

## 宁夏地产黄芪药材 MIR 定量分析模型构建及产区相关性研究

王秀芬<sup>1\*</sup>, 徐 荣<sup>2</sup>, 丁玲玲<sup>2,3</sup>, 李 静<sup>1</sup>, 方光明<sup>1</sup>, 陈 君<sup>2</sup><sup>1</sup>宁夏职业技术学院, 银川 750021; <sup>2</sup>中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193;<sup>3</sup>北京城市学院, 北京 100094

**摘要:**研究宁夏地产黄芪药材快速质量评价方法。本实验采用 HPLC 法测定宁夏地产黄芪药材中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量,同时采集黄芪药材的 MIR 光谱,结合偏最小二乘法(PLS),建立宁夏地产黄芪中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的 MIR 定量分析模型,并进行验证;对宁夏地产黄芪药材红外光谱、二阶导数谱进行分析评价,并对其红外光谱分别进行聚类分析和主成分分析。黄芪甲苷中红外光谱经二阶导数处理后模型最优,模型参数: $R^2$  为 99.72,SEE 为 0.003 7,SEP 为 0.004 2;毛蕊异黄酮葡萄糖苷中红外光谱经二阶导数处理后模型最优,模型参数: $R^2$  为 99.33,SEE 为 0.000 6,SEP 为 0.000 7。不同产区黄芪药材相似系数均在 0.90 以上;二阶导数谱中不同产区黄芪药材酯类、纤维素类和淀粉类成分存在差异;聚类分析和主成分分析发现同心产区和其他产区药材有明显区分。所建的 MIR 模型有一定的可靠性和预测能力,可用于宁夏地产黄芪药材中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的定量分析,红外光谱技术可快速评价宁夏产区黄芪药材质量。

**关键词:**黄芪药材;红外光谱;定量模型;相关性;质量评价

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020)9-1552-11

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.9.014

## Construction of MIR quantitative analysis model and correlation study of production areas of Astragali Radix in Ningxia

WANG Xiu-fen<sup>1\*</sup>, XU Rong<sup>2</sup>, DING Ling-ling<sup>2,3</sup>, LI Jing<sup>1</sup>, FANG Guang-ming<sup>1</sup>, CHEN Jun<sup>2</sup><sup>1</sup>Ningxia Polytechnic, Yinchuan 750021, China;<sup>2</sup>The Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;<sup>3</sup>Beijing Health City College, Beijing 100094, China

**Abstract:** Determine astragaloside A and isoflavone glucoside in local Astragali Radix in Ningxia by HPLC, collect the MIR spectrum of Astragali Radix and combined partial least squares (PLS) to establish a MIR quantitative analysis model for astragaloside A and isoflavone glucoside in Astragali Radix, and verify with correction set. At the same time, to analyzed and evaluate the infrared spectrum and second derivative spectrum of Astragali Radix, the infrared spectrum was analyzed by cluster analysis and principal component analysis. The best model of astragaloside in the middle infrared spectrum after second derivative treatment, the model parameter  $R^2$  is 99.72, SEE is 0.003 7, SEP is 0.004 2. The best model was obtained after the second derivative treatment of the infrared spectrum of the isoflavone glucoside, the model parameter  $R^2$  is 99.33, SEE is 0.000 6, SEP is 0.000 7. The similarity coefficients of Astragali Radix in different regions were all above 0.90; But the components of ester, cellulose and starch in Astragali Radix were different in the second derivative spectra. Cluster analysis and principal component analysis showed that there were obvious differences between Tongxin and other regions. The collective results provide that the model used for quantitative analysis of astragaloside A and isoflavone glucoside in Astragali Radix in Ningxia has certain reliability and prediction ability. The quality of Astragali Radix membranaceus in Ningxia can be evaluated by infrared spectroscopy.

收稿日期:2020-03-15 接受日期:2020-07-09

基金项目:宁夏回族自治区教育厅服务地方经济项目(NGY2018-198);国家重点研发计划“进出口药食同源产品质量分级技术研究”(2017YFF0211005)

\* 通信作者 Tel:86-013519583867; E-mail:nxnxwf@126.com

**Key words:** Astragali Radix; FTIR; quantitative model; relevance; quality evaluation

黄芪为药食同源补益类药材,为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根,具有补气升阳、固表止汗、利水消肿、生津养血、托毒生肌等功效<sup>[1]</sup>。现代药理学研究表明,黄芪具有免疫调节、抗氧化,抗病毒、抗肿瘤、降血糖及多种脏器保护等作用<sup>[2]</sup>。黄芪中的主要化学成分为黄芪多糖类、皂苷类、黄酮类化合物等,其中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷为黄芪药材质量控制的主要指标性成分。

