

峰号	波数/ cm^{-1}	基团及振动模式
C1	468.30±4.93	磷酸盐 PO_3 对称变角
C2	557.55±0.1	氨基酸 COO^- 面外摇摆
C3	592.95±4.34	酰胺 VI
C4	627.81±5.95	磷酸盐 PO_4 不对称变角
C5	667.94±3.47	CO_2
C6	696.24±3.88	酰胺 V
C7	781.81±6.20	氨基酸 COO^- 变角
C8	829.52±3.94	硝酸根 NO_3^- 面外弯曲
C9	876.00±3.50	过氧化物 O-O 伸缩
C10	1 034.21±2.69	硫酸氢盐 SO_3 对称收缩
C11	1 055.88±2.21	开链脂肪族酸酐 C-O 伸缩
C12	1 071.61±4.01	四氢呋喃(五元环)反对称伸缩振动
C13	1 104.79±11.76	醇类 C-OH 伸缩振动
C14	1 150.73±21.02	脂肪族伯胺 C-N 伸缩
C15	1 235.55±10.07	$-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ 的 C-C 伸缩
C16	1 271.49±14.18	CF_3 反对称伸缩
C17	1 325.63±13.74	羧酸 C-OH 伸缩
C18	1 377.45±12.33	CH_3 对称变角
C19	1 420.94±9.72	羧酸根 COO^- 对称伸缩
C20	1 451.97±17.28	CH_3 不对称变角
C21	1 519.60±8.28	氨基酸 NH_3^+ 对称变角或铵盐 NH_3^+ 对称变角
C22	1 636.69±5.24	氨基酸 NH_2 变角或伯酰胺 II NH_2 变角振动
C23	1 741.41±2.10	饱和脂肪族酯 C=O 伸缩
C24	2 144.41±12.60	H_2O 的和频吸收谱带
C25	2 323.66±6.96	PO_3 对称收缩
C26	2 932.35±4.4	CH_2 反对称伸缩振动
C27	3 402.33±9.78	糖类 O-H 伸缩振动

表3 银柴胡 NIR 光谱指纹图谱共有特征峰波数及对应基团和振动模式($n=17$)

峰号	波数/ cm^{-1}	基团及振动模式
C1'	4 012.78±3.33	C-H/C-C
C2'	4 289.82±11.58	C-H 和 $-\text{CH}_2$ 的 C-H
C3'	4 375.64±19.70	葡萄糖的 C-H/O-H
C4'	4 753.99±6.30	聚合物 O-H/C-H 或 C=O-O
C6'	5 156.92±3.69	分子水 $[\text{O-H}(\text{O-H} \text{ 和 } \text{H-O-H})]$ 的 O-H
C7'	5 674.00±13.50	CH_2 的 C-H 对称振动
C8'	5 778.23±15.25	与 ROHCH_3 相连甲基的 C-H
C9'	6 398.98±22.15	烷基醇或水的 O-H 伸缩振动
C10'	6 806.30±17.81	亚甲基(CH_2)的 C-H 或甲基(CH_3)的 C-H
C11'	7 263.79±13.97	芳烃(ArCH_3)甲基的 C-H

一类中具有不同生境和田间管理的栽培产地被聚为不同类群,其中预旺镇南塍村和南关村栽培环境相

表4 银柴胡及伪品 MIR、NIR 光谱图谱相似度

样品编号	MIR	NIR	样品编号	MIR	NIR
YCH1	0.928	0.896	YCH11	0.793	0.945
YCH2	0.962	0.939	YCH12	0.889	0.947
YCH3	0.926	0.941	YCH13	0.791	0.940
YCH4	0.820	0.925	YCH14	0.906	0.939
YCH5	0.981	0.930	YCH15	0.913	0.955
YCH6	0.823	0.937	YCH16	0.959	0.935
YCH7	0.795	0.950	YCH17	0.922	0.958
YCH8	0.900	0.966	HMPC	0.633	0.622
YCH9	0.781	0.963	XC	0.643	0.655
YCH10	0.945	0.964	NLC	0.619	0.709

近,其对应采集的样品 YCH5-YCH10 被聚为一类,而 YCH11 作为马高庄乡唐渠村的样品单独聚为一类,表明相近栽培产地药材具有相近特征;YCH12-YCH17 均为青羊泉村采集样品被聚为一类,这一类中自然干燥样品 YCH12 和 YCH13 聚为一小类,其它热风干燥处理样品聚为一小类,表明晒干和阴干作为自然干燥法生产的药材具有相近特征,而热风干燥作为人工干燥法生产的药材具有相近特征。综上,NIR 光谱反映出的图谱信息经预处理结合系统聚类分析可以更好的反应样品的差异。

