

近红外光谱法鉴别怀地黄药材道地性的研究

司南¹, 杨柳², 王宏洁¹, 杨健¹, 李鹏跃¹, 赵海誉¹, 边宝林^{1*}

1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700

2. 皆能(亚洲)有限公司, 北京 100044

摘要: **目的** 运用近红外光谱法区分道地与非道地生地黄药材。**方法** 大量收集道地产地及其他产地的生地黄药材, 对药材进行处理后, 运用 Foss XDS Smart ProbeTM 近红外原料分析仪; PbS-硅; 数据分析波长: 780~2 200 nm; 每个样品扫描 4 次。**结果** 得到 600 余张近红外光谱, 采用残差分析方法进行分析, 阈值用 ID (≤ 0.84) 和 Qual (≤ 0.79) 两个量进行限定, 能够较好地分辨样品中道地与非道地产区来源的样品。**结论** 利用近红外光谱技术能够实现对地黄药材道地性的鉴别。

关键词: 地黄; 道地药材; 近红外光谱

中图分类号: R286.02 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2013)03-0542-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2013.04.018

Identification of *Rehmanniae Radix* genuineness regional drugs by near-infrared spectroscopy

SI Nan¹, YANG Liu², WANG Hong-jie¹, YANG Jian¹, LI Peng-yue¹, ZHAO Hai-yu¹, BIAN Bao-lin¹

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. Guyline (Asia) Ltd. Company, Beijing 100044, China

Abstract: Objective To identify the *Rehmanniae Radix* from genuineness or non genuineness habitats by using near-infrared spectroscopy (NIR). **Methods** The samples were collected widely from the genuine regions and other habitats of *Rehmanniae Radix*. All the samples were analyzed by Foss XDS Smart ProbeTM; Pbs-Si; and data analysis wavelengths were 780—2 200 nm. Each sample was rescanned for four times. **Results** Six hundred NIRS spectra were obtained, and the NIR data were analyzed by residual analysis. The threshold values were limited by $ID \leq 0.84$ and $Qual \leq 0.79$. **Conclusion** NIR is an accurate, fast, and simple method for the distinguishing of *Rehmanniae Radix* from genuine regions or not.

Key words: *Rehmanniae Radix*; genuine regional drug; near-infrared spectroscopy

地黄为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的新鲜或干燥块根。始载于《神农本草经》, 被列为上品。自明代以来, 公认以古怀庆府(今河南的焦作、温县、沁阳、武陟、孟县等地)一带为道地产区, 系著名四大怀药之一^[1]。现代的检测结果也证明, 怀地黄较其他产地的地黄质优, 近代医药学家赵桔黄更是采用化学分析手段, 对全国各地所产地黄逐一进行本草考证, 得出“怀地黄 10 克之药力, 等于洛阳地黄 30 克, 临汝地黄 100 克”的结论, 从而说明怀地黄确实是一种优质地黄品种, 传统把河南怀庆府产地黄作为地黄的道地品种是科学的^[2-3]。

近红外光谱技术是光谱衡量技术、化学计量学技术和基础测量技术的有机结合, 可快速、高效地对样品进行定性和定量分析^[4-5]。与传统分析技术相比, 近红外光谱分析技术具有样品用量小、无破损、无污染、高效、快速、成本低和绿色的特点, 是一种新型检测技术^[6]。本研究收集河南省焦作市一带出产的生地黄作为样品进行近红外光谱分析, 并与其他省市出产、销售的同类药材近红外光谱进行比对, 建立怀地黄道地性的高效、无损、快速的鉴定鉴别方法, 为后期建立更多道地中药材的近红外光谱数据库提供数据。

1 实验材料

收稿日期: 2013-03-25

基金项目: 中国中医科学院自主选题项目

作者简介: 司南, 硕士, 助理研究员, 研究方向为中药化学与分析。Tel: (010) 84041249 E-mail: sinan1266@yahoo.com.cn