黄芪为宁夏地区主栽的中药材品种,经过多年的发展,建立了多个黄芪中药材规范化种植示范基地,形成了几十万亩以上的人工种植规模。但目前黄芪药材含量测定方法样品前处理复杂,耗时长,成本高,不易被种植户接受。傅里叶变换红外光谱(FTIR)灵敏度高、操作简便、专属性强,无污染,可实现快速无损检测,被广泛应用于中药材及其制剂的在线质量监测<sup>[3-10]</sup>。Liu 等<sup>[11]</sup>研究表明近红外光谱的谱带较宽,特征性不强,难以利用化合物特定官能团的识别来进行结构鉴定。中红外光谱法具有宏观整体鉴定复杂体系的特点,可用于中药中整体成分的控制,广泛应用于食品药品真伪优劣的快速鉴别、药材的成分分析与比较等领域。因此,本研究采用中红外光谱衰减全反射技术,结合偏最小二乘法(PLS),建立宁夏地产黄芪药材的指标性成分含量定量分析模型,快速检测黄芪药材中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量,并通过中红外光谱的聚类分析和主成分分析对宁夏不同产区黄芪药材进行分析判别。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器设备

PerkinElmer Spectrum 100 型傅里叶变换红外光谱仪,中红外 DTGS 检测器,衰减全反射附件(ATR),红外图谱采集及分析采用 SpectrumV10.0 操作软件;岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪,自动进样器,SPD-20M 型 DAD 紫外检测器,岛津 ELSD-II 检测器;MS105DU 电子分析天平(十万分之一)。

### 1.2 试药

本实验材料采自宁夏地区同心、盐池、隆德、彭阳、固原 5 个黄芪药材主产区,共 73 份,其中同心 22 份、隆德 16 份、彭阳 23 份、固原 6 份、盐池 6 份。

由杭州医学院药学院生药室主任吴晓宁教授鉴定为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge) Hsiao 的干燥根。

黄芪甲苷(批号 110781-201717)、毛蕊异黄酮葡萄糖苷(批号 111920-201606)均购于中国食品药品检定研究院;正丁醇、乙醇、甲醇、甲酸为分析纯;乙腈为色谱纯,试验用水为娃哈哈纯净水。

### 1.3 黄芪中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的测定方法及验证

#### 1.3.1 黄芪甲苷的色谱条件

参照《中国药典》方法<sup>[1]</sup>,采用 Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);ELSD 参数:N<sub>2</sub>:流速为 1.5 L/min,雾化器温度 75 °C,增益值为 6;流动相:乙腈-水(32:68);流速:1.0 mL/min;进样量 20 μL,以外标两点法对数方程计算黄芪甲苷的含量。

#### 1.3.2 毛蕊异黄酮葡萄糖苷的色谱条件<sup>[1]</sup>

Agilent C<sub>18</sub> 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-0.2% 甲酸水溶液,洗脱梯度为 0~20 min,20%→40% 乙腈;20~27 min,40% 乙腈;27~33 min,40%→20% 乙腈;33~60 min,20% 乙腈;检测波长:260 nm;流速:1.0 mL/min;进样量 20 μL,以外标法计算毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量。

#### 1.3.3 对照品溶液的制备

精密称定黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品适量,分别加甲醇制成质量浓度约为 0.5 mg/mL 的黄芪甲苷对照品溶液和质量浓度约为 0.05 mg/mL 的毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品溶液,置冰箱内冷藏。

#### 1.3.4 供试品溶液的制备

参照中国药典一部(2015 年版)黄芪项下黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定规定的供试品溶液制备方法进行制备。

#### 1.3.5 线性关系考察

精密称取黄芪甲苷对照品适量,分别加甲醇制成每 1 mL 含黄芪甲苷 3.624 mg 的对照品溶液,精密量取黄芪甲苷对照品溶液 0.5、1、3、5、7、10 mL 至 10 mL 的容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。按“1.3.1”项下色谱条件,分别进样 10 μL,以进样量的常用对数值为横坐标,以峰面积的常用对数值为纵坐标,作标准曲线,得回归方程为  $Y = 0.9849X$

+5.375 8,  $R=0.999 5$ 。精密称取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品适量,加甲醇制成每 1 mL 含毛蕊异黄酮葡萄糖苷 0.054 mg 的对照品溶液,精密量取毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品溶液 0.4、2、4、6、8、10 mL 至 10 mL 的容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,摇匀,备用。按“1.3.2”项下色谱条件,分别进样 20  $\mu\text{L}$ ,以进样量为横坐标,以峰面积为纵坐标,作标准曲线,得回归方程为  $Y=5E+6X-7 459.1$ ,  $R=0.999 2$ 。表明线性关系良好。

### 1.3.6 精密度试验

取同一供试品溶液,按上述色谱条件,连续进样 6 次,分别测定 2 种成分的峰面积。所得黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷峰面积的 RSD 均小于 3%,表明仪器精密度良好。

### 1.3.7 稳定性试验

取同一供试品溶液,按样品含量测定方法,分别在 0、3、6、9、12、24 h 进样,分别测定 2 种成分的峰面积,黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷峰面积的 RSD 均小于 4%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 1.3.8 重复性试验

精密称取同一供试品粉末,按“1.3.4”项下的方法平行制备供试品溶液各 6 份,分别测定 2 种成分的峰面积,计算含量,黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的 RSD 均小于 4%,表明方法重复性良好。

### 1.3.9 加样回收率

取已知含量的黄芪样品粉末各 6 份,分别精密称定,按大约 1:1 的比例分别加入黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷对照品,按“1.3.4”项下制备样品,依上述色谱条件进样。测定 2 种成分的含量,计算黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的平均回收率分别为 104.26% 和 103.62%,RSD 分别为 2.82% 和 2.63%,符合规定。