3 讨论与结论

MIR 光谱技术,光谱复杂且具有高度的专属性和特征性,能够提供样品更全面的综合信息,具有灵敏度高、准确度高、检测范围宽等特点^[21],但是其往往对样品预处理、制备方法以及实际操作技术有着较高的要求^[18],使得该技术在实际生产中受到一定限制。韩健等^[22]曾对披针叶繁缕(银柴胡)、叉歧繁缕以及蚤缀属、蝇子草属和丝石竹属的共9种植物根的95%乙醇提取物进行 MIR 光谱扫描,认为 1600-1727 cm^{-1} 之间具有鉴别意义的特征峰。本研究通过采用更高分辨的傅里叶红外光谱仪扫描银柴胡及伪品药材的全谱,发现正品与伪品 MIR 图谱特征十分相近,此外样品预处理、制备方法这些差异都将直接影响药材的图谱特征,进而影响分析结果准确性。

相比 MIR,NIR 光谱对样品无特别的预处理要求、操作更为简单、分析成本更低、分析速度更快、无毒无害无损伤分析、实时分析和远距离测定等优点^[19,23],但是因谱带更宽导致严重信息重叠是影响

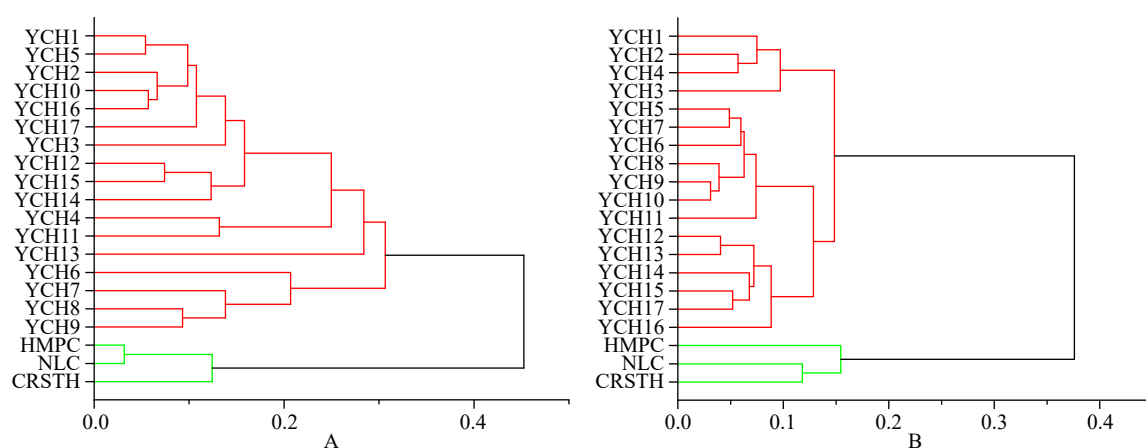


图3 银柴胡 MIR 和 NIR 光谱聚类结果

注:图A、图B分别为MIR、NIR二阶导数图谱系统聚类结果。

NIR 光谱发挥技术优势的关键问题和难题。化学计量学是化学分析中具有广泛应用前景的新兴分支学科,其运用数学、统计学、计算机科学等学科的理论与方法,优化化学量测过程,将有用的物质信号与仪器噪声分离、有效提高信噪比、改良分析信号的质量、复原被扭曲的分析信号、滤除并消除噪声、消除随机误差的影响等,为解决红外图谱谱带复杂、重叠严重等问题提供了有利工具^[19,24]。邢旺兴等^[25-26]采用近红外漫反射光谱结合化学计量学分析实现了不同产地的红曲、通光藤药材的有效鉴别;徐亚等^[27]分别采用显微和 NIR 方法鉴别不同基原品种威灵仙,通过对预处理 NIR 光谱进行化学计量学分析实现了与显微鉴定相同的鉴别结果等。这些研究实例验证了 NIR 光谱技术结合化学计量学应用于中药真伪优劣判别的可行性,同时也为完善银柴胡药材鉴别提供了新的方法和借鉴。

本研究分别建立了银柴胡 MIR 和 NIR 光谱图谱的采集方法,同时检测了 17 份不同来源银柴胡样品及 3 种常见伪品的两种光谱图谱,分别确定 27 个和 11 个银柴胡共有特征峰,可作为银柴胡潜在 MIR 和 NIR 光谱图谱特征。进一步比较银柴胡与伪品图谱特征差异,发现在信息重叠的影响下,两种图谱技术伪品均表现出与正品相似的特征,仅是在部分波数下的峰形或强度上存在并不显著的差异,因此如果仅通过肉眼观察 MIR 和 NIR 图谱来直观、准确地判别银柴胡真伪,具有较大的难度。基于此,笔者对图谱预处理和