*通信作者 边宝林 硕士生导师, 研究员。E-mail: bianbaolin9@yahoo.com.cn

1.1 样品的收集

共收集到河南省焦作市 3 个县、9 个乡镇、31 个村、151 户农家种植干燥的生地黄样品 151 份；另外收集山东、山西、河北等地生产、销售的干地

黄样本 5 份；共收集生地黄样本 155 份。经中国中医科学院中药研究所生药研究室何希荣老师鉴定，均为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch. 的块根。样品收集情况见表 1。

表 1 生地黄样品收集情况
Table 1 Collected information of *Rehmanniae Radix* samples

产地	样品数	产地	样品数	
河南武陟县北郭乡	东草亭村	1	河南温县招贤镇 辛东村	9
	西草亭村	1	东招贤村	16
	涧沟村	1	上苑村	4
	解封村	4	河南孟州化工镇 刘庄村	5
	蔡庄村	2	王庄村	3
	北西村	7	段庄村	8
	高余会村	4	高庄村	5
	西余会村	9	海头村	5
河南武陟县大封乡	下庄村	5	河南孟州大定办事处 宋村	10
	东唐郭村	4	柳湾村	3
	西唐郭村	2	北开仪村	5
	驾部五村	1	河南孟州南庄镇 下口村	5
	岳庄村	2	山西产（温县焙）	1
河南温县温泉镇	南张村	1	山西产（一等品）	1
	张庄村	3	河北安国药材市场（河南三等品）	1
河南温县祥云镇	张王庄村	16	河北安国产	1
	南贾村	1	山东鲁安饮片厂提供	1
	罗坡底村	4		
	夏庄村	4		

1.2 仪器设备

Foss 公司 XDS Smart Probe™ 近红外分析仪，PbS-硅检测器；格兰仕 WP700P20 型微波炉（微波功率 700 W）；6202 小型高速粉碎机（北京中科浩宇科技发展有限公司）。

2 方法与结果

2.1 样品的制备

干地黄样品均匀取样，切成 2~5 mm 的薄片，置于微波炉中，根据样品干燥程度加热 2~5 min，取出放凉（微波干燥后的样品状态应呈现酥脆状，掰之无黏性），粉碎并过 3 号筛，即得。

2.2 光谱的采集

检测器：PbS-硅；数据分析波长：780~2 200 nm；波长重现性：系统自身重现性 10 次测量的标

准偏差小于 0.008 nm；波长准确性小于 0.08 nm；噪音（RMS，10 个叠加扫描）：400~700 nm， $<8 \times 10^{-5}$ AU；700~2 500 nm， $<3 \times 10^{-5}$ AU；每个样品重复扫描 4 次，得到 600 余张近红外光谱，见图 1。从图 1 可以看出，由于 Smart Probe 近红外分析仪采用光纤探头直接与样品接触，光纤会造成能量的衰减，所以对于光谱的波段范围最终确定为 780~2 200 nm。

怀地黄与其他产地地黄的比较见图 2。可明显看出几种地黄的吸收位置基本相同，仅为吸收强弱有差别。

对于用于建立数据库的光谱的选择，在采用 Mahalanobis Distance in Principal Component Space 方法，同时应用二阶导数校正光谱，将不能明确判

定为正确光谱的排除在外;定性数据库建立过程中,采用 Residual Variance in Principal Component Space 的方法进行数据分析,建立数据库,Identify 阈值 ≤ 0.84 (概率),Qualify 阈值 ≤ 0.79 (概率)两个量进行限定,为了消除水分干扰,在光谱波段选择中除去 1 400~1 450 nm、1 900~1 950 nm,同时由于检测器转换位置在 1 100 nm 处,所以除去 1 080~1 120 nm 处波段。

