

基于氨基酸成分的淡水珍珠及海水珍珠对比分析及近红外快速检测

张紫涵^{1,2}, 王香颖^{1,2#}, 李思维^{1,2}, 李启龙^{1,2}, 甘柳霜^{1,2}, 郝二伟^{2,3,4}, 杜正彩^{2,3,4}, 侯媛媛⁵, 白 钢⁵, 邓家刚^{2,3,4*}, 侯小涛^{1,2,3,4*}

1. 广西中医药大学药学院 广西 南宁 530200
2. 广西中医药大学广西中药药效研究重点实验室 广西 南宁 530200
3. 农作物废弃物功能成分研究协同创新中心 广西 南宁 530200
4. 广西中医湿病方药理论与转化重点实验室 广西 南宁 530200
5. 南开大学药学院 天津市分子药物研究重点实验室 天津 300071

摘要: 目的 基于关键氨基酸的含量差异,通过近红外技术实现淡水与海水珍珠的快速检测。方法 采用氨基酸分析仪考察 108 批次海水珍珠与淡水珍珠氨基酸种类与含量差异,依据氨基酸比较分析筛选关键氨基酸。针对关键氨基酸优化近红外定量模型,确立近红外光谱技术珍珠快速检测模型。结果 研究发现天冬氨酸(Asp)和甘氨酸(Gly)含量在淡水珍珠与海水珍珠有显著差异,且两者含量范围无交集。通过珍珠近红外光谱与 Asp、Gly 含量化学计量学拟合对珍珠样品进行检测,所得结果与传统的氨基酸分析技术测定结果一致。结论 基于化学计量学手段对珍珠的定量分析,结果准确可靠,结合近红外光谱技术对不同基原珍珠进行快速检测,为珍珠的质量控制提供方法依据。

关键词: 珍珠; 氨基酸; 定量测定; 近红外光谱技术; 快速检测

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)10-3477-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.10.026

Comparative analysis and near infrared rapid detection of freshwater Margarita and seawater Margarita based on amino acid composition

ZHANG Zihan^{1,2}, WANG Xiangying^{1,2}, LI Siwei^{1,2}, LI Qilong^{1,2}, GAN Liushuang^{1,2}, HAO Erwei^{2,3,4}, DU Zhengcai^{2,3,4}, HOU Yuanyuan⁵, BAI Gang⁵, DENG Jiagang^{2,3,4}, HOU Xiaotao^{1,2,3,4}

1. College of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China
2. Guangxi Key Laboratory of Efficacy Study on Chinese Materia Medica, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China
3. Guangxi Collaborative Innovation Center for Research on Functional Ingredients of Agricultural Residues, Nanning 530200, China
4. Guangxi Key Laboratory of TCM Formulas Theory and Transformation for Damp Diseases, Nanning 530200, China
5. Tianjin Key Laboratory of Molecular Drug Research, College of Pharmacy, Nankai University, Tianjin 300071, China

Abstract: Objective Based on the difference of the content of key amino acids, the near infrared technology was used to detect the freshwater Margarita and seawater Margarita rapidly. **Methods** The amino acid analyzer was used to investigate the differences in the types and contents of amino acids between 108 batches of seawater Margarita and freshwater Margarita, and the key amino acids were screened according to the comparative analysis of amino acids. The near-infrared quantitative model was optimized for key amino acids, and the rapid detection model of Margarita was established by near infrared spectroscopy (NIRS). **Results** The results showed that the contents of aspartic acid (Asp) and glycine (Gly) were significantly different between freshwater Margarita and seawater Margarita, and there were no intersectional content range between Asp and Gly. The NIRS of Margarita was fitted with the stoichiometry of Asp and Gly content to detect Margarita samples, and the obtained results showed consistently with the determination results of traditional amino acid analysis technology. **Conclusion** The quantitative analysis of Margaritas based on stoichiometry showed that the results were accurate and reliable. The rapid detection of

收稿日期: 2023-10-09

基金项目: 中国(广西)-东盟药物创新中心建设及新药开发(桂科 AA19254033); 2023 年中央补助国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目-海洋中药学(桂财社函〔2023〕97 号)

作者简介: 张紫涵, 女, 硕士, 从事中药质量控制研究。E-mail: 598653361@qq.com

#共同第一作者: 王香颖, 女, 硕士, 从事中药制剂研究与开发。E-mail: 2810371087@qq.com

*通信作者: 邓家刚, 教授。E-mail: dengjg53@126.com

侯小涛, 教授。E-mail: xthou@126.com

Margarita with different primordia was carried out combined with NIRS, providing a method basis for quality control of Margarita.

Key words: Margarita; amino acid; quantitative determination; near infrared spectroscopy (NIRS); rapid detection

珍珠作为代表性海洋中药,在我国有悠久的历史^[1],《中国药典》2020年版^[2]记载珍珠为珍珠贝科动物马氏珠母贝 *Pteria martensii* (Dunker), 蚌科动物三角帆蚌 *Hyriopsis cumingii* (Lea) 或褶纹冠蚌 *Cristaria plicata* (Leach) 等双壳类动物受刺激形成的文石颗粒,具有安神定惊、明目消翳、解毒生肌、润肤祛斑的功效。珍珠由无机物质及有机质构成,有机质主要为蛋白及多肽类物质。据报道,珍珠蛋白提取物具备较高的抗氧化能力^[3],能够促进人晶状体上皮细胞的生长,对 H₂O₂ 诱导的人晶状体上皮细胞 (normal lens epithelial cells, HLEC) 氧化损伤具有保护作用^[4],珍珠壳角蛋白含有的多种氨基酸可提高免疫力、延缓衰老^[5],甘氨酸和甲硫氨酸可通过促进胶原蛋白再生而起到美容的作用^[6]。因此,研究珍珠的氨基酸成分,对于珍珠应用于药物方面具有重要意义。

《中华海洋本草》^[7]和《中草药彩色图谱》^[8]中记载,淡水珍珠的主要来源是蚌科三角帆蚌或褶纹冠蚌等淡水珍珠蚌,海水珍珠的主要来源则为珍珠贝类。研究表明二者成分组成没有太大差异^[9]。近年来,研究发现珍珠在免疫调节、伤口愈合、抗氧化衰老等方面具有药理活性,且淡水珍珠及海水珍珠的抗氧化能力有明显区别^[10-11],不同基原珍珠的质量差异,导致药效发挥的不稳定^[12]。目前,珍珠质量控制研究多关注于碳酸钙、微量元素,而药效上的差异与珍珠有机质成分密切相关,因此,确定其差异性有机成分并建立快速检测方法,对于珍珠的合理利用及制定科学合理的珍珠质量标准具有重要意义。目前常见的珍珠鉴别方法有辐照法、微量元素含量差异法、X 荧光光谱法、热重-差示扫描量热法等方法^[13-18],未见淡水珍珠与海水珍珠氨基酸含量差异对比分析的研究。因此,本研究收集淡水珍珠及海水珍珠样品,测定其氨基酸组成与含量,结合多种计量学方法辨析淡水珍珠与海水珍珠之间的差异性成分^[9],进而运用近红外光谱技术建立珍珠快速检测模型,为珍珠的质量控制提供依据,并为其深入开发提供技术手段。