多元统计分析的方法进行了大量筛选,发现通过二阶导数+GS 平滑(7 点)+归一化预处理,结合相似度评价和系统聚类分析,两种光谱技术实现了不同程度的真伪鉴别效果。其中 NIR 光谱结合系统聚类分析展现出更为优异的效果和应用前景,其不仅可以有效鉴别银柴胡伪品,还表现出区分野生与栽培、不同产地及不同产地干燥方法银柴胡药材的潜力。此外 NIR 光谱还具有样品预处理无特殊要求、更加便捷等优点,因此更加符合实际生产的情况和需求。

道地药材被认为是优质药材的代名词^[28-29],然而不同的产地生境、田间管理、加工方式等因素都影响着药材道地性和品质的形成^[4]。郭兰萍等^[30]提出道地药材的鉴别所需要的指标体系必须具备既要能实现某些特异性指标的提取,又要有全息性的特点,而 NIR 光谱技术在组成复杂而道地性不明确的中药快速分析鉴别上具有显著的优势。本研究从红外光谱指纹图谱角度,分析不同来源银柴胡全谱信息,初步验证了 NIR 光谱技术结合化学计量学分析在银柴胡真伪优劣判别上更为优异的应用效果,并进一步证实了基原、产地、田间管理、加工方法等因素都会对银柴胡药材质量产生影响。但是受到样品采集和实验条件限制,研究规模较小,因此建议进一步扩大产地、样品来源、数量和应用范围,建立更为全面、成熟的鉴别评价模型。从而为实现道地银柴胡快速溯源、真伪鉴别、健全质量评价体系提供技术支持,保证临床安全用药,推动银柴胡产业可持续发展。