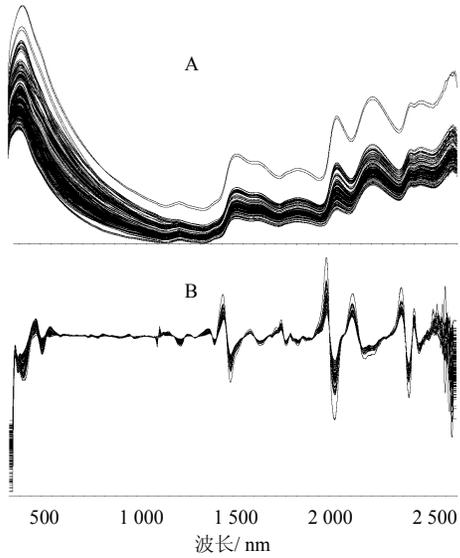
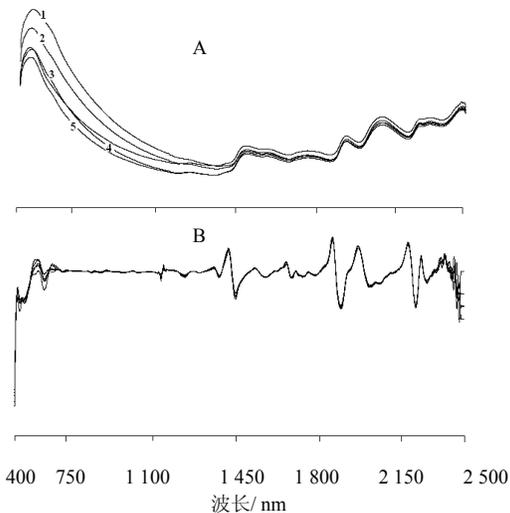


图 1 怀地黄 NIR 原始光谱 (A) 和二阶导数图谱 (B)

Fig. 1 Original NIR spectra (A) and second derivative spectra (B) of *Rehmanniae Radix* samples



1-山东鲁安饮片厂 2-河北安国药材市场 3-山西 4-河北安国 5-怀地黄
1- Shandong Lu'an Pieces Factory 2-Hebei Anguo Medicine Market
3-Shanxi 4- Hebei Anguo 5- *Rehmanniae Radix*

图 2 地黄 NIR 的原始光谱 (A) 和二阶导数图谱 (B)

Fig. 2 Original NIR spectra (A) and second derivative spectra (B) of *Rehmanniae Radix* samples

检测的样品在选择方法上利用 Mahalanobis Distance in Principal Component Space 方法,将所采集的光谱分为训练集、验证集和排斥集 3 个部分。排斥集中的光谱是在马氏距离运算过程中其阈值高于设定值 0.95,超出了设定范围,即明显异于其他光谱,无法用于定性数据库的建立。验证集中的光谱其阈值低于设定值 0.95,符合方法要求,是正常的光谱,但是未选入定量数据库。训练集中的光谱其阈值低于设定值 0.95,符合方法要求,是正常的光谱,同时用于建立数据库。数据图见图 3。可见该方法能够较好地地区分现有的怀地黄以及其他产地的地黄。

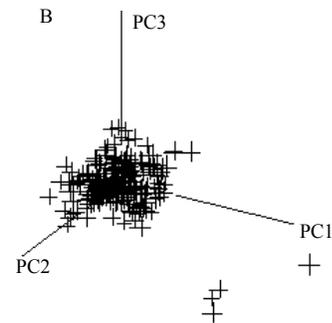
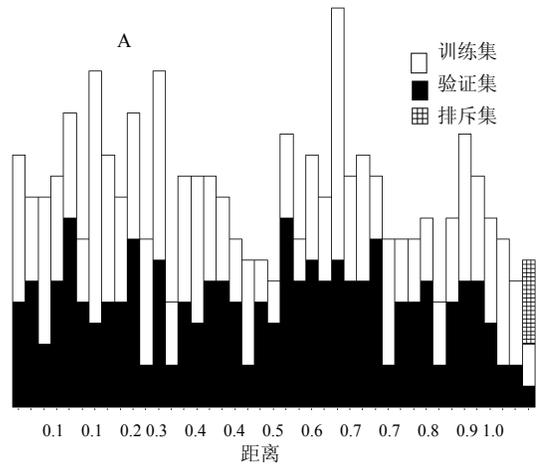


图 3 地黄选择界面柱状图 (A) 和三维显示图 (B) of *Rehmanniae Radix* samples

建立数据库过程中限定结果的三维显示图见图 4。图中所有的点表示所有训练集中的光谱,显示为黑色是因为其计算结果均小于阈值 0.79,选定的阈值能将所有光谱纳入验证结果,见表 2。