1 材料

1.1 药材

收集不同地区珍珠样品 108 批,其中淡水珍珠

70 批,海水珍珠 38 批,样品信息见表 1,淡水珍珠以“DSZZ+批号”,海水珍珠以“HSZZ+批号”进行命名,所有样品均经广西中医药大学韦松基教授鉴定,分别为珍珠贝科动物马氏珠母贝 *P. martensii* (Dunker),蚌科动物三角帆蚌 *H. cumingii* (Lea) 受刺激形成的珍珠。

1.2 药品与试剂

柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(德国赛卡姆公司,批号分别为 02090119),冷冻剂(市售食盐与冰块按质量 1:3 混合,实验室自制);维生素 C(德国赛卡姆公司,批号 6005010CN)、天冬氨酸(Asp,批号 DST190806-897)、谷氨酸(Glu,批号 DST190702-078)、丝氨酸(Ser,批号 DST190901-190)、甘氨酸(Gly,批号 DST190508-068)、精氨酸(Arg,批号 DST190415-079)、苏氨酸(Thr,批号 DS191010-135)、丙氨酸(Ala,批号 DST190801-124)、酪氨酸(Tyr,批号 DST191013-261)、缬氨酸(Val,批号 DST190906-061)、异亮氨酸(Ile,批号 DST190626-266)、亮氨酸(Leu,批号 DST190908-112)、苯丙氨酸(Phe,批号 DST190812-136)、赖氨酸(Lys,批号 DST191013-108)均购自乐美天医药有限公司,质量分数大于 98%;组氨酸(His,北京索莱宝科技有限公司,批号 1117A025),质量分数均大于 98%;水为去离子纯水。

1.3 仪器

S-433D 型全自动氨基酸分析仪[赛卡姆(北京)科学仪器有限公司],N-500 型傅里叶变换近红外光谱仪(步崎公司),Microvap 118 型氮吹仪(Organomation 公司),DHG-9240 A 型恒温干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),SQP 型分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],DFT-100A 型粉碎机(温岭市林大机械有限公司)。

2 方法与结果

2.1 样品溶液制备

精密称定样品 0.5 g,在水解管内加 6 mol/L (0.1% 苯酚)盐酸溶液 10 mL,将水解管放入冷冻剂冷冻 3~5 min,接真空泵抽真空(接近 0 Pa),然后充入氮气重复抽真空 3 次后,在充氮气状态下封口或拧紧螺丝盖。将已封口的水解管放在 (110±1) °C 的电热鼓风

表1 珍珠样品信息

Table 1 Sample information of Margarita

样品编号	产地	基原	来源	批号	样品编号	产地	基原	来源	批号
DSZZ01	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-01	DSZZ55	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-55
DSZZ02	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-02	DSZZ56	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-56
DSZZ03	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-03	DSZZ57	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-57
DSZZ04	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-04	DSZZ58	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-58
DSZZ05	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-05	DSZZ59	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-59
DSZZ06	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-06	DSZZ60	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-60
DSZZ07	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-07	DSZZ61	浙江	三角帆蚌	四川成都天回镇中药材市场	DSZZ190731-61
DSZZ08	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-08	DSZZ62	浙江	三角帆蚌	广西玉林市玉州区银丰中药港	DSZZ190825-62
DSZZ09	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-09	DSZZ63	浙江	三角帆蚌	广西玉林市玉州区银丰中药港	DSZZ190825-63
DSZZ10	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190727-10	DSZZ64	浙江	三角帆蚌	广西玉林市玉州区银丰中药港	DSZZ190825-64
DSZZ11	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-11	DSZZ65	广西	三角帆蚌	广西玉林市玉州区银丰中药港	DSZZ190825-65
DSZZ12	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-12	DSZZ66	广西	三角帆蚌	广西玉林市玉州区银丰中药港	DSZZ190825-66
DSZZ13	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-13	DSZZ67	广西	三角帆蚌	广西玉林市玉州区银丰中药港	DSZZ190825-67
DSZZ14	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-14	DSZZ68	广西	三角帆蚌	广西玉林市玉州区银丰中药港	DSZZ190825-68
DSZZ15	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-15	DSZZ69	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190728-69
DSZZ16	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-16	DSZZ70	安徽	三角帆蚌	河北省保定市安国东方药城	DSZZ190725-70
DSZZ17	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-17	HSZZ71	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-71
DSZZ18	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-18	HSZZ72	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-72
DSZZ19	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-19	HSZZ73	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-73
DSZZ20	湖南	三角帆蚌	湖南省常德市汉寿县湘珠世家养殖基地	DSZZ190805-20	HSZZ74	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-74
DSZZ21	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-21	HSZZ75	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-75
DSZZ22	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-22	HSZZ76	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-76
DSZZ23	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-23	HSZZ77	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-77
DSZZ24	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-24	HSZZ78	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-78
DSZZ25	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-25	HSZZ79	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-79
DSZZ26	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-26	HSZZ80	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-80
DSZZ27	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-27	HSZZ81	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-81
DSZZ28	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-28	HSZZ82	广西	马氏珠母贝	广西北海铁山港区养殖基地	HSZZ200527-82
DSZZ29	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-29	HSZZ83	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-83
DSZZ30	福建	三角帆蚌	河北保定安国药源商贸有限公司	DSZZ190821-30	HSZZ84	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-84
DSZZ31	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-31	HSZZ85	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-85
DSZZ32	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-32	HSZZ86	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-86
DSZZ33	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-33	HSZZ87	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-87
DSZZ34	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-34	HSZZ88	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-88
DSZZ35	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-35	HSZZ89	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-89
DSZZ36	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-36	HSZZ90	广东	马氏珠母贝	广东湛江珍珠养殖产业基地	HSZZ0527-90
DSZZ37	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-37	HSZZ91	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-91
DSZZ38	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-38	HSZZ92	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-92
DSZZ39	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-39	HSZZ93	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-93
DSZZ40	辽宁	三角帆蚌	保定安国中药材市场	DSZZ190816-40	HSZZ94	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-94
DSZZ41	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-41	HSZZ95	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-95
DSZZ42	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-42	HSZZ96	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-96
DSZZ43	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-43	HSZZ97	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-97
DSZZ44	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-44	HSZZ98	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ200707-98
DSZZ45	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-45	HSZZ99	印度尼西亚	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-99
DSZZ46	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-46	HSZZ100	印度尼西亚	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-100
DSZZ47	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-47	HSZZ101	日本	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-101
DSZZ48	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-48	HSZZ102	日本	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-102
DSZZ49	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-49	HSZZ103	日本	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-103
DSZZ50	海南	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-50	HSZZ104	日本	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-104
DSZZ51	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-51	HSZZ105	菲律宾	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-105
DSZZ52	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-52	HSZZ106	菲律宾	马氏珠母贝	广西北海市海城区京悦生商行	HSZZ201016-106
DSZZ53	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-53	HSZZ107	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ201113-107
DSZZ54	山东	三角帆蚌	安徽亳州中药材市场	DSZZ190816-54	HSZZ108	广东	马氏珠母贝	广东流沙珍珠养殖产业基地	HSZZ201113-108