## 1.4 黄芪药材中红外光谱的采集

### 1.4.1 ATR 法谱图采集

将黄芪药材粉碎,过 100 目筛,制成粉末样品。分别取处理好的黄芪药材粉末约 1 g,摊平,压实,铺入 ATR 附件样品槽内,以空气为参比,扫描次数为 16 次,分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ ,扫描光谱范围为 4 000 ~ 650  $\text{cm}^{-1}$ ,每个样品平行扫描 5 次,取平均值做为黄芪药材的 MIR 光谱图。

### 1.4.2 压片法谱图采集

取黄芪样品粉末约 2 mg 与干燥溴化钾约 100 mg 研磨混匀,压片,按“1.4.1”法采用傅里叶红外

光谱仪进行测试,扫描光谱范围为 4 000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$ ,获得一维红外光谱图。

## 1.5 PLS 定量分析模型建立

从黄芪药材样品中随机选择 10 份样品作为验证集,其余样品作为校正集,将校正集和验证集的 MIR 光谱与 HPLC 测定值进行关联,采用不同的主因子数及光谱预处理方法,运用 Spectrum Quant + 分析软件进行数据处理,采用偏小二乘法(PLS)建立定量分析模型。以相关系数( $R^2$ )和校正标准偏差(SEE)作为模型评价指标选择建模参数,以预测标准偏差(SEP)来考察模型的可靠性和拟合能力。

## 1.6 宁夏不同产区黄芪药材的相关性分析

取宁夏 2 年生不同产区黄芪药材(其中固原 1~4 号,隆德 5~8 号,彭阳 9~12 号,盐池 13~14 号,同心 15~22 号),KBr 压片,采用傅里叶红外光谱仪进行测试,获得一维红外光谱图。采用 PerkinElmer Spectrum v10.5.2 数据处理软件,平滑 13 点,得二阶导数谱。采用 SPSS 19.0 统计分析软件对红外光谱数据进行聚类 and 主成分分析,分析不同产区样品间的质量差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄芪药材中指标性成分含量对比研究

#### 2.1.1 HPLC 法测定黄芪药材中指标性成分含量

按照“1.3”项下分析方法,对 73 批黄芪药材中的黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷进行含量测定,如图 1 所示。

#### 2.1.2 不同产区指标性成分含量对比

依照《中国药典》方法测定宁夏地产黄芪药材中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量。由表 1 可知:同心地区黄芪甲苷含量高于其它地区,隆德地区毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量最高。分析 73 批黄芪样品的黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量,见图 2。从图 2 可以看出除 5 批黄芪药材外,其余 68 批次药材中的黄芪甲苷含量均高于毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量。据相关研究表明<sup>[12]</sup>,黄芪中的皂苷类成分主要分布在根的韧皮部,黄酮类成分主要分布在根的木质部。在黄芪生长的前几年,韧皮部在根中所占比例较大,因此黄芪甲苷的含量较高。而宁夏地产黄芪药材多数是移栽后 1~2 年就进行采挖,韧皮部的比例偏大,因此黄芪甲苷的含量明显高于毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量。

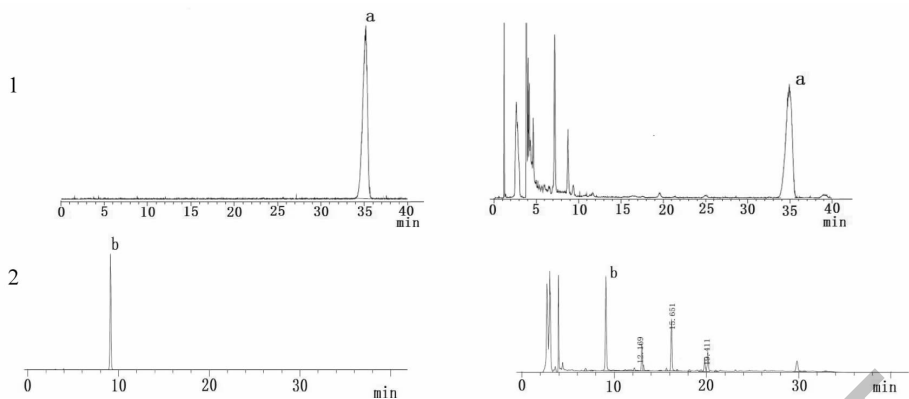


图 1 黄芪药材色谱图

Fig. 1 Chromatogram of Astragali Radix

注:1. HPLC-ELSD 图谱,a 为黄芪甲苷;2. HPLC-DAD 图谱,b 为毛蕊异黄酮葡萄糖苷。Note:1. HPLC-ELSD chromatograms,a is astragaloside A;2. HPLC-DAD chromatograms,b is isoflavone glucoside.

表 1 不同产区黄芪药材中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量

Table 1 Content of astragaloside A and isoflavone glucoside in Astragali Radix from different regions(%)

样品编号 No.	黄芪甲苷 Astragaloside A	平均值 Average value	毛蕊异黄酮葡萄糖苷 Isoflavone glucoside	平均值 Average value
盐池 1~6	0.019 ~0.078	0.039	0.023 ~0.066	0.042
隆德 1~16	0.027 ~0.192	0.070	0.011 ~0.289	0.055 *
彭阳 1~23	0.017 ~0.125	0.064	0.011 ~0.034	0.020
同心 1~22	0.033 ~0.427	0.121 *	0.010 ~0.032	0.018
固原 1~6	0.045 ~0.126	0.086	0.012 ~0.017	0.015

注:与其他样品组比较,\* $P < 0.05$ 。

Note:Compared with other groups,\* $P < 0.05$ .