首先软件先将光谱的 ID 结果与 ID 阈值进行对比,如果 ID 结果大于 ID 阈值,那么此光谱不符合此数据库的要求,会判定为 Fail,表示此光谱与标准光谱不匹配,即此光谱不属于与其对比的光谱范

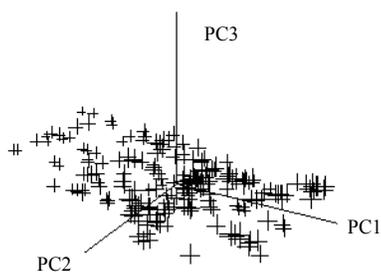


图 4 限定结果三维显示图

Fig. 4 3D graphical representation of limited result

围。反之，如果 ID 结果小于 ID 阈值，那么此光谱符合 Identify 的范围，会判定为 Pass，继续进行 Qualify 的对比，方法同是计算结果与阈值对比。

可以看出山东、山西、河北地区产地黄样品可较好区分，河南三等样品未能区分的原因可能是产地接近、等级不同或者检测的样品颗粒不均匀。

3 讨论

近年来，中药有效成分含量的测定以及药材的鉴别是药物质量标准的核心部分之一。传统的中药鉴别方法主要有经验鉴别、显微鉴别、理化鉴别和

表 2 验证结果

Table 2 Results of validation

样 品	ID 结果	ID 阈值	Qual 结果	Qual 阈值	结论
山东鲁安饮片厂 1	0.856	0.84	0.000	0.79	Fail
山东鲁安饮片厂 2	0.836	0.84	0.836	0.79	Fail
山东鲁安饮片厂 3	0.840	0.84	0.000	0.79	Fail
山东鲁安饮片厂 4	0.876	0.84	0.000	0.79	Fail
山西 1	0.868	0.84	0.000	0.79	Fail
山西 2	0.846	0.84	0.000	0.79	Fail
山西 3	0.820	0.84	0.821	0.79	Fail
山西 4	0.822	0.84	0.821	0.79	Fail
河北安国 1	0.957	0.84	0.000	0.79	Fail
河北安国 2	0.964	0.84	0.000	0.79	Fail
河北安国 3	0.956	0.84	0.000	0.79	Fail
河北安国 4	0.966	0.84	0.000	0.79	Fail
河北安国药材市场 1	0.775	0.84	0.775	0.79	Pass
河北安国药材市场 2	0.737	0.84	0.737	0.79	Pass
河北安国药材市场 3	0.836	0.84	0.836	0.79	Fail
河北安国药材市场 4	0.807	0.84	0.807	0.79	Fail

现代技术鉴别。随着科学仪器的飞速发展，根据中药质量控制的特点和需求，有必要探索一种快速、高效、准确的新型分析检测技术。

近红外光谱分析方法是一种间接分析方法，近年来发展迅速。美国材料和实验协会规定近红外光谱范围为 780~2 526 nm (波数 12 820~3 959 cm^{-1}) 这一区域的吸收，这个范围内的电磁波是人们认识最早的非可见光区域，它显示样品中 X-H 键 (X 代表 C、N、O、S 等) 在中红外区基频振动的谐波和组合谐波吸收。近红外光谱分析方法被誉为 20

世纪 90 年代以来发展最快的光谱分析技术，是光谱测量技术与化学计量学学科的有机结合，被誉为分析的巨人。与中红外光谱相比，近红外谱带光谱吸收较弱，谱带重叠严重。由于不同基团所产生的光谱在吸收位置和吸收强度上有所不同，因此，当样品组成变化时其光谱特征也将发生相应变化，这就为近红外光谱的鉴别、定性和定量分析奠定了理论基础。随着计算机技术和化学计量学理论的发展，人们发现近红外光谱包含着大量用以进行鉴别、定性和定量分析的信息；采用尖端的仪器和科学的分