恒温箱内，水解 22 h，取出，冷却至室温，将水解液过滤至 25 mL 量瓶内，并用水少量多次冲洗水解管，定容至刻度，振荡混匀，滤过，吸取滤液 2 mL 进行干燥，干燥后残留物用 1~2 mL 水溶解，再干燥，最后蒸干，用 pH 2.2 柠檬酸钠缓冲溶液 2 mL 溶解后滤过，取续滤液，供仪器测定用。

2.2 氨基酸对照品溶液的制备

分别精密称取 14 种氨基酸对照品，以样品稀释液制成浓度适宜的对照品储备液；分别精密量取上述对照品储备液适量，配制成 Asp、Ile、Thr、Leu、Ser、Tyr、Glu、Phe、Gly、His、Ala、Lys、Val、Arg 的质量浓度分别为 29.70、14.55、10.91、19.31、19.88、15.00、27.82、13.95、41.66、12.26、47.44、15.45、14.62、19.65 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品溶液，摇匀，备用。

2.3 茛三酮衍生化溶液制备

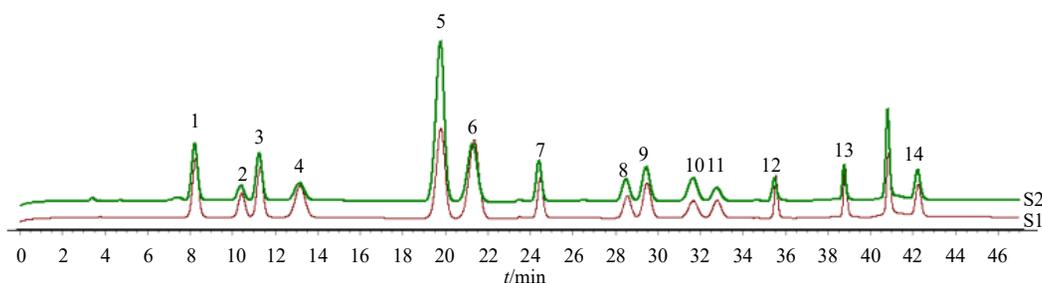
用 600 mL 甲醇溶解 20 g 茛三酮，加入 2 g 苯酚，过 0.45 μm 有机系滤膜；加入 400 mL 钾钠缓冲液中，用氮气从底部吹大约 3~5 min，加入还原剂维生素 C，再用氮气从底部吹大约 3~5 min，将此茛三酮溶液用氮气密封 10 h（气压约 50 kPa）后使用。

2.4 色谱条件与结果

分离柱为磺酸键合离子交换柱；流动相为柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液（pH 3.45，A）-柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液（pH 10.85，B）-2% NaOH 溶液（C）；体积流量 0.45 mL/min；梯度洗脱（表 2），进样量 20 μL ；柱温 58 $^{\circ}\text{C}$ 。反应液：茛三酮衍生化溶液，体积流量 0.25 mL/min；柱温 130 $^{\circ}\text{C}$ ；检测波长 570 nm。14 种氨基酸对照品与 DSZZ61 珍珠样品的氨基酸色谱分离效果见图 1。

表 2 梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%	C/%
0	100	0	0
2.5	100	0	0
10	85	15	0
17	80	20	0
23	67	33	0
27	20	80	0
29	20	80	0
30	0	100	0
42	0	100	0
42.1	0	0	100



1-Asp 2-Thr 3-Ser 4-Glu 5-Gly 6-Ala 7-Val 8-Ile 9-Leu 10-Tyr 11-Phe 12-His 13-Lys 14-Arg

图 1 对照品色谱图 (S1) 及珍珠样品 (S2) 氨基酸色谱图

Fig. 1 Control samples chromatogram (S1) and Margarita sample amino acid chromatogram (S2)

2.5 方法学考察

2.5.1 线性关系考察 取 0.1、0.2、0.5、1、1.5、2 mL，制备成不同质量浓度的混合对照品溶液。分别精密吸取上述溶液各 20 μL ，注入氨基酸分析仪，记录各浓度溶液的色谱图。以氨基酸浓度为横坐标 (X)，以氨基酸峰面积为纵坐标 (Y)，绘制 14 种氨基酸的标准曲线，回归方程、相关系数 (r^2) 及线性范围见表 3。结果表明，在样品线性范围范围内，14 种氨基酸回归方程的 r^2 均大于 0.999 0，线性关系良好。

2.5.2 精密度试验 取 DSZZ61 珍珠样品，按“2.1”项方法制备样品溶液，按“2.4”项下测定，连续进样 6 次，记录色谱图。计算 Asp、Thr、Ser、Glu、

Gly、Ala、Val、Ile、Leu、Tyr、Phe、His、Lys、Arg 峰面积的 RSD 分别为 0.74%、0.86%、0.73%、0.85%、0.70%、0.71%、1.03%、1.11%、0.85%、1.04%、0.72%、1.55%、0.74%、1.20%，说明仪器精密度好。

2.5.3 稳定性试验 取 DSZZ61 珍珠样品，按“2.1”项下方法制备样品溶液，按“2.4”项下条件测定，分别在 0、4、8、12、16、20 h 进样，记录色谱图。计算 Asp、Thr、Ser、Glu、Gly、Ala、Val、Ile、Leu、Tyr、Phe、His、Lys、Arg 峰面积的 RSD 分别为 1.69%、1.11%、1.08%、1.20%、1.10%、1.06%、1.88%、1.03%、1.16%、1.34%、1.45%、1.94%、1.06%、1.41%，表明供试品溶液在 20 h 内稳定性好。