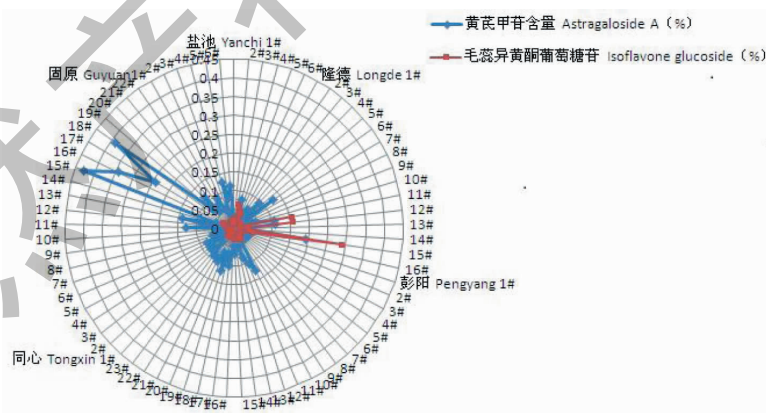


图 2 黄芪药材中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量的规律

Fig. 2 The content regular pattern of astragaloside A and isoflavone glucoside in Astragali Radix

2.1.1.3 不同生长年限指标性成分含量对比

将 2 年和 3 年生宁夏地产黄芪药材指标性成分黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量进行对比分

析,从图 3 可知,3 年生黄芪药材指标性成分黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量略高于 2 年生药材,但整体差别不显著。

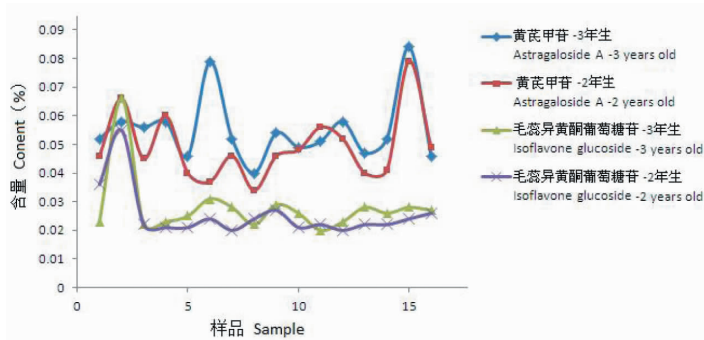


图3 不同生长年限黄芪药材指标性成分含量对比

Fig. 3 Comparison of index components of Astragali Radix in different growing years

## 2.2 黄芪药材的 ATR 红外光谱图

73 批黄芪药材的 ATR 中红外光谱图见图 4。

从图 4 可以看出,在  $4\ 000 \sim 650\ \text{cm}^{-1}$  波数范围内,黄芪药材光谱吸收信息多,利于建立定量模型。

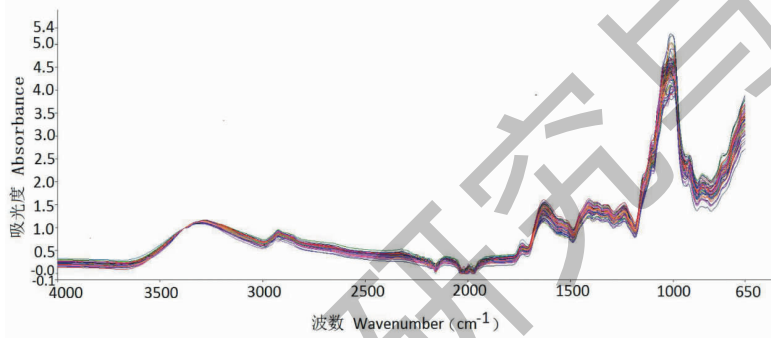


图4 黄芪药材粉末红外光谱叠加图

Fig. 4 IR spectrum superposition of Astragali Radix powder

## 2.3 模型的建立与预测

### 2.3.1 校正集和验证集的选择

从 73 份黄芪药材样品中随机选择 10 份样品作为验证集,其余 63 份样品作为校正集,验证集样品

中黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量均在校正集的含量范围内,且含量有一定的梯度分布可用于建模。校正集和验证集的样品含量分布范围见表 2。

表 2 校正集与验证集样品数量及其含量范围分布

Table 2 Sample quantity and content range distribution of calibration set and validation set (%)

组别 Group	量值 Measurement	黄芪甲苷 Astragaloside A	毛蕊异黄酮葡萄糖苷 Isoflavone glucoside
校正集(63 份) Calibration set(63 portion)	最大值	0.427	0.289
	最小值	0.017	0.01
	平均值	0.088	0.03
验证集(10 份) Validation set(10 portion)	最大值	0.092	0.026
	最小值	0.037	0.013
	平均值	0.066	0.019 7