析技术相互印证、相互补充。它是光谱衡量技术、化学计量学技术和基础测量技术的有机结合,可以快速、高效地对样品进行定性和定量分析。目前近红外光谱分析技术已成功应用于谷物、烟草和化工等诸多行业产品的分析测定中,并成为当前国际上研究的热门课题。国外应用该技术在西药成分检测与质量控制方面已相对比较成熟,2002 年美国 FDA 已把该项技术作为一种标准的检测方法。近年来在我国中药鉴别和质量控制领域中,主要运用近红外技术进行中药材真伪、产地、种类鉴别以及生产过程的在线质量控制^[7-8]。与传统分析技术相比,近红外光谱分析技术具有样品用量小、无破损、无污染、高效、快速、成本低和绿色的特点,是一种快速、无损的新型检测技术,有利于建立中药质量的科学评价体系,为中药材道地与非道地药材的鉴别提供可能。

本研究通过从原产地大量收集怀地黄样品后进行近红外检测,运用残差分析的方法,建立了生地黄道地药材的近红外数据库,利用阈值 ID (≤ 0.84) 和 Qual (≤ 0.79) 两个量进行限定,成功区分了生地黄道地药材与其他产地的药材。检测方法简单,快速,可行。

药材质量的均匀性一直是困扰中医药工作者的一个重大的问题。由于在药材生长、炮制等过程中各种因素的影响,使药材的很多方面存在着差别。因此,建立一个具有普遍意义的鉴别方法是非常必要的。本研究收集的全部样品均为当年生产的新药材,对于建立更加准确、具有普遍意义的数据库,还需要收集更多年限的样品对数据库进行完善和补充。非道地产区的药材样品也应该明确产地到农户,并收集一定的年头和数量,以便更有力的验证道地药材数据库的准确性。

在本研究进行过程中,发现近红外测定对于软件的要求非常的高。曾运用布鲁克公司 MATRIX-I

型近红外光谱仪;检测器: PbS-积分球;扫描参数: 分辨率 8 cm^{-1} ; 扫描次数: 64; 每个样品重复测定 2 次,对所采集的生地黄样品进行了测定,采用一阶、二阶导数以及多元散射等方法对所得近红外光谱 310 张进行分析,均不能达到聚类分析的目的。因此,对于 NIRS 研究方法来说,针对性的软件开发非常必要。

本实验共有河南焦作产地黄样品 151 个,采用其中的 75% 即 112 份样品建立数据库,其原因在于: 样品粉末颗粒度不十分均匀(吸水结块)以及 1900 nm 时的水峰显示样品的含水量差异很大。因此,建议粉末随时处理随时测定,或者使用快速组分测试仪进行测定,可以避免上述误差。而且由于 2300 nm 以后光纤强度衰减,因此数据分析波长选择为 $780 \sim 2200 \text{ nm}$ 。

参考文献

- [1] 李卫民, 邓中甲. 探析地黄道地药材的历史变迁 [J]. 山西中医, 2009, 30(4): 473-474.
- [2] 都恒清, 李更生. 道地药材地黄、山药质量的比较 [C]. 国际传统医药大会论文摘要汇编, 2000: 419.
- [3] 胡世林. 中国道地药材 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1989: 10, 280.
- [4] 白新涛, 霍宝军, 张博, 等. 近红外光谱法快速检测黄芪注射液中黄芪甲苷和总固体量 [J]. 中草药, 2012, 43(11): 2189-2193.
- [5] 张金巍, 张延莹, 刘岩, 等. 近红外光谱法在线质量监控白芍工业化提取 [J]. 中草药, 2011, 42(12): 2459-2461.
- [6] 阮治刚, 李彬. 近红外光谱分析技术的原理及在中药材中的应用 [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(2): 408-417.
- [7] 马晓青, 蔡皓, 刘晓, 等. 近红外光谱在中药鉴别和质量控制中的应用 [J]. 中国药房, 2012, 23(7): 661-663.
- [8] 王凤花, 朱海龙, 戈振扬. 近红外光谱数据建模方法的研究进展 [J]. 农业工程, 2011, 1(1): 56-61.