表3 14种氨基酸的回归方程及相关系数

Table 3 Regression equations and correlation coefficients for 14 amino acids

氨基酸	回归方程	r^2	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)
Asp	$Y=339.778\ 21\ X+149.741\ 42$	0.999 2	2.409 7~48.195 0
Thr	$Y=437.951\ 59\ X+20.826\ 59$	0.999 9	0.910 0~18.200 0
Ser	$Y=516.058\ 71\ X+78.038\ 66$	0.999 7	1.507 5~30.150 0
Glu	$Y=380.165\ 28\ X+118.229\ 95$	0.999 6	1.815 0~36.300 0
Gly	$Y=724.555\ 7\ X+572.925\ 52$	0.999 3	4.783 2~95.665 0
Ala	$Y=603.572\ 66\ X+296.294\ 8$	0.999 7	2.998 3~59.965 0
Val	$Y=434.365\ 07\ X+287.648\ 7$	0.999 4	1.212 0~24.240 0
Ile	$Y=363.040\ 28\ X+71.309\ 19$	0.999 9	1.319 6~26.392 5
Leu	$Y=386.385\ 17\ X+96.400\ 6$	0.999 9	1.511 3~30.225 0
Tyr	$Y=273.193\ 6\ X+11.875\ 29$	0.999 8	1.497 6~29.952 0
Phe	$Y=304.971\ 64\ X+56.400\ 86$	0.999 8	1.184 0~23.680 0
His	$Y=322.943\ 75\ X+192.127\ 54$	0.999 5	0.897 8~17.955 0
Lys	$Y=344.932\ 02\ X+158.601\ 36$	0.999 5	0.120 8~2.415 0
Arg	$Y=238.730\ 66\ X+0.415\ 39$	0.999 3	1.818 4~36.367 5

2.5.4 重复性试验 取 DSZZ61 珍珠样品各 6 份, 按 2.1 项下方法制备样品溶液, 按“2.4”项下条件测定, 记录色谱图。计算 Asp、Thr、Ser、Glu、Gly、Ala、Val、Ile、Leu、Tyr、Phe、His、Lys、Arg 的平均质量分数为 0.19%、0.04%、0.14%、0.10%、0.44%、0.36%、0.06%、0.05%、0.10%、0.07%、0.09%、0.03%、0.06%、0.12%, RSD 分别为 1.15%、0.94%、1.07%、1.16%、0.76%、1.32%、1.79%、1.46%、1.49%、1.90%、1.39%、2.65%、1.98%、1.85%, 表明方法的重复性好。

2.5.5 加样回收试验 取 DSZZ61 珍珠样品各 6 份, 每份约 0.25 g, 精密称定, 分别精密加入 14 种氨基酸对照品适量。按“2.1”项下方法制备 14 种氨基酸的加样回收的样品溶液, 按“2.4”项下条件

测定, 14 种氨基酸的加样回收率分别为 98.69%、98.50%、99.36%、101.59%、109.62%、107.11%、94.56%、101.21%、97.52%、86.09%、101.08%、112.18%、97.11%、94.07%, RSD 均小于 2.0%, 方法的准确度好。

2.6 氨基酸含量测定结果

对收集到的珍珠样品按“2.1”项下方法制备, 氨基酸分析仪测定其含量。在 108 批珍珠供试品中, 不同产地珍珠共计检测到 14 种氨基酸, 淡水珍珠与海水珍珠中 14 种氨基酸的含量范围如表 4 所示。其中 Gly、Ala、Asp 3 种氨基酸含量较高, 结合两者氨基酸含量范围, 仅 Gly、Asp 含量范围无交集, 见图 2。

表4 淡水珍珠和海水珍珠中氨基酸的含量测定结果

Table 4 Amino acid content determination results in freshwater Margarita and seawater Margarita

氨基酸种类	淡水珍珠		海水珍珠	
	质量分数/%	平均值/%	质量分数/%	平均值/%
Asp	0.15~0.26	0.21	0.28~0.77	0.43
Thr	0.03~0.06	0.05	0.04~0.25	0.08
Ser	0.12~0.19	0.21	0.14~0.44	0.17
Glu	0.07~0.16	0.11	0.11~0.55	0.20
Gly	0.25~0.43	0.35	0.62~1.39	0.91
Ala	0.28~0.46	0.40	0.41~0.63	0.55
Val	0.04~0.09	0.06	0.08~0.40	0.16
Ile	0.03~0.07	0.04	0.08~0.41	0.15
Leu	0.09~0.16	0.13	0.16~0.49	0.25
Tyr	0.03~0.10	0.06	0.12~0.45	0.20
Phe	0.07~0.14	0.10	0.08~0.29	0.12
His	0.01~0.04	0.03	0.08~0.25	0.10
Lys	0.05~0.09	0.07	0.08~0.30	0.13
Arg	0.08~0.15	0.12	0.16~0.49	0.26

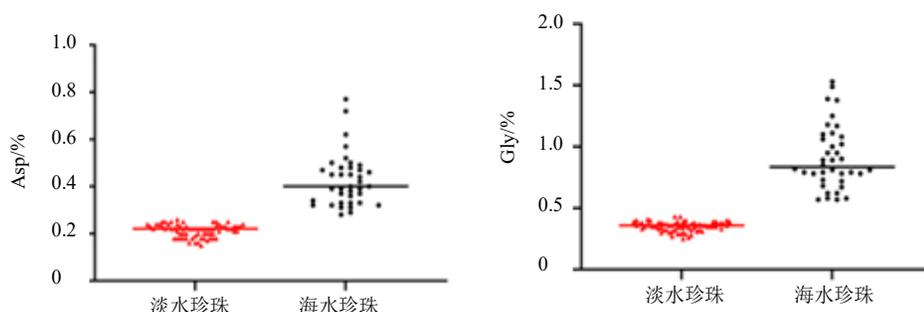


图2 淡水珍珠及海水珍珠 Asp、Gly 含量对比图

Fig. 2 Comparison of Asp and Gly contents between freshwater Margarita and seawater Margarita

2.7 淡水珍珠与海水珍珠氨基酸含量对比分析

氨基酸作为构成蛋白质的基本成分，不同的氨基酸构成直接影响蛋白质的性质，可以反映淡水珍珠及海水珍珠有机成分存在差异。采用 Graphpad Prism 8.4.3 统计软件分析，组间两两比较采用 *t* 检验，以 $\bar{x} \pm s$ 表示；海水珍珠与淡水珍珠氨基酸含量差异较大，对淡水珍珠与海水珍珠两组间 14 种氨基酸进行统计学分析，除 Phe 外，海水珍珠中 13 种氨基酸含量均高于淡水珍珠，具有统计学意义，见表 5。且 Gly、Asp 2 种氨基酸含量较高，含量范围无交集，故选择 Gly、Asp 2 种氨基酸作为近红外光谱快速检测的关键氨基酸。

表 5 淡水珍珠和海水珍珠氨基酸含量比较分析 ($\bar{x} \pm s$)
Table 5 Comparative analysis of amino acids contents between freshwater Margarita and seawater Margarita ($\bar{x} \pm s$)