### 2.3.2 选择主因子数

在光谱预处理方法相同的条件下,选择不同的主因子数会对相关系数  $R^2$  和校正标准偏差(SEE)

产生影响,关系到 PLS 定量分析模型的实际预测能力。采用交叉验证法,考察主因子数对 SEE 的影响。从图 5 可以看出,随着主因子数的增加,SEE 值

不断降低,黄芪药材定量分析模型黄芪甲苷的最适主因子数为 10,毛蕊异黄酮葡萄糖苷的最适主因子

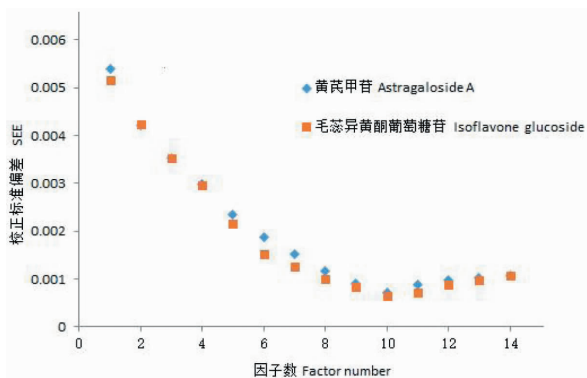


图 5 SEE 值与因子数的关系

Fig. 5 Relationship between SEE value and factor number

2.3.3 光谱预处理

以相关系数( $R^2$ ),校正标准偏差(SEE)和预测标准偏差(SEP)作为模型评价指标,考察了一阶导数(FD)、多元散射校正(MSC)、标准归一化法(SNV)、Savitsky-Golay(SG)平滑等预处理方法,结

果见表 3。相关系数  $R^2$  越大,SEE 值越小,表明建立的校正模型越合理,SEP 值越小,表明模型的预测性能越好。从表 3 可知校正模型光谱预处理方法为二阶导数 + SG 时模型效果最好。

表 3 不同预处理方法对黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷 PLS 校正模型的影响

Table 3 Effect of different pretreatment methods on PLS calibration model about astragaloside and isoflavone glucoside

指标 Index	光谱预处理方法 Spectral pretreatment method	$R^2$	SEE	SEP
黄芪甲苷 Astragaloside A	一阶导数	99.38	0.005 477	0.005 984
	一阶导数 + SG5	99.2	0.006 241	0.006 601
	一阶导数 + SG10	98.71	0.007 923	0.008 37
	一阶导数 + MSC	99.53	0.004 769	0.005 131
	一阶导数 + SNV	99.53	0.004 768	0.005 124
	二阶导数 + SG	99.72	0.003 667	0.004 158
	二阶导数 + SNV	99.37	0.005 52	0.005 761
	二阶导数 + MSC	99.38	0.005 504	0.005 743
毛蕊异黄酮葡萄糖苷 Isoflavone glucoside	一阶导数	98.13	0.001 099	0.001 211
	一阶导数 + SG5	97.77	0.001 198	0.001 33
	一阶导数 + SG10	96.64	0.001 471	0.001 654
	一阶导数 + MSC	96.54	0.001 493	0.001 641
	一阶导数 + SNV	96.54	0.001 492	0.001 641
	二阶导数 + SG	99.33	0.000 655	0.000 701 1
	二阶导数 + SNV	93.72	0.001 951	0.002 035
	二阶导数 + MSC	93.71	0.001 953	0.002 037

2.3.4 建立含量预测模型

选择二阶导数 + SG 处理,4 000 ~ 650  $\text{cm}^{-1}$  波

段,主因子数 10 建立黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量预测模型。黄芪甲苷中红外预测值与色谱实

际值的 PLS 预测模型如图 6 所示,此时  $R^2$  为 99.72,SEE 为 0.003 7,SEP 为 0.004 2;毛蕊异黄酮葡萄糖苷中红外预测值与色谱实际值的 PLS 预测

模型如图 7 所示,此时  $R^2$  为 99.33,SEE 为 0.000 6,SEP 为 0.000 7。样品中的 HPLC 测定值与 MIR 模型预测值具有很好的线性关系。

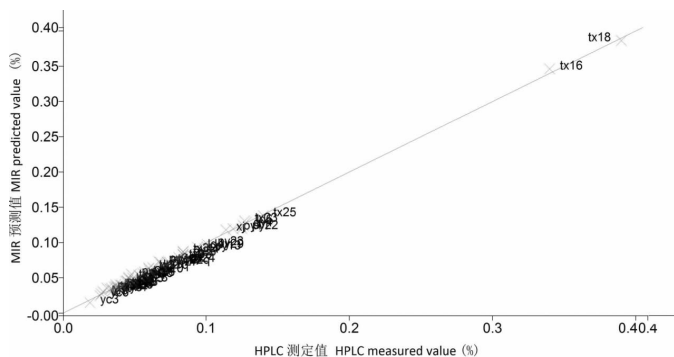


图 6 黄芪样品中黄芪甲苷中红外光谱含量预测模型  
Fig. 6 Determination model of astragaloside by IR spectrum