参考文献

- 1 国家药典委员会. 中华人民共和国药典—一部2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:330.
- 2 李振凯, 宋乐, 雷燕, 等. 银柴胡生物学、化学成分及药理作用研究进展. 南京中医药大学学报, 2020, 36(1):136-140.
- 3 杨建宇, 刘冠军, 刘白云, 等. 中华中医药道地药材系列汇讲(22)道地药材银柴胡的研究近况. 现代医学与健康研究电子杂志, 2020, 4(22):110-112.
- 4 黄林芳, 张翔, 陈士林. 道地药材品质生态学进展. 世界科学技术—中医药现代化, 2019, 21(5):844-853.
- 5 孟祥善, 代晓华, 刘萍, 等. 基于ITS序列的银柴胡种质资源遗传多样性研究. 中药材, 2018, 41(1):55-59.
- 6 周丽, 王永明, 周达, 等. 干旱胁迫对银柴胡药材活性成分含量的影响研究. 时珍国医国药, 2015, 26(6):1463-1465.
- 7 Zhang W J, Cao Z, Xie Z C, *et al.* Effect of water stress on roots biomass and secondary metabolites in the medicinal plant *Stellaria dichotoma* L. *var. lanceolata* Bge. *Sci Horti—Amsterdam*, 2017, 224:280-285.
- 8 周丽, 郎多勇, 张文晋, 等. NaCl胁迫对银柴胡生长及生理生化特性的影响. 中草药, 2014, 45(19):2829-2833.
- 9 高晓娟, 郎多勇, 周丽, 等. NaCl胁迫对银柴胡药材活性成分含量及其积累量的影响研究. 现代农业科技, 2015, 11:94-96.
- 10 李振凯, 犹卫, 王贺瑾, 等. 不同干燥方法对银柴胡浸出物及甾醇成分的影响. 江苏农业学报, 2019, 35(4):1006-1008.
- 11 清·仲学谔. 本草崇原集说. 北京: 人民卫生出版社, 1997:41-43.
- 12 陈永林, 赵华英, 许欣荣, 等. 银柴胡与6种混伪品的鉴别研究. 基层中药杂志, 1997, 11(2):14-15.
- 13 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1999:303-434.
- 14 丁海泉, 高洪智, 刘振尧. 近红外光谱分析技术在中药材鉴定和质量控制中的研究进展. 现代农业装备, 2020, 41(3):11-16.
- 15 李真, 周立红, 叶正良, 等. 红外光谱技术在中药质量控制中的应用进展. 药物评价研究, 2016, 39(3):463-468.
- 16 褚小立, 陆婉珍. 近五年我国近红外光谱分析技术研究与应用进展. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(10):2595-2605.
- 17 余一鸣, 胡永慧, 韩立云, 等. 中药质量控制的研究进展. 中草药, 2017, 48(12):2557-2563.
- 18 翁诗甫, 徐怡庄. 傅里叶变换红外光谱分析. 3版. 北京: 化学工业出版社, 2016:490-507.
- 19 沃克曼(Workman, J.), 文依(Weyer, J.L.). 近红外光谱解析实用指南. 北京: 化学工业出版社, 2009:219-233.
- 20 刘涛, 伍利华, 黄英, 等. 基于光谱法的清脑复神液指纹图谱研究. 中国测试, 2016, 42(2):63-66.
- 21 郭兴蕾, 徐海星, 许沛虎, 等. 不同产地大黄红外指纹图谱及相似度分析. 中国药师, 2018, 21(7):1174-1176.
- 22 韩健, 蔡少青, 李军, 等. 银柴胡类生药的光谱鉴定研究. 中国中药杂志, 1999, 24(8):454-456.
- 23 刘南岑, 耿立冬, 马丽娟, 等. 中药制造领域近红外光谱技术的专利技术进展和趋势. 中草药, 2021, 52(21):6768-6774.
- 24 范林宏, 范文翔, 韦志强, 等. 近红外光谱技术结合化学计量学在中药分析中的应用现状. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(24):205-210.
- 25 邢旺兴, 刘荔荔, 贾暖, 等. 不同产地红曲的近红外漫反射光谱聚类分析鉴别. 中药材, 2001, 24(8):561-563.
- 26 邢旺兴, 谷娜, 郭胜才, 等. 近红外漫反射光谱聚类分析法在通光藤鉴别中的应用. 解放军药学报, 2005, 21(5):325-326.
- 27 徐亚, 李慧, 冯学峰, 等. 基于显微和近红外方法定性鉴别中药材威灵仙不同基原品种的比较研究. 中国中药杂志, 2015, 40(7):1278-1282.
- 28 李芮. 三部委联合印发《全国道地药材生产基地建设规划(2018-2025年)》. 中医药管理杂志, 2018, 26(24):220.
- 29 袁媛, 黄璐琦. 道地药材分子生物学研究进展和发展趋势. 科学通报, 2020, 65(12):1093-1102.
- 30 郭兰萍, 黄璐琦, HuckChristian W. 近红外光谱技术及其在中药道地性研究中的应用. 中国中药杂志, 2009, 34(14):1751-1757.

Infrared Fingerprint of Ningxia *Stellariae Radix* and Discriminant Analysis of Counterfeit Products Based on Chemometrics

Li Zhenkai¹, Ma Ling², Bai Mingsheng¹, Huang Yuxin², Song Le¹, Wang Hong¹, Feng Lu¹, Peng Li¹

(1. School of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China; 2. Ningxia Hui Autonomous Region
Institute of Drug Control, Yinchuan 750002, China)

Abstract: Objective To establish the mid-infrared and near-infrared spectral fingerprints of *Stellariae Radix* and its adulterants in Ningxia, and to compare the application effects of the two spectral techniques in quality evaluation and authenticity identification of *Stellariae Radix*. Methods The mid-infrared and near-infrared spectra of *Stellariae Radix*

and its adulterants from different sources were collected by Fourier transform infrared spectrometer and Fourier transform near-infrared spectrometer respectively, and the chemometrics analysis was carried out with the help of Origin 2018 software, such as pretreatment, map synthesis, similarity evaluation and systematic cluster analysis. Results The common characteristic peaks of 27 middle infrared spectra and 11 near infrared spectra of *Stellarae Radix* were preliminarily determined. After the two spectra were pretreated by second derivative, combined with two chemometrics analysis methods, the counterfeit products of *Stellarae Radix* could be identified, among which the effect of near infrared spectroscopy combined with systematic cluster analysis was the most significant, and different sources of *Stellarae Radix* can be distinguished. Conclusion The application effect of near-infrared spectroscopy combined with chemometrics analysis in judging the authenticity of *Stellarae Radix* is better, and it is more in line with the actual production requirements. The research results have positive reference significance for establishing a rapid and accurate discrimination method of *Stellarae Radix* and further improving the quality evaluation system.

Keywords: *Stellarae Radix*, Mid-infrared, Near-infrared, Spectral fingerprint, Chemometrics, Quality evaluation, Authenticity identification

(责任编辑:李青)