氨基酸种类	质量分数/%	
	淡水珍珠	海水珍珠
Asp	0.21 ± 0.03	0.43 ± 0.11**
Thr	0.05 ± 0.01	0.08 ± 0.05**
Ser	0.17 ± 0.02	0.22 ± 0.09**
Glu	0.11 ± 0.02	0.20 ± 0.11**
Gly	0.35 ± 0.04	0.91 ± 0.26**
Ala	0.40 ± 0.05	0.55 ± 0.08**
Val	0.06 ± 0.01	0.16 ± 0.09**
Ile	0.04 ± 0.01	0.15 ± 0.09**
Leu	0.13 ± 0.02	0.25 ± 0.09**
Tyr	0.06 ± 0.01	0.20 ± 0.10**
Phe	0.10 ± 0.02	0.12 ± 0.06
His	0.03 ± 0.01	0.10 ± 0.06**
Lys	0.07 ± 0.01	0.13 ± 0.06**
Arg	0.12 ± 0.02	0.26 ± 0.08**

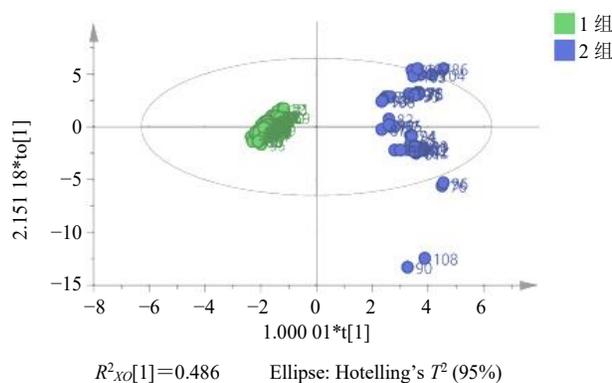
与淡水珍珠比较: **P* < 0.05 ***P* < 0.01.

P* < 0.05 *P* < 0.01 vs freshwater Margarita.

2.8 基于淡水珍珠与海水珍珠含量数据聚类分析

将 70 批淡水珍珠与 38 批海水珍珠的含量结果导入 SIMCA 软件，以 14 个氨基酸含量 (Asp、Thr、Ser、Glu、Gly、Ala、Val、Ile、Leu、Tyr、Phe、His、Lys、Arg) 作为因变量，不同种类 (淡水珍珠、海水珍珠) 作为自变量，通过正交偏最小二乘法判别分析 (orthogonal partial least-squares discriminant analysis, OPLS-DA) (图 3) 进行聚类分析可以实现淡水珍珠和海水珍珠样品有效区分。本次分析中的自变量拟合指数 (R^2_x) 为 0.976，因变量拟合指数 (R^2_y) 为 0.974，模型预测指数 (Q^2) 为 0.971， R^2 和 Q^2 大于 0.9 表示模型拟合结果合格，经过 200 次置换检验 (Permutation test)，如图 4 所示， Q^2 回归线与纵轴的相交点小于 0，说明模型不存在过拟合，模型验证有效，认为该结果可用于淡水珍珠和海水珍珠的鉴别分析。

对上述聚类分析的结果，进行结合变量重要性投影值 (variable importance for the projection, VIP) 值检验，如图 5 所示，对于区分淡水珍珠与海水珍珠的 14 个变量，VIP 值大于 1 表明对区分起到了重



1~70-淡水珍珠; 71~108-海水珍珠。

1—70-freshwater Margarita; 71—108-seawater Margarita.

图3 淡水珍珠与海水珍珠含量数据 OPLS-DA 聚类分析图
Fig. 3 OPLS-DA cluster analysis of freshwater Margarita and seawater Margarita content data

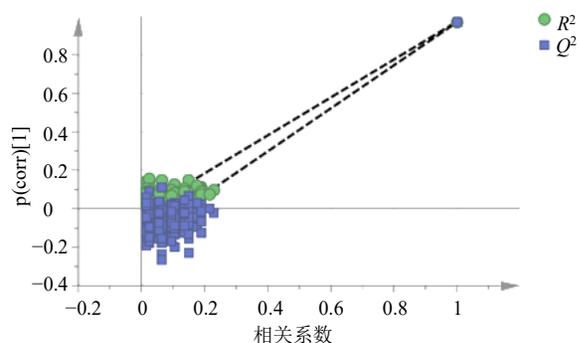


图4 淡水珍珠与海水珍珠含量数据置换检验图

Fig. 4 Replacement test chart of freshwater Margarita and seawater Margarita content data

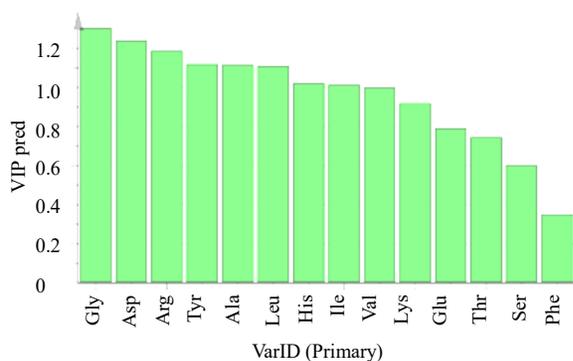


图5 淡水珍珠与海水珍珠含量数据VIP图

Fig. 5 VIP chart of freshwater Margarita and seawater Margarita content Data

要作用, 如 Gly、Asp、Arg、Tyr、Ala、Leu、His、Ile、Val; VIP 值小于 1 表明该变量对区分起不到作用, 如 Lys、Glu、Thr、Ser、Phe。结合“2.7”项含量对比分析及 VIP 图结果, 建立 Gly、Asp 近红外定量模型可用于区分淡水珍珠与海水珍珠。

2.9 珍珠近红外光谱快速检测模型的建立

2.9.1 珍珠近红外光谱采集 取 1 g 珍珠粉放置于样品指管中。采集方式: 漫反射, 分辨率: 8.0 Hz, 扫描次数: 32 次, 扫描范围 10 000~4 000 cm^{-1} , 温度 18~25 $^{\circ}\text{C}$ 。每个样品充分混匀后重复扫描 3 次。

2.9.2 模型的建立 结合珍珠样品差异性成分分析结果, Asp、Gly 2 种氨基酸含量可以作为淡水珍珠及海水珍珠判别的依据, 将珍珠 Asp、Gly 作为 2 个属性, 结合氨基酸实际含量赋值给珍珠光谱图, 将赋值后光谱导入 NIRcal 5.4 数据处理软件, 进行数学预建模, 样品以 K-S 方法分类, 选取 2/3 样品作为 C-SET, 剩余的 1/3 作为 V-SET, 采用偏最小二

乘法 (partial least squares regression, PLS) 及主成分分析 (principal component analysis, PCA) 作为建立模型的方法。