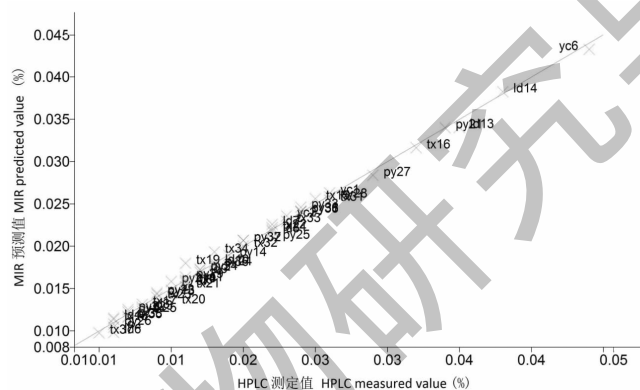


图 7 黄芪样品中毛蕊异黄酮葡萄糖苷中红外光谱含量预测模型  
Fig. 7 Determination model of the content of isoflavone glucoside in pistil

### 2.3.5 验证集预测

用建立的 PLS 校正模型,对验证集样品的黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量进行预测。以 MIR 预测值与 HPLC 实测值的比值作为预测回收率,所

得平均回收率分别为 103.99% 和 102.35%,见表 4。由结果可知建立的定量模型拟合性能较好,基本能满足快速检测的需求。

表 4 黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量 MIR 预测结果

Table 4 Mir prediction results of astragaloside A and isoflavone glucoside(%)

样品号 No.	黄芪甲苷 Astragaloside A				毛蕊异黄酮葡萄糖苷 Isoflavone glucoside			
	HPLC 实测值 HPLC measured value	MIR 预测值 MIR predicted value	偏差 Deviation	平均回收率 Average recovery	HPLC 实测值 HPLC measured value	MIR 预测值 MIR predicted value	偏差 Deviation	平均回收率 Average recovery
1	0.035	0.029	-0.006	103.99	0.022	0.021	-0.001	102.35
2	0.038	0.029	-0.009		0.018	0.016	-0.002	
3	0.026	0.021	-0.005		0.026	0.019	-0.007	
4	0.023	0.026	0.003		0.023	0.029	0.006	



续表 4(Continued Tab. 4)

样品号 No.	黄芪甲苷 Astragaloside A				毛蕊异黄酮葡萄糖苷 Isoflavone glucoside			
	HPLC 实测值 HPLC measured value	MIR 预测值 MIR predicted value	偏差 Deviation	平均回收率 Average recovery	HPLC 实测值 HPLC measured value	MIR 预测值 MIR predicted value	偏差 Deviation	平均回收率 Average recovery
5	0.020	0.020	0.000	103.99	0.020	0.018	-0.002	102.35
6	0.018	0.021	0.003		0.018	0.021	0.003	
7	0.016	0.016	0.000		0.016	0.018	0.002	
8	0.014	0.018	0.004		0.019	0.019	0.000	
9	0.013	0.016	0.003		0.013	0.017	0.004	
10	0.011	0.013	0.002		0.022	0.020	-0.002	

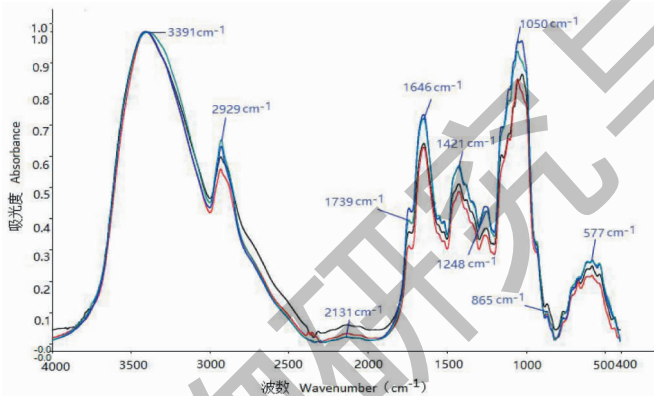


图 8 宁夏不同产区黄芪药材红外吸收光谱图

Fig. 8 IR absorption spectrum of Astragali Radix from different regions in Ningxia

## 2.4 基于红外光谱的宁夏产区黄芪药材相关性分析

本草学家在唐宋时期就对宁夏固原至甘肃平凉一带黄芪药材有所记载,提到“今出原州及华原者最良”<sup>[13]</sup>。从古书记载今宁夏固原、隆德、彭阳等地为黄芪药材的道地产区。黄芪药材适宜在土质疏松、肥沃,透水性好的沙质或半沙质土壤生长。随着宁夏中药现代化科技产业基地的建设,在宁夏严重干旱地区同心县和盐碱地区盐池县均有大面积黄芪药材种植。在实验中收集宁夏 5 个主产区黄芪药材样本,采集红外光谱图,对宁夏不同产区黄芪药材进行相关性分析。

### 2.4.1 宁夏不同产区黄芪药材的一维红外光谱分析

不同产区的黄芪药材一维红外图谱谱峰位置比较接近。如图 8 所示,在 1 000 ~ 1 800  $\text{cm}^{-1}$  的峰值特征性较强,根据文献<sup>[14]</sup>对红外光谱中的主要吸收