2.9.3 光谱预处理方法的选择 近红外光谱可以反映化学官能团信息, 但是受样品粒径等物理因素干扰以及光谱的无效信息干扰等, 所以需要对光谱进行预处理^[20], 常用的预处理算法有一阶导数 (1st Derivative, db1)、趋近归一化法 (normalization by Closure, ncl)、多元散射校正 (multivariate scattering correction full, mf)、标准正态变换 (standard normal variate, SNV)、九点卷积平滑一阶导数处理 (1st Derivative Savitzky-Golay 9 points, dg1), 单位长度标准化 (normalization to Unit length, nle)^[21-23], 以 C-SET 建立判别分析数学模型, 并用 V-SET 对模型进行验证, 挑选出最优预处理方法以减少无效信息干扰, 并以综合评价指标 Q_v 作为判断依据, Q_v 值越接近 1 模型效果越好。未经预处理的图谱分别进行 PLS、PCA 分析, Asp 模型 Q_v 为 0.756 8, 0.882 8; Gly 模型 Q_v 为 0.759 1、0.854 9, 说明该 2 种氨基酸本身数据结果较好, 但验证集模型回归曲线相关系数较差, 因此采用 db1, ncl, SNV, mf 等多种算法对光谱进一步计算^[24], 共进行了 60 次计算, 根据综合评价指标 (Q 值) 选出最优模型^[25], 选择结果较好的前 12 种预处理结果, Asp 模型预处理优化结果见表 6, Gly 模型预处理优化结果见表 7, 表中标记“*”为最佳建模结果的参数。Asp 模型光谱经 SNV、db1、ncl 以及 mf 4 种方法预处理后, 所建立的定量分析模型和其他的预处理方法相比较 Q_v 值最大, 其中经 mf 预处理后的近红外光谱的校正相关系数最大, 验证相关系数最好, 同时预处理后的校正集误差与验证集误差较小, 且相差不大, 说明模型具有较大的稳定性, 最终选取预处理方法为 mf, 波段 4 000~10 000 cm^{-1} 。Gly 模型最佳结果预处理方法为 mf、db1、nle, 选取 4 000~10 000 cm^{-1} 波段。珍珠原始图谱经最优模型处理后得到 Asp、Gly 模型图谱及 Asp、Gly 模型校正集与验证集回归线性拟合图谱, 见图 6。

2.9.4 模型的评价 选用最佳的光谱预处理方法和优化后的光谱区间, 建立 Asp、Gly 快速检测模型, 随机抽取 10 批验证集样品进行预测, 结果与氨基酸含量测定值比对, 以对模型预测能力进行考察分析^[26]。

表 6 Asp 模型预处理结果

Table 6 Results of ASP model preprocessing

序号	方法	算法	主因子 占比/%		波段/cm ⁻¹	Qv	校正集		验证集	
							相关系数	误差均方根	相关系数	误差均方根
1	PLS none	-	-	-	-	0.756 8	0.997 6	0.008	0.946 5	0.032
2	PCR none	-	-	-	-	0.882 8	0.975 2	0.027	0.972 0	0.024
3	PCR db1, ncl	3	83	5 000~10 000		0.899 8	0.986 0	0.020	0.977 9	0.021
4	PLS db1, ncl	3	83	5 000~10 000		0.903 2	0.989 1	0.018	0.980 2	0.019
5	PLS SNV	11	83	5 000~10 000		0.905 0	0.991 6	0.016	0.981 5	0.019
6	PLS db1, ncl	3	79	5 000~7 144, 7 404~10 000		0.905 0	0.988 1	0.018	0.980 3	0.019
7	PLS SNV	12	79	5 000~7 144, 7 404~10 000		0.904 0	0.991 7	0.015	0.981 5	0.019
8	PLS SNV, db1	3	79	5 000~7 144, 7 404~10 000		0.902 4	0.990 1	0.017	0.979 6	0.020
9	PCR mf	8	100	4 000~10 000		0.903 0	0.990 3	0.017	0.980 6	0.019
10	PLS mf	9	100	4 000~10 000		0.905 0	0.991 7	0.015	0.982 7	0.018
11	PCR SNV	8	100	4 000~10 001		0.900 9	0.990 3	0.017	0.980 7	0.019
12*	PLS SNV	9	100	4 000~10 000		0.904 1	0.991 7	0.015	0.982 7	0.018

*为最优预处理模型, 下同。

* is the optimal preprocessing model, same as below.

表 7 Gly 模型预处理结果

Table 7 Results of Gly model preprocessing

序号	方法	算法	主因子 占比/%		波段/cm ⁻¹	QV	校正集		验证集	
							相关系数	误差均方根	相关系数	误差均方根
1	PLS none	-	-	-	-	0.759 1	0.997 1	0.021	0.967 7	0.068
2	PCR none	-	-	-	-	0.854 9	0.980 9	0.054	0.975 7	0.061
3	PLS dg1, nle	2	83	5 000~10 000		0.866 6	0.985 7	0.046	0.979 9	0.055
4	PLS mf, db1, nle	2	83	5 000~10 000		0.867 1	0.985 6	0.047	0.979 9	0.055
5	PLS ncl	10	100	4 000~10 000		0.871 2	0.988 6	0.041	0.983 3	0.050
6	PLS db1	5	100	4 000~10 000		0.876 8	0.987 6	0.043	0.982 5	0.051
7	PLS db1,ncl	6	100	4 000~10 000		0.876 7	0.990 1	0.039	0.984 0	0.048
8	PLS mf	10	100	4 000~10 000		0.877 7	0.989 5	0.040	0.985 0	0.047
9	PLS dg1, nle	5	100	4 000~10 000		0.880 1	0.990 2	0.038	0.984 3	0.048
10	PLS SNV	10	100	4 000~10 000		0.877 4	0.989 5	0.040	0.984 9	0.047
11	PLS SNV, db1	4	100	4 000~10 000		0.871 5	0.991 2	0.036	0.984 5	0.048
12*	PLS mf, db1, nle	5	100	4 000~10 000		0.881 4	0.990 0	0.039	0.984 5	0.048