峰进行归属。黄芪药材的红外光谱中,在 3 391  $\text{cm}^{-1}$  附近为羟基伸缩振动,结合 1 050、865、577  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收,判断为多糖类羟基特征峰,为药材中淀粉吸收;在 2 929  $\text{cm}^{-1}$  附近为亚甲基反对称伸缩振动;在 1 739  $\text{cm}^{-1}$  附近为羧酸类或酯类的 C = O 的伸缩振动峰;1 646、1 421  $\text{cm}^{-1}$  附近为芳香族骨架振动吸收为木质素特征吸收,来源于黄酮类成分;在 1 242  $\text{cm}^{-1}$  附近为 C-O 键弯曲振动吸收。

利用 PerkinElmer Spectrum v10.5.2 软件比较五个不同产区黄芪药材红外光谱图,以固原产区做参比,盐池、固原、隆德、彭阳、同心产区的相关系数分别为:0.901 5、1.000 0、0.952 6、0.943 9、0.929 9,说明隆德、彭阳产区和固原产区的相似度较高。

### 2.4.2 不同产区黄芪药材的二阶导数红外光谱分析

黄芪药材的红外光谱吸收峰叠加严重,使用二阶导数光谱可以对重叠峰进行剥离,增强光谱分辨



率,从而得更多的光谱信息,增强谱图的差异性<sup>[3]</sup>。图9为不同产区黄芪药材1800~400 cm<sup>-1</sup>的二阶导数谱,特征峰存在明显差异。在1368~1234 cm<sup>-1</sup>、1139 cm<sup>-1</sup>和967~918 cm<sup>-1</sup>附近区域呈现出不同的

峰形和不同的峰强度,表明宁夏不同产区黄芪药材的酯类、纤维素类和淀粉类成分存在差异。同心、盐池产区与其他三个产区差异明显,固原、彭阳和隆德产区较为接近。

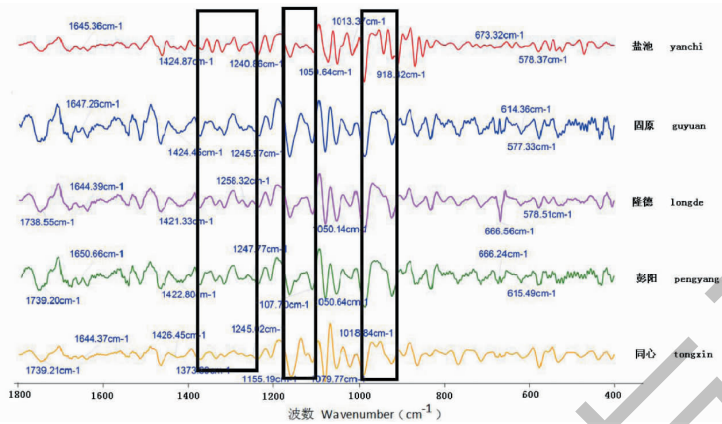


图9 宁夏不同产区黄芪药材的二阶导数谱

Fig. 9 The second derivative spectrum of Astragali Radix in different regions in Ningxia

#### 2.4.3 宁夏不同产区黄芪药材红外光谱的聚类分析

将黄芪样品红外光谱数据应用“SPSS 软件”进行系统聚类分析,采用组间均联法,利用欧氏距离作为样品的测度,经过优化得到聚类分析图见图10。

聚类分析依据不同对象之间的差异,利用“物以类聚”来衡量亲疏程度,比较样品间的相关性。

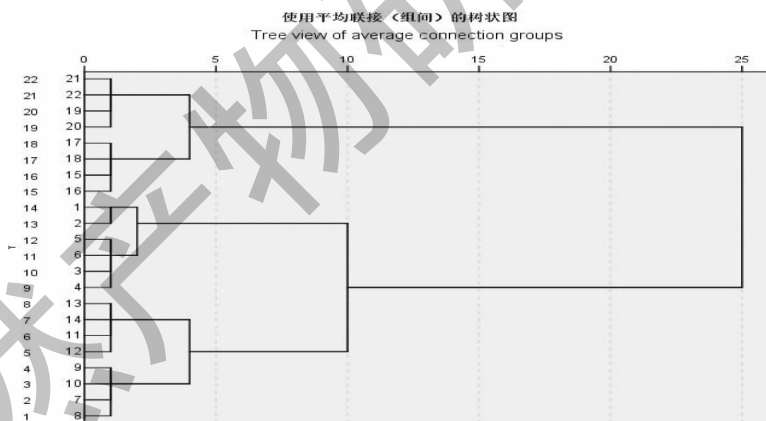


图10 宁夏不同产区黄芪红外光谱聚类分析图

Fig. 10 IR spectrum cluster analysis of Astragali Radix in different areas in Ningxia

从图10中可以看出15~22号为同心产区样品,可以分为一类;1~14号分别为固原、隆德、彭阳、盐池产区样品,可分为一类。

#### 2.4.4 宁夏不同产区黄芪药材红外光谱的PCA分析

对宁夏不同产区黄芪药材进行主成分分析,采用降维处理,将它们投影至低维空间,可直观从3D图上看样品的分布情况。采用SPSS统计分析软

件对黄芪药材样品的红外光谱信息在500~1800 cm<sup>-1</sup>光谱范围内进行PCA分析,结果如图11,第一维度主成分1的贡献率为72.587%,提取样本特征值为5.081;第二维度主成分2的贡献率为24.818%,提取样本特征值为1.737;第三维度主成分3的贡献率为1.465%,提取样本特征值为0.103。同心产区6份药材样本和其他产区样本能够明显区分,固原、隆德、彭阳、盐池产区样本聚集在