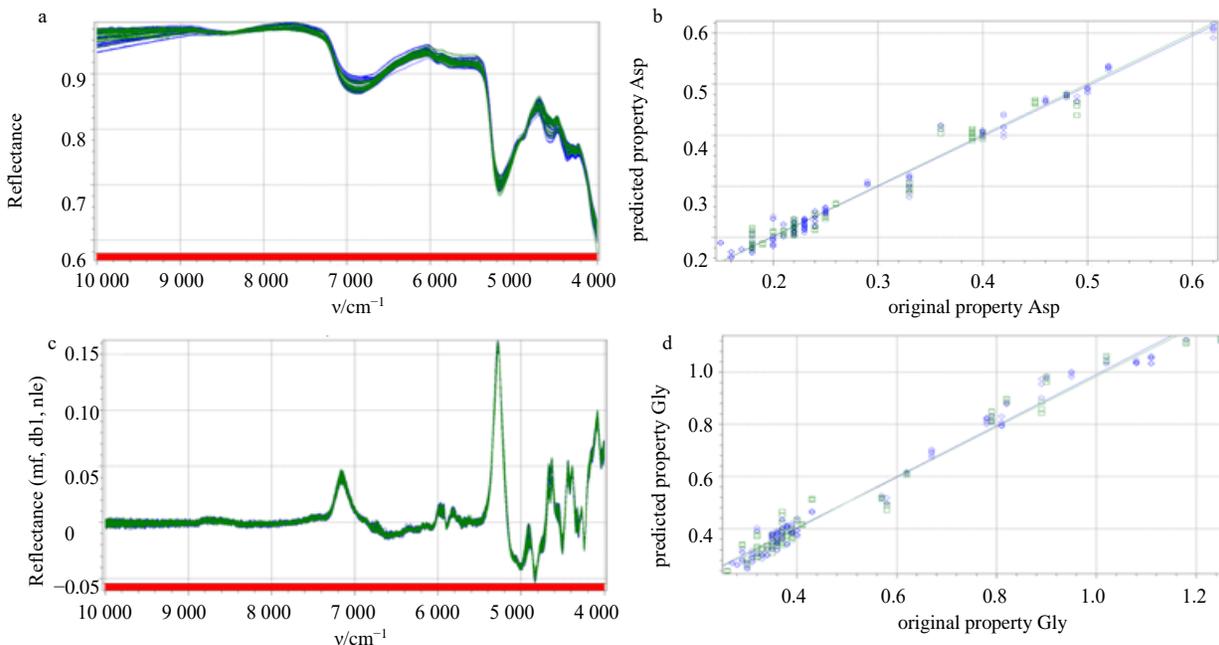


图 6 mf 处理后的光谱图 (a)、Asp 模型校正集与验证集回归线性拟合图谱 (b)、mf, db1, nle 处理后的光谱图 (c)、Gly 模型校正集与验证集回归线性拟合图谱 (d)

Fig. 6 Spectrogram after mf processing (a), regression linear fitting atlas of correction set and verification set of Asp model (b), spectrogram after mf, db1, nle processing (c), regression linear fitting atlas of correction set and verification set of Gly model (d)

2.9.5 模型预测检验 选择优化后模型,以珍珠近红外验证集光谱进行预测,以预测结果对模型进行评价。对比氨基酸分析仪测定值及近红外光谱预测值,Asp 模型检测结果的最大相对偏差小于±0.01,相对误差小于±0.1,预测标准偏差(SEV)为0.0072,对于给定显著水平0.05, $t(0.05, 9) = 2.26$,所得成对 t 检验值为0.98 小于 2.26,说明2种方法的分析结果没有显著性差异。Gly 模型检测结果的最大相对偏差小于±0.08,相对误差小于±0.1,SEV为0.0254,对于给定显著水平0.05, $t(0.05, 9) = 2.26$,所得成对 t 检验值为1.58 小于 2.26,说明2种方法的分析结果没有显著性差异,即近红外模型通过验证^[27-28]。

2.9.6 近红外光谱与氨基酸分析仪检测氨基酸含量对比分析 模型预测结果与氨基酸分析仪测定结果

对比,经 t 检验,说明2种方法无显著性差异。对比氨基酸分析仪测定值及近红外光谱预测值,结果见图7,Asp 与 Gly 含量在实际测定中样品含量范围无交集,考察近红外光谱模型效果后,对模型所有样品 Asp, Gly 预测值进行统计,与实际测定含量符合,说明近红外模型预测结果基本与实际结果相符,模型效果良好,预测结果的准确度较高。而且,通过对比氨基酸分析仪测定值及近红外光谱预测值,发现 Asp 与 Gly 在实际测定样品中的含量范围无交集。综上,通过近红外 Asp、Gly 定量模型可以推断珍珠种类,区分淡水珍珠与海水珍珠。近红外光谱法无需样品前处理,可以减少误差的来源,实现珍珠粉的快速含量测定,降低检测成本,本实验为快速评价珍珠中的氨基酸成分、区分淡水珍珠和海水珍珠提供了可行的方法^[29]。

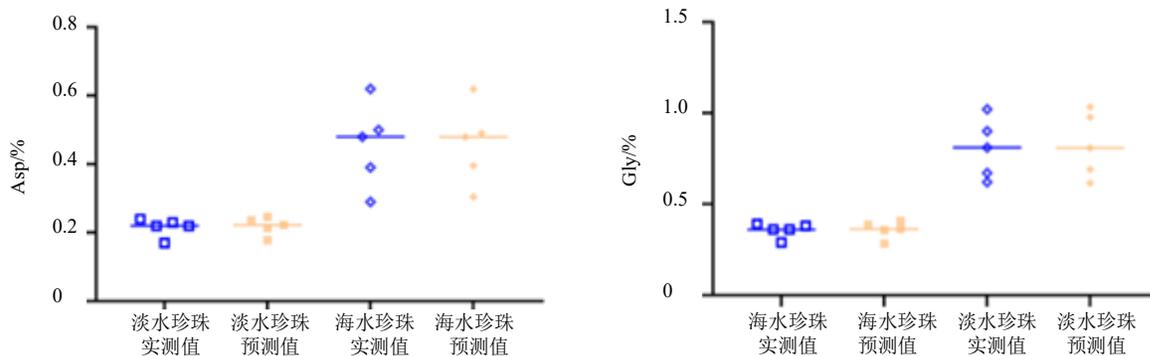


图7 珍珠样品中 Asp 和 Gly 含量实测值与预测值对比结果

Fig. 7 Comparison of measured and predicted values of Asp and Gly in Margarita samples

3 讨论

珍珠作为我国传统中药材,在提高人体免疫力、延缓衰老、祛斑美白、补充钙质等方面都具有独特的作用,壳角蛋白作为珍珠重要的有机成分构成,其主要成分为多种氨基酸,氨基酸含量的不同可以决定蛋白质特性的不同。珍珠在我国具有多基原多产地的特点,不同基原化学成分差异也会影响药材的药效,有效区分淡水珍珠及海水珍珠之间的差异是珍珠质量评价的关键环节,应用新技术结合传统检测方法,明确淡水珍珠及海水珍珠之间的差异,能更好的发挥珍珠药材的药效价值。

本研究收集了不同产地的淡水珍珠及海水珍珠样品108批,对淡水珍珠与海水珍珠的氨基酸进行含量测定,发现两者所含氨基酸种类差异不大,但除 Phe 外,其余13种氨基酸在海水珍珠中的含量均高于淡水珍珠,具有统计学意义,其中 Asp、Gly

含量较高,并且二者在淡水珍珠和海水珍珠中的含量范围无交集。此外,对淡水珍珠与海水珍珠含量数据进行聚类分析,发现7种氨基酸VIP值大于1,其中仅 Gly、Asp VIP 值超过1.2。综上,认为 Gly、Asp 可在珍珠鉴别上起重要作用,可以将 Asp、Gly 作为淡水珍珠与海水珍珠鉴别的关键氨基酸。

基于淡水珍珠和海水珍珠中 Asp、Gly 含量差异特点,本研究建立了近红外光谱技术快速检测模型,在 $4000 \sim 10000 \text{ cm}^{-1}$ 光谱范围内,近红外 Asp、Gly 含量检测模型的建立与近红外光谱图可以识别氨基酸分子的主要基团 O-H、N-H、C-H 等吸收峰有关^[30]。经实验结果验证,近红外 Asp、Gly 含量检测模型是可行的,其结果与氨基酸分析仪检测结果一致,对于珍珠快速鉴别在实际应用中具有一定的指导意义。对于中药而言,单一成分的评价珍珠是不足的,应建立更加完善科学的质量评价体

系, 实验同时也提示两者差异性成分与二者药效的相关性需要进一步的研究, 进而对两者做出更加全面的评价。本实验在明确药材基原的前提下开展对淡水珍珠与海水珍珠的氨基酸成分的对比研究, 利用色谱指纹图谱技术、近红外光谱技术实现了淡水珍珠与海水珍珠的快速检测和区分, 为珍珠的鉴别提供了科学的方法及依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 余一鸣, 胡永慧, 韩立云, 等. 中药质量控制的研究进展 [J]. 中草药, 2017, 48(12): 2557-2563.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 23.
- [3] 杨安全, 王菁, 骆建芬, 等. 淡水珍珠提取物抗氧化能力的研究 [J]. 药物生物技术, 2015, 22(3): 233-236.
- [4] 刘鹏, 岑妍慧, 林江, 等. 南珠水解液对H₂O₂诱导的人晶状体上皮细胞氧化损伤的保护作用 [J]. 眼科新进展, 2020, 40(7): 612-616.
- [5] 蔡仁逵. 珍珠的营养学与药理学研究综述 [J]. 科学养鱼, 2000(4): 5-6.
- [6] 菅原颖, 赵文静, 常惟智. 珍珠的药理作用及临床应用概述 [J]. 中医药信息, 2010, 27(2): 114-116.
- [7] 管华诗, 王曙光. 中华海洋本草(第1卷-总论) [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2009: 36.
- [8] 徐国钧, 王强主编. 曾金虎等编著. 中草药彩色图谱 [M]. 第3版. 福州: 福建科学技术出版社, 2006: 26.
- [9] 郑全英, 毛叶盟. 海水珍珠与淡水珍珠的成分、药理作用及功效 [J]. 上海中医药杂志, 2004, 38(3): 54-55.
- [10] 蒲月华, 邓旗, 何锦锋, 等. 水解珍珠体外抗氧化活性的研究 [J]. 化学研究与应用, 2017, 29(4): 555-559.
- [11] 蒲月华, 邓旗, 童银洪. 海水珍珠水解液体外抗氧化活性的研究 [J]. 应用化工, 2018, 47(12): 2635-2637.
- [12] 廖杰. 珍珠粉水溶性成分的分离纯化及其活性研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
- [13] 陈志强, 郭丰辉, 童银洪, 等. 辐照法快速鉴别海水和淡水珍珠粉 [J]. 轻工标准与质量, 2021(3): 76-77.
- [14] 童银洪, 刘永. 海水和淡水药用珍珠的无损鉴别 [J]. 农业研究与应用, 2021, 34(2): 1-4.
- [15] 童银洪, 陈志强, 郭丰辉, 等. 海水和淡水珍珠粉的快速鉴别 [J]. 农业研究与应用, 2020, 33(4): 39-42.
- [16] 王存, 曾勇, 罗卢洋, 等. 对20种海水珍珠和淡水珍珠的化学成分的初步对比研究 [J]. 农业研究与应用, 2021, 34(2): 5-13.
- [17] 罗花, 郝二伟, 谭德超, 等. 桐花树叶正丁醇部位抗前列腺癌作用 [J]. 中药材, 2018, 41(8): 1975-1979.
- [18] 孙昭倩, 王虹熙, 郭庆梅, 等. 海水珍珠和淡水珍珠的热分析鉴别 [J]. 现代中药研究与实践, 2016, 30(6): 14-17.
- [19] 李振雨, 何嘉莹, 童培珍, 等. 基于UPLC指纹图谱和多成分定量的辛夷药材产地差异性研究 [J]. 中草药, 2021, 52(1): 234-240.
- [20] 季晓菲, 游明鸿, 白史且, 等. 藕草粗蛋白近红外定量分析模型的建立 [J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(6): 1731-1735.
- [21] Bittner L K, Schönbichler S A, Schmutzler M, et al. Vibrational spectroscopic methods for the overall quality analysis of washing powders [J]. *Talanta*, 2016, 148: 329-335.
- [22] Dhanoa M S, Lister S J, Sanderson R, et al. The link between multiplicative scatter correction (MSC) and standard normal variate (SNV) transformations of NIR spectra [J]. *J Infrared Spectrosc*, 1994, 2(1): 43-47.
- [23] Mahanti N K, Chakraborty S K. Application of chemometrics to identify artificial ripening in sapota (*Manilkara Zapota*) using visible near infrared absorbance spectra [J]. *Comput Electron Agric*, 2020, 175: 105539.
- [24] 严旭. 老芒麦化学成分和体外干物质消化率的近红外光谱定量模型研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- [25] Yang Y G, Zhao Y L, Zuo Z T, et al. Determination of total flavonoids for *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* in different geographical origins using UV and FT-IR spectroscopy [J]. *JAOAC*, 2019, 102(2): 457-464.
- [26] 张晶. 近红外光谱分析技术在山楂质量控制的研究 [D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [27] 熊利华. 近红外光谱法快速检测茶叶中粗纤维、水分和灰分的研究 [D]. 抚州: 东华理工大学, 2018.
- [28] 于颖, 宋金明, 俞立东, 等. 牡蛎中氨基酸的傅里叶变换近红外光谱法快速定量测定 [J]. 海洋科学, 2016, 40(12): 1-7.
- [29] 李跑, 申汝佳, 李尚科, 等. 一种基于近红外光谱与化学计量学的绿茶快速无损鉴别方法 [J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(8): 2584-2589.
- [30] 张晓萍, 张文, 戚鹏飞, 等. 海藻及其混伪品中17种氨基酸的含量测定 [J]. 中国药房, 2020, 31(4): 468-472.

[责任编辑 时圣明]