一起,没有明显区分,和聚类分析结果基本一致。

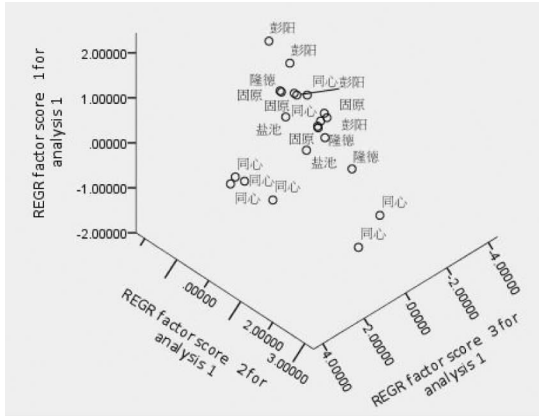


图 11 宁夏不同产区黄芪药材红外光谱主成分分析图

Fig. 11 IR spectrum principal analysis of Astragalus Radix in different areas in Ningxia

### 3 讨论

建立快捷、准确、灵敏的检测方法已成为将中药真正推向世界市场、实现中药现代化的当务之急。红外光谱法可直接对药材进行取样,不需特殊前处理,不消耗有机溶剂,且其操作简便易行,仪器通用,便于推广。

通过对宁夏不同产区黄芪药材红外光谱、二阶导数谱、聚类分析和主成分分析,不同产区药材质量存在一定差异性。隆德、彭阳、固原产区药材相似性较高,盐池、同心产区有一定的差异性,可能是因淀粉类、酯类、纤维素类等成分引起。但黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定结果显示同心产区药材含量稍高,质量差异还需结合药效学试验进行判定。

KBr 压片法为透射法,KBr 容易吸潮,受粉末水分含量影响较大,并且不宜控制样品在压片中的浓度,不适合用于定量模型的构建。ATR 技术为反射法,不用压片,直接将样品放置在 ATR 晶体表面,不受样品用量和水分的影响,直接采集谱图信息,适合快速检测和定量模型的构建,因此本文采用 ATR 技术结合偏最小二乘法建立 MIR 定量分析模型,快速预测黄芪药材指标性成分含量。但由于 ATR 技术获取的谱图没有 KBr 压片法得到的分辨率高,波段范围也稍窄,因此红外光谱定性分析通常使用 KBr 压片法;而对宁夏不同产区黄芪药材进行相关性分析为定性分析,需采集更详尽精确的光谱信息进行分析,因此采用了效果更好的 KBr 压片法。因 2 年和 3 年生黄芪药材指标性成分黄芪甲苷和毛蕊异黄酮葡萄糖苷的含量差别不明显,因此建立定量模型

时不再区分药材生长年限。实验采集黄芪药材中红外光谱全反射信息,样品粉末必须过 100 目筛,保证样品的均一性。

本次研究采集宁夏不同产区黄芪样品 73 份,因各产区种植面积不均衡,采样量不统一。根据不同产区按 1/6 的比例随机选择验证集,最后确定 10 份样品为验证集。该验证模型在实际应用过程中,随着各产区栽培面积加大及检测技术的推广,增加验证集的样品数量,在原有模型的基础上对模型再校正和优化,使模型预测更准确,适用性更强。

该项快速检测技术对指导种植基地黄芪药材的合理种植、采收加工,保证药材质量,降低生产种植成本,增加经济收入具有重要意义。且检测方法简便易行,适于在全区黄芪种植基地推广使用。

### 参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Vol I (中华人民共和国药典:第一部) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 302.
- 2 Nie J, Xie LH, Ma GY, et al. Advances in chemical and pharmacological effects of Chinese herb *Astragalus* [J]. Hunan J Tradit Chin Med (湖南中医杂志), 2018, 34(7): 228-231.
- 3 Wang XF, Li J, Ma F, et al. Analysis of *Fructus lycii* from different planting areas based on infrared spectroscopy [J]. Herald Med (医药导报), 2018, 37: 721-726.
- 4 Li F, Li Q, Gu ZR, et al. Origin identification and prediction of *Astragalus Radix* based on fourier transform infrared spectroscopy [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2016, 28: 1712-1717.
- 5 Bai Y, Li Sh, Wang X, et al. Determination of chlorogenic acid of honeysuckle by near-infrared spectroscopy rapidly [J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2011, 17(5): 66-69.
- 6 Dong XQ, Wei HZ, Rao Y, et al. Rapid determination of loganin in liuweidihuang pills by NIR spectroscopy [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2011, 42: 1543-1546.
- 7 Xu R, Sun SQ, Chen J, et al. The Sixth Cistanche and Desert Medicinal Plants Symposium Proceedings (第六届肉苁蓉暨沙生药用植物学术研讨会论文集) [C]. Beijing: Chinese Pharmaceutical Association, 2011: 330-333.
- 8 Sun SQ. Rapid testing of food and traditional Chinese medicine by (mid-) infrared spectroscopy [J]. Mod Sci Instrum (现代科学仪器), 2013, 4: 11-20.

(下转第 1598